



HAL
open science

Du développement des méthodes de dosage à la modélisation pharmacocinétique dans la sécurisation de prise en charge médicamenteuse des patients à risque

Sixtine Gilliot

► To cite this version:

Sixtine Gilliot. Du développement des méthodes de dosage à la modélisation pharmacocinétique dans la sécurisation de prise en charge médicamenteuse des patients à risque. Médecine humaine et pathologie. Université de Lille, 2023. Français. NNT : 2023ULILS009 . tel-04138808

HAL Id: tel-04138808

<https://theses.hal.science/tel-04138808>

Submitted on 23 Jun 2023

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.



**UNIVERSITE DE LILLE
ECOLE DOCTORALE BIOLOGIE SANTE**

2023

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

Spécialité

Pharmacie en Sciences du Médicament et des autres Produits de Santé

**Du développement des méthodes de dosage
à la modélisation pharmacocinétique
dans la sécurisation de prise en charge médicamenteuse
des patients à risque**

Soutenue publiquement par Sixtine Gilliot

Le 17/01/2023

Membres du Jury :

Directeur : M. le Professeur Pascal ODOU

**Rapporteurs : Mme le Professeur PROT-LABARTHE Sonia
M. le Docteur SOULAIROL Ian**

**Examineurs : Mme le Professeur FERNANDEZ Christine
M. le Professeur STORME Laurent
Mme le Docteur DANEL Cécile**



Remerciements

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à mon directeur de thèse, le Professeur Odou. Je vous remercie de m'avoir encadré, orienté, conseillé et de m'avoir accordé votre confiance depuis le début de mon internat. Merci pour toutes les opportunités que vous m'avez offertes tout au long de mon cursus.

J'adresse mes sincères remerciements et je souhaite exprimer toute ma gratitude :

Au Professeur Christine Fernandez, pour l'intérêt et l'expertise qu'elle a accepté de porter à ce mémoire et de l'honneur qu'elle m'a accordé en présidant ce jury de thèse de Doctorat. Qu'elle soit assurée de ma sincère reconnaissance.

Au Docteur Ian Soulairol, pour l'intérêt qu'il a porté à ce mémoire en acceptant d'en être le rapporteur. C'est un honneur pour moi de vous compter parmi les membres de ce jury, je vous remercie l'expertise que vous porterez sur ce travail.

Au Professeur Sonia Prot-Labarthe, pour avoir accepté d'être rapporteur de ce travail, et pour ces belles années passées ensemble à la Commission Junior de la Société Française de la Pharmacie Clinique. Ce fut une immense joie de travailler avec toi, je te remercie pour la confiance que tu m'as accordée au cours de ces années et je suis profondément touchée que tu aies répondu positivement à mon invitation pour rapporter ce travail.

Au Professeur Laurent Storme, pour me faire l'honneur une fois de plus d'être membre de mon jury de thèse, pour ma thèse de Doctorat cette fois. Je vous remercie de m'avoir offert l'opportunité de m'investir professionnellement dans votre unité de soins et de m'y épanouir personnellement. Soyez assuré de ma sincère reconnaissance.

Au Docteur Cécile Danel, pour avoir accepté de participer à ce jury de thèse et de juger ce travail et au plaisir de nos futures collaborations. Qu'elle soit assurée de ma sincère reconnaissance.

Au Docteur Christine Barthélémy pour m'avoir fait l'honneur de relire ce travail et pour son soutien et sa disponibilité pour partager ses connaissances et son expérience, et la qualité des travaux qu'elle m'a permis de rédiger.

À ma famille, ma sœur, mes parents, mes grands-parents, et mon frère pour leur soutien inconditionnel depuis toujours. Vous m'avez toujours apporté une écoute attentive et vous avez contribué fortement à l'aboutissement de ces années d'étude, je vous en suis extrêmement reconnaissante.

À mes amis, anciens co-internes, à l'équipe de réanimation néonatale du CHU de Lille, à l'équipe de pharmacie clinique du CHU et toutes les personnes qui ont partagé un peu de leur temps à m'encourager pendant ces années.

À Candice, Clémence, Laura, Anthony, Natacha, Manon, Vincent, Laure, Agathe, Morgane, vous avez été en première ligne pour me soutenir ces 3 dernières années et au cours de mon internat, je vous remercie d'avoir été là tout ce temps.

À Monsieur le Professeur Nicolas Simon, Monsieur le Docteur Damien Lannoy, Monsieur le Professeur Bertrand Décaudin, pour leur bienveillance, et les connaissances et compétences qu'ils m'ont transmises au cours de ces dernières années.

Alex, merci d'avoir supporté mes hauts et mes bas et de croire en moi chaque jour.

Résumé

Les erreurs médicamenteuses peuvent survenir à chaque étape du circuit des produits de santé à l'hôpital, et engendrer des événements indésirables dont les conséquences peuvent être fatales pour les patients. Des actions peuvent prévenir la survenue de ces erreurs et optimiser l'usage des médicaments. Cette thèse rassemble des travaux dont la finalité était de sécuriser la thérapeutique en minimisant les situations à risque liées soit au médicament soit au patient lui-même.

La sécurisation de la thérapeutique a été investiguée au niveau de la préparation des médicaments en services de soins critiques au travers de deux moyens de sécurisation. Le premier moyen est un automate de contrôle-qualité des médicaments injectables préparés en services de soins, le DrugLog® (Pharmacolog, Suède). La calibration de l'automate a été conduite en laboratoire et une étude de robustesse et de faisabilité clinique a été conduite dans un service de réanimation néonatale. Parmi les médicaments testés, 11/15 ont pu être calibrés. Au cours de l'étude clinique, 9 médicaments ont été étudiés et 68,90% des préparations étaient conformes aux limites d'acceptabilité quantitatives fixées. Des limites, détaillées dans le travail qui suit, ont conduit à sursoir son utilisation en routine ; cependant, plusieurs qualités font de cet automate un outil innovant et intéressant pour qualifier les équipes de soins en situations de simulation. Le second moyen pour sécuriser la préparation a été d'étudier la possibilité de centraliser les préparations au sein de la pharmacie à usage intérieur. La stabilité de ces solutions injectables prêtes à l'emploi a été étudiée ; quatre études de stabilité ont été conduites sur l'insuline asparte diluée à 1 UI/mL, la dobutamine à 10 mg/mL, la noradrénaline à 0,2 et 0,5 mg/mL, le midazolam à 1 mg/mL. La stabilité physico chimique et microbiologique a été évaluée sur 1 an dans deux conditionnements : des seringues en polypropylène (PP), dans le but de préparer des solutions prêtes à l'emploi, et des flacons en copolymère oléofine cyclique (COC), dont les propriétés sont intéressantes pour le stockage des médicaments injectables et pour lesquels le remplissage est automatisé. Ces études montraient que l'utilisation de flacons en COC permettait une stabilité sur le long terme, meilleure que celle conférée par les seringues en PP. L'utilisation d'un automate dédié pour le remplissage de ces flacons permet un rendement important de fabrication et assure

une préparation dans un environnement aseptique contrôlé. Ces travaux encouragent le développement de la fabrication hospitalière en série.

La sécurisation de la thérapeutique a également été étudiée pour connaître la possibilité d'optimiser le schéma thérapeutique d'un médicament à risque utilisé en situation critique. Cette sécurisation a été investiguée au travers d'un cas particulier, l'acide tranexamique (TXA) à visée curative dans l'hémorragie du *per partum*. Une étude pilote monocentrique ouverte et une étude multicentrique double aveugle randomisée et contrôlée ont été menées dans le cadre de l'essai TRACES (*TRANexamic acid in hemorrhagic CESarean section*). Le TXA a été administré en bolus unique chez les patientes sélectionnées puis des dosages sanguins et urinaires ont été effectués. Une modélisation non linéaire à effet mixte paramétrique a été réalisée. Le modèle pharmacocinétique du TXA a pu être validé et des covariables influençant la variabilité des paramètres pharmacocinétiques ont été déterminées : la clairance à la créatinine et le poids réel avant grossesse. Ce travail a conduit à l'hypothèse d'une double élimination du TXA par le compartiment central qui peut être expliquée par une fuite dans le sang hémorragique utérin. La rapide diminution des concentrations plasmatiques encourage la répétition d'une dose de 1g en cas de poursuite du saignement au cours de la 1^{ère} heure.

Mots clés : Erreur médicamenteuse – médicament injectable – préparation des médicaments – pharmacocinétique – sécurité du patient – stabilité des médicaments.

Abstract

Medication errors can occur at any stage of the healthcare product circuit in the hospital and can lead to adverse events with potentially fatal consequences for patients. Some actions can prevent the occurrence of these errors and optimize the use of drugs. This thesis brings together studies that led to secure the use of high-risk medications and the therapeutic strategies in high-risk patients.

The safety of drug preparation was investigated in critical care services using two ways. First, the DrugLog[®] (Pharmacolog, Sweden), an automated quality control system for injectable drugs prepared in care units, was evaluated in a neonatal intensive care unit. It allows the rapid identification and quantification of drugs in solution. The calibration of the DrugLog[®] was performed in the laboratory. Robustness and clinical feasibility studies were conducted in the unit. Among the medications, 11 were calibrated out of 15 evaluated; during the clinical study, 9 medications were studied and 68,90% of the preparations met the quantitative acceptance limits. Technical limitations, detailed in the following work, led to the postponement of its routine use; however, several qualities make this system an innovative and interesting tool for qualifying care teams in simulation situations. The second way to secure the drug preparation step was to assess the possibility of centralizing the preparations within the hospital pharmacy. With this aim in view, we evaluated the long-term stability of ready-to-use injectable solutions. Four stability studies were performed on insulin aspartate diluted at 1 IU/mL, dobutamine at 10 mg/mL, noradrenaline at 0.2 and 0.5 mg/mL, and midazolam at 1 mg/mL. The physicochemical and microbiological stability was evaluated over 1 year in two types of packaging: polypropylene (PP) syringes, to prepare ready-to-use solutions, and cyclic olefin copolymer (COC) vials, whose properties are interesting for the storage of injectable drugs and for which the filling is automated. These studies showed that the use of COC vials allowed for better long-term stability than that conferred by PP syringes. Using a dedicated automated filling machine for these vials allows for a significant manufacturing yield and ensures preparation in a controlled aseptic environment. This work encourages the development of hospital mass production.

The feasibility of optimizing the therapeutic regimen of a high-risk drug used in a critical situation was investigated through a particular case, tranexamic acid (TXA) for curative purposes in per partum hemorrhage. A single-center open-label pilot study

and a double-blind randomized controlled multicenter study were performed as part of the TRACES (TRAnexamic acid in hemorrhagic CESarean section) trial. TXA was given as a single bolus in selected patients and blood and urine TXA concentrations were determined. Nonlinear parametric mixed-effect modeling was performed. The pharmacokinetic model of TXA was validated and covariates influencing the variability of the pharmacokinetic parameters were identified: the creatinine clearance and the total body weight before pregnancy. This work led to the hypothesis of a double elimination of TXA by the central compartment which can be explained by leakage into the uterine hemorrhagic blood. The rapid decrease in plasmatic concentrations encourages to repeat dose of 1g TXA during the first hour if bleeding doesn't stop.

Key words : Medication error – injectable drug – drug compounding – drug stability – pharmacokinetics – patient safety.

Sommaire

LISTE DES FIGURES	7
LISTE DES TABLEAUX	11
LISTE DE ABREVIATIONS	13
INTRODUCTION	15
1. DEFINITION DE L'ERREUR MEDICAMENTEUSE.....	15
2. CULTURE DE L'ERREUR MEDICAMENTEUSE	18
3. ÉTIOLOGIES DE L'ERREUR MEDICAMENTEUSE ET LEURS MOYENS DE PREVENTION ...	19
3.1. <i>Le choix des patients</i>	24
3.1.1. Les populations écartées des essais cliniques de phase III en France.	24
3.1.2. Les populations de soins critiques	25
3.1.3. Les facteurs communs pour ces deux typologies de patients	25
3.2. <i>Les médicaments à haut risque</i>	26
4. CONCLUSION	28
5. ORGANISATION DU TRAVAIL DE THESE	28
PARTIE I : MESURES VISANT À AMÉLIORER LA SÉCURITE D'EMPLOI DES MÉDICAMENTS DURANT L'ÉTAPE DE PRÉPARATION	29
1. QUALIFICATION ET EVALUATION D'UN AUTOMATE PERMETTANT UN CONTROLE QUALITE EN ROUTINE DES SOLUTIONS MEDICAMENTEUSES INJECTABLES, PREPAREES DANS LES SERVICES DE SOINS.....	31
1.1. <i>Contexte</i>	31
1.1.1. La sécurisation de l'étape de préparation des médicaments injectables en réanimation néonatale	31
1.1.2. Les audits reposant sur l'observation des pratiques de préparation extemporanée des médicaments injectables en néonatalogie	36
1.1.3. Les audits reposant sur la mesure des concentrations des médicaments injectables obtenus par préparation extemporanée en néonatalogie.....	36
1.1.4. L'état des connaissances sur les applications du DrugLog® dans la littérature.....	37
1.2. <i>La qualification et évaluation d'un automate permettant un contrôle qualité en routine des solutions médicamenteuses injectables.</i>	39
1.2.1. Présentation et principe de fonctionnement.....	39

1.2.2. Expression des résultats.....	43
1.2.3. Objectif.....	44
1.2.4. Méthode.....	44
1.2.4.1. Cadre de l'étude	44
1.2.4.2. Partie technique : qualification au laboratoire.....	45
1.2.4.3. Choix des molécules et des concentrations	45
1.2.4.4. Calibration des gammes d'étalonnage	45
1.2.5. Partie clinique	49
1.2.5.1. Cadre de l'étude	49
1.2.5.2. Génération des prescriptions.....	49
1.2.5.3. Nature des erreurs détectées.....	50
1.2.5.4. Analyses statistiques.....	52
1.3. Résultats	54
1.3.1. Partie analytique	54
1.3.1.1. Choix des spécialités commerciales et des concentrations.....	54
1.3.1.2. Calibration des gammes.....	59
1.3.1.3. Contrôle qualité des gammes.....	60
1.3.2. Partie clinique	63
1.3.2.1. Analyse qualitative : analyse des erreurs d'identification	63
1.3.2.2. Analyse quantitative : analyse des erreurs de précision.....	68
1.3.2.3. Analyses statistiques.....	70
1.4. Discussion.....	75
1.4.1. Avantages et limites du DrugLog®	75
1.4.1.1. Avantages du DrugLog®	75
1.4.1.2. Limites identifiées au cours de l'étape de qualification	75
1.4.2. Avantages et limites de la méthodologie.....	79
1.4.2.1. Avantages de la méthodologie	79
1.4.2.2. Limites de la méthodologie.....	81
1.4.3. Discussion de l'analyse quantitative de l'étude clinique et biais d'interprétation.....	85
1.4.4. Synthèse du potentiel d'applicabilité du DrugLog® dans l'unité de réanimation néonatale du CHU de Lille.....	88
1.4.4.1. Le DrugLog® comme outil de prévention des erreurs médicamenteuses	88
1.4.4.2. Le DrugLog® comme outil de formation des équipes	93

1.5. Conclusion et perspectives	94
1.6. Optimisation des protocoles de préparation des médicaments injectables en service de soins	95
1.6.1. Étude des facteurs influençant la précision des concentrations médicamenteuses lors de la préparation de médicaments injectables selon les pratiques d'un service de soins, exemple de la noradrénaline.	95
1.6.2. Proposition de bonnes pratiques de préparation à appliquer dans les services de soins pour assurer une précision correcte de la concentration médicamenteuse finale destinée au patient.....	104
1.7. Synthèse	108
2. ÉTUDES DE STABILITE SUR LE LONG TERME DE SOLUTIONS INJECTABLES PRETES A L'EMPLOI EN VUE D'UNE CENTRALISATION DES PREPARATIONS INJECTABLES.	110
2.1. Introduction	110
2.1.1. Contexte	110
2.1.2. Historique des CIVAS	113
2.1.3. Enjeux des CIVAS	113
2.1.3.1. La qualité microbiologique.....	113
2.1.3.2. La protection du personnel soignant	114
2.1.3.3. La mise en place d'un processus qualité et de points de contrôle	115
2.1.3.4. Une optimisation des coûts et des ressources humaines.....	115
2.1.4. Conclusion	115
2.2. Objectifs	116
2.3. Méthode Générale	116
2.3.1. Spécialités commerciales et concentrations cibles	116
2.3.2. Contenants	117
2.3.2.1. Les conditionnements en polypropylène	117
2.3.2.2. Les conditionnements en copolymère oléfine cyclique.....	119
2.3.2.3. Les méthodes de remplissage utilisées au cours de l'étude.....	120
2.3.3. Essais de stabilité physico chimique et microbiologique relatifs aux préparations injectables.....	122
2.3.3.1. Préparation des solutions et conditions opératoires	122
2.3.3.2. Étude de la stabilité chimique : développement et validation de méthode	124
2.3.3.3. Interprétation des résultats obtenus au cours de l'étude de stabilité chimique	129

2.3.3.4. Contamination particulaire : les particules visibles	129
2.3.3.5. Contamination particulaire : les particules sub-visibles	129
2.3.3.6. Mesure de l'osmolalité et du pH des solutions	130
2.3.3.7. Essais de stérilité	130
2.4. <i>Résumé des études de stabilité sur le long terme présentées dans cette thèse.</i>	131
2.4.1. L'étude de stabilité sur le long terme du midazolam à 1 mg/mL dans des flacons de COC et des seringues en PP	132
2.4.1.1. Contexte et objectif.....	132
2.4.1.2. Résultats et conclusion	132
2.4.2. L'étude de stabilité sur le long terme de la noradrénaline à 0,2 et 0,5 mg/mL dans des flacons de COC et des seringues en PP.	154
2.4.2.1. Contexte et objectif.....	154
2.4.2.2. Résultats et conclusion	154
2.4.3. L'étude de stabilité sur le long terme de la dobutamine à 10 mg/mL dans des flacons de COC et des seringues en PP.....	176
2.4.3.1. Contexte et objectif.....	176
2.4.3.2. Résultats et conclusion	176
2.4.4. L'étude de stabilité sur le long terme d'une solution prête à l'emploi d'insuline aspartate à 1 U/mL	200
2.4.4.1. Contexte et objectifs.....	200
2.4.4.2. Résultats et discussion.....	200
2.5. <i>Conclusion sur l'ensemble des études de stabilité</i>	228

PARTIE II : ÉVALUATION DE LA CONTRIBUTION DE LA MODÉLISATION DANS L'OPTIMISATION DE L'EMPLOI DES MÉDICAMENTS INJECTABLES 230

1. LA MODELISATION PHARMACOCINETIQUE POPULATIONNELLE POUR OPTIMISER LES SCHEMAS THERAPEUTIQUES DES MEDICAMENTS INJECTABLES.	232
1.1. <i>Principe de l'individualisation thérapeutique et bases physiologiques de la pharmacocinétique</i>	232
1.2. <i>Outils de modélisation pharmacocinétique</i>	236
1.2.1. L'approche non compartimentale.....	236
1.2.1.1. Théorie	236
1.2.1.2. Détermination du TMS.....	238
1.2.2. L'approche compartimentale.....	240

1.2.2.1. Définition des paramètres : volume, constantes de transfert, constantes d'élimination et clairance.....	241
1.2.2.2. Représentation des modèles compartimentaux	242
1.3. <i>Introduction à la pharmacocinétique populationnelle</i>	247
1.3.1. Intégration du concept statistique à la modélisation : le modèle pharmacostatistique.....	248
1.3.1.1. Considérations purement statistique sur la fonction de vraisemblance.	248
1.3.1.2. Application à la pharmacocinétique de la fonction de vraisemblance.	248
1.3.1.3. Considération purement statistique pour établir une loi de probabilité <i>a posteriori</i>	250
1.3.1.4. Application à la pharmacocinétique d'une loi de probabilité <i>a posteriori</i>	251
1.3.2. Approche paramétrique, non paramétrique	251
1.3.3. Gestion des erreurs liées au principe de modélisation.....	252
1.3.4. Individualisation de la modélisation par intégration de covariables.....	253
1.3.5. Critères de choix d'un modèle.....	255
1.3.5.1. L'algorithme d'espérance-maximisation	255
1.3.5.2. Les critères d'information	257
1.3.5.3. La matrice d'information de Fisher	258
1.3.6. Critères de validation d'un modèle.....	259
1.3.6.1. Les graphiques diagnostiques.....	259
1.3.6.2. La validation interne du modèle par bootstrap.....	260
1.4. <i>Schéma de synthèse de la méthodologie employée pour conduire la modélisation pharmacocinétique</i>	260
2. LA PHARMACOCINETIQUE DE L'ACIDE TRANEXAMIQUE EN CURATIF DANS L'HEMORRAGIE DU POST-PARTUM	262
2.1. <i>Contexte</i>	262
2.1.1. Pathologie et prise en charge	262
2.1.2. Place du TXA dans la prise en charge de l'HPP	262
2.1.3. Mode d'action du TXA.....	264
2.1.4. Pharmacocinétique du TXA	265
2.1.5. Présentation de l'essai TRACES	266
2.2. <i>Objectifs</i>	266

2.3. <i>Méthodologie générale</i>	267
2.3.1. Conception des études	267
2.3.2. Recrutement et inclusion	267
2.3.3. Collecte des données	268
2.3.4. Analyse des échantillons	269
2.3.5. Modélisation pharmacocinétique compartimentale par approche populationnelle.....	269
2.3.6. Simulations de Monte Carlo.....	272
2.3.7. Modélisation pharmacocinétique non compartimentale	273
2.3.8. Recherche d'un critère PKPD	273
2.4. <i>Résultats</i>	274
2.4.1. Patientes.....	274
2.4.1.1. Étude I.....	275
2.4.1.2. Étude II.....	275
2.4.2. Résultats pour le modèle structurel.....	275
2.4.2.1. Étude I.....	275
2.4.2.2. Étude II.....	276
2.4.3. Résultats pour le modèle avec covariable	277
2.4.3.1. Étude I.....	277
2.4.3.2. Étude II.....	277
2.4.4. Simulations de Monte Carlo pour le modèle de l'étude II.....	278
2.4.5. Analyse non compartimentale.....	279
2.4.5.1. Étude I.....	279
2.4.5.2. Étude II.....	279
2.5. <i>Discussion et conclusion</i>	279
3. ARTICLES	282
PARTIE III. DISCUSSION	334
1. SECURISER LA PREPARATION DES MEDICAMENTS INJECTABLES A RISQUE	336
2. OPTIMISER L'ADAPTATION POSOLOGIQUE A L'AIDE DE L'APPROCHE POPULATIONNELLE.	340
3. AUTRES MOYENS DE SECURISATION DES MEDICAMENTS INJECTABLES A RISQUE ...	343
BIBLIOGRAPHIE	346
ANNEXES	366

Liste des figures

FIGURE 1 - REPRESENTATION DES RELATIONS ENTRE LES EVENEMENTS INDESIRABLES, LES EFFETS INDESIRABLES ET LES ERREURS MEDICAMENTEUSES SELON OTERO ET SCHMITT ^[6] , TRADUIT PAR S.GILLIOT.....	17
FIGURE 2 - LE MODELE DIT DU « FROMAGE SUISSE » DE J. REASON SUR LA CAUSE DES EVENEMENTS INDESIRABLES ^[16]	20
FIGURE 3 - DESCRIPTION DE L'ETAPE D'ADMINISTRATION DES MEDICAMENTS DANS UN SERVICE DE SOINS HOSPITALIER SELON LA HAUTE AUTORITE DE SANTE ^[12] , REPRODUIT PAR S. GILLIOT.	23
FIGURE 4 - DIAGRAMME D'ISHIKAWA REPRESENTANT LES ETAPES DU CIRCUIT DU MEDICAMENT ET LEURS MODES DE DEFAILLANCE ASSOCIES, EXTRAIT DE L'ARTICLE DE DE GIORGI ET AL., 2010, TRADUIT EN FRANÇAIS PAR S. GILLIOT ^[49]	33
FIGURE 5 - LE DRUGLOG® ET SA CUVETTE A USAGE UNIQUE (PHOTOGRAPHIES ISSUES DU SITE OFFICIEL DE PHARMACOLOG ^[61] , IMAGE CREEE PAR S.GILLIOT).	40
FIGURE 6 - SCHEMA RESUMANT LE PRINCIPE DE FONCTIONNEMENT DU DRUGLOG® (PRODUCTION ORIGINALE, PHOTOGRAPHIES ISSUES DU SITE OFFICIEL PHARMACOLOG, CREEE AVEC BIORENDER.COM)	43
FIGURE 7 - DESIGN DE L'EVALUATION DU DRUGLOG® DANS L'UNITE DE REANIMATION NEONATALE (PRODUCTION ORIGINALE, CREEE AVEC BIORENDER.COM).	52
FIGURE 8 - REPRESENTATION DE LA SUPERPOSITION D'UN TRACE SPECIFIQUE D'UN ECHANTILLON DE CITRATE DE CAFEINE (CONCENTRATION THEORIQUE=7,8MG/ML) AUX TRACES DE CALIBRATION DE LA CAFEINE ENREGISTRES DANS LE DRUGLOG® (PRODUCTION ORIGINALE, MONTAGE D'IMPRESSION-ECRAN EFFECTUEE AVEC LE DRUGLOG®).....	65
FIGURE 9 - REPRESENTATION DE LA SUPERPOSITION D'UN TRACE SPECIFIQUE D'UN ECHANTILLON DE NORADRENALINE (CONCENTRATION THEORIQUE=0,083 MG/ML) ET LES TRACES DE CALIBRATION DE LA NORADRENALINE DILUEE DANS DU GLUCOSE 5%.....	67
FIGURE 10 - A. DIAGRAMME QUANTILE-QUANTILE. B. DIAGRAMME DES RESIDUS EN FONCTION DES VALEURS AJUSTEES. GRAPHIQUES OBTENUS A PARTIR DU LOGICIEL R.	71
FIGURE 11 - REPRESENTATION DES VALEURS ABSOLUES DES ERREURS QUANTITATIVES DE PREPARATION SOUS FORME DE BOITES A MOUSTACHES REGROUPES PAR « SPECIALITE ».	73
FIGURE 12 - COMPARAISON STRUCTURES CHIMIQUES 2D DU CEFEPIME ET DU CEFOTAXIME	77

FIGURE 13 - DIAGRAMME DES 5M REPRESENTANT LES POINTS DE REFLEXION NECESSAIRES A LA MISE EN PLACE DU DRUGLOG® POUR IDENTIFIER LES ERREURS MEDICAMENTEUSES A PRIORI DANS UNE UNITE DE REANIMATION NEONATALE.	90
FIGURE 14 - PERMEABILITE A L'OXYGENE ET A L'AIR DU COC TOPAS® PAR RAPPORT A D'AUTRES PLASTIQUES POUR UN FILM DE 100 µM D'EPAISSEUR (EVA/PE = MULTICOUCHE ETHYLENE-VINYL ACETATE / POLYETHYLENE, PVC HARD = PVC NON PLASTIFIE, EVOH = ETHYLENE VINYL ALCOHOL COPOLYMER), D'APRES ^[101]	120
FIGURE 15 - SCHEMATISATION DU PROCESSUS DE REMPLISSAGE DES FLACONS AT-CLOSED® ISSU DE L'ARTICLE DE FEUTRY <i>ET AL</i> ^[102]	121
FIGURE 16 - TECHNIQUE DE FILTRATION SUR MEMBRANE UTILISEE LORS DES ESSAIS DE STERILITE (PRODUCTION ORIGINALE, CREEE AVEC BIORENDER.COM)	131
FIGURE 17 - RESULTATS DE L'ETUDE DE STABILITE PHYSICO-CHIMIQUE ET MICROBIOLOGIQUE DU MIDAZOLAM DILUE A 1 MG/ML AVEC DU NaCl 0,9% DANS DES SERINGUES EN POLYPROPYLENE ET DES FLACONS EN COPOLYMERE OLEOFINE CYCLIQUE CONDUITE PENDANT 365 JOURS (PRODUCTION ORIGINALE, CREEE AVEC BIORENDER.COM).....	133
FIGURE 18 - RESULTATS DE L'ETUDE DE STABILITE PHYSICO-CHIMIQUE ET MICROBIOLOGIQUE DE LA NORADRENALINE DILUEE A 0,2 MG/ML AVEC DU NaCl 0,9% DANS DES SERINGUES EN POLYPROPYLENE ET DES FLACONS EN COPOLYMERE OLEOFINE CYCLIQUE CONDUITE PENDANT 365 JOURS (PRODUCTION ORIGINALE, CREEE AVEC BIORENDER.COM).....	156
FIGURE 19 - RESULTATS DE L'ETUDE DE STABILITE PHYSICO-CHIMIQUE ET MICROBIOLOGIQUE DE LA NORADRENALINE DILUEE A 0,5 MG/ML AVEC DU NaCl 0,9% DANS DES SERINGUES EN POLYPROPYLENE ET DES FLACONS EN COPOLYMERE OLEOFINE CYCLIQUE CONDUITE PENDANT 365 JOURS (PRODUCTION ORIGINALE, CREEE AVEC BIORENDER.COM).....	157
FIGURE 20 - RESULTATS DE L'ETUDE DE STABILITE PHYSICO-CHIMIQUE ET MICROBIOLOGIQUE DE LA DOBUTAMINE DILUEE A 10 MG/ML AVEC DU NaCl 0,9% ET DU GLUCOSE 5% DANS DES SERINGUES EN POLYPROPYLENE ET DES FLACONS EN COPOLYMERE OLEOFINE CYCLIQUE CONDUITE PENDANT 365 JOURS (PRODUCTION ORIGINALE, CREEE AVEC BIORENDER.COM).	178
FIGURE 21 - RESULTATS DE L'ETUDE DE STABILITE PHYSICO-CHIMIQUE ET MICROBIOLOGIQUE DE L'INSULINE DILUEE A 1 U/ML AVEC DU NaCl 0,9% DANS DES SERINGUES EN POLYPROPYLENE ET DES FLACONS EN COPOLYMERE OLEOFINE CYCLIQUE CONDUITE PENDANT 365 JOURS (PRODUCTION ORIGINALE, CREEE AVEC BIORENDER.COM).....	202
FIGURE 22 - SCHEMATISATION DU CONCEPT DE FENETRE THERAPEUTIQUE (PRODUCTION ORIGINALE, CREEE AVEC BIORENDER.COM).	235

FIGURE 23 - PRINCIPE DE L'ANALYSE NON COMPARTIMENTALE, DE LA METHODE LINEAIRE DES TRAPEZES ET DE LA METHODE LOG-LINEAIRE DES TRAPEZES (PRODUCTION ORIGINALE, CREEE AVEC BIORENDER.COM).	238
FIGURE 24 - SCHEMA RECAPITULATIF DE LA METHODOLOGIE EMPLOYEE POUR CONSTRUIRE UN MODELE PHARMACOCINETIQUE PAR APPROCHE POPULATIONNELLE (PRODUCTION ORIGINALE, CREEE AVEC BIORENDER.COM).	261
FIGURE 25 - MECANISME D'ACTION ANTI FIBRINOLYTIQUE DE L'ACIDE TRANEXAMIQUE (PRODUCTION ORIGINALE, CREEE AVEC BIORENDER.COM).	265
FIGURE 26 - REPRESENTATION DES MODELES COMPARTIMENTAUX TESTES JOURS (PRODUCTION ORIGINALE, CREEE AVEC BIORENDER.COM).	270
FIGURE 27 - MEILLEUR MODELE STRUCTUREL : MODELE BI-COMPARTIMENTAL AVEC DOUBLE ELIMINATION DU COMPARTIMENT CENTRAL (PRODUCTION ORIGINALE, CREEE AVEC BIORENDER.COM)	276
FIGURE 28 - LES SIMULATIONS DE MONTE CARLO POUR LE MODELE STRUCTUREL POUR 1000 INDIVIDUS.....	278

Liste des tableaux

TABLEAU 1 - EXEMPLE ILLUSTRANT LA DIFFERENCE ENTRE ERREUR LATENTE, POTENTIELLE OU AVEREE	16
TABLEAU 2 - PLAN D'EXPERIENCE CONDUIT POUR CHAQUE CALIBRATION DE GAMME.	47
TABLEAU 3 - PLAN D'EXPERIENCE CONDUIT POUR CHAQUE CONTROLE QUALITE SITUE ENTRE DEUX NIVEAUX DE CALIBRATION.	49
TABLEAU 4 - PLAN D'EXPERIENCE DE L'ANALYSE DE COVARIANCE A DEUX FACTEURS	53
TABLEAU 5 - LISTE DES QUINZE SPECIALITES COMMERCIALES REpondANT AUX CRITERES D'INCLUSION DANS L'ETUDE.	55
TABLEAU 6 - LISTE DES LOTS DE SPECIALITES COMMERCIALES UTILISES LORS DES ETAPES DE CALIBRATION ET DE VALIDATION.	58
TABLEAU 7 - RESULTATS DE L'ETAPE DE VALIDATION DE LA METHODE POUR LES ONZE SPECIALITES COMMERCIALES CALIBREES.	61
TABLEAU 8 - RESULTATS DE L'IDENTIFICATION DES SOLUTIONS MEDICAMENTEUSES INJECTABLES PAR LE DRUGLOG® A PARTIR DU MODULE « IDENTIFIER ».....	64
TABLEAU 9 - REPRESENTATION DES PROPORTIONS D'ANALYSES PRESENTANT DES VALEURS ABSOLUES D'ERREURS QUANTITATIVES DE PREPARATION ACCEPTABLES PAR GROUPE DE « SPECIALITE » ET DE « CONCENTRATION ATTENDUE » (N=304).....	69
TABLEAU 10 - RESULTATS DE L'ANOVA A DEUX FACTEURS EMBOITES (LOGARITHME NEPERIEN DE LA VALEUR ABSOLUE DE L'ERREUR QUANTITATIVE DE PREPARATION ~ FACTEUR « CONCENTRATION ATTENDUE » EMBOITE DANS FACTEUR « SPECIALITE »)	70
TABLEAU 11 - PRESENTATION DES CONDITIONS OPERATOIRES POUR LES QUATRE ETUDES DE STABILITE MENEES.	123
TABLEAU 12 - EXEMPLE DE PLAN D'EXPERIENCE POUR UNE GAMME DE CALIBRATION, N=6.125	
TABLEAU 17 - REPRESENTATION GENERALE DES MODELES COMPARTIMENTAUX USUELLEMENT UTILISES EN PHARMACOCINETIQUE CLINIQUE APRES UNE ADMINISTRATION INTRAVEINEUSE DIRECTE (BOLUS).....	244
TABLEAU 18 - COVARIABLES TESTEES POUR INTEGRATION DANS LE MEILLEUR MODELE STRUCTUREL DANS LES ETUDES I ET II.....	271
TABLEAU 19 - DEFINITION DES GROUPES EN FONCTION DE L'ETAT DU SAIGNEMENT DES PATIENTS INCLUS DANS L'ETUDE TRACES DANS L'ETUDE II.274	

Liste de abréviations

AFSAPPS	Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé
AIC	<i>Akaike Information Criterion</i>
AMM	Autorisation de Mise sur le Marché
ANC	Approche non compartimentale
ANOVA	Analyse de la variance
ANSM	Agence Nationale de Sécurité des Médicaments et des produits de santé
APS	<i>Accerelated Predictive Stability</i>
ASC	Aire sous la courbe
ASMC	Aire sous la courbe du moment statistique
BIC	<i>Bayesian Informatiion Criterion</i>
BR%	Biais relatif en %
Cc	Concentration
CIVAS	<i>Centralized intravenous additive service</i>
CHU	Centre hospitalier universitaire
COC	Copolymère Cyclo-Oléfinique
CQ	Contrôle qualité
DLU	Date limite d'utilisation
EIG	Évènement indésirable grave
EIM	Évènement indésirable Médicamenteux
EM	Erreur Médicamenteuse
EMA	<i>European Medecines Agency</i>
EPP	Evaluation des Pratiques Professionnelles
EPPI	Eau Pour Préparations Injectables
EQP	Erreur Quantitative de Précision
ER%	Erreur relative en %
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
G5%	Glucose 5%
GERPAC	Groupe d'Evaluation et de Recherche sur la Protection en Atmosphère Contrôlée
GRITA	Groupe de recherche sur les formes injectables et les technologies associées
HAS	Haute Autorité de Santé
CHLP-UV	Chromatographie liquide haute performance à détection UV
HPP	Hémorragie du Post Partum
HSHC	Hémisuccinate Hydrocortisone
IC	<i>Information Criterion</i>
IC95%	Intervalle de confiance à 95%

ICH	<i>International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use</i> Conseil International sur l'harmonisation
ISMP	<i>Institute for Safe Medication Practices</i>
IDE	Infirmier/Infirmière diplômé(e) d'Etat
IM	Intramusculaire
IV	Intraveineux
LAP	Logiciel d'Aide à la Prescription
LD	Limite de Détection
LQ	Limite de Quantification
NC	Niveau Critique
NPDE	<i>Normalized Predicted Distribution Error</i>
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
PK	Pharmacocinétique
PD	Pharmacodynamie
Ph. Eur	Pharmacopée Européenne
PKPD	Pharmacocinétique/Pharmacodynamie
PP	Poly Propylène
PSE	Pousse Seringue Électrique
PTZ	Pipéracilline/Tazobactam
PUI	Pharmacie à Usage Intérieur
RCP	Résumé des Caractéristiques du Produit
RR	Risque Relatif
SAEM	Algorithme d'espérance-maximisation par approximation stochastique <i>Stochastic Approximation of Esperance-Maximization</i>
SCE	Somme des Carrés des Ecart
SFPC	Société Française de Pharmacie Clinique
STP	Suivi Thérapeutique Pharmacologique
TMA	Temps Moyen d'Absorption
TME	Temps Moyen d'Élimination
TMS	Temps Moyen de Séjour
TRACES	<i>Tranexamic acid in hemorrhagic cesarean section</i>
TXA	Acide Tranexamique
UV	Ultra Violet
VIF	Facteur d'Inflation de Variance
VPC	<i>Visual Predictive Check</i>

Introduction

1. Définition de l'erreur médicamenteuse.

L'institution *National Coordinating Council for Medication Error and Prevention* fondée par la *United States Pharmacopeia Convention* définit, pour la première fois, la notion d'erreur médicamenteuse (EM) en 1995. Selon cette définition, « une erreur médicamenteuse est un événement évitable qui pourrait causer ou entraîner l'utilisation inappropriée d'un médicament ou à un préjudice au patient [...]. Les erreurs médicamenteuses peuvent être liées à la pratique professionnelle, aux médicaments, aux procédures et aux systèmes incluant la prescription, la communication de l'ordonnance, l'étiquetage, l'emballage et la nomenclature du produit, la préparation, la délivrance, la distribution, l'administration, la surveillance et l'usage »^[1].

La Société Française de Pharmacie Clinique (SFPC) s'est approprié cette définition et l'a déclinée selon la formule suivante : « L'erreur médicamenteuse est un écart par rapport à ce qui aurait dû être fait au cours de la prise en charge thérapeutique médicamenteuse du patient. L'erreur médicamenteuse (EM) est l'omission ou la réalisation non intentionnelle d'un acte relatif à un médicament, qui peut être à l'origine d'un risque ou d'un événement indésirable pour le patient »^[2].

En 2009, l'Agence Française de Sécurité Sanitaire et des Produits de Santé (AFSSAPS), a proposé une définition simplifiée de ce concept. Elle décrit l'EM comme « l'omission ou la réalisation non intentionnelle d'un acte survenu au cours du processus de soins impliquant un médicament, qui peut être à l'origine d'un risque ou d'un événement indésirable pour le patient »^[3].

Par la suite, une dimension réglementaire a été attribuée à la notion d'EM dans le Code de la Santé Publique, par application du décret n°2012-1244 du 8 novembre 2012. Selon cette nouvelle définition, une EM est reconnue comme étant « une erreur non intentionnelle d'un professionnel de santé, d'un patient ou d'un tiers, selon le cas, survenue au cours du processus de soin impliquant un médicament ou un produit de santé mentionné à l'article R. 5121-150, notamment lors de la prescription, de la dispensation ou de l'administration »^[4].

Ces définitions ont en commun le caractère évitable d'un acte non intentionnel préjudiciable à la santé du patient, impliquant un produit de santé et pouvant survenir à toute étape du circuit des produits de santé.

Une EM peut se révéler par trois types de situations et trois types de conséquences :

- **L'erreur latente** ou risque d'erreur se caractérise par une observation témoignant d'un danger pour le patient : c'est un événement, auquel le patient peut être exposé, aux conséquences négatives définies par leur probabilité et leur gravité ; dans le cas d'une erreur latente, aucun dommage n'est subi par le patient.
- **L'erreur potentielle** est une erreur interceptée avant que l'évènement ne survienne chez le patient, par exemple avant l'administration du médicament ; il s'agit d'une situation de presque-accident.
- **L'erreur avérée** est une erreur qui a eu lieu, c'est-à-dire que l'évènement s'est produit. Dans le cadre d'une EM, elle résulte par exemple de l'administration au patient d'un médicament erroné, d'une dose incorrecte, d'une voie d'administration inadaptée ou d'un schéma thérapeutique corrigible.

Les trois situations illustrant ces différents niveaux d'EM sont présentées dans le Tableau 1.

Tableau 1 – Exemples de situation illustrant la différence entre erreur latente, potentielle ou avérée

Type d'erreur	Exemple
Erreur latente	Un risque de confusion a été détecté entre : <ul style="list-style-type: none">• le sildénafil gélule dosé à 1 mg par gélule et dont le contenu était destiné à être dissous dans 1 mL d'eau : préparation extemporanée à 1 mg/mL,• le Revatio® à 10 mg/mL, sans administration effectuée.
Erreur potentielle	Le flacon de Revatio® 10 mg/mL a été délivré pour un patient donné et l'erreur a été interceptée par l'IDE avant l'administration.
Erreur avérée	1 mL de Revatio® 10 mg/mL a été administré au nouveau-né au lieu de la gélule dosée à 1 mg, dont le contenu doit être dilué dans 1 mL d'eau.

Il est nécessaire de différencier une EM d'un événement indésirable médicamenteux (EIM). Un EIM est un événement impliquant un médicament, évitable

ou non, entraînant un dommage pour le patient. À la distinction de l'EM, l'EIM peut être non évitable et engendre systématiquement un dommage chez le patient. Un EIM est défini comme « grave » (EIG) s'il est susceptible d'entraîner une hospitalisation, une prolongation d'hospitalisation, un handicap ou une incapacité à la fin de l'hospitalisation ou s'il est associé à une menace vitale ou à un décès.

Parmi les EIMs, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) distingue les « effets secondaires » des « effets indésirables médicamenteux »^[5].

Les « effets secondaires » sont définis comme des effets connus du médicament, autres que l'effet principalement recherché, en lien avec les propriétés pharmacologiques du médicament.

Les « effets indésirables médicamenteux » comprennent toute réponse nocive et non voulue à un médicament.

Une vigilance doit être portée sur la définition des termes utilisés, car ceux-ci regroupent des notions qui s'entremêlent. Une représentation des relations entre EIMs, EMs et effets indésirables selon Otero et Schmitt (2005) est présentée en Figure 1^[6].

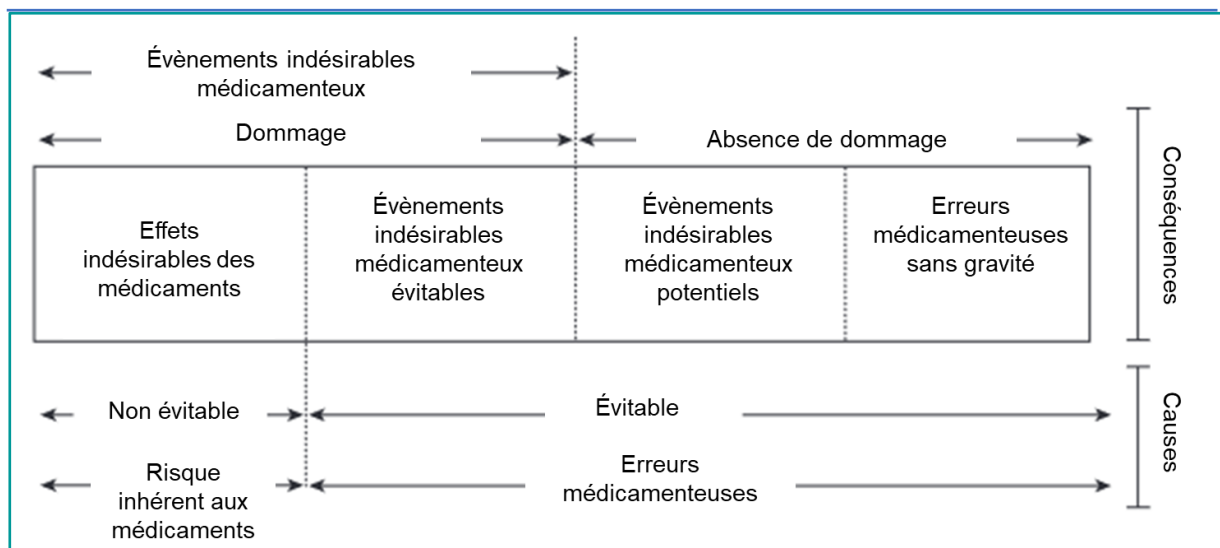


Figure 1 - Représentation des relations entre les événements indésirables, les effets indésirables et les erreurs médicamenteuses selon Otero et Schmitt^[6], traduit par S.Gilliot

Depuis les années 1990, les travaux visant à caractériser les EIMs et les EMs se sont multipliés.

2. Culture de l'erreur médicamenteuse

Quelques grandes études multicentriques ont conduit à l'élaboration et la mise en place de programmes institutionnels visant à réduire les EIMs et prévenir les EMs dans les services de soins^[7-11].

Aux États-Unis, en 1991, une large étude appelée la *Harvard Medical Practice Study* a été conduite sur 51 hôpitaux situés dans l'État de New-York avec pour objectif l'évaluation du risque iatrogène en milieu hospitalier. Elle a porté sur l'analyse rétrospective d'un échantillon de 30 121 dossiers médicaux sélectionnés de manière aléatoire. Les EIMs incluant les EMs ont été rapportés et analysés. Les résultats de cette étude ont montré que 27,6% des EIMs étaient associés à des EMs^[7]. La même année, le recueil fut complété à 30 195 dossiers médicaux. L'analyse de ce recueil complété a mis en lumière qu'un EIM survenait chez 19,4% des patients au cours d'une hospitalisation dont 17,7% étaient liés à des EMs^[8]. Enfin, une étude post-hoc portant sur les EIMs associés aux EMs permis d'extrapoler les résultats et de conclure à la survenue de 0,3 EMs par patient et par jour^[9].

En 2006, l'Alliance mondiale pour la sécurité du patient de l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) lance la démarche « High 5s » qui consiste à établir un plan d'action pour contrer cinq problèmes de sécurité du patient identifiés comme prioritaires, dont fait partie la thématique « utilisation des médicaments concentrés injectables ». En France, ce projet est porté par la Haute Autorité de Santé (HAS), qui travailla entre autres à l'élaboration d'un guide intitulé « Outils de sécurisation et d'auto-évaluation de l'administration des médicaments »^[12] et construisit le projet Med'Rec visant à sécuriser la prescription médicamenteuse aux points de transition du parcours de soins. Dans ce contexte, trois enquêtes nationales sur les événements indésirables liés aux soins (ENEIS 1, 2 et 3), menées en 2004, 2009 et 2018, ont mis en évidence l'importance de la place des EIG liés aux médicaments dans différents services de soins^[10,11]. Selon les résultats d'ENEIS 2 et 3, la densité d'incidence d'EIGs liés aux médicaments, calculée pour 1000 jours d'hospitalisation, a drastiquement diminué entre 2009 et 2018, passant de 0,7 ‰ à 0,2 ‰. Ces résultats encourageants sont le fruit de la politique de sécurisation du processus de soins qui est mise en place depuis plusieurs années.

Malgré les progrès faits en matière de sécurité, en 2012, les États-Unis estimaient le coût lié aux EMs à 42 milliards US\$, représentant 0,7% des dépenses mondiales en matière de santé^[13].

En 2017, l'OMS lance un programme d'action mondial pour la sécurité des patients^[14]. Trois situations sont ciblées par ce programme : les médicaments à haut risque, la polymédication et les points de transition du parcours de soins^[15]. Par ce programme, l'OMS cherche à obtenir l'engagement des ministres de la santé, des dirigeants des systèmes de santé, des établissements d'enseignement, des experts, des organismes de réglementation des médicaments, des chercheurs, des entreprises pharmaceutiques, des organes de représentation des patients et enfin des organisations professionnelles, dans un projet visant à réduire le niveau des dommages graves et évitables liés aux médicaments de 50 % en 5 ans.

Il est intéressant de chercher à comprendre le contexte dans lequel peuvent survenir les EIMs et les EMs pour mieux les prévenir, diminuer leur fréquence et atténuer leurs effets.

3. Étiologies de l'erreur médicamenteuse et leurs moyens de prévention

L'analyse causale des EMs met en évidence cinq grandes catégories de causes :

- Les erreurs liées au patient ;
- Les erreurs liées au médicament ;
- Les erreurs liées aux professionnels de santé ;
- Les erreurs liées au matériel ;
- Les erreurs liées aux conditions de travail

Une EM ne doit pas être considérée comme la conséquence d'une erreur humaine mais comme le résultat d'une défaillance systémique. Elle a une dimension multifactorielle et multidisciplinaire.

L'approche systémique de l'EM revient à représenter le processus de prise en charge thérapeutique d'un patient sous la forme bien connu du « fromage suisse » développé par J. Reason^[16] (Figure 2).

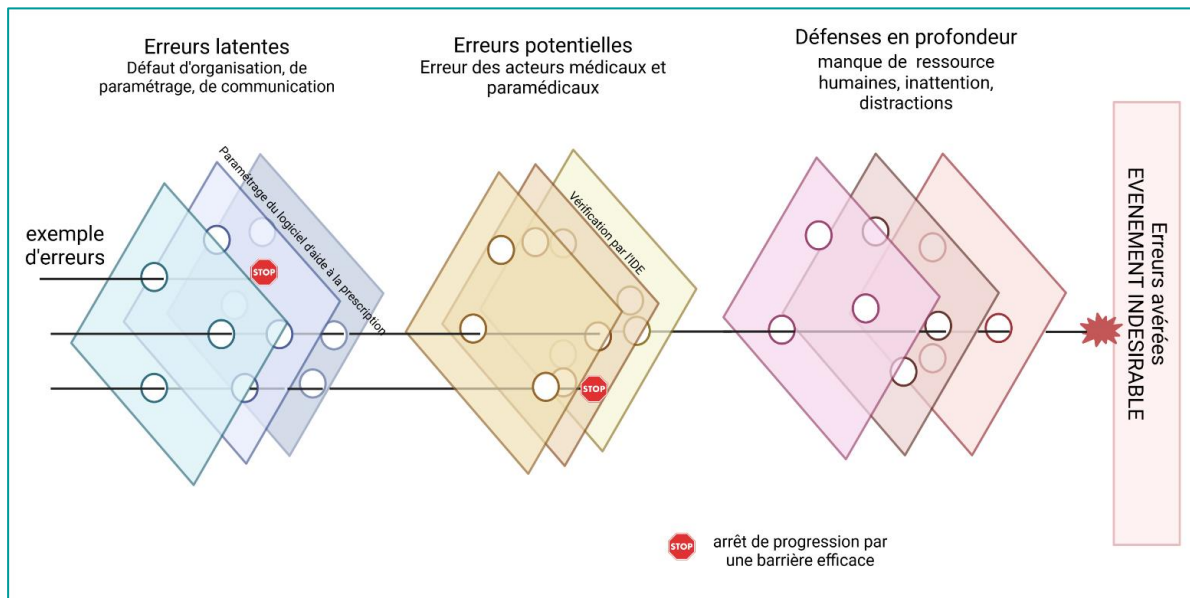


Figure 2 - Le modèle dit du « Fromage Suisse » de J. Reason sur la cause des évènements indésirables [16]

L'idée de ce modèle est que tout système complexe met en jeu de nombreuses ressources et implique de nombreux acteurs dont les actions vont se succéder jusqu'à ce que le patient reçoive ces soins. La sécurité du système consiste à juxtaposer ces acteurs et ressources (représentés par les plaques du fromage) afin que les faiblesses du système (représentées par les trous du fromage) ne s'alignent pas et que chaque faiblesse soit contrée par un point de sécurité pour éviter la survenue d'une erreur délétère au patient. Ce modèle montre dans quelle mesure une défaillance à un niveau du système ne suffit généralement pas à causer à elle seule un accident. Selon cette représentation, un point de faiblesse peut être rencontré à chaque étape du circuit des produits de santé dans un service de soins.

Du point de vue des services de soins, le circuit des produits de santé dans les unités de soins comporte 5 étapes : la prescription, la transmission, le stockage, l'administration, la réévaluation.

La prescription est le premier processus critique du circuit des produits de santé car c'est elle qui déclenche les autres phases du circuit des produits de santé. La prescription inclut à la fois la décision des modalités thérapeutiques pour atteindre des objectifs cibles et la rédaction de la prescription elle-même. Afin d'optimiser cette étape, le professionnel de santé prescripteur doit choisir un médicament approprié pour une situation clinique donnée, en tenant compte des facteurs individuels propres au patient (exemples : âge, fonction rénale) et des facteurs relatifs à l'environnement

hospitaliers (exemples : médicament référencés au livret thérapeutique de l'hôpital, disponibilité du médicament chez le distributeur). Une erreur de prescription peut résulter d'une erreur de saisie ou de rédaction de la prescription, d'une erreur de communication, d'une erreur d'identité du patient auquel était destinée la prescription, d'une décision thérapeutique inappropriée, par méconnaissance du médicament, ou par non-respect des recommandations en vigueur ou des procédures ; une erreur de prescription peut également résulter de facteurs humains comme la fatigue ou la rupture de tâche par exemple.

Plusieurs moyens pour prévenir les EMs à l'étape de prescription ont été développés, notamment ^[17,18]:

- le développement de la prescription informatisée grâce aux logiciels d'aide à la prescription (LAP), certifiés par la HAS comme répondant aux exigences énoncées dans le référentiel fonctionnel de certification des logiciels hospitaliers d'aide à la prescription^[19].
- la présence de pharmaciens cliniciens chargés d'effectuer une analyse pharmaceutique régulière des prescriptions médicales, d'émettre des interventions pharmaceutiques sur des problématiques pharmacothérapeutiques, d'apporter des avis pharmaceutiques sur des questionnements^[20,21] et de mettre en place des activités pharmaceutiques comme la conciliation médicamenteuse.
- le développement de systèmes informatiques experts centrés sur la pharmacie clinique interfacés aux LAP, dont les règles de décisions sont construites dans le but de prévenir la iatrogénie médicamenteuse (exemple : PharmaClass[®] de Keenturtle)^[22].

Ces moyens intègrent peu à peu le système de santé français et sont bien codifiés.

Pour optimiser de manière plus fine et individuelle la prescription médicamenteuse, notamment les médicaments à marge thérapeutique étroite, il est possible de modéliser les profils pharmacologiques individualisés des patients pour prédire leur réponse probable à un schéma thérapeutique donné. Il est possible d'imaginer que les systèmes d'aide à la décision clinique intègrent à terme le suivi thérapeutique pharmacologique des médicaments. En effet, les médicaments dont la fenêtre thérapeutique est étroite risquent de ne pas atteindre la cible de manière uniforme, ce qui entraîne des résultats cliniques sous-optimaux ou parfois des toxicités

par surdosage. La variabilité interindividuelle peut rendre difficile la recherche d'un schéma posologique approprié.

L'adaptation posologique par approche populationnelle peut permettre de trouver le schéma thérapeutique le plus approprié pour un patient ou un ensemble de patients. Cette démarche repose sur des études de pharmacocinétique et de pharmacodynamie. Les études de pharmacocinétique (PK) permettent d'identifier les paramètres d'évolution du médicament dans l'organisme. Elles sont indissociables des études de pharmacodynamie (PD) qui décrivent l'effet d'un médicament en fonction du temps. L'association de ces deux types d'études (PKPD) permet de déterminer les paramètres pharmacocinétiques traduisant une efficacité clinique et une innocuité chez le patient et le meilleur schéma posologique permettant d'atteindre cette fenêtre thérapeutique.

Ainsi, la sécurisation de l'étape de prescription peut parfois être complexe, lorsque les schémas posologiques efficaces ne sont pas connus pour une population donnée.

Il est intéressant de tendre vers l'adaptation posologique individualisée mais pour ce faire, il faut d'abord choisir les médicaments qui pourraient bénéficier de cette pratique puis être en mesure de développer les études de PKPD pour ces populations en intégrant des paramètres d'individualisation.

Le processus d'administration apparaît comme le deuxième point critique du circuit du produit de santé dans les services de soins^[12] en raison de la rareté des moyens de détection des EM disponibles à cette étape et de la difficulté rencontrée pour les mettre en œuvre. Par ailleurs, il s'agit de la dernière étape qui permet de déceler et d'éviter la survenue d'une EM. La HAS considère le processus d'administration comme la succession de cinq étapes allant de la préparation extemporanée du médicament à la surveillance du patient (Figure 3).

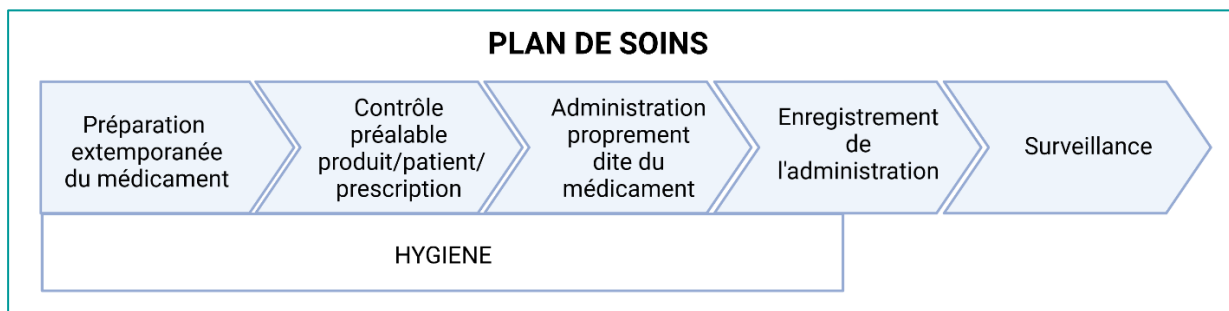


Figure 3 - Description de l'étape d'administration des médicaments dans un service de soins hospitalier selon la Haute Autorité de Santé^[12], reproduit par S. Gilliot.

D'un point de vue pharmaceutique, la préparation extemporanée des médicaments injectables est une étape particulièrement à risque d'erreurs. Quatre grands risques sont couramment identifiés : l'erreur d'étiquetage, l'erreur de médicament, l'erreur de dilution, la contamination microbiologique de la solution médicamenteuse injectable préparée.

Dans la littérature, les stratégies envisagées pour maîtriser le risque d'EMS lié à l'étape de préparation extemporanée des médicaments injectables sont²³ :

- l'évaluation des pratiques professionnelles et la formation des équipes,
- la standardisation des concentrations,
- la protocolisation des préparations,
- l'automatisation de l'étiquetage,
- la présence de pharmaciens cliniciens au sein des services de soins,
- la centralisation et l'automatisation des préparations.

D'un point de vue institutionnel, l'*Institute for Safe Medication Practices* et la HAS préconisent la standardisation des doses et l'automatisation de la production des médicaments à haut risque, afin de réduire les risques d'EM^[12,23].

Conformément à ces recommandations, la centralisation des préparations injectables au sein d'unités centralisées de reconstitution des injectables (*Central Intravenous Additive Services*, CIVAS) est envisagée par de nombreux centres hospitaliers dans le monde, mais cette pratique reste assez peu répandue en France^[24] en dehors de la production des thérapeutiques contre le cancer. En centralisant l'activité de préparation des médicaments injectables, ces services contribuent à améliorer la sécurité des patients par la qualité des préparations qu'ils assurent, à libérer du temps aux équipes paramédicales pour qu'ils puissent se

concentrer sur les soins à prodiguer aux patients, et à optimiser la gestion des reliquats des formes pharmaceutiques injectables. Cependant, cette stratégie ne peut être mise en place dans un court délai et nécessite un travail conséquent de réorganisation pour certains services de soins et pour les pharmacies.

Les paragraphes suivants présentent la stratégie de choix des patients et des médicaments pour lesquels la sécurisation des processus de prescription et d'administration a été étudiée dans ce travail de thèse.

3.1. Le choix des patients

Les facteurs de risque d'EIM associés au patient sont généralement l'âge, la prise en charge complexe, la prise en charge en urgence, le séjour hospitalier prolongé.^[25]

Pour cette thèse, deux typologies de population ont été particulièrement considérées : les populations écartées des essais cliniques de phase III en France et les populations de soins critiques.

3.1.1. Les populations écartées des essais cliniques de phase III en France

Les études cliniques accompagnant le développement d'un médicament en France se déclinent en 4 phases :

- **Phase I**, il s'agit des études chargées de l'évaluation de l'évolution de la molécule testée dans l'organisme en fonction du temps (pharmacocinétique) et de l'analyse de la toxicité sur un petit nombre de volontaires sains ;
- **Phase II**, le médicament est administré à un petit nombre de patients pour rechercher la plus petite dose efficace et observer des effets secondaires en utilisant différentes doses ;
- **Phase III**, l'efficacité et la toxicité du nouveau médicament est comparée au traitement de référence ou à un placebo (lorsqu'aucun traitement de référence n'existe) sur un grand nombre de patients malades volontaires.
- **Phase IV**, il s'agit d'essais conduits une fois l'Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) du médicament délivrée pour une indication donnée.

Les patients inclus dans les études de phase III sont sélectionnés selon des critères d'inclusion et d'exclusion. En France, certaines catégories de la population sont exclues des études cliniques de phase III pour des raisons éthiques. Il s'agit notamment des sujets âgés, des femmes enceintes et parturientes allaitantes et des enfants. Pour ces patients, l'évaluation de l'efficacité et de la tolérance des médicaments est souvent réalisée en phase IV, dans les conditions réelles d'utilisation. Il est important de conduire ces études à l'hôpital, notamment pour évaluer la comparabilité pharmacocinétique et pharmacodynamique du médicament par rapport aux études menées en phase III. Ces études de phase IV sont primordiales à l'adaptation thérapeutique pour ces populations.

3.1.2. Les populations de soins critiques

Une autre catégorie de patients à risque est représentée par les patients critiques, hospitalisés dans les services de réanimation ou de soins intensifs. Certains patients présentent des pathologies aiguës qui peuvent être rapidement décompensées par la iatrogénie et sont ainsi susceptibles de rencontrer des EIG secondairement à la survenue d'EM sans risque de gravité apparente. Chez ces patients, la iatrogénie augmente la durée d'hospitalisation et favorise l'apparition de comorbidités. Par exemple, l'utilisation d'anticoagulants chez les patients thrombopéniques qui seront à haut risque d'hémorragie, ou l'utilisation de médicaments néphrotoxiques (aminosides, vancomycine) chez les patients en choc septique avec défaillance hémodynamique secondaire peut entraîner des insuffisances rénales aiguës d'évolution fatale ou évoluant parfois vers la chronicité par atteinte des éléments fonctionnels du rein.

Ces patients de soins critiques sont susceptibles de présenter une évolution de la concentration d'un médicament dans l'organisme différente de celle décrite dans les études de phase II du développement du médicament compte tenu de leurs défaillances aiguës d'organe (défaut d'élimination ou de métabolisation), de leur état hémodynamique précaire (défaut de distribution ou, en cas de remplissages importants, risque d'apparition d'un troisième compartiment).

L'utilisation de la voie parentérale est fréquente chez ces patients et augmente le risque d'EIMs auxquels ils sont exposés.

3.1.3. Les facteurs communs pour ces deux typologies de patients

La polymédication est fréquente chez ces deux typologies de patients. Elle complexifie la prise en charge des patients car l'association des thérapeutiques peut engendrer des interactions, pharmacocinétiques ou pharmacodynamiques, susceptibles de majorer l'effet indésirable d'un médicament ou plusieurs médicaments prescrits (toxicité cumulée entre deux médicaments ou accumulation d'un ou plusieurs médicaments dans l'organisme) ou d'inhiber l'efficacité d'un ou plusieurs médicaments prescrits (compétition au niveau du site d'action, compétition au niveau du site d'absorption, compétition au niveau de la métabolisation...). L'utilisation de la voie parentérale majore ce risque car elle intègre la dimension d'incompatibilités physico-chimiques médicamenteuses. Une incompatibilité médicamenteuse est le résultat d'une réaction physico-chimique entre deux ou plusieurs molécules présentes (principes actifs, solvants, extractibles), mis en contact qui peut être responsable d'une diminution d'efficacité voire d'une inefficacité (dégradation chimique, retard d'administration par obstruction de ligne de perfusion) ou d'une toxicité (dérivés toxiques, administration de particules solides).

Chez ces patients, la gravité de l'EIM sera d'autant plus importante lorsqu'elle concernera un médicament particulièrement susceptible de provoquer des effets indésirables, couramment identifié par l'appellation « médicament à haut risque ».

3.2. Les médicaments à haut risque

Réglementairement en France, l'arrêté du 6 avril 2011, relatif au management de la qualité de la prise en charge médicamenteuse et aux médicaments dans les établissements de santé, définit les médicaments à haut risque comme des « médicaments requérant une sécurisation de la prescription, de la dispensation, de la détention, du stockage, de l'administration et un suivi thérapeutique approprié, fondés sur le respect des données de référence afin d'éviter les erreurs pouvant avoir des conséquences graves sur la santé du patient (exemples : anticoagulants, antiarythmiques, agonistes adrénergiques IV, digitaliques IV, insuline, anticancéreux, solutions d'électrolytes concentrées) »^[26].

À l'étranger, les médicaments à haut risque, sont définis sous l'appellation « High-Alert Medications ». La liste la plus connue est celle de l'Institute for Safe Medication Practices (ISMP's List of High Alert Medications), éditée en 2008 et réactualisée en 2018. Cette liste comprend les agonistes adrénergiques (adrénaline,

noradrénaline), l'insuline, les agents sédatifs administrés par voie iv (midazolam, dexmedetomidine)^[27].

Plus récemment, le gouvernement australien a utilisé l'acronyme « A PINCH » (pour Anti-infectieux, Potassium, Insuline, Narcotiques, Chimiothérapie, Héparine et anticoagulants) pour aider les cliniciens à identifier aisément ces médicaments à risque^[28].

En raison des risques liés à l'utilisation de ces médicaments, certaines règles de bon usage doivent être respectées : il est recommandé d'améliorer l'accès à l'information sur ces médicaments, de standardiser leur commande, leur stockage, leur préparation et administration, d'utiliser des étiquettes spécifiques et des alertes particulières sur les logiciels de prescription, de limiter l'utilisation et l'accès à ces produits. Plusieurs campagnes ont été lancées pour promouvoir le bon usage de ces médicaments à haut risque, dont la 100,000 Lives Campaign de 2004 à 2006, la 5 Million Lives Campaign^[29] conduite par l'Institute for Healthcare Improvement de 2006 à 2008 et aujourd'hui la campagne *Medication Without Harm* lancée par l'OMS.^[14]

Il est à noter que les listes présentées dans la littérature (ISMP's, A PINCH) ne sont pas exhaustives et que le risque associé à l'utilisation d'un médicament dépend des comorbidités du patient chez qui il est utilisé et également du service qui l'utilise.

En France, chaque établissement de santé hospitalier fixe sa propre liste de médicaments à risque. Au centre hospitalier universitaire (CHU) de Lille, les médicaments identifiés comme étant à risque sont traités de deux manières différentes en fonction du risque qu'ils représentent : les médicaments à risque pour lesquels il existe un circuit de dispensation particulier (chimiothérapie, stupéfiants et certains anti-infectieux) et ceux pour lesquels il n'y a pas de circuit particulier mais pour lesquels un mode de stockage distinctif est mis en place (anti vitamine K, anti coagulants oraux, héparine, Insuline et chlorure de potassium injectable).

Dans ce travail de thèse, ont été considérés comme médicaments à risque les médicaments injectables appartenant à la ISMP's List of High Alert Medications et les médicaments qui, du fait du contexte dans lequel ils sont utilisés (acide tranexamique dans l'hémorragie du post-partum, midazolam dans la sédation en soins intensifs) présentent un risque clinique majeur pour le patient.

4. Conclusion

La prévention des EM reste préoccupante car si de nombreuses stratégies ont été présentées ces dernières années, il reste encore beaucoup de travail pour sécuriser le circuit du médicament dans les services de soins. La probabilité de survenue d'un EIG consécutif à une EM est plus important au sein des populations à risque et si l'erreur concerne un médicament injectable à haut risque.

5. Organisation du travail de thèse

Ce travail de thèse rassemble des travaux visant à sécuriser l'utilisation des médicaments à haut risque chez les patients à risque.

La première partie du travail porte sur la sécurisation de la préparation des médicaments en services de soins critiques.

Deux moyens de sécurisation ont été considérés :

- la mise en place d'un automate de contrôle qualité des médicaments injectables préparés dans les services de soins.
- la préparation de solutions injectables stables prêtes à l'emploi visant à s'affranchir de l'étape de préparation extemporanée dans les services de soins.

La deuxième partie du travail porte sur la sécurisation de schémas thérapeutiques par approche pharmacocinétique au travers d'un cas spécifique : l'administration de l'acide tranexamique IV en curatif dans l'hémorragie per partum.

PARTIE I : MESURES VISANT À AMÉLIORER LA SÉCURITÉ D'EMPLOI DES MÉDICAMENTS DURANT L'ÉTAPE DE PRÉPARATION

- Qualification et évaluation d'un automate permettant un contrôle qualité en routine des solutions médicamenteuses injectables préparées dans les services de soins.
- Études de stabilité sur le long terme de solutions injectables prêtes à l'emploi en vue d'une centralisation des préparations injectables.

1. Qualification et évaluation d'un automate permettant un contrôle qualité en routine des solutions médicamenteuses injectables, préparées dans les services de soins.

1.1. Contexte

1.1.1. La sécurisation de l'étape de préparation des médicaments injectables en réanimation néonatale

Ma pratique quotidienne dans le service de réanimation néonatale du CHU de Lille m'a conduit à m'intéresser plus spécifiquement à la survenue des EIMs en néonatalogie.

De nombreuses études ont exploré la part des EMs en néonatalogie ; certaines ont été conduites spécifiquement dans ces services^[30-38], d'autres sont des études *post-hoc* conduites sur une sous-population de leur cohorte principale^[39,40].

Ces études ont montré d'une part, un risque important de survenue d'EMs en réanimation néonatale, et d'autre part, une forte proportion d'EIGs secondaires aux EMs ^[18-26].

Cette forte proportion d'EIGs s'explique par la vulnérabilité des nouveau-nés hospitalisés en réanimation néonatale^[30,33], dont les raisons principales ont été identifiées dans la littérature^[33,36-38,40] :

- l'incapacité des nouveau-nés à s'exprimer ;
- la gravité hémodynamique des nouveau-nés pris en charge ;
- l'absence de thérapeutiques adaptées disponibles sur le marché, ce qui conduit à la réalisation de multiples dilutions de formes injectables parentérales et la préparation de formulations buvables^[35] et justifie l'utilisation presque systématique de médicaments hors-AMM (« off-label »)^[41,42] ;
- la proportion relative masse maigre/masse grasse qui diffère des adultes et génère des différences importantes de la distribution du médicament dans l'organisme^[43,44] ;
- l'immaturation des organes de métabolisation (foie) et d'élimination (rein) qui rend difficilement prédictible la pharmacocinétique des médicaments^[43,44] ;
- les changements de poids quotidiens, requérant le calcul de doses individuelles quotidiennement et présentant un risque d'EMs élevé ;
- le grand nombre de médicaments prescrits ;

- l'utilisation fréquente de médicaments à haut risque, appartenant à la liste ISMP High Alert Medications^[33,45-49] ;
- la difficulté à poser des voies veineuses pour administrer les médicaments injectables ;
- le faible volume sanguin, impliquant une volonté de minimiser autant que possible les volumes administrés et de réduire au maximum le nombre de bilans biologiques sur les nouveau-nés ;
- le recours fréquent à la nutrition parentérale dans les contextes de prématurité par exemple, entraîne un risque septique augmenté, un risque d'incompatibilités médicamenteuses entre les médicaments et la nutrition et une nécessité de changement quotidien des tubulures et donc de manipulation des cathéters.

Une évaluation des modes de défaillance du circuit des produits de santé a été conduite dans les services de réanimation néonatale et pédiatrique des hôpitaux de Genève en 2010^[50]. Au cours de ce projet, le groupe de travail multidisciplinaire a déterminé 31 défaillances (Figure 4).

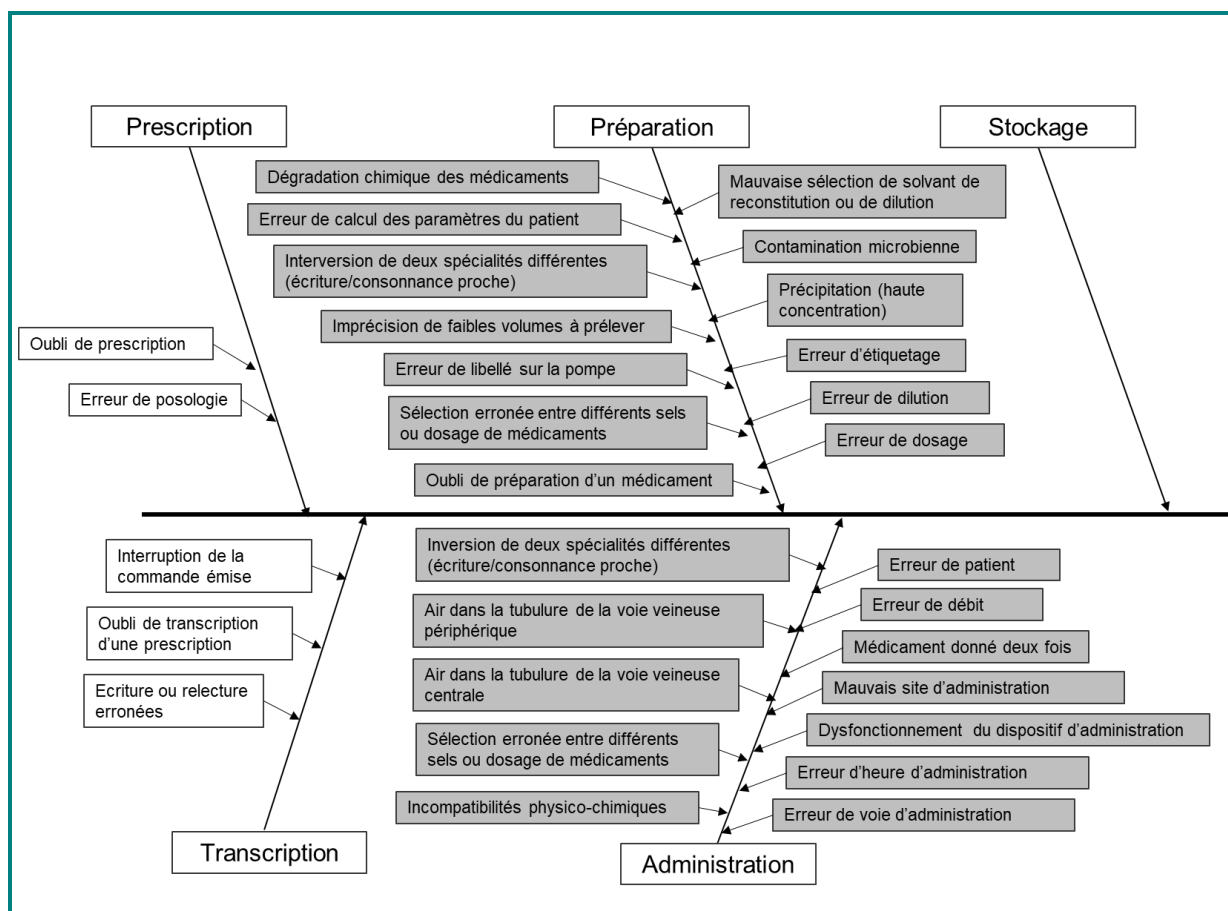


Figure 4 - Diagramme d'Ishikawa représentant les étapes du circuit du médicament et leurs modes de défaillance associés, extrait de l'article de De Giorgi et al., 2010, traduit en français par S. Gilliot [49]

Parmi les défaillances identifiées dans ce travail (Figure 4), celles identifiées au cours de étapes de préparation et d'administration des médicaments injectables sont plus nombreuses que celles identifiées au cours des étapes de prescription et de transcription, confirmant l'intérêt de sécuriser ces étapes en néonatalogie.

Dans cette analyse, on retrouve schématiquement les quatre grandes erreurs relatives à la préparation extemporanée des médicaments injectables : l'erreur de dilution, l'erreur de sélection du médicament ou de solvant, la rupture de l'aseptie, l'erreur d'étiquetage auxquels s'ajoutent :

- les erreurs organisationnelles (oubli de la préparation d'un médicament),
- les problèmes d'incompatibilité physico-chimique ou d'instabilité chimique
- les erreurs de calculs de dose ou de calculs de facteurs de dilution.

Ces trois derniers types d'erreurs ne sont pas intrinsèquement liés à la préparation extemporanée du médicament et peuvent être prévenus par l'intégration de logiciels d'aide à la prescription dans les services de soins. Ces logiciels apportent

un support automatisé et sécurise les étapes qui entourent chronologiquement la préparation extemporanée des médicaments. Pour répondre aux erreurs cités ci-dessus, on peut identifier plusieurs solutions qui pourraient être apportées à la mise en place de LAP :

- le paramétrage d'un plan de soins comportant la planification des administrations des produits de santé ;
- l'intégration des calculs de dose et des facteurs de dilution ;
- le paramétrage des solvants de dilution et de reconstitution pour limiter le risque d'instabilité chimique ou d'incompatibilités physico-chimiques.

Dans le service de réanimation néonatale du CHU de Lille, le logiciel choisi et intégré à la pratique est le logiciel LogiprenV2 (Logipren, Paris, France). Il a été conçu par des néonatalogues pour répondre aux besoins spécifiques des unités de néonatalogie et de réanimation pédiatrique. Il comprend :

- un dossier par patient ;
- un onglet dédié à la prescription des médicaments et de la nutrition (entérale et parentérale) ;
- un onglet dédié à l'enregistrement des éléments administratifs (date de naissance, nom, prénom, chambre, unité de soins, numéro d'identification patient), des paramètres anthropométriques (poids, périmètre crânien)
- un onglet pour le plan de soins comportant :
 - la planification et traçabilité des médicaments et produits de santé,
 - la planification et traçabilité des examens de surveillance clinique, paraclinique et biologiques,
 - la traçabilité de la surveillance des dispositifs médicaux invasifs,
 - la planification des soins infirmiers
- un onglet dédié à la validation pharmaceutique des ordonnances et l'exportation de la composition des poches de nutrition parentérale individualisées vers BP'Prep (Alma, Saint-Martin-d'Hères, France), logiciel d'aide à l'activité de préparation en pharmacie hospitalière ;
- un onglet dédié à l'historique des prescriptions médicamenteuses ;
- un onglet dédié au paramétrage des médicaments ;
- un onglet dédié à l'archivage des documents de qualité (protocoles de prise en charge thérapeutique et fiches réflexes d'utilisation du logiciel) ;
- un thésaurus des médicaments interfacé avec la base Vidal.

Au moment de la prescription par le médecin d'un médicament administré par voie parentérale sur le logiciel LogiprenV2, les instructions relatives à la préparation des médicaments sont automatiquement générées à partir du paramétrage effectué initialement dans le logiciel. De plus, les solvants de dilution et de reconstitution et les concentrations souhaitées pour l'administration sont paramétrés dès l'enregistrement d'un nouveau médicament ; il existe plusieurs modes de paramétrage pour l'étape de préparation du médicament dans LogiprenV2, le paramétrage en dilution fixe ou en minimisation de volume. Avec le paramétrage en minimisation de volume, l'algorithme restreint les volumes d'administration des médicaments afin de maximiser le volume dédié à la nutrition et propose ainsi l'administration des médicaments à des concentrations plutôt élevées, dans la limite du paramétrage autorisé. Le gros déficit du logiciel LogiprenV2 est son incapacité actuelle à s'interfacer avec le logiciel Dossier Patient qui possède un livret thérapeutique maintenu en adéquation avec les données scientifiques et cliniques mais également économiques en tenant compte de l'évolution des marchés.

Les préparations injectables administrées aux nouveau-nés sont préparées par les IDE qui en ont la charge sur leur poste. Ces préparations sont nombreuses, comportent parfois des dilutions multiples, impliquent le prélèvement de faibles volumes de médicaments. Les IDE ont plusieurs préparations à réaliser sur leur poste, il s'agit d'une tâche qui est fréquente et qui est souvent entrecoupée d'interruptions (alarme déclenchée sur le scope, examen d'imagerie en chambre). Il n'y a pas d'étape de double contrôle et aucun point de sécurité à cette étape.

Au regard de ces éléments, la détection de la fréquence et la gravité des EM liées à cette étape de préparation extemporanée dans le service de réanimation néonatale est une tâche primordiale. Selon la littérature actuelle, cette analyse repose sur deux méthodologies d'évaluation des pratiques professionnelles (EPP) :

- l'audit consistant en l'observation des étapes de préparation extemporanée dans un service de néonatalogie ;
- l'audit portant sur la quantification de l'écart entre la concentration attendue et la concentration effective des solutions médicamenteuses injectables destinées à être administrées aux nouveau-nés.

1.1.2. Les audits reposant sur l'observation des pratiques de préparation extemporanée des médicaments injectables en néonatalogie

En 2017, une évaluation des pratiques professionnelles (EPP) a été menée par une équipe de pharmacie française sur cinquante puéricultrices dans un service de néonatalogie d'une maternité de niveau 3 ^[51]. Deux axes majeurs d'améliorations ont été identifiés :

- la prise en compte du volume mort de médicament dans les aiguilles et l'embase des seringues,
- l'identification correcte par étiquetage des seringues du médicament administré.

En 2018, une étude espagnole a mis en évidence, par analyse rétrospective de vidéos réalisées par huit services de néonatalogie, plusieurs erreurs de préparation de solutions médicamenteuses injectables^[52] dont l'absence de:

- changement de seringues entre le prélèvement du diluant et de la spécialité commerciale,
- vérification des volumes lorsque le volume de la spécialité commerciale contenu dans le conditionnement était prélevé en totalité,
- adéquation entre la seringue choisie et le volume à prélever
- homogénéisation des seringues préparées.

Ces travaux ont porté sur l'observation des pratiques mais n'ont pas évalué les conséquences des erreurs de préparation relevées sur la précision quantitative de la concentration des spécialités en solution.

1.1.3. Les audits reposant sur la mesure des concentrations des médicaments injectables obtenus par préparation extemporanée en néonatalogie

En 2012, une étude espagnole monocentrique prospective observationnelle a été conduite pendant vingt-quatre jours non consécutifs dans un service de réanimation néonatale^[53]. Les résultats ont montré des erreurs de précision (définies comme un écart supérieur à 10% par rapport à la valeur attendue) dans près de 40% des échantillons de tobramycine et vancomycine préparés à une concentration fixe et dont les reliquats ont été recueillis après leurs administrations chez des nouveau-

nés^[51]. Les erreurs rapportées n'ont pas été à l'origine d'évènements indésirables cliniquement décelables mais ces résultats ont mis en évidence une source importante de complications potentielles.

Quatre ans plus tard, la même équipe a répété l'expérience dans dix unités de soins intensifs de néonatalogie. La précision des concentrations était évaluée sur des seringues de vancomycine, gentamycine, phénobarbital et caféine. Les seringues étaient préparées selon les pratiques courantes par les IDE et puéricultrices dans les services de soins concernés par l'étude. Les échantillons étaient ensuite congelés et analysés dans un laboratoire de toxicologie par immuno-essai^[54]. Les résultats ont montré des erreurs de précision pour 54,7% des échantillons préparés par le service.

La fréquence importante de survenue d'erreurs de manipulation objectivées par des audits d'une part et d'erreurs de précision objectivées par des dosages d'autre part, a conduit les équipes médicales et pharmaceutiques à développer des stratégies de sécurisation de cette étape.

Afin de sécuriser l'étape de préparation des médicaments injectables dans le service de réanimation néonatale, nous nous sommes interrogés sur la possibilité de mettre en place un contrôle qualité terminal de chaque préparation. Il s'agit d'une stratégie non étudiée à l'heure actuelle. Ce contrôle, réalisé systématiquement en routine, assurerait en quelques secondes l'identification et la quantification d'une préparation afin de valider la possibilité de son administration. Le travail qui suit, a pour but de tester cette hypothèse.

1.1.4. L'état des connaissances sur les applications du DrugLog[®] dans la littérature.

Le premier travail portant sur l'évaluation du DrugLog[®] a été présenté au congrès du Groupe d'Evaluation et de Recherche sur la Protection en Atmosphère Contrôlée (GERPAC) en 2015. Il a porté sur l'évaluation de ce système pour le contrôle qualité des chimiothérapies^[55]. Les résultats ont montré que cet automate permettait une analyse rapide et un contrôle précis des médicaments cytotoxiques préparés à la pharmacie, avec une erreur maximale lors de la validation analytique en dessous de 10% pour dix spécialités commerciales.

En 2018, un second travail portant sur la qualification du DrugLog[®] comme automate de contrôle d'une unité de préparation de chimiothérapie a été présenté au congrès de l'*European Association of Hospital Pharmacists*^[56]. La calibration de 8 spécialités

commerciales a été réalisée puis l'automate a été utilisé pour l'analyse de poches produites en routine. La linéarité était vérifiée pour 7 des 8 gammes de calibration réalisées avec un coefficient de corrélation supérieur à 0,98. L'erreur relative calculée pour les courbes générées au cours de la calibration était inférieure à 12%. Les tests effectués en routine ont mis en évidence une erreur moyenne entre 2 et 22% en fonction des spécialités. Les tests en production ont révélé des biais relatifs moyens allant de 1,86 à 22,14% pour les spécialités testées.

La même année, un travail a porté sur la qualification d'une équipe de préparateurs chargés de la reconstitution des chimiothérapies sur cinq médicaments cytotoxiques. Les auteurs concluent que le contrôle quantitatif à l'aide du DrugLog® était peu envisageable en raison du choix restreint de spécialités envisageables et des biais analytiques observés lors de l'étude : selon eux, la polymérisation du glucose 5% entraîne une variabilité du signal en fonction des lots et des poches et modifie les tracés des spécialités analysées, et la variation du volume des poches de diluant entraîne une variabilité des résultats de dosage^[57].

Dernièrement, une équipe allemande a travaillé sur l'évaluation de la robustesse du DrugLog® au sein du secteur contrôle de leur PUI^[58]. Les spécialités commerciales étudiées étaient la noradrénaline, le midazolam, l'atropine et la cytarabine. Les auteurs ont conclu que les substances testées avaient pu être analysées de manière fiable avec le DrugLog® avec un gain de temps de 50-75% par rapport au spectrophotomètre UV-visible. Toutefois, cette étude est à prendre avec beaucoup de précaution, étant donné l'absence de présentation de la méthodologie appliquée pour obtenir ces résultats.

Une autre application du DrugLog® a été récemment évaluée dans un laboratoire de biochimie au cours d'un travail visant au diagnostic rapide des hémorragies subarachnoïdiennes par détermination des taux d'oxyhémoglobine et de bilirubine dans le liquide céphalo rachidien des patients à risque^[59]. Les résultats de ce travail publié en 2020 ont permis de conclure à une excellente linéarité et précision du DrugLog® dans la calibration pour l'oxyhémoglobine et la bilirubine dans le liquide céphalo rachidien.

L'utilisation du DrugLog® en services de soins repose sur une étude non publiée, qui a fait l'objet d'un travail de thèse^[60]. Au cours de cette étude, ont été étudiées les limites de calibration de l'automate et la robustesse de l'automate dans le cadre d'une gestion *a priori* des erreurs de préparations dans deux services de soins

(soins intensifs post-opératoires et bloc opératoire adulte). Dans cette étude, 22 spécialités commerciales non cytotoxiques ont pu être calibrées correctement sur l'automate. La méthodologie de cette étude a porté sur le recueil d'échantillons provenant de solutions médicamenteuses injectables préparées extemporanément et destinées à être administrées aux patients. L'objectif était d'identifier les erreurs d'identification de spécialités et les erreurs de précision avec une limite fixée à 10% pour les médicaments à marge thérapeutique étroite, 15% pour la majorité des préparations et 20% pour les poudres à reconstituer. La criticité des erreurs détectées a été évaluée dans un second temps. Les résultats ont mené à la conclusion que le DrugLog® était un automate adapté à la pratique courante en service de soins et qu'il permettait d'identifier les EM de préparation avec une bonne robustesse.

En croisant le besoin de sécurisation de l'étape de préparation des solutions médicamenteuses injectables en réanimation néonatale avec le potentiel du DrugLog®, l'évaluation du potentiel d'applicabilité du DrugLog® en réanimation néonatale semble pertinente.

1.2. La qualification et évaluation d'un automate permettant un contrôle qualité en routine des solutions médicamenteuses injectables.

1.2.1. Présentation et principe de fonctionnement

Le DrugLog® est un dispositif médical de classe I commercialisé par Pharmacolog (Uppsala, Suède) qui a été mis au point dans le but d'identifier et de quantifier des solutions médicamenteuses injectables en quelques secondes à partir d'une bibliothèque préétablie (Figure 5).

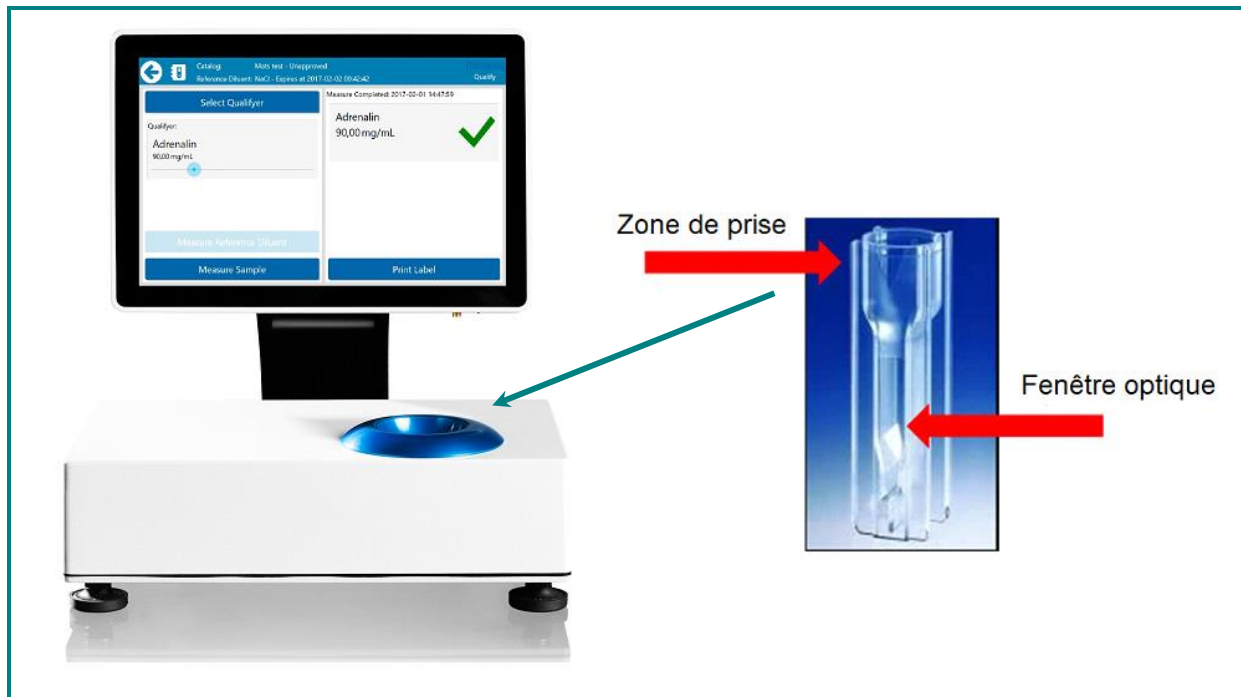


Figure 5 - Le DrugLog® et sa cuvette à usage unique (photographies issues du site officiel de Pharmacolog^[61], image créée par S.Gilliot).

Il dispose d'un format compact (28*28*45 cm). Il est composé d'un bloc contenant un spectrophotomètre UV-visible balayant les longueurs d'onde de 200 à 800 nm, d'une unité centrale d'ordinateur et d'une logette destinée à l'installation des cuvettes permettant l'analyse des solutions. Un écran tactile permet de contrôler l'automate à la manière d'un ordinateur classique.

La technologie DrugLog® est une technologie semi-quantitative qui repose sur l'émission d'un faisceau UV-visible à travers une cuvette à usage unique composée d'un mélange de copolymère d'oléofine cyclique.

L'absorption dans l'UV-visible d'un ensemble de molécules résulte de l'absorption par le ou les chromophore(s) (groupes d'atomes insaturés) qui le compose(nt).

La première étape consiste en l'analyse de la matrice de référence qui est le solvant de dilution de la spécialité commerciale (le blanc), puis la solution d'intérêt est placée dans une cuvette à usage unique et l'analyse est lancée. L'intensité du rayonnement UV-visible après son passage par la cuvette est analysée par un détecteur et donne un signal primaire. L'algorithme du logiciel (non connu du fait de la protection industrielle) confronte le signal de la matrice de référence (le blanc) et le

signal primaire obtenu après analyse de l'échantillon et transforme cette association de signaux en un tracé spécifique.

La solution médicamenteuse est analysée dans sa globalité : le tracé spécifique correspond à l'absorption du principe actif et des éventuels excipients absorbant sur la gamme de longueur d'onde 200-800nm.

L'analyse qualitative se déroule de la manière suivante : l'automate va déterminer la spécialité commerciale détectée en confrontant la forme du tracé spécifique obtenu pour la solution analysée à tous les tracés contenus dans la banque des données enregistrée dans l'automate. Le tracé enregistré dans la banque de données qui a la plus forte similitude avec le tracé spécifique analysé est identifié comme correspondant à la spécialité commerciale en cours d'analyse.

L'analyse quantitative est effectuée après la sélection de la longueur d'onde d'analyse par l'automate. Celle-ci correspond à la longueur d'onde pour laquelle la différence d'amplitude entre les tracés moyens de calibration est maximale. Une fois la longueur d'onde sélectionnée par le logiciel, une équation de droite de calibration est calculée par extrapolation automatique de l'ensemble des tracés de calibration encadrant le tracé spécifique de l'échantillon. La concentration de l'échantillon analysé est calculée automatiquement à partir des tracés enregistrés de la gamme calibration.

Un tracé spécifique dépend donc à la fois de la spécialité commerciale et de sa concentration en solution.

Les résultats de l'analyse quantitative et qualitative sont rendus par l'automate en quelques secondes. L'empreinte issue de l'analyse est caractéristique de l'ensemble des chromophores contenus dans le principe actif et les excipients constituant la spécialité commerciale analysée. Ce principe implique que des molécules de structure proches génèreront des profils spécifiques proches.

Avant toute analyse d'un échantillon à l'aide du DrugLog[®], il est nécessaire d'enregistrer dans l'automate les données pour chaque spécialité choisie. La banque de données du DrugLog[®] est organisée en différents catalogues. Chaque catalogue peut contenir l'enregistrement des données de plusieurs spécialités. Le libellé de chaque catalogue et l'enregistrement des données au sein des catalogues est libre. La seule contrainte liée à cette version est la nature du solvant utilisé pour faire le blanc qui est le même pour tout le catalogue et ne peut être modifié une fois le catalogue créé et les données enregistrées dans ce catalogue.

Ainsi, pour une solution X contenant une spécialité commerciale à une concentration Y, un tracé spécifique unique est déterminé par l'automate.

Au moment de l'enregistrement d'une base de données pour une spécialité, il faut donc avoir choisi le solvant de dilution (éventuellement de reconstitution) et la/les gamme(s) de concentrations souhaitées. Il est possible de créer ses propres enregistrements ou d'accéder aux données rendues disponibles par la société qui a développé le DrugLog®. Nous avons choisi de créer nos propres enregistrements car il ne nous était pas possible de vérifier la fiabilité et la rigueur de la méthodologie employée pour construire la base de données fournie par l'industriel.

L'enregistrement d'une spécialité donnée pour un solvant et une gamme de concentrations données dans le logiciel d'exploitation du DrugLog® correspond à l'enregistrement des tracés spécifiques d'une gamme de calibration dans un catalogue. Une fois cet enregistrement effectué, le logiciel traite les tracés spécifiques issus de l'échantillon par rapport aux tracés enregistrés dans le catalogue choisi.

La Figure 6 représente les différentes étapes de du processus d'analyse d'un échantillon par le DrugLog®.

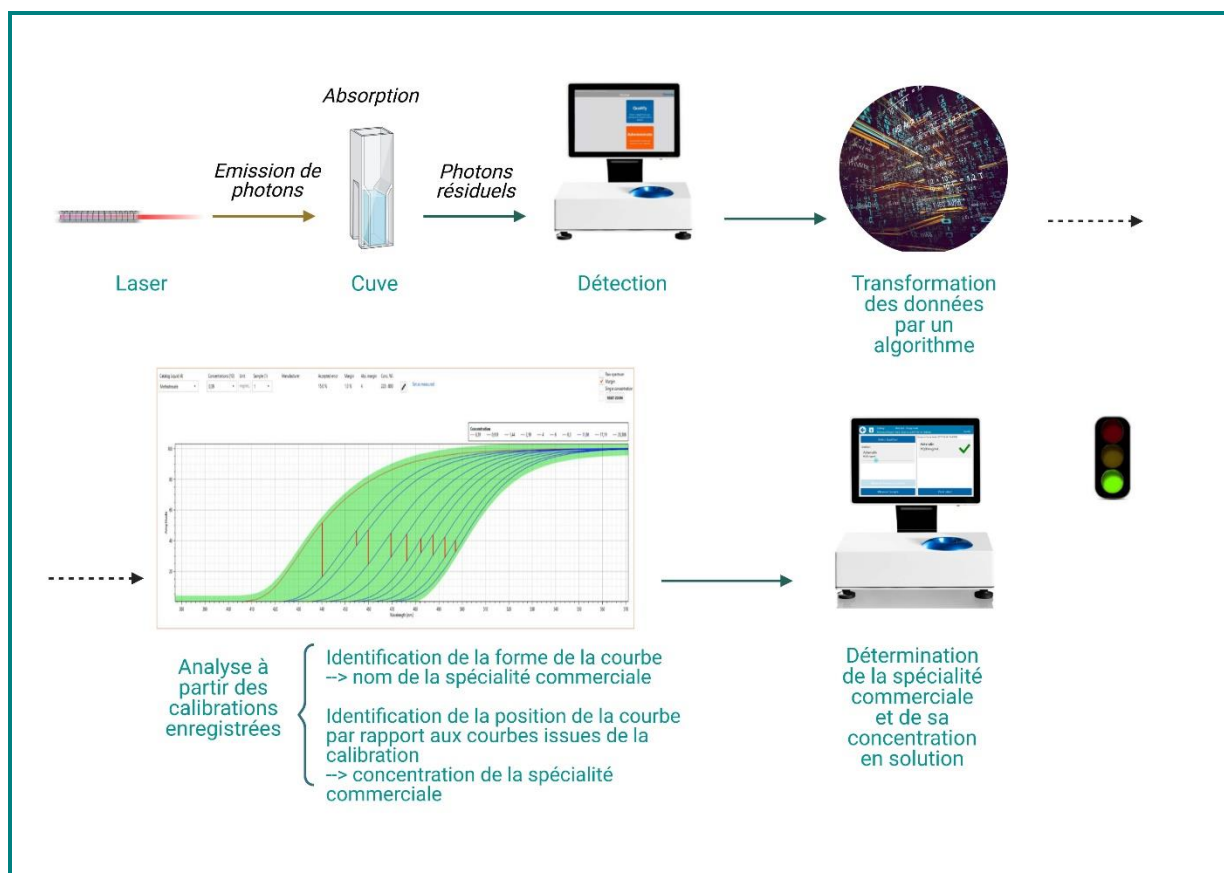


Figure 6 - Schéma résumant le principe de fonctionnement du DrugLog® (production originale, photographies issues du site officiel Pharmacolog, créée avec BioRender.com)

1.2.2. Expression des résultats

Quel que soit le module utilisé, chaque analyse d'échantillon se fait systématiquement après sélection du catalogue de travail. Les données utilisées par l'algorithme pour l'analyse seront celles enregistrées sur ce catalogue uniquement. Il ne peut donc y avoir d'identification croisée que pour deux spécialités enregistrées dans un même catalogue.

L'interface du logiciel du DrugLog® version 4.4.2 dispose de 4 modules intitulés « Identifier », « Qualifier », « Calibrer » et « Administrer », dans la version française.

- Le module « Administrer » permet la manipulation des données et la visualisation des tracés spécifiques.
- Le module « Identifier » permet d'obtenir l'analyse qualitative et quantitative de l'échantillon en un clic. En cas d'identification croisée de plusieurs spécialités, le résultat rendu consistera en l'identification des deux spécialités et de leurs

concentrations mesurées. Si la spécialité commerciale n'est pas reconnue par le logiciel, une croix rouge accompagnée de l'indication « Unknown » s'affiche.

- Le module « Qualifier » permet de visualiser rapidement la validité qualitative et quantitative de la préparation. Avant d'effectuer l'analyse, il est nécessaire de choisir dans le catalogue, la spécialité et sa concentration attendue. Si l'identification et la quantification sont conformes aux paramètres attendus, un V vert s'affiche. Si la concentration mesurée n'est pas conforme aux limites d'acceptation, un logo « attention » jaune s'affiche, associé à une indication de la concentration mesurée. Si l'identification n'est pas conforme, une croix rouge accompagnée de l'indication « Unknown » s'affiche.
- Le module « Calibrer » est réservé aux personnes compétentes dans l'entreprise Pharmacolog pour le paramétrage du DrugLog®.

1.2.3. Objectif

L'objectif de ce travail est d'évaluer la robustesse du DrugLog® pour la prévention des erreurs de préparation des solutions médicamenteuses injectables dans un service de réanimation néonatale.

Le principal objectif de l'étude était de déterminer si la spécialité commerciale et/ou les concentrations avaient un impact sur la variabilité de la précision des préparations.

Dans un deuxième temps, nous avons souhaité identifier et analyser les limites techniques de calibration et de maniement de l'automate dans le service de réanimation néonatale à l'aide du diagramme des 5M.

1.2.4. Méthode

1.2.4.1. Cadre de l'étude

Ce travail s'est déroulé en deux temps : un temps technique avec une qualification de l'automate au laboratoire de pharmacie galénique et hospitalière de la faculté de pharmacie de Lille et un temps clinique avec évaluation de l'automate pour les spécialités commerciales sélectionnées dans une unité de réanimation néonatale.

1.2.4.2. Partie technique : qualification au laboratoire

Les cuvettes utilisées pour les analyses étaient des cuvettes à usage unique transparentes composées d'un polymères d'oléfinés cycliques et linéaires (référence 7592 10, lot 20102275, Brand, Werthelm, Allemagne).

La qualification a été conduite sur deux critères :

- La qualification qualitative qui a consisté en la vérification de la bonne reconnaissance des spécialités en solution ;
- La qualification quantitative qui a consisté la calibration correcte et la validation des gammes de calibration selon la méthodologie proposée par Hubert *et al.*^[62].

1.2.4.3. Choix des molécules et des concentrations

Ont été choisies pour l'étude :

- Des spécialités commerciales couramment prescrites dans le service.

Cette sélection a été effectuée selon une étude préliminaire de la fréquence de prescription des médicaments injectables dans le service sur un mois, en juin 2020.

- Des spécialités commerciales appartenant à la Liste I et dépourvues de statut particulier (stupéfiants ou hors T2A), pour des raisons de praticité.
- Des spécialités commerciales dont l'administration nécessite une étape de dilution, au regard des prescriptions émises dans le service.
- Des spécialités commerciales dont le(s) principe(s) actif(s) possède(nt) un chromophore dans sa/leur structure.

Par ailleurs, il a été convenu pour l'étude que quatre numéros de lots des spécialités commerciales choisies devaient être disponibles au CHU de Lille au moment de l'étude, afin que la variabilité inter-lot puisse être évaluée au moment de la calibration à l'aide de trois lots ; le quatrième lot étant utilisé pour la validation.

1.2.4.4. Calibration des gammes d'étalonnage

L'étape de calibration s'est déroulée de juillet 2020 à février 2021 au laboratoire de pharmacie galénique et hospitalière de la faculté de Pharmacie de Lille.

- Choix de la concentration cible

Les concentrations cibles choisies pour les gammes de calibration correspondent aux concentrations standardisées paramétrées dans le logiciel d'aide à la prescription utilisé dans le service en juin 2020, Logipren. Une nouvelle version du logiciel, LogiprenV2 a été mise en place dans le service à partir de novembre 2020. Pour les spécialités commerciales dont la calibration n'avait pas encore été effectuée en janvier 2021, les concentrations cibles ont été choisies pour correspondre aux concentrations paramétrées dans LogiprenV2.

- Choix des solvants de reconstitution et de dilution

Les solvants utilisés pour la reconstitution et la dilution de la spécialité commerciale au moment de la réalisation des gammes d'étalonnage ont été choisis selon le paramétrage effectué dans Logipren, puis LogiprenV2, en confrontation avec les données du RCP.

- Matériel et mode opératoire

Les solutions mères étaient préparées dans des fioles de 10 mL ou de 5 mL en verre. Des micropipettes de laboratoire (mLine[®], BioHit S.A., Dourdan, France) ont été utilisées pour effectuer les dilutions. Au laboratoire, les pipettes sont calibrées mensuellement par pesée d'un volume d'eau sur une balance de précision (METTLER TOLEDO XP504, Columbus, États-Unis).

Le glucose 5% (G5%) et le NaCl 0,9% utilisés pour les dilutions provenaient de poches (Glucose 5% Viaflo DE0062 250mL lot 21C15E4D, Baxter et Chlorure de Sodium 9% Viaflo, DKE1322 250mL Lot 21A25T1H, Baxter, Guyancourt, France). L'eau pour préparation injectable (EPPI) utilisée pour la reconstitution provenait également de poches (référence : DE0303, lot : 20D18E5C, Baxter). Des seringues en polypropylène (BD Plastipak, Becton Dickinson, Le-Pont-de-Claix, France) de 10 mL (référence : 305959, lot : 1703007), 20 mL (référence : 300629, lot : 2102012) et 50 mL (référence : 300865, lot : 2011012) et des seringues de 1 mL (référence : 309628, lot : 9051796) ont été utilisées pour les étapes de reconstitution et pour le prélèvement des solvants dans les poches de G5% et de NaCl 0,9%. Les trocarts utilisés étaient des trocarts 18 G (BD Microlance 3[™], référence 304622, Becton Dickinson).

La calibration des gammes d'étalonnage a été effectuée dans deux catalogues : un catalogue réservé aux spécialités diluées dans du G5%, un catalogue réservé aux spécialités diluées dans du NaCl 0,9%. Le blanc était effectué avec le diluant seul, utilisé pour la préparation de la spécialité.

La calibration des gammes d'étalonnage a été construite sur *a minima* 5 niveaux de concentration, entourant la ou les valeur(s) de concentration cible. Chaque jour, trois solutions mères ont été préparées à partir de 3 lots différents de spécialité commerciale. Cette manipulation a été répétée sur 3 jours consécutifs (n=9). Le plan d'expérience est décrit dans le Tableau 2.

Tableau 2 - Plan d'expérience conduit pour chaque calibration de gamme.

	Série 1	Série 2	Série 3	Série 4	Série 5	Série 6	Série 7	Série 8	Série 9
Lot	1	1	1	2	2	2	3	3	3
Jour	1	2	3	1	2	3	1	2	3

Le choix des niveaux de concentrations a été effectué selon le paramétrage des spécialités dans le logiciel Logipren au moment de la calibration :

- Si le paramétrage était en dilution fixe pour une spécialité X, avec une concentration cible X_1 , les niveaux choisis doivent comprendre les valeurs de concentrations $X_1-40\%$, $X_1-20\%$, X_1 , $X_1+20\%$, $X_1+40\%$.
- Si le paramétrage était en minimisation de volume, une spécialité Y pouvait alors prendre une gamme de concentrations cibles Y_{min} à Y_{max} ; il a été convenu que les niveaux choisis devraient comprendre au moins six valeurs de concentration ($Y_{min}-40\%$, $Y_{max}-20\%$, Y_{min} , Y_{max} , $Y_{max} +20\%$, $Y_{max} +40\%$).

L'interprétation de chaque gamme de calibration a été effectuée par approche graphique par analyse des tracés spécifiques obtenus à l'aide du DrugLog®.

- La linéarité a été évaluée par détermination des paramètres de la droite d'étalonnage : le coefficient de corrélation, la pente, l'ordonnée à l'origine de la droite.
- Les limites de détection (LD) et de quantification (LQ) ont été déterminées à partir du niveau critique (NC) calculé à 5%, tel que $LQ=2*LD=4*NC$ ^[63].
- La répétabilité a été réalisée sur les échantillons provenant des 3 solutions mères différentes préparées à partir de 3 lots (lots n°1 à 3) de la spécialité commerciale considérée.

- La précision de la méthode a été évaluée par la fidélité intermédiaire. Le coefficient de variation de la fidélité intermédiaire a été calculé à partir de la moyenne des concentrations mesurées pour chaque niveau de calibration sur 3 jours (C_m , $n=9$) et de leur écart-type (sd , $n=9$).
- La justesse a été calculée à l'aide de l'erreur relative (ER, en %) à partir des C_m et des concentrations nominales (C_{nom}) selon l'équation :

$$\%ER = \frac{C_m - C_{nom}}{C_{nom}} * 100$$

- L'erreur totale de la méthode a été calculée en additionnant la fidélité intermédiaire et l'erreur relative.

La limite d'acceptabilité de l'erreur totale a été fixée à 20% en prenant en compte les recommandations de la Pharmacopée Européenne qui mentionnent qu'un lot de spécialité commerciale est acceptable, si une mesure de teneur ou moins sort de l'intervalle 85%-115% par rapport à la valeur nominale^[64], et en acceptant une erreur liée aux étapes de dilution et de reconstitution de 5%. S'agissant d'une étude pilote et non d'un contrôle qualité de routine comme réalisé dans une précédente étude^[60], le choix a été fait de ne pas distinguer la limite d'acceptabilité entre les médicaments à marge thérapeutique étroite, les médicaments sous forme de poudres à reconstituer et les solution injectables.

Lorsque le premier ou le dernier niveau de concentration d'une gamme sortait des exigences de validation, ce niveau était éliminé et les paramètres de la gamme de calibration étaient recalculés sur les niveaux restants. Lorsque deux niveaux de calibration présentaient une erreur totale $\geq 20\%$, la spécialité était considérée comme non dosable par la méthode et était exclue du reste de l'étude.

Sur trois jours consécutifs, l'opérateur A et l'opérateur B ont préparé des contrôles qualités (CQs). Les CQs étaient sélectionnés entre deux niveaux de calibration consécutifs sur la gamme d'étalonnage des spécialités commerciales validés. Pour chaque CQ, les six solutions mères ont été préparées à partir d'un lot indépendant des lots utilisés pour la calibration (lot n°4). Les échantillons obtenus à partir des solutions mères ont été analysés une fois chacun. Le plan d'expérience des CQs est représenté dans le Tableau 3.

Tableau 3 - Plan d'expérience conduit pour chaque contrôle qualité situé entre deux niveaux de calibration.

	Série 1	Série 2	Série 3	Série 4	Série 5	Série 6
Lot (n°)	4	4	4	4	4	4
Jour (n°)	1	2	3	1	2	3
Opérateur	A	A	A	B	B	B

La précision et la justesse des CQs ont été évaluées de la même manière que présentées pour l'étape de calibration. L'erreur totale a été calculée en additionnant la fidélité intermédiaire et le biais relatif et devait être inférieure à 20% pour que le CQs soit jugé conforme.

1.2.5. Partie clinique

1.2.5.1. Cadre de l'étude

L'étude a été conduite dans le centre hospitalier universitaire (CHU) de Lille qui comptabilise plus de 3000 lits. La clinique de néonatalogie de cet établissement est affiliée à une maternité de niveau III. Elle comprend trois unités : l'unité arc-en-ciel (22 lits), l'unité de soins intensifs néonataux (24 lits) et l'unité de réanimation néonatale (18 lits). Une équipe de soixante-neuf IDE travaillent au sein de l'unité de réanimation néonatale. L'étude a été observationnelle et prospective. Le recueil a été mené entre avril et juillet 2021, sur les postes de jour et de nuit.

1.2.5.2. Génération des prescriptions

Des prescriptions ont été générées à l'aide de LogiprenV2. Pour chaque spécialité commerciale, trois prescriptions C1, C2 et C3, désignant trois concentrations différentes de chaque spécialité paramétrée dans LogiprenV2 ont été générées ; C1 représente une concentration basse de la spécialité, C2 représente une concentration intermédiaire de la spécialité et C3 représente une concentration haute de la spécialité. C1, C2 et C3 appartiennent toutes trois aux gammes d'étalonnage calibrées et validées lors de la qualification au laboratoire. Il a été convenu lors de la mise en place de l'étude que les IDE du service de réanimation néonatale préparent un nombre n de seringues prêtes à l'emploi (n étant défini statistiquement par le calcul du nombre de

seringues nécessaires). Chaque préparation était réalisée à l'aide du matériel à disposition dans le service et selon les habitudes du service. Les IDE participant à l'étude faisaient partie de l'équipe de réanimation néonatale et étaient, à ce titre, entraînées à la réalisation de dilutions de spécialités injectables. L'allocation aux IDE des préparations a été soumise à une randomisation par bloc. Le recrutement a été réalisé en fonction de la disponibilité des IDE afin de ne pas interférer avec l'organisation du service et pour mimer au mieux les conditions de routine.

Les données étaient recueillies sur des feuilles de recueil. Les éléments relevés au cours de chaque préparation extemporanée étaient la date de réalisation de la préparation, le code d'identification de l'IDE, le numéro de lot du médicament, le descriptif détaillé chronologique manuscrit de chaque étape de préparation du médicament comprenant le choix des seringues et les changements de trocart. À la fin de chaque préparation, un échantillon de la seringue préparée était placé dans une cuvette neuve et analysé dans le DrugLog®. L'échantillon était ensuite repris dans la seringue avec un nouveau trocart, puis réhomogénéisé. Le nouvel échantillon était placé dans la même cuvette pour analyse. Deux échantillons étaient donc analysés : un échantillon prélevé avant homogénéisation et un échantillon prélevé après homogénéisation. Chaque échantillon était analysé deux fois : la première fois avec le module « Identifier » et immédiatement après avec le module « Quantifier ».

Au cours de l'étude, les IDE étaient observées et leurs actions étaient décrites sur la feuille de recueil. Cette méthode d'audit peut s'associer à un double contrôle, dans la mesure où la vigilance de la personne préparant la seringue était accrue, les solvants et les volumes prélevés systématiquement vérifiés. Cette méthode garantissait l'absence d'erreur dans la sélection de la spécialité commerciale à préparer et dans les volumes à prélever. Par ailleurs cette méthode d'audit a laissé une liberté totale aux IDE en termes de manipulation (choix des seringues, changement des trocarts).

1.2.5.3. Nature des erreurs détectées.

Deux types d'erreurs sont détectées grâce au DrugLog®, les erreurs d'identification et les erreurs de précision.

- Une erreur d'identification correspond à une mauvaise identification d'un échantillon par l'automate (identification croisée ou absence de reconnaissance).

- Une erreur de précision est caractérisée par une « erreur quantitative de préparation » (EQP) supérieure à 20%.

L'EQP est calculée à partir des concentrations Cc3 et Cc4, (c'est-à-dire, les deux concentrations obtenues après réhomogénéisation de la seringue, Cc3 étant obtenue par le module « Identifier » et Cc4 étant obtenue à partir du même échantillon après analyse par le module « Qualifier »). La moyenne de ces deux concentrations obtenues est divisée par la valeur attendue. La valeur absolue de ce résultat est l'|EQP|.

On a donc :

$$|EQP| = \frac{\left(\frac{Cc3+Cc4}{2}\right) - C_{attendue}}{C_{attendue}} * 100$$

La concentration théorique considérée pour ce calcul est la concentration de la spécialité commerciale déterminée pour la ligne de prescription générée par LogiprenV2. Au total, quatre concentrations sont déterminées par l'automate (Cc1, Cc2, Cc3, Cc4). Cc1 et Cc2 représentaient les concentrations mesurées par le DrugLog® avant homogénéisation de la seringue par les modules « Identifier » et « Quantifier » respectivement. Cc3 et Cc4 représentaient les concentrations mesurées par le DrugLog® après homogénéisation de la seringue par les modules « Identifier » et « Quantifier » respectivement. Le design de l'évaluation du DrugLog® dans l'unité de réanimation néonatale est synthétisé dans la Figure 7.

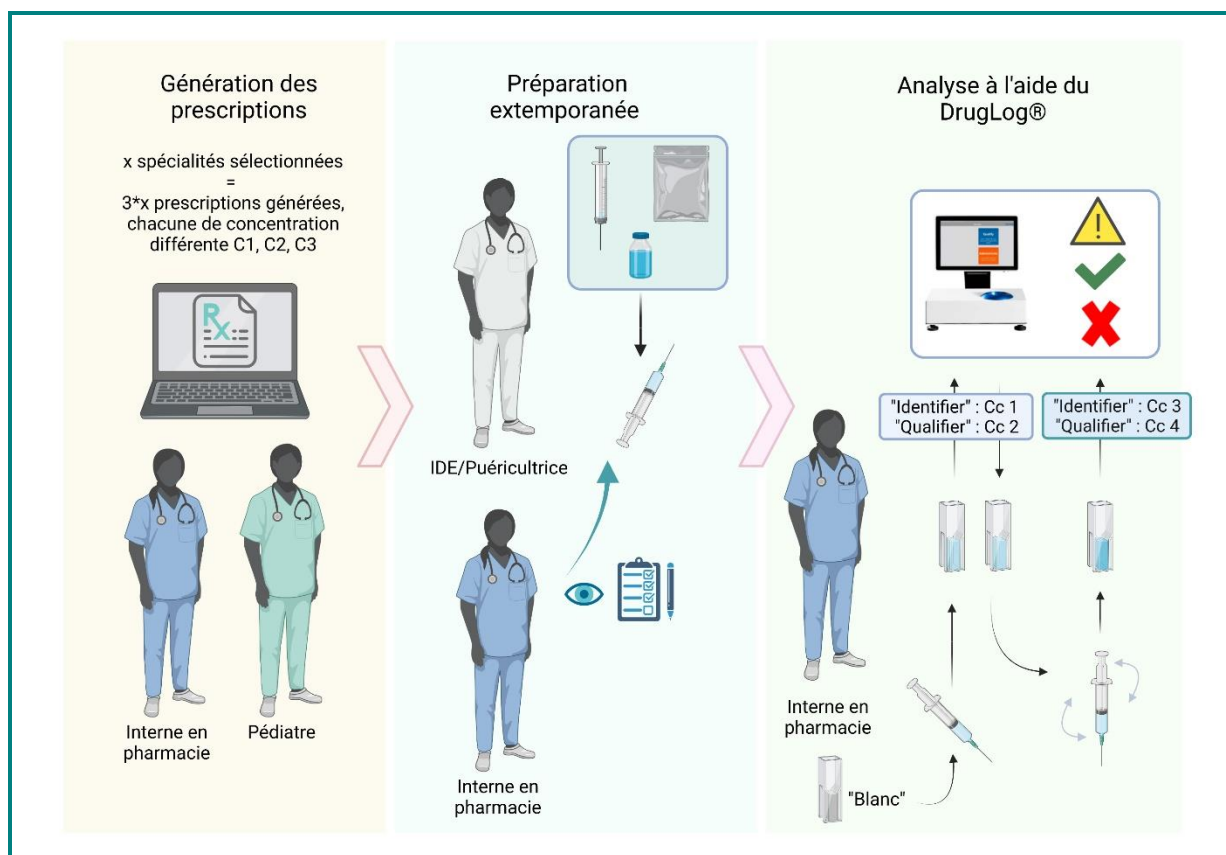


Figure 7 - Design de l'évaluation du DrugLog® dans l'unité de réanimation néonatale (production originale, créée avec BioRender.com).

1.2.5.4. Analyses statistiques.

Les analyses des données de calibration et de validation de la calibration (partie technique) ont été traitées à l'aide du logiciel Excel (Microsoft® Excel® pour Microsoft 365 MSO (16.0.14026.20304)). Les analyses statistiques du calcul du nombre de seringues nécessaires pour l'analyse, la randomisation par bloc, les tests statistiques de l'étude dans le service et la génération des graphiques ont été effectués à l'aide du logiciel R (version 3.6.1, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

La variable utilisée comme critère pour les tests statistiques est la valeur absolue de l'EQP ou $|EQP|$. L'impact de la spécialité commerciale et des concentrations sur $|EQP|$ a été évaluée par un test d'ANOVA ($\alpha=5\%$) à deux facteurs emboîtés (facteur « Concentration attendue » emboîté dans facteur « Spécialité »). Dans notre cas, le facteur « Concentration attendue » est emboîté dans le facteur « Spécialité » car chaque modalité du facteur « Concentration attendue » est associée à une modalité du facteur « Spécialité ». Le plan d'expérience pour l'analyse ANOVA

est décrit dans le Tableau 4. Dans ce tableau, le facteur « Spécialité » est caractérisé par l'appellation « Si » avec la modalité i associée à chaque spécialité incluse dans l'étude. Le facteur « Concentration attendue » est caractérisé par l'appellation C1, C2 ou C3, et ses trois concentrations seront différentes en fonction du facteur « Spécialité » considéré.

Tableau 4 - Plan d'expérience de l'analyse de covariance à deux facteurs.

	Concentration n°1 de chaque spécialité	Concentration n°2 de chaque spécialité	Concentration n°3 de chaque spécialité
Spécialité n°1	S1 C ₁ 1	S1 C ₁ 2	S1 C ₁ 3
Spécialité n°2	S2 C ₂ 1	S2 C ₂ 2	S2 C ₂ 3
Spécialité n°i	S _i C _i 1	S _i C _i 2	S _i C _i 3

Légende : le facteur « Spécialité » est caractérisé par l'appellation « Si » avec la modalité i associée à chaque spécialité incluse dans l'étude. Le facteur « Concentration attendue » est caractérisé par l'appellation C1, C2 ou C3, et ses trois concentrations seront différentes en fonction du facteur « Spécialité » considéré.

L'hypothèse de normalité des résidus est vérifiée par un test de Shapiro Wilk ($\alpha=5\%$) et l'homogénéité des variances par un test de Levene ($\alpha=5\%$).

Concernant l'analyse de variance, si l'hypothèse H0 de l'ANOVA est rejetée au risque $\alpha=5\%$, un test de Kruskal-Wallis permettra la comparaison des |EQP| des sous-groupes de concentration C1, C2 et C3 pour chaque spécialité. Un test post-hoc de comparaison de Dunn avec correction de Bonferroni permettra l'identification des différences significatives entre les |EQP| des sous-groupes de concentration comparés deux à deux.

Par exemple, un test de Kruskal-Wallis avec un risque α à 5% sera conduit pour comparer les |EQP| entre les sous-groupes S1 C₁1, S1 C₁2 et S1 C₁3 puis un test de Dunn avec correction de Bonferroni ($\alpha=5\%$) sera conduit pour comparer les |EQP| entre les sous-groupes S1 C₁1 et S1 C₁2 ; S1 C₁2 et S1 C₁3 ; S1 C₁1 et S1 C₁3. Les résultats seront présentés sous forme de boîte à moustaches.

Le calcul du nombre de seringues nécessaires pour l'étude a été effectué en utilisant un risque α de 5%, une puissance β de 80%, pour un test d'ANOVA à deux

facteurs (package « WebPower », logiciel R, version 3.6.1, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria). La taille d'effet f choisie pour le calcul était de 0,25.

1.3. Résultats

1.3.1. Partie analytique

1.3.1.1. Choix des spécialités commerciales et des concentrations

L'analyse de la fréquence des prescriptions des spécialités commerciales dans le service de soins a identifié 29 spécialités commerciales d'intérêt. Parmi elles :

- trois ont été exclues dans le cadre de cette expérience car appartenant à la législation des stupéfiants (morphine, sufentanil, kétamine) :
- une a été exclue car appartenant à la liste des médicaments en sus de la T2A (méro-pénème)
- deux autres ont été exclues en raison de l'absence de chromophore dans le principe actif (amikacine, gentamicine) ; l'absence de chromophore ne signifie pas que la spécialité ne peut être évaluée, mais que le tracé spécifique obtenu correspondra à l'absorption des chromophores des excipients et du solvant de dilution dans ce cas, et ne sera donc pas spécifique du principe actif en solution.
- huit autres en raison de la non-disponibilité de quatre lots différents au moment de l'étude (prostine, amoxicilline, ibuprofène, atropine, midazolam, métronidazole, bétaméthasone, dexmédétomidine).

Le Tableau 5 présente les quinze spécialités commerciales incluses dans l'étude. L'Annexe 1 recense les structures des principes actifs contenus dans les quinze spécialités incluses dans l'étude (à l'exception de l'analogue rapide de l'insuline et de l'héparine sodique)^[65] et l'Annexe 2, la liste des excipients contenus dans les spécialités.

Tableau 5 - Liste des quinze spécialités commerciales répondant aux critères d'inclusion dans l'étude. Légende : EPPI, eau pour préparation injectable ; G5%, glucose 5% ; NaCl 0,9%, chlorure de sodium 0,9%, *spécialités n'ayant pas répondu aux exigences de calibration.

Principe actif	Spécialité commerciale	Laboratoire fabricant	Solvant de reconstitution	Solvant de dilution	Concentration cible	Choix de la gamme de calibration
Céfazoline	Céfazoline 1 g, poudre pour solution injectable (im-iv)	Mylan	EPPI	G5%	20 mg/mL	5 - 10 - 20 - 30 - 40 - 50 mg/mL
Céfépime	Céfépime 1 g, poudre pour solution injectable	Gerda	EPPI	G5%	30 mg/mL	5 - 10 - 20 - 30 - 40 - 50 mg/mL
Céfotaxime	Céfotaxime 500 mg, poudre pour solution injectable (im-iv)	Mylan	EPPI	G5%	45 mg/mL	10 - 20 - 40 - 50 - 80 mg/mL
Citrate de caféine	Citrate de caféine 25 mg/mL, solution injectable	Cooper	-	G5%	2,5 mg/mL	0,5 - 1,0 - 2,5 - 5,0 - 10,0 mg/mL
Dobutamine*	Dobutamine 250 mg/20 mL, solution à diluer pour perfusion	Panpharma	EPPI	G5%	800 - 4 000 µg/mL	150 - 300 - 600 - 1200 - 2400 - 4800 - 7500 - 10 500 µg/mL
Furosémide*	Furosémide 20mg/2mL, solution	Renaudin	-	NaCl 0,9%	0,4-4 mg/mL	0,25 – 0,5 – 1 – 2 – 4 – 8 mg/mL

	injectable					
Hémisuccinate d'hydrocortisone	Hydrocortisone UPJOHN 100 mg, préparation injectable	Serb	-	G5%	0,5 mg/mL	0,1 - 0,25 - 0,5 - 1,0 - 2,0 mg/mL
Héparine sodique	Héparine sodique Choay 5000 UI/1 mL, solution injectable iv	Laboratoires Cheplapharm	-	NaCl 0,9%	350 UI/mL	100 - 200 - 400 - 800 - 1000 UI/mL
Insuline Asparte	Novorapid 100 unités/mL, solution injectable	Novo Nordisk	-	NaCl 0,9%	0,15 UI/mL	0,05 - 0,1 - 0,25 - 0,50 - 0,75 UI/mL
Nicardipine	Nicardipine 10 mg/10 mL, solution injectable	Aguettant	-	G5%	0,100 mg/mL	0,025 - 0,05 - 0,10 - 0,15 - 0,20 mg/mL
Noradrénaline	Noradrénaline 2 mg/mL sans sulfites, solution à diluer pour perfusion	Mylan	-	G5%	0,06 mg/mL	0,01 - 0,03 - 0,06 - 0,08 - 0,12 mg/mL
Oméprazole	Oméprazole 40mg, poudre pour solution pour perfusion	Mylan	NaCl 0,9%	NaCl 0,9%	0,4 mg/mL	0,1 - 0,2 - 0,4 - 0,6 - 0,8 mg/mL

Paracétamol	Paracétamol 10 mg/mL, solution pour perfusion	Macopharma	-	NaCl 0,9%	5 mg/mL	1,0 - 2,0 - 5,0 - 7,5 - 10,0 mg/mL
Pipéracilline/ Tazobactam	Piperacilline tazobactam 2 g/0,25 g, poudre pour solution pour perfusion	Mylan	EPPI	G5%	8 mg/mL	25 - 50 - 75 - 150 - 200 mg/mL
Vancomycine	Vancomycine 250 mg, poudre pour solution à diluer pour perfusion	Mylan	EPPI	G5%	2,5 mg/mL	1,0 - 2,5 - 5,0 - 7,5 - 10,0 mg/mL

La liste des lots utilisés pour la calibration et la validation est présentée dans le Tableau 6.

Tableau 6 - Liste des lots de spécialités commerciales utilisés lors des étapes de calibration et de validation. Légende : IV pour intraveineux, IM pour intramusculaire, *spécialités n'ayant pas répondu aux exigences de calibration.

Spécialité commerciale	Lots de calibration	Lot de validation
Céfazoline 1 g, poudre pour solution injectable (im-iv)	190438, exp 04/2022 190846, exp 08/2022 190866, exp 08/2022	Non applicable*
Céfépime 1 g, poudre pour solution injectable	P-06, exp 04/2022 P-08, exp 06/2022 R-05, exp 10/2022	Non applicable*
Céfotaxime 500 mg, poudre pour solution injectable (IM-IV)	190858, exp 08/2021 190860, exp 08/2021 190732, exp 07/2021	200426, exp 04/2022
Citrate de caféine 25 mg/mL, solution injectable	205037, exp 09/2022 206792, exp 12/2022 207038, exp 02/2023	207078, exp 05/2023
Dobutamine 250 mg/20 mL, solution à diluer pour perfusion	0178, exp 02/2022 0179, exp 04/2022 0022, exp 04/2022	Non applicable*
Furosémide 20mg/2mL, solution injectable	205951, exp 09/2021 207234, exp 07/2023 207604, exp 10/2023	206615, exp 09/2022
Hydrocortisone UPJOHN 100 mg, preparation injectable	2603-W2S86, exp 09/2022 2685-W2T27, exp 10/2022 2685-W2T28, exp 10/2022	2709-W2T28, exp 10/2022
Héparine sodique Choay 5000 UI/1 mL, solution injectable IV	8A005, exp 10/2021 9A004, exp 05/2022 AA002, exp 10/2023	Non applicable*
Novorapid 100 unités/mL, solution injectable	KS6BC77, exp 04/2022 JS69B04, exp 05/2021 KS6BP37, exp 06/2022	Lot KS6CA89 : Changement de marché Humalog® 100UI/mL : Lot D335143, exp 02/2023

Nicardipine 10 mg/10 mL, solution injectable	J0007A01, exp 12/2021 J0036A01, exp 1/12/2021 4303503, exp 12/2020	4303922, exp 1/10/2021
Noradrénaline 2 mg/mL sans sulfites, solution à diluer pour perfusion	H2061, exp 10/2021 H2087, exp 08/2021 H2081, exp 05/2022	H2078, exp 03/2022
Oméprazole 40mg, poudre pour solution pour perfusion	W730, exp 09/2021 W736, exp 10/2022 W660, exp 10/2020	Changement de marché ARROW : 01254, exp 07/2022
Paracétamol 10 mg/mL, solution pour perfusion	17I001, exp 09/2019 18F002, exp 06/2020 18K005, exp 11/2020	Macopharma : 19I003, exp 11/2020 Changement de marché BBraun : 20235410, exp 05/2022
Pipéracilline/tazobactam 2 g/0,25 g, poudre pour solution pour perfusion	5M1076FR, exp 01/05/2020 5M1088FR, exp 01/07/2021 5M1081FR, exp 01/03/2021	5M1089FR, exp 07/2021
Vancomycine 250 mg, poudre pour solution à diluer pour perfusion	197408, exp 10/2021 197221, exp 10/2021 202658, exp 12/2021	206649, exp 03/2022

Les changements de marché effectués à la pharmacie centrale du CHU de Lille au cours de l'étude ont entraîné la répétition des étapes de calibration et de CQ des gammes d'étalonnage pour les spécialités d'analogues rapides de l'insuline, d'oméprazole et du paracétamol.

1.3.1.2. Calibration des gammes

Les paramètres de calibration des spécialités pour les gammes définies dans le Tableau 6 sont présentés en Annexes 3 et 4.

Dix spécialités commerciales ont répondu aux exigences de la calibration : le citrate de caféine, l'hémisuccinate d'hydrocortisone (HSHC), la vancomycine, la nicardipine, la noradrénaline, l'oméprazole, le paracétamol, le furosémide, la pipéracilline/tazobactam, le céfépime (Annexe 3). Un niveau de calibration a été éliminé pour les spécialités suivantes : insuline (niveau A, erreur totale = 29,3%),

noradrénaline (niveau A, erreur totale = 25,7%), caféine (niveau A, erreur totale = 45,2%), HSHC (niveau A, erreur totale = 20,9%).

Quatre spécialités commerciales n'ont pas répondu aux exigences en termes de calibration. Il s'agissait de l'héparine sodique, de la dobutamine, du céfotaxime, de la céfazoline. Pour ces quatre spécialités, plus d'un niveau de calibration était en dehors des limites d'acceptation de l'erreur totale (Annexe 4).

1.3.1.3. Contrôle qualité des gammes

Les résultats de la validation de la méthode sont présentés dans le Tableau 7.

Tableau 7 - Résultats de l'étape de validation de la méthode pour les onze spécialités commerciales calibrées. Légende : « - » pour non applicable, CQ pour contrôle qualité.

Spécialité commerciale	Niveau de concentration CQ1	Niveau de concentration CQ2	Niveau de concentration CQ3	Niveau de concentration CQ4	Niveau de concentration CQ5	Biais relatif (valeur absolue, %) [min - max]	Fidélité intermédiaire (valeur absolue, %) [min - max]	Erreur totale en (valeur absolue, %) [min - max]
	(A-B)	(B-C)	(C-D)	(D-E)	(E-F)			
Céfépime 1 g, poudre pour solution injectable	-	15 mg/mL	30 mg/mL	45 mg/mL	-	7,1 -13,9	1,8-2,9	10,0-16,0
Citrate de caféine 25 mg/ml, solution injectable	-	1,75 mg/mL	3,75 mg/mL	7,5 mg/mL	-	1,0-6,3	1,9-3,0	4,0-8,3
Furosémide 20mg/2mL, solution injectable	0,4 mg/mL	0,75 mg/mL	1,5 mg/mL	3,0 mg/mL	6,0 mg/mL	0,4-1,1	1,6-2,7	2,1-3,1
Hydrocortisone UPJOHN 100 mg, préparation injectable	-	0,4 mg/mL	0,8 mg/mL	1,5 mg/mL	-	0,6-2,1	2,7-4,8	3,5-4,8
Novorapid 100 unités/ml, solution injectable	-	0,07 UI/mL	0,144 UI/mL	0,303 UI/mL	-	0,8-2,0	5,5-6,4	6,7-8,4
Nicardipine 10 mg/10 ml, solution injectable	0,04 mg/mL	0,076 mg/mL	0,12 mg/mL	0,176 mg/mL	-	0,2-4,6	1,8-3,2	2,0-7,8
Noradrénaline 2 mg/ml sans sulfites, solution à diluer pour	-	0,044 mg/mL	0,072 mg/mL	0,100 mg/mL	-	6,0-13,6	3,9-6,1	9,9-19,8

perfusion								
Oméprazole 40mg, poudre pour solution pour perfusion	0,16 mg/mL	0,30 mg/mL	0,60 mg/mL	0,90 mg/mL	-	0,1-1,5	1,1-1,7	1,3-3,2
Paracétamol 10 mg/ml, solution pour perfusion BBraun	1,5 mg/mL	3 mg/mL	6 mg/mL	8 mg/mL		0,1-0,9	1,0-2,2	1,2-2,5
Paracétamol 10 mg/ml, solution pour perfusion Macopharma						3,0-4,6	1,1-1,5	4,5-6,1
Piperacilline tazobactam 2 g/0,25 g, poudre pour solution pour perfusion	40 mg/mL	60 mg/mL	80 mg/mL	120 mg/mL	-	0,3-7,7	12,7-23,2	19,5-23,5
Vancomycine 250 mg, poudre pour solution injectable	1,75 mg/mL	3,75 mg/mL	6,25 mg/mL	8,75 mg/mL	-	1,0-3,1	3,1-3,8	4,6-6,2

Il y avait 3 points de CQ pour les gammes comportant quatre niveaux de concentration, 4 points de CQ pour les gammes à cinq niveaux de concentration, 5 points de CQ pour la gamme à six niveaux de concentration (Annexe 3).

À l'exception de la pipéracilline/tazobactam, tous les CQ se trouvaient dans les limites de validation. S'agissant d'une étude pilote, la pipéracilline/tazobactam a tout de même été conservée pour la suite des analyses compte tenu de l'intérêt que nous lui portions quant à sa difficulté de reconstitution.

1.3.2. Partie clinique

À l'issue de l'étape de qualification technique, neuf spécialités commerciales ont été sélectionnées pour l'étude dans le service : le citrate de caféine, le céfépime, le furosémide, l'hémisuccinate d'hydrocortisone, la nicardipine, la noradrénaline, l'oméprazole, la pipéracilline/tazobactam et la vancomycine. Vingt-sept groupes de « spécialité » et de « concentration attendue » ont été formés (nombre de groupes = 9 spécialités * 3 concentrations attendues). Les vingt-sept lignes de prescriptions générées pour l'étude sont présentées en Annexe 5.

Le nombre de préparations nécessaires pour obtenir une puissance de 80% avec une taille d'effet moyenne de 0,25 pour l'ANOVA était de 324, soit 12 préparations par groupe.

1.3.2.1. Analyse qualitative : analyse des erreurs d'identification

Le recueil des données a été effectué sur 45 jours calendaires avec une moyenne de 7 seringues préparées et analysées par jour. Soixante-sept IDE/puéricultrices ont participé à l'étude soit 97% de l'effectif posté dans le service. Le nombre de seringues analysées était de 324. Le nombre médian de préparations réalisées par opérateur était de 3 (min-max, 1-15). Les résultats de l'identification des solutions médicamenteuses injectables par le DrugLog[®] sont résumés dans le Tableau 8.

Tableau 8 - Résultats de l'identification des solutions médicamenteuses injectables par le DrugLog® à partir du module « Identifier ».

Niveau d'identification par le DrugLog®	Effectif	Proportion (%)
Spécialités correctement identifiées	268	82,7
Identification croisée	37	11,4
Absence d'identification par l'automate	19	5,9
Total	324	100,0

L'analyse qualitative a permis une identification correcte de 82,7% des préparations.

Deux des neuf spécialités commerciales étudiées ont mené à une identification croisée pour au moins un échantillon : le céfépime (n=36) qui a donné comme résultat une identification croisée avec le céfotaxime pour 100% des échantillons analysés, la caféine (n=1) qui a donné comme résultat une identification croisée avec la vancomycine.

Au cours du recueil, trois des neuf spécialités commerciales étudiées ont mené à une absence d'identification pour au moins un échantillon. Parmi les 19 solutions médicamenteuses injectables non reconnues par l'automate :

- 9 concernaient des solutions de citrate de caféine à 7,8 mg/mL,
- 9 concernaient des solutions de noradrénaline (0,042 mg/mL n=2, 0,063 mg/mL n=1, 0,083 mg/mL n= 6),
- 1 concernait des solutions d'oméprazole (0,26 mg/mL n=1).

Les tracés spécifiques ont été analysés.

- Interprétation de l'absence d'identification des préparations à base de citrate de caféine

Un exemple d'analyse d'un échantillon non identifié, contenant théoriquement de la caféine à la concentration 7,8mg/mL est présenté en Figure 8.

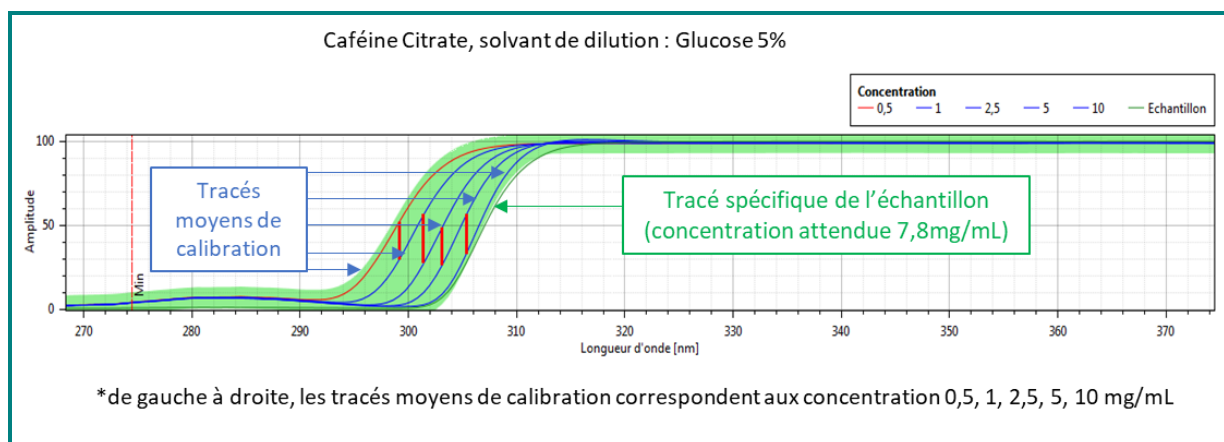


Figure 8 - Représentation de la superposition d'un tracé spécifique d'un échantillon de citrate de caféine (concentration théorique=7,8mg/mL) aux tracés de calibration de la caféine enregistrés dans le DrugLog® (production originale, montage d'impression-écran effectuée avec le DrugLog®).

L'interprétation de ce graphique conduit à formuler l'hypothèse d'un surdosage de caféine (concentration > 10 mg/mL) par rapport à la concentration attendue, expliquant l'absence d'identification de la spécialité. En effet, le tracé spécifique de l'échantillon est en dehors de la gamme de calibration enregistrée. La spécialité n'est pas reconnue par le DrugLog®. Il ne s'agit là que d'un exemple, mais cette situation s'est reproduite à l'identique pour les 8 autres préparations de citrate de caféine non identifiées.

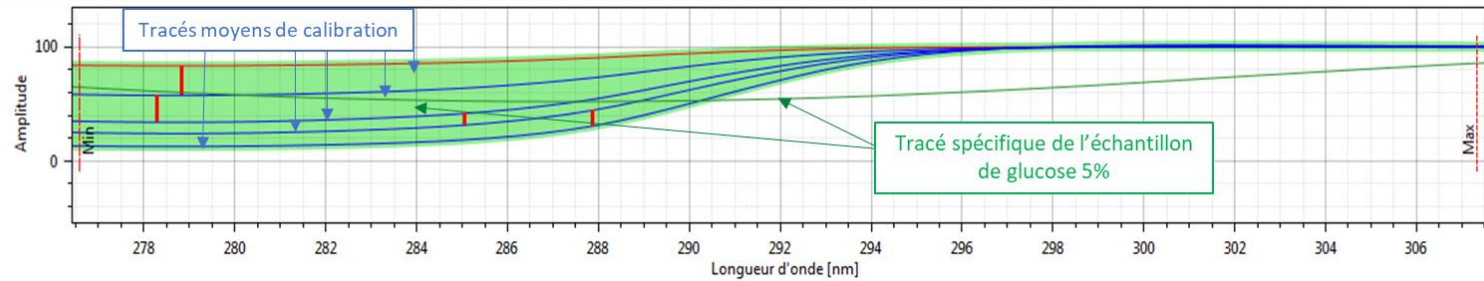
- Interprétation de l'absence d'identification des préparations à base de noradrénaline

Concernant la noradrénaline, pour la majorité des préparations, l'identification était correctement effectuée après remplacement du solvant de référence (initialement, une ampoule de G5% neuve, n'ayant pas servi aux préparations) par le G5% utilisé pour préparer la noradrénaline diluée. Cette notion est illustrée par la Figure 8.

La Figure 8.A montre que le tracé spécifique du G5% analysé seul se superpose aux tracés de calibration de la noradrénaline diluée dans du G5%. La Figure 8.B correspond à la superposition d'un tracé d'échantillon de noradrénaline pour laquelle le blanc avait été réalisé avec une ampoule de G5% n'ayant pas servi de diluant pour la préparation de l'échantillon analysé, avec les tracés de calibration de la noradrénaline. Enfin, le graphique 8.C. représente la superposition d'un tracé d'échantillon de noradrénaline pour laquelle le blanc avait été réalisé avec l'ampoule

de G5% ayant servi de diluant pour la préparation de l'échantillon analysé, avec les tracés de calibration de la noradrénaline. On remarque qu'après changement du blanc, le tracé spécifique de l'échantillon s'ajuste aux tracés de calibration.

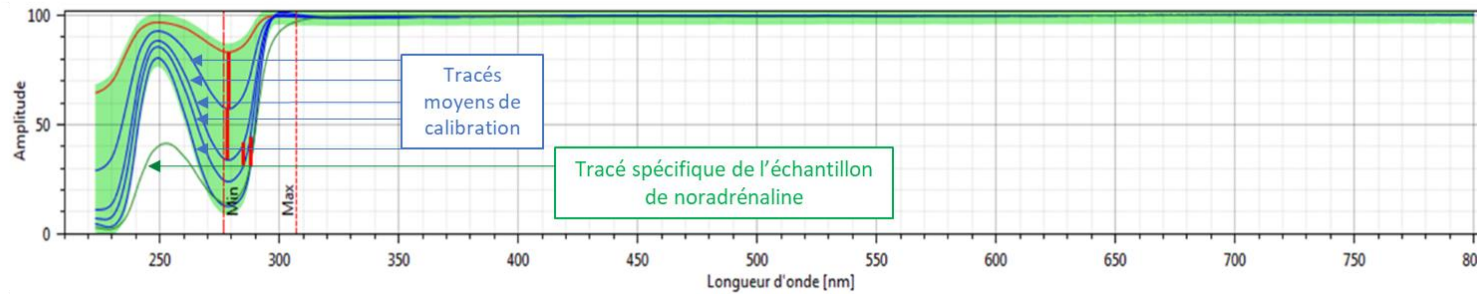
A. Superposition du tracé du glucose 5% et des tracés de calibration de Noradrénaline diluée dans le glucose 5%



Interprétation

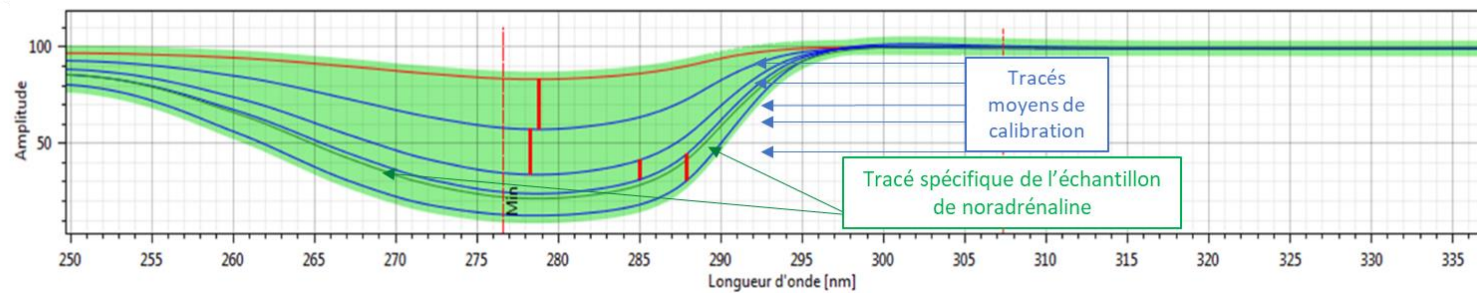
Le tracé du glucose 5% chevauche les tracés de calibration de la noradrénaline

B. Superposition du tracé d'un échantillon de Noradrénaline diluée dans le glucose 5% et des tracés de calibration de Noradrénaline diluée dans le glucose Glucose 5% utilisé pour le blanc n'ayant pas servi de solvant de dilution de l'échantillon de Noradrénaline analysé



Le tracé de l'échantillon de noradrénaline diffère fortement des tracés de calibration

C. Superposition du tracé d'un échantillon de Noradrénaline diluée dans le glucose 5% et des tracés de calibration de Noradrénaline diluée dans le glucose Glucose 5% utilisé pour le blanc ayant servi de solvant de dilution de l'échantillon de Noradrénaline analysé



Le tracé de l'échantillon de noradrénaline s'intègre parfaitement dans la calibration

Figure 9 - Représentation de la superposition d'un tracé spécifique d'un échantillon de noradrénaline (concentration théorique=0,083 mg/mL) et les tracés de calibration de la noradrénaline diluée dans du glucose 5%

Nous avons remarqué que l'interaction du tracé spécifique du G5% avec le tracé spécifique des spécialités en solution survenait principalement pour les spécialités dont les longueurs d'onde d'étude étaient proches de la longueur d'onde d'absorption maximale du G5%, entre 225 et 320 nm.

- Interprétation de l'absence d'identification des préparations à base d'oméprazole

Concernant l'oméprazole, l'analyse des tracés n'a pas permis d'expliquer l'erreur d'identification observée. Aucune des hypothèses précédemment énoncées ne permettrait d'expliquer l'écueil d'identification pour l'une des 36 seringues préparées avec cette spécialité. Notre hypothèse est qu'il s'agit probablement d'une erreur de préparation objectivée par le DrugLog[®], dont le risque ici était important car lié au faible volume d'oméprazole à prélever (0,1mL) pour préparer la seringue souhaitée. L'erreur étant isolée, elle n'a pu être reproduite et analysée.

1.3.2.2. Analyse quantitative : analyse des erreurs de précision

Ont été exclues de l'analyse quantitative, les préparations non reconnues par l'automate (n=19 ; caféine n=9, noradrénaline n=9, oméprazole=1) et une préparation de nicardipine pour laquelle le recueil était incomplet, soit 20 préparations au total. Le Tableau 9 synthétise les proportions d'analyses présentant des valeurs absolues d'erreurs quantitatives de préparations acceptables (caractérisées par une $|EQP| \leq 20\%$) par « Spécialité » et par « Concentration attendue ».

Tableau 9 - Représentation des proportions d'analyses présentant des valeurs absolues d'erreurs quantitatives de préparation acceptables par groupe de « Spécialité » et de « Concentration attendue » (n=304)

Principe actif contenu dans la spécialité commerciale et concentration attendue	Effectif	Proportion d'analyses acceptables ($ EQP \leq 20\%$)
Caféine	27	25,90%
• C1, 2,5 mg/ml	12	36,40%
• C2, 5,0 mg/ml	3	16,70%
• C3, 7,5 mg/ml	12	25,00%
Céfépime	36	97,20%
• C1, 25 mg/ml	12	91,70%
• C2, 38 mg/ml	12	100,00%
• C3, 45 mg/ml	12	100,00%
Furosémide	36	72,20%
• C1, 0,31 mg/ml	12	33,30%
• C2, 1,00 mg/ml	12	83,30%
• C3, 4,40 mg/ml	12	100,00%
Hémisuccinate d'hydrocortisone	36	33,30%
• C1, 0,28 mg/ml	12	25,00%
• C2, 0,50 mg/ml	12	25,00%
• C3, 1,52 mg/ml	12	50,00%
Nicardipine	36	97,20%
• C1, 0,069 mg/ml	12	91,70%
• C2, 0,094 mg/ml	12	100,00%
• C3, 0,143 mg/ml	12	100,00%
Noradrénaline	27	92,60%
• C1, 0,042 mg/ml	11	88,90%
• C2, 0,063 mg/ml	6	100,00%
• C3, 0,083 mg/ml	10	85,70%
Oméprazole	35	71,40%
• C1, 0,26 mg/ml	12	36,40%
• C2, 0,40 mg/ml	11	90,90%
• C3, 0,73 mg/ml	12	84,60%
Pipéracilline tazobactam	36	33,30%
• C1, 50 mg/ml	12	10,00%
• C2, 80 mg/ml	12	8,30%
• C3, 125 mg/ml	12	71,40%
Vancomycine	36	91,70%
• C1, 2,6 mg/ml	12	81,80%
• C2, 5,2 mg/ml	12	100,00%
• C3, 7,3 mg/ml	12	92,30%
TOTAL	304	68,90%

L'analyse quantitative a donc mis en évidence une proportion moyenne d'analyses dans les limites d'acceptabilité de 68,90%, variant de 25,90% à 97,20% en fonction des spécialités. Le céfépime, la nicardipine, la noradrénaline et la vancomycine ont montré un taux d'|EQP| acceptable pour plus de 90% des préparations. Le furosémide et l'oméprazole ont montré un taux d'|EQP| acceptable pour plus de 70% des préparations. Concernant l'HSHC, la caféine et la piperacilline/tazobactam, ils ont montré un taux d'|EQP| acceptable très faible avec moins de 50% des préparations ayant été évaluées avec un |EQP|≤20%.

1.3.2.3. Analyses statistiques

En raison du rejet de l'hypothèse de normalité par le test de Shapiro-Wilk pour les résidus de l'ANOVA ($W_c = 0.63822$, $p\text{-value} < 2.2 \cdot 10^{-16}$), une transformation de l'|EQP| en $\ln(|EQP|)$ a été effectuée.

Les résultats de l'ANOVA \ln (valeur absolue de l'erreur quantitative de préparation) ~ facteur « Concentration attendue » emboîté dans facteur « Spécialité » sont présentés dans le Tableau 10.

Tableau 10 - Résultats de l'ANOVA à deux facteurs emboîtés (logarithme népérien de la valeur absolue de l'erreur quantitative de préparation ~ facteur « Concentration attendue » emboîté dans facteur « Spécialité »)

Variable à expliquer : $\ln(EQP)$	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carrés moyens	Valeur F	Pr(>F)	
Spécialité	8	151,23	18,903	20,722	< 2e-16	***
Spécialité : Concentration attendue	18	98,43	5,468	5,994	3,57e-12	***
Résidus	278	246,31	0,912			
Légende : ns pour non significatif, * pour $p\text{-value} < 0,05$, ** pour $p\text{-value} < 0,01$, *** pour $p\text{-value} < 0,0001$						

L'hypothèse de normalité a été vérifiée ($W_c = 0,99143$, $p\text{-value} = 0,08187$). Les diagrammes diagnostiques de la répartition des résidus sont représentés dans la Figure 10.

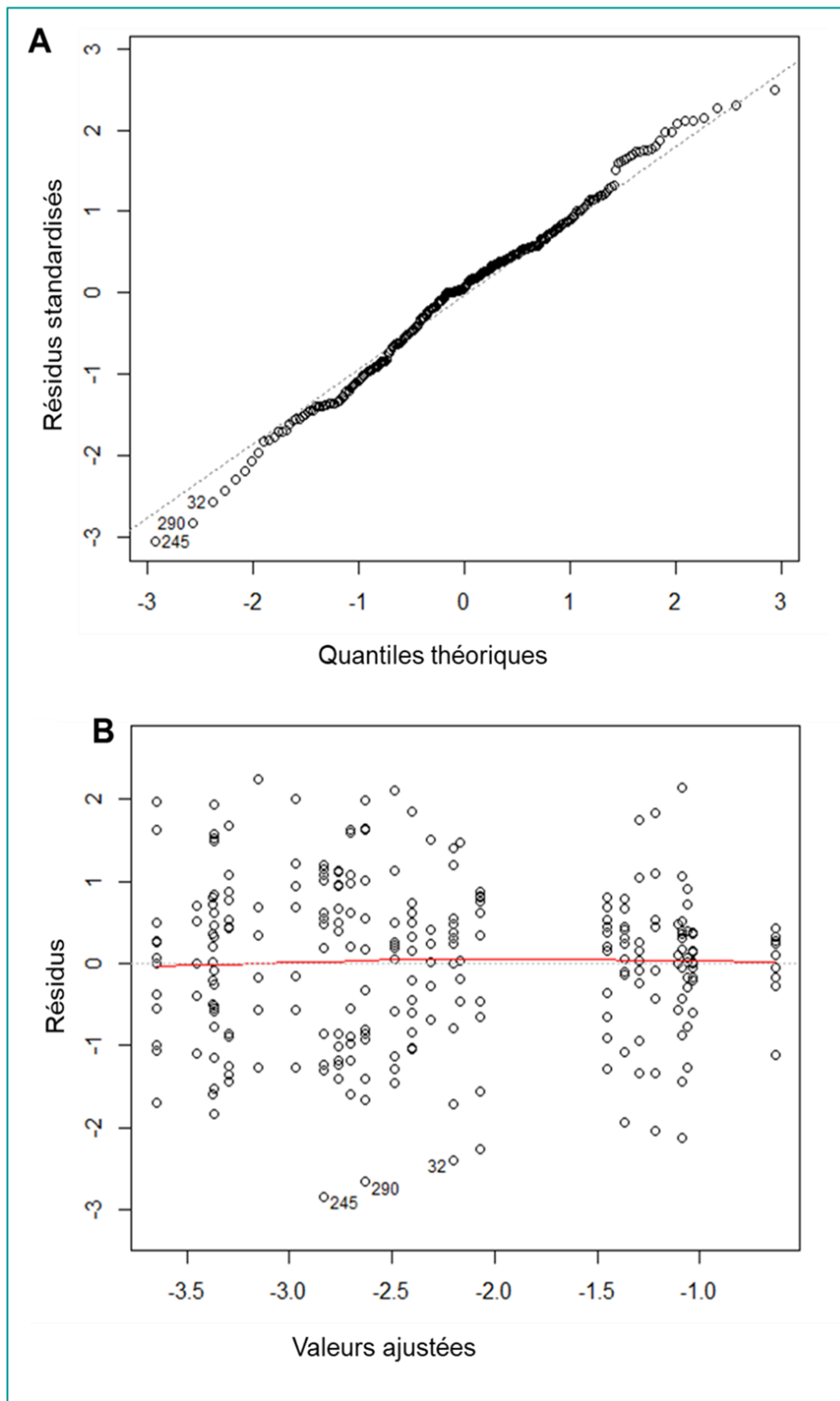


Figure 10 - A. Diagramme Quantile-Quantile. B. Diagramme des résidus en fonction des valeurs ajustées. Graphiques obtenus à partir du logiciel R.

Sur le diagramme quantile-quantile (Figure 10.A), les points s'alignent le long de la droite $x=y$, ce qui signifie que les résidus standardisés sont bien répartis selon une distribution normale centrée réduite. Sur le second diagramme (Figure 10.B), les résidus sont répartis de manière homogène autour de l'axe des 0. La plupart des points se situent dans l'intervalle $[-2 ; 2]$ conformément à la distribution normale. Ces résultats

graphiques confirment que les résidus du modèle construit par ANOVA suivent une distribution normale et que l'ANOVA peut bien être utilisée dans notre cas.

L'homogénéité des variances a été vérifiée par le test de Levene ($W_{C\ell n(|EQP|)-C\text{classe}} = 1,48$; $p\text{-value} = 0,229$ et $W_{C\ell n(|EQP|)-Spécialité} = 1,71$; $p\text{-value} = 0,0950$).

Les résultats de l'ANOVA montrent que les deux facteurs (facteurs « Spécialité » et « Concentration attendue ») ont un impact significatif sur la valeur du $\ell n(|EQP|)$, ($p\text{-value} < 0,001$). Cela signifie que la variabilité des erreurs de précision dépend à la fois de la spécialité commerciale et de la concentration attendue et donc que les $|EQP|$ ne sont pas homogènes entre les groupes de spécialités et au sein des sous-groupes de concentration de ces spécialités.

Les boîtes à moustaches décrivant l' $|EQP|$ en fonction des spécialités et des concentrations attendues, les résultats des tests de Kruskal-Wallis et de Dunn avec correction de Bonferroni sont résumés dans la Figure 11.

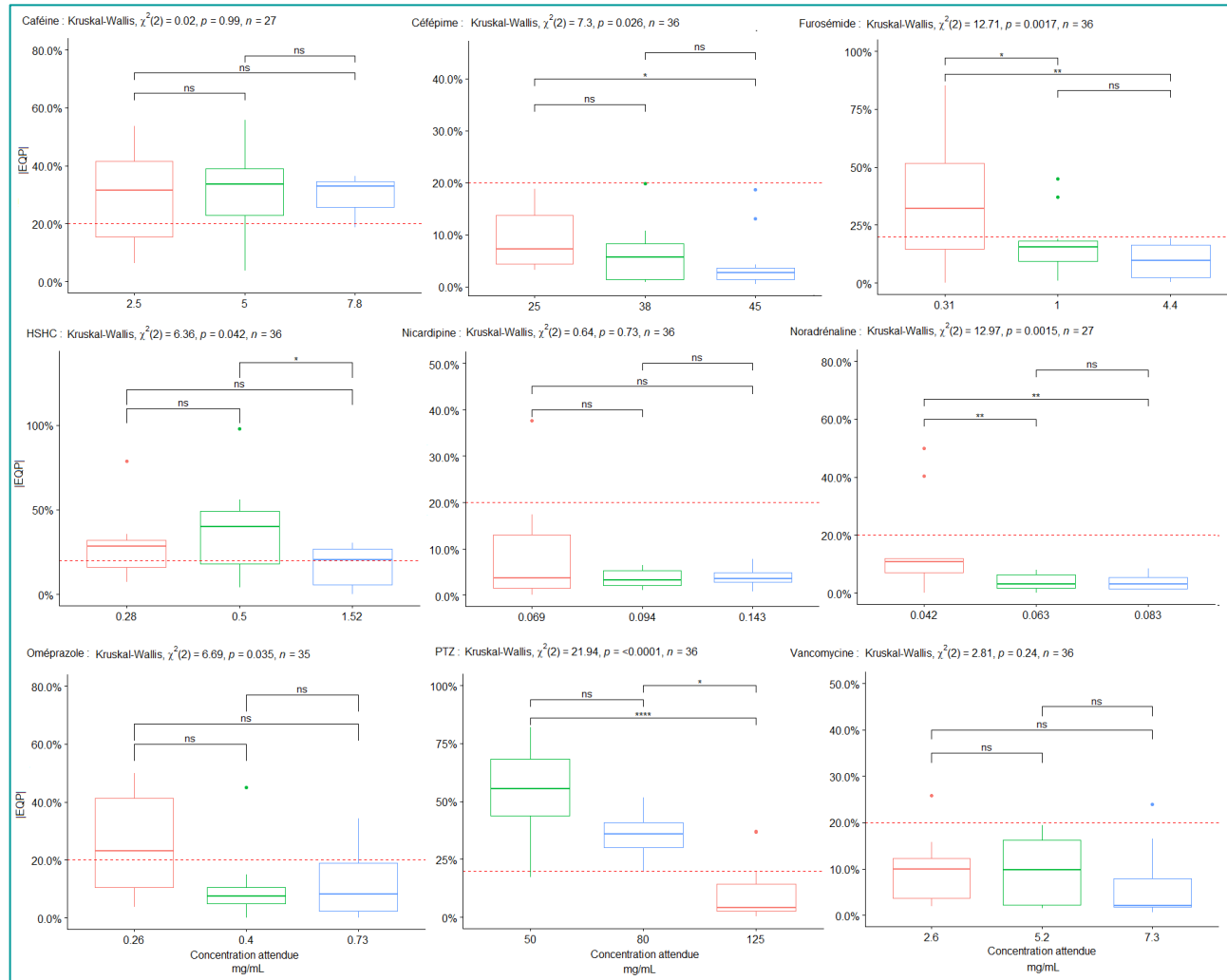


Figure 11 - Représentation des valeurs absolues des erreurs quantitatives de préparation sous forme de boîtes à moustaches regroupés par « Spécialité ».

Légende : Les résultats des tests de Kruskal-Wallis pour les $\ln(|EQP|)$ sont indiqués en haut de chaque graphique, les résultats de tests de Dunn pour les $\ln(|EQP|)$ sont représentés graphiquement : ns pour non significatif, * pour $p\text{-value} < 0,05$, ** pour $p\text{-value} < 0,01$, *** pour $p\text{-value} < 0,0001$. HSHC pour hémisuccinate d'hydrocortisone, PTZ pour pipéracilline/tazobactam

Chaque boîte à moustaches représente pour une spécialité commerciale la répartition des |EQP| en fonction des trois concentrations attendues (C1 à C3, de gauche à droite).

Les résultats des tests de Kruskal Wallis montrent que le facteur « Concentration attendue » n'influence pas de la même manière la valeur de l'|EQP| pour toutes les spécialités étudiées :

- le facteur « Concentration attendue » n'influence pas la valeur de l'|EQP| pour le citrate de caféine, la nicardipine, l'oméprazole et la vancomycine (rejet du test à 5%) ;
- le facteur « Concentration attendue » influence la valeur de l'|EQP| pour le céfépime, le furosémide, l'HSHC, la noradrénaline, et la pipéracilline-tazobactam (non-rejet du test à 5%).

Pour les spécialités dont la précision est significativement impactée par la « Concentration attendue », des différences significatives d'|EQP| par comparaison deux à deux des sous-groupes de concentrations attendues pour chaque spécialité commerciale ont été mises en évidence par le test de Dunn avec correction de Bonferroni (Figure 11) :

- entre les concentrations C1 et C3 pour : le céfépime, le furosémide, la noradrénaline et la pipéracilline/tazobactam ;
- entre les concentrations C1 et C2 pour : la noradrénaline et le furosémide ;
- entre les concentrations C2 et C3 pour l'HSHC et la pipéracilline/tazobactam.

1.4. Discussion

1.4.1. Avantages et limites du DrugLog®

1.4.1.1. Avantages du DrugLog®

Au cours de l'étape de qualification, l'automate a su identifier correctement toutes les spécialités commerciales sélectionnées pour l'étude. L'étape de qualification a été un succès pour onze des quinze spécialités sélectionnées. Le DrugLog® a permis un contrôle qualité quantitatif de 82,7% des préparations extemporanées sur une gamme de huit spécialités commerciales couramment utilisées dans l'unité de réanimation néonatale. Cette capacité d'identification et de quantification d'une large gamme de spécialités à l'aide du DrugLog® est cohérente avec les résultats des études précédentes^[56-58,60].

La rapidité de l'analyse, l'ergonomie, la facilité d'utilisation et sa petite taille font de cet automate un outil adapté à la pratique clinique^[60]. À ce jour, il est le seul automate à avoir été évalué dans le contrôle qualité des préparations injectables effectuées en service de soins.

1.4.1.2. Limites identifiées au cours de l'étape de qualification

- **Limites de spécificité**

La spécificité de la méthode d'identification du DrugLog® a été appréciée au travers de plusieurs cas dans cette étude.

Premièrement, nos résultats ont montré une transposabilité des tracés spécifiques des spécialités de paracétamol et d'oméprazole commercialisés par deux différents fabricants qui présentaient des sels de principes actifs identiques et des excipients similaires (Annexe 1).

Ce résultat est intéressant, car, en raison des ruptures d'approvisionnement ou des résultats d'appels d'offre, les changements de marché sont fréquents à l'hôpital. Les tracés spécifiques obtenus à l'aide du DrugLog® étant le résultat de l'empreinte chimique d'une spécialité commerciale, notre travail a permis de confirmer l'hypothèse

que les spécialités commerciales présentant les mêmes excipients et les mêmes sels de PA présentent les mêmes tracés spécifiques. Il en découle qu'une calibration n'est donc pas systématiquement nécessaire à chaque changement de marché mais, il est cependant nécessaire de prendre en considération la composition de chaque spécialité.

Si le DrugLog[®] venait à être implanté dans un établissement de santé pour une activité de routine, il serait intéressant d'établir la liste des excipients présentant un chromophore et donc susceptibles d'interférer avec le tracé spécifique d'une spécialité afin d'anticiper la recalibration de l'automate dans le cadre d'un changement de marché.

Un exemple de modification de structure chimique induisant une modification du tracé spécifique a été observé pour l'insuline pour laquelle le changement de marché a été marqué par un référencement de l'insuline lispro (Humalog[®]) à la place de l'insuline asparte (Novorapid[®]). Dans nos essais internes, l'Humalog[®] n'a pas été reconnu par le DrugLog[®] malgré une qualification satisfaisante de la Novorapid[®]. Dans sa structure primaire, l'insuline lispro diffère de l'insuline asparte par la présence d'une lysine à la place d'un acide aspartique en position B28, et l'ajout d'un résidu proline en position B29. Cette absence d'identification croisée entre le Novorapid et l'Humalog souligne la bonne spécificité du DrugLog[®].

Au cours de la calibration, des identifications croisées ont été obtenues avec deux couples de spécialités : vancomycine/caféine et céfépime/céfotaxime. Concernant le premier couple, les deux spécialités présentent pourtant des principes actifs de structures chimiques très différentes (Annexe 1). La similitude repose sur la longueur d'onde d'analyse qui est de 304 nm pour les deux spécialités. Le second couple présente des similitudes structurelles importantes, les deux spécialités appartenant à la classe des céphalosporines et présentent le même chromophore (Figure 12). Elles sont toutes deux composées d'un noyau céphème caractéristique

des céphalosporines et d'un groupe 2-(2-amino-1,3-thiazol-4-yl)-2-(methoxyimino)acetamido en position 7 du cycle céphème.

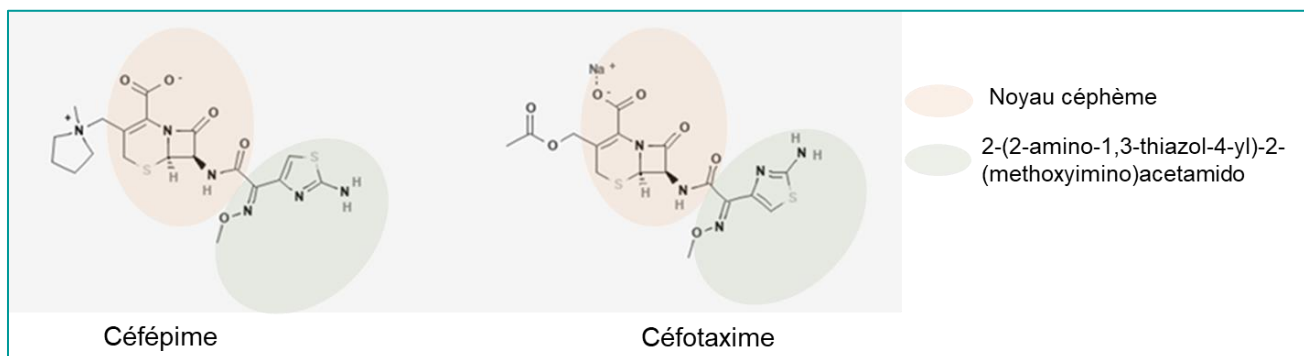


Figure 12 - Comparaison structures chimiques 2D du céfépime et du céfotaxime^[65].

De la même manière, la longueur d'onde d'étude est très proche (395 et 385 nm pour céfotaxime et céfépime respectivement).

Cette limite a également été identifiée dans le travail de T. Hennache^[60]. Il est possible de s'affranchir de ce problème en créant un catalogue par spécialité au lieu d'un catalogue par solvant de dilution, mais cette stratégie enlève l'intérêt du DrugLog[®] dans l'identification des erreurs qualitatives. Ces informations seront communiquées à l'entreprise ayant développé le DrugLog[®] afin qu'ils travaillent sur l'amélioration de la spécificité d'identification pour les spécialités d'une même famille.

- **Limites liées à l'erreur totale et limites liées à la sensibilité de l'appareil.**

Parmi les quinze spécialités incluses dans l'étude de qualification, quatre spécialités commerciales n'ont pas répondu aux exigences de calibration : l'héparine sodique, la dobutamine, la céfazoline et le céfotaxime. Le rejet de ces spécialités est dû à un calcul de l'erreur totale en dehors des limites d'acceptabilité. Afin de comprendre les problématiques responsables de l'échec de ces 4 calibrations, il serait intéressant d'effectuer un contrôle par chromatographie liquide haute performance (CLHP) pour vérifier si la variabilité observée avec le DrugLog[®] est transposable aux résultats de la CLHP ; si tel est le cas, il serait intéressant d'analyser les paramètres pré-analytiques de la calibration qui pourraient expliquer cette erreur totale.

Onze autres spécialités ont pu être validées sur quatre niveaux de calibration minimum. À l'exception du céfépime et de la spécialité associant pipéracilline-tazobactam, l'erreur totale calculée sur les niveaux de calibration conservés dans l'analyse n'a pas dépassé 15%. Le pourcentage d'erreur totale important pour le céfépime et pour la pipéracilline-tazobactam conforte les résultats de calibration du céfotaxime et de la céfazoline qui indiquent que la variabilité des résultats donnés par le DrugLog® pour les préparations injectables à base de bêta-lactamine est importante et nécessiterait des investigations supplémentaires. De la même manière, il serait intéressant de vérifier si l'erreur totale obtenue avec le DrugLog® est similaire avec une méthode d'analyse quantitative de type CHLP.

Le premier niveau de la gamme de calibration ne répondait pas aux exigences fixées pour cinq spécialités (insuline, caféine, céfépime, HSHC, noradrénaline). Ce résultat indique que la limite de sensibilité de l'automate a été atteinte pour ces niveaux de calibration. Les gammes de calibration n'ont pas été refaites et nous avons travaillé sur des gammes à 4 points ce qui n'est pas recommandé^[66] car un nombre limité de flacons provenant de différents lots ont été collectés pour réaliser la calibration et, cette collecte a nécessité plusieurs mois ; il eut été nécessaire que nous attendions plusieurs mois pour pouvoir collecter de nouveaux lots de spécialités afin de refaire notre calibration, ce qui n'aurait pas permis de terminer l'étude dans le temps imparti. S'agissant d'une étude pilote, les étapes de validation et l'étude clinique ont tout de même été conduites à leur fin, mais il sera nécessaire de prendre en compte ces données et le calcul des limites de détection et de quantification pour sélectionner des gammes plus adaptées dans les prochaines études.

Un des objectifs de notre travail était d'évaluer si la technique de quantification du DrugLog® était suffisamment sensible pour permettre son application dans des services utilisant des faibles concentrations médicamenteuses, ce qui est le cas de la néonatalogie. Ces résultats montrent que le DrugLog® ne peut pas être utilisé pour assurer la précision quantitative de certains médicaments largement utilisés en néonatalogie aux concentrations paramétrées dans notre service ; parmi ces médicaments qui n'ont pas pu être calibrés correctement, il y a des médicaments à risque comme l'insuline, l'héparine ou la noradrénaline.

- **Interaction entre le tracé spécifique de la spécialité commerciale et le tracé spécifique du G5%, lorsque ce dernier est utilisé pour faire le « blanc ».**

Les résultats de l'analyse qualitative des solutions de noradrénaline amènent à penser que l'interaction du tracé spécifique du G5% avec le tracé spécifique de la noradrénaline en solution pourrait être responsable de l'absence d'identification de nombreuses préparations de noradrénaline en raison de la proximité des longueurs d'onde d'étude de la noradrénaline et du G5%. La même observation avait été faite dans une précédente étude^[57].

Nous avons choisi comme blanc pour chaque catalogue, le même solvant de dilution que celui utilisé pour chaque préparation. En néonatalogie, l'utilisation du G5% comme diluant est très répandue, la plupart des spécialités étudiées étaient paramétrées avec le G5% comme solvant de dilution. Il serait intéressant d'étudier si l'utilisation du NaCl 0,9% comme blanc pour l'analyse de solutions préparées avec du G5% ne permettrait pas de limiter le biais lié à l'interaction du tracé spécifique du G5% avec le tracé spécifique des préparations analysées.

1.4.2. Avantages et limites de la méthodologie

1.4.2.1. Avantages de la méthodologie

- **L'étude de qualification**

La force de l'étude de qualification est basée sur la méthodologie avec utilisation de trois lots pour l'étape de calibration, d'un lot indépendant pour les CQs et la participation de deux opérateurs à la réalisation des CQs. L'empreinte analysée par le DrugLog® comprenant l'ensemble principe actif et excipients, il paraît indispensable de multiplier les lots pour calibrer une spécialité commerciale de manière robuste. Faire intervenir plusieurs opérateurs dans la validation de la méthode permet de s'affranchir d'une erreur de manipulation. Parmi les études précédentes publiées sur le DrugLog®, aucune ne mentionne la variabilité des lots comme critère nécessaire pour la calibration^[55-57]. Leur méthodologie ne précise pas d'étape de validation prenant en compte un lot indépendant et faisant intervenir deux opérateurs. Seule l'étude interne

du laboratoire non publiée issue du travail de thèse de T. Hennache a souligné la nécessité de faire varier les lots pour accroître la robustesse de la calibration de l'automate^[60]. Cependant, sa calibration ne reposait pas sur l'inclusion d'un nombre constant de lots par spécialité commerciale (1-3 par spécialité). Nous avons choisi de travailler avec plusieurs numéros de lot de chaque spécialité commerciale car nous souhaitons augmenter la robustesse de notre méthode ; nous voulions nous affranchir d'un biais potentiels liés à l'impact que pourrait avoir un changement de lot sur la composition de chaque spécialité.

- **L'étude d'évaluation en service de soins**

Cette étude d'évaluation du DrugLog[®] dans le service est la première étude ayant eu pour indication d'évaluer la robustesse du DrugLog[®] pour des spécialités préparées extemporanément, conformément aux habitudes de routine, en réanimation néonatale. Les forces de cette étude reposent sur l'effectif d'IDE/IDE puéricultrices recrutées à la hauteur de 97% du pool du service, le nombre de solutions médicamenteuses préparées (n=324) et la variabilité en termes de spécialités commerciales étudiées (poudre pour solution à reconstituer puis à diluer, solution à diluer). Notre méthodologie diffère des autres études publiées à ce jour. T. Hennache proposait un travail portant également sur l'identification *a priori* des erreurs qualitatives et quantitatives survenant à l'étape de préparation extemporanée à l'aide du DrugLog[®]^[60]. En cas d'erreur détectée par le DrugLog[®], il était demandé aux équipes de préparer une nouvelle poche ou seringue. La méthodologie de cette étude a donc pris en compte les résultats du DrugLog[®] pour modifier les pratiques dans le service, sans vérifier l'absence de biais analytiques et pré-analytiques.

Pour notre étude, nous avons souhaité travailler sur la transposabilité du DrugLog[®] dans un service de soins avant sa mise en place en routine, à la différence de cette dernière étude. Nous souhaitons identifier les différentes problématiques qui pourraient limiter son utilisation en amont de toute intégration dans le service afin de ne pas mettre en difficulté l'équipe soignante. En effet, les écarts mis en évidence par le DrugLog[®], auraient pu engendrer un stress de l'équipe infirmière et la nécessité d'éliminer de nombreuses préparations rendues non conformes, si celui-ci avait été directement implémenté dans la routine du service.

1.4.2.2. Limites de la méthodologie

- **Choix des spécialités commerciales**

La stratégie de choix des spécialités commerciales dans cette étude présente un biais ; en effet, ce choix reflète mal la fréquence d'utilisation des spécialités commerciales en routine car l'étude a été faite sur une courte période. Par exemple, la nicardipine a été fortement prescrite sur la période d'observation car un nouveau-né hospitalisé au moment de l'analyse a bénéficié d'une prescription pendant plusieurs semaines ; pourtant la nicardipine ne fait pas partie des médicaments injectables les plus prescrits en réanimation néonatale. La méthodologie de sélection des spécialités commerciales devra être adaptée aux applications envisagées pour le DrugLog[®] dans les prochaines études.

- **Choix des gammes de concentrations et du volume d'analyse : contraintes liées à LogiprenV2**

Une des principales difficultés rencontrées dans l'étude de qualification de l'automate au laboratoire a été le changement de la version de Logipren. Ce changement de paramétrage a conduit à la modification du mode de calcul de dilution pour certaines spécialités. Par rapport à la première version Logipren, LogiprenV2 permet aux cliniciens de paramétrer les calculs de dilutions en minimisation de volume.

Plusieurs spécialités ont été calibrées alors que la première version de Logipren était en vigueur dans le service ; pour ces spécialités, une seule concentration cible a donc été choisie pour la calibration du DrugLog[®], selon les préconisations de Logipren. Au changement de version de Logipren vers la V2, ces spécialités ont été paramétrées en minimisation de volume ; le logiciel proposait alors un grand nombre de concentrations différentes. La calibration du DrugLog[®] n'a pas été refaite à partir des concentrations proposées par la V2 pour les spécialités paramétrées au moment de la mise en place de la première version de Logipren, car les prescriptions proposées par la V2 étaient comprises, pour la majorité d'entre elles, dans la gamme de calibration.

Pour l'étude clinique, nous avons pris en compte cette forte variabilité de concentrations pour générer les prescriptions.

Le passage du paramétrage en minimisation de volume a entraîné un élargissement des panels de concentrations prises par les spécialités et nécessitera un ajustement de calibration dans les futures études si le paramétrage de LogiprenV2 ne vient pas à être modifié.

Le paramétrage du LogiprenV2 en minimisation de volume a également posé le problème du volume d'analyse. L'objectif de ce paramétrage est de diminuer l'administration de volumes trop importants au nouveau-né. Il en résulte que les volumes préparés en vue d'une administration d'un médicament en perfusion courte sont souvent très faibles, allant de 1,6 mL à quelques millilitres. Or la cuvette de référence 7592 10 (Brand), dont l'utilisation est recommandée par le laboratoire fabricant le DrugLog[®], doit contenir un volume minimal de 0,8 mL pour permettre l'analyse. D'autres cuvettes sont disponibles sur le marché et ont été testées en interne. La cuvette « UV-cuvette micro » (réf : 759215, Brand) permet de diminuer le volume d'analyse à 0,5 mL mais sa manipulation s'est révélée être plus complexe. L'utilisation de cette cuvette provoque un frottement au moment de l'insertion dans la logette, entraînant une difficulté d'extraction de la cuvette après l'analyse qui compromet l'ergonomie du DrugLog[®].

L'approche actuellement privilégiée par les cliniciens dans les services de soins critiques en néonatalogie est la minimisation des volumes dans un souci d'épargne et de réduction des effets hémodynamiques des volumes injectés chez les nouveau-nés. Cependant, l'impact de la minimisation des volumes sur l'administration en tant que telle n'a pas été évaluée dans la littérature. Cette pratique conduit probablement à une augmentation de la concentration des médicaments administrés au patient, pour lesquels la toxicité, et les risques exacerbés d'incompatibilités médicamenteuses ne sont pas connus. Le fait de concentrer les médicaments injectables présente un impact certain sur l'osmolarité ; l'administration d'une solution hypertonique sur une voie veineuse périphérique entraînera une plasmolyse par fuite du liquide intra érythrocytaire pour les administrations sur cathéters périphériques. Ceci souligne l'importance de se référer au RCP et de paramétrer des limites maximales de concentrations tolérées pour les médicaments hyperosmolaires dans LogiprenV2. Il est également probable que les incompatibilités médicamenteuses observées lors de la co-administration de plusieurs médicaments injectables sur un même cathéter soient favorisées par les fortes concentrations. Le paramétrage en

minimisation de volume nécessite les prélèvements de faibles volumes de médicaments et de solvants et augmente ainsi le risque d'erreur de précision des préparations. La diminution des débits administrés par le paramétrage en minimisation de volume allonge le délai d'arrivée du médicament jusqu'au patient et retarde l'éventuelle détection des cathéters obstrués. Le logiciel paramétré en minimisation de volume pour un médicament injectable donné recalcule une nouvelle concentration du médicament à chaque changement de posologie. Les IDE sont donc confrontées à un nouveau protocole de préparation pour chaque changement de prescription. Ces changements de modes de préparations quotidiens entraînent un risque d'erreur humaine supplémentaire au moment de la préparation. Ainsi, la minimisation de volume présente certaines limites et devra être investiguée par des travaux spécifiques dans le futur.

- **Choix de la limite d'acceptabilité**

Un autre point important à discuter dans la méthode de qualification est la détermination d'une limite d'acceptabilité. Dans notre étude, la calibration a reposé sur la linéarité, la précision et la justesse. La limite de l'erreur totale a été fixée à 20% au regard des exigences relatives à l'uniformité de teneur des préparations unidoses de la Pharmacopée Européenne 2.9.6^[64]. La limite fixée par T. Hennache était de 10% pour les spécialités à marge thérapeutique étroite, 15% pour les spécialités en solution, 20% pour les spécialités à base de poudre à reconstituer^[60]. Le travail de Vallecillo *et al.* ne mentionne pas la limite d'acceptabilité utilisée pour la calibration^[57]. Dans le travail de Lassalle *et al.*, l'erreur relative mesurée était inférieure à 12% pour les spécialités cytotoxiques étudiées, mais ici la fidélité intermédiaire n'a pas été calculée^[56]. Le DrugLog[®] reposant sur une technique semi-quantitative, il ne peut être exigé de lui une précision équivalente à une méthode chromatographique, qui est la méthode de dosage de référence des médicaments^[66].

- **Contraintes d'achat-approvisionnement**

Les changements de marché ont constitué une difficulté dans notre étude. Le changement de marché de l'analogue rapide de l'insuline a mené à l'exclusion de cette

spécialité de l'étude clinique. La difficulté à obtenir un nombre de lots suffisants pour l'étape de qualification a limité le nombre de spécialités éligibles pour notre étude.

- **Biais de randomisation et de recrutement**

Deux biais de randomisation ont été observés au cours de l'étude. Premièrement, la randomisation a été effectuée par bloc de « Concentration attendue » et de « Spécialité commerciale ». Les concentrations attendues intermédiaires (C2) ont été incluses en premier, puis les concentrations attendues basses (C1) et enfin les concentrations attendues hautes (C3) pour toutes les spécialités commerciales. Ce choix a été fait pour des raisons de praticité. Cette chronologie d'allocation implique un biais lié au référencement de nouveaux lots. Pour exemple, deux lots de pipéracilline/tazobactam ont été utilisés au cours de l'étude dans le service. Le second lot a été inclus à partir de la 5^{ème} préparation de pipéracilline du bloc C3, or les résultats du groupe C3 pour la pipéracilline/tazobactam ont été meilleurs que les résultats des groupes C2 et C1. Par ailleurs, une sous-analyse de groupe montre que pour les préparations faites à partir de ce deuxième lot, le taux d'erreur de précision ($|EQP| > 20\%$) était de 50% pour le lot 5M1089FR, contre 0% pour le lot 5M1093FR

Deuxièmement, il avait été convenu que les spécialités commerciales utilisées pour l'étude seraient les spécialités commerciales disponibles dans le service au moment de l'allocation. Ainsi, si le niveau de stock d'une spécialité commerciale ne permettait pas de couvrir les besoins du service jusqu'au prochain réapprovisionnement, la randomisation était décalée pour ne pas mettre le service en difficulté.

Dans cette étude préliminaire, il n'y a pas eu de répartition homogène du nombre de préparations par IDE puéricultrice. Le recrutement était basé sur le volontariat, en fonction de l'activité du service pour ne pas désorganiser l'équipe. Cette contrainte liée au service a été acceptée pour essayer de mimer au mieux les conditions réelles de la préparation extemporanée des médicaments injectables en routine dans ce service.

1.4.3. Discussion de l'analyse quantitative de l'étude clinique et biais d'interprétation

Les résultats de l'analyse des EQP montre que la variabilité des erreurs de quantitatives de préparation dépend à la fois de la spécialité commerciale et de la concentration attendue et que le facteur « Concentration attendue » n'influence pas de la même manière la valeur de l'|EQP| pour toutes les spécialités étudiées.

Il est nécessaire d'interpréter les données en prenant en considération le fait que l'EQP mesuré est le résultat de l'addition de l'erreur analytique, pré-analytique et l'erreur liée à la préparation.

Pour certaines spécialités, la proportion de préparations quantitativement « acceptables » est élevée ce qui témoigne de la robustesse du DrugLog[®] et d'une bonne précision de ces préparations en routine. C'est le cas des préparations extemporanées de céfépime, nicardipine, noradrénaline et vancomycine. Toutes concentrations confondues, leur modalité de préparation se caractérise par une étape de dilution simple pour la nicardipine et la noradrénaline, et par une étape de reconstitution puis une étape de dilution simple pour la céfépime et la vancomycine. Les résultats corrects concernant les seringues de vancomycine confirment les résultats de l'étude menée dans le service quelques années plus tôt^[67].

L'interprétation des résultats pour les groupes présentant une proportion faible de solutions « acceptables » est plus complexe. Trois constats majeurs semblent se dégager de l'étude :

- **La réalisation d'une double dilution pour la préparation des seringues est associée à un risque élevé d'erreur quantitative de précision**

Cette défaillance a été mise en évidence pour la préparation de seringues de furosémide (à la concentration C1, seule concentration nécessitant une double dilution pour le furosémide) et d'HSHC (aux concentrations C1, C2, C3, toutes impliquant une double dilution). Seuls 1/3 des préparations de furosémide et des préparations d'HSHC impliquant cette double dilution sont quantitativement « acceptables ». Concernant le furosémide, le protocole de préparation aurait pu proposer de diluer par exemple 1 mL de Furosémide à 10 mg/mL auquel on aurait ajouté 29 mL de NaCl 0,9% (solution à 0,33 mg/mL) ; en prélevant 1,4 mL de cette

solution, on obtient 0,46 mg (écart de 2%). Concernant l'HSHC, le protocole de préparation aurait pu proposer de diluer par exemple 0,5 mL d'HSHC et d'ajouter 49,5mL de G5% (solution à 0,5 mg/mL d'HSHC) ; en prélevant respectivement, 1 mL (C1) ou 0,8 mL (C2) ou 3 mL (C3) de cette solution, on aurait obtenu les quantités prescrites d'HSHC. A l'instar de l'étude réalisée avec la vancomycine^[68], il est vraisemblable qu'il faille définir un protocole de préparation pour ces 2 spécialités et de refaire ensuite le test avec le Druglog[®].

Ces résultats seront présentés à l'équipe ayant paramétré LogiprenV2 en interne à l'hôpital puis avec l'équipe de production du logiciel afin d'essayer de trouver un mode de paramétrage efficace et sécurisant la préparation des seringues, c'est-à-dire préconisant la dilution simple.

- **Le prélèvement d'un volume de médicament de 0,1 mL au cours de l'étape de préparation est associé à un risque d'erreur quantitative de précision élevé.**

Ce constat est illustré par le cas de l'oméprazole pour lequel 63,6% des préparations d'oméprazole de faible concentration (C1) ne répondaient pas aux critères de précision (EQP \geq 20%). En effet, pour préparer cette concentration, le protocole prévoit le prélèvement de 0,1 mL d'oméprazole. Pour les autres concentrations (C2 et C3), la proportion de seringues « acceptables » dépasse les 80%. Le protocole demandait à l'IDE de prélever 0,6mL et 0,3mL d'oméprazole pour effectuer les dilutions C2 et C3 respectivement.

Par ailleurs, la différence significative du $\ln(|EQP|)$ entre les concentrations C1 et C2/C3 pour la noradrénaline pourrait également être liée au faible volume de noradrénaline (0,2 mL) prélevé pour la dilution de la concentration C1 (vs 0,6mL prélevé pour C2 et C3).

De la même manière, la différence significative du $\ln(|EQP|)$ entre les concentrations C1 et C3 du céfépime pourrait être lié au faible volume de céfépime (0,5 mL) prélevé pour la dilution de la concentration C1 (vs 1,8mL de céfépime prélevé pour C3).

Compte tenu de ces observations, il serait nécessaire de paramétrer le logiciel LogiprenV2 pour que des prélèvements de volume inférieur à 0,3 mL ne soient pas proposés. Ces résultats seront présentés à l'équipe ayant paramétré LogiprenV2 en interne à l'hôpital puis avec l'équipe de production du logiciel pour discuter du paramétrage d'une limitation du volume minimal à prélever. L'autre possibilité pour éviter l'écueil de ces doubles dilutions seraient d'étudier la possibilité de réaliser des préparations centralisées au sein de la pharmacie directement à la concentration utilisée.

- **L'analyse de certaines spécialités n'est pas reproductible en routine**

Une proportion élevée de préparations avec une |EQP| « non acceptable », a été observé pour la caféine. Pourtant, l'étape de calibration et les CQs réalisés en amont de l'étude clinique avait permis l'obtention d'une erreur totale satisfaisante et les prescriptions générées pour l'étude clinique prévoyaient une dilution simple. Les résultats sont globalement homogènes sur les trois concentrations étudiées avec cependant une variabilité des résultats plus importante pour la plus petite concentration. Il n'est pas possible en l'état de déterminer si les écarts mis en évidence par le DrugLog[®] résultent d'erreurs de préparation ou d'erreurs liées à la calibration de l'automate ; une différence pré-analytique pourrait expliquer ces écarts. La préparation des échantillons de caféine diluée était réalisée à l'aide de fioles pour l'étape de calibration et dans des seringues pour l'étape d'évaluation dans le service. Il sera nécessaire de faire des contrôles qualités en utilisant les modalités de préparation du service de soins au laboratoire pour comprendre ce problème.

Concernant la pipéracilline/tazobactam, de la même manière, on remarque une proportion d'|EQP| très élevée, pour une préparation extemporanée impliquant une étape de reconstitution mais ni double dilution, ni prélèvement de faibles volumes. Par ailleurs, on remarque une différence significative entre C2 et C3 d'une part et C1 et C3 d'autre part. Pourtant, il n'y a pas de différence importante entre les modes opératoires permettant d'obtenir des solutions à ces trois concentrations. Une hypothèse posée, et qui reste à vérifier pour la pipéracilline/tazobactam, est l'arrivée du lot 5M1093FR au cours de l'allocation C3. Par ailleurs, cette spécialité ne possédant pas d'excipient, l'hypothèse de la variabilité de la proportion d'excipient associée à la variabilité du signal n'est pas envisageable. Enfin, la pipéracilline/tazobactam correspondant à une

association de principes actifs, il faudrait évaluer si la variation de l'erreur totale des tracés est liée à la variation du cumul des signaux de la pipéracilline d'une part, et du tazobactam, d'autre part.

Au total, l'analyse quantitative a mis en évidence une proportion d'analyses dans les limites d'acceptabilité de 68,90%. Notre hypothèse est que ces différences peuvent être imputables à des facteurs analytiques spécifiques de chaque spécialité commerciale, à des facteurs pré-analytiques et/ou à des erreurs de préparation. Il serait intéressant d'investiguer la part d'erreurs liées à des biais analytiques, et pré-analytiques et la part d'erreur liées aux erreurs de préparation. Parmi les biais pré-analytiques et analytiques, il faudrait explorer le temps entre la préparation de la seringue et l'analyse, ainsi que l'impact des longueurs d'onde d'analyse proches des longueurs d'onde d'analyse du G5%. La part d'erreur liée aux étapes de préparation sera investiguée dans un prochain travail grâce à l'analyse des données d'observation recueillies tout au long de l'étude.

Ainsi, le DrugLog® a mis en évidence des écarts pour certaines spécialités pour lesquelles il n'est actuellement pas possible de conclure sur l'origine (erreur de préparation ou erreur de calibration de l'automate). Des investigations devront être portées sur l'identification de l'origine des écarts observés dans le cadre de notre étude afin de valider la robustesse de l'automate pour identifier les erreurs de préparation en services de soins.

1.4.4. Synthèse du potentiel d'applicabilité du DrugLog® dans l'unité de réanimation néonatale du CHU de Lille.

1.4.4.1. Le DrugLog® comme outil de prévention des erreurs médicamenteuses

Dans ce travail, l'intérêt du DrugLog® a été évalué pour le contrôle qualité des préparations injectables réalisées extemporanément par l'équipe infirmière. Cette application requiert une concordance entre la méthodologie de mise en place du DrugLog® et l'organisation du service.

Dans l'état actuel, la présente investigation a mené à la conclusion que le DrugLog® ne peut être intégré dans l'équipe de soins rapidement pour apporter une sécurisation de l'étape de préparation des médicaments injectables dans le service.

Les actions jugées nécessaires pour évaluer la faisabilité de la mise en place du DrugLog® dans un service de soins ont été identifiées et sont résumées sous forme de diagramme des 5M (Figure 13).

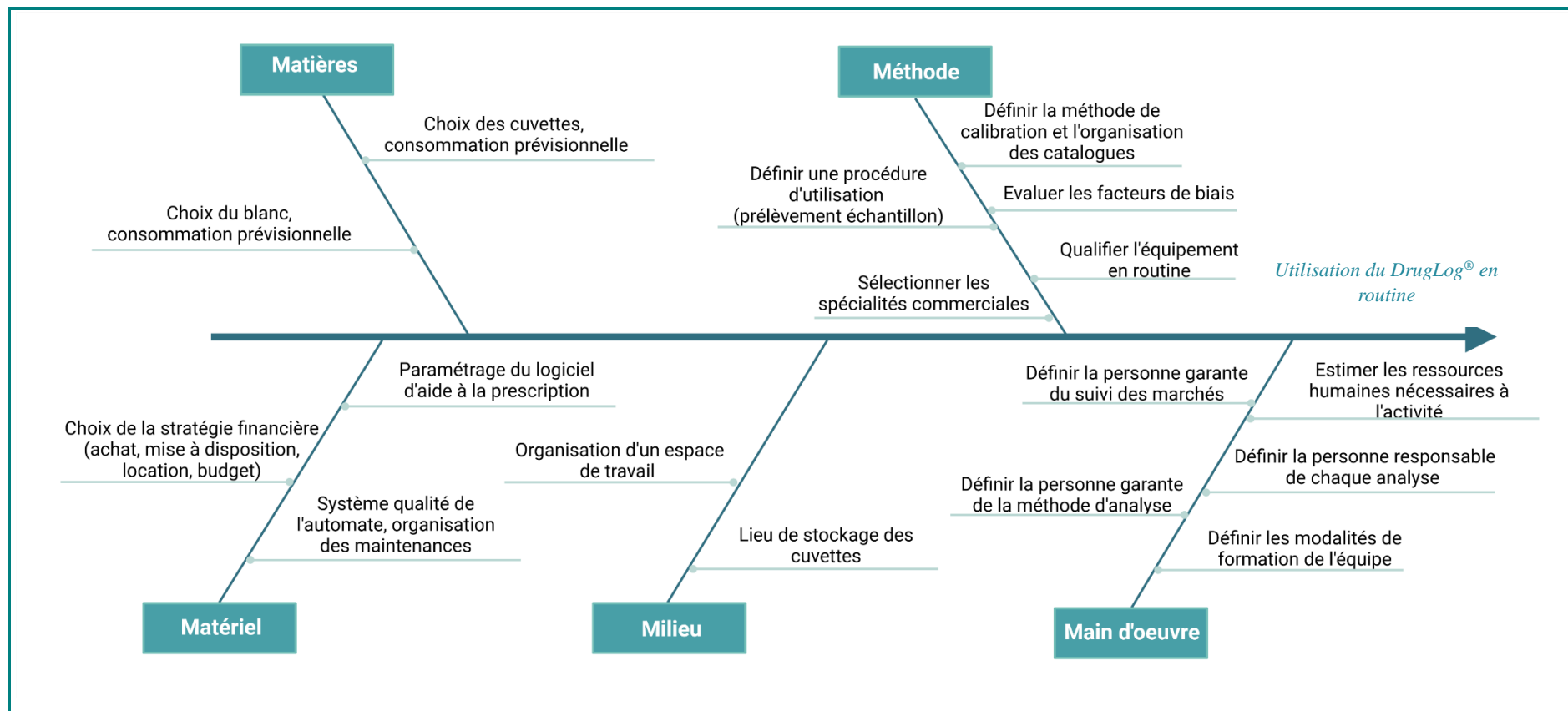


Figure 13 - Diagramme des 5M représentant les points de réflexion nécessaires à la mise en place du DrugLog® pour identifier les erreurs médicamenteuses *a priori* dans une unité de réanimation néonatale.

Ces actions ont donc été classées sous la thématique matières, matériel, milieu, main d'œuvre et méthode :

- **Matières**

- Choisir le solvant utilisé pour le blanc, estimer la consommation : l'ampoule utilisée doit-elle être la même que celle utilisée pour la préparation, et, si oui, comment faire si deux ampoules de solvants sont nécessaires pour réaliser une préparation ; faut-il nécessairement utiliser une unique poche de 50mL de NaCl 0,9% ou de G5% pour réaliser le blanc et la préparation ;
- Choisir les cuvettes adéquates, estimer la consommation : le choix semble s'orienter naturellement vers les cuvettes de 0,8mL, qui sont plus simples d'utilisation et recommandées par le fournisseur. La principale limite du choix de ces cuvettes est le volume d'analyse nécessaire qui est proportionnellement important par rapport aux volumes de seringues préparées dans le service, selon les protocoles proposés par LogiprenV2.

- **Matériel**

- Choisir un paramétrage de prescription pour LogiprenV2 ;

Il paraît plus adapté de favoriser le paramétrage en dilution fixe, avec une ou deux concentrations cibles, pour uniformiser les protocoles de préparation et faciliter la calibration des spécialités commerciales choisies.

- Choisir la stratégie financière pour l'acquisition du Druglog® ;
- Déterminer un système d'assurance qualité avec programmation de maintenance.

- **Milieu**

Le DrugLog® est un petit appareil mais nécessite une installation sur un plan de travail plat, proche d'une prise électrique.

- Organiser un espace de travail dédié au DrugLog®, qui offrirait la possibilité de préparer les blancs, les échantillons, et les solutions de calibration ;
- Définir un lieu de stockage sec pour les cuvettes.

- **Méthode**

- Sélectionner les spécialités commerciales à contrôler en routine et donc, si besoin, définir des critères de sélection ;
- Définir la méthode de calibration ;
- Définir une procédure d'utilisation : définir si la totalité des seringues préparées doit être analysée ou si seul un échantillon de seringues sera contrôlé.

Le DrugLog® fournit un contrôle terminal « destructif » et ne permet pas une réutilisation de l'échantillon analysé en vue d'une administration injectable au patient.

Il y a plusieurs possibilités pour le choix de l'échantillon à analyser :

- Les seringues peuvent être préparées en double, l'une des deux sera analysée et pas l'autre. Ce choix poserait le problème que l'échantillon analysé n'est pas celui réellement administré au patient, et l'analyse ne consisterait donc plus en un contrôle terminal ;
- Un échantillon de la seringue préparée en vue d'une administration est analysé, et le reste de la seringue est administré au patient. Si ce choix est fait, il faudrait que le paramétrage du logiciel prévoie un volume supplémentaire de préparation dans les calculs du protocole de préparation.

Ce choix sera directement en lien avec le paramétrage du LAP.

- Évaluer les facteurs de biais ;

Après la calibration et la mise en place en routine, Il sera nécessaire de déterminer pour chaque valeur aberrante, s'il s'agit d'une erreur de manipulation ou s'il s'agit d'une problème analytique. Le temps entre la préparation et l'analyse pourrait être un facteur de biais à analyser.

- Qualifier l'équipement en routine ;

Le DrugLog® devra être correctement calibré et des contrôles qualités devront être réalisés. Chaque ajout d'une spécialité commerciale à la liste des analyses à réaliser en routine devra faire l'objet d'une calibration et d'une qualification similaire aux premières calibrations.

Il serait plus simple que la calibration soit réalisée en service de soins pour éviter tout déplacement du matériel.

- **Main d'œuvre**

- Définir la personne responsable de chaque analyse ;

Pour chaque échantillon à analyser, il faudra définir qui aura la charge du prélèvement et de l'analyse de l'échantillon : la personne ayant réalisé la préparation, une autre personne de l'équipe ou une personne dédiée sur un créneau horaire donné.

- Définir les modalités de formations et d'évaluation continue de l'équipe ;

En fonction de la personne chargée de l'analyse, il faudra déterminer les personnes concernées par la formation à l'utilisation de l'automate, le niveau de compétence à atteindre pour qualifier chaque personne et la périodicité des évaluations de compétences.

- Définir la personne garante de la méthode d'analyse et des maintenances ;

Une ou plusieurs personnes garantes de la méthode d'analyse et du bon usage du DrugLog® seront nommées et formées et seront les contacts privilégiés avec le fournisseur.

- Définir la personne garante du suivi des marchés ;

Pour les spécialités concernées par l'analyse, une veille des marchés devra être réalisée avec une périodicité donnée afin de veiller à l'adéquation entre les spécialités commerciales référencées au livret thérapeutique de l'établissement et les spécialités commerciales calibrées. Au besoin, cette personne sera chargée d'établir un plan d'expérience et de programmer une calibration en cas de changement de spécialité commerciale disponible dans le livret thérapeutique.

- Évaluer les ressources humaines associées à cette nouvelle activité en amont.

L'ensemble des éléments relatifs aux matières, au matériel, à la méthode, à la main d'œuvre et au milieu doit être évalué avant mise en place du DrugLog® dans un service.

1.4.4.2. Le DrugLog® comme outil de formation des équipes

Dans l'unité de réanimation néonatale du CHU de Lille, la compétence des IDE pour la préparation des médicaments injectables repose sur leur formation initiale,

continue, un compagnonnage par un pair et leur expérience professionnelle. Or, il est probable que l'hétérogénéité des pratiques soit à l'origine de l'hétérogénéité des préparations obtenues. Une des solutions qui pourrait être considérée est l'utilisation du DrugLog® est de former et qualifier les équipes dans le service de soins. Ce système de qualification serait facilité par un temps d'analyse faible et la vaste bibliothèque de médicaments offerte par le DrugLog®. Cependant, la formation des équipes est un moyen d'amélioration des pratiques mais ne permet pas de sécuriser le processus de préparation des médicaments. En effet, les formations nécessitent d'être réalisées régulièrement et ne permettront pas de prévenir avec certitude la survenue des EMs à cette étape.

1.5. Conclusion et perspectives

En conclusion, le DrugLog® présente un potentiel de contrôle qualité innovant, dans la mesure où il permet d'identifier et de quantifier certaines solutions médicamenteuses injectables dans une gamme de concentration donnée. Il n'est cependant pas utilisable pour toutes les spécialités commerciales et nécessite une stratégie de mise en place rigoureuse en adéquation avec l'organisation du service de soins et le paramétrage du LAP.

Si une application du DrugLog® est définie dans un service, il serait intéressant d'effectuer la sélection des spécialités en prenant en considération l'impact clinique des EMs par construction collégiale d'une matrice de criticité. Il est alors probable que les médicaments à marge thérapeutique étroite (vasopresseurs, prostine, phénobarbital) ou les médicaments à administration en perfusion continue (morphine, sufentanil, héparine, alprostadil, vancomycine) soient ciblés en priorité.

En perspective, nous avons réfléchi à l'optimisation des protocoles de préparations des médicaments injectables en service de soins, afin d'établir des règles qui permettraient de limiter le risque d'erreur de précision, en l'absence de la possibilité de mettre en place le DrugLog® dans le service en routine.

1.6. Optimisation des protocoles de préparation des médicaments injectables en service de soins

L'étude menée sur le DrugLog[®] nous a conduit à nous interroger sur les paramètres ayant un impact sur la précision quantitative des solutions médicamenteuses injectables.

En parallèle de cette étude, nous avons mené un travail portant sur l'analyse des facteurs impliqués dans la précision du dosage quantitatif d'une solution médicamenteuse injectable.

1.6.1. Étude des facteurs influençant la précision des concentrations médicamenteuses lors de la préparation de médicaments injectables selon les pratiques d'un service de soins, exemple de la noradrénaline.

Au cours de l'étude, 108 solutions de noradrénaline injectable ont été préparées par 5 personnes, pharmaciens ou techniciens ayant de l'expérience dans la préparation des médicaments injectables. Les conditions de préparation étaient identiques à celles d'un service de soins intensifs adulte. Deux concentrations (0,2 mg/mL et 0,5 mg/mL), deux solvants de dilution (NaCl 0,9% et G5%) et trois contenants (seringues (PP), poches vides (PP) et poches en préremplies de solvant (PP/PA/PE)) ont été testés. L'analyse quantitative des solutions a été réalisée par technique spectrophotométrique à l'aide d'un détecteur UV (UV-2550 Shimadzu, Marne-la-Vallée, France). L'analyse des données a été réalisée par calcul du biais relatif entre la concentration expérimentale et la concentration théorique. Une Analyse de covariance (ANCOVA) a été utilisée comme technique statistique à la recherche des facteurs impactant les biais relatifs (logiciel R version 3.6.1, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

Les résultats de l'étude ont montré que la préparation à l'aide des seringues conférait une justesse de la concentration en noradrénaline plus importante que l'utilisation des poches préremplies de solvant et les poches vides. Selon nos résultats, la dilution de la noradrénaline dans des poches préremplies de solvant ou des poches vides tend à entraîner un sous-dosage des poches en noradrénaline.

Cette étude publiée dans l'European Journal of Hospital Pharmacy est présentée dans les pages suivantes.

Factors influencing the accuracy of injectable drug concentration prepared according to clinical practice: a case study of norepinephrine.

Sixtine Gilliot, Anthony Martin Mena, Stéphanie Genay, Morgane Masse, Manon Thibaut, Natacha Carta, Damien Lannoy, Laura Négrier, Christine Barthélémy, Bertrand Décaudin, Pascal Odou.

Univ. Lille, CHU Lille, ULR 7365-GRITA-Groupe de Recherche sur les formes Injectables et les Technologies Associées, F-59000 Lille, France

Corresponding author: Sixtine Gilliot, Faculty of Pharmacy, Lille, France

Correspondence e-mail : sixtine.gilliot@univ-lille.fr

Abstract

Errors in injectable drugs preparation can be fatal when concerning high-risk medications. This study aimed to identify the factors influencing the accuracy of high-risk injectable drugs concentration prepared according to intensive care unit practices (ICUs). Norepinephrine was chosen as the representative for high-risk medication drugs. The concentration (0.2 and 0.5 mg/mL), the diluent (normal saline and Dextrose 5%), and the container type (prefilled- and empty-infusion bag and syringe) were tested as potential variability factors. NE dosage was performed with a UV-spectrophotometric method. One hundred and eight norepinephrine solutions were prepared according to ICU practices. The container type was found to be the only factor influencing the accuracy of NE concentration. Preparation of NE solutions syringes was found to provide the best accuracy while preparation in prefilled bags tend to a suboptimal dosing of NE. Future studies proposing recommendations to help nurses facing choices for their bedside preparation's tasks are needed.

Keywords: intensive care units, syringes, bags, accuracy, clinical practices, infusion

INTRODUCTION

In intensive care units (ICUs), medication errors (ME) can be highly deleterious for patients due to their frailty [1,2] and nearly half of these errors aren't intercepted in routine by the health care team [3]. The fast, accurate and safe preparation and administration of injectable drugs is both complicated and time-consuming in critical situations. ME are mainly common during the administration step [4]. Administration errors include errors in drugs preparation (mistakes on drug, label, dose, concentration, uniform mixing, choice and volume of diluent, catecholamine relay, and inadequate aseptic conditions [5–7]) and infusion [8,9]. They can be fatal when occurring for high-risk medications [10].

Norepinephrine (NE) is a perfect representative of the high-risk medications class. The preparation protocols of NE can be different from one ICU to another, probably influencing the accuracy of NE concentration. The objective of this study was to identify the factors influencing the accuracy of NE solutions concentrations when prepared according to common ICU practices.

METHOD

The factors tested were the NE concentration (0.2 and 0.5 mg/mL), the diluent (normal saline - NS and Dextrose 5% - D5W), and the container type (prefilled- and empty-infusion bag and syringe).

Products. The NE 4 mL ampoules (Norepinephrine bitartrate sulfite free, 2 mg/mL, Mylan, Saint Priest, France, batch number: H2090) were used. The dilution solvents used were D5W and NS (Viaflo, Baxter, Guyancourt, France).

Containers. The solutions were either prepared in 50 mL-polypropylene (PP) syringes (50 mL BD Plastipak, Le Pont de Claix, France, batch 20122023), 50 mL-infusion bags prefilled with diluent (D5W or NS) and empty 50 mL-infusion bags. Prefilled infusion bags were constituted of polypropylene, polyamide, and polyethylene multilayer wall (PP/PA/PE) (Viaflo, Baxter, Guyancourt, France). Empty bags were composed of PP multilayer (PB0050, Haemopharm Healthcare, Paolo Gobbi Frattini, Tovo di Sant'Agata SO, Italy, batch: 062002). The syringes used to prepare the solutions were 10 mL and 20 mL-PP syringes (10 and 20 mL BD Plastipak, Le Pont de Claix, France).

- 1 **Solution preparations.** Dilutions of the commercial solutions were performed at 0.2 and 0.5 mg/mL in clinical ward conditions, *ie.* on a table previously disinfected with alcohol, after washing and disinfecting hands.
- 2 The 50 mL-prefilled bags were prepared by removing from the bags a volume of diluent equal to the required volume of NE solution injected into the bags subsequently. To prepare 0.2 mg/mL solutions of NE in 50 mL-prefilled bags, 5 mL of NE was aspirated with a 10 mL syringe. To prepare 0.5 mg/mL solutions of NE in prefilled bags, 12.5 mL of NE was aspirated with a 20 mL-syringe. Any air was purged, and the exact aspirated volume of NE was injected into a NS or D5W 50 mL-bag.
- 3 To prepare 0.2 mg/mL solutions of NE in 50 mL-syringes, 5 mL of NE was aspirated with a 10 mL syringe. To prepare 0.5 mg/mL solutions of NE in 50 mL-syringes, 12.5 mL of NE was aspirated with a 20 mL syringe. Any air in the trocar needle was purged. The content of the 10 mL- or 20 mL-syringe was injected in a 50 mL-syringe. After any air in the syringe had been purged, NS or D5W was aspirated up to the 50-mL graduation.

To prepare 0.2 mg/mL solutions of NE in 50 mL-empty bags, 5 mL of NE was aspirated with a 10 mL syringe. Any air was purged, and the aspirated volume of NE was injected into a 50 mL-empty bag. 45 mL of D5W or NS was aspirated with a 50 mL-syringe. Any air was purged, and the volume of diluent was injected into the bag. To prepare 0.5 mg/mL solutions of NE in 50 mL-empty bags, 12.5 mL of NE was aspirated with a 20 mL-syringe. Any air was purged, and the aspirated volume of NE was injected into a 50 mL-empty bag. 37.5 mL of D5W or NS was aspirated with a 50 mL-syringe. Any air was purged, and the volume of diluent was injected into the bag.

- 4 Bags and syringes were prepared in triplicate for each varying condition. Both bags and syringes were mixed by three inversions. 36 syringes, 36 prefilled bags and 36 empty bags were prepared by a pharmaceutical team (five persons, pharmacists, or lab technicians) with experience in aseptic preparation of solutions and clinical experience in the University Hospital of Lille.

Operating conditions for influencing parameters study. The tested concentrations of NE were 0.2 and 0.5 mg/mL. NE solutions were diluted with NS and D5W. Three containers were tested according to American and European practices: syringes, prefilled and empty infusion bags. The accuracy of NE concentration was assessed the day after their preparation. Each bag or syringe was used once for every analysis. Concentration measurements were performed once per container after three inversions.

UV spectrophotometric assay method. A UV method was used to assess the concentrations of NE solutions using a UV-spectrophotometric detector (UV-2550 Shimadzu, Marne-la-Vallée, France) as no degradation product was expected in the conditions of preparations. The wavelength was optimized and finally set at 260 nm to reach the best sensitivity according to the EP and after optimization to reach best sensitivity.

Data presentation and statistical tests. The percent discrepancy in NE concentration relative to the theoretical (or expected) NE concentration (0.2 or 0.5 mg/mL) named relative bias, was chosen as the main criteria to assess the NE concentration accuracy. This parameter was calculated and calculated using the following equation:

$$Bias(t) = \frac{(measured\ concentration(t) - expected\ concentration)}{Expected\ concentration} \times 100$$

With an expected concentration of NE of 0.2 or 0.5 mg/mL.

Assessment of potential covariates influencing the NE concentration accuracy. We aimed to identify the covariates that had an impact on the accuracy of the NE concentration. The tested covariates were the target NE concentration (0.2 or 0.5 mg/mL), the diluent, and the type of container.

Statistics. An ANalysis Of COVariance (ANCOVA) was chosen to appreciate the effect of one or more independent categorical variables (NE target concentration, diluent, type of container) on a continuous variable, the bias in our case. The choice was made here to consider individuals performing drug preparations as a random effect in the model. A Shapiro Wilk test was performed to assess the normal distribution for the ANCOVA residuals. Data were analyzed using R software (version 4.1.2).

RESULTS

The distribution of NE concentration measurements according to the container's type is displayed in Figure 1. Graphical results highly suggest that concentration accuracy is better when using syringes as preparation devices with median [min;max] relative bias around -7% [-9;-1.6], than prefilled bags (-24% [-23;-26]), or empty bags (-12% [-20;-6]).

According to the ANCOVA (Supplementary Data S1), the main factor influencing the NE accuracy is the type of container (either PP-syringe, empty bag, or prefilled bag). The NE target concentration (0.2 or 0.5 mg/mL) and the diluent didn't play a significant role in influencing the concentration accuracy.

DISCUSSION

Our results showed that syringes (vs prefilled infusion bags and empty bags) have a positive impact on NE concentration accuracy and that neither the diluent nor the NE target concentration influenced the NE accuracy.

Our results support that NE concentrations measured in syringes and empty bags are more accurate than the concentrations measured in prefilled bags. Two assumptions can be emitted: a greater dilution may occur in prefilled infusion bags or the NE may get adsorbed on the bag walls. The first assumption is consistent with a previous work which showed that prefilled bags were automatically overfilled with relative bias ranging for 0.16 to 23% and maximal bias identified for containers with content inferior to 100mL [11]. The second assumption [NE absorption on the PVC bags] is less likely to be true according to previous results [12]. It will be relevant to study the clinical impact of this difference on NE.

In clinical routine, the target concentration and the flow rate of NE solutions are adjusted according to the patient's clinical needs. The concentration variability related to the uncertain volume of diluent contained in prefilled infusion bags may endanger the patient's clinical condition while the use of syringes seems to be the most secure preparation device.

Studies have evaluated the accuracy in injectable drugs concentration when prepared in care units and showed great concentration variability[13,14]. Accordingly, the preparation of low concentration solutions in Centralized Intravenous Additive Services (CIVAS) is highly recommended to secure patient care. Other reasons explaining the variability of the injectable drugs received by patients have been identified in previous studies and must be considered in infusion optimization[15].

Our study has limits. The choice of containers could be questioned. Empty bags are rarely used in clinical units but studying them helped us highlight why prefilled bags should be avoided for the administration of high alert medications. Indeed, not only the uncertainty of NS or D5W volume contained in prefilled bags tends to lead to an underdosing, but also the bag himself. Our results support that filling a syringe is more accurate than filling a bag with a diluent.

Our study brings out that the use of PP-syringes should be promoted to improve the accuracy of high alert medications concentrations.

COMPETING INTERESTS

None declared.

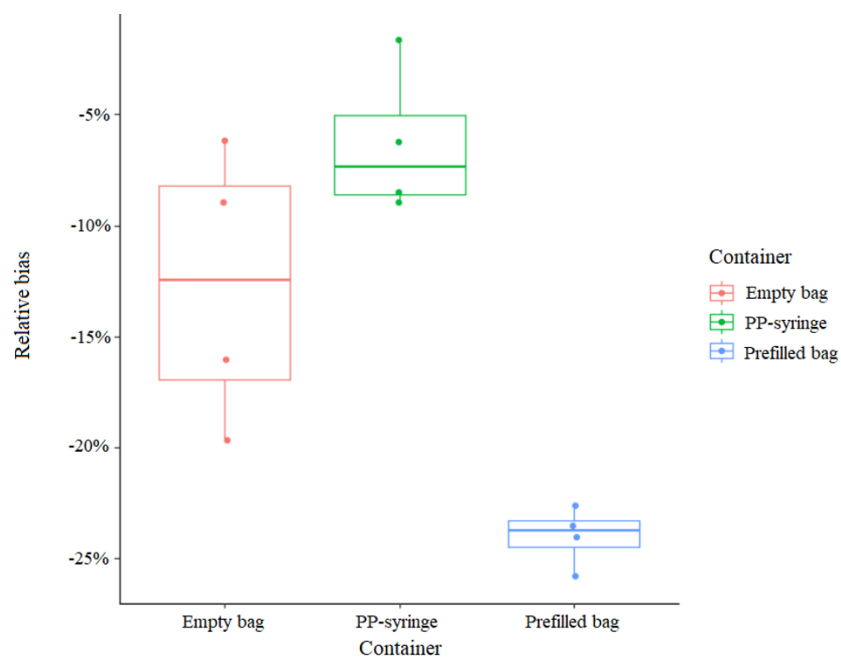
REFERENCES

- 1 Tully AP, Hammond DA, Li C, *et al.* Evaluation of Medication Errors at the Transition of Care From an ICU to Non-ICU Location. *Crit Care Med* 2019;**47**:543–9. doi:10.1097/CCM.0000000000003633
- 2 Escrivá Gracia J, Brage Serrano R, Fernández Garrido J. Medication errors and drug knowledge gaps among critical-care nurses: a mixed multi-method study. *BMC Health Serv Res* 2019;**19**:640. doi:10.1186/s12913-019-4481-7
- 3 Kopp BJ, Erstad BL, Allen ME, *et al.* Medication errors and adverse drug events in an intensive care unit: Direct observation approach for detection. *Critical Care Medicine* 2006;**34**:415–25. doi:10.1097/01.CCM.0000198106.54306.D7
- 4 Latif A, Rawat N, Pustavoitau A, *et al.* National study on the distribution, causes, and consequences of voluntarily reported medication errors between the ICU and non-ICU settings. *Crit Care Med* 2013;**41**:389–98. doi:10.1097/CCM.0b013e318274156a
- 5 Hedlund N, Beer I, Hoppe-Tichy T, *et al.* Systematic evidence review of rates and burden of harm of intravenous admixture drug preparation errors in healthcare settings. *BMJ Open* 2017;**7**:e015912. doi:10.1136/bmjopen-2017-015912
- 6 Hermanspann T, van der Linden E, Schoberer M, *et al.* Evaluation to improve the quality of medication preparation and administration in pediatric and adult intensive care units. *Drug Healthc Patient Saf* 2019;**11**:11–8. doi:10.2147/DHPS.S184479
- 7 Kuitunen S, Niittynen I, Airaksinen M, *et al.* Systemic Causes of In-Hospital Intravenous Medication Errors: A Systematic Review. *J Patient Saf* Published Online First: 31 January 2020. doi:10.1097/PTS.0000000000000632
- 8 Tissot E, Cornette C, Demoly P, *et al.* Medication errors at the administration stage in an intensive care unit. *Intensive Care Med* 1999;**25**:353–9. doi:10.1007/s001340050857
- 9 Kane-Gill S, Weber RJ. Principles and practices of medication safety in the ICU. *Crit Care Clin* 2006;**22**:273–90, vi. doi:10.1016/j.ccc.2006.02.005
- 10 De Giorgi I, Fonzo-Christe C, Cingria L, *et al.* Risk and pharmacoeconomic analyses of the injectable medication process in the paediatric and neonatal intensive care units. *International Journal for Quality in Health Care* 2010;**22**:170–8. doi:10.1093/intqhc/mzq015
- 11 Feutry F, Carbonne M, Fulcrand J, *et al.* Évaluation in vitro des solutions de perfusion présentes sur le marché français. *Le Pharmacien Hospitalier et Clinicien* 2014;**49**:e29. doi:10.1016/j.phclin.2014.04.093
- 12 Maiguy-Foinard A, Blanchemain N, Barthélémy C, *et al.* Influence of a Double-Lumen Extension Tube on Drug Delivery: Examples of Isosorbide Dinitrate and Diazepam. *PLoS ONE* 2016;**11**:e0154917. doi:10.1371/journal.pone.0154917
- 13 Wheeler DW, Degnan BA, Sehmi JS, *et al.* Variability in the concentrations of intravenous drug infusions prepared in a critical care unit. *Intensive Care Med* 2008;**34**:1441–7. doi:10.1007/s00134-008-1113-9
- 14 Campino A, Santesteban E, Garcia M, *et al.* [Intravenous drug preparation errors in a Neonatal Intensive Care Unit. A potential source of adverse events]. *An Pediatr (Barc)* 2013;**79**:21–5. doi:10.1016/j.anpedi.2012.09.005

- 15 Snijder RA, Konings MK, Lucas P, *et al.* Flow variability and its physical causes in infusion technology: a systematic review of in vitro measurement and modeling studies. *Biomedical Engineering / Biomedizinische Technik* 2015;**60**:277–300. doi:10.1515/bmt-2014-0148

FIGURE CAPTION AND LEGEND.

Figure 1. Concentration accuracy according to the container. Concentration accuracy is displayed by relative bias between the measured and the expected concentration. Two expected concentrations (0.2 and 0.5mg/mL), two diluents (dextrose 5% in water, and normal saline solution, NS), and three types of containers (polypropylene-syringes, empty and prefilled-bags) were tested.



Dans cette étude, les protocoles de préparation utilisés ont été inspirés de protocoles en place dans un service de soins adulte et ont été répétés à l'identique par une équipe de pharmaciens/techniciens ; il ne s'agit donc pas d'une étude de terrain et les résultats ne reflètent pas l'hétérogénéité des modalités de préparation réalisées à l'hôpital. Toutefois, cette étude vient confirmer que la sécurisation des préparations réalisées dans les services de soins doit prendre en compte de très nombreux facteurs impactant la qualité finale tels que la formation du personnel, la protocolisation de la préparation, la spécialité et les contenants utilisés.

Ainsi, apporter une solution pérenne pour sécuriser la préparation des médicaments injectables en réanimation néonatale nécessitera un changement d'organisation et du temps. Afin de fournir rapidement une amélioration au service de réanimation néonatale, nous avons choisi de proposer des règles de préparation des médicaments injectables simples, applicables sans délai.

1.6.2. Proposition de bonnes pratiques de préparation à appliquer dans les services de soins pour assurer une précision correcte de la concentration médicamenteuse finale destinée au patient.

À notre connaissance, il n'existe pas de recommandations de bonnes pratiques pour assurer une concentration précise des médicaments injectables à l'aide du matériel classiquement utilisé dans les services de soins (seringues graduées, trocart). Comme le montrent plusieurs travaux de la littérature et comme l'a suggéré l'étude sur le DrugLog[®][68,69], la précision de la concentration médicamenteuse administrée au patient est particulièrement complexe pour certaines solutions médicamenteuses injectables : celles nécessitant le prélèvement de faibles volumes et/ou celles nécessitant des dilutions successives.

Plusieurs équipes ont tenté d'identifier les points critiques dans l'étape de préparation des médicaments injectables ; certaines ont comparé différents protocoles de préparation afin de déterminer ceux qui permettent l'obtention d'une concentration

précise et reproductible à l'aide du matériel mis à disposition dans les services de soins.

En 2015, Benkhadra *et al.* ont comparé la précision de la concentration d'une solution de morphine chlorhydrate à 100 µg/mL préparée dans des seringues selon cinq protocoles, à partir d'une ampoule de morphine chlorhydrate de 10 mg/mL^[70]. Les dosages de morphine ont été réalisés à l'aide d'une technique de CLHP couplée à un détecteur à barrette de diodes ; les dosages ont été effectués au début, au milieu et à la fin de la seringue. Trois anesthésistes expérimentés étaient chargés de la préparation des solutions injectables. Les résultats de cette étude ont conduit les auteurs à recommander de préparer la morphine 100 µg/mL par dilution simple d'un faible volume de morphine (0,1 mL à l'aide d'une seringue de 1 mL) en prenant en compte le volume mort du trocart (moyenne de la concentration en morphine mesurée 119 ± 16 µg/0,1mL (n=9)). Les résultats de cette étude suggèrent que la technique de double dilution confère une très bonne homogénéité de la concentration en médicament sur toute la longueur de la seringue.

Pourtant, selon nos observations faites au cours de notre étude sur le DrugLog[®], le prélèvement d'un si faible volume de morphine est discutable, et l'ajout des étapes d'homogénéisation successives est un risque d'erreur quantitative de précision importante en cas d'omission ou de mauvaise réalisation de l'homogénéisation entre les deux dilutions. Dans un contexte d'urgence, situation fréquemment rencontrée dans les services de soins critiques, la mauvaise réalisation de cette étape est hautement probable.

En cohérence avec les résultats de notre étude sur le DrugLog[®], plusieurs équipes recommandent d'ailleurs de favoriser la dilution simple aux dilutions successives^[71-73].

Certaines équipes ont tenté de caractériser une « bonne homogénéisation » en comparant différentes techniques (mélange simple *versus* l'inversion d'une poche) et le nombre de manipulations nécessaires à l'obtention d'une concentration homogène. Une étude a montré que 3 inversions d'une seringue permettaient d'obtenir une homogénéisation suffisante^[74].

De manière plus ciblée sur les pratiques courantes en néonatalogie, les travaux de I. de Giorgi ont été conduits dans le but de mesurer la précision et la justesse des préparations requérant de faibles concentrations de médicaments en services de néonatalogie^[73]. Trois protocoles (nommés T1, T2 et T3) ont été testés, avec pour objectif la dilution au 1/20 de G5% en utilisant des seringues graduées :

- La technique T1 (double dilution) recommandait de :
 - prélever 0,1 mL de G5% avec une seringue de 1 mL,
 - transférer ce volume dans une seringue de 2 mL
 - compléter qsp 2 mL d'eau.
- La technique T2 (triple dilution 1/10 puis 1/2) recommandait de :
 - prélever 1,0 mL de G5% avec une seringue de 1 mL,
 - transférer ce volume dans une seringue de 10 mL
 - compléter qsp 10 mL d'eau,
 - transférer 1,0 mL de ce mélange dans une seringue de 2 mL
 - compléter jusque 2 mL avec de l'eau.
- La technique T3 (dilution simple) recommandait de :
 - prélever 0,5 mL de la G5% avec la seringue de 1 mL
 - injecter ce volume dans une fiole jaugée de 10 mL
 - compléter au trait de jauge avec de l'eau.

Les résultats de ce travail suggèrent que la technique T3 est la technique la plus précise et T2 la technique la plus juste. L'hypothèse émise est que l'utilisation des fioles jaugées conférerait un intérêt dans l'obtention de concentrations précises. Cependant, l'intégration des fioles jaugées dans l'environnement des services de soins nécessiterait leur référencement et donc un coût supplémentaire pour un impact clinique difficilement quantifiable.

On peut se demander si le fait de remplacer la fiole jaugée de 10 mL par une seringue de 10 mL n'aurait pas permis l'obtention d'un résultat similaire. Il est probable que l'utilisation des fioles jaugées permette d'obtenir une précision plus importante (précision volumétrique $\pm 0,04$ mL pour les fioles jaugées de 10 mL (Pyrex®, Châteauroux, France) *versus* $\pm 0,2$ mL pour les seringues de 10 mL (référence 305959, Becton Dickinson, Le-Pont-de-Claix, France). En contrepartie, l'utilisation de fioles jaugées pour la préparation de médicaments injectables implique de travailler en système ouvert, avec une mise en contact de la solution avec l'air environnant, ce qui

augmente le risque septique. Par ailleurs, l'utilisation des fioles jaugées implique d'harmoniser l'ensemble des protocoles du service pour une dilution dans des volumes finaux de 10 mL et nécessite donc un travail préalable important. De la même manière que les résultats de l'étude du DrugLog® le suggèrent, les résultats de ce travail suggèrent que le prélèvement de faibles volumes de solutions médicamenteuses nuit à la précision de la concentration finale. Les travaux de I. de Giorgi ont mis en évidence que les seringues de 1 mL (Terumo®) permettaient d'obtenir une justesse correcte à partir de 0,3 mL de volume prélevé ; cela correspond à la notion que le volume prélevé doit être d'au moins 30% du volume nominal de la seringue.

En considérant les résultats de nos études et les travaux publiés dans la littérature, huit recommandations peuvent être émises concernant la préparation des médicaments injectables à risque :

Recommandation 1 : la préparation des médicaments injectables doit être réalisée si possible selon un protocole reproductible favorisant le plus faible nombre d'étapes possible (simple dilution dès que possible).

Recommandation 2 : la préparation des médicaments injectables doit être réalisée en prélevant les solutions médicamenteuses et les solvants à l'aide de seringues graduées. La dilution d'une solution médicamenteuse directement dans une poche préremplies de solvant de dilution ou une poche vide doit être évitée.

Recommandation 3 : Le volume de la seringue choisie pour le prélèvement d'un médicament injectable/solvant doit être le plus proche du volume à prélever :

- Pour tout prélèvement < 0,3 mL, préférer la dilution dans une seringue de volume supérieur, ou en dernier recours, privilégier la double dilution en veillant à la bonne homogénéisation entre les deux dilutions.
- Prélèvements d'un volume 0,3-1 mL : choisir une seringue de 1 mL
- Prélèvements d'un volume 1-2 mL : choisir une seringue de 2 mL
- Prélèvements d'un volume 2-5 mL : choisir une seringue de 5 mL
- Prélèvements d'un volume 5-10 mL : choisir une seringue de 10 mL
- Prélèvements d'un volume 10-20 mL : choisir une seringue de 20 mL
- Prélèvements d'un volume 20-50 mL : choisir une seringue de 50 mL

Recommandation 4 : Il est nécessaire d'utiliser des seringues et des trocarts différents pour le prélèvement de deux produits de nature différente (solvant/médicament injectable)^[67]

Recommandation 5 : Pour assurer la précision d'un prélèvement, il faut, dans la mesure du possible, prélever initialement un volume de la solution de manière à purger le trocart. Ce volume supplémentaire doit être au moins égal au volume mort du trocart (0,073 mL pour les trocarts SOL-M™, référence K111815, Sol-Millennium, Warszawa, Pologne).

Recommandation 6 : Lors du transfert d'une solution d'une seringue à une autre, le trocart utilisé doit être préalablement purgé par la solution à transférer.

Recommandation 7 : L'homogénéisation des seringues doit être réalisée par trois inversions/retournements^[74]. Cette étape doit être réalisée systématique après chaque étape de dilution et avant le branchement de la seringue au dispositif d'administration.

Recommandation 8 : Lors de la dissolution de poudre destinée à l'administration parentérale, il est essentiel de s'assurer de la bonne dissolution des poudres (absence d'agrégats, de particules visibles restant sur le contenant).

Le paramétrage des LAP générant des protocoles de préparations de médicaments injectables associés aux prescriptions doit être effectué dans le respect de ces recommandations.

Le rôle du pharmacien clinicien est primordial pour sécuriser cette étape en collaboration avec l'équipe médicale et paramédicale.

1.7. Synthèse

Les services de néonatalogie sont confrontés à des problématiques particulières de préparation qui entraînent des écarts potentiellement importants entre

la quantité de principe actif réellement administrée par rapport à la quantité initialement prescrite par le prescripteur. Si de nombreux articles traitant de la préparation des solutions injectables dans les services de soins intensifs adultes ont surtout montré une influence de l'homogénéisation sur la précision des concentrations en médicaments injectables dans les seringues, la nécessité d'administrer des petits volumes aux nouveau-né et le recours à des facteurs de dilution important concourent à augmenter grandement le risque d'imprécision des concentrations finales destinées à l'administration.

À ce jour, aucun guide n'a été émis par les sociétés savantes pour sécuriser cette étape. L'instauration de règles simples dans les services néonatalogie a pour objectif de diminuer l'ampleur des erreurs et d'uniformiser les pratiques afin de sécuriser les doses médicamenteuses administrées aux enfants.

Cependant, toutes les méthodes décrites précédemment reposent sur le personnel soignant dont la formation à la préparation des doses médicamenteuses reste aujourd'hui fondée sur le compagnonnage par les pairs. En cela, les évolutions des pratiques restent lentes et incertaines. C'est ce constat qui amène à se tourner vers les pharmacies hospitalières formées à la préparation des médicaments.

2. Études de stabilité sur le long terme de solutions injectables prêtes à l'emploi en vue d'une centralisation des préparations injectables.

2.1. Introduction

2.1.1. Contexte

La préparation des médicaments injectables par l'équipe pharmaceutique permettrait de fournir des solutions médicamenteuses injectables prêtes à l'emploi à l'avance, afin de supprimer toute étape de manipulation dans le service de soins, jusqu'à l'administration effective du médicament au patient. Dans ce cadre, le pharmacien est garant de la qualité du médicament administré au patient. Il est donc essentiel de connaître les critères d'exigence relatifs aux médicaments administrés par voie parentérale.

Selon la Pharmacopée européenne, les préparations injectables sont des préparations parentérales liquides stériles^[75]. Examinées dans des conditions appropriées de visibilité, elles doivent être « pratiquement exemptes de particules », c'est-à-dire limpides (chapitre général 5.17.2)^[76]. Les préparations parentérales sont préparées à partir de produits et par des méthodes propres à assurer leur stérilité et à empêcher l'introduction de contaminants et la croissance de microorganisme et répondent ainsi à l'essai de stérilité de la Ph. Eur (chapitre général 2.6.1)^[77]. Ce sont également des solutions qui doivent être apyrogènes, et isotoniques au plasma.

Ces exigences sont relatives aux solutions médicamenteuses injectables commercialisées et sont applicables à toute solution destinée à être administrée par voie parentérale au patient. En d'autres termes, ces critères doivent être maintenus tout au long de la conservation de la forme prête à l'emploi par le service de soins et jusqu'à son utilisation chez le patient. Il est également nécessaire que les solutions médicamenteuses fournies aux services de soins :

- Présentent une concentration en principe actif acceptable (dans les limites des tolérances fixées par la réglementation) pour garantir l'efficacité du médicament
- Soient dépourvues de produits de dégradation toxiques pour le patient.

La conservation des exigences relatives aux solutions médicamenteuses injectables (autres que d'origine biologique) est assimilée à la notion de stabilité. Selon

l'International Conference on Harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals (ICH), la stabilité consiste en « l'aptitude d'un médicament à conserver ses propriétés chimiques, physiques, microbiologiques et biopharmaceutiques dans les limites spécifiées pendant toute sa durée de validité ».

Selon cette définition, une forme pharmaceutique est considérée comme stable lorsque, dans un temps déterminé et dans des conditions fixées, ses propriétés essentielles ne changent pas ou changent au plus dans des proportions réglementaires tolérables, c'est-à-dire pour lesquelles un impact clinique sur le patient n'est pas attendu.

Les instabilités qui surviennent peuvent être d'ordre chimique, physique ou microbiologique.

Une instabilité chimique consiste en une ou plusieurs réactions chimiques, survenant de manière spontanée ou retardée, menant à une modification substantielle de la structure du principe actif ou d'un de ces excipients. Elle se traduit par une perte de la concentration en principe actif ou en excipient, une production de produits de dégradation dans des quantités supérieures aux limites spécifiées par la Ph. Eur., éventuellement un changement de pH ou une modification de l'osmolalité.

Une instabilité physique se traduit par une modification des caractères physiques propres de la forme pharmaceutique : un changement des caractères organoleptiques (formation d'un précipité, séparation de phases pour les émulsions, coloration ou décoloration) ou l'augmentation de la contamination particulaire non-visible à l'œil nu.

Une instabilité microbiologique correspond à la mise en évidence d'une croissance de microorganismes au sein de la forme pharmaceutique. Elle peut provenir d'une contamination initiale accidentelle non détectée ou d'une contamination lors de la conservation notamment par perte d'intégrité du conditionnement. Il est donc important de connaître les paramètres susceptibles de modifier l'intégrité du conditionnement et de le rendre perméable aux microorganismes.

Les études de stabilité permettent d'évaluer la conservation de toutes ces propriétés (stérilité, limpidité, isotonie au plasma, concentration en principe actif stable, absence de coloration et absence de formation de produit de dégradation) dans les solutions préparées et conservées dans des conditions fixées.

Travailler à l'allongement de la durée de conservation des formes injectables prêtes à l'emploi au-delà des recommandations émises par les fabricants est essentiel pour fournir un service d'approvisionnement efficient pour les services de soins. Il est extrêmement rare que les industriels fabriquant les produits pharmaceutiques fournissent des informations de stabilité au long cours sur la forme injectable finale (reconstituée et diluée). Il est en effet plus fréquent qu'ils recommandent son utilisation extemporanée en raison des risques microbiologiques liés la préparation des injections dans des environnements dont l'aseptie n'est pas contrôlée, à l'image de la plupart des services de soins hospitaliers. Pourtant, de nombreux médicaments, reconstitués et dilués présentent une stabilité physicochimique qui pourraient permettre leur administration plusieurs mois après leur préparation. Par conséquent, si la preuve de la stabilité physicochimique d'un produit reconstitué et dilué dans un conditionnement peut être apportée et si la conservation de la stérilité est prouvée dans des conditions de stockage déterminées, une durée de conservation fondée sur la limite de stabilité physico-chimique du médicament est raisonnablement acceptable.

De nombreux travaux d'études de stabilité ont déjà été menés en ce sens et plusieurs bases de données répertoriant les durées de conservation de médicaments injectables dans leur forme prête à l'emploi sont actuellement disponibles^[78,79].

L'extrapolation des résultats des études de stabilité physico-chimiques publiées dans la littérature nécessite de travailler avec :

- la même spécialité commerciale ou avec une spécialité commerciale de formulation similaire ;
- les mêmes véhicules de reconstitution et dilution ;
- les mêmes conditions environnementales de préparation et de stockage (exposition à la température, lumière, humidité) ;
- des contenants de composition similaire.

La responsabilité d'attribuer des durées de conservation aux préparations réalisées en pharmacie, incombe au pharmacien responsable de cette activité. Les données de stabilité souhaitées n'étant pas toujours disponibles dans la littérature ou très variables d'une publication à l'autre, le pharmacien hospitalier est amené dans certains cas à conduire ses propres études de stabilité.

Pour satisfaire cette demande de préparation de formes injectables prêtes à l'emploi, certaines pharmacies à usage intérieur ont développés des unités dédiées exclusivement aux préparations des médicaments injectables. Ces unités sont communément dénommées « CIVAS » par utilisation de la dénomination anglaise à savoir « Centralized IntraVenous Additive Service ».

2.1.2. Historique des CIVAS

Le concept de CIVAS a vu le jour aux USA dans les années 1960s. Ce terme décrit un service qui délivre des formes injectables prêtes à l'emploi et permet ainsi de s'affranchir de l'étape de reconstitution/préparation en service de soins^[24,80].

L'essor de l'activité des CIVAS à la fin des années 1970s est initialement associé au développement des poches de nutrition parentérale, dont la préparation dans un service spécialisé a permis de diminuer fortement les infections associées à la nutrition parentérale^[81-84].

Dix ans plus tard, des préoccupations croissantes concernant l'exposition du personnel soignant aux antinéoplasiques ont mené à un changement de législation, obligeant les directions des hôpitaux à prendre des mesures visant à protéger le personnel lors de la manipulation des agents cytotoxiques^[85-87]. Parmi ces mesures, se trouve notamment la création d'unités de reconstitution centralisées des produits cytotoxiques.

Plus récemment, la standardisation et la centralisation des préparations et reconstitution a été étendue aux antibiotiques, antiémétiques, antalgiques et anesthésiques qui représentent une part importante des médicaments injectables dans les services de soins^[24,80,88].

2.1.3. Enjeux des CIVAS

2.1.3.1. La qualité microbiologique

Parmi les bénéfices apportés par les CIVAS, la qualité microbiologique des médicaments injectables est généralement perçue comme étant le bénéfice majeur^[88].

Une méta-analyse de 2019 a été conduite pour souligner l'impact de la centralisation des préparations de formes injectables sur la contamination microbienne détectée dans les médicaments injectables. Sur 13 études mesurant la contamination microbienne dans les préparations injectables réalisées en service de soins, les taux de contamination varient de 1,09 à 20,70% alors que les taux de contamination étaient nuls pour les préparations effectuées en pharmacie hospitalière (sauf pour une des cinq études considérées, avec un taux de contamination de 0,66%). Les estimations ponctuelles générées indiquent un taux de contamination globale des doses préparées par le personnel infirmier ou médical de 7,85% (5,18-10,53%) et de 0,08% pour les doses préparées par le personnel de la pharmacie^[89]. Ceci est expliqué en partie par l'absence de contrôle aseptique de l'environnement dans les services de soins. Ainsi, malgré les mesures d'hygiène mises en place au moment de la préparation des médicaments, il semble inévitable que certaines injections soient contaminées pendant la préparation dans les services de soins. Pour répondre aux exigences d'aseptie, les CIVAS permettent la préparation des médicaments dans des zones à atmosphère contrôlée ; elles sont équipées d'un système de traitement d'air avec une cascade de flux contrôlée, de postes de sécurité microbiologique ou d'isolateurs et les opérateurs sont équipés d'équipements de protection individuelle ; le tout assurant la stérilité du processus de préparation et *de facto*, du produit final.

2.1.3.2. La protection du personnel soignant

Parmi les bénéfices apportés par les CIVAS, la protection du personnel soignant vis-à-vis des toxiques préparés à fait l'objet de nombreux travaux, spécifiquement concernant les produits cytotoxiques^[86,90,91].

Dans les services de soins, des recommandations concernant la mise en place d'équipements de protection individuelle et collective pour protéger les soignants de toute contamination au moment de la manipulation des cytotoxiques ont été émises, mais à ce jour, la centralisation de toute préparation de chimiothérapie dans une zone à atmosphère contrôlée sous responsabilité pharmaceutique reste l'un des moyens les plus efficaces pour protéger les équipes médicales^[92].

2.1.3.3. La mise en place d'un processus qualité et de points de contrôle

De manière plus générale, l'organisation des CIVAS permet une préparation protocolisée, par campagne, sans interruption de tâche, assurant une qualité et une précision des concentrations préparées. Des étapes de contrôle sont instaurées à chaque étape critique du processus (choix de la spécialité, volume de prélèvement).

Par ailleurs, le transfert des tâches de préparation des médicaments injectables dans les CIVAS permet d'alléger la charge de travail des équipes médicales et paramédicales et libère des ressources humaines dans les services de soins qui pourront être recentrées sur le patient.

2.1.3.4. Une optimisation des coûts et des ressources humaines

Enfin, cette stratégie revêt un caractère économique car la préparation de médicaments injectables, par campagne, de doses standardisées est moins onéreuse en termes de gestion des consommables et de ressources humaines que la préparation extemporanée dans le service^[24]. Cet avantage concerne notamment les produits injectables onéreux^[93].

2.1.4. Conclusion

La préparation des médicaments injectables est un processus à haut risque de contamination microbiologique, particulaire, pyrogène dont la réalisation nécessite l'application de bonnes pratiques^[23,94]. Dans le contexte actuel où la gestion des risques est devenue un élément essentiel de la prise en charge des patients à l'hôpital, les CIVAS offrent donc une diminution considérable des risques associés à l'administration des médicaments par voie injectable, tout en accordant aux médecins et les IDEs plus de temps pour entreprendre leurs activités principales de soignants.

Dans ce contexte, l'équipe GRITA/ULR 7365 travaille quotidiennement à la détermination des dates limites d'utilisation de formes injectables prêtes à l'emploi pour des médicaments injectables à risque pour lesquelles les données de stabilité souhaitées n'ont pas été publiées dans la littérature, en vue du développement d'une unité de CIVAS efficiente au CHU de Lille.

2.2. Objectifs

L'objectif de cette partie de travail était de déterminer la date limite d'utilisation de préparations prêtes à l'emploi destinées à une préparation en CIVAS, d'évaluer les conditions de stockage et le solvant conférant la meilleure stabilité physicochimique.

2.3. Méthode Générale

Les études de stabilité ont été conduites sur une année pour quatre spécialités médicamenteuses injectables : l'insuline rapide, la dobutamine, la noradrénaline et le midazolam. Ces quatre spécialités sont fréquemment utilisées dans les services de soins critiques adultes et pédiatriques et appartiennent à la liste des médicaments à risque de l'ISMPs^[95]. Leur utilisation dans les services nécessite, dans certains protocoles, une dilution préalable.

Au moment de la conduite de ces études de stabilité, il n'existait pas à notre connaissance dans la littérature, d'études de stabilité couvrant les conditions de préparation et de stockage qui avaient été choisies pour notre CIVAS.

Avant de s'intéresser à proprement parler à la méthodologie des études de stabilité, le choix des spécialités et des concentrations cibles, et des contenants a été discuté.

2.3.1. Spécialités commerciales et concentrations cibles

Les spécialités commerciales choisies étaient les spécialités référencées par le CHU de Lille au moment de la conduite des études.

Les concentrations cibles ont été choisies pour permettre une utilisation de ces préparations dans la plupart des services adultes du CHU de Lille, à l'exception de l'insuline asparte pour laquelle la concentration cible sélectionnée correspond à la concentration souhaitée pour les services de soins intensifs pédiatriques et de néonatalogie du CHU de Lille.

2.3.2. Contenants

L'objectif final des CIVAS est de fournir des médicaments injectables prêts à l'emploi, pour lesquels, dans l'idéal, aucune manipulation n'est nécessaire à l'exception du branchement du contenant à la ligne de perfusion du patient.

Il existe plusieurs dispositifs permettant l'administration de médicaments injectables à un patient : la perfusion par gravité, les pousse-seringues électriques (PSE), et les pompes volumétriques.

Dans les services de soins critiques du CHU de Lille, comme dans de nombreux centres hospitaliers français, l'administration des médicaments injectables à risque est principalement réalisée à l'aide de pousse-seringue électrique. Le système d'entraînement des PSE est constitué d'un moteur électrique qui pousse sur le piston d'une seringue avec une force contrôlée. Le médicament est administré au patient par l'intermédiaire d'un prolongateur reliant le corps de la seringue au dispositif d'accès vasculaire. Les PSE sont indiqués pour la perfusion de petits débits (de 1 à 10 mL/h) et sont particulièrement utilisés pour administrer les médicaments à marge thérapeutique étroite ou de petits volumes à faible débit. L'intérêt de l'utilisation des PSE repose sur la précision de débit qu'ils confèrent (selon la norme NF S 90-251, la limite d'erreur tolérée sur le débit délivré est de 3% lors de l'utilisation de seringues recommandées) et la possibilité de programmer la purge automatique, l'administration de bolus, ou les volumes à administrer.

Dans l'idéal donc, il serait optimal de conditionner les médicaments injectables prêts à l'emploi dans des seringues, ce qui permettrait de minimiser le nombre de manipulations au simple branchement de la seringue à la ligne de perfusion.

2.3.2.1. Les conditionnements en polypropylène

Les seringues Luer Lock BD Plastipak (Becton Dickinson, Le-Pont-de-Claix, France) sont les seringues référencées au CHU de Lille et destinées à l'administration des médicaments injectables grâce aux PSE. Elles sont composées d'un corps, d'un piston en polypropylène et d'un joint de piston en isoprène synthétique.

Le polypropylène (PP) a pour avantage sa haute résistance mécanique et chimique, sa rigidité relative et sa légèreté. Il présente un bon ratio qualité-prix. Plusieurs additifs, tels que des agents clarifiants ou des agents de nucléation, peuvent être ajoutés pour améliorer les propriétés du PP (augmentation de la vitesse et de la température de cristallisation, augmentation de la rigidité, meilleure résistance à la chaleur, transparence et stabilité dimensionnelle accrues)^[96].

Le PP présente une excellente résistance chimique aux principaux solvants, lipides, agents polaires, ce qui explique sa large utilisation dans la conception de seringues destinées à l'administration de produits pharmaceutiques. Il est résistant aux hautes températures mais devient cassant à basse température (aux alentours de -32°C). Sa résistance à la chaleur lui confère la possibilité d'être stérilisé à l'autoclave ou à la vapeur avec un nombre de cycles limité (température de distorsion estimée à 100°C). Il peut également être stérilisé à l'aide d'oxyde d'éthylène sans qu'aucun changement dans ses propriétés physiques ne soit observé. En revanche, il nécessite une stabilisation supplémentaire en cas d'exposition à des radiations de hautes énergies en raison du risque de formation de radicaux libres, responsables de sa dégradation et de sa décoloration. Le PP possède donc des propriétés intéressantes pour le maintien de la stabilité des médicaments injectables. Cependant, il possède de mauvaises propriétés de barrière à l'oxygène, ce qui explique qu'il est souvent fabriqué dans une structure multicouche avec d'autres plastiques^[97] ; or l'imperméabilité à l'oxygène est un critère majeur pour protéger les médicaments de l'oxydation au cours d'un stockage. Par ailleurs, le joint en élastomère ne partage pas les propriétés d'innocuité et d'étanchéité du PP et fait encourir un risque de rupture d'étanchéité et un risque d'interaction contenant-contenu. Il se pose également la question de la stabilité du produit en contact avec le bouchon utilisé pour fermer hermétiquement la seringue.

Ainsi, les seringues Luer-Lock en PP présentent des limites en termes de conception qui pourraient conduire à diminuer la stabilité des produits qu'elles contiennent.

En parallèle des seringues en PP, un autre type de contenant a été testé dans les études de stabilité, des flacons en copolymère oléfine cyclique (COC).

2.3.2.2. Les conditionnements en copolymère oléfine cyclique

Au cours des dernières décennies, une nouvelle classe de polymères, appelés copolymères oléfine cycliques (COC) ont été développés. Ils ont fait une incursion dans l'industrie des dispositifs médicaux et ont été utilisés rapidement pour des applications de laboratoire en remplacement des contenants composés de verre. Le procédé de synthèse des COC a été développé par Ticona Celanese et commercialisé sous le nom Topas®^[98].

Le COC présente une combinaison des propriétés intéressantes pour le stockage des médicaments : une haute transparence, un poids léger, une faible densité, une rigidité élevée, une bonne résistance chimique et une résistance aux chocs importante, supérieure à celle du verre. Leur faible absorption et leur faible perméabilité à l'humidité leur confèrent une excellente stabilité dimensionnelle. Ils présentent une meilleure résistance thermique par rapport au polyéthylène (PE) et au PP. Enfin, leur faible taux de matière extractible leur assure une bonne biocompatibilité^[99].

Le COC est un polymère amorphe, il est donc à risque de fissuration s'il est soumis à des contraintes physiques importantes. Un COC de bonne qualité aura une bonne résistance chimique aux composés acides et basiques ainsi qu'aux solvants polaires. Le COC peut être soumis à une stérilisation par rayonnement gamma ou à l'oxyde d'éthylène. Certains COC qui présentent une température de transition vitreuse élevée et une température de déflexion à chaud élevée peuvent être soumis à une stérilisation à la vapeur et à la chaleur sèche.

Le COC qui est décrit comme au moins 6 fois moins perméable à l'oxygène que PP et présente une propriété de barrière à l'humidité meilleure que le PP. La Figure 14 résume les propriétés de barrière du COC par rapport aux autres plastiques fréquemment utilisés dans le conditionnement primaire de préparations parentérales^[100].

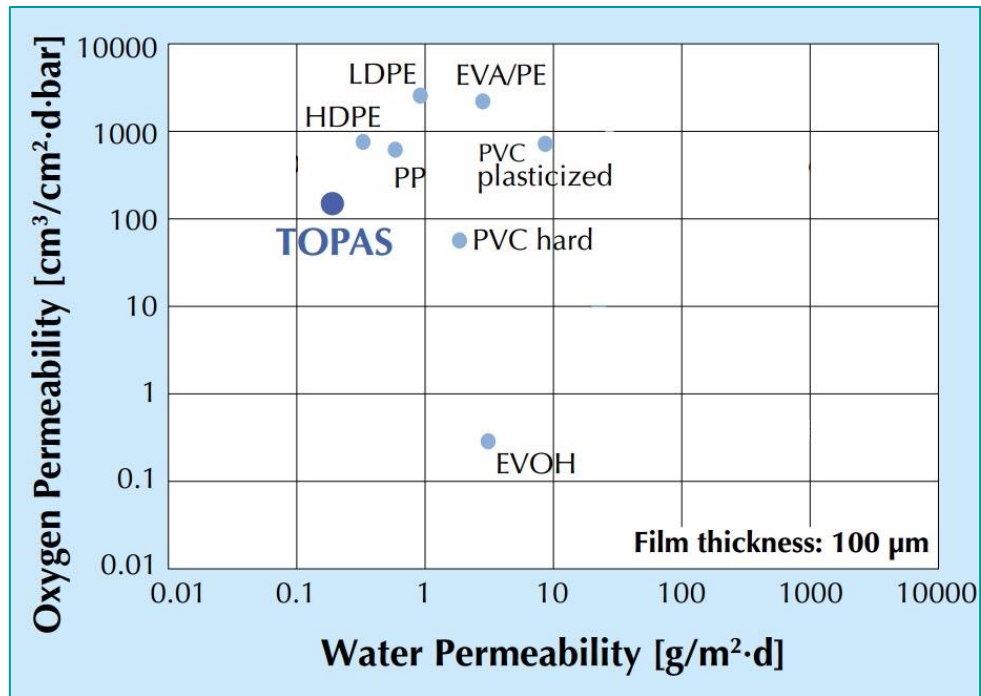


Figure 14 - Perméabilité à l'oxygène et à l'air du COC Topas® par rapport à d'autres plastiques pour un film de 100 µm d'épaisseur (EVA/PE = Multicouche Ethylene-vinyl acetate / Polyéthylène, PVC hard = PVC non plastifié, EVOH = Ethylene vinyl alcohol copolymer), d'après la documentation fournie par la laboratoire^[100].

Nous avons donc choisi de travailler avec des flacons en COC AT-Closed®, qui ont été moulés, assemblés, gamma-stérilisés, commercialisés par Aseptic Technologies, Gembloux, Belgique. Leur bouchon est composé d'élastomère thermoplastique, ce qui lui confère la capacité d'être refusionné à l'aide d'une source d'énergie en cas d'effraction. Un système « flip-off » de fermeture inviolable est fourni avec les flacons afin qu'ils puissent être correctement fermés et sécurisés après le remplissage.

2.3.2.3. Les méthodes de remplissage utilisées au cours de l'étude

Nous avons opté pour un remplissage manuel des seringues, réalisé par des pharmaciens ou techniciens de laboratoire en fonction des études que nous avons menées.

À l'inverse, la méthode de remplissage des flacons en COC était semi-automatique. Elle a été décrite dans l'article de Feutry *et al*^[101]. Le système utilisé est

la ligne de remplissage M1 Filling station (Aseptic Technologies, Gembloux, Belgique) connectée à une pompe péristaltique (Flexicon Pump PF6, Watson Marlow, La Queue Lez Yvelines, France).

Cette ligne de remplissage permet chronologiquement, le remplissage du flacon à travers le bouchon en élastomère, la fusion à l'aide d'un laser restaurant l'intégrité du bouchon, et le sertissage de l'ensemble.

La première étape consiste à placer manuellement les flacons sur le support de la ligne de remplissage ; après actionnement d'un levier, le perçage du bouchon est réalisé avec précision à l'aide d'une aiguille, et le flacon est rempli grâce à une pompe péristaltique, avant le retrait de l'aiguille. Le flacon est ensuite transféré manuellement dans une enceinte de sécurité, et la marque de perforation générée par l'aiguille est refermée par un tir laser de 1 seconde sur la surface du bouchon ; enfin, un couvercle en plastique (système flip-off) permet de sceller le système manuellement (Figure 15).

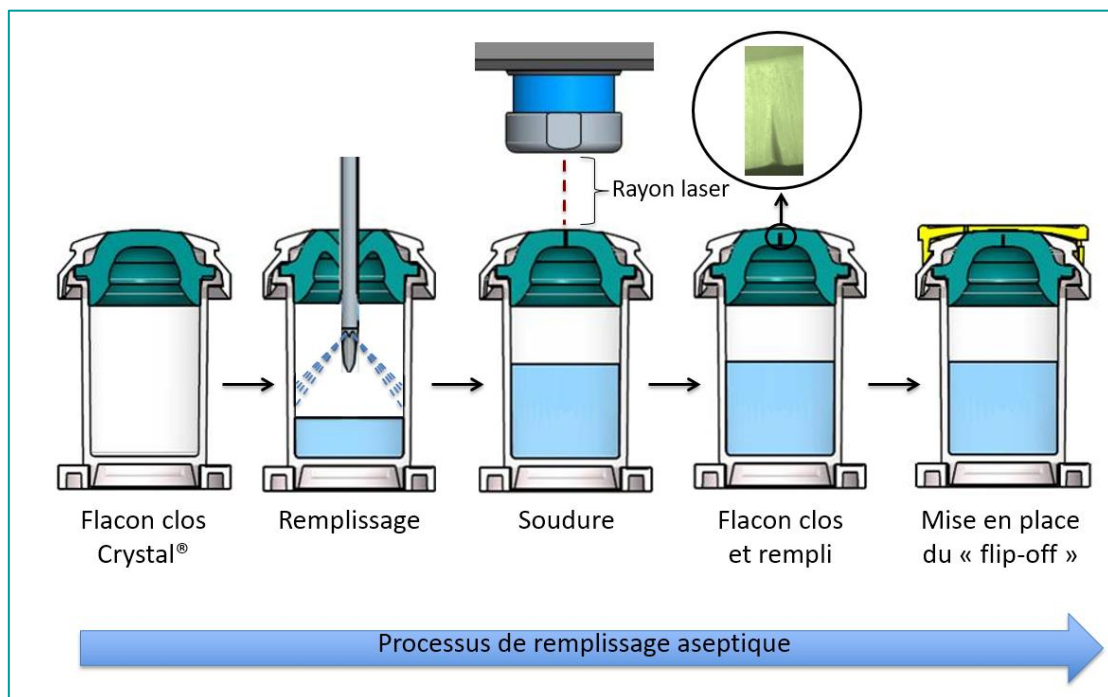


Figure 15 - Schématisation du processus de remplissage des flacons AT-Closed® issu de l'article de Feutry et al^[101].

Le remplissage est permis par une aiguille spéciale présentant des événements pour permettre l'équilibre des pressions et spécialement biseautée pour limiter les phénomènes de carottage de l'élastomère.

Ce système de remplissage offre un rendement important, avec 1000 à 2000 flacons produits par jour ; ce rendement dépend de la taille des flacons (5 mL à 50 mL)^[102]. Le risque de contamination microbiologique et de rupture de l'asepsie est très faible car le système reste clos tout au long du processus, et les flacons commercialisés sont stériles^[103,104]. Le système permet également une bonne gestion des reliquats.

2.3.3. Essais de stabilité physico chimique et microbiologique relatifs aux préparations injectables

2.3.3.1. Préparation des solutions et conditions opératoires

La préparation des solutions a été réalisée en conformité avec les recommandations des résumés des caractéristiques du produit^[105-108]. Les conditions opératoires sont présentées dans le Tableau 11.

Tableau 11 - Présentation des conditions opératoires pour les quatre études de stabilité menées.

Spécialité commerciale, laboratoire	Concentration cible	Solvant de dilution	Contenant	Températures de stockage
Midazolam 50/10 mg/mL, Mylan	1 mg/mL	NaCl 0,9%	Flacons 50 mL Seringues 50 mL	-20°C±5°C, +5°C±3°C +25°C±2°C
Noradrénaline 2 mg/mL, Mylan	0,2 mg/mL	NaCl 0,9%	Flacons 50 mL Flacons 20 mL Seringues 50 mL Seringue 20 mL	-20°C±5°C, +5°C±3°C +25°C±2°C
	0,5 mg/mL	NaCl 0,9%	Flacons 50 mL Seringues 50 mL	-20°C±5°C, +5°C±3°C +25°C±2°C
Dobutamine 250 mg/20mL, Panpharma	10 mg/mL	NaCl 0,9% G5%	Flacons 50 mL Seringues 50 mL	-20°C±5°C, +5°C±3°C +25°C±2°C
Insuline asparte 100 U/mL, Novo Nordisk	1 U/mL	NaCl 0,9%	Flacons 50 mL Seringues 50 mL	+5°C±3°C +25°C±2°C

Conformément aux spécifications communes de la SFPC et du GERPAC et aux recommandations de l'ICH^[66,109], trois températures de stockage ont été testées ($-20^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$, $+5^{\circ}\text{C}\pm 3^{\circ}\text{C}$ et $25^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ avec $60\%\pm 5\%$ d'humidité relative), sauf pour l'insuline aspartate pour laquelle seules deux températures de stockage ont été testées ($+5^{\circ}\text{C}\pm 3^{\circ}\text{C}$ et $25^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ avec $60\%\pm 5\%$ d'humidité relative) en raison d'une recommandation du résumé des caractéristiques du produit allant à l'encontre de la congélation.

Chaque contenant a été stocké dans une enceinte climatique sans éclairage (Binder ED 115, Tuttlingen, Allemagne) pendant 365 jours, en limitant les manipulations et la mobilisation des échantillons tout au long du stockage. La moitié des flacons en COC préparés ont été stockés à l'endroit et l'autre moitié a été stocké à l'envers afin d'évaluer l'impact du contact de la solution avec le bouchon sur la stabilité de l'analyte d'intérêt.

Chaque seringue et flacon ont été utilisés pour une seule analyse. Avant de conduire l'analyse, les solutions placées à $-20^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$ ont été décongelées par exposition à une température ambiante pendant 4 heures.

2.3.3.2. Étude de la stabilité chimique : développement et validation de méthode

La conduite d'une étude de stabilité comprend le dosage du principe actif et la recherche d'éventuels produits de dégradation ; cela implique de disposer d'une méthode indicatrice de stabilité valide. Une méthode indicatrice de stabilité doit pouvoir permettre l'identification et la quantification du principe actif ainsi que la détection d'éventuels produits de dégradation. Cette méthode doit donc être séparable, spécifique et sensible.

La méthode d'analyse utilisée a été la CLHP couplée à un détecteur UV. Il s'agit d'une technique de référence pour conduire des études de stabilité^[66].

Développer et valider une méthode indicatrice de stabilité revient à évaluer sa linéarité, sa justesse et sa précision, sa spécificité et sa sensibilité.

- **Déterminer la linéarité de la méthode indicatrice de stabilité par technique de dosage CLHP-UV**

Le principe de CLHP-UV repose sur une fonction de réponse linéaire entre l'aire sous la courbe (ASC) des pics formés par les chromatogrammes et la concentration

du soluté contenu dans l'échantillon étudié, dans notre cas, la concentration en principe actif.

Afin de déterminer une concentration en principe actif à partir d'une mesure d'ASC mesurée, il est nécessaire d'avoir caractérisé au préalable la relation mathématique qui les lie. Pour ce faire, on utilise les gammes de calibration. Elles sont construites, pour chaque niveau de concentration, par calcul des rapports entre l'ASC du pic correspondant au principe actif obtenu à partir des chromatogrammes et la concentration en principe actif contenue dans les solutions de calibration correspondantes.

La gamme de calibration, doit comporter 5 niveaux de concentrations *a minima*, encadrant la concentration cible (C_c) en principe actif ($C_c-40\%$, $C_c-20\%$, C_c , $C_c+20\%$, $C_c+40\%$). La répartition des points doit être régulière et aucun écart supérieur à un facteur 10 entre le premier et le dernier point ne doit être observé^[66].

La préparation des solutions de calibration repose sur la préparation de deux à trois séries de gammes préparées pendant deux à trois jours, avec un minimum de six séries préparées^[110] (2 séries par jour pendant trois jours ou 3 séries par jour pendant 2 jours, Tableau 12).

Tableau 12 - Exemple de plan d'expérience pour une gamme de calibration, n=6.

Jour 1	Jour 2	Jour 3
Série 1 Gamme 1	Série 1 Gamme 3	Série 1 Gamme 5
Série 2 Gamme 2	Série 2 Gamme 4	Série 2 Gamme 6

La linéarité cette relation doit être vérifiée. Dans notre étude, l'adéquation de la relation entre la concentration et l'ASC est évaluée par une analyse de variance (test paramétrique de l'ANOVA, F-test, $\alpha=5\%$). Si l'hypothèse H_0 n'est pas rejetée, alors le test de linéarité est validé. Un test d'homogénéité des variances (test de Cochran, Q-test, $\alpha=5\%$) est réalisé pour vérifier l'hypothèse de la normalité des résidus de

l'ANOVA. Si la linéarité n'est pas vérifiée par le test de l'ANOVA ou si l'homogénéité des variances était rejetée par le test de Cochran, une régression polynomiale de degré 2 d'expression $y = \alpha + \beta_1 x + \beta_2 x^2 + \epsilon$ est réalisée et un test de Student permet de tester l'hypothèse d'égalité du coefficient de second degré β_2 à 0. Si les résultats du test montrent que ce coefficient n'est pas statistiquement différent de 0 (t-test, $\alpha = 5\%$), on peut alors conclure que le modèle linéaire de type $y = \alpha + \beta_1 x$ est le plus adapté à la régression entre l'ASC et les concentrations.

- **Déterminer la spécificité de la méthode indicatrice de stabilité par la technique de dosage en CLHP-UV**

Une méthode indicatrice de stabilité doit permettre l'analyse séparative des produits de dégradation par rapport au principe actif, aux excipients et aux éventuelles impuretés contenus dans une solution, avec un temps de rétention de chaque analyte acceptable.

Afin de vérifier la spécificité de chaque méthode, des études de dégradation forcée ont été conduites. Dans ces études, des solutions mères du principe actif d'intérêt ont été préparées, soit à partir de poudre de qualité pharmaceutique, soit à partir de solutions commerciales injectables en cas d'indisponibilité de la poudre de référence. Elles ont ensuite été soumises à des conditions extrêmes, c'est-à-dire des conditions acido-basiques, oxydatives, thermiques, car il s'agit des facteurs les plus susceptibles d'engendrer la dégradation chimique du principe actif en solution. Chaque condition extrême a été appliquée à une solution mère, jusqu'à produire la dégradation de 20% du principe actif en solution.

La spécificité de la méthode indicatrice de stabilité a été évaluée en comparant les chromatogrammes des contrôles qualité (contenant le principe actif seul non soumis aux solutions extrêmes) et ceux issus de la dégradation forcée. Les produits de dégradation ne doivent pas être co-élus avec l'analyte à étudier (principe actif, excipient).

Concernant les condition extrêmes, l'exposition aux conditions acido-basiques correspond à une dilution 1 : 1 d'une solution mère avec du NaOH (base) ou du HCl (acide) à des concentrations croissantes 0,1, 0,5 et 1 N pendant 1 heure à 80°C, puis

neutralisation (1 :1) avec l'acide (HCl) ou la base (NaOH) correspondante^[66]. La solution mère doit donc présenter une concentration égale à quatre fois la concentration cible du principe actif. Les concentrations en acide et base sont incrémentées jusqu'à l'obtention de la dégradation du principe actif d'environ 20%.

L'exposition aux conditions oxydatives correspond à une dilution de la solution d'intérêt avec une solution de peroxyde d'hydrogène entre 3 et 30% (v/v) pendant un temps déterminé de quelques heures à une température élevée (70-100°C). La teneur de peroxyde d'hydrogène (v/v) pourra ensuite être augmentée si le produit n'atteint pas les 20% de dégradation, jusqu'à un maximum de 30%.

La dégradation thermique est réalisée en soumettant le produit dilué au 1/10^{ème} à une chaleur de 80°C pendant une période de 24 à 72 heures.

Toutes les études de stabilité ayant été conduites à l'abri de la lumière (congélation, réfrigération, enceinte climatique fermée), les études de dégradation forcée par exposition à la lumière n'ont pas été réalisées.

- **Déterminer la précision et la justesse de la méthode indicatrice de stabilité par technique de dosage CLHP-UV**

La précision d'une méthode traduit l'écart entre l'écart-type des mesures répétées $Y_{i,j}$ et la moyenne de ces mesures \bar{Y} . Elle est exprimée à l'aide de la répétabilité et de la fidélité intermédiaire pour chaque niveau de concentration de la gamme de calibration.

La répétabilité est représentée par la variance intra série s^2_{intra} (pour un jour d'expérience donné) tel que :

$$s^2_{intra} = \frac{SCE_{intra}}{I(J-1)}$$

Où SCE est la somme carré des écarts intra-série, I est le nombre de concentrations différentes et J le nombre de répétitions réalisées pour chaque concentration, soit $n=I*J$, le nombre de dosages.

Le calcul de la somme carré des écarts est :

$$SCE_{intra} = \sum_i \sum_j (Y_{i,j} - \bar{Y}_i)^2$$

Où \bar{Y}_i est la moyenne des valeurs par niveau de concentration

La fidélité intermédiaire est représentée par la variance de fidélité intermédiaire s^2_{fi} , tel que :

$$s^2_{fi} = s^2_{intra} + s^2_{inter}$$

avec

$$s^2_{inter} = \frac{SCE_{inter} - s^2_{intra}}{I - 1} \cdot J$$

Où $SCE_{intra} = J \cdot \sum_{ji} (\bar{Y}_i - \bar{Y})^2$ avec \bar{Y} la moyenne générale

En pratique, on représente ces variances sous forme de coefficient de variation CV%.

Ainsi, $CVr\% = \frac{s_{inter}}{\bar{Y}_{i,j}}$ et $CVfi\% = \frac{s_{fi}}{\bar{Y}_{i,j}}$

La justesse traduit l'écart entre la moyenne des mesures répétées et la valeur cible. La justesse d'une méthode peut s'exprimer de différentes façons. Les deux critères les plus classiques sont le taux de recouvrement et le biais relatif.

Le taux de recouvrement est calculé à l'aide de la formule :

$$R\% = \left(\frac{\bar{Y}}{Z} \right) \times 100$$

où Z est la concentration théorique attendue.

Le biais relatif est calculé à l'aide de la formule :

$$BR\% = \left(\frac{\bar{Y} - Z}{Z} \right) \times 100 = R\% - 100$$

Afin de traduire l'erreur systématique de nos méthodes de dosage, nous avons calculé une erreur totale qui est l'addition entre la valeur absolue du biais relatif (exprimant la justesse, BR%) et la valeur absolue de la fidélité intermédiaire (exprimant la précision, CVfi%). La limite des $\pm 10\%$ a été fixée pour la validation de la méthode^[66,109].

En résumé, dans les études conduites, une méthode de dosage indicatrice de stabilité a été développée et validée selon des critères de linéarité, de spécificité et le profil d'exactitude, pour chaque molécule étudiée.

2.3.3.3. Interprétation des résultats obtenus au cours de l'étude de stabilité chimique

Les concentrations des analytes mesurées ont été exprimées en % par rapport à la concentration mesurée le jour de la préparation (Ct/C0, %). Les analytes étaient considérés comme stables chimiquement à un temps donné si le rapport Ct/C0 était supérieur ou égal à 90% et si aucun nouveau pic correspondant à un produit de dégradation n'était observé sur les chromatogrammes (par comparaison aux chromatogrammes de contrôle qualité). Les dosages ont été réalisés en triplicat.

2.3.3.4. Contamination particulaire : les particules visibles

Selon le chapitre 5.17.2 « Recommandations relatives à l'essai de contamination particulaire : particules visibles » et le chapitre 2.9.20. « Contamination particulaire : particules visibles » de la Ph. Eur, la contamination particulaire est définie comme la présence non intentionnelle de substances non dissoutes et mobiles, autres que des bulles de gaz, dans les préparations liquides. Selon le chapitre 5.17.2, l'inspection visuelle nécessite un examen sur fond blanc et fond noir avec un temps d'inspection par récipient supérieur à 5 secondes. Cette recommandation est applicable depuis le 1^{er} janvier 2021 et n'était pas en vigueur au moment de la conduite des études^[111]. Elles n'ont pas été appliquées pour les études présentées dans ce travail.

Concernant les études menées dans le cadre de cette thèse, à chaque temps d'analyse, une inspection à l'œil nu des solutions incluait la vérification de l'absence de coloration, le maintien de la transparence de la solution et l'absence de formation de particules visibles.

2.3.3.5. Contamination particulaire : les particules sub-visibles

Parmi les méthodes recommandées par la Ph. Eur. (monographie 2.9.19^[112]), nous avons choisi de réaliser le test de contamination particulaire pour les particules non visibles à l'aide d'un spectrophotomètre à obscurcissement de lumière (APSS-2000, Particle Measuring System, Dourdan, France).

Les spécifications européennes indiquent que les préparations de volume inférieure à 100 mL sont conformes si le nombre de particules ne dépasse pas :

- 6000 particules/contenant pour les particules de taille supérieure ou égale à 10 μm
- 600 particules/contenant pour les particules de taille supérieure ou égale à 25 μm .

2.3.3.6. Mesure de l'osmolalité et du pH des solutions

Une molécule osmotiquement active correspond à tout élément (ion, molécule) capable d'attirer les molécules d'eau au travers d'une membrane. L'osmolalité est la concentration de molécules osmotiquement actives par unité de poids (kilogramme).

Dans le cadre d'une étude de stabilité, la mesure de l'osmolarité peut être considérée comme un paramètre complémentaire permettant de confirmer la stabilité chimique d'une solution (Ph. Eur. monographie 2.2.35^[113]). Les osmomètres commercialisés pour les applications en laboratoire déterminent l'osmolarité des solutions par mesure de l'abaissement cryoscopique. Il s'agit d'un appareil qui mesure automatiquement le point de congélation des solutions aqueuses. La dépression du point de congélation par rapport à l'eau pure est directement liée à la concentration osmotique. Dans nos études, l'osmolalité a été mesurée avec un micro-osmomètre (Model 210, Fiske Associates, Norwood, Massachusetts, USA).

Selon les recommandations de la Ph. Eur. monographie 2.2.3^[114], la mesure du pH peut être réalisée par deux moyens : le papier pH et le pH-Mètre. Dans le cadre d'une étude de stabilité, la technique du papier pH n'est pas adaptée en raison de son manque de sensibilité. Le suivi du pH a été effectué à l'aide d'un pH-mètre Hanna[®] HI 223 (Hanna[®] Instrument, Michigan, USA) pour l'ensemble de nos études.

2.3.3.7. Essais de stérilité

La stérilité a été testée dans le respect des spécifications de la Ph. Eur. (monographie 2.6.1^[77]) afin de vérifier que les solutions préparées étaient conformes au critère de stérilité requis pour les préparations parentérales^[75].

Pour le midazolam et la noradrénaline, la stérilité a été testée après filtration des échantillons. Les filtres de 0,45 µm en nitrate de cellulose (Sartorius Stedim Biotech, Göttingen, Allemagne) ont été incubés dans un milieu liquide de thioglycolate à +35°C et dans un milieu à l'hydrolysate de caséine et de soja à +22°C pendant 14 jours (Figure 16).

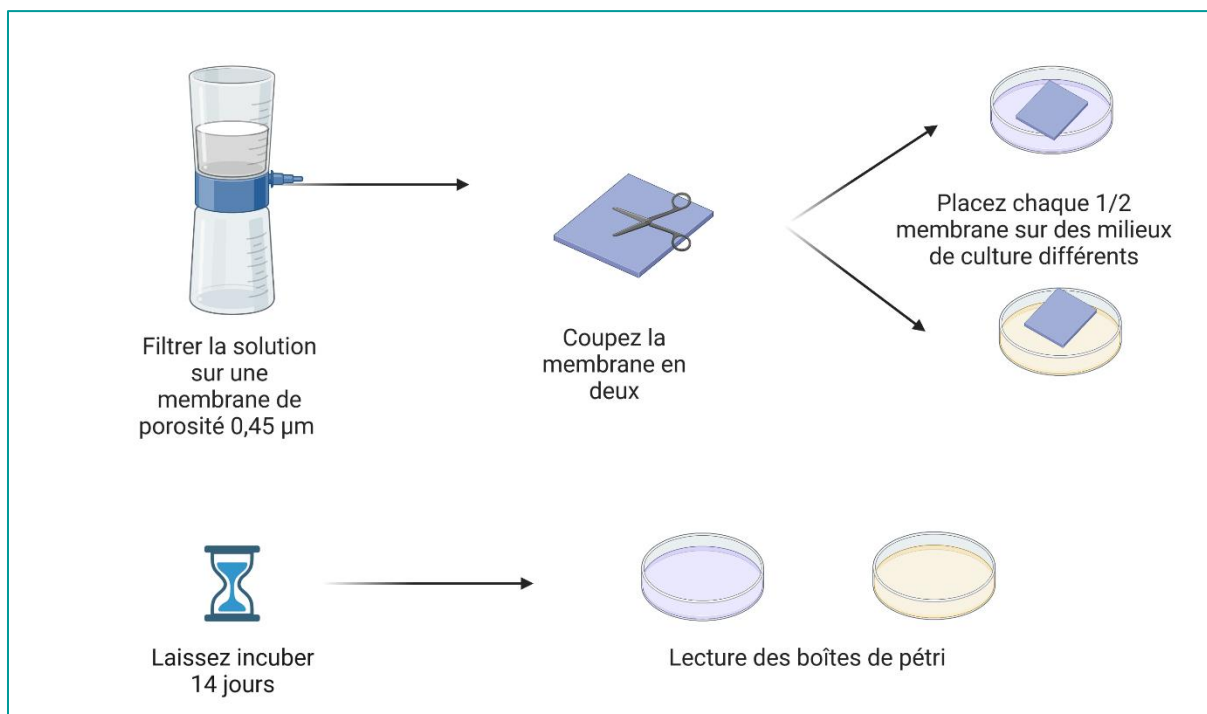


Figure 16 - Technique de filtration sur membrane utilisée lors des essais de stérilité (production originale, créée avec Biorender.com).

Pour la dobutamine et l'insuline, un milieu de Mueller Hinton (CM0405 OXOID, Thermo Fisher Scientific, Basingstoke Hampshire, UK) incubé à +22 °C/+ 33°C a été utilisé. Il a été validé selon les spécifications 2.6.1 de la Ph. Eur.^[77]. Les échantillons étaient filtrés sur des membranes composées d'un filtre en nitrate de cellulose à 0,45 µm (Sartorius Stedim Biotech, Göttingen, Allemagne). Les membranes ont été incubées dans le milieu de culture pendant 14 jours.

2.4. Résumé des études de stabilité sur le long terme présentées dans cette thèse.

Un résumé de chaque étude de stabilité menée dans le cadre de cette thèse est présenté ci-dessous, dans l'ordre chronologique de la conduite des études.

2.4.1. L'étude de stabilité sur le long terme du midazolam à 1 mg/mL dans des flacons de COC et des seringues en PP

2.4.1.1. Contexte et objectif

Le midazolam est une benzodiazépine couramment utilisée dans les unités de soins intensifs pour contrôler la sédation. Il est prescrit en anesthésie préopératoire pour son action sédatrice et hypnotique et administré par voie intraveineuse en bolus ou en perfusion continue selon les pratiques des services. En France, les solutions injectables de chlorhydrate de midazolam disponibles sont :

- Des flacons de 5 mL à une concentration de 1 mg/mL,
- Des flacons de 1, 3 ou 10 mL à une concentration de 5 mg/mL.

Ces présentations peuvent être utilisées sans étape de dilution pour les bolus, en revanche les perfusions continues de midazolam nécessitent une dilution des flacons de 10 mL (5mg/mL) avec du chlorure de sodium (NaCl) à 0,9 %^[106].

Avant la conduite de notre étude, il n'existait pas de données sur la stabilité des préparations diluées de midazolam conservées dans des seringues en PP ou dans des flacons de COC à 1 mg/mL.

L'objectif de cette première étude était d'évaluer la stabilité sur le long terme d'une solution injectable de midazolam à 1 mg/mL diluée dans du NaCl 0,9% dans des seringues en PP et des flacons de COC, et conservée pendant 365 jours à $-20\pm 5^{\circ}\text{C}$; $+5\pm 3^{\circ}\text{C}$ et $+25\pm 2^{\circ}\text{C}$ avec $60\pm 5\%$ d'humidité relative.

2.4.1.2. Résultats et conclusion

Une méthode indicatrice de stabilité CLHP-UV a été développée et validée en conformité avec les référentiels en vigueur^[66,109].

Les résultats de l'étude ont montré qu'une solution injectable de midazolam diluée dans du NaCl 0,9% à la concentration de 1 mg/mL à partir d'une solution commerciale de 50 mg/10 mL de midazolam, était stable pendant 365 jours à -20°C et $+5^{\circ}\text{C}$ dans des seringues en PP et dans des flacons en COC et pendant 90 jours à température ambiante dans des seringues en PP et 180 jours à température ambiante dans des flacons en COC. La stérilité a été conservée tout au long de l'étude.

Ces résultats sont résumés dans la Figure 17.









Stabilité sur le long terme du midazolam dilué à 1 mg/mL avec du NaCl 0,9%								
NaCl 0,9%		Stabilité chimique	Particules visibles/ coloration	Particules non visibles	pH	Osmolarité	Stérilité	Stable pendant
 conservés à l'endroit Flacons COC 50 mL	 +25°C±2°C	180 jours	✓	✓	✓	✓	✓	180 jours
	 +5°C±3°C	✓	✓	✓	✓	✓	✓	365 jours
	 -20°C±5°C	✓	✓	✓	✓	✓	✓	365 jours
 Seringues PP 50 mL	 +25°C±2°C	90 jours	✓	✓	✓	✓	✓	90 jours
	 +5°C±3°C	✓	✓	✓	✓	✓	✓	365 jours
	 -20°C±5°C	✓	✓	✓	✓	✓	✓	365 jours

Figure 17 - Résultats de l'étude de stabilité physico-chimique et microbiologique du midazolam dilué à 1 mg/mL avec du NaCl 0,9% dans des seringues en polypropylène et des flacons en copolymère oléofine cyclique conduite pendant 365 jours (production originale, créée avec BioRender.com). Légende : COC, copolymère oléofine cyclique ; PP, polypropylène.

Cette étude publiée dans l'*American Journal of Hospital Pharmacist*, est présentée ci-après (dernière version après correction des relecteurs et validation par l'éditeur) [115].

Long-term stability of ready-to-use midazolam solution at 1 mg/mL

S. Gilliot, (Pharm.D. student), Univ. Lille, EA 7365 – GRITA - Groupe de Recherche sur les formes Injectables et les Technologies Associées, F-59000 Lille, France.

M. Masse, Pharm.D., Univ. Lille, EA 7365 – GRITA - Groupe de Recherche sur les formes Injectables et les Technologies Associées, F-59000 Lille, France. Univ. Lille, CHU Lille, EA 7365 - GRITA - Groupe de Recherche sur les formes Injectables et les Technologies Associées, F-59000 Lille, France.

F. Feutry, Pharm.D., Service of Pharmacy, Centre Oscar Lambret , Lille , France.

C. Barthélémy, Pharm.D., Univ. Lille, EA 7365 – GRITA - Groupe de Recherche sur les formes Injectables et les Technologies Associées, F-59000 Lille, France.

B. Décaudin, Pharm.D., Univ. Lille, EA 7365 – GRITA - Groupe de Recherche sur les formes Injectables et les Technologies Associées, F-59000 Lille, France. Univ. Lille, CHU Lille, EA 7365 - GRITA - Groupe de Recherche sur les formes Injectables et les Technologies Associées, F-59000 Lille, France.

S. Genay, Pharm.D., Univ. Lille, EA 7365 – GRITA - Groupe de Recherche sur les formes Injectables et les Technologies Associées, F-59000 Lille, France. Univ. Lille, CHU Lille, EA 7365 - GRITA - Groupe de Recherche sur les formes Injectables et les Technologies Associées, F-59000 Lille, France.

P. Odou, Pharm.D., Univ. Lille, EA 7365 – GRITA - Groupe de Recherche sur les formes Injectables et les Technologies Associées, F-59000 Lille, France. Univ. Lille, CHU Lille, EA 7365 - GRITA - Groupe de Recherche sur les formes Injectables et les Technologies Associées, F-59000 Lille, France.

Address correspondence to Dr. Masse (morgane.masse@univ-lille.fr). @MorganeMasse

ABSTRACT

Purpose.

Midazolam is a benzodiazepine derivative commonly used in intensive care units to control sedation in patients. It requires a dilution step from a 5mg/mL commercial solution to a 1mg/mL target concentration.

This study aimed to evaluate the stability of diluted ready-to-use 1mg/mL midazolam solutions over 365 days. Two types of conditioning were tested: 50mL Aseptic Technologies -Closed® Cyclic Olefin Copolymer vials and 50mL polypropylene syringes.

Methods.

A specific high-performance liquid chromatography coupled with UV detection stability-indicating method was developed for midazolam hydrochloride and validated according to selectivity, linearity, sensitivity, precision and accuracy. Three storage conditions were tested: $-20\pm 5^{\circ}\text{C}$, $+5\pm 3^{\circ}\text{C}$ and $+25\pm 2^{\circ}\text{C}$ with $60\pm 5\%$ relative humidity. Half of the vials were stored upside-down to test the absence of interaction between midazolam and the stopper. Particle contamination, sterility and pH-monitoring were assessed.

Results.

Limit of stability was set at 90% of the initial concentration. After one year's storage at -20°C and $+5^{\circ}\text{C}$, concentrations remained superior to 90% for all conditioning. At $+25^{\circ}\text{C}$, stability was maintained up to day 90 in syringes ($92.71\pm 1.43\%$) and day 180 in vials (respectively $92.12\pm 0.15\%$ and $91.57\pm 0.15\%$). No degradation products were apparent, no variations in pH-values were detected and containers retained their sterility and conformity with regard to any specific contamination during the study.

Conclusion.

Midazolam solution at 1mg/mL is stable over a one-year period when stored at a refrigerated ($+5^{\circ}\text{C}$) or frozen (-20°C) temperature whatever the conditioning. At $+25^{\circ}\text{C}$, stability time is lower. The preparing of ready-to-use solutions by the hospital pharmacy is compatible with clinical practise and could help to decrease risks inherent to diluting in care units.

Keywords: infusion, liquid chromatography, midazolam, stability-indicating method.

INTRODUCTION

Midazolam is a benzodiazepine derivative commonly used in intensive care units (ICUs) to control sedation. It is prescribed in preoperative anesthesia for its intensive sedative and hypnotic action and administered intravenously in bolus or in continuous infusion depending on routines adopted in ICUs. In France, injectable hydrochloride midazolam solutions are available at 1 mg/mL packaged in 5 mL vials or 5 mg/mL in 1-, 3- or 10-mL vials. These presentations can be used without any preparation step for bolus injection. When administered in continuous infusion, a 1 mg/mL midazolam solution can be prepared by mixing 5 mL vials or by diluting a 50mg/10mL commercialized hydrochloride midazolam solution with 0.9% sodium chloride (NaCl) in 50 mL polypropylene (PP) syringes. The latter is cheaper and is recommended in ICUs. Medication errors including the manual preparation of injectable solutions are numerous. Multiple dilutions by nurses several times a day can result in dilution errors, solvent errors, sterility disruption.¹⁻⁴ This may compromise care safety and lead to severe adverse effects⁵⁻⁷ especially in ICUs because of the weakness of critically ill patients.^{8,9}

Optional missions of French hospital pharmacies encompass the standardization of preparations to remedy the lack of industrial products at the appropriate dosage. This would decrease risks involved in the dilution step carried out by nurses in ICUs.

No data exist dealing with the stability of diluted midazolam preparations stored in PP-syringes or in Cyclic Olefin Copolymer (COC)-vials at 1 mg/mL. Only some stability data for injectable midazolam stored in PP-syringes are available for 2, 3 and 5 mg/mL concentrations.¹⁰⁻¹² Several methods to analyze midazolam in biological samples have been developed¹³⁻¹⁷.

This study aimed to evaluate the long-term stability of diluted ready-to-use 1 mg/mL midazolam solutions for 365 days in two storage containers: PP-syringes and COC-vials.

MATERIAL AND METHODS

Products. Hydrochloride midazolam^a commercial solution was compounded with excipients such as water for injection, NaCl, hydrochloric acid (HCl) or sodium hydroxide (NaOH) to adjust the pH-value to 3.3. Ultra-pure water (UPW)^b and sterile 0.9% NaCl solution^c were used to achieve clinical concentrations. Midazolam standard reference^d used for the validation step was of analytical grade. Diazepam^e was chosen as internal standard (IS). 20 mM acetate buffer^f, trichloroacetic acid^g and acetonitrile^h were used for mobile phase, absolute ethanolⁱ was used to dissolve midazolam and diazepam.

Syringes used were 50 mL PP luer-lock syringes^j; Vials used were 50mL-AT-Closed[®] vials^{k,23}; they were made of COC for the body and thermo plastic elastomer for the stopper.

COC is characterized by high transparency and mechanical resistance.²⁴ AT-Closed[®] vials have been designed to be sterile, clean, closed and ready-to-fill and meet the required criteria for pharmaceutical primary containers. The filling process was conducted in the same way as by Feutry *et al.*²⁵

Solution preparations. Quality controls were prepared by dissolving midazolam hydrochloride standard reference (10 mg) in 10 mL graduated flasks with absolute ethanol to obtain 1 mg/mL primary stock solutions.

Degradation midazolam solution (10 µg/mL) was prepared from a 1:100 dilution of an aliquot from the stock solution (1 mg/mL) with UPW and was submitted to high temperature.

Another degradation midazolam solution (40 µg/mL) was prepared by diluting with UPW and then subjecting to variations in pH and oxidative conditions, respecting the French Society of Clinical Pharmacy/Group of Evaluation and Research for protection in areas under control (SFPC/GERPAC) guidelines.²⁶

Calibration solutions were prepared by diluting stock solutions with UPW to obtain calibration standards at 6, 8, 10, 12, and 14 µg/mL.

The concentration of diazepam was determined so that its peak was equivalent to that of mid-range midazolam calibration (7.5 µg/mL).

Solutions used for stability tests were prepared at ambient temperature, by diluting commercial midazolam solution with 0.9% NaCl to reach 1 mg/mL. 150 PP-syringes were filled manually and 300 AT-Closed[®] vials (COC-vials) were automatically filled to the appropriate volume using the M1 Filling Station^l connected to a peristaltic pump^m. Dilution of solutions with NaCl (from 1 mg/mL to 10 µg/mL) was required to enable the dosage method.

150 AT-Closed[®] vials were stored upside-down to guarantee contact between the stopper and the solution to determine the impact of the stopper on the stability of the preparation. The other vials were stored upright.

According to the nature of the molecule and respecting SFPC/GERPAC and International Council of Harmonization (ICH) Guidelines,²⁷ three storage conditions were tested for each container (syringes, upright vials and upside down vials) over 365 days: - 20°C ± 5°C, + 5°C ± 3°C and + 25 °C ± 2°C with 60% ± 5% relative humidity (RH). Each syringe or vial was used for only one analysis.

Chromatographic apparatus and conditions. Measures were made on an ultra-fast liquid chromatographic (UFLC) systemⁿ coupled with a UV detector. The wavelength was optimized between 220 and 254 nm³⁵ and was finally set at 235 nm in order to obtain the best sensibility. This system was equipped with a column^o maintained at + 25°C. A mobile phase A/B 65:35 (v/v) with isocratic elution (0.2 mL/min) was used. The mobile phase consisted of [A] 20mM acetate buffer/trichloroacetic acid, pH adjusted at 3.00 and [B] acetonitrile. An injection volume of 5 µL was used for all analyses. Data acquisition, peak interpretation and calibration were performed using ChemStation[®] software^p.

Validation method. The calibration curves were established by plotting the peak area ratios of the analytes to IS versus the concentration ratios of the analytes. An analysis of variance (ANOVA) of the linear regression data was performed to assess the significance of the proposed method (P-value <0.05). If the non-linearity ANOVA test was significant, especially because of very low residual variance, the second degree polynomial test was applied. By verifying that the coefficient of the second degree was no different from 0, the Student t-test showed that linear adjustment was the adapted model. Intra-day precision and accuracy were assessed by making triplicate analyses of the samples on five levels (6, 8, 10, 12, and 14 µg/mL), and inter-day precision was evaluated by repeating the analyses on three consecutive days (n=9). Precision was determined with the coefficient of variation. Trueness was expressed through the recovery factor and accuracy, the sum of precision and trueness, was displayed as a graph, called “accuracy profile”. Accuracy profile was computed with a data risk of 5% and acceptance limits were fixed at ± 10%.

Forced degradation study. The specificity of the stability-indicating method was assessed by comparing the chromatograms of midazolam and diazepam quality control solutions with those obtained from forced degradation samples. Degradation of the molecule was provoked by submitting it to extreme conditions to obtain about 20% degradation²⁶:

- Dilution in HCl^q 0.1N for 10 mins at ambient temperature, then neutralization with NaOH^r 0.1N.
- Dilution in NaOH 0.1N for 10 mins at ambient temperature, then neutralization with HCl 0.1N.
- Dilution in 2.25% H₂O₂ solution^s for 90 mins at ambient temperature,
- Storage in a heated chamber at + 90°C, for 24 hours^t.

To guarantee the selectivity of the study, it was expected that the peaks of degradation products would have different retention times compared to those of midazolam and diazepam.

Stability profiles were drawn with GraphPad Prism 6 software^u.

Operating conditions for the stability study. Stability was controlled following SFPC/GERPAC recommendations²⁶ and ICH guidelines.²⁷ Midazolam stability was determined on days 0, 1, 2, 3, 4, 7, 14, 21, 28, 60, 90, 180, 270 and 365. At each time point, macroscopic observations were made and midazolam concentration was measured in three vials stored upright, in three vials stored upside down and in three syringes with high-performance liquid chromatography (HPLC) coupled with UV detection. Concentrations were expressed as percentages of the initial concentration prepared in the vials (C_t/C_0 , %). Midazolam hydrochloride was assumed to be stable if the concentration was > 90% of the initial concentration as no degradation product of midazolam is known to be toxic.

Sterility and particulate contamination were tested at the beginning and end of the stability study²⁶ according to the specifications of the European Pharmacopeia (EP) (sterility monograph 2.6²⁸ and particulate contamination: sub-visible particles monograph 2.9.19²⁹) to ensure that the prepared solutions complied with the quality parameters required for parenteral preparations.³⁰ Sterility was tested after membrane filtration^v of the samples. The filters were then incubated in a fluid thioglycolate medium at + 35°C and soya-bean digest casean medium for 14 days at + 22°C. Preparations (volume < 100mL) comply with the particulate contamination test (EP criteria) if the number of particles measured does not exceed 6,000 particles of sizes ≥ 10 μm /container and 600 particles of sizes ≥ 25 μm /container.

pH monitoring was assessed with a pH-meter^w for each time point. A non-parametric Kruskal–Wallis ($\alpha=0.05$) U-test was used to compare pH results for the three groups (upright vials, upside-down vials and syringes).

RESULTS

Validation assay and accelerated degradation. The retention time for midazolam and diazepam were 2.4 and 4.9 mins respectively (Figure 1A). The symmetry peak factor was acceptable according to EP criteria (Symmetry factor = 1.2, reference standards = [0.8-1.5]).³¹ The representative chromatograms of the degradation products are shown in Figure 1(B-E). A degradation product was eluted at 1.20 (± 0.02 , n=9) mins in both acid and basic conditions and was therefore considered as a unique compound. Oxidative degradation led to the formation of

two different degradation products, eluted respectively at 1.00 (± 0.00 , $n=2$) and 1.20 mins (± 0.01 , $n=6$). The one eluted at 1.20 mins had the same retention time as the degradation product identified in the acid-based degradation assay and was considered as the same compound, called degradation product A. The one eluted at 1.0 min was called degradation product B. No degradation product appeared to be formed under heating conditions (+ 90°C, 24 hours). The method was shown to be highly selective and without interference between the molecule (10 $\mu\text{g/mL}$) which was eluted at 2.4 (± 0.06 , $n=16$) mins and the degradation product or the IS (7.5 $\mu\text{g/mL}$) whose retention time was 4.9 mins.

Calibration results pointed out variance homogeneity (Cochran's test $C_{\text{exp}}=0.4426 < C_{(5\%;5;8)}=0.4564$) for midazolam. ANOVA demonstrated an excellent correlation between the ratio of peaks and concentrations ($F_{\text{exp}}=4.29 > F_{(5\%;3;36)}=2.87$) but showed nonlinearity ($F_{\text{exp}}=1507.16 > F_{(5\%;1;36)}=4.29$). With the second-degree polynomial test, it is clear that the coefficient of the second degree is not significantly different from 0 ($t_{\text{exp}}=1.37 < t_{(5\%;42)}=2.01$).

Concerning the qualification data for the HPLC-UV detection assay, performed within the range 6-14 $\mu\text{g/mL}$, the correlation coefficient was 0.984 with a slope of 0.126 ± 0.003 , an intercept of 0.040 ± 0.042 , a limit of detection of 1.11 $\mu\text{g/mL}$ and a limit of quantification of 1.21 $\mu\text{g/mL}$.

Accuracy profiles were validated at 95% with an acceptance limit of $\pm 10\%$. Precision results are presented in Table 1.

Table 1. Relative error, inter-day precision and total error for each calibration point.

Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	Relative bias (%)	Interday precision (%)	Total error (%)
6	-2.05	6.33	8.38
8	1.97	5.59	7.56
10	-2.63	4.68	7.32
12	4.53	4.69	9.22
14	-2.26	3.33	5.59

Trueness is represented by total error. The maximal total error obtained was 9.22% on the dosage range.

Our results testify that the linear adjustment method is reliable and adequate for the assessment of physicochemical midazolam stability based on selectivity, linearity, sensitivity, precision, and accuracy.

Physicochemical stability of midazolam in syringes, upright and upside-down vials. Results of the measured concentrations at the three storage conditions $-20\pm 5^{\circ}\text{C}$; $+5\pm 3^{\circ}\text{C}$ and $+25\pm 2^{\circ}\text{C}$ with $60\pm 5\% \text{RH}$ are presented on Figure 2 and summarized in supplementary Tables 2, 3, 4 respectively.

Table 2. Chemical stability results obtained for a 1 mg/mL midazolam solution stored in syringes, upright and upside-down vials at $-20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ for 365 days. (mean \pm SD, n= 3)

Days	Syringes		Upright vials		Upside down vials	
	Concentration (Ct/C0, %)	SD (%)	Concentration (Ct/C0, %)	SD (%)	Concentration (Ct/C0, %)	SD (%)
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

Table 3. Chemical stability results obtained for a 1 mg/mL midazolam solution stored in syringes, upright and upside-down vials at $+5\pm 3^{\circ}\text{C}$ for 365 days. (mean \pm SD, n= 3)

Days	Syringes		Upright vials		Upside down vials	
	Concentration (Ct/C0, %)	SD (%)	Concentration (Ct/C0, %)	SD (%)	Concentration (Ct/C0, %)	SD (%)
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

Table 4. Chemical stability results obtained for a 1 mg/mL midazolam solution stored in syringes, upright and upside-down vials at +25±2°C with 60±5% relative humidity during 365 days. (mean ± SD, n= 3)

Days	Syringes		Upright vials		Upside down vials	
	Concentration (Ct/C0, %)	SD (%)	Concentration (Ct/C0, %)	SD (%)	Concentration (Ct/C0, %)	SD (%)
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

Freshly prepared solutions were clear, without any visible particle and with an initial pH value of 3.40 ± 0.02 (mean ± SD, n= 3). Before storage (day 0), the number of particles of sizes $\geq 10 \mu\text{m}$ /container was 4.7 ± 0.6 and 67.7 ± 11.6 respectively for syringes and vials while the number of particles of sizes $\geq 25 \mu\text{m}$ was 0.0 ± 0.0 /syringe and 0.3 ± 0.6 /vial.

Throughout the stability study, no color modification, precipitation or visible particle appeared. At - 20°C and + 5°C, the midazolam solution remained stable until the end of the study. The concentrations of midazolam solutions after one year were $99.29 \pm 0.85\%$, $99.19 \pm 0.79\%$ when stored at - 20°C and $99.01 \pm 0.57\%$ and $97.89 \pm 0.51\%$, $97.95 \pm 1.25\%$ and $98.01 \pm 0.54\%$ when stored at + 5°C respectively for syringes, upright vials and upside-down vials. Results showed that, when stored in a controlled atmosphere (+ 25°C/60% RH), stability was maintained up to

day 90 in syringes ($92.71 \pm 1.43\%$) and day 180 in upright and upside-down vials (respectively $92.12 \pm 0.15\%$ et $91.57 \pm 0.15\%$).

On day 365, the number of particles per container $\geq 10 \mu\text{m}$ was 110 ± 42 , 43 ± 15 , 43 ± 13 and the number of particles $\geq 25 \mu\text{m}$ was 19 ± 13 , 14 ± 10 , 8 ± 3 respectively for syringes, upright vials and upside-down vials, when stored at -20°C . When stored at $+5^\circ\text{C}$, the number of particles counted on day 365 $\geq 10 \mu\text{m}$ was 50 ± 13 , 39 ± 8 , 46 ± 9 and the number of particles $\geq 25 \mu\text{m}$ was 11 ± 6 , 3 ± 3 , 4 ± 5 .

Finally, when stored at $+25^\circ\text{C}/60\% \text{RH}$, the number of particles counted at the deadline for stability was 18 ± 9 , 24 ± 7 , 11 ± 7 for particles $\geq 10 \mu\text{m}$ and 3 ± 3 , 0 ± 0 , 2 ± 4 for particles $\geq 25\mu\text{m}$.

Every vial and syringe retained their sterility until the deadline for physicochemical stability. After 365 days, pH was 3.45 ± 0.01 , 3.43 ± 0.01 , 3.44 ± 0.02 at -20°C and 3.52 ± 0.01 , 3.52 ± 0.01 , 3.49 ± 0.02 at $+25^\circ\text{C}/60\% \text{RH}$ respectively in syringes, upright and upside-down vials. Finally, pH was 3.45 ± 0.01 in every container after 365 days at $+5^\circ\text{C}$. The pH values were not significantly modified from their initial ones [in all comparative conditions, $p \geq 0.1$, $n=3$] during our stability-indicating HPLC-UV assay.

DISCUSSION

A stability-indicating HPLC-UV method to determine the chemical stability of injectable hydrochloride midazolam solutions has been developed and validated. The results of the study indicate that a midazolam solution of 1 mg/mL prepared by diluting $50 \text{ mg}/10\text{mL}$ commercial midazolam in $0.9\% \text{ NaCl}$ is stable for 365 days at -20°C and $+5^\circ\text{C}$ when stored either in PP-syringes or in COC-vials and, at $+25^\circ\text{C}/60\% \text{RH}$, for 90 days in PP-syringes and 180 days in COC-vials.

This is the first study to evaluate the stability of 1 mg/mL ready-to-use midazolam solutions in COC-vials and in PP-syringes.

The storage of a frozen 1 mg/mL , ready-to-use, injectable midazolam solution has not yet been assessed and reported. Even though maximum stability should theoretically be achieved through freezing, the problem of defrosting conditions remains, 4 hours at room temperature in our study. Several studies have validated the use of microwaves for defrosting.³²⁻³⁴

At +5°C, midazolam remained stable for 365 days in both containers, whatever the vial position (upright or upside down). Several studies have already evaluated the stability of midazolam in similar storage conditions, diluted with 0.9% NaCl and packaged in PP-syringes, with a higher concentration and on a shorter period.¹⁰ Similar storage conditions have already been tested^{21,22}, but with polychloride vinyl bags as containers with stability maintained up to 30 days. A stability assay on 1 mg/mL midazolam stored at +5°C in polyolefin bags showed similar results.²²

In literature,^{10,11} stability was maintained for 10 days for 2 mg/mL solutions, 7 days for 3 mg/mL solutions and for 36 days when stored undiluted at 5 mg/mL at room temperature in PP-syringes.¹² None of these studies pursued analyses beyond the end-date originally envisaged. Long duration is therefore one of the strong points of this study.

The originality of our study lies in the use of AT-Closed[®] vials, commercial vials designed to be ready-to-fill and meeting the requirement criteria for pharmaceutical primary containers (United States Pharmacopeia (USP): USP 87–*in vitro* toxicity on cells for both vial body and stopper, USP 88 – *in vivo* toxicity for both vial body and stopper, USP 661–Physicochemical tests for the vial body; EP 3.1.3–polyolefin chemical test for the vial body, EP 3.2.9–chemical and mechanical tests for the stopper). Our results attest to midazolam stability duration being greater in COC AT-Closed[®] vials than in PP-syringes at room temperature (180 days versus 90 days). Our results suggest that contact with the stopper does not have any impact on the stability of a 1 mg/mL hydrochloride midazolam solution, since results were similar whatever the storage position of the vials. These results comply with the declared properties of AT-Closed[®] vials^{23–25} and contribute to favoring the use of COC-vials in hospital pharmacy practice.

The UFLC system providing high speed and selectivity in fast gradient enabled us to perform fast LC analyses appropriate for routine use. No stability-indicating HPLC-UV assays for midazolam detection and quantification reported in literature^{20,35–37} used an ultra-fast HPLC system to optimize the duration of analysis.

A unique compound was formed via the degradation of midazolam in acido-basic conditions. This is consistent with a previous study¹⁹ Bianchi *et al*³⁸ previously noted that, in acid conditions (pH neighboring 3.40), the closure of the aromatic cycle decreased, the chemical structure was more hydrophilic and soluble and the risk of interaction with the polymer was minimized.³⁸ The structure of this degradation product is a benzophenone open ring, first detected by Andersin *et al*.³⁹

It is believed that the closed-ring form of benzodiazepines is the only pharmacologically active form. However, no published study support any possible toxicity of the open-ring form.⁴⁰

Neutralization of the basic medium by HCl during the degradation study could be responsible for the formation of this product as its formation is described mainly in acid conditions in literature³⁹⁻⁴² and as the authors who described the formation of an open-ring degradation product under basic conditions, also neutralized their degradation samples.¹⁹

Degradation products obtained in oxidative conditions are consistent with the results of Feng *et al.*¹⁹

A degradation product was detected from day 90 in PP-syringes and day 180 in AT-Closed[®] vials 180 when stored at +25°C/60% RH and was eluted at 1.22 and at 1.16 mins respectively. According to elution time, it was identified as the open-ring hydrolytic product of midazolam. Higher pH-values were noted when stored at ambient temperature with values reaching 3.53 ± 0.01 in PP-syringes and 3.51 ± 0.01 in COC-vials at ambient temperature while they did not exceed 3.48 ± 0.01 when stored either frozen or at +5°C. This suggest that an insignificant modification in pH-value might induce the hydrolysis of the closed-ring form.

An inter-laboratory assay would be a worthwhile follow-up to assess the reproductibility of our method.

The use of COC-vials confers many advantages. It is an innovating process for hospital pharmacies and requires technological equipment, good manufacturing processes and a time-demanding organization. During the study period, we didn't encounter a loss of stability when midazolam was stored at +5°C and -20°C whatever the container. So, we never determined a beyond use date for these two storage conditions. However, analyses were not pursued beyond the date initially planned for the study as a 365-day period is adapted to our routine use.

CONCLUSION

A 1 mg/mL injectable midazolam solution has been shown to be stable for at least one year when stored at - 20°C and + 5°C in PP-syringes or in COC-vials. When stored at room temperature, it is stable for 90 days in PP-syringes and 180 days in COC-vials. Thanks to this long-term stability, the preparing of ready-to-use solutions by the hospital pharmacy is compatible with routine practice and should help to decrease the risks involved in multiple dilutions in ICUs.

DISCLOSURES

The authors have declared no potential conflicts of interest.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Alexandra Tavernier (M.A. University of Glasgow, Professeur Agrégée, France) for English language and editing assistance.

FOOTNOTES

- a Hydrochloride midazolam injection (50mg/10mL), Mylan, Paris, France, lot F30631.
- b Ultra-pure water, ELGA LabWater, Antony, France.
- c Sterile 0.9% NaCl solution (Viaflo), Baxter, Maurepas, France, lot 16F28G60.
- d Midazolam standard reference, Sigma Aldrich Chimie, Saint Quentin Fallavier, France, lot 001WA4.
- e Diazepam, Cooper, Melun, France, lot 11120133A.
- f Sodium acetate trihydrate, Merck, Fontenay-sous-Bois, France.
- g Trichloroacetic acid, Merck, Fontenay-sous-Bois, France.
- h Acetonitrile HiPerSolv Chromanorm, Fontenay-sous-Bois, France.
- i Absolute ethanol, VWR International, Fontenay-sous-Bois, France.
- j 50 mL polypropylene luer-lock syringes, Plastipak™, ref: 300865, Becton Dickinson, Le Pont de Claix, France.
- k 50mL-AT-Closed® vials, Aseptic Technologies, Gembloux, Belgium.
- l M1 Filling Station, Aseptic Technologies, Gembloux, Belgium.
- m Peristaltic pump, Flexicon Pump PF6, Watson Marlow, La Queue Lez Yvelines, France.
- n Ultra-fast liquid chromatographic system, Agilent 1290 Infinity LC, Les Ulis, France.
- o Kinetex® Biphenyl (100 Å, 50*2.1 mm), Phenomenex, Le Pecq, France.
- p ChemStation® software, OpenLab CDS, version 01.05, Agilent, Les Ulis, France.
- q Hydrochloric acid 37%, Merck KGaA, Darmstadt, Germany
- r Hydroxide sodium, Cooper, Melun Cedex, France.
- s Hydrogen peroxide 10 vol., Laboratoire Gilbert, Hérouville Saint-Clair, France.
- t Heated chamber, Binder ED 115, Tuttlingen, Germany.
- u GraphPad Software Inc, La Jolla, CA, USA.
- v Membrane filtration, 0.45mm cellulose nitrate filter, Sartorius Stedim Biotech, Göttingen, Germany.
- w Hanna HI 223 pH Meter, Hanna Instrument, Michigan, USA.

KEY POINTS

The stability of ready-to-use 1mg/mL midazolam saline solution depends on the storage temperature and the type of containers.

The beyond-use-date of midazolam compounded in PP-syringes (90 days) is shorter than in COC-AT Closed® vials (180 days) when stored at ambient temperature.

The stability of ready-to-use 1mg/mL midazolam saline solution was maintained in PP-syringes and in COC-AT Closed® vials stored at -20°C and +5°C for 365 days.

REFERENCES

1. 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: Random and systematic medication errors. *Br J Clin Pharmacol.* 2001;52(5):573-577. doi:10.1046/j.0306-5251.2001.01490.x
2. Barber N, Taxis K. Incidence and severity of intravenous drug errors in a German hospital. *Eur J Clin Pharmacol.* 2004;59(11):815-817. doi:10.1007/s00228-003-0689-9
3. Fahimi F, Ariapanah P, Faizi M, Shafaghi B, Namdar R, Ardakani MT. Errors in preparation and administration of intravenous medications in the intensive care unit of a teaching hospital: An observational study. *Aust Crit Care.* 2008;21(2):110-116. doi:10.1016/j.aucc.2007.10.004
4. Garnerin P, Pellet-Meier B, Chopard P, Perneger T, Bonnabry P. Measuring human-error probabilities in drug preparation: a pilot simulation study. *Eur J Clin Pharmacol.* 2007;63(8):769-776. doi:10.1007/s00228-007-0319-z
5. Selenic D, Dodson DR, Jensen B, Arduino MJ, Panlilio A, Archibald LK. Enterobacter cloacae bloodstream infections in pediatric patients traced to a hospital pharmacy. 2003;60:7.
6. Cousins DH, Gerrett D, Warner B. A review of medication incidents reported to the National Reporting and Learning System in England and Wales over 6 years (2005–2010). *Br J Clin Pharmacol.* 2012;74(4):597-604. doi:10.1111/j.1365-2125.2011.04166.x
7. O'Hare JM, Shapiro MW, Creeden FV. Fatal reaction following intravenous 10 per cent dextrose. *Am J Surg.* 1953;85(5):658-663. doi:10.1016/0002-9610(53)90329-8
8. Dehmel C, Braune SA, Kreymann G, et al. Do centrally pre-prepared solutions achieve more reliable drug concentrations than solutions prepared on the ward? *Intensive Care Med.* 2011;37(8):1311-1316. doi:10.1007/s00134-011-2230-4

9. Valentin A, Capuzzo M, Guidet B, et al. Errors in administration of parenteral drugs in intensive care units: multinational prospective study. *BMJ*. 2009;338(mar12 1):b814-b814. doi:10.1136/bmj.b814
10. Stiles L, V. Allen L, Shelly J. P. Stability of deferoxamine mesylate, floxuridine, fluorouracil, hydromorphone hydrochloride, lorazepam, and midazolam hydrochloride in polypropylene infusion-pump syringes. *Am J Health Syst Pharm*. 1996;53(13):1583-1588.
11. Peterson G, Khoo B, Galloway J, Paterson J. A preliminary study of the stability of midazolam in polypropylene syringes. *Aust J Hosp Pharm*. 1991:115-118.
12. Pramart YV, Loucas VA, El-Rachidi A. Stability of midazolam hydrochloride in syringes and i.v. fluids. *Am Soc Health-Syst Pharm*. 1997;54:913-915.
13. Kanazawa H, Okada A, Igarashi E, et al. Determination of midazolam and its metabolite as a probe for cytochrome P450 3A4 phenotype by liquid chromatography–mass spectrometry. *J Chromatogr A*. 2004;1031(1-2):213-218. doi:10.1016/j.chroma.2003.12.039
14. Dostalek M, Macwan JS, Chitnis SD, Ionita IA, Akhlaghi F. Development and validation of a rapid and sensitive assay for simultaneous quantification of midazolam, 1'-hydroxymidazolam, and 4-hydroxymidazolam by liquid chromatography coupled to tandem mass-spectrometry. *J Chromatogr B*. 2010;878(19):1629-1633. doi:10.1016/j.jchromb.2010.04.001
15. Jabor VAP, Coelho EB, dos Santos NAG, Bonato PS, Lanchote VL. A highly sensitive LC–MS–MS assay for analysis of midazolam and its major metabolite in human plasma: Applications to drug metabolism. *J Chromatogr B*. 2005;822(1-2):27-32. doi:10.1016/j.jchromb.2005.05.011
16. Burhenne J, Halama B, Maurer M, et al. Quantification of femtomolar concentrations of the CYP3A substrate midazolam and its main metabolite 1'-hydroxymidazolam in human plasma using ultra performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem*. 2012;402(7):2439-2450. doi:10.1007/s00216-011-5675-y
17. Cvan Trobec K, Trontelj J, Springer J, Lainscak M, Kerec Kos M. Liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for simultaneous quantification of bisoprolol, ramiprilat, propranolol and midazolam in rat dried blood spots. *J Chromatogr B*. 2014;958:29-35. doi:10.1016/j.jchromb.2014.03.009
18. Eap ChinB, Buclin T, Hustert E, et al. Pharmacokinetics of midazolam in CYP3A4- and CYP3A5-genotyped subjects. *Eur J Clin Pharmacol*. 2004;60(4). doi:10.1007/s00228-004-0767-7
19. Feng et al. Characterization of degradation products of midazolam maleate by UHPLC–HR–IT–MSn and NMR. *Pharmazie*. 2017:73–80.
20. de Diego M, Godoy G, Mennickent S. Chemical stability of midazolam injection by high performance liquid chromatography. *J Sep Sci*. 2007;30(12):1833-1838. doi:10.1002/jssc.200700006

21. Bleasel M, Perterson G, Jestrinski K. Stability of midazolam in sodium chloride infusion packs. *Aust J Hosp Pharm.* 1993;23:260-260.
22. 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.* 2011;68(16):1537-1540. doi:10.2146/ajhp100413
23. AT-Closed Vial® | Aseptic Technologies - Safer & Easier Aseptic filling operations. <https://www.aseptictech.com/products/closed-vialr-0>. Accessed March 7, 2019.
24. Piringer O, Baner A. Cyclic Olefin Copolymer (COC).Plastic packaging: interactions with food and pharmaceuticals. *Weinh Chichester.* 2008:37-38.
25. Feutry F, Simon N, Genay S, 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.* 2016;42(1):166-174. doi:10.3109/03639045.2015.1038273
26. SFPC (French Society of Clinical Pharmacy) and GERPAC (Evaluation and Research Group on Protection in Controlled Atmospher). SFPC, GERPAC, Methodological guidelines for stability studies of hospital pharmaceutical preparations, Part I : Liquid preparations. http://www.gerpac.eu/IMG/pdf/guide_stabilite_anglais.pdf. Accessed March 2, 2019.
27. ICH Working Group. ICH (International Conference on Harmonisation), Harmonise tripartite guideline - Stability testing of new drug substances and products Q1A (R2), Step 4 version. In : ; 2003:1041-1054. doi:10.1163/ej.9789004163300.i-1081.897
28. European directorate for the quality of medicines : 2.6.1. Sterility. In European Pharmacopeia 9.6 éd. 01.2019. <http://online.pheur.org/EN/entry.htm>.
29. European directorate for the quality of medicines : 2.9.19. Particulate contamination: sub-visible particles. In European Pharmacopeia 9.6 éd. 01.2019. <http://online.pheur.org/EN/entry.htm>. Accessed March 7, 2019.
30. European Pharmacopoeia 9.8, Parenteral Preparations Monograph, 04/2015:0520. <http://online.pheur.org/EN/entry.htm>. Accessed April 8, 2019.
31. European Pharmacopeia 9.2 : 2.2.46. Chromatographic separation techniques. 07/2016:20246. <http://online.pheur.org/EN/entry.htm>.
32. 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.* 2005;39(10):1654-1658. doi:10.1345/aph.1G194
33. 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.* 2015;73(6):436-441. doi:10.1016/j.pharma.2015.04.009
34. Hecq J-D, Jamart J, Galanti L. Microwave freeze-thaw treatment of dose-banded cytotoxic injectable drugs: A review of the literature from 1980 to 2011. *Ann Pharm Fr.* 2012;70(4):227-235. doi:10.1016/j.pharma.2012.04.003

35. Hagan R, Jacobs L, Pimsler M, Merritt G. Stability of midazolam hydrochloride in 5% dextrose injection or 0,% sodium chloride injection over 30 days. *Am J Hosp Pharm.* 1993;2379-2381.
36. Steedman S, Koonce J, Wynn J. Stability of midazolam hydrochloride in a flavored, dye-free oral solution. *Am J Hosp Pharm.* 1992;(49):615-618.
37. Walker SE, Grad HA, Mayeri A. Stability of Parenteral Midazolam in an Oral Formulation. *Anesth Prog.* 1997:6.
38. Bianchi C, Airaudò 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.* 1992;17(4):223-227.
39. Andersin R. Solubility and acid-base behaviour of midazolam in media of different pH, studied by ultraviolet spectrophotometry with multicomponent software. *J Pharm Biomed Anal.* 1991;9(6):451-455.
40. Shityakov S, Sohajda T. Ionization states, cellular toxicity and molecular modeling studies of midazolam complexed with trimethyl- β -cyclodextrin. *Molecule.* 2014:16861-16876.
41. Mathiron D, Marçon F, Dubaele J, Cailleu D, Pilard S, Djedaïni-pilard F. Benefits of Methylated Cyclodextrins in the Development of Midazolam Pharmaceutical Formulations. *J Pharm Sci.* 2013;102(7):2102-2111. doi:10.1002/jps.23558
42. Marçon F, Mathiron D, Pilard S, Lemaire-Hurtel A-S, Dubaele J-M, Djedaini-Pilard F. Development and formulation of a 0.2% oral solution of midazolam containing γ -cyclodextrin. *Int J Pharm.* 2009;379(2):244-250. doi:10.1016/j.ijpharm.2009.05.029

FIGURES CAPTIONS AND LEGENDS

Figure 1. Chromatograms of the degradation products. mAU indicates milliabsorbance units.

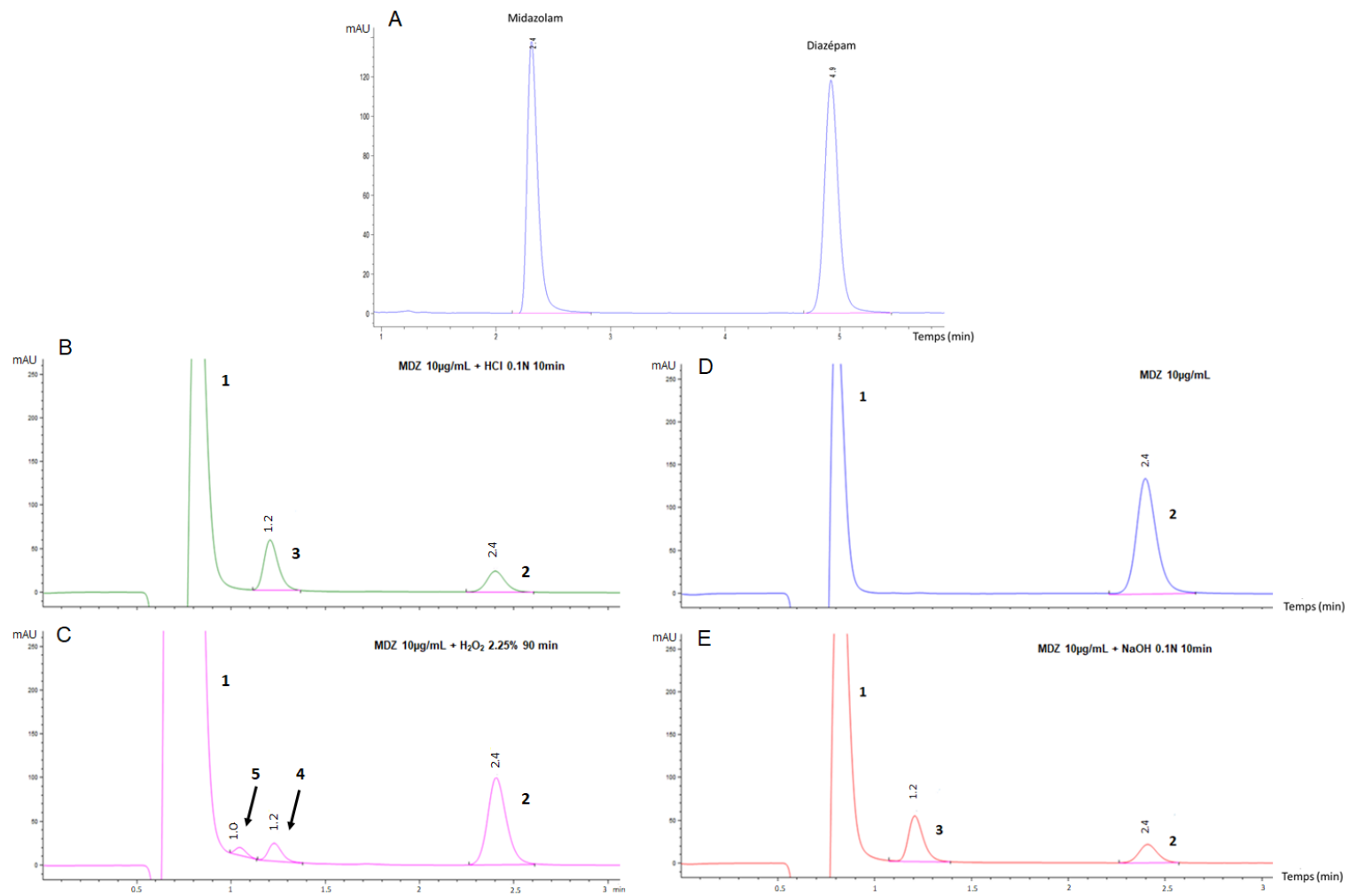
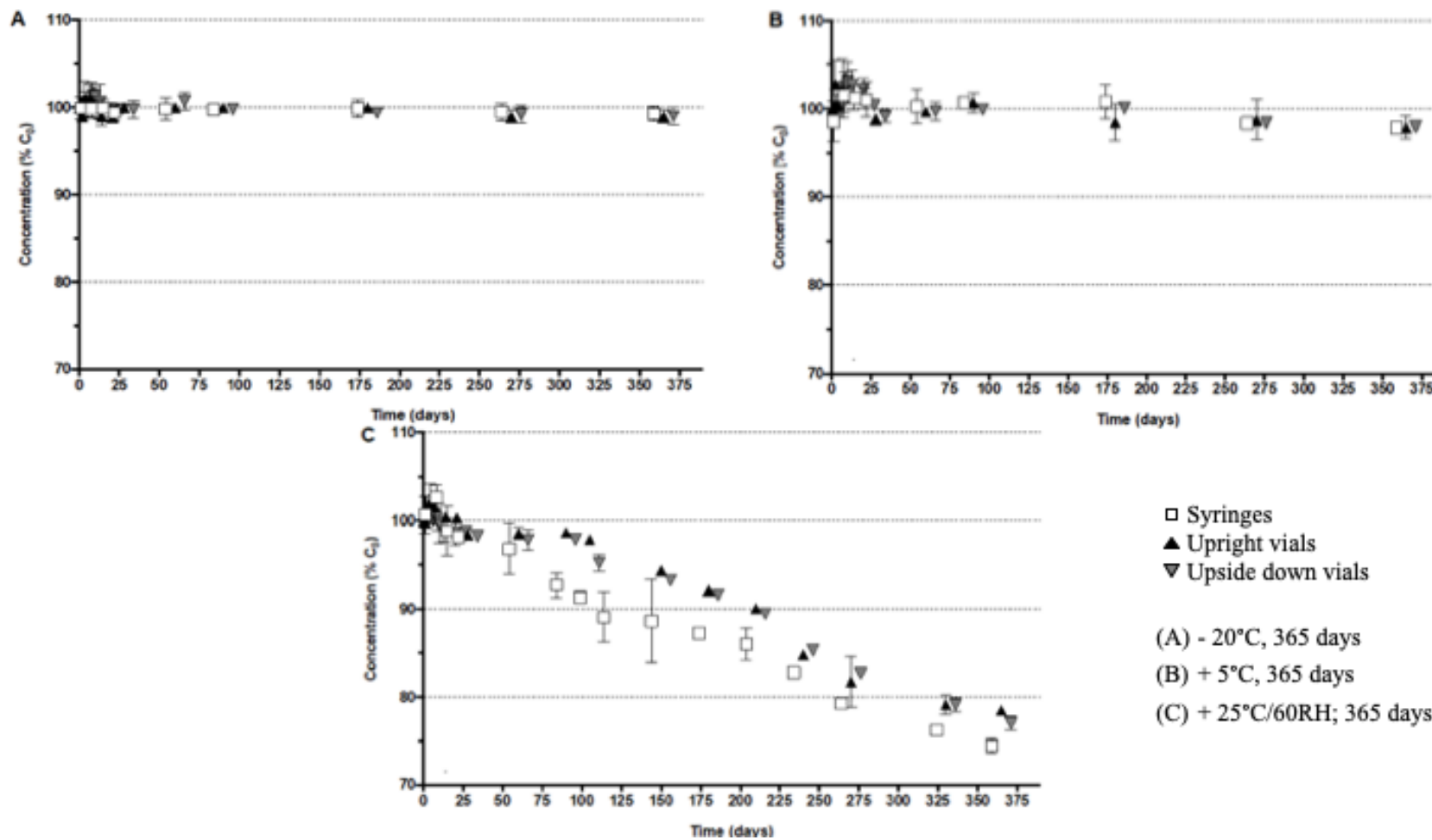


Figure 2. Measured midazolam concentrations under the 3 storage conditions.



2.4.2. L'étude de stabilité sur le long terme de la noradrénaline à 0,2 et 0,5 mg/mL dans des flacons de COC et des seringues en PP.

2.4.2.1. Contexte et objectif

La noradrénaline est un vasopresseur administré pour traiter l'hypotension et les chocs vasoplégiques dans les unités de soins intensifs et de réanimation.

En France, les spécialités commerciales injectables contenant de la noradrénaline bitartrate disponibles sont :

- Des flacons de 50 mL à une concentration de 0,5 et 1 mg/mL
- Des flacons de 4 ou 8 mL à une concentration de 2 mg/mL.

Les monographies des produits recommandent de diluer les solutions à 0,5, 1 et 2 mg/ml avec du G5% ou du NaCl 0,9%^[107].

La stabilité de la noradrénaline diluée dans du NaCl 0,9% ou du G5% aux concentrations de 0,2 mg/mL et 0,5 mg/mL et stockées dans des seringues en PP ou des flacons en COC n'avait jamais été évaluée avant notre étude.

L'objectif de cette deuxième étude était d'évaluer la stabilité sur le long terme de solutions injectables de noradrénaline à 0,2 et 0,5 mg/mL prêtes à l'emploi diluées dans du NaCl 0,9% ou du G5% dans des seringues en PP et des flacons de COC et conservées pendant 365 jours à $-20\pm 5^{\circ}\text{C}$; $+5\pm 3^{\circ}\text{C}$ et $+25\pm 2^{\circ}\text{C}$ avec $60\pm 5\%$ d'humidité relative.

2.4.2.2. Résultats et conclusion

Une méthode indicatrice de stabilité CLHP-UV a été développée et validée en conformité avec les référentiels en vigueur^[66,109].

Les résultats ont montré que la stabilité chimique est maintenue pendant la période d'étude de 365 jours pour les solutions de noradrénaline à 0,2 mg/mL et les solutions de noradrénaline à 0,5 mg/mL quel que soit le contenant lorsque la température de stockage était de $-20^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$ et de $+5\pm 3^{\circ}\text{C}$.

Une perte de stabilité physico-chimique a été observée avant la fin de l'étude pour les autres conditions testées, se traduisant par une diminution de la concentration de

noradrénaline en solution ou l'apparition d'une coloration visible à l'œil nu, observée notamment pour les flacons et seringues conservés à la température ambiante de +25°C.

Les résultats de cette étude sont résumés dans les Figures 18 et 19.


















Stabilité sur le long terme de la noradrénaline diluée à 0,2 mg/mL avec du NaCl 0,9%							
NaCl 0,9%	Stabilité chimique	Particules visibles/ coloration	Particules non visibles	pH	Osmolarité	Stérilité	Stable pendant
 conservés à l'endroit Flacons COC 50 mL	 $+25^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$	 330 jours	✓	✓	✓	✓	330 jours
	 $+5^{\circ}\text{C}\pm 3^{\circ}\text{C}$	✓	✓	✓	✓	✓	365 jours
	 $-20^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$	✓	✓	✓	✓	✓	365 jours
 Seringues PP 50 mL	 $+25^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$	150 jours	✓	✓	✓	✓	150 jours
	 $+5^{\circ}\text{C}\pm 3^{\circ}\text{C}$	✓	✓	✓	✓	✓	365 jours
	 $-20^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$	✓	✓	✓	✓	✓	365 jours
 conservés à l'endroit Flacons COC 20 mL	 $+25^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$	180 jours	✓	✓	✓	✓	330 jours
	 $+5^{\circ}\text{C}\pm 3^{\circ}\text{C}$	✓	✓	✓	✓	✓	365 jours
	 $-20^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$	✓	✓	✓	✓	✓	365 jours
 Seringues PP 20 mL	 $+25^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$	180 jours	✓	✓	✓	✓	180 jours
	 $+5^{\circ}\text{C}\pm 3^{\circ}\text{C}$	✓	✓	✓	✓	✓	365 jours
	 $-20^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$	✓	✓	✓	✓	✓	365 jours

Figure 18 - Résultats de l'étude de stabilité physico-chimique et microbiologique de la noradrénaline diluée à 0,2 mg/mL avec du NaCl 0,9% dans des seringues en polypropylène et des flacons en copolymère oléofine cyclique conduite pendant 365 jours (production originale, créée avec BioRender.com). Légende : COC, copolymère oléofine cyclique, PP, polypropylène.














Stabilité sur le long-terme de la noradrénaline diluée à 0,5 mg/mL avec du NaCl 0,9%								
		Stabilité chimique	Particules visibles/coloration	Particules non visibles	pH	Osmolarité	Stérilité	Stable pendant
 conservés à l'endroit	 +25°C±2°C	✓	✓	✓	✓	✓	✓	365 jours
	 +5°C±3°C	✓	✓	✓	✓	✓	✓	365 jours
	 -20°C±5°C	✓	✓	✓	✓	✓	✓	365 jours
 conservés retournés	 +5°C±3°C	✓	✓	✓	✓	✓	✓	365 jours
	 -20°C±5°C	✓	✓	✓	✓	✓	✓	365 jours
	 -20°C±5°C	✓	✓	✓	✓	✓	✓	365 jours
 Seringues PP 50 mL	 +25°C±2°C	180 jours	✓	✓	✓	✓	✓	180 jours
	 +5°C±3°C	✓	✓	✓	✓	✓	✓	365 jours
	 -20°C±5°C	✓	✓	✓	✓	✓	✓	365 jours

Figure 19 - Résultats de l'étude de stabilité physico-chimique et microbiologique de la noradrénaline diluée à 0,5 mg/mL avec du NaCl 0,9% dans des seringues en polypropylène et des flacons en copolymère oléofine cyclique conduite pendant 365 jours (production originale, créée avec BioRender.com). Légende : COC, copolymère oléofine cyclique, PP, polypropylène.

Cette étude publiée dans *l'European Journal of Hospital Pharmacy*, est présentée ci-après (dernière version après correction des relecteurs et validation par l'éditeur)^[116].

Long-term stability of ready-to-use norepinephrine solution at 0.2 and 0.5 mg/mL

S. Gilliot¹, M. Masse¹, S. Genay¹, D. Lannoy¹, C. Barthélémy¹, B. Décaudin¹, P. Odou¹

¹ Univ. Lille, CHU Lille, EA 7365 - GRITA - Groupe de Recherche sur les formes Injectables et les Technologies Associées, F-59000 Lille, France.

Correspondence author: Gilliot Sixtine, Faculty of Pharmacy, University of Lille, Lille, France. sixtine.gilliot.etu@univ-lille.fr

Abstract

OBJECTIVES

Norepinephrine is a vasopressor frequently administered after dilution to treat hypotension and shocks in intensive care units. The stability of norepinephrine is known to be highly sensitive to storage conditions. Moreover, medication errors linked to the dilution step are frequent and may be deleterious for critically-ill patients especially in intensive care units. This study aimed to evaluate the stability of ready-to-use diluted norepinephrine solutions prepared at two target concentrations (0.2 and 0.5 mg/mL), according to the summary of product characteristics and stored for 365 days in two containers: AT-Closed® Cyclic-Olefin-Copolymer vials and polypropylene syringes.

METHODS

A fast reversed-phase liquid chromatography method coupled with a UV detector was developed to assess the chemical stability of norepinephrine solutions. Validation was conducted according to the linearity of the calibration ranges, selectivity, sensitivity, accuracy and precision. Dosage, sub-visible particle contamination, pH-monitoring and sterility assays were performed. Chemical stability was maintained if the measured concentration respected the lower limit of 90% of the initial concentration. Containers were stored at $-20\pm 5^{\circ}\text{C}$, $+5\pm 3^{\circ}\text{C}$ and $+25\pm 2^{\circ}\text{C}$ with $60\pm 5\%$ relative humidity in a dark closed enclosure.

RESULTS

Stability was successfully maintained for every concentration and container tested when stored at $-20\pm 5^{\circ}\text{C}$ and $+5\pm 3^{\circ}\text{C}$. In these storage conditions, particle contamination, pH-monitoring and sterility assay respected the required criteria. Chemical degradation and colouring of solutions appeared before the end of the one-year study period for most norepinephrine solutions stored at room temperature.

CONCLUSIONS

Ready-to-use solutions containing 0.2 and 0.5 mg/mL norepinephrine in polypropylene-syringes or Cyclic-Olefin-Copolymer-vials must be stored at refrigerated or frozen temperatures to obtain acceptable one-year shelf-stability. Exposure to higher temperatures significantly decreases shelf-stability. Our study protocol for compounding polypropylene-

syringes and Cyclic-Olefin-Copolymer-vials containing norepinephrine is adapted to implementation in centralised intravenous additive services.

Keywords: drug stability, intensive and critical care, intravenous administration, shelf life, validation analytical procedure.

KEY MESSAGES

- **What is already known on this subject**

Medication errors linked to the dilution step are frequent and may be deleterious for critically-ill patients especially in intensive care units.

The stability of NE is known to be highly sensitive to storage conditions.

Compounding in a hospital pharmacy avoids the dilution step in the ward by providing safe ready-to-use solutions.

- **What this study adds**

The storage of ready-to-use solutions containing 0.2 and 0.5 mg/mL NE in PP-syringes or COC-vials, at refrigerated ($+5\pm 3^{\circ}\text{C}$) or frozen temperatures ($-20\pm 5^{\circ}\text{C}$), in the dark, offers acceptable one-year shelf-stability.

Storage of ready-to-use solutions at higher temperatures ($+25\pm 2^{\circ}\text{C}$) significantly decreases the stability of NE solutions by up to 2 months when compounded in PP-syringes or 3 months in COC-vials.

COC-vials offer longer stability than PP-syringes for the storage of NE solutions.

Main text

INTRODUCTION

Norepinephrine (NE) is a vasopressor frequently administered to treat hypotension and shocks in intensive care units (ICUs).[1] In France, injectable bitartrate NE solutions are available at 0.5 and 1 mg/mL packaged in 50 mL vials and 2 mg/mL in 4 or 8 mL vials. The product monographs recommend diluting 0.5, 1 and 2 mg/mL solutions with 5% dextrose (D5W) or 0.9% sodium chloride (normal saline solution, NS). Medication errors linked to the dilution step are frequent and may be deleterious, especially for critically-ill patients in intensive care units.[2–5] Compounding in hospital pharmacies provides qualitative injectable solutions and avoids the dilution step in the ward.[6] The stability of NE is known to be highly sensitive to storage conditions[7] and the 365-day stability of 0.2 mg/mL and 0.5 mg/mL solutions of NE diluted in NS and stored in polypropylene (PP)-syringes or Cyclic Olefin Copolymer (COC)-vials has never been assessed before.[8–17]

The objective of this study was to evaluate the stability of two concentrations (0.2 mg/mL, 0.5 mg/mL) of NE diluted in NS and stored for 365 days at frozen ($-20\pm 5^{\circ}\text{C}$), refrigerated ($+5\pm 3^{\circ}\text{C}$) or room temperatures ($+25\pm 2^{\circ}\text{C}$) in two ready-to-use storage containers: PP-syringes and COC-vials.

METHODS

Products. NE standard reference used for the validation step was prepared based on the NE commercial solution (Noradrenaline Mylan 2mg/mL sans sulfites, Mylan, Paris, France). Phosphate buffer 20 mM, prepared with mono-potassium phosphate (Cooper, Melun, France) diluted in ultra-pure water (ELGA LabWater, Antony, France), 85% orthophosphoric acid and acetonitrile (VWR International, Fontenay-sous-Bois, France) were used for the mobile phase. Containers for the study were 20 and 50 mL PP syringes (Plastipak™, Becton Dickinson, Le Pont-de-Claix, France) and 20 and 50 mL-AT-Closed® vials (Aseptic Technologies, Gembloux, Belgium).

Containers. The AT-Closed® vials were designed to provide users with clean, hermetically closed, sterile, ready-to-fill and ready-to-use containers. Their body was made of COC and the stopper of thermoplastic elastomer. Mechanical resistance and high transparency are the two main characteristics of COC. The fully automated vial manufacturing process[18] ensures aseptic conditions and meets the required criteria defined for pharmaceutical primary containers in the United States Pharmacopeia (USP) : USP 87–*in vitro* toxicity on cells for both vial body and stopper, USP 88 – *in vivo* toxicity for both vial body and stopper, USP 661– Physicochemical tests for the vial body.

Standard solutions

Two calibration curves were made in triplicate using five levels of standards (Curve A: 0.12, 0.16, 0.20, 0.24, 0.28 mg/mL ; Curve B: 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7 mg/mL) based on the NE commercial solution (2 mg/mL) diluted in NS. Standards were injected into the system without dilution.

Solution preparations

Both concentrations were tested in different containers. The stability of 0.2 mg/mL NE solutions was tested in 20 mL and 50 mL containers: 150 syringes and 300 COC-vials of each volume. The stability of 0.5 mg/mL NE solutions was only tested in 50 mL containers: 150 syringes and 300 COC-vials. The PP-syringes were filled manually by two pharmacists. Stock solutions were prepared by diluting the commercial solution in NS plastic containers (Viaflo, Baxter, France), following the removal of excess NS solution. A needle-free medical device for administration (PCHIMX, Doran International, France) was used to fill the PP-syringes.

The COC-vials were filled through an M1 Filling Station (Aseptic Technologies, Gembloux, Belgium) connected to a peristaltic pump (Flexicon Pump PF6, Watson Marlow, La Queue Lez Yvelines, France).[19]

Storage conditions

Half of the COC-vials were stored upright and the other half upside-down. The objective of upside-down storage was to evaluate the effect of the stopper on the stability of the preparation by ensuring contact between the NE solution and the stopper throughout the study period.

All PP-syringes and COC-vials were stored in the dark, in hermetically closed enclosures at $-20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$, $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ and $+25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ with $60\% \pm 5\%$ relative humidity (RH). Frozen sample were defrosted for 4 hours at room temperature just before chromatographic analysis. Each vial and each syringe was used once for analysis without dilution.

Chromatographic apparatus and conditions.

A reversed-phase fast liquid chromatography (FLC) system (Agilent[®] 1260 Infinity LC, Les Ulis, France) equipped with an Apollo C18 Alltech[®] column (5 μm , 250 mm x 4.6 mm, Grace, Epernon, France) maintained at $+25^{\circ}\text{C}$ coupled with a UV detector (1260 MWD DEAAZ00942) was used to measure NE concentrations. The wavelength was set at 279 nm [9]. Injection volume was 5 μL for all analyses. A mobile phase A/B 97/3 (v:v) with isocratic elution was used consisting of [A] 20 mM phosphate buffer/ orthophosphoric acid, pH adjusted at 2.5 and [B] acetonitrile. The flow-rate was fixed at 1 mL/min. ChemStation[®] software (OpenLab CDS, version 01.05) piloted the system.

Forced degradation study. Conditions to obtain about 20% of the initial amount of NE were:

- Acidic: Hydrochloric acid 1N, (VWR International) at room temperature for 30 minutes, then neutralisation with NaOH 0.01N (VWR International).
- Basic: NaOH 0.01N at room temperature for 30 minutes, then neutralisation with HCl 0.1N.
- Heat: storage in a heated chamber (Binder[®] ED 115, Tuttlingen, Germany) at $+70^{\circ}\text{C}$ for three days.
- Oxidative: H_2O_2 at 30% (Gilbert[®], Hérouville Saint-Clair, France) for one day.
- Light: exposure to UV-light (Mineralight Lamp UVSL-25, 24 watts, Ultra-violet products Inc, San Gabriel, California) for two days.

Once the forced degradation study was over, the degradation solutions were diluted with the mobile phase to a 0.5 mg/mL concentration before injection into the HPLC. The chromatogram of NE commercial solutions was compared with those obtained from the forced degradation solutions.

Dye ingress test.

A methylene blue (MB) test was performed in triplicate to assess the hermetic seal of each container filled with 50mL NS and stored at the three temperatures. After 365 days of storage, each container was submerged for two minutes in a bath of 1g/L MB solution at ambient temperature and atmospheric pressure. The examination of colouring was performed with unaided eye.

Operating conditions for the stability study. The stability-control process was conducted respecting International Council of Harmonisation (ICH-Q1A) guidelines [20] and SFPC/GERPAC recommendations.[21]

The stability of 0.2 and 0.5 mg/mL NE solutions was assessed at 14 time points (days 0, 1, 2, 3, 4, 7, 14, 21, 28, 60, 90, 180, 270, 365) by visual inspection, by measuring NE concentration and by pH monitoring. The particulate contamination test and sterility assay were performed at the beginning and end of the stability study.

The visual inspection analysis included colouring, transparency of the solution and formation of visible particles. Chemical stability was assumed to be maintained if no toxic degradation product was formed and if the measured concentrations were > 90% of the initial concentration and with no colour change.[21]

pH-values were measured in triplicate with a Hanna[®] HI 223 pH-meter (Hanna[®] Instrument, Michigan, USA) for all conditions.

The non-visible particulate contamination assay was performed using a light obscuration spectrometer, (APSS-2000, Particle Measuring System, Dourdan, France). The acceptance thresholds were fixed at 6,000 for particles of sizes $\geq 10 \mu\text{m}$ /container and 600 for particles of sizes $\geq 25 \mu\text{m}$ /container.[22] To conduct the sterility test, samples were filtered using membranes with a 0.45 μm cellulose nitrate filter (Sartorius Stedim Biotech, Göttingen, Germany), which were incubated at + 35°C in a fluid thioglycollate medium and at + 22°C in a soya-bean digest casein medium for 14 days.[23]

Statistical tests

For the calibration curves, we plotted the peak area obtained for the calibration solutions of NE versus the concentrations of NE contained in those solutions. The linearity of our method was assessed through a Cochran test with non-significant results followed by an analysis of variance (ANOVA).

Intra-day precision was assessed by analysing in triplicate samples prepared on the five concentration levels for the two calibration ranges ; inter-day precision by repeating the same analyses of the same samples on three consecutive days. The recovery factor was used to calculate accuracy and the coefficient of variation to evaluate the precision of the stability-indicating method. Total error was calculated as the sum of relative bias and inter-day precision.

The pH values obtained from storage in the three different containers were compared at Day 0 (n=3) and Day 365 (n=3) over the 27 different conditions (R software, version 3.6.1) using a non-parametric Wilcoxon test ($\alpha=0.05$).

RESULTS

Dye ingress test. According to the results (Supplementary data table 1), the seal of each container was assumed to be hermetic.

Forced degradation study. The representative chromatograms of the commercial 2 mg/mL NE solution diluted in NS at 0.5 mg/mL and those obtained from the degradation study are presented in Figure 1. NE was eluted at 3.2 ± 0.0 minutes with a symmetry peak factor respecting European Pharmacopeia (EP) criteria (Symmetry factor = 1.16, reference standards = [0.8-1.5]). Degradation under basic conditions led to the formation of a product eluted at 2.6 minutes while degradation under acid conditions yielded three products eluted at 3.6, 4.0 and 4.4 minutes. Dilution with H₂O₂ 30% led to the formation of two degradation products eluted at 4.1 and 6.6 minutes. Exposure to heat resulted in the formation of two degradation products (4.0 and 4.7 minutes). Exposure to UV-light revealed no degradation products. There was no interference between peaks of the NE and those of the degradation product.

Validation assay for both 0.2 and 0.5 mg/mL NE solutions. Validation data for the two calibration ranges is summarised in Table 1.

Table 1. Validation parameters for the two calibration ranges.

Parameters	Value	
NE Concentration target (mg/mL)	0.2	0.5
Range (mg/mL)	0.12 - 0.28	0.30 - 0.70
Cochran test		
• Experimental value ($\alpha=5\%;5;9$)	0.32	0.38
• Theoretical value	0.4387	0.4387
Correlation test (ANOVA)		
• Experimental value ($\alpha=5\%;1;36$)	5993	32504
• Theoretical value	4.11	4.11
Non-linearity test (ANOVA)		
• Experimental value ($\alpha=5\%;3;36$)	0.52	2.36
• Theoretical value	2.87	2.87
Regression coefficient		
• Slope	2415.220 \pm 29.154	2388.344 \pm 13.258
• Intercept (mg/mL)	2.833 \pm 7.151	17.181 \pm 8.157
Correlation coefficient	0.997	0.999
Limit of detection (mg/mL)	0.01	0.01
Limit of quantification (mg/mL)	0.02	0.02

According to these results, these two calibration ranges have high linearity. The accuracy and inter-day precision of both calibration ranges are presented in Table 2.

Table 2. Results of accuracy and inter-day precision for the two calibration ranges, A for the 0.2 mg/mL concentration, B for the 0.5 mg/mL concentration.

Calibration	Concentration (mg.mL ⁻¹)	Relative bias (%)	Inter-day precision (%)	Total error (%)	Accuracy (%)
A	0.12	1.09	5.63	6.72	101.09
	0.16	-0.62	3.35	3.98	99.38
	0.20	-0.39	1.29	1.68	99.61
	0.24	-0.02	2.10	2.12	99.98
	0.28	0.33	2.17	2.50	100.33
B	0.30	-0.44	1.47	1.91	99.56
	0.40	-0.07	0.40	0.46	99.93
	0.50	0.18	0.44	0.62	100.18
	0.60	-0.32	0.92	1.24	99.68
	0.70	-0.07	1.13	1.20	99.93

Concerning total error and accuracy, the results were within the expected limits (<10% and between 90 and 100%, respectively). Linearity, sensitivity, selectivity, precision and accuracy were successfully demonstrated for our physicochemical NE stability-indicating method.

Physicochemical stability of NE. Before storage, the prepared solutions were clear, without any visible particles. The pH values measured were 3.35 ± 0.03 (n=9) for 0.5 mg/mL and 3.60 ± 0.00 (n=9) for 0.2 mg/mL NE solutions.

At the end of the study period, solutions compounded in containers maintained at $-20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ and $+5 \pm 3^{\circ}\text{C}$ were clear, colourless and without any visible particles. However, a greyish-brown colouring appeared at Day 90 in PP-syringes and at Day 120 in COC-vials, for both concentrations stored at $+25^{\circ}\text{C}/60\% \text{RH}$.

The results obtained from the stability assay for every concentration, container and temperature condition tested are summarised in Figure 2.

Results showed that chemical stability was maintained over the 365-day study period for 0.2 mg/mL NE solutions and 0.5 mg/mL NE solutions whatever the container when the storage temperature was $-20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ and $+5 \pm 3^{\circ}\text{C}$. Stability was also maintained for 0.5 mg/mL solutions stored in upside-down and upright vials and 0.2 mg/mL NE solutions stored in upright 50 mL vials at $+25^{\circ}\text{C}/60\% \text{RH}$. However, stability after storage at $+25^{\circ}\text{C}/60\% \text{RH}$ was maintained until:

- Day 150 for 0.2 mg/mL NE solutions in 50 mL PP-syringes
- Day 180 for 0.2 mg/mL NE solutions in 20 mL PP-syringes.
- Day 330 for 0.2 mg/mL NE solutions in 50 mL upside-down vials, for 0.2 mg/mL solutions in 20 mL upside-down and upright vials.

Particle contamination, pH and sterility. Particle contamination at Day 0 reached the required EP criteria. This assay was not performed at Day 365 for containers stored at $+25^{\circ}\text{C}/60\% \text{RH}$ as solutions became coloured from Day 90 (syringes) or Day 180 (vials). The results for particle counting at Day 365 for containers stored at $-20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ and $+5 \pm 3^{\circ}\text{C}$ are summarised in Supplementary data table 2 and reached the limits determined by EP specifications.

pH-values measured at Day 0 and Day 365 are presented in Supplementary data table 3. No difference in pH values was noted between the beginning and end of the study (Wilcoxon test, $p > 0.05$).

Sterility remained constant throughout the study period whatever the container, the storage conditions and the NE concentrations (0.2 or 0.5 mg/mL) tested.

DISCUSSION

A stability-indicating HPLC-UV method to determine the physicochemical stability of NE bitartrate hydrochloride injectable solutions was successfully designed and validated. Our study showed that stability was maintained for 365 days in PP-syringes and COC-vials when stored at $-20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ and $+5 \pm 3^{\circ}\text{C}$.

The long-term stability of 0.2 and 0.5 mg/mL NE solutions diluted in NS in PP-syringes and ready-to-use-COC vials had not been investigated before. The closest in terms of study design assessed the stability of 0.1, 0.2, 0.4 and 0.04 mg/mL NE solutions in amber glass vials, and 0.01 mg/mL NE solutions diluted in D5W stored in 10 mL PP-syringes for 12 months at $+2-8^{\circ}\text{C}$ and ambient temperature.[15] Results were partly comparable with ours as the stability of 0.1, 0.2, 0.4 mg/mL solutions was maintained over the study period when stored refrigerated. However, NE injection solutions, 0.01 mg/mL in 10 mL PP-syringes, were seen to be stable for only 6 months when stored refrigerated and 28 days when stored at ambient temperature. Previous studies successfully assessed the stability of NE solutions over shorter periods [9–14], with storage at ambient [9,11–13] or refrigerated [9,14] temperatures, in polyvinyl chloride bags [9,11,13,14], PP-syringes [12], with dilution in NS [9,11] or D5W [9,11–14], exposed to [9,11,12] or protected from [9,12–14] light, with different NE concentrations. The NE commercial solution used for our stability assay was devoid of antioxidative stabilising agents.

The degradation pathways of catecholamines via their oxidative reaction responsible for colouring have been widely described.[24] Oxidation leads to the formation of noradrenochromes[15] which account for the greyish-brown colour. This oxidative process is catalysed by oxygen, heat, alkalinisation with a pH value > 6 , heavy metal ions, and exposure to UVs or daylight.[14,16,17] The analogues and metabolites of noradrenochromes have been reported as being neuro- and cardio-toxic in literature.[25] No acceptance limits have been

defined regarding the content of degradation products in current NE monographs.[26] In the chromatograms of the degraded solutions, we identified one peak corresponding to the formation of a degradation product at 4.0 ± 0.1 for a 0.2 mg/mL NE solution stored in 20 mL and 50 mL and two peaks corresponding to the formation of two degradation products at 3.8 ± 0.0 minutes and 4.3 ± 0.0 minutes for an NE solution stored in 50 mL. According to our forced degradation study, these peaks could be assimilated to the degradation compounds eluted at 3.6 and 4.4 minutes in acid conditions.

The sensitivity of catecholamine degradation to light has previously been shown[15,27] but it could not be responsible for the NE degradation in our study, as each container tested was stored in a closed enclosure. Other studies have assumed that the major determinant of the degradation process is pH.[16] Our initial pH values [3.30-3.60] were within the limits recommended.[27] As the degradation products identified in the degraded solutions were also identified in acid forced degradation conditions, a very slight variation in pH might be one of the factors catalysing the degradation process. Finally, many converging arguments have forced us to assume that temperature plays a major role in catalysing the degradation process of NE, as sub-visible particulate contamination was low when stored in frozen and refrigerated conditions while solutions stored at ambient temperature became coloured. The assumption that stability is prolonged with refrigerated or frozen storage had already been raised.[9,10] and many studies have successfully used freezing to lengthen drug stability. Protocols using microwaves for defrosting have also been published.

Our results also support the claim that COC-vials offer longer stability than PP-syringes since the colouring of solutions was delayed by one month when stored in the former.

The strong point of our study lies in the implementation of ready-to-use containers. The COC-vials provide an original design for a high-quality container [28] meeting the criteria of authority requirements for pharmaceutical primary containers. The safety and efficacy of COC-vials to maintain the long-term stability of injectable solutions have previously been demonstrated.[18] The counting of sub-visible particles is another strong point, as this was not performed in previous stability studies.[8–13,15–17]

Variability in solution concentrations prepared at patients' bedsides is a major issue.[3] This inter-operator variability can result in the administration of under- or over-concentrated solutions with adverse effects, especially in the case of high-risk medication. [15] Preparing

injectable solutions at the patient's bedside is also a microbiological challenge.[7] The centralised preparation of ready-to-use solutions would undeniably improve the security of parenteral administration but requires time-demanding organisation. To this end, fast methods of dosage need to be developed for routine use. Several methods with reversed-phase HPLC combined with UV detection have been developed in previous studies.[9] We also chose UVs to detect degradation products as the main degradation products of NE contain chromophores in their chemical structure, as previous studies have shown.[7] This method is compatible with routine practice and more common than other methods (i.e electrochemical detection [10,11] or photodiode array detection [12,15]).

The compounding of ready-to-use syringes and COC-vials raises the question of how a single-dose protocol in ICU services should be defined, as the prepared ready-to-use solutions are compounded to be administered as such. Analyses have not been pursued beyond the date originally envisaged for the end of the study as 365-day stability is sufficient to provide intensive care units with ready-to-use solutions in routine practice. During our assay, we did not seek to identify leachables and extractables from the COC as such tests have previously been performed and confirmed the low risk of COC packaging.[18] The PP-syringes in our study were not designed for aqueous drug storage although this practice is regular in ICUs. Our stability assay took place before the FDA alert to health care professionals not to administer compounded drugs stored in BD syringes (2015). More recently, BD has announced that it is no longer using material associated with a loss of drug potency, so that their syringes are now suitable for storing compounded drugs.[29]

CONCLUSIONS

Considering our results, ready-to-use solutions containing 0.2 and 0.5 mg/mL NE in PP-syringes or COC-vials need to be stored at refrigerated or frozen temperatures to have acceptable one-year shelf-stability. Exposure to higher temperatures significantly decreases shelf-stability. According to our study protocol, the compounding of PP-syringes and COC-vials containing NE is adapted to implementation in hospital pharmacies.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank Alexandra Tavernier (M.A. University of Glasgow, Professeur Agrégée, France) for English language and editing assistance.

COMPETING INTERESTS

None declared.

REFERENCES

- 1 Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, *et al.* Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2012. *Crit Care Med* 2013;41:580–637. doi:10.1097/CCM.0b013e31827e83af
- 2 Hedlund N, Beer I, Hoppe-Tichy T, *et al.* Systematic evidence review of rates and burden of harm of intravenous admixture drug preparation errors in healthcare settings. *BMJ Open* 2017;7:e015912. doi:10.1136/bmjopen-2017-015912
- 3 Stucki C, Sautter A-M, Wolff A, *et al.* Accuracy of preparation of i.v. medication syringes for anesthesiology. *Am J Health-Syst Pharm AJHP Off J Am Soc Health-Syst Pharm* 2013;70:137–42. doi:10.2146/ajhp110654
- 4 Dehmel C, Braune SA, Kreymann G, *et al.* Do centrally pre-prepared solutions achieve more reliable drug concentrations than solutions prepared on the ward? *Intensive Care Med* 2011;37:1311–6. doi:10.1007/s00134-011-2230-4
- 5 Valentin A, Capuzzo M, Guidet B, *et al.* Errors in administration of parenteral drugs in intensive care units: multinational prospective study. *BMJ* 2009;338:b814–b814. doi:10.1136/bmj.b814
- 6 Hecq J-D. Centralized intravenous additive services (CIVAS): the state of the art in 2010. *Ann Pharm Fr* 2011;69:30–7. doi:10.1016/j.pharma.2010.09.002
- 7 Hoellein L, Holzgrabe U. Ficts and facts of epinephrine and norepinephrine stability in injectable solutions. *Int J Pharm* 2012;434:468–80. doi:10.1016/j.ijpharm.2012.05.017
- 8 Baumgartner T, Knudsen A, Dunn A, *et al.* Norepinephrine stability in saline solutions. *Hosp Pharm* 1988;23:44,49,59.
- 9 Walker SE, Law S, Garland J, *et al.* Stability of Norepinephrine Solutions in Normal Saline and 5% Dextrose in Water. *Can J Hosp Pharm* 2010;63. doi:10.4212/cjhp.v63i2.896
- 10 Palazzolo DL, Quadri SK. Optimal conditions for long-term storage of biogenic amines for subsequent analysis by column chromatography with electrochemical detection. *J Chromatogr A* 1990;518:258–63. doi:10.1016/S0021-9673(01)93185-1
- 11 Tremblay M, Lessard MR, Trépanier CA, *et al.* Stability of norepinephrine infusions prepared in dextrose and normal saline solutions. *Can J Anesth Can Anesth* 2008;55:163–7. doi:10.1007/BF03016090

- 12 D'Huart E, Vigneron J, Clarot I, *et al.* Physicochemical stability of norepinephrine bitartrate in polypropylene syringes at high concentrations for intensive care units. *Ann Pharm Fr* 2019;77:212–21. doi:10.1016/j.pharma.2019.01.002
- 13 Peddicord T, Olsen K, ZumBrunnen T, *et al.* Stability of high-concentration dopamine hydrochloride, norepinephrine bitartrate, epinephrine hydrochloride, and nitroglycerin in 5% dextrose injection. *Am J Health-Syst Pharm* 1997;54:1417–9.
- 14 Allwood M. The stability of four catecholamines in 5% glucose infusions. *J Clin Pharm Ther* 1991;16:337–40.
- 15 Heeb RM, Stollhof B, Reichhold J, *et al.* Stability of Ready-to-Administer and Ready-to-Use Epinephrine and Norepinephrine Injection Solutions. *Pharm Technol Hosp Pharm* 2017;2:159–171. doi:10.1515/pthp-2017-0024
- 16 Newton DW, Fung EY, Williams DA. Stability of five catecholamines and terbutaline sulfate in 5% dextrose injection in the absence and presence of aminophylline. *Am J Hosp Pharm* 1981;38:1314–9.
- 17 Höllein L, Benack E, Holzgrabe U. Stabilität, Qualität und Analytik individueller Noradrenalin-Zubereitungen. *Krankenhauspharmazie* 2012;33:427–31.
- 18 Feutry F, Simon N, Genay S, *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* 2016;42:166–74. doi:10.3109/03639045.2015.1038273
- 19 Feutry F, Genay S, Velghe C, *et al.* Stability of midazolam and noradrenaline stored in cyclic olefin copolymer AT-Closed Vials® and polypropylene syringes during 365 days. *Pharm Technol Hosp Pharm* 2017;2. doi:10.1515/pthp-2017-0013
- 20 ICH Working Group. ICH (International Conference on Harmonisation), Harmonise tripartite guideline - Stability testing of new drug substances and products Q1A (R2), Step 4 version. 2003. 1041–54. doi:10.1163/ej.9789004163300.i-1081.897
- 21 SFPC (French Society of Clinical Pharmacy) and GERPAC (Evaluation and Research Group on Protection in Controlled Atmospher). SFPC, GERPAC, Methodological guidelines for stability studies of hospital pharmaceutical preparations, Part I: Liquid preparations.
- 22 European Pharmacopoeia Commission. 2.9.19 Particulate contamination: Sub-visible particles. *Pharmacopoeia 10th edition, july 2019*
- 23 European Pharmacopoeia Commission. 2.6.1 Sterility. *Pharmacopoeia 10th edition, july 2019*
- 24 Sokoloski TD, Higuchi T. Kinetics of Degradation in Solution of Epinephrine by Molecular Oxygen. *J Pharm Sci* 1962;51:172–7. doi:10.1002/jps.2600510220
- 25 Behrends A, Hardeland R, Ness H, *et al.* Photocatalytic actions of the pesticide metabolite 2-hydroxyquinoxaline: destruction of antioxidant vitamins and biogenic

- amines – implications of organic redox cycling. *Redox Rep* 2004;9:279–88. doi:10.1179/135100004225006759
- 26 Norepinephrine product monograph. European Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia 10th edition, July 2019
 - 27 Summary of product characteristics of norepinephrine 2003. <http://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/affichageDoc.php?specid=65104648&typedoc=N> (accessed 22 Oct 2019)
 - 28 AT-Closed Vial® | Aseptic Technologies - Safer & Easier Aseptic filling operations. <https://www.aseptictech.com/products/closed-vialr-0> (accessed 7 Mar 2019).
 - 29 FDA notifies health care professionals that Becton-Dickinson replaced problematic rubber stoppers in its syringes. *FDA Published Online First*: 2 September 2019. <http://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/fda-notifies-health-care-professionals-becton-dickinson-replaced-problematic-rubber-stoppers-its> (accessed 28 Oct 2019).

Figures captions et legends.

Figure 1. Representative chromatograms of (A) 0.5 mg/mL norepinephrine (NE) solution diluted in 0.9% NaCl, (B) 0.5 mg/mL NE solution diluted in 0.01N NaOH, (C) 0.5 mg/mL NE solution diluted in 1N HCl, (D) 0.5 mg/mL NE solution diluted in H₂O₂ 30%, (E) 0.5 mg/mL NE solution stored in a heated enclosure.

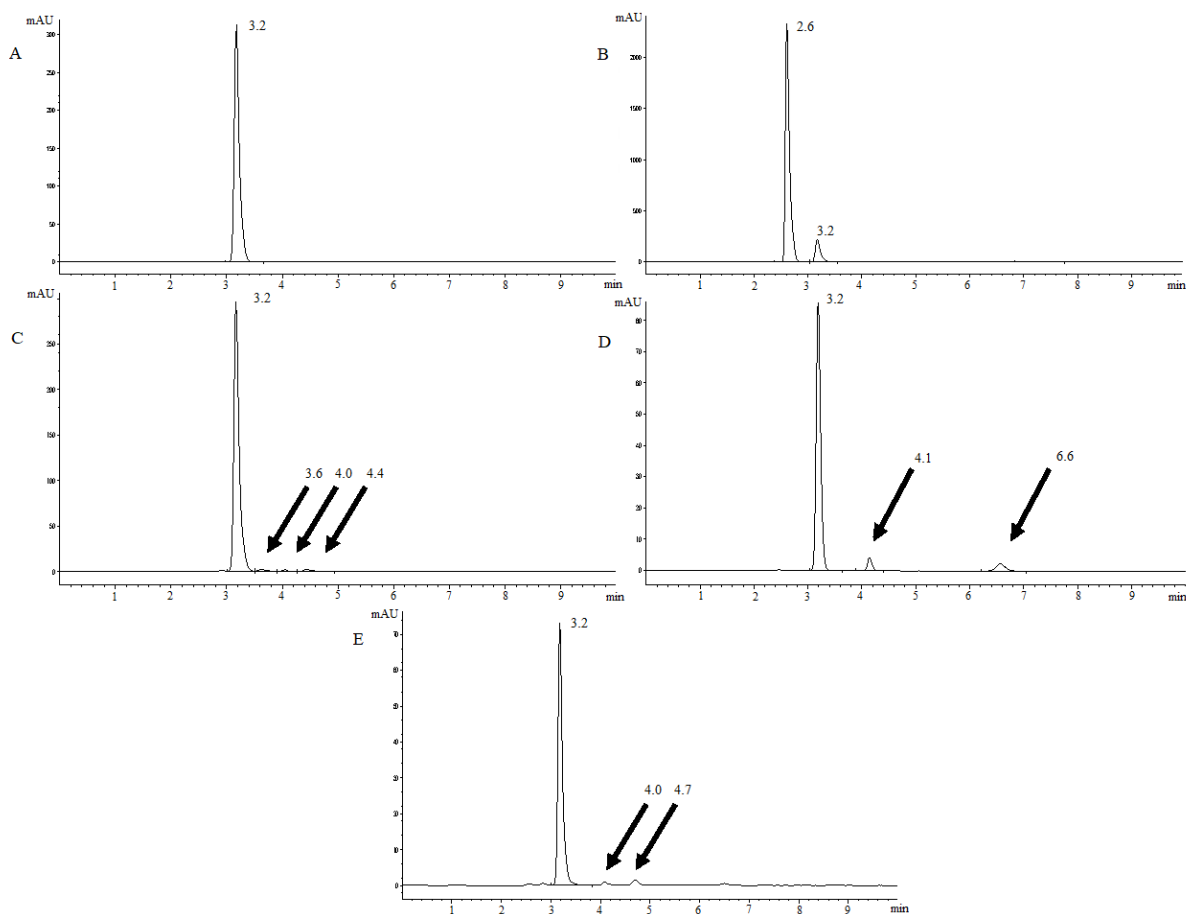
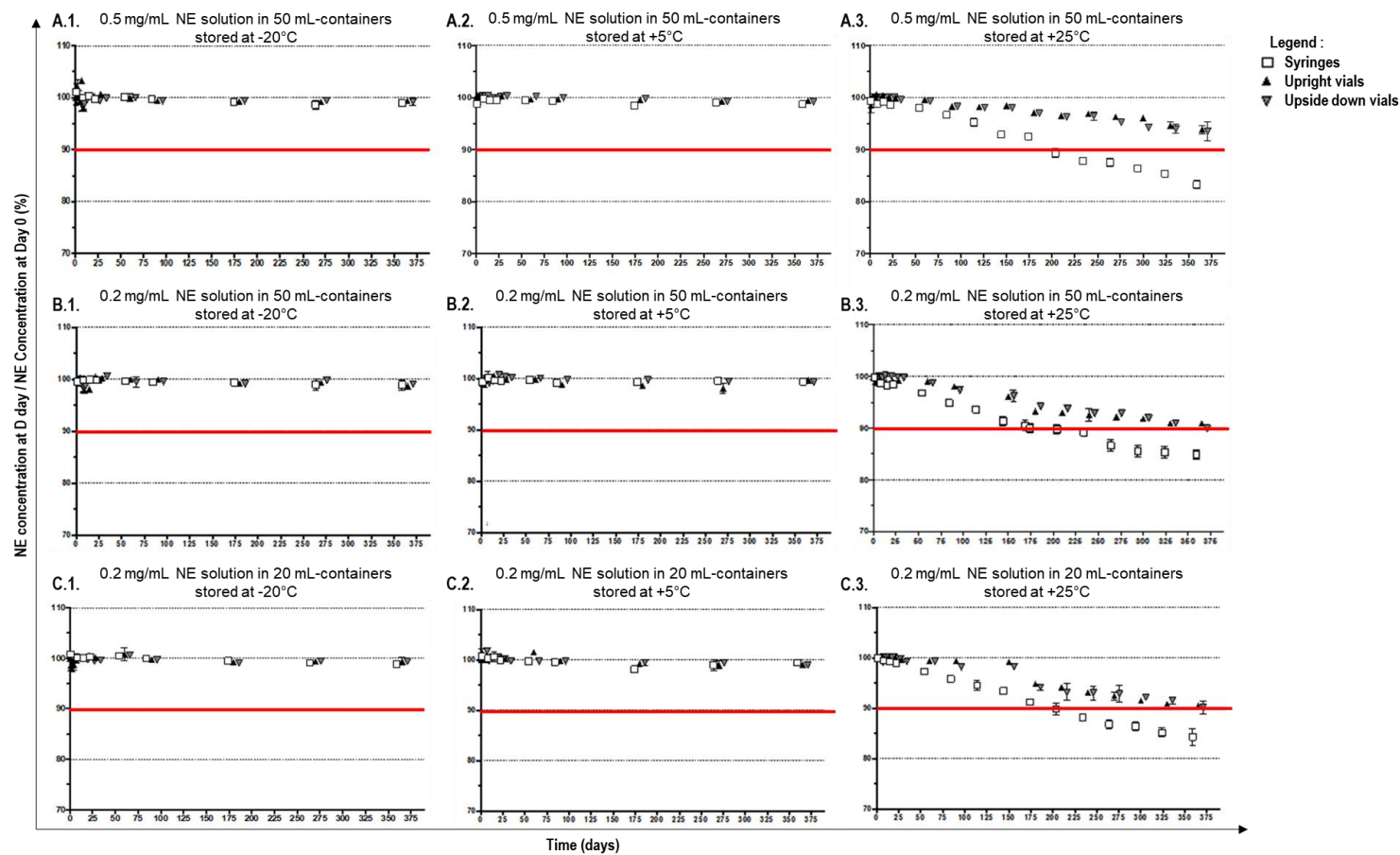


Figure 2. Results of the stability assay for 0.2 and 0.5 mg/mL norepinephrine (NE) solutions (n = 3).



2.4.3. L'étude de stabilité sur le long terme de la dobutamine à 10 mg/mL dans des flacons de COC et des seringues en PP.

2.4.3.1. Contexte et objectif

La dobutamine est un inotrope utilisé dans les chocs cardiogéniques ou septiques, ou dans les insuffisance cardiaques sévères. En France, les solutions injectables de dobutamine sont disponibles à 250 mg/20 mL conditionnées en flacons de verre. Les monographies de la dobutamine recommandent l'administration intraveineuse par perfusion continue de la solution commerciale diluée dans du G5% ou dans du NaCl 0,9%. Une dilution à une concentration cible de 10 mg/mL répond le plus souvent aux attentes des services de soins.

La stabilité des solutions de dobutamine prêtes-à-l'emploi conservées dans des seringues en PP a déjà été testée pendant plusieurs mois, mais la date limite d'utilisation n'a jamais été atteinte dans ces études^[117-119]. De plus, aucune étude portant sur la stabilité de la dobutamine conservée dans des flacons en COC n'a été publiée jusqu'alors.

Cette étude avait pour but d'évaluer la stabilité de solutions de dobutamine prêtes-à-l'emploi diluées dans du G5% ou du NaCl 0,9% à la concentration cible de 10 mg/mL et conservées dans des seringues en PP ou des flacons COC, à des températures congelées ($-20\pm 5^{\circ}\text{C}$), réfrigérées ($+5\pm 3^{\circ}\text{C}$) ou ambiantes ($+25\pm 2^{\circ}\text{C}$ avec $60\pm 5\%$ d'humidité relative).

2.4.3.2. Résultats et conclusion

Une méthode de dosage présentée a été développée et validée selon les référentiels choisis^[66,109].

La stabilité microbiologique et physico-chimique des solutions de 10 mg/mL de dobutamine préparées avec du G5% ou du NaCl 0,9% a été maintenue sur la période d'étude de 365 jours :

- dans les seringues en PP conservées à $+5^{\circ}\text{C}\pm 3^{\circ}\text{C}$

- dans les flacons en COC quelle que soit la température de stockage testée ($-20\pm 5^{\circ}\text{C}$, $+5\pm 3^{\circ}\text{C}$ et $+25\pm 2^{\circ}\text{C}$ avec $60\pm 5\%$ d'humidité relative).

Au cours de l'étude, une augmentation des particules non-visibles à $-20\pm 5^{\circ}\text{C}$, excédant les limites recommandées par la Ph. Eur. dans les seringues en PP a été observée (au deuxième mois puis à partir du sixième mois et jusqu'à la fin de l'étude pour les seringues stockées à -20°C et à partir du troisième mois pour les seringues stockées à $+25^{\circ}\text{C}$), indiquant la perte de la stabilité physique de la forme injectable alors que la stabilité chimique était maintenue jusque-là.

Par ailleurs, une perte de la stabilité chimique a été observée à partir du 9^{ème} mois pour les seringues en PP conservées à température ambiante.

Une légère coloration est apparue dans les flacons de COC stockés à température ambiante mais la concentration en dobutamine est restée au-delà de 90% de la concentration initiale tout au long de l'étude et aucun pic de dégradation n'a été détecté sur les chromatogrammes.

Les résultats de cette étude sont résumés dans la Figure 20.












Stabilité sur le long terme de la dobutamine diluée à 10 mg/mL avec du NaCl 0,9% et du Glucose 5%							
 G5% et NaCl 0,9%	Stabilité chimique	Particules visibles/ coloration	Particules non visibles	pH	Osmolarité	Stérilité	Stable pendant
 conservés à l'endroit	 +25°C±2°C	✓	✓	✓	✓	✓	365 jours
 conservés retournés	 +5°C±3°C	✓	✓	✓	✓	✓	365 jours
Flacons COC 50 mL	 -20°C±5°C	✓	✓	✓	✓	✓	365 jours
 G5% et NaCl 0,9%	Stabilité chimique	Particules visibles/ coloration	Particules non visibles	pH	Osmolarité	Stérilité	Stable pendant
 Seringues PP 50 mL	 +25°C±2°C	28 jours	✓	✓	✓	✓	28 jours
	 +5°C±3°C	✓	✓	✓	✓	✓	365 jours
	 -20°C±5°C	G5% 21 jours NaCl 0,9% 90 jours	✓	✓	✓	✓	G5% 21 jours NaCl 0,9% 90 jours

Figure 20 - Résultats de l'étude de stabilité physico-chimique et microbiologique de la dobutamine diluée à 10 mg/mL avec du NaCl 0,9% et du Glucose 5% dans des seringues en polypropylène et des flacons en copolymère oléofine cyclique conduite pendant 365 jours (production originale, créée avec BioRender.com). Légende : COC, copolymère oléofine cyclique ; G5%, glucose 5% ; PP, polypropylène.

Les résultats de cette étude nous conduisent à recommander une conservation de la dobutamine à 10 mg/mL à température réfrigérée et, si possible, dans du COC.

Cette étude publiée dans l'*European Journal of Hospital Pharmacy* est présentée ci-après (dernière version corrigée par les relecteurs et acceptée par l'éditeur)^[120].

Long-term stability of 10mg/mL dobutamine injectable solutions in 5% dextrose and normal saline solution stored in PP-syringes and COC-vials.

Sixtine Gilliot^{1*}, Héloïse Henry¹, Natacha Carta¹, Stéphanie Genay¹, Christine Barthélémy¹, Bertrand Décaudin¹, Pascal Odou¹

¹ Univ. Lille, CHU Lille, ULR 7365 – GRITA - Groupe de Recherche sur les formes Injectables et les Technologies Associées, F-59000 Lille.

Corresponding Author: Sixtine Gilliot¹, Univ. Lille, CHU Lille, ULR 7365 – GRITA - Groupe de Recherche sur les formes Injectables et les Technologies Associées, 3 rue du Professeur Laguesse, 59000, Lille. Email address: sixtine.gilliot.etu@univ-lille.fr

ABSTRACT

Objective.

Dobutamine is an inotropic agent given to patients with low cardiac output or undergoing cardiac surgery in intensive care units. In clinical routine, care protocols recommend a target dilution concentration of 10mg/mL dobutamine from the 250mg/20mL commercial solution.

This study aims to assess the one-year stability of ready-to-use 10mg/mL diluted dobutamine solutions. Two types of 50mL conditioning, polypropylene (PP)-syringes or Cyclic-Oleofin-Copolymer (COC)-vials and two diluents (5% dextrose, D5W and normal saline, NS) were tested.

Methods.

Reversed-phase liquid chromatography coupled with a UV detection stability-indicating method was developed for dobutamine and validated according to selectivity, linearity, sensitivity, accuracy and precision. Chemical stability was considered maintained if the measured concentrations were > 90% of the initial concentration with no colour change. Physical stability was assessed through sterility tests, pH- and osmolality- monitoring and subvisible particle-counting. Containers were stored at $-20\pm 5^{\circ}\text{C}$, $+5\pm 3^{\circ}\text{C}$ and $+25\pm 2^{\circ}\text{C}$ with $60\pm 5\%$ relative humidity in a dark closed environment.

Results.

According to this study, the physicochemical stability of 10mg/mL dobutamine solutions prepared with D5W or NS is constant throughout a 365-day period when stored in COC-vials, at all the above temperatures whereas solutions in PP-syringes required a refrigerated temperature and should not be administered after 21 days or 3 months when prepared with D5W or NS respectively, or after 1 month at ambient temperature whichever the diluent.

Conclusions.

Our results argue in favour of adopting the compounding of ready-to-use 10mg/mL dobutamine solutions in COC-vials in centralised intravenous additive services.

KEYWORDS

Drug stability, intensive and critical care, intravenous administration, validation analytical procedure.

KEY MESSAGES

- **What is already known on this subject**

Medication errors linked to the dilution step can be avoided by preparing ready-to-use injectable solutions in hospital pharmacies.

As dobutamine is a high-risk medication, a dilution error may be deleterious for critically ill patients.

- **What this study adds**

The stability of ready-to-use 10-mg/mL dobutamine solution depends on storage temperature, diluent and type of container.

The stability of ready-to-use 10mg/mL dobutamine solutions diluted in 5% Dextrose in Water (D5W) and 0.9% NaCl was maintained for 12 months in Cyclic-Oleofin-Copolymer at -20°C, +5°C and +25°C and in polypropylene-(PP)-syringes at +5°C.

In PP-syringes at -20°C and +25°C, the beyond-use delay was shorter: 21 days (D5W) and 3 months (0.9%NaCl) at -20°C, and 1 month at +25°C.

INTRODUCTION

Dobutamine is commonly used for patients experiencing cardiogenic or septic shocks, severe heart failure or undergoing cardiac surgery in intensive care units (ICUs)[1]. In France, injectable dobutamine solutions are available at 250mg/20mL packaged in glass vials.

Dobutamine monographs recommend intravenous administration by continuous infusion of the 250mg/20mL commercial solution diluted in either 5% dextrose (D5W) or normal saline solution (NS)[2]. Routine care protocols recommend a target dilution concentration of 10mg/mL. Previous studies have highlighted the risks incurred by this supplementary step when performed in the wards[3–5], for example high inter-variability of dobutamine concentrations and risk of infection [6,7]. Preparing ready-to-use 10mg/mL injectable dobutamine solutions in centralised intravenous additive services (CIVAS) would eliminate this step and reduce risks[8]. The stability of ready-to-use dobutamine solutions stored in plastic syringes has already been tested over several months, but the beyond-use-date (BUD) was never attained in those studies[9–11]. Other stability studies at various concentrations have been performed in PVC[12–18], PE[18] or glass[13,14,18] containers but over short periods.

Ready-to-use vials in Cyclic-Oleofin-Copolymer (COC) were specially designed to store injectable solutions[19]: their mechanical properties[20–22] offer far greater storage propensity than plastic syringes. Recent studies support the claim that COC-vials offer longer stability than PP-syringes for midazolam and norepinephrine ready-to-use solutions[21,23]. Freezing has never been tested before as a storage method to gain longer stability for ready-to-use dobutamine solutions, nor has the long-term stability of 10mg/mL dobutamine solution diluted in D5W and NS and stored in polypropylene (PP)-syringes or COC-vials.

This study aims to compare the stability of 10mg/mL ready-to-use dobutamine solutions stored in either PP-syringes or COC-vials and diluted in either D5W or NS and at frozen ($-20\pm 5^{\circ}\text{C}$), refrigerated ($+5\pm 3^{\circ}\text{C}$) or ambient temperatures ($+25\pm 2^{\circ}\text{C}$ with $60\pm 5\%$ relative humidity).

MATERIALS & METHODS

Products. A 250mg/20mL hydrochloride dobutamine commercial solution (Panpharma, Luitre, France) was compounded with excipients such as sodium metabisulfite, hydrochloric acid

(HCl) and water for injection. Hydrochloride dobutamine standard reference used for the validation step corresponded to the European pharmacopeia (EP) standard reference.

Products used to prepare the HPLC mobile phase were 0.1 mM sodium acetate buffer, prepared with sodium acetate trihydrate (Merck, Fontenay-sous-Bois, France), acetic acid (VWR International, Fontenay-sous-Bois) and ultrapure water (using a PURELAB® classic system, ELGA Véolia, Wasquehal, France), methanol (VWR International) and acetonitrile (VWR International).

Containers. COC-vials were 50mL AT-Closed® vials (batch: 0F10888156, reference: VIA-500000, Aseptic Technologies, Gembloux, Belgium) and PP-syringes were 50mL luer-lock syringes (batch: 1405208, reference:300865, Plastipak, Becton Dickinson, Le Pont-de-Claix, France).

COC-vials were designed especially for ready-to-use solutions[24] and filled via an M1 filling station (Aseptic Technologies, Gembloux) connected to a peristaltic pump (Flexicon Pump PF6, Watson Marlow, La Queue Lez Yvelines, France) as previously reported [20].

Chromatographic apparatus and conditions. Reversed-phase high-performance liquid chromatography combined with a UV detector method measured the concentrations. The system (Agilent® 1260 Infinity LC, Les Ulis, France) was equipped with a C18 column (Kinetex 5 µm, 150 x 4.6 mm, Phenomenex, Le Peck, France) maintained at +25°C. The wavelength of the UV detector (1260 MWD DEAAZ00942) was set at 280 nm according to the EP[25]. The mobile phase A/B/C 84/4/12% (v/v) with isocratic elution (1.8mL/min) was prepared with 0.1 mM sodium acetate buffer (EP) [A], pH adjusted to 4.0, methanol [B] and acetonitrile [C]. ChemStation® software (Openlabs CDS, version 01.05), was used for calibration, data acquisition and interpretation. Injection volume was 5µL throughout the study. All reagents were of analytical grade.

Stock solutions. Quality controls were prepared by dissolving hydrochloride dobutamine EP standard reference (20mg dobutamine hydrochloride CRS D2954000) in 10mL graduated flasks with D5W (Viaflo, Baxter, France, batch:17CL006) or NS (Viaflo, Baxter, France, batch: 17K06T4A) to obtain 2 mg/mL stock solutions. Calibration solutions were prepared by diluting stock solutions with D5W (Curve A) or NS (Curve B) to obtain eight different standard levels: 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1, 1.3, 1.5 mg/mL. The two calibration curves were traced in triplicate using these eight levels.

Forced degradation study. The selectivity of the method was based on comparing the chromatogram of the quality control dobutamine solution with the chromatograms obtained from the degradation study. The extreme conditions applied on the stock solution to obtain about 20% degradation of the initial amount of dobutamine were[26]:

- Dilution in 37% HCl for 6 hours at 80°C and 7 days at 80°C for D5W and NS respectively, then neutralised by NaOH
- Dilution in NaOH 0.05M for 30 min at ambient temperature, then neutralised by HCl
- Dilution in 30% (v/v) H₂O₂ for one day at 60°C
- Storage in a heated chamber at 80°C for 14 days.

Degradation solutions were then diluted with D5W or NS to a 1mg/mL target concentration prior to injection into the HPLC system.

Solution preparations. Injectable dobutamine solutions were prepared from the commercial 250mg/20mL (batch: 70210) solutions by diluting with D5W or NS to obtain a 10mg/mL dobutamine solution. These solutions were again diluted at 1/10 with D5W or NS before injection into the HPLC system.

Preparation and filling steps were executed in a controlled atmosphere (Laminar flow MaxiSafe 2020, Thermo Scientific, Saint Herblain, France). PP-syringes were manually prepared while the M1 Filling station was used to fill and seal the caps on COC-vials[20].

320 syringes and 640 vials were prepared for each dilution condition (D5W and NS).

Half of the vials were stored upright and the remaining half upside down to assess the role of the stopper in the potential loss of stability.

Each container was stored in a dark enclosure for 365 days.

Respecting the SFPC/GERPAC and the International Council of Harmonisation (ICH) Guidelines[26,27], three storage conditions were tested for each container (upright, upside-down vials, syringes) : -20°C±5°C, +5°C±3°C and 25°C±2°C with 60%±5% relative humidity (RH). Defrosting conditions for frozen containers were fixed at 4 hours' ambient temperature. A dye ingress test was successfully performed[21].

Operating conditions for the stability study. Stability was assessed at days 0, 7, 14, 21; months M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7, M8, M9, M10, M11, M12. Each syringe or vial was used once per analysis.

Visual inspection and measurement of dobutamine concentration were carried out at each time point. Visual inspection analysis targets the formation of visible particles, transparency, and colouring of the solution. Dobutamine concentration was measured using the HPLC-UV validated method. Chemical stability was assumed to be maintained if three criteria were met: no colour change, measured concentrations > 90% of the initial concentration and no formation of toxic degradation product.

pH monitoring and a non-visible particulate contamination assay were performed in triplicate at the beginning of the study and every month until the end of the study or until the date of the assumed loss of physicochemical stability. pH-values were measured using a Hanna® HI 223 pH-meter (Hann®Instrument, Michigan, USA). A light obscuration spectrometer (APSS-2000, Particle Measuring System, Dourdan, France) was used for the non-visible particulate contamination assay. Preparations met the required criteria if the number of particles was within the limits set by the EP for 50 mL-containers, i.e. a maximum of 6,000 particles of sizes $\geq 10 \mu\text{m}$ /container and 600 particles of sizes $\geq 25 \mu\text{m}$ /container[28].

Sterility assay and osmolality measurements were made in triplicate for each condition at the beginning and at each reported BUD or at Day 365 for solutions that had remained stable. The sterility test was made with the Müller Hinton medium (CM0405 OXOID, Thermo Fisher Scientific, Basingstoke Hampshire, UK) at +22 °C/+ 33°C. This medium was validated according to the requirements of the EP[29]. Samples were filtrated via membranes with a 0.45 μm cellulose nitrate filter (Sartorius Stedim Biotech, Göttingen, Germany) and membranes were incubated in the medium for 14 days. The sterility test was passed if there was no growth of micro-organisms. Osmolality was measured using a micro-osmometer (Model 210, Fiske Associates, Norwood, Massasuchets, USA).

Statistical tests. Calibration ranges were established by plotting the peak area obtained for the calibration solutions of dobutamine diluted in D5W or NS versus the concentration of dobutamine contained in these solutions. An analysis of variance (ANOVA), preceded by a Cochran test, was used to assess the linearity of our method. Concentration measures on samples prepared at the eight concentration levels of the two calibration ranges were made in triplicate to

evaluate intra-day precision and accuracy. These measures were repeated on three consecutive days to evaluate inter-day precision.

Accuracy and precision were calculated using the recovery factor and the coefficient of variation, respectively. Total error was calculated as the sum of relative bias and inter-day precision. The limit of acceptance was set at $\pm 10\%$ [21]. pH-values and osmolality results obtained at the beginning and end of the study were compared with a non-parametric Wilcoxon test ($\alpha=5\%$) for each condition and storage tested, using R software (Version 1.2.1335, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

RESULTS

Forced degradation study. The chromatogram of the stock solution was compared with those obtained from the forced degradation study (Figure 1).

Dobutamine was eluted at 2.3 min and 2.5 min when diluted in D5W or NS respectively. The peak at 1.1 min corresponds to the peak of D5W.

Degradation under basic conditions led to the formation of two products eluted at 2.7 and 2.9 min when diluted in D5W while the same two products were eluted at 2.8 and 3.2 min in NS. Degradation under acid conditions yielded one product eluted at either 6.3 min or 7.0 in D5W or NS. The other newly formed peaks corresponded to D5W degradation products.

Exposure to heat revealed no dobutamine degradation products, but some D5W degradation products. Exposure to oxidative conditions led to the apparition of many, not clearly separated peaks eluted between 0.9 and 1.8 min for D5W and between 0.9 and 1.6 min for NS. These peaks were associated with dobutamine and D5W degradation. The method was shown to be highly selective with no interference between the molecule and the degradation products.

High Performance Liquid Chromatography validation assay for 0.5-1.5mg/L range dobutamine solutions. The results for both calibration ranges are presented in Table 1.

Table 1. Calibration results. Legend: D5W for 5% dextrose; NS for normal saline solution.

Parameters	Values for the calibration range diluted in D5W	Values for the calibration range diluted in NS
Range	0.5-1.5mg/L	0.5-1.5mg/L
Cochran test		
• Experimental value	0.26	0.24
• Theoretical value ($\alpha=5\%$;8;6)	0.36	0.36
Correlation test (ANOVA)		
• Experimental value	18968.72	5708.49
• Theoretical value ($\alpha=5\%$;6;18)	4.07	4.07
Non-linearity test (ANOVA)		
• Experimental value	1.67	0.47
• Theoretical value ($\alpha=5\%$;1;18)	2.32	2.32
Regression coefficient		
• Slope	1980.08	1928.28
• Intercept	-20.41	-37.44
Correlation coefficient	0.997	0.996
Limit of detection	0.032mg/L	0.054mg/L
Limit of quantification	0.064mg/L	0.108mg/L

An excellent correlation between the ratio of peaks and dobutamine concentrations was statistically demonstrated. Linearity hypothesis was not rejected for either calibration range with a confidence level of 95%. Trueness and precision results are summarised in Table 2.

Table 2. Precision and accuracy calibration results of the high-performance liquid chromatographic method.

Calibration	Concentration (mg/mL)	Relative bias (%)	Inter-day precision (%)	Total error (%)	Accuracy (%)
Dobutamine diluted in normal saline solution	0.5	0.66%	3.67%	4.33%	100.66%
	0.6	0.50%	3.85%	4.36%	100.50%
	0.7	0.39%	3.95%	4.33%	100.39%
	0.8	0.08%	3.64%	3.72%	100.08%
	0.9	2.10%	5.33%	7.43%	97.90%
	1.0	0.36%	2.94%	3.30%	100.36%
	1.3	0.03%	3.09%	3.12%	100.03%
Dobutamine diluted in 5% dextrose in water	1.5	0.26%	2.69%	2.95%	100.26%
	0.5	0.04%	1.82%	1.86%	100.66%
	0.6	0.12%	2.13%	2.25%	100.50%
	0.7	1.83%	3.75%	5.58%	100.39%
	0.8	2.65%	2.76%	5.42%	100.08%
	0.9	0.11%	1.30%	1.41%	97.90%
	1.0	0.28%	1.92%	2.20%	100.36%
1.3	0.01%	1.59%	1.60%	100.03%	
1.5	0.05%	1.40%	1.45%	100.26%	

Accuracy and total error scores did not exceed the tolerated limits, which are [90-110%] and <10% respectively (Table 2). The results of the validation assay prove the reliability of our method based on linearity, selectivity, sensitivity, accuracy and precision.

Physical stability of dobutamine. Solutions freshly prepared were transparent with no visible particles. The initial physical parameters of the stability solutions are presented in Supplemental Table S1.

Colour modification. When stored in COC-vials, the solutions remained clear and free from visible particles throughout the study. Faint colouring was observed in solutions stored in COC-vials at ambient temperature but was considered too slight to justify the discontinuation of the study (Supplemental Figure S1, A). No colouring or visible particles were observed in PP-syringes stored at refrigerated or frozen temperatures throughout the study. However, colour modification was observed from the first month (M1) for solutions prepared in D5W or NS and

stored at ambient temperature in PP-syringes. From the second month (M2), this colouring became absolute, leading to the interruption of the study in these test conditions. This evolution is presented in Supplemental Figure S1 (B-D).

Non-visible particulate contamination assay. Results are summarised in Supplemental Tables S2 and S3.

For dobutamine solutions prepared with D5W, non-visible particulate contamination was maintained within the EP thresholds whatever the storage temperature in both containers at refrigerated temperature. Particles $\geq 10 \mu\text{m}$ and $\geq 25 \mu\text{m}$ exceeded the recommended limit from the sixth month (M6) and third month (M3) respectively for solutions stored in PP-syringes at ambient room temperature. Finally, for PP-syringes at frozen temperature, the first atypical value for $\geq 10\mu\text{m}$ particles was measured after the first month (M1) and continued from M6 till the end of the study whereas no such value was measured for $\geq 25\mu\text{m}$ particles.

For dobutamine solutions prepared with NS, the results obtained for the non-visible particle assay stored in COC-vials, whatever the storage temperature, showed no deviations from EP thresholds. The results were identical for the 10mg/mL dobutamine solutions prepared with NS and stored in PP-syringes at refrigerated temperature. However, both particles $\geq 10 \mu\text{m}$ and $\geq 25 \mu\text{m}$ exceeded the recommended limit from the second month (M2) for solutions stored in PP-syringes at ambient temperature. For dobutamine solutions prepared with NS and stored at frozen temperature, the recommended thresholds were exceeded from the fourth (M4) and sixth (M6) months, for particles $\geq 10 \mu\text{m}$ and $\geq 25 \mu\text{m}$ respectively.

pH monitoring and osmolality assay. The evolution of pH-values is described in Figure 2. The results of the osmolality assay are presented in Table 3.

Table 3. Osmolality results obtained at the end of the stability study of the 10mg/mL dobutamine solution diluted in D5W or NS and stored in either COC-vials or PP-syringes stored at ambient (+25°C/60%RH), refrigerated (+5°C) or frozen (-20°C) temperatures, throughout the 12-month study period. Legend: D5W for 5% dextrose, NS for normal saline solutions, PP for polypropylene. *The study was stopped once the stability of the solution had deteriorated.

Condition	Diluent	D5W			NS		
	Storage Temperature	+25°C/ 60%RH	+5°C	-20°C	+25°C/ 60%RH	+5°C	-20°C
Upright COC-vials	Time of measurement	M12	M12	M12	M12	M12	M12
	Osmolality values (mOsmol/kg)	122 ± 1	121 ± 1	120 ± 0	121 ± 0	120 ± 0	119 ± 0
Upside-down COC-vials	Time of measurement	M12	M12	M12	M12	M12	M12
	Osmolality values (mOsmol/kg)	121 ± 0	121 ± 1	120 ± 1	121 ± 0	120 ± 1	120 ± 1
PP-syringes	Time of measurement	M2*	M12	M1*	M2*	M12	M4*
	Osmolality values (mOsmol/kg)	134 ± 11	120 ± 1	124 ± 8	128 ± 8	120 ± 1	121 ± 4

These results show no significant difference between pH-values (n=3, p-value ≥0.07) and osmolality values (n=3, p-value > 0.06), measured at the beginning and end of the study in all comparative conditions.

Chemical stability. The initial dobutamine concentrations were 10.54±0.31 mg/mL (n=3) and 10.18±0.15 mg/L (n=3) when diluted in D5W and NS respectively. Figure 3 shows that chemical stability was maintained over the 365-day study-period for dobutamine solutions, whatever the diluent (D5W or NS) in COC-vials and whatever the storage temperature condition, and in PP-syringes at refrigerated or frozen temperature. Chemical stability was lost from M9 for solutions prepared with either D5W or NS stored in PP-syringes at room temperature.

Sterility assay. Sterility was maintained throughout the 12-month study for every solution stored in COC-vials whatever the storage condition and diluent, for solutions stored in PP-syringes at refrigerated temperature and up to the BUD for the other conditions.

DISCUSSION.

The physicochemical stability of 10mg/mL dobutamine solutions prepared with D5W or NS was maintained throughout a 365-day period, when stored in COC-vials, at all temperature conditions tested ($-20\pm 5^{\circ}\text{C}$, $+5\pm 3^{\circ}\text{C}$ and $+25\pm 2^{\circ}\text{C}$ with $60\pm 5\%$ relative humidity) and in PP-syringes but only when refrigerated. 10mg/mL dobutamine solutions stored after 1 month at ambient temperature when prepared with either D5W or NS. The rapid exceeding of sub-visible particle contamination limits with PP-syringes advocates limiting routine frozen storage of diluted intravenous dobutamine solutions. The faint colouring observed in solutions stored in COC-vials at ambient temperature contributes to favouring storage at $+5^{\circ}\text{C}$.

This is the first study to explore the stability of diluted dobutamine over a year.

Previous studies have evaluated the stability of diluted dobutamine, either in D5W[9,11–18,30], or NS[12–18], protected from light[11,13,15,18,30] or not[9,10,14,17], exposed to various storage temperatures (ambient[9,11–14,16–18,30], $+35^{\circ}\text{C}$ [12] or refrigerated[10–13,15,16,18,30]), compounded in glass[13,14,18], polychlorure vinyl[12–18], polyethylene[18] or PP[9,11] containers. Some assessed the chemical stability of dobutamine solutions in PP-syringes at ambient and refrigerated temperatures without reaching the BUD[9,11], but evaluation was over a shorter period (42 days maximum).

An innovative point in this study was particle contamination counting, not performed in previous studies[9,11–14,30]. Sub-visible particle contamination should be considered in stability studies as it is responsible for clinical consequences especially in critically-ill patients receiving multi-drug infusions[31,32].

Some COC-vials (with D5W, $n=2$ / with NS, $n=1$) cracked during storage when frozen. This phenomenon was linked to dobutamine crystallisation (crystals found in cracks and analysed by HPLC-UV). Dobutamine concentrations measured in the cracked vials revealed an average loss of 4% of the initial concentration. The manufacturer explained that the maximal filling volume recommended for 50mL COC-vials was 45mL before freezing, because of expansion of the diluent and confirmed that COC-vials can be submitted to temperatures as low as -50°C [33]. This cracking phenomenon was not observed in previous studies with cefuroxime, midazolam or norepinephrine but requires further investigation. Our study was pursued on uncracked vials. As for syringes, the above phenomenon did not occur in our study. However, Kirk *et al* reported a contraction of the PP-syringe plunger during cooling resulting in leakage

of the solution past the plunger[34]. We did not experience this phenomenon either in this or previous studies.

Data reporting the chemical stability of dobutamine submitted to extreme conditions is controversial. A recent article reported that dobutamine was stable in basic and thermal conditions but sensitive to degradation in acidic conditions[12], while another declared the opposite[11]. Our degradation study suggests that dobutamine was sensitive to acidic, basic and oxidative conditions but not to heat. However, the impact of heat on dobutamine degradation is highly probable as colouring was observed but does not correspond to the appearance of any peak in the chromatograms. The limit to our HPLC-UV detection method was the undetectability of the dobutamine degradation product obtained from its thermal degradation. Regardless of extreme conditions leading to dobutamine degradation, the degradation mechanism is considered to be a free radical mediate mechanism leading to the formation of dark-coloured polymers[35].

10mg/mL dobutamine solutions stored in PP-syringes in the dark turned brown before the end of the 12-month study, showing a susceptibility to heat in that type of container.

There is no evidence that the coloured degradation products of dobutamine are not toxic. Colouring may indicate limited stability even though the drug concentration remained within acceptance limits. This finding is similar to that of other authors[11,13].

Our results are coherent with previous studies affirming longer stability in COC-vials than in PP-syringes[20–23]; they also showed their superiority over PP-syringes as regards sub-visible particle contamination. The similarity of results whatever the position of the vial during storage suggests that contact with the stopper has no impact on the stability of the 10mg/mL dobutamine solution. This complies with the declared properties of COC-vials meeting the criteria requirements for pharmaceutical primary containers[24].

Our method is adapted to CIVAS, as are many previously published methods combining reversed-phase HPLC and UV detection[10–14].

Finally, plastic syringes used to pose a problem for compounding as they were not made for storing drugs but this situation has recently been resolved as BD claims that their syringes now conform to drug storage[21].

CONCLUSIONS

Our results advocate adopting the compounding of ready-to-use 10mg/mL dobutamine solutions in COC-vials in CIVAS and their storage at refrigerated temperature. Frozen storage is not recommended for COC-vials because of the risk of cracking. PP-syringes offer acceptable one-year shelf-life stability for 10mg/mL dobutamine solutions when refrigerated.

FUNDING

The authors have not declared a specific grant for this research from any funding agency in the public, commercial or not-for-profit sectors.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank Alexandra Tavernier (M.A. University of Glasgow, Professeur Agrégée, France) for English language and editing assistance.

COMPETING INTERESTS

None declared.

ETHICS APPROVAL STATEMENT

Ethics approval was not required for this study.

CONTRIBUTORSHIP STATEMENT

S.Gilliot contributed to methodology, formal analysis, writing, reviewing and editing of the final version. H.Henry contributed to writing, reviewing and editing of the final version. N.Carta contributed to the study conception, data curation, methodology, validation and revision of the final version. S.Genay, C.Barthelemy, B.Decaudin, and P.Odou contributed to supervision, methodology, validation and revision of the final version.

REFERENCES

- 1 Vahdatpour Cyrus, Collins David, Goldberg Sheldon. Cardiogenic Shock. *Journal of the American Heart Association* 2019;**8**:e011991. doi:10.1161/JAHA.119.011991
- 2 Summary of product characteristics of Dobutamine Mylan 250 mg/20 ml, solution for intravenous infusion. <http://base.donneespublique.medicaments.gouv.fr/affichageDoc.php?specid=63149018&typedoc=R>
- 3 Stucki C, Sautter A-M, Wolff A, *et al.* Accuracy of preparation of i.v. medication syringes for anesthesiology. *Am J Health Syst Pharm* 2013;**70**:137–42. doi:10.2146/ajhp110654
- 4 Valentin A, Capuzzo M, Guidet B, *et al.* Errors in administration of parenteral drugs in intensive care units: multinational prospective study. *BMJ* 2009;**338**:b814–b814. doi:10.1136/bmj.b814
- 5 Dehmel C, Braune SA, Kreymann G, *et al.* Do centrally pre-prepared solutions achieve more reliable drug concentrations than solutions prepared on the ward? *Intensive Care Medicine* 2011;**37**:1311–6. doi:10.1007/s00134-011-2230-4
- 6 Garnerin P, Pellet-Meier B, Chopard P, *et al.* Measuring human-error probabilities in drug preparation: a pilot simulation study. *European Journal of Clinical Pharmacology* 2007;**63**:769–76. doi:10.1007/s00228-007-0319-z
- 7 Ferner RE, Langford NJ, Anton C, *et al.* Random and systematic medication errors in routine clinical practice: a multicentre study of infusions, using acetylcysteine as an example: Random and systematic medication errors. *British Journal of Clinical Pharmacology* 2001;**52**:573–7. doi:10.1046/j.0306-5251.2001.01490.x
- 8 Hecq J-D. Centralized intravenous additive services (CIVAS): the state of the art in 2010. *Ann Pharm Fr* 2011;**69**:30–7. doi:10.1016/j.pharma.2010.09.002
- 9 Sautou-Miranda V, Gremeau I, Chamard I, *et al.* Stability of dopamine hydrochloride and of dobutamine hydrochloride in plastic syringes and administration sets. *Am J Health Syst Pharm* 1996;**53**:186, 193. doi:10.1093/ajhp/53.2.186
- 10 Prammar Y, Das Gupta V, Gardner SN, *et al.* Stabilities of dobutamine, dopamine, nitroglycerin and sodium nitroprusside in disposable plastic syringes. *J Clin Pharm Ther* 1991;**16**:203–7. doi:10.1111/j.1365-2710.1991.tb00305.x
- 11 Patel N, Taki M, Tunstell P, *et al.* Stability of dobutamine 500 mg in 50 ml syringes prepared using a Central Intravenous Additive Service. *European Journal of Hospital Pharmacy: Science and Practice* 2012;**19**:52–6. doi:10.1136/ejhpharm-2011-000027
- 12 Madfai FA, Valah B, Zaidi STR, *et al.* Stability of dobutamine in continuous ambulatory delivery devices. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics* 2018;**43**:530–5. doi:10.1111/jcpt.12674

- 13 Das Gupta V, Stewart KR. Stability of dobutamine hydrochloride and verapamil hydrochloride in 0.9% sodium chloride and 5% dextrose injections. *Am J Hosp Pharm* 1984;**41**:686–9.
- 14 Kirschenbaum HL, Aronoff W, Perentesis GP, *et al.* Stability of dobutamine hydrochloride in selected large-volume parenterals. *Am J Hosp Pharm* 1982;**39**:1923–5.
- 15 Allwood M. The stability of four catecholamines in 5% glucose infusions. *J Clin Pharm Ther* 1991;**16**:337–40.
- 16 Musami P, Stewart JT, Taylor EW. Stability of Zidovudine and Dobutamine Hydrochloride Injections in 0.9% Sodium Chloride and 5% Dextrose Injections Stored at Ambient Temperature (23 +/- 2 Deg C) and 4 Deg C in 50-mL Polyvinyl Chloride Bags Up to 24 Hours. *Int J Pharm Compd* 2004;**8**:73–6.
- 17 Stewart JT, Warren FW, King AD. Stability of ranitidine hydrochloride and seven medications. *Am J Hosp Pharm* 1994;**51**:1802–7.
- 18 Zeidler C, Dettmering D, Schrammel W, *et al.* Compatibility of various drugs used in intensive care medicine in polyethylene, pvc and glass infusion containers. *European Journal of Hospital Pharmacy* 1999;**5**:106–10.
- 19 AT-Closed Vial® | Aseptic Technologies - Safer & Easier Aseptic filling operations. <https://www.aseptictech.com/products/closed-vialr-0> (accessed 7 Mar 2019).
- 20 Feutry F, Simon N, Genay S, *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 Development and Industrial Pharmacy* 2016;**42**:166–74. doi:10.3109/03639045.2015.1038273
- 21 Gilliot S, Masse M, Genay S, *et al.* Long-term stability of ready-to-use norepinephrine solution at 0.2 and 0.5 mg/mL. *Eur J Hosp Pharm* Published Online First: 6 February 2020. doi:10.1136/ejhpharm-2019-002146
- 22 Feutry F, Genay S, Velghe C, *et al.* Stability of midazolam and noradrenaline stored in cyclic olefin copolymer AT-Closed Vials® and polypropylene syringes during 365 days. *Pharmaceutical Technology in Hospital Pharmacy* 2017;**2**. doi:10.1515/pthp-2017-0013
- 23 Gilliot S, Masse M, Feutry F, *et al.* Long-term stability of ready-to-use 1-mg/mL midazolam solution. *Am J Health Syst Pharm* Published Online First: 17 April 2020. doi:10.1093/ajhp/zxaa040
- 24 United States Pharmacopeia. General Chapters 661: Containers. http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0_c661_viewall.html (accessed September 10, 2019).
- 25 Dobutamine hydrochloride product monograph. European Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia 10th edition, April 2020.
- 26 SFPC (French Society of Clinical Pharmacy) and GERPAC (Evaluation and Research Group on Protection in Controlled Atmospher). SFPC, GERPAC, Methodological

- guidelines for stability studies of hospital pharmaceutical preparations, Part I: Liquid preparations. http://www.gerpac.eu/IMG/pdf/guide_stabilite_anglais.pdf (accessed 2 Mar 2019).
- 27 ICH Working Group. ICH (International Conference on Harmonisation), Harmonise tripartite guideline - Stability testing of new drug substances and products Q1A (R2), Step 4 version. 2003. 1041–54. doi:10.1163/ej.9789004163300.i-1081.897
 - 28 European Pharmacopoeia Commission. 2.9.19 Particulate contamination : Sub-visible particles. Pharmacopoeia 10.2 edition, July 2020.
 - 29 European Pharmacopoeia Commission. 2.6.1 Sterility. Pharmacopoeia 10.2 edition, July 2020. Pharmacopoeia 10.2 edition, July 2020.
 - 30 Webster AA, English BA, McGuire JM, *et al.* Stability of Dobutamine Hydrochloride 4mg/mL in 5% Dextrose Injection at 5 and 23 deg C. *Int J Pharm Compd* 1999;**3**:412–4.
 - 31 Benlabeled M, Perez M, Gaudy R, *et al.* Clinical implications of intravenous drug incompatibilities in critically ill patients. *Anaesthesia Critical Care & Pain Medicine* 2019;**38**:173–80.
 - 32 Benlabeled M, Martin Mena A, Gaudy R, *et al.* Analysis of particulate exposure during continuous drug infusion in critically ill adult patients: a preliminary proof-of-concept in vitro study. *Intensive Care Med Exp* 2018;**6**:38. doi:10.1186/s40635-018-0205-2
 - 33 Buckler RL, Kunkel EJ, Thompson ML, *et al.* Technological developments for small-scale downstream processing of cell therapies. *Cytotherapy* 2016;**18**:301–6. doi:10.1016/j.jcyt.2015.12.003
 - 34 Kirk B, Melia C, Wilson J, *et al.* Chemical stability of cyclophosphamide injection : the effect of low storage and microwave thawing. . *Br J Parenter Ther* 1984;:90–7.
 - 35 Bindoli A, Rigobello MP, Deeble DJ. Biochemical and toxicological properties of the oxidation products of catecholamines. *Free Radical Biology and Medicine* 1992;**13**:391–405. doi:10.1016/0891-5849(92)90182-G

Figures captions et legends.

Figure 1 Representative chromatograms of (A.1/A.2) 10mg/mL dobutamine reference solution diluted in NS/D5W, (B.1/B.2) 10mg/mL dobutamine solution in NS/D5W diluted in 0.05M NaOH, (C.1/C.2) 10mg/mL dobutamine solution in NS/D5W diluted in HCl 37% (v/v) at 80°C, (D.1/D.2) 10mg/mL dobutamine solution in NS/D5W diluted in H₂O₂ 30% at 60°C. Legend: D5W for 5% dextrose; NS for normal saline solution.

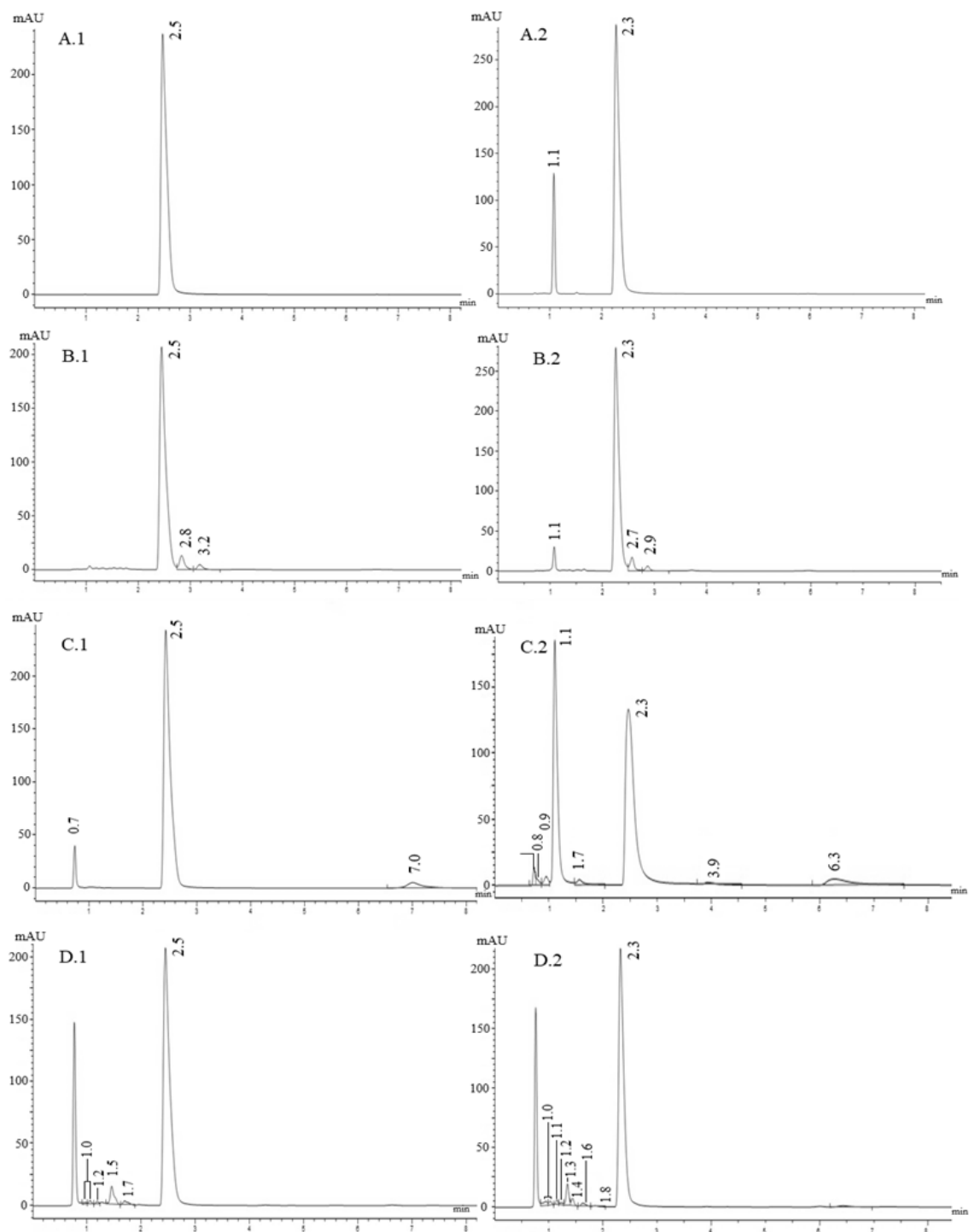


Figure 2 Evolution of pH-values of 10mg/mL dobutamine solutions diluted in NS or D5W and stored either in COC-vials or PP-syringes stored at ambient (+25°C/60%RH), refrigerated (+5°C) or frozen (-20°C) temperatures, throughout the 12-month study period. Legend: D5W for 5% dextrose, NS for normal saline solutions, PP for polypropylene, COC for Cyclic-Oleofin-Copolymer.

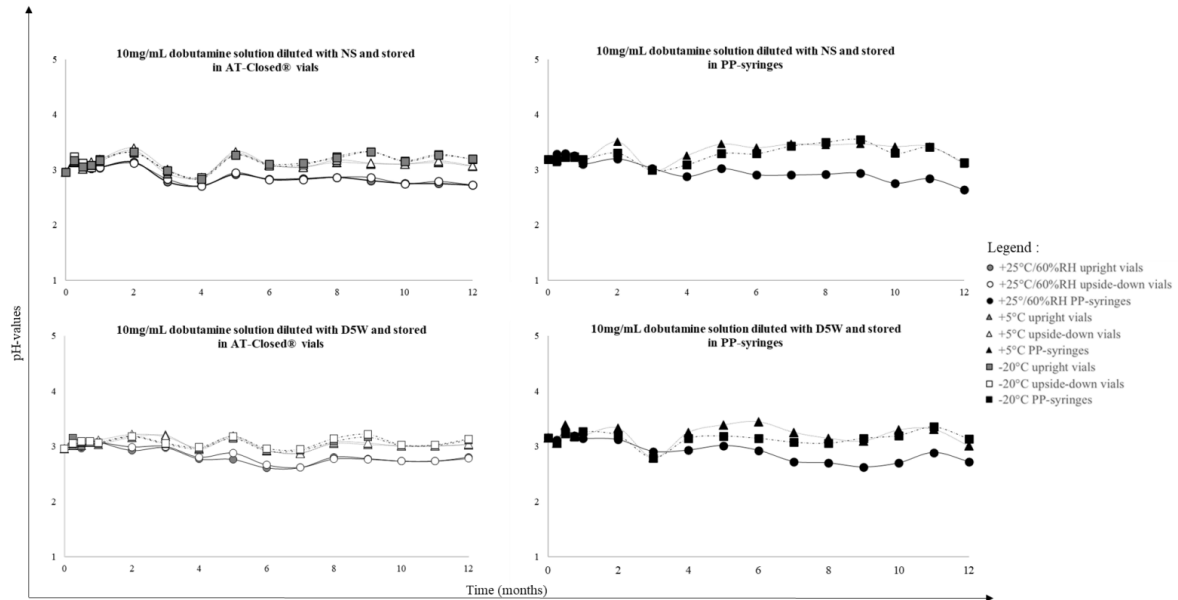
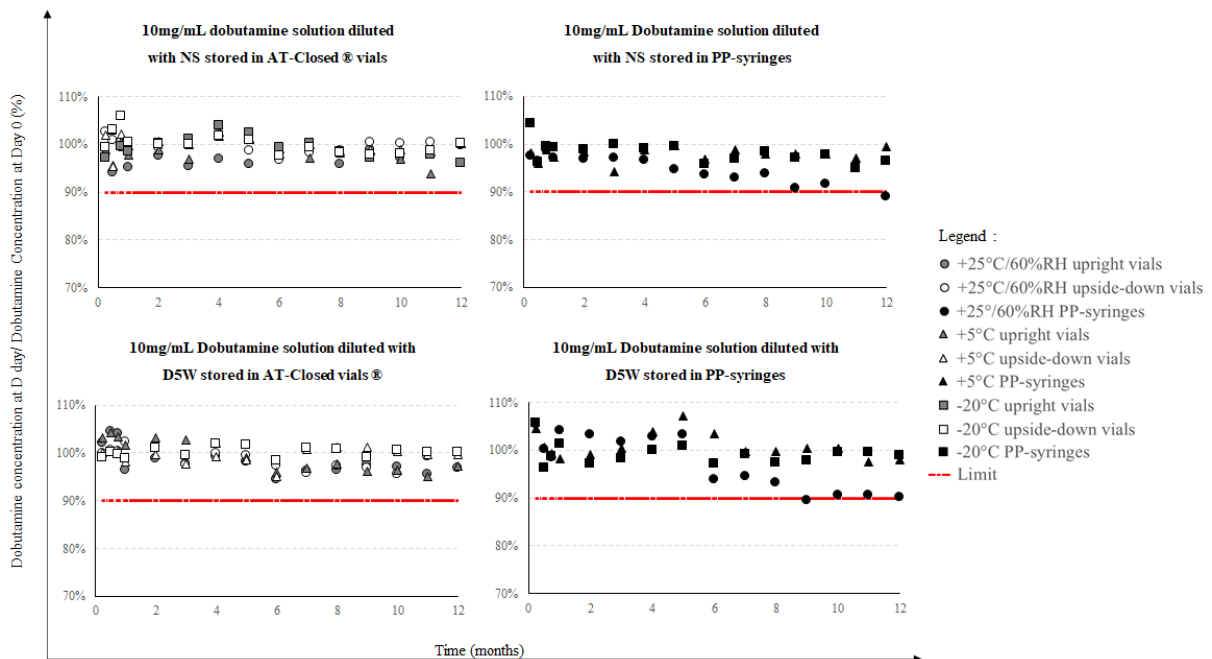


Figure 3 Chemical stability of 10mg/mL dobutamine solutions diluted in NS or D5W and stored in either COC-vials or PP-syringes at ambient (+25°C/60%RH), refrigerated (+5°C) or frozen (-20°C) temperatures. Legend: D5W for 5% dextrose, NS for normal saline solutions, PP for polypropylene, COC for Cyclic-Oleofin-Copolymer.



2.4.4. L'étude de stabilité sur le long terme d'une solution prête à l'emploi d'insuline asparte à 1 U/mL

2.4.4.1. Contexte et objectifs

Les analogues de l'insuline rapide en perfusion continue de 1 U/mL sont classiquement utilisés pour la prise en charge des hyperglycémies dans les services de soins intensifs en néonatalogie.

Cette administration nécessite une étape de dilution préalable de l'insuline commercialisée à la concentration de 100 U/mL. Parmi les analogues de l'insuline disponibles sur le marché, l'insuline asparte est très utilisée. Sa formulation contient deux conservateurs, le phénol et le métacrésol, qui permettent le maintien de l'insuline dans sa structure hexamérique et assurent ainsi sa stabilité physico-chimique [121].

Pour cette dernière étude, la stabilité physico-chimique de ces deux conservateurs de l'insuline a donc été évaluée au même titre que la stabilité physico-chimique que l'insuline elle-même. Des phénomènes de sorption de l'insuline et de ces conservateurs ont été rapportés dans la littérature, notamment avec les plastifiants, d'où l'intérêt particulier de l'évaluation de l'insuline dans les flacons en COC^[122].

Cette étude de stabilité visait à évaluer la stabilité des solutions d'insuline diluées avec du NaCl 0,9% pour obtenir une concentration finale de 1 U/mL, prêtes-à-l'emploi conservées dans des flacons COC et des seringues PP à des températures réfrigérées ($+5^{\circ}\text{C}\pm 3^{\circ}\text{C}$) ou ambiantes ($+25^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ avec $60\%\pm 5\%$ d'HR) ou conservées à température ambiante après un stockage réfrigéré.

2.4.4.2. Résultats et discussion

Une méthode de dosage permettant de doser l'insuline, le phénol et le métacrésol a été développée et validée selon les référentiels choisis^[66,109].

Les résultats de l'étude ont montré que les solutions d'insuline asparte à 1 U/mL préparées dans du NaCl 0,9% et conditionnées dans les seringues en PP et les flacons en COC conservaient leur stabilité physico-chimique pendant une année de conservation à température réfrigérée.

À température ambiante, la stabilité physicochimique était maintenue pendant 3 mois dans les flacons en COC (conservés à l'endroit et à l'envers) et pendant 1 mois dans les seringues en PP.

Les dosages supplémentaires réalisés sur les solutions conservées 1 mois à température ambiante après avoir bénéficié d'un stockage à température réfrigérée pendant 3, 6, 9 ou 12 mois ont montré que l'insuline, le métacrésol et le phénol conservaient leur stabilité chimique pendant les 28 jours de l'étude.

Les résultats de cette étude sont résumés dans la Figure 21.















Stabilité sur le long terme de l'insuline diluée à 1 U/mL avec du NaCl 0,9%								
 NaCl 0,9%	Stabilité chimique	Particules visibles/ coloration	Particules non visibles	pH	Osmolarité	Stérilité	Stable pendant	
 conservés à l'endroit	 +25°C±2°C	90 jours	✓	✓	✓	✓	90 jours	
 conservés retournés	 +5°C±3°C	✓	✓	✓	✓	✓	365 jours	
Flacons COC 50 mL								
 NaCl 0,9%	Stabilité chimique	Particules visibles/ coloration	Particules non visibles	pH	Osmolarité	Stérilité	Stable pendant	
	 +25°C±2°C	28 jours	✓	✓	✓	✓	28 jours	
Seringues PP 50 mL	 +5°C±3°C	✓	✓	✓	✓	✓	365 jours	
Stabilité de l'insuline diluée à 1 U/mL avec du NaCl 0,9% après conservation 365 jours à +5°C±3°C								
 NaCl 0,9%	Stabilité chimique	Particules visibles/ coloration	Particules non visibles	pH	Osmolarité	Stérilité	Stable pendant	
 conservés à l'endroit	 +25°C±2°C	✓	✓	✓	✓	✓	28 jours	
Flacons COC 50 mL								
	 +25°C±2°C	✓	✓	✓	✓	✓	28 jours	
Seringues PP 50 mL								

Figure 21 - Résultats de l'étude de stabilité physico-chimique et microbiologique de l'insuline diluée à 1 U/mL avec du NaCl 0,9% dans des seringues en polypropylène et des flacons en copolymère oléofine cyclique conduite pendant 365 jours (production originale, créée avec BioRender.com). Légende : COC, copolymère oléofine cyclique ; PP, polypropylène.

Cette étude publiée dans l'*American Journal of Health-System Pharmacy* est présentée ci-après (dernière version corrigée par les relecteurs et acceptée par l'éditeur).^[123].

Stability of 1 Unit/mL insulin aspart solution in cyclic olefin copolymer vials and polypropylene syringes

Abstract

Purpose This study evaluated the stability of diluted insulin aspart solutions (containing insulin aspart and preservatives) at their most commonly used concentration in intensive care units (1 Unit/mL), in two container types: AT-closed cyclic olefin copolymer (COC) vials and polypropylene (PP) syringes.

Methods Insulin aspart solution (1 Unit/mL, diluted in 0.9% sodium chloride (saline) solution) was stored for 365 days in COC vials with grey stoppers and PP syringes at refrigerated ($+5\pm 3^{\circ}\text{C}$) and ambient temperatures ($+25\pm 2^{\circ}\text{C}$ with $60\pm 5\%$ relative humidity and protected from light). Chemical testing was conducted monthly using a validated HPLC-UV method (quantification of insulin aspart, phenol and metacresol). Physical stability was evaluated monthly using pH measurements, visible and sub-visible particle counts and osmolality measurements. Sterility testing was also performed to validate the sterile preparation process and the maintenance of sterility throughout the study.

Results The limit of stability was set at 90% of the initial concentration of insulin aspart, phenol and metacresol. The physicochemical stability of 1 Unit/mL insulin solutions prepared with saline solution, stored refrigerated and protected from light was unchanged in COC vials for the 365-day period and for 1 month in PP syringes. At ambient temperature, sub-visible particulate contamination as well as the chemical stability of insulin and metacresol were acceptable for only one month's storage in PP syringes, while insulin chemical stability was maintained for only 3 months' storage in COC vials.

Conclusion According to our results, it is not recommended to administer 1 Unit/mL pharmacy-diluted insulin solutions after three months' storage in COC vials at ambient temperature or after one month in PP syringes at ambient temperature. The findings support storage of insulin aspart at 1 Unit/mL in COC vials at refrigerated temperature as the best option over the longterm. Sterility was maintained in every condition. Both sterility and physicochemical stability are essential to authorize the administration of a parenteral insulin solution.

BACKGROUND

Hyperglycemia frequently occurs in hospitalized patients not only in intensive care units but also in general wards¹⁻³. It can be related to iatrogenic causes (*i.e.* corticosteroids, parenteral nutrition^{4,5}) or stress-induced by acute illness^{6,7}. Hyperglycemia needs to be controlled because of its potentially deleterious consequences⁸ : it increases morbimortality^{4,5,7,9,10}, infections^{11,12}, cardiac complications¹³, brain issues¹⁴, or immune system failure^{15,16}. Depending on the origin of hyperglycemia, insulin can be a therapeutic option¹⁷⁻¹⁹.

Insulin is considered as a high-alert medication because of its narrow therapeutic range and the fact that glycemic variability and hypoglycemic events increase mortality¹⁹⁻²¹. Accordingly, insulin use in critically-ill patients requires a continuous intravenous (*i.v.*) administration of diluted insulin with a controlled flow rate using electric syringe pumps. Among rapid insulin analogues, insulin aspart is the most commonly used²². It is commercially available at a standard concentration of 100 Units/mL , which requires a dilution prior to administration. Multidisciplinary meetings have determined the occurrence of medication errors and identified insulin dosage preparation as a high-risk step²³. A survey has shown²⁴ that few hospitals have yet protocolized the preparation and administration of insulin. As *i.v.* medication errors can lead to adverse events, especially with high alert medications,²⁵ these are a necessary target for safety improvements. Standardization of concentrations and centralized pharmacy compounding of sterile preparations have been identified as effective solutions²⁶.

One of the considerations for any compounded sterile preparation is container material, especially important in this study due to interaction with insulin. Sorption phenomena have been described for insulin and its preservatives (phenol and metacresol), mainly²⁷ with medical devices. Such a phenomenon, varying with the nature and structure of materials²⁷⁻³¹, may imply both insulin and preservatives³² and have a clinical impact. The use of polypropylene (PP) syringes as storage containers for injectable solutions is common; new cyclic olefin copolymer (COC) vials are convenient for aseptic compounding³³. Most conventional plastic containers (*i.e.* PVC bags) contain components that can leach into the compounded solution (*i.e.* plasticizers) whereas COC vials have only a few leacheables³⁴. COC has other advantages: good transparency, lower oxygen and water permeability than PVC or PP³⁵, lower electrostatic interactions than with glass³³ and corresponds to the European Pharmacopoeia (EP)

requirements for primary containers of intravenous drug solutions³⁶. Analytical methods for insulin solution stability have previously been developed³⁷⁻⁴⁴.

Purpose.

This study evaluated the stability of 1 Unit/mL insulin aspart solutions, stored in COC vials and PP syringes at both refrigerated ($+5^{\circ}\text{C}\pm 3^{\circ}\text{C}$) and ambient ($+25^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ with $60\%\pm 5\%$ relative humidity, RH) temperatures, and at ambient temperature following refrigerated storage.

MATERIAL AND METHODS

Products.

100 Unit/mL (3,5mg/mL) insulin aspart commercial solution^a (Novorapid[®]) was used. Phenol (1.5mg/mL), metacresol (1.72mg/mL), glycerol, zinc chloride, sodium phosphate, sodium chloride, sodium hydroxide (NaOH), hydrochloric acid (HCl) and water for injection were integral to the formulation as compounding excipients. Phenol and metacresol used in the forced degradation study were respectively of EP grade and analytical grade.

Products used for the HPLC mobile phase preparation were acetonitrile^b, anhydrous sodium sulfate^c (Merck, Darmstadt, Germany), ultrapure water^d, ortho-phosphoric acid solution^e, sodium hydroxide solution^f *qs* pH=3.6. These were of analytical grade.

Containers.

50mL containers were used: Luer lock PP syringes^g and COC AT-Closed[®] vials^h. The COC vial design (ready-to-fill, closed, sterile) respects EP requirements for pharmaceutical primary containers³⁴. The body is made of COC. The grey thermoplastic elastomer stopper is designed to limit the permeation of phenolic preservatives. COC vials were filled using an M1 filling stationⁱ connected to a peristaltic pump^j.

Chromatographic apparatus and conditions.

Concentrations of insulin aspart and its preservatives were measured by HPLC coupled with a UV detector (1260 MWD) at a wavelength of 214 nm⁴⁵. The HPLC system^k was equipped with a C18 column^l coupled with the dedicated C18 cartridge maintained at +25°C. A 20 µL injection volume was used throughout the study.

A mobile phase A/B (60/40) with isocratic elution was used. This method was adapted from previous studies⁴⁵⁻⁴⁷. Phase A was prepared with acetonitrile/anhydrous sodium sulphate/ultrapure water/ortho-phosphoric acid (7.7/2.8/89.2/0.3; m/m/m/m; %) and a sodium hydroxide solution *qs* pH=3.6. Phase B was compounded with acetonitrile/ultrapure water (42.8/57.2; m/m; %). All reagents were of analytical grade.

Solution preparations.

1 Unit/mL insulin aspart stock and stability solutions were prepared by diluting commercialized 100 Units/mL insulin aspart with saline in a volumetric glass flask to obtain a 1 Unit/mL insulin aspart solution. The containers were filled by technicians and pharmacists. Calibration solutions were prepared using insulin aspart Novorapid[®] diluted with saline to obtain ten standard levels of insulin aspart concentration (0.1, 0.2, 0.3, 0.5, 0.7, 0.9, 1.0, 1.1, 1.3, 1.5 Unit /mL), phenol concentration (0.015, 0.030, 0.045, 0.075, 0.105, 0.135, 0.150, 0.165, 0.0.195, 0.225 mg/mL) and metacresol concentration (0.017, 0.034, 0.051, 0.085, 0.119, 0.153, 0.170, 0.187, 0.221, 0.255 mg/mL). All these concentrations of insulin aspart, phenol and metacresol were used to build a calibration curve. Preparation of stability solutions and filling steps were conducted in a controlled atmosphere, under aseptic conditions^m. An M1 Filling stationⁱ was used to fill the COC vials. No sterilizing filtration was performed during the preparation process. The 4-step filling process consisted in piercing a COC vial with a predefined needle, automatically removing the needle, re-sealing the stopper using a laser beam and snapping a snap-fit onto the vial to secure it³³.

Forced degradation study.

To assess the selectivity of our stability-indicating method, we carried out a forced degradation study respecting SFPC/GERPAC guidelines⁴⁸. We applied extreme degradation conditions to the stock solution to achieve 20% degradation of insulin aspart and its preservatives.

Four extreme conditions were tested. The first one corresponded to the dilution in 3 mL hydrochloric acidⁿ 10M, for 4 hours at ambient temperature followed by neutralization by NaOH^o, of either 1 mL 4 Units/mL-Novorapid[®] solution, or 1 mL of 0.06mg/mL phenol^p solution, or 1 mL of 0.07mg metacresol^q solution. The second one corresponded to dilution in 3 mL NaOH^o 10M for 4 hours at ambient temperature, then neutralization by HClⁿ, of either 1 mL 4U/mL-Novorapid[®] solution, or 1 mL of 0.06mg/mL phenol solution, or 1 mL of 0.07mg/mL metacresol solution. The third one corresponded to dilution in 1 mL 3% (v/v) H₂O₂^f for 3 hours of either 1 mL of 2U/mL-Novorapid[®] solution, or 1 mL of 0.03mg/mL phenol solution, or 1 mL of 0.035mg/mL metacresol solution. The last extreme condition was storage in a heated chamber^s at +80°C for 3 hours of either 1 mL of 1 Unit/mL-Novorapid[®] solution, or 1 mL of 0.015mg/mL phenol solution, or 1 mL of 0.0175mg/mL metacresol solution.

Degradation solutions were injected into the HPLC system without dilution.

Stability study design.

Respecting the SFPC/GERPAC recommendations and ICH guidelines, two storage conditions were tested for each container: +5°C±3°C and +25°C±2°C with 60%±5% RH. Half of the COC vials were stored upside-down to assess the potential influence of the stopper on the stability of the 1 Unit/mL insulin aspart solution. 108 PP syringes and 204 COC vials were prepared. Storage was protected from light with minimal manipulation and movement of the samples. Measurements of insulin aspart, phenol, and metacresol concentrations were taken each month following the preparation and filling day (M0, M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7, M8, M9, M10, M11, M12), after removing the vials and PP syringes from the dark enclosure. Supplementary measurements were performed after refrigerated storage for 3, 6, 9 and 12 months in COC vials. Four additional sampling times were chosen after 7, 14, 21 and 28 days at +25°C±2°C with 60%±5% RH following removal from refrigeration. Concentrations of insulin aspart, phenol and metacresol were measured to evaluate the stability of the solution after refrigerated storage and to determine usability.

Concentration measurements were made on three different containers for each time point and storage condition. Each vial or syringe was used only once for analysis. At each time point, 1 Unit/mL insulin aspart solutions were injected into the HPLC system without any further dilution. At each time point, transparency, coloring and formation of visible particles

were observed and insulin aspart, phenol and metacresol concentrations were measured using an HPLC-UV validated method.

Chemical stability was considered assessed if the measured concentration was > 90% of the initial concentration for each component and if there was no color change or formation of degradation product.

Physical stability evaluation consisting in pH monitoring and a sub-visible particle contamination assay took place at each time point until the date of the assumed loss of chemical stability, along with osmolality-monitoring and a sterility assay at the beginning and end of the study. A pH-meter^t and a light obscuration spectrometer^u were respectively used for pH monitoring and the sub-visible particle contamination assay. For the latter, the required limits were a maximum of 6,000 particles of sizes $\geq 10\mu\text{m}$ /container and 600 particles of sizes $\geq 25\mu\text{m}$ /container, according to the EP criteria for 50mL-containers⁴⁹. Osmolality was measured with a micro-osmometer (Model 210, Fiske Associates, Norwood, Massachusetts, USA).

As i.v. compounded solutions need to be sterile to be administered, sterility tests were performed on each sample, following USP 797 recommendations⁵⁰ to prove that the container ensured sterility maintenance until the beyond-use date or until administration to the patient (until the sampling date in this study). Moreover, if instability was highlighted during the study, the objective was to prove that it was not due to contaminant growth. The Müeller Hinton medium (CM0405 OXOID, Thermo Fisher Scientific, Basingstoke Hampshire, UK) at +22 °C/+ 33°C was used for the sterility test after validation by the EP⁵¹. Samples were filtered *via* membranes with a 0.45 μm cellulose nitrate filter (Sartorius Stedim Biotech, Göttingen, Germany) and membranes were then incubated in the medium for 14 days. The sterility test was successful if no microorganisms appeared.

Calibration.

Data acquisition and interpretation were obtained from ChemStation[®] software^v (Openlabs CDS, version 01.05). Two series of all calibration solutions (insulin aspart, phenol and metacresol) were prepared on three consecutive days to calculate intra-day precision, accuracy, and inter-day precision (n=7). Limits of detection and quantification were determined.

The precision of the stability-indicating method was determined by calculating the coefficient of variation and the recovery factor was used to score accuracy. The sum of inter-day precision and relative bias yielded the total error of the stability-indicating method as described in the accuracy profile method⁵².

Statistical test.

Limits of detection (LOD) and quantification (LOQ) were set at a risk β (risk concluding that there is no difference when there is one) of 5% and the critical level (CL) at a risk α (risk concluding that a difference exists which does not in fact exist) of 5%, so that LOD and LOQ are defined respectively by 2- and 4-times CL.

A non-parametric Wilcoxon test ($\alpha=5\%$) on R software was used to compare pH-values and osmolality results obtained at the beginning and end of the study for each storage condition tested.

RESULTS

Forced degradation study.

The chromatograms of the stock solutions were compared with those obtained from the forced degradation study (Supplementary data A1, A2, A3). There was interference neither between peaks of insulin aspart and the degradation products, nor between peaks of insulin aspart, phenol and metacresol. Metacresol was eluted at 4.0 ± 0.1 min, phenol at 2.6 ± 0.2 min, and insulin aspart at 5.6 ± 0.1 min.

Insulin aspart degradation under acid conditions yielded four degradation products eluted at 2.4, 8.2, 13.0, 13.6 min. Basic degradation led to the apparition of two major peaks eluted at 2.0 and 3.5 min, two minor peaks at 2.3 and 7.4 min, and multiple little peaks between 10.4 and 15.5 min. Exposure to heat caused the formation of multiple peaks eluted at 1.9, 2.3, 7.4, 8.2, 11.3, 13.0 and 14.0 min. Finally, insulin aspart degradation under oxidative conditions revealed five new peaks eluted at 2.1, 4.8, 8.2, and 11.5 min.

For phenol degradation, acid and basic conditions led to the formation of the same degradation products eluted at 0.8, 0.9 and 1.1 min respectively. Thermal degradation resulted in the formation of two degradation products (elution time: 0.7 and 0.9 min). Phenol exposed

to oxidative conditions degraded into three degradation products (elution time: 1.1, 1.2, 1.4, 2.0 min).

Concerning metacresol degradation, neither acid nor basic conditions led to the formation of any degradation products.

High Performance Liquid Chromatography validation assay for 0.5-1.5U/mL range insulin solutions.

The results for calibration ranges are presented in Table 1.

Table 1. Calibration results. Legend: ANOVA for analysis of variance.

Parameters	Values for the insulin aspart calibration range	Values for the phenol calibration range	Values for the metacresol calibration range
Range	0.5-1.5U/mL	0.15-2.25µg/MI	0.172-2.580µg/mL
Cochran test			
• Experimental value	0.25	0.25	0.27
• Theoretical value ($\alpha=5\%;1;8$)	0.2823	0.2823	0.2823
Correlation test (ANOVA)			
• Experimental value	126991.73	263823.26	389147.88
• Theoretical value ($\alpha=5\%;$)	3.99	3.99	3.99
Non-linearity test (ANOVA)			
• Experimental value	0.97	1.65	2.91
• Theoretical value ($\alpha=5\%;1;8$)	2.09	2.09	2.09
Regression coefficient			
• Slope	2409.721	2260.273	2242.096
• Intercept	-44.964	-2.401	-16.183
Correlation coefficient	0.9999	0.9999	0.9999
Limit of detection	0.0250U/mL	0.0090µg/mL	0.0091µg/mL
Limit of quantification	0.0500U/mL	0.0181µg/mL	0.0182µg/mL

The results revealed correlation coefficients equal to 0.9999 between the areas of the peaks and the concentrations of the three analytes; this confirms the linearity of the calibration curves with a confidence level of 95%. The variations in insulin aspart, phenol and metacresol

concentrations accounted for 99.99% of the variation in areas under their corresponding peaks. Accuracy and relative bias results did not exceed the acceptance thresholds, which are [90-110%] and <10% respectively (Supplementary data A4).

The results of the validation assay confirm the reliability of our method.

Chemical stability.

Initial insulin aspart concentrations were 1.04 ± 0.05 U/mL (n=3) and 1.00 ± 0.00 U/mL (n=3), initial phenol concentrations were 1.50 ± 0.04 μ g/mL and 1.50 ± 0.02 μ g/mL, and initial metacresol concentrations were 1.72 ± 0.05 μ g/mL and 1.72 ± 0.03 μ g/mL in PP syringes and COC vials (with expected values at 1 Unit/mL, 1.50 and 1.72 μ g/mL respectively).

According to the results (Figure 1), chemical stability (> 90%) was maintained over the 365-day study-period for insulin solutions stored at refrigerated temperature in COC vials and PP syringes. The chemical stability of insulin was maintained for 3 months in upside-down and upright COC vials at ambient temperature and for 1 month in PP syringes stored in the same conditions. Chemical stability of metacresol and phenol was maintained for the whole study-period in COC vials. However for metacresol it was maintained for less than 1 month (M1) at ambient temperature and for eleven months (M11) at refrigerated temperature in PP syringes. Lastly, for phenol, chemical stability was maintained for ten months (M10) at ambient temperature in PP syringes.

The additional sampling following storage for one month at ambient temperature after 3, 6, 9, or 12 months at refrigerated temperature in COC vials showed that insulin, metacresol and phenol retained their chemical stability during the supplementary 28 days (Supplementary data A5).

Physical stability of insulin solution

Initial parameters.

Freshly prepared solutions were transparent and without visible particle contamination. The initial physical parameters are presented in Supplementary data A6. Solutions remained clear and colorless throughout the study period, even for the additional sampling.

Sub-visible particulate contamination assay.

Results are presented in Supplementary data A6. For solutions stored in upright or upside-down COC vials, the number of sub-visible particles met the required criteria throughout the study period whatever the storage temperature. For PP syringes, the number of sub-visible particles exceeded the EP acceptance limits from the second month (M2) for particles $\geq 10\mu\text{m}$ for both storage temperatures, from the third month (M3) and ninth month (M9) for particles $\geq 25\mu\text{m}$ at ambient and refrigerated storage temperatures respectively. The number of sub-visible particles remained within acceptance thresholds for the additional sampling conditions (Supplementary Data A8).

pH monitoring and osmolality assay.

No significant difference was noted between pH-values (Figure 2, $n=3$, $p\text{-value} \geq 0.07$) and osmolality values (Table 2, $n=3$, $p\text{-value} > 0.06$), measured at the beginning and end of the study in all compared conditions.

Table 2. Results of osmolality assay. Legend: M, month; RH, relative humidity.

	Storage temperature	+25°C±2°C, 60%RH	+5°C±3°C
Upright vials	Time of measurement	M4	M12
	Osmolality values (mOs-mol/kg)	287 ± 2	286 ± 1
Upside-down vials	Time of measurement	M4	M12
	Osmolality values (mOs-mol/kg)	288 ± 3	285 ± 1
Syringes	Time of measurement	M2	M12
	Osmolality values (mOs-mol/kg)	286 ± 1	286 ± 1

These two parameters also remained stable in the additional sampling conditions (Supplementary Data A9).

Sterility assay

Sterility was maintained throughout the 12-month study for every solution stored refrigerated and up to the sampling date for those stored at ambient temperatures. It was also maintained at the end of each tested condition for COC vials additional sampling.

DISCUSSION

This is the first study focusing on the long-term stability of diluted 1 Unit/mL insulin aspart solutions. Previous studies dealt with the stability of marketed undiluted insulin solutions (100U/mL or more), insulin pumps⁵³⁻⁵⁵, syringes⁵⁶⁻⁵⁸ or glass vials^{57,59}. Few results on diluted insulin stability have been published⁵⁹⁻⁶² and these were short-term stability studies not involving insulin aspart. Only two publications concerned insulin aspart^{54,63}. Most studies focused on insulin concentration, neglecting preservative or particulate contamination. A recent study dealt with the influence of storage containers on the stability of insulin aspart⁴⁶. HPLC-UV was chosen for our stability-indicating method to obtain simultaneous specific quantification of insulin aspart and its two phenolic preservatives (phenol and metacresol). This would have been impossible with analytical methods such as chemiluminescent immunoassay⁶¹ or radioactive counting of radiolabeled insulin but possible with LC-MS/MS⁶³. Saline solution was chosen as diluent as a recent publication indicated the instability of insulin in 5% dextrose solution⁶³.

In this discussion, chemical stability (the concentration of insulin aspart and its preservatives, phenol and metacresol) will be dealt with first followed by the physical stability of diluted insulin aspart solution (pH, osmolality, sub-visible particulate contamination).

Insulin aspart concentrations remained stable throughout the study period with storage at +5°C for both PP syringes and COC vials. This is an improvement on the chemical stability data previously published on human insulin stored in PP syringes at refrigerated temperature⁶⁴. Thus, storage at +5°C ensures the chemical stability of insulin aspart for both containers. Our results are consistent with the long-term storage duration announced by manufacturers for solutions stored at +5°C in glass vials; indeed, the dilution from commercial solution to 1 Unit/mL concentration does not affect the chemical stability of insulin aspart, phenol and metacresol, which is maintained over the 12 months of the stability study; however, in respect of the summary of product characteristics, they can be administered for only one month after their first use. Frozen storage was not tested, as the summary of product characteristics for Novorapid®⁶⁵ does not recommend it and the frequent lack of validated thawing processes could prejudice insulin stability. In view of the results of insulin aspart chemical stability at ambient temperature, PP syringes cannot be considered for the long-term preservation of a diluted (1 UI/mL) insulin aspart solution. When solutions were stored at +25°C/+60%RH,

stability was maintained for only three months (90 days) in COC vials and one month in PP syringes.

Certain assumptions may explain the decrease in insulin potency. The first is insulin degradation by heat as the degradation peaks due to loss of stability corresponded to the degradation products related to heat exposure in our forced degradation study. The second is a sorption phenomenon of insulin, known to occur especially with plastic materials. Insulin adsorption is most common on the container, increasing the risk of clinical insulin inefficacy³⁰ and potentially reducing insulin potency. This phenomenon depends on the type of plastic materials (insulin adsorption is already described with polyvinylchloride^{31,62,66-69}, ethylene vinyl acetate⁷⁰ and PP^{62,67} containers as well as medical devices for administration^{38,41}) and also on the diluent (*i.e.* lipid emulsion or amino acids which increase insulin recovery⁷¹). Other relationships are well established between infusion rate, drug concentration³⁸, contact time⁷⁰ and adsorption. In a previous study, regular insulin seemed not to adsorb more than 5% over 24h at 4°C or 25°C on PP⁶². Our study showed a comparable proportion of insulin aspart adsorption over the first month. However insulin losses in PP syringes occurring earlier than in COC vials may indicate that insulin adsorption varies according to plastic materials and storage temperature over a long period, reinforcing how important the choice of container materials and storage conditions⁷² is. The slower decrease in insulin concentration in COC vials could be explained by the smaller contact surface compared to PP syringes, or by insulin sorption on the isoprenic polymer constituting the syringe plunger. Recent research has shown that insulin adsorption can be predictable but varies depending on materials and contact surface which can modify the absorption capacity of the plastic^{29,72}. These sorption phenomena are enhanced in the present situation, because the contact between insulin solution and plastic materials is static. A parallel can be drawn with the increase in adsorption when the flow rate decreases in polyethylene or PVC infusion lines^{28,62}. The third assumption is the sorption phenomena of phenolic preservatives (phenol and metacresol). Their ability to permeate has already been described with PVC⁴⁶ (for phenol and metacresol) or PP (for metacresol)⁵⁸. These excipients aim to ensure sterility and to stabilize insulin aspart in its hexameric conformation, in association with zinc ions. Phenol depletion could be the cause of insulin aspart instability³² and could provoke the transition from insulin aspart hexamer to dimer or even to monomer⁷³. In the present work, metacresol concentration did not decrease, except in PP syringes at +25°C/60%RH and +5°C where it remained over the 90% stability threshold for less than 1 month (27 days by estimation (data not shown)) and 11 months respectively. Moreover, phenol concentration did not decrease, except in PP syringes at +25°C/60%RH, remaining over the

90% stability threshold for 9 months. There was less interaction of insulin or its preservatives with COC than with PP.

The longer stability of 1 Unit/mL insulin solution in COC vials (either upright or upside-down) is related to the inertness of both the vial body and stopper. Finally, some publications suggest that the sterilization method of containers may also influence interactions, especially for the preservatives⁷⁴. For COC-vials, the manufacturing steps are carried out in aseptic conditions and require no sterilization.

pH and osmolality values remained constant whatever the condition tested. pH stability is important for insulin stability, to prevent isoelectric precipitation^{75,76} and fibrillation⁵³ of the protein. Iso-osmolality to plasma is intended to avoid endothelial damage.

For the sub-visible particulate contamination assay, results remained under the acceptance thresholds⁴⁹ when insulin was stored in COC vials, but these thresholds were very rapidly exceeded (after 1 month) for both ambient and refrigerated storage in PP syringes. This particulate contamination should be examined more precisely in future studies. The loss of container integrity could have accounted for sub-visible particulate contamination, but a dye-ingress test already ruled out this hypothesis in a previous study⁷⁷. Moreover, if the containers had lost their integrity, sterility would not have been maintained. Insulin aggregation is a hypothesis, which could explain this particulate contamination. This phenomenon, which can be worsened by the presence of silicon oil in syringes⁷⁸, has already been described for aspart insulin in PP⁷⁹. As the aim of this study was to assess the stability or instability of 1 Unit/mL-insulin solutions, aggregation of the peptide was not examined. Finally, sterility was maintained over the study period, in all conditions.

To complete this study, an assessment of other instability-indicating parameters is required (*i.e* maintenance of the hexameric conformation of insulin aspart, detection and quantification of desamido insulin aspart or high molecular weight products by size exclusion chromatography)^{59,80}. Our results cannot be extrapolated to other insulin analogues because stability can be linked to amino acid composition or excipient formulation⁴⁶ or to other plastic materials or storage conditions because of the complexity of container/content interactions.

CONCLUSION

Among the different ways of storing insulin aspart at 1 Unit/mL, the best solution appears to be the COC vial stored at refrigerated temperature (12-month stability). Stability was

maintained for an extra month when stored at ambient temperature after one year's refrigerated storage. Long-time storage should be avoided whether in COC vials (3-month stability) and PP syringes (barely 1-month stability) stored at ambient temperature, or in PP syringes stored at refrigerated temperature (1-month stability). Sterility, which is required by USP 797 for compounded preparations, was not a limitation to this study.

DISCLOSURES

The authors have declared no potential conflicts of interest.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Alexandra Tavernier (M.A. University of Glasgow, Professeur Agrégée, France) for English language and editing assistance.

FOOTNOTES

- a. Insulin aspart commercial solution (100 U/mL), Novorapid[®], Novo Nordisk, Bagsværd, Denmark. Lot number HS67M70; HS64T53.
- b. Acetonitrile HiPerSolv Chromanorm, Fontenay-sous-Bois, France. Lot number 18D241601.
- c. Anhydrous sodium sulfate, Carlo Erba, Darmstadt, Germany. Lot number V5F794106B.
- d. Ultrapure water, Purelab[®] classic system, ELGA Véolia, Wasquehal, France.
- e. Ortho-phosphoric acid solution (85%), AnalaR NORMAPUR[®] VWR International. Lot number 1725488.
- f. Sodium hydroxide solution (35%), AnalR NORMAPUR[®], VWR International. Lot number 17A234001.
- g. 50 mL- polypropylene luer lock syringes Plastipak[®], Becton Dickinson, Le Pont-de-Claix, France.
- h. 50 mL-AT-Closed[®] vials, Aseptic Technologies, Gembloux, Belgium.
- i. M1 filling station, Aseptic Technologies, Gembloux, Belgium.
- j. Peristaltic pump: Flexicon Pump PF6, Watson Marlow, La Queue Lez Yvelines, France.

- k. High performance liquid chromatographic system Agilent® 1260 Infinity LC, Les Ulis, France.
- l. C18 column, Kinetex 2,6 µm 100 x 2,1 mm, coupled with the dedicated C18 cartridge, Phenomenex, Le Peck, France.
- m. Controlled atmosphere, Laminar flow MaxiSafe 2020, Thermo Scientific, Saint Herblain, France.
- n. Hydrochloric acid (10M), Merck KGaA, Darmstadt, Germany. Lot number K48019617624.
- o. Hydroxide sodium (10M), Cooper®, Melun Cedex, France. Lot number 08G220001.
- p. Crystallized phenol, EP grade Cooper®, Melun, France. Lot number 11H300008.
- q. Metacresol (99%) Sigma-Aldrich®, St-Louis, USA. Lot number SHBD0627V.
- r. Hydrogen peroxide 3 vol, Gilbert®, Hérouville Saint-Clair, France. Lot number AC2291.
- s. Heated chamber, Binder® ED 115, Tuttlingen, Germany.
- t. Hanna® HI 223 pH-meter, Hanna Instrument®, Michigan, USA.
- u. Light obscuration spectrometer, APSS-2000®, Particle Measuring System, Dourdan, France.
- v. ChemStation® software, Openlabs CDS, version 01.05.
- w. R software Version 1.2.1335, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

REFERENCES

1. Cook CB, Kongable GL, Potter DJ, Abad VJ, Leija DE, Anderson M. Inpatient glucose control: a glycemic survey of 126 U.S. hospitals. *J Hosp Med.* 2009;4(9):E7-E14. doi:10.1002/jhm.533
2. van den Berghe G, Wouters P, Weekers F, et al. Intensive insulin therapy in critically ill patients. *N Engl J Med.* 2001;345(19):1359-1367. doi:10.1056/NEJMoa011300
3. NICE-SUGAR Study Investigators, Finfer S, Chittock DR, et al. Intensive versus conventional glucose control in critically ill patients. *N Engl J Med.* 2009;360(13):1283-1297. doi:10.1056/NEJMoa0810625
4. Kumar PR, Crotty P, Raman M. Hyperglycemia in Hospitalized Patients Receiving Parental Nutrition Is Associated with Increased Morbidity and Mortality: A Review. *Gastroenterology Research and Practice.* 2010;2011:e760720. doi:10.1155/2011/760720
5. Sarkisian S, Fenton TR, Shaheen AA, Raman M. Parenteral nutrition-associated hyperglycemia in noncritically ill inpatients is associated with higher mortality. *Can J Gastroenterol.* 2010;24(7):453-457.
6. Capes SE, Hunt D, Malmberg K, Gerstein HC. Stress hyperglycaemia and increased risk of death after myocardial infarction in patients with and without diabetes: a systematic overview. *Lancet.* 2000;355(9206):773-778. doi:10.1016/S0140-6736(99)08415-9
7. Bosarge PL, Shoultz TH, Griffin RL, Kerby JD. Stress-induced hyperglycemia is associated with higher mortality in severe traumatic brain injury. *J Trauma Acute Care Surg.* 2015;79(2):289-294. doi:10.1097/TA.0000000000000716
8. der Voort PHJ, Feenstra RA, Bakker AJ, Heide L, Boerma EC, van der Horst ICC. Intravenous glucose intake independently related to intensive care unit and hospital mortality: an argument for glucose toxicity in critically ill patients. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2006;64(2):141-145. doi:10.1111/j.1365-2265.2006.02437.x
9. Coudenys E, De Waele E, Meers G, Collier H, Pen JJ. Inadequate glycemic control in patients receiving parenteral nutrition lowers survival: A retrospective observational trial. *Clinical Nutrition Experimental.* 2018;17:1-7. doi:10.1016/j.yclnex.2017.12.001
10. Mi D, Wang P, Yang B, Pu Y, Yang Z, Liu L. Correlation of hyperglycemia with mortality after acute ischemic stroke. *Ther Adv Neurol Disord.* 2018;11:1756285617731686. doi:10.1177/1756285617731686
11. Marsillio LE, Ginsburg SL, Rosenbaum CH, et al. Hyperglycemia at the Time of Acquiring Central Catheter-Associated Bloodstream Infections Is Associated With Mortality in Critically Ill Children. *Pediatr Crit Care Med.* 2015;16(7):621-628. doi:10.1097/PCC.0000000000000445
12. Atamna A, Ayada G, Akirov A, Shochat T, Bishara J, Elis A. High blood glucose variability is associated with bacteremia and mortality in patients hospitalized with acute infection. *QJM.* 2019;112(2):101-106. doi:10.1093/qjmed/hcy235
13. Tran HV, Gore JM, Darling CE, Ash AS, Kiefe CI, Goldberg RJ. Hyperglycemia and

- risk of ventricular tachycardia among patients hospitalized with acute myocardial infarction. *Cardiovasc Diabetol*. 2018;17(1):136. doi:10.1186/s12933-018-0779-8
14. Li W, Roy Choudhury G, Winters A, et al. Hyperglycemia Alters Astrocyte Metabolism and Inhibits Astrocyte Proliferation. *Aging Dis*. 2018;9(4):674-684. doi:10.14336/AD.2017.1208
 15. Jafar N, Edriss H, Nugent K. The Effect of Short-Term Hyperglycemia on the Innate Immune System. *Am J Med Sci*. 2016;351(2):201-211. doi:10.1016/j.amjms.2015.11.011
 16. Turina M, Fry DE, Polk HC. Acute hyperglycemia and the innate immune system: clinical, cellular, and molecular aspects. *Crit Care Med*. 2005;33(7):1624-1633.
 17. Van den Berghe G. Insulin therapy for the critically ill patient. *Clin Cornerstone*. 2003;5(2):56-63.
 18. Tran KK, Jeffery L, Kibert II, Telford ED, Franck AJ. Intravenous Insulin Infusion Protocol Compared With Subcutaneous Insulin for the Management of Hyperglycemia in Critically Ill Adults: *Annals of Pharmacotherapy*. Published online March 29, 2019. doi:10.1177/1060028019841363
 19. Jacobi J, Bircher N, Krinsley J, et al. Guidelines for the use of an insulin infusion for the management of hyperglycemia in critically ill patients. *Crit Care Med*. 2012;40(12):3251-3276. doi:10.1097/CCM.0b013e3182653269
 20. Lheureux O, Prevedello D, Preiser J-C. Update on glucose in critical care. *Nutrition*. 2019;59:14-20. doi:10.1016/j.nut.2018.06.027
 21. Egi M, Bellomo R, Stachowski E, et al. Hypoglycemia and Outcome in Critically Ill Patients. *Mayo Clinic Proceedings*. 2010;85(3):217-224. doi:10.4065/mcp.2009.0394
 22. Bilotta F, Badenes R, Lolli S, Belda FJ, Einav S, Rosa G. Insulin infusion therapy in critical care patients: regular insulin vs short-acting insulin. A prospective, crossover, randomized, multicenter blind study. *J Crit Care*. 2015;30(2):437.e1-6. doi:10.1016/j.jcrc.2014.10.019
 23. Berruyer M, Atkinson S, Lebel D, Bussi eres J-F. Utilisation de l'insuline en établissement de santé universitaire mère-enfant : analyse des modes de défaillance. *Archives de P diatrie*. 2016;23(1):1-8. doi:10.1016/j.arcped.2015.09.033
 24. A G-R,   SG, JI P-A, A G-N, M A-C. [Preparation and administration of insulin infusions in neonatology: A national survey]. *Anales de pediatria (Barcelona, Spain : 2003)*. doi:10.1016/j.anpedi.2020.06.008
 25. Eskew JA, Jacobi J, Buss WF, Warhurst HM, Debord CL. Using Innovative Technologies to Set New Safety Standards for the Infusion of Intravenous Medications: *Hospital Pharmacy*. Published online July 20, 2017. doi:10.1177/001857870203701112
 26. Vanderveen T. Successful Implementation of the New Paradigm for Medication Safety: Standardization, Technology, Pharmacy, and Culture (STPC). Anesthesia Patient Safety Foundation. Accessed October 2, 2020. <https://www.apsf.org/article/successful-implementation-of-the-new-paradigm-for-medication-safety-standardization-technology-pharmacy-and-culture-stpc/>

27. Petty C, Cunningham NL. Insulin adsorption by glass infusion bottles, polyvinylchloride infusion containers, and intravenous tubing. *Anesthesiology*. 1974;40(4):400-404. doi:10.1097/00000542-197404000-00018
28. Knopp JL, Bishop K, Leros T, Chase JG. Capacity of Infusion Lines for Insulin Adsorption: Effect of Flow Rate on Total Adsorption. *J Diabetes Sci Technol*. Published online September 27, 2019;1932296819876924. doi:10.1177/1932296819876924
29. Knopp JL, Chase JG. Clinical Recommendations for Managing the Impact of Insulin Adsorptive Loss in Hospital and Diabetes Care. *J Diabetes Sci Technol*. Published online April 24, 2020;1932296820915875. doi:10.1177/1932296820915875
30. Hirsch JI, Fratkin MJ, Wood JH, Thomas RB. Clinical significance of insulin adsorption by polyvinyl chloride infusion systems. *Am J Hosp Pharm*. 1977;34(6):583-588.
31. Hirsch JI, Wood JH, Thomas RB. Insulin adsorption to polyolefin infusion bottles and polyvinyl chloride administration sets. *Am J Hosp Pharm*. 1981;38(7):995-997.
32. 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*. 2014;103(8):2255-2267. doi:10.1002/jps.24039
33. Feutry F, Simon N, Genay S, 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*. 2016;42(1):166-174. doi:10.3109/03639045.2015.1038273
34. Jenke D, Castner J, Egert T, et al. Extractables Characterization for Five Materials of Construction Representative of Packaging Systems Used for Parenteral and Ophthalmic Drug Products. *PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology*. 2013;67(5):448-511. doi:10.5731/pdajpst.2013.00933
35. Brandsch J, Piringer O. Characteristics of Plastic Materials - Cyclic olefin copolymers (COC). In: *Plastic Packaging*. John Wiley & Sons, Ltd; 2008:37-38. doi:10.1002/9783527621422.ch2
36. Parenteral preparations in : European Pharmacopeia ed. 10.4. Published online August 2019.
37. Doglietto GB, Bellantone R, Bossola M, et al. Insulin adsorption to three-liter ethylen vinyl acetate bags during 24-hour infusion. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 1989;13(5):539-541.
38. Hewson M, Nawadra V, Oliver J, Odgers C, Plummer J, Simmer K. Insulin infusions in the neonatal unit: delivery variation due to adsorption. *J Paediatr Child Health*. 2000;36(3):216-220. doi:10.1046/j.1440-1754.2000.00488.x
39. Forchielli ML, Bongiovanni F, Platé L, et al. Insulin Instability in Parenteral Nutrition Admixtures. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 2018;42(5):907-912. doi:10.1002/jpen.1024
40. Bassons T, Maria Sanchez J, Bassas L, Cardona D, Ordonez J, Bonal J. Insulina recuperada según los componentes de la nutrición parenteral. *Rev SENPE*. 1985;4(1):93-99.

41. Weber SS, Wood WA, Jackson EA. Availability of insulin from parenteral nutrient solutions. *Am J Hosp Pharm.* 1977;34(4):353-357.
42. Canivet B, Berre A, Macchi P, Grimaud D, Maestracci P, Freychet P. [Adsorption of insulin introduced directly into perfusion bottles]. *Pathol Biol.* 1983;31(1):37-40.
43. Ichikawa E, Kimura M, Mori H, Yamazaki F, Hirano K. Apparent increase of insulin peak area in HPLC analysis of a preparation consisting of a mixture of insulin and total parenteral nutrition. *Chem Pharm Bull.* 2006;54(8):1196-1199.
44. Yu K-H, Tsao H-L, Lin S-J, Chen C-Y. Quantitative analysis of insulin in total parenteral nutrition bag in Taiwan. *Journal of Food and Drug Analysis.* 2016;24(1):214-219. doi:10.1016/j.jfda.2015.08.003
45. Xu X, Fu Y, Hu H, Duan Y, Zhang Z. Quantitative determination of insulin entrapment efficiency in triblock copolymeric nanoparticles by high-performance liquid chromatography. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.* 2006;41(1):266-273. doi:10.1016/j.jpba.2005.10.016
46. Masse M, Maton M, Genay S, et al. In vitro assessment of the influence of intravenous extension set materials on insulin aspart drug delivery. *PLoS ONE.* 2018;13(8):e0201623. doi:10.1371/journal.pone.0201623
47. Préta L-H, Genay S, Malat C, et al. Optimising insulin aspart practices in a neonatal intensive care unit: a clinical and pharmaco-technical study. *Eur J Pediatr.* Published online April 17, 2021. doi:10.1007/s00431-021-04041-y
48. SFPC, GERPAC. Methodological guidelines for stability studies of hospital pharmaceutical preparations - 2013. Accessed October 3, 2020. <https://www.gerpac.net/platform/course/view.php?id=11>
49. Eur. Ph., General, Particulate contamination: sub-visible particles, In : The European Pharmacopoeia, ed 10.4., Chapter 2.9.19.
50. USP General Chapter <797> Pharmaceutical Compounding - Sterile Preparations. Published online May 1, 2018.
51. European directorate for the quality of medicines : 2.6.1. Sterility. In European Pharmacopeia 9.6 éd. 01.2019. <http://online.pheur.org/EN/entry.htm>
52. Hubert P, Nguyen-Huu J-J, Boulanger B, et al. Harmonization of strategies for the validation of quantitative analytical procedures. A SFSTP proposal--part II. *J Pharm Biomed Anal.* 2007;45(1):70-81. doi:10.1016/j.jpba.2007.06.013
53. Senstius J, Harboe E, Westermann H. In vitro stability of insulin aspart in simulated continuous subcutaneous insulin infusion using a MiniMed 508 insulin pump. *Diabetes Technol Ther.* 2007;9(1):75-79. doi:10.1089/dia.2006.0041
54. Senesh G, Bushi D, Neta A, Yodfat O. Compatibility of Insulin Lispro, Aspart, and Glulisine with the SoloTM MicroPump, a Novel Miniature Insulin Pump. *J Diabetes Sci Technol.* 2010;4(1):104-110.
55. Lougheed WD, Zinman B, Strack TR, et al. Stability of insulin lispro in insulin infusion

systems. *Diabetes Care*. 1997;20(7):1061-1065. doi:10.2337/diacare.20.7.1061

56. Lull ME, Piacentino JJ, Traina AN. Stability of U-500 regular insulin in prefilled syringes. *J Am Pharm Assoc (2003)*. 2013;53(3):304-306. doi:10.1331/JAPhA.2013.12164
57. Shah HS, Rubin RF, Lakhwani GR, DiGregorio R, Dave RH. Stability of Insulin Detemir Injection in Different Primary Packaging Systems at Room Temperature. *J Pharm Pract*. Published online August 13, 2019;897190019867852. doi:10.1177/0897190019867852
58. 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*. 1991;48(12):2631-2634.
59. Stickelmeyer MP, Graf CJ, Frank BH, Ballard RL, Storms SM. Stability of U-10 and U-50 dilutions of insulin lispro. *Diabetes Technol Ther*. 2000;2(1):61-66. doi:10.1089/152091599316757
60. Rocchio MA, Belisle CD, Greenwood BC, Cotugno MC, Szumita PM. Evaluation of the maximum beyond-use-date stability of regular human insulin extemporaneously prepared in 0.9% sodium chloride in a polyvinyl chloride bag. *Diabetes Metab Syndr Obes*. 2013;6:389-392. doi:10.2147/DMSO.S51843
61. Greenwood BC, Chesnick MA, Szumita PM, Belisle C, Cotugno M. Stability of Regular Human Insulin Extemporaneously Prepared in 0.9% Sodium Chloride in a Polyvinyl Chloride Bag. *Hosp Pharm*. 2012;47(5):367-370. doi:10.1310/hpj4705-367
62. Sürmelioglu N, Nenni M, Firat A, Demirkan K, Özcengiz D. Evaluation of Regular Insulin Adsorption to Polypropylene Bag and Polyvinyl Chloride Infusion Set. *Int J Clin Pract*. Published online December 5, 2020:e13895. doi:10.1111/ijcp.13895
63. Préta L-H, Henry H, Masse M, et al. Instability of Insulin Aspart Diluted in Dextrose. *Diabetes Care*. 2020;43(7):e77-e78. doi:10.2337/dc19-2462
64. Fleury-Souverain S, Sigrist T, Griffiths W, Ing H, Matthey B, Bonnabry P. The stability of soluble insulin in plastic syringes. *EJHP Science*. 2011;17(1):3-6.
65. Novorapid - Summary of Product Characteristics.
66. Seifi A, Mowla A, Vaziri MMT, Talei AR, Namazy MR. Insulin adsorbance to polyvinylchloride (PVC) surfaces of fluid container and infusion-set. *Middle East J Anaesthesiol*. 2004;17(5):975-981.
67. Thompson CD, Vital-Carona J, Faustino EVS. The effect of tubing dwell time on insulin adsorption during intravenous insulin infusions. *Diabetes Technol Ther*. 2012;14(10):912-916. doi:10.1089/dia.2012.0098
68. Jakobsson T, Shulman R, Gill H, Taylor K. The Impact of Insulin Adsorption onto the Infusion Sets in the Adult Intensive Care Unit. *J Diabetes Sci Technol*. 2009;3(1):213-214. doi:10.1177/193229680900300126
69. Peterson L, Caldwell J, Hoffman J. Insulin adsorbance to polyvinylchloride surfaces with implications for constant-infusion therapy. *Diabetes*. 1976;25(1):72-74.
70. Yu K-H, Tsao H-L, Lin S-J, Chen C-Y. Quantitative analysis of insulin in total

parenteral nutrition bag in Taiwan. *Journal of Food and Drug Analysis*. 2016;24(1):214-219. doi:10.1016/j.jfda.2015.08.003

71. Rusavý Z, Sramek V, Suchat R, Lacigova S, Topolcan O. Effects of carrier solution on insulin bioavailability. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 2004;28(6):439-441. doi:10.1177/0148607104028006439

72. Knopp JL, Bishop K, Chase JG. A finite element model for insulin adsorption in ICU infusion sets. *Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society IEEE Engineering in Medicine and Biology Society Annual International Conference*. 2019;2019:1682-1685. doi:10.1109/EMBC.2019.8856797

73. Brange J, Langkjaer L. Chemical stability of insulin. 3. Influence of excipients, formulation, and pH. *Acta Pharm Nord*. 1992;4(3):149-158.

74. Melberg SG, Havelund S, Villumsen J, Brange J. Insulin compatibility with polymer materials used in external pump infusion systems. *Diabet Med*. 1988;5(3):243-247. doi:10.1111/j.1464-5491.1988.tb00977.x

75. Poulsen C, Langkjaer L, Worsøe C. Precipitation of insulin products used for continuous subcutaneous insulin infusion. *Diabetes Technol Ther*. 2005;7(1):142-150. doi:10.1089/dia.2005.7.142

76. Poulsen C, Langkjaer L, Worsøe C. Precipitation of insulin aspart and insulin glulisine products used for continuous subcutaneous insulin infusion. *Diabetes Technol Ther*. 2007;9(1):26-35. doi:10.1089/dia.2006.0054

77. Gilliot S, Masse M, Genay S, et al. Long-term stability of ready-to-use norepinephrine solution at 0.2 and 0.5 mg/mL. *Eur J Hosp Pharm*. 2020;27(e1):e93-e98. doi:10.1136/ejhpharm-2019-002146

78. Nayef L, Khan MF, Brook MA. The stability of insulin solutions in syringes is improved by ensuring lower molecular weight silicone lubricants are absent. *Heliyon*. 2017;3(3). doi:10.1016/j.heliyon.2017.e00264

79. Fristrup CJ, Jankova K, Eskimerger R, Bukrinsky JT, Hvilsted S. Stability of Asp(B28) Insulin Exposed to Modified and Unmodified Polypropylene. *Protein Pept Lett*. 2015;22(7):635-643. doi:10.2174/0929866522666150526154007

80. Kerr D, Wizemann E, Senstius J, Zacho M, Ampudia-Blasco FJ. Stability and performance of rapid-acting insulin analogs used for continuous subcutaneous insulin infusion: a systematic review. *J Diabetes Sci Technol*. 2013;7(6):1595-1606. doi:10.1177/193229681300700620

KEYWORDS

insulin aspart, drug stability, intravenous administration, stability-indicating method

KEY POINTS

The stability of pharmacy-diluted 1-Unit/mL insulin aspart saline solution depends on storage temperature and the type of containers.

At ambient temperature, the beyond-use-date of pharmacy-diluted 1-Unit/mL insulin aspart solution compounded in polypropylene (PP) syringes is 1 month; cyclic olefin copolymer (COC) vials can be stored for 3 months.

The stability of pharmacy-diluted 1-Unit/mL insulin aspart saline solution was maintained for 1 month in PP-syringes and for 12 months in COC vials stored under refrigeration (+5°C.)

FIGURES

Figure 1. Insulin aspart, phenol and metacresol concentrations in 1 Unit/mL Novorapid® solution diluted in saline and stored in either COC vials or PP syringes at ambient (+25°C/60% relative humidity) and refrigerated (+5°C) temperatures. Legend: C/C0 (%) represents the ratio of the concentration of insulin aspart, phenol and metacresol at day D to their initial concentration on the preparation day. Error bars are included in all graphs, but only the highest values are visible because of the scale.

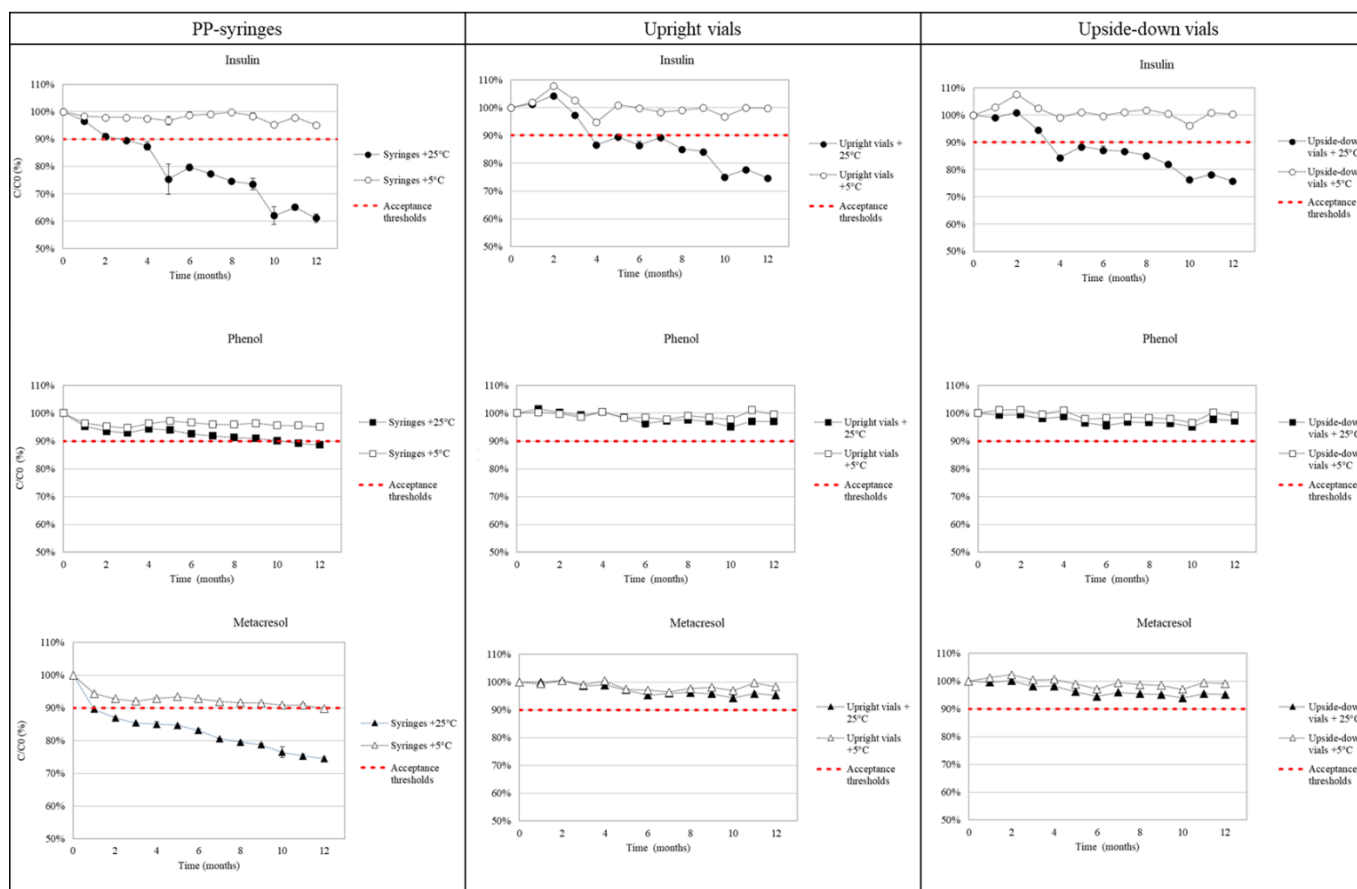
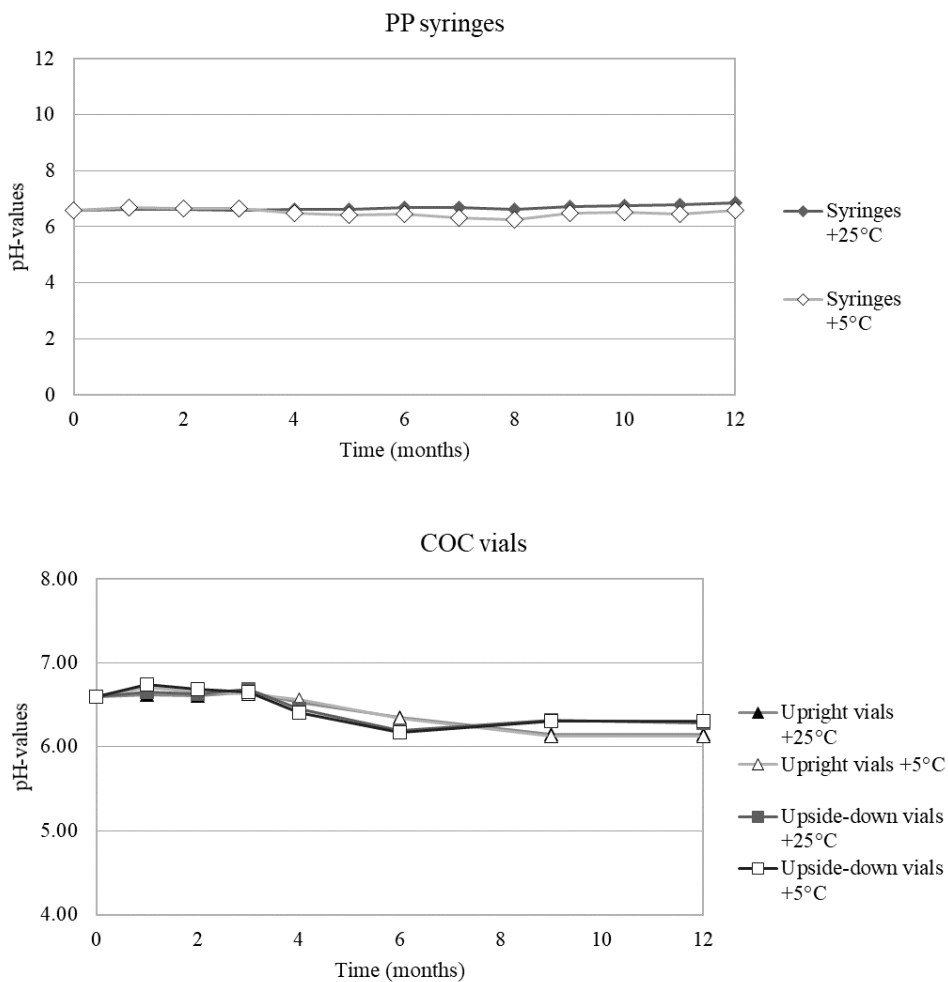


Figure 2. pH values of insulin solution (Novorapid[®] diluted 1:100 in saline) in syringes and upright and upside-down vials at either +25°C with 60% relative humidity, or +5°C (n=3). Error bars are included but are not visible due to the scale.



2.5. Conclusion sur l'ensemble des études de stabilité

Ces résultats nous permettent de conclure sur la compatibilité de la préparation de seringues ou de flacons en COC prêts à l'emploi contenant du midazolam 10 mg/mL (à partir d'une solution commerciale de midazolam 50mg/10mL, Mylan), de la noradrénaline bitartrate 0,2 et 0,5 mg/mL (à partir d'une solution commerciale de noradrénaline 2 mg/mL, Mylan), de la dobutamine 1 mg/mL (à partir d'une solution commerciale de dobutamine 250 mg/50mL, Panpharma), et de l'insuline asparte 1 U/mL (à partir d'une solution commerciale d'insuline asparte 100U/mL, Novorapid®, Novo Nordisk) avec une activité de CIVAS grâce à la conservation de leur stabilité sur le long-terme.

Ces études ont montré de manière générale un gain de stabilité avec le stockage à température réfrigérée. La congélation a montré un intérêt moindre puisque les stabilités sont les mêmes ou moins importantes que celles obtenues à +5°C, et qu'il existe un risque lié à la congélation/décongélation en routine.

L'étude de stabilité de la dobutamine diluée a permis de montrer qu'en raison de l'expansion du volume pris par les solutions qui se solidifient au moment de la congélation, les flacons en COC de 50 mL ne peuvent contenir qu'un volume de 45 mL si ce type de stockage est choisi ; le choix d'un volume de remplissage supérieur à 45 mL expose à un risque de rupture du COC.

Ces études font parmi des premières à démontrer des stabilités de solutions médicamenteuses injectables dans des flacons en COC. Par ailleurs, ce sont des études de stabilité particulièrement longues par rapport aux données classiquement retrouvées dans la littérature. Ces études pourront servir de support pour le développement de CIVAS en permettant d'envisager la production de quantités importantes de solutions prêtes à l'emploi.

En comparaison avec les seringues en PP, les flacons en COC ont montré plusieurs avantages :

- Une meilleure stabilité chimique ou physique pour certaines préparations injectables
- La possibilité d'automatiser la préparation, réduisant ainsi le risque d'erreur humaine et augmentant la productivité

- Une économie de place concernant le stockage grâce à leur petite taille optimisée, et un positionnement plus simple dans les armoires réfrigérées ou les automates de délivrance.

L'avantage conféré vis-à-vis de la stabilité physico-chimique est lié aux caractéristiques du COC qui a une moins bonne perméabilité aux gaz que le PP, et à une bonne inertie vis-à-vis des composants chimiques.

PARTIE II : ÉVALUATION DE LA CONTRIBUTION DE LA MODÉLISATION DANS L'OPTIMISATION DE L'EMPLOI DES MÉDICAMENTS INJECTABLES

La modélisation pharmacocinétique/pharmacodynamique pour optimiser les schémas thérapeutiques de médicaments injectables

La pharmacocinétique de l'acide tranexamique en curatif dans l'hémorragie du post-partum

1. La modélisation pharmacocinétique populationnelle pour optimiser les schémas thérapeutiques des médicaments injectables.

1.1. Principe de l'individualisation thérapeutique et bases physiologiques de la pharmacocinétique

La sécurisation de la prise en charge médicamenteuse repose sur le choix par le clinicien du bon schéma thérapeutique, afin que celui-ci soit aussi efficace que possible et bien toléré par le patient.

Dans la majorité des situations cliniques, le site d'administration du médicament diffère de son site d'action. On choisit alors d'administrer le médicament par voie orale ou injectable afin que le médicament soit distribué dans l'organisme par la circulation sanguine jusqu'à son site d'action. Le passage du médicament de sa forme galénique à la circulation sanguine consiste en la phase d'Absorption (A)^[124,125].

En administrant le médicament directement dans le sang circulant, par voie intravasculaire, on s'affranchit de cette étape.

Une fois absorbé, le médicament transporté dans le sang circulant va être distribué dans les tissus et organes de l'organisme en fonction de son affinité avec ceux-ci : il s'agit de l'étape de Distribution (D). Il va éventuellement, en fonction de son affinité, se fixer de manière réversible aux protéines plasmatiques. La fraction libre du médicament, non liée aux protéines, va poursuivre son chemin jusqu'à son site d'action en passant éventuellement par les organes de métabolisation et puis va être éliminée.

Le Métabolisme (M) correspond à la transformation du médicament par l'organisme et est essentiellement le fruit de réactions enzymatiques dont l'action va soit :

- activer une prodrogue ;
- inactiver un médicament et faciliter son élimination.

L'Excrétion (E) du métabolite ou de la forme non modifiée du médicament administré est principalement rénale ou biliaire.

On définit par pharmacocinétique clinique l'application des principes pharmacocinétiques à la gestion thérapeutique sûre et efficace des médicaments chez un patient donné. Dans ce cadre, l'effet thérapeutique d'un médicament, pour un patient donné est souvent lié à la concentration du principe actif au niveau du site d'action. De ce fait, il serait utile de surveiller cette concentration sur le site d'action,

mais celle-ci est souvent inaccessible à une observation directe. En revanche, il est possible de mesurer la concentration du principe actif dans les fluides biologiques tels que le sang ou le plasma, l'urine, la salive et d'autres fluides car ils sont faciles à prélever.

Toutes les hypothèses à la base de la pharmacocinétique clinique sont fondées sur la notion d'homogénéité cinétique, c'est-à-dire sur la relation prévisible entre la concentration du principe actif dans un fluide biologique et la concentration au niveau du site d'action. En d'autres termes, lorsque l'on étudie les concentrations d'un principe actif dans le plasma, on suppose que ces concentrations plasmatiques sont directement liées aux concentrations tissulaires qui sont responsables de la correction du processus pathologique. Toutefois, cette hypothèse n'est pas nécessairement vraie pour tous les principes actifs. C'est pour cette raison que la pharmacocinétique clinique ne peut s'appliquer à tous les médicaments.

Selon ces principes théoriques, l'efficacité thérapeutique d'un médicament est corrélée à sa concentration circulante, elle-même reliée à la dose administrée. Pourtant, en pratique, ce concept d'homogénéité cinétique montre une grande variabilité d'un patient à un autre ; ainsi une même dose peut donner chez différents patients des réponses thérapeutiques différentes.

De nombreux facteurs pharmacocinétiques entraînent une variabilité des concentrations plasmatiques de principes actifs et par conséquent une variabilité des réponses pharmacologiques. Parmi ces facteurs, il est possible de citer les facteurs influençant :

- **L'absorption du médicament.** Par exemple, l'absorption d'un médicament par voie intramusculaire dépendra de la masse musculaire du patient et donc indirectement de sa masse corporelle et de son âge. Un autre exemple est le fait que l'absorption d'un médicament par voie orale pourra dépendre du pH gastrique et intestinal au moment de la prise du médicament.
- **La distribution du médicament** peut dépendre du rapport masse maigre/masse grasse d'un patient et donc indirectement de sa masse corporelle et de son âge ; mais également de la liaisons aux protéines plasmatiques et donc de la concentration en protéines plasmatiques.
- **Le métabolisme du médicament.** Celui-ci dépendra de l'activité des enzymes de métabolisation, situées majoritairement dans le foie et l'intestin. L'activité

enzymatique sera ainsi dépendante du patrimoine génétique du patient, mais également de certaines pathologies comme l'insuffisance hépatique, par exemple.

- **L'excrétion rénale du médicament.** Cette excrétion est liée à la capacité de filtration des reins, dont les marqueurs fonctionnels principaux sont la clairance à la créatinine et le débit de filtration glomérulaire.
- **La prise concomitante d'un autre médicament.** Cette prise concomitante de médicaments est à l'origine de plusieurs interférences au niveau pharmacocinétique telle qu'une modification de la fixation sur les protéines plasmatiques, ou encore une modification de la métabolisation. Toutes ces interférences sont connues sous le terme d'interactions médicamenteuses.

Ainsi, pour une même dose d'un médicament administrée chez des patients différents, les concentrations circulantes peuvent varier fortement et engendrer une variation de l'effet thérapeutique. Pour un certain nombre de médicaments, cette variabilité n'aura pas d'impact clinique ; et dans cette situation, une posologie fixe peut être administrée chez l'ensemble des sujets pour un effet thérapeutique attendu similaire. En revanche, pour d'autres médicaments, la variabilité aura un impact clinique et l'adaptation posologique individuelle sera un enjeu pour la guérison clinique du patient et la tolérance du traitement. Sont particulièrement concernés par cette problématique les médicaments dits « à marge thérapeutique étroite », c'est-à-dire pour lesquels les concentrations efficaces et toxiques sont proches.

Pour ces médicaments, un suivi thérapeutique pharmacologique (STP) peut se révéler nécessaire. Ce STP est défini comme l'utilisation des procédures de dosage pour déterminer les concentrations des principes actifs dans le plasma, ainsi que l'interprétation et l'application des données résultantes pour développer des protocoles thérapeutiques sûrs et efficaces ; la finalité du STP est de construire un schéma thérapeutique grâce auquel la concentration sanguine du principe actif au cours du temps depuis son administration fluctue dans la marge thérapeutique (Figure 22).

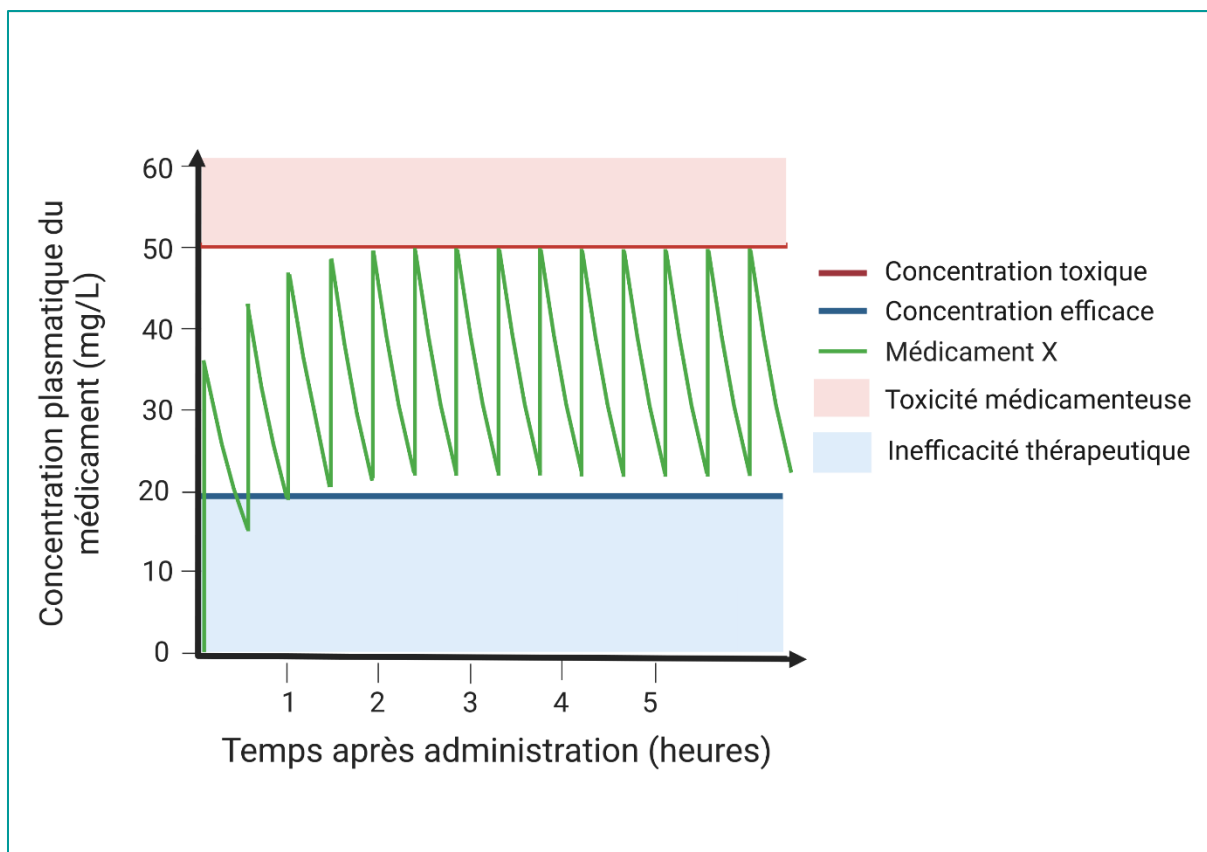


Figure 22 - Schématisation du concept de fenêtre thérapeutique (production originale, créée avec BioRender.com).

Comme nous l'avons vu précédemment, le devenir d'un principe actif dans l'organisme peut être très complexe, car plusieurs processus (tels que l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'excrétion) agissent différemment pour modifier les concentrations en principe actif dans les tissus et les fluides biologiques. Il est donc nécessaire de simplifier l'ensemble de ces processus corporels pour prévoir l'évolution dans le temps d'un principe actif dans l'organisme. L'une des façons de procéder à ces simplifications est d'appliquer des principes mathématiques aux différents processus. La méthode la plus classique qui est utilisée est la représentation du corps en différentes structures reliées entre elles. Cette représentation est souvent appelée « modèle ». La construction et le choix du modèle le plus adapté, est dénommée « modélisation ».

1.2. Outils de modélisation pharmacocinétique

La modélisation pharmacocinétique consiste à expliquer l'évolution de la concentration du médicament en fonction du temps grâce à une ou plusieurs équations mathématiques intégrant plusieurs paramètres explicatifs.

Conceptuellement, on distingue deux approches de pharmacocinétique, l'approche non compartimentale et l'approche compartimentale.

1.2.1. L'approche non compartimentale

1.2.1.1. Théorie

L'approche non compartimentale (ANC) a été décrite de manière générale par Yamaoka^[126] puis, par Cutler^[127] pour le calcul spécifique du temps moyen d'absorption. Riegelman et Collier^[128] ont retravaillé et clarifié ce concept, donnant lieu à la théorie du moment statistique.

La théorie du moment statistique et l'application à la pharmacocinétique reposent sur le principe que le mouvement de molécules de médicament prises individuellement, à travers un compartiment du corps, est régi par une probabilité^[129]. En effet, comme les molécules de médicaments sont indépendantes, les unes des autres, elles ne vont pas toutes, transiter à la même vitesse dans un compartiment. Leur temps de transit va varier autour d'une valeur moyenne. On parlera donc de Temps de Transit Moyen (TTM). On démontre selon ce concept que le temps moyen de séjour (TMS) est défini par la formule suivante :

$$TMS = \int_0^{\infty} F(t) dt$$

Où $F(t)$ est la fraction restante de molécule à chaque instant t

On peut donc définir $F(t)$ comme

$$F(t) = \frac{Q_T - Q_t}{Q_T}$$

Où Q_T est la quantité totale présente dans le compartiment étudié et Q_t la quantité éliminée de ce compartiment dans l'intervalle 0 à t .

On sait que ces quantités peuvent s'exprimer mathématiquement de la manière suivante :

$$Q_T = \int_0^{\infty} c(t)dt$$

Et

$$Q_t = \int_0^t c(t)dt$$

Où $C(t)$ est la fonction d'évolution de la concentration en fonction du temps.

Donc on a :

$$F(t) = \frac{\int_0^{\infty} c(t)dt - \int_0^t c(t)dt}{\int_0^{\infty} c(t)dt}$$

Soit

$$TMS = \int_0^{\infty} \frac{\int_0^{\infty} c(t)dt - \int_0^t c(t)dt}{\int_0^{\infty} c(t)dt}$$

Il est possible de démontrer que cette fonction se simplifie de la manière suivante :

$$TMS = \frac{\int_0^{\infty} t \cdot c(t)dt}{\int_0^{\infty} c(t)dt}$$

On peut alors définir le TMS comme le rapport suivant :

$$TMS = \frac{ASMC}{ASC}$$

Où l' $ASMC$ correspond à l'aire sous la courbe du moment statistique en fonction du temps.

$$ASMC = \int_0^{\infty} tC(t)dt$$

Et où l' ASC correspond à l'aire sous la courbe de la concentration plasmatique en fonction du temps.

$$ASC = \int_0^{\infty} C(t)dt$$

1.2.1.2. Détermination du TMS

Pour déterminer le TMS à l'aide du calcul de l'ASMC et de l'ASC, il est possible de ne pas avoir recours au lissage de courbe et d'utiliser la méthode des trapèzes, encore appelée méthode linéaire ou la méthode alternative dénommée méthode dite log-linéaire (Figure 23).

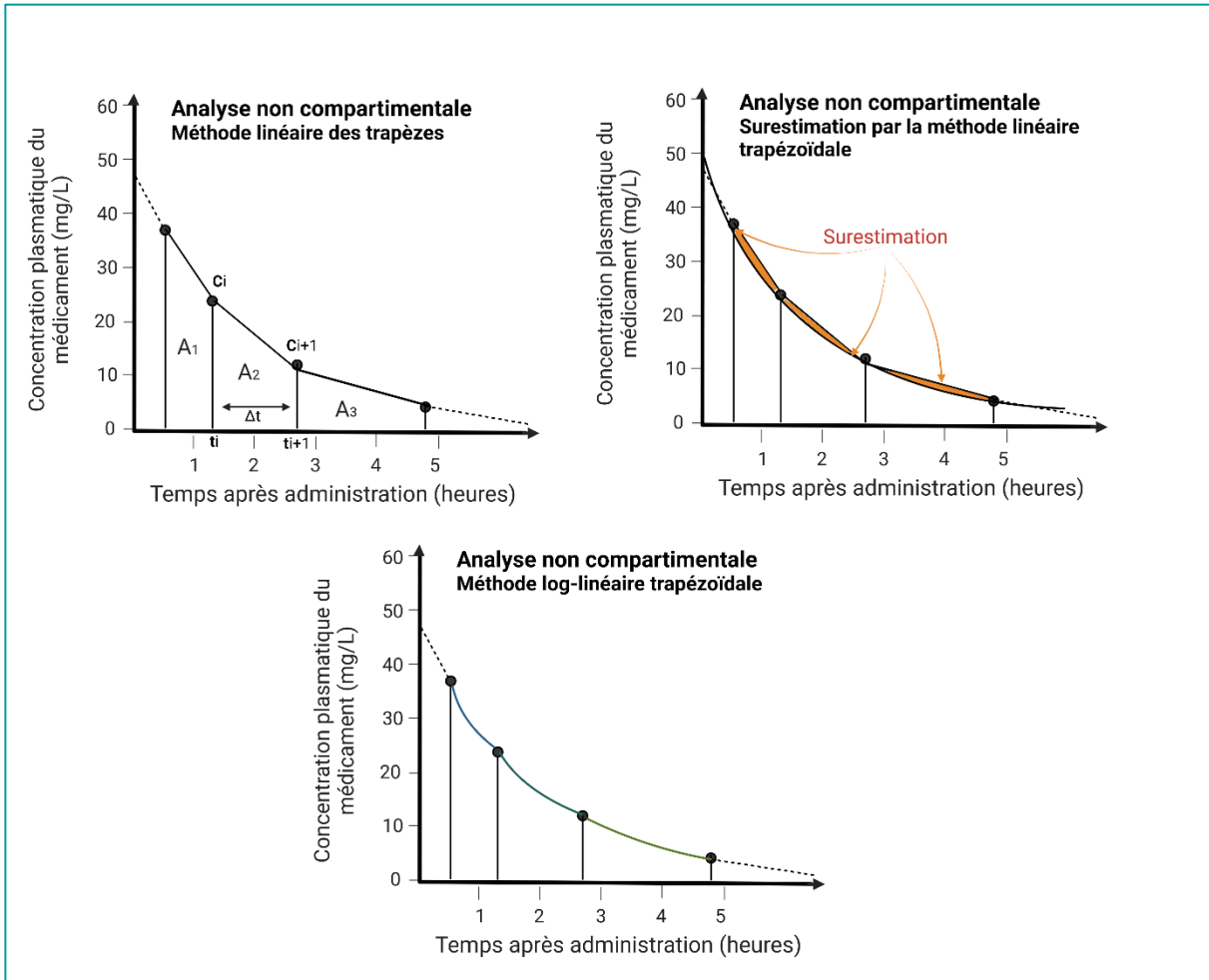


Figure 23 - Principe de l'analyse non compartimentale, de la méthode linéaire des trapèzes et de la méthode log-linéaire des trapèzes (production originale, créée avec BioRender.com).

L'ASC, dans la méthode linéaire, est la somme des surfaces des trapèzes tracés suivant la courbe d'évolution des concentrations plasmatiques d'un médicament en fonction du temps, tel que :

$$ASC_0^t = \sum_0^t \frac{C_n + C_{n+1}}{2} \Delta t$$

À moins que l'on ait échantillonné suffisamment longtemps dans le temps pour que les concentrations soient négligeables, l'ASC telle que définie ci-dessus va sous-estimer la véritable ASC. Il peut donc être nécessaire d'extrapoler la courbe jusqu'à ce que t tende vers l'infini ; ce qu'il est possible de faire en calculant le rapport entre le dernier point de concentration mesuré et la constante d'élimination, calculée graphiquement :

$$ASC = \int_0^{\infty} C(t) dt = \sum_0^t \frac{C_n + C_{n+1}}{2} \Delta t + \frac{C_{fin}}{ke}$$

La surface extrapolée doit idéalement être la plus petite possible par rapport à la surface totale. En théorie, l'ASC_t[∞] ne devrait pas dépasser 20-25% de l'ASC totale.

La méthode linéaire surestime la surface pendant la phase descendante en supposant que l'élimination est de premier ordre (Figure 23). Cette erreur de sur-estimation est plus prononcée si l'intervalle d'échantillonnage Δt est grand par rapport à la demi-vie. Les surfaces peuvent être donc calculées au moyen de la règle log-linéaire. Il est à noter que l'approximation log-linéaire n'est vraie que si la décroissance est vraiment mono-exponentielle entre t_i et t_{i+1}.

La formule est la suivante :

$$ASC_0^t = \sum_0^{t_n} \frac{C_n - C_{n-1}}{\ln\left(\frac{C_{n-1}}{C_n}\right)} \times (t_n - t_{n-1})$$

De la même manière que l'ASC, l'ASMC peut être déterminée à l'aide de la méthode des trapèzes, selon la formule :

$$ASMC = \sum_0^t \frac{t_n C_n + t_{n+1} C_{n+1}}{2} \Delta t + \frac{C_{fin}}{ke^2} + \frac{t_{fin} C_{fin}}{ke}$$

Grâce à cette méthode, il est possible de déterminer de nombreux paramètres pharmacocinétiques en fonction de la voie d'administration. Ainsi, par exemple, avec une administration intraveineuse, les calculs sont les suivants :

$$TMS_{IV} = TME = \frac{1}{k_{el}}$$

Où TMS_{IV} est le Temps Moyen de Séjour après une administration intraveineuse, TME est le Temps Moyen d'Élimination, k_{el} est la constante de vitesse d'élimination

Dans le cas d'une administration extravasculaire, le Temps Moyen de Séjour du médicament sera égal à la somme des Temps Moyens d'Absorption et d'Élimination ; en effet, à l'inverse de l'administration intraveineuse, le Temps Moyen d'Absorption est non nul pour les médicaments administrés par voie orale.

$$\text{Ainsi, } TMS_{Ev} = TMA + TME$$

$$\text{Soit encore, } TMA = TMS_{Ev} - TME = \frac{1}{k_a}$$

Avec TMS_{Ev} , le Temps Moyen de Séjour après une administration ExtraVasculaire ; TME , le Temps Moyen d'Élimination ; TMA , le Temps Moyen d'Absorption, et k_a la constante de vitesse d'absorption.

À chaque découverte d'un nouvel espace cinétique, il sera possible de l'ajouter au modèle précédent.

Du fait de sa robustesse et du fait qu'elle ne suppose aucune hypothèse, la méthode non compartimentale est très utilisée dans les études précoces de pharmacocinétique. La pharmacocinétique clinique est, elle, plus souvent basée sur l'approche compartimentale.

1.2.2. L'approche compartimentale

L'approche compartimentale repose sur l'assimilation d'un organisme à un ensemble de boîtes reliées entre elles. Ces boîtes sont appelées « compartiments » et les liens entre ces compartiments modélisent les transferts de quantité de principes actifs entre eux.

Pour comprendre les calculs basés sur cette théorie, il est nécessaire de poser 3 postulats :

- La quantité dans le compartiment est toujours homogène au sein de celui-ci (postulat 1),

- Les échanges entre chaque compartiment seront caractérisés par des constantes d'élimination (postulat 2),
- Les compartiments ne sont pas représentatifs d'un organe (postulat 3).

1.2.2.1. Définition des paramètres : volume, constantes de transfert, constantes d'élimination et clairance.

Chaque compartiment est caractérisé par une quantité et un volume. Ce volume correspond au volume fictif dans lequel est distribué homogènement (postulat 1) la quantité de principe actif. Il est souvent exprimé en litres. Si le modèle contient plusieurs compartiments, le volume de distribution correspondant au volume du compartiment 1, souvent appelé compartiment central (souvent assimilé au sang circulant) dans lequel est distribué le principe actif. Il peut être rapporté au poids corporel du sujet, et s'exprime alors en litres/kilogrammes (L/kg).

Les échanges de médicaments entre les compartiments sont caractérisés par des constantes de transfert (k_{XY}), appelées « micro-constantes » (postulat 2). Elles représentent le lien entre la quantité de principe actif (Q_X effectivement présente à l'instant t dans un compartiment X et la vitesse de transfert du principe actif $\left(\frac{dQ_X}{dt}\right)$ vers un autre compartiment selon la formule :

$$\frac{dQ_X}{dt} = \pm k_{XY} \cdot Q_X^n$$

Où le signe devant la constante de transfert signifie transfert entrant quand il est positif et sortant quand il est négatif. Les indices X et Y signifient que la constante de transfert représente le flux du compartiment X vers Y , et n correspond à l'ordre de la réaction.

Ces constantes de transfert sont ainsi également appelées constantes de vitesse et elles s'expriment comme l'inverse d'une unité de temps.

Quand il existe une relation entre la vitesse de transfert et la quantité de médicaments présente dans le compartiment, cela signifie que $n=1$, on parle alors d'une cinétique d'ordre 1.

Il existe le cas où $n=0$, dans ce cas la cinétique se caractérise par une équation du type :

$$\frac{dQ_X}{dt} = \pm k_{XY}$$

Dans ce cas, la vitesse de transfert est constante au cours du temps et ne dépend d'aucune variable. Cette situation est rencontrée lors des administrations par perfusion ou lors des transferts pour lesquels la vitesse maximale est atteinte, comme par exemple, lors d'une capacité de métabolisation saturée.

La dernière cinétique découle des 2 précédentes. En effet, il est démontré qu'entre le moment où une cinétique est d'ordre 1 et le moment où elle devient d'ordre 0, il existe une phase intermédiaire où la cinétique est dite michaelienne, elle dépend de 2 variables (postulat 2), de la vitesse maximale (V_{max}) et de la concentration nécessaire pour atteindre 50% de la vitesse maximale (K_m) et répond à l'équation suivante :

$$\frac{dQ_X}{dt} = \pm \frac{V_{max} \cdot Q_X}{K_m + Q_X}$$

Il est possible de convertir les constantes de transfert en clairance grâce au volume du compartiment dont elles sont issues selon la formule :

$$Cl_{XY} = k_{XY} \cdot V_X$$

Les micro-constantes, les volumes et les clairances sont considérés comme des paramètres « fixes » car ils ne varient pas en fonction du temps, pour un individu donné.

1.2.2.2. Représentation des modèles compartimentaux

L'évolution de la quantité de médicament qui occupe chaque compartiment peut être représentée selon un système d'équations différentielles décrivant le bilan entrées-sorties du médicament vis-à-vis de chaque compartiment.

Comme il a été précisé dans les lignes précédentes, les constantes de transfert sont définies par la lettre k suivi de 2 chiffres afin de décrire le flux. Ainsi si on veut qualifier le transfert du compartiment 1 vers 2, on utilisera la dénomination suivante k_{12} . Pour le flux inverse du compartiment 2 vers 1, la dénomination deviendra k_{21} .

Il existe 2 exceptions fréquentes à cette nomenclature. Le flux entrant dans le compartiment 1 doit être dénommé k_{01} or il est usuellement appelé k_a pour constante d'absorption. De même, le flux sortant du compartiment 1 devrait être dénommé k_{10} or il est usuellement appelé k_e ou k_{el} , pour constante d'élimination.

Pour illustrer ces concepts, les Tableaux 13, 14 et 15 regroupent les représentations graphiques des modèles mono-, bi- et tri- compartimental, usuellement utilisés en pharmacocinétique clinique par approche compartimentale et les systèmes d'équations différentielles qui les décrivent.

Tableau 13 - Représentation générale des modèles compartimentaux usuellement utilisés en pharmacocinétique clinique après une administration intraveineuse directe (bolus).

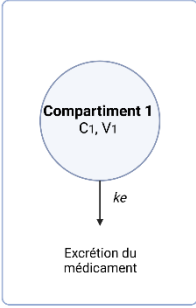
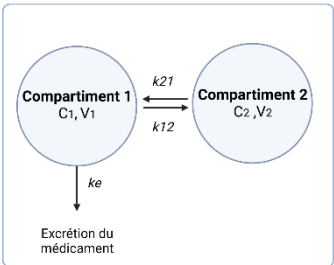
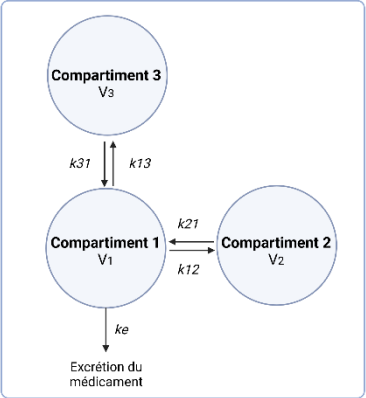
Représentation graphique	Système d'équations différentielles
	$\frac{dQ_1}{dt} = -k_e \times Q_1$
	$\frac{dQ_1}{dt} = k_{21} \times Q_2 - (k_e + k_{12}) \times Q_1$ $\frac{dQ_2}{dt} = k_{12} \times Q_1 - k_{21} \times Q_2$
	$\frac{dQ_1}{dt} = -k_e \times Q_1 - (k_{12} + k_{13}) \times Q_1 + k_{21} \times Q_2 + k_{31} \times Q_3$ $\frac{dQ_2}{dt} = k_{12} \times Q_1 - k_{21} \times Q_2$ $\frac{dQ_3}{dt} = k_{13} \times Q_1 - k_{31} \times Q_3$
<p>Légende : Q_1 : quantité de médicament dans le compartiment 1, Q_2 : quantité de médicament dans le compartiment 2, Q_3 : quantité de médicament dans le compartiment 3, k_{12} et k_{21} : constantes de transfert entre les compartiments 1 et 2, k_{13} et k_{31} : constantes de transfert entre les compartiments 1 et 3, k_e : constante d'élimination à partir du compartiment 1</p>	

Tableau 14 - Représentation générale des modèles compartimentaux usuellement utilisés en pharmacocinétique clinique après une perfusion intraveineuse.

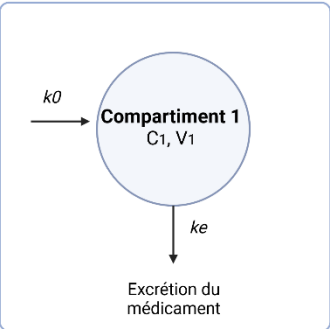
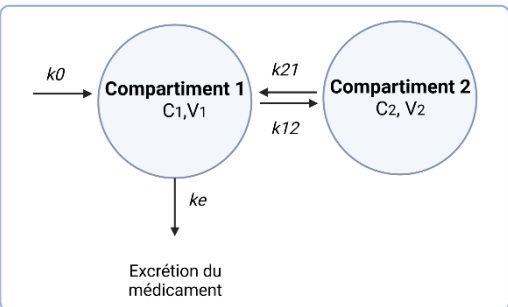
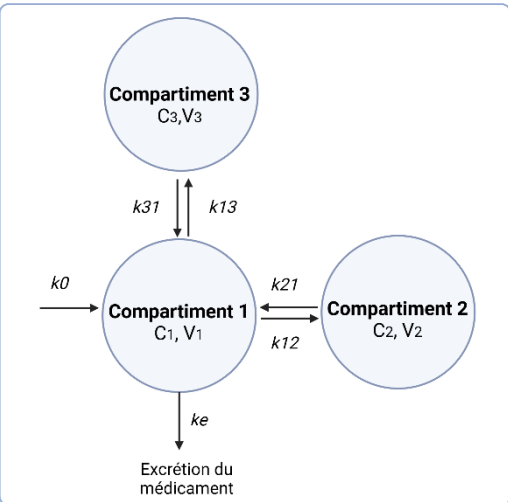
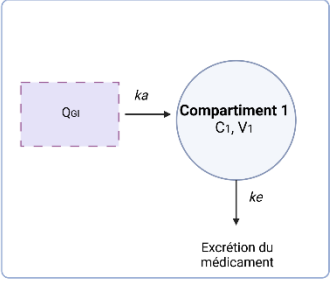
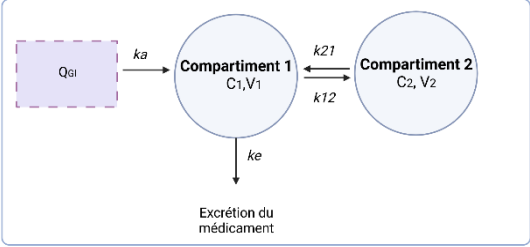
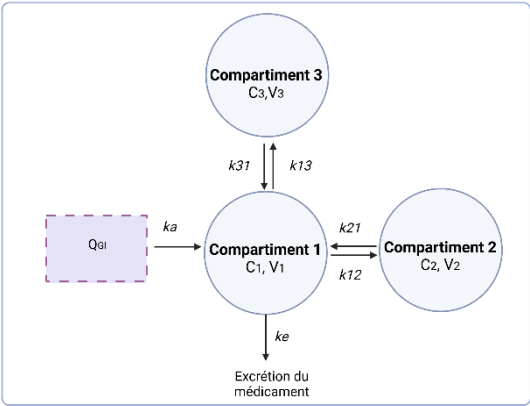
Représentation graphique	Système d'équations différentielles
	$\frac{dQ_1}{dt} = k_0 - k_e \times Q_1$
	$\frac{dQ_1}{dt} = k_0 + k_{21} \times Q_2 - (k_e + k_{12}) \times Q_1$ $\frac{dQ_2}{dt} = k_{12} \times Q_1 - k_{21} \times Q_2$
	$\frac{dQ_1}{dt} = k_0 - k_e \times Q_1 - (k_{12} + k_{13}) \times Q_1 + k_{21} \times Q_2 + k_{31} \times Q_3$ $\frac{dQ_2}{dt} = k_{12} \times Q_1 - k_{21} \times Q_2$ $\frac{dQ_3}{dt} = k_{13} \times Q_1 - k_{31} \times Q_3$
<p>Légende : Q_1 : quantité de médicament dans le compartiment 1, Q_2 : quantité de médicament dans le compartiment 2, Q_3 : quantité de médicament dans le compartiment 3, k_{12} et k_{21} : constantes de transfert entre les compartiments 1 et 2, k_{13} et k_{31} : constantes de transfert entre les compartiments 1 et 3, k_e : constante d'élimination à partir du compartiment 1</p>	

Tableau 15 - Représentation générale des modèles compartimentaux usuellement utilisés en pharmacocinétique clinique après une administration extravasculaire.

Représentation graphique	Système d'équations différentielles
	$\frac{dQ_{GI}}{dt} = -k_a \times Q_{GI}$ $\frac{dQ_1}{dt} = k_a \times Q_{GI} - k_e \times Q_1$
	$\frac{dQ_{GI}}{dt} = -k_a \times Q_{GI}$ $\frac{dQ_1}{dt} = k_a \times Q_{GI} + k_{21} \times Q_2 - (k_e + k_{12}) \times Q_1$ $\frac{dQ_2}{dt} = k_{12} \times Q_1 - k_{21} \times Q_2$
	$\frac{dQ_{GI}}{dt} = -k_a \times Q_{GI}$ $\frac{dQ_1}{dt} = k_a \times Q_{GI} - k_e \times Q_1 - (k_{12} + k_{13}) \times Q_1 + k_{21} \times Q_2 + k_{31} \times Q_3$ $\frac{dQ_2}{dt} = k_{12} \times Q_1 - k_{21} \times Q_2$ $\frac{dQ_3}{dt} = k_{13} \times Q_1 - k_{31} \times Q_3$
<p>Légende : Q_1 : quantité de médicament dans le compartiment 1, Q_2 : quantité de médicament dans le compartiment 2, Q_3 : quantité de médicament dans le compartiment 3, Q_{GI}: quantité de médicament dans le tractus gastro intestinal, k_{12} et k_{21} : constantes de transfert entre les compartiments 1 et 2, k_{13} et k_{31} : constantes de transfert entre les compartiments 1 et 3, k_a: constante d'absorption, k_e : constante d'élimination à partir du compartiment 1</p>	

La résolution de ces systèmes d'équations différentielles permet généralement d'obtenir des équations de type :

$$Q_1(t) = A \times e^{-\alpha \times t} \text{ pour le modèle monocompartimental}$$

$Q_1(t) = A \times e^{-\alpha \times t} + B \times e^{-\beta \times t}$ pour un modèle bicompartimental

$Q_1(t) = A \times e^{-\alpha \times t} + B \times e^{-\beta \times t} + C \times e^{-\gamma \times t}$ pour un modèle tricompartmental

Ainsi l'évolution des concentrations en principe actif dans le compartiment central suit une courbe d'allure mono-, bi- ou tri-exponentielle.

1.3. Introduction à la pharmacocinétique populationnelle

La base de la modélisation en pharmacocinétique par approche compartimentale repose sur la construction du « modèle structurel », qui consiste à déterminer le nombre de compartiments et les flux de transfert entre eux ; ceci permet de déterminer les fonctions mathématiques qui décrivent le plus fidèlement possible les concentrations mesurées.

Il existe 2 approches pour modéliser, par approche compartimentale, la pharmacocinétique d'un principe actif.

La première approche dite individuelle consiste à ajuster un modèle donné à chaque cinétique obtenue chez un individu donné. Ensuite tous les paramètres obtenus sont présentés par leur moyenne et l'écart-type. Pour exploiter les données de plusieurs patients à des fins de construction d'un modèle par cette approche individuelle, il est nécessaire que le schéma d'administration du médicament et le schéma de recueil des concentrations plasmatiques soient identiques pour tous les patients. Cette méthode nécessite donc une rigueur importante dans sa réalisation et un nombre de concentrations mesurées par patient conséquent. Cette approche est souvent utilisée dans le cadre des essais cliniques de phase précoce quand les données pharmacocinétiques sont encore peu nombreuses.

La seconde approche dite populationnelle s'intéresse à la pharmacocinétique d'un principe actif au sein d'un groupe d'individus d'où sa dénomination de pharmacocinétique de population. Cette approche confère la possibilité de quantifier la variabilité de la cinétique du médicament entre les sujets, appelée variabilité inter individuelle, mais également la variabilité résiduelle, c'est-à-dire celle liée à d'autres événements telle que l'erreur de dosage ou d'heure de prélèvement... En 1984, L.B. Shiener résumait cette approche de la manière suivante : « *Les paramètres pharmacocinétiques de population quantifient, pour la population étudiée, la pharmacocinétique moyenne, la variabilité interindividuelle et la variabilité résiduelle,*

incluant la variabilité intra-individuelle et l'erreur de mesure»^[130]. Cette dernière méthode demande l'intégration des statistiques dans la construction des modèles pharmacocinétiques.

1.3.1. Intégration du concept statistique à la modélisation : le modèle pharmaco-statistique

La statistique peut être définie comme une théorie de la description d'un phénomène incertain, perçu au travers de données décrites comme des observations d'une variable X.

1.3.1.1. Considérations purement statistique sur la fonction de vraisemblance.

Considérons une variable X dont les observations font un jeu de données (x_1, x_2, \dots, x_n). Cette variable X suit une loi de distribution $f(X \vee \theta)$ où θ est un vecteur de paramètres dont les valeurs ne sont pas connues.

Déterminer une valeur θ permettant de décrire au mieux le jeu données observé X (x_1, x_2, \dots, x_n) revient à déterminer la valeur θ qui maximalise la probabilité de trouver les observations (x_1, x_2, \dots, x_n). Pour trouver cette valeur θ , on détermine une fonction de vraisemblance $L(X \vee \theta)$ qui décrit la probabilité d'observer les différentes valeurs de X (x_1, x_2, \dots, x_n) selon le vecteur θ . Ainsi cette fonction de vraisemblance est obtenue en effectuant le produit des probabilités définissant la loi de distribution $f(X \vee \theta)$ soit :

$$L(X|\theta) = L(x_1, x_2, \dots, x_n) = \prod_{i=1}^n f(X \vee \theta)$$

La valeur θ qui maximalise la fonction précédente est la valeur qui rend nulle la dérivée première de L soit :

$$\frac{\partial L(X|\theta)}{\partial \theta} = 0$$

1.3.1.2. Application à la pharmacocinétique de la fonction de vraisemblance.

En pharmacocinétique, les paramètres pharmacocinétiques fixes sont généralement considérés comme suivant une distribution lognormale. Ceci s'explique par le fait qu'une distribution lognormale est toujours positive ; elle s'étend de 0 à $+\infty$

et est centrée sur la moyenne géométrique de la population ; alors qu'une distribution normale s'étend de $-\infty$ à $+\infty$ et est centrée sur la valeur moyenne arithmétique de la population. Or, il existe des limites physiologiques aux paramètres pharmacocinétiques : ils ne peuvent pas être négatifs mais peuvent être infiniment grands ; ainsi la distribution lognormale est plus représentative de la distribution attendue des paramètres pharmacocinétiques que ne le serait la distribution normale.

En conséquence, en pharmacocinétique, on travaille surtout avec des modèles exponentiels. Cela signifie que notre variable X , c'est-à-dire la concentration, suit une loi de distribution du type :

$$f(X|\theta) = \theta e^{-\theta x_i}$$

Dans un ensemble de n observations, les valeurs mesurées sont appelées x_i . On peut donc écrire l'algorithme de vraisemblance comme :

$$L(X|\theta) = \prod_{i=1}^n \theta e^{-\theta x_i}$$

Il est souvent préférable d'effectuer une transformation logarithmique de la fonction de vraisemblance, afin de manipuler une somme de fonction θ plutôt qu'un produit de fonction θ .

$$\log(L(X|\theta)) = \sum_{i=1}^n (\log(\theta) - \theta x_i)$$

La fonction log-vraisemblance atteint un maximum pour la même valeur que la fonction de vraisemblance. On va donc déterminer la dérivée première de la fonction du log de vraisemblance soit :

$$\frac{\partial \log(L(X|\theta))}{\partial \theta} = 0$$

Soit encore :

$$\sum_{i=1}^n \left(\frac{1}{\theta} - x_i \right) = 0$$

Que l'on peut écrire de la manière suivante :

$$n \frac{1}{\theta} - \sum_{i=1}^n x_i = 0$$

Où θ représente ici l'estimateur du paramètre de la population des n observations.

Après réarrangement, il est possible d'obtenir la valeur θ :

$$\frac{1}{\theta} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$$

Et,

$$\theta = \frac{n}{\sum_{i=1}^n x_i}$$

θ est donc l'estimateur qui possède la plus grande probabilité d'être prise par le paramètre θ .

1.3.1.3. Considération purement statistique pour établir une loi de probabilité *a posteriori*.

Pour un jeu de paramètres θ donné, l'incertitude sur θ peut être décrite par une distribution de probabilité de densité $\pi(\theta)$ sur θ appelée loi *a priori*. Cette loi *a priori* représente la loi de distribution à partir des données connues. Il existe également une loi de distribution *a posteriori* qui consiste à estimer l'incertitude des paramètres à partir de ce qui est connu. Ainsi, selon le théorème de Bayes, ces deux lois de distribution sont reliées entre elles par la formule suivante :

$$\pi(\theta|X) = \frac{\pi(X|\theta) \cdot \pi(\theta)}{\int_{\theta}^n f(X|\theta) \cdot \pi(\theta) d\theta}$$

avec :

- $\pi(\theta|X)$, la probabilité *a posteriori* d'avoir le jeu de paramètres θ sachant la variable X
- $\pi(X|\theta)$, la probabilité d'observer la variable X connaissant le jeu de paramètres θ
- $\pi(\theta)$, la probabilité *a priori* de θ , avec θ le jeu de valeurs de la population, correspondant à la probabilité d'occurrence de ce paramètre dans la population choisie
- $\int_{\theta}^n f(X|\theta)\pi(\theta)d\theta$: la probabilité *a priori* d'observer la valeur X (connaissant le modèle, la dose et le jeu de paramètres initiaux θ) soit $\pi(X)$,

Sachant que $\pi(X|\theta)$ peut être assimilée à la fonction de vraisemblance de θ , la fonction précédente peut s'écrire :

$$\pi(\theta|X) = \frac{L(\theta|X) \cdot \pi(\theta)}{\pi(X)}$$

1.3.1.4. Application à la pharmacocinétique d'une loi de probabilité *a posteriori*

Appliqué à un principe actif contenu dans un compartiment d'un modèle pharmacocinétique dont les paramètres initiaux sont θ^0 , et lorsqu'une concentration C a été mesurée à un temps t suivant l'administration d'une dose D chez un patient donné, le théorème de Bayes peut s'écrire :

$$\pi(\theta|C) = \frac{L(\theta|C) \cdot \pi(\theta)}{\pi(C)}$$

où

- $\pi(C)$ est la probabilité *a priori* d'observer la concentration C connaissant le modèle, la dose D et le jeu de paramètres initiaux θ^0
- $\pi(\theta)$ est la probabilité *a priori* de θ où θ représente les paramètres pharmacocinétiques individuels du patients.
- $\pi(\theta|C)$ est la probabilité *a posteriori* d'avoir θ sachant C
- $L(\theta|C)$ est la fonction de vraisemblance de θ sachant C

L'objectif en pharmacocinétique de population va donc être la détermination des paramètres pharmacocinétiques, autrement dit θ , qui maximise $\pi(\theta|C)$. En observant cette équation, on en déduit qu'il faudra déterminer, tel que démontré précédemment, le maximum de la fonction de vraisemblance de θ connaissant C, ($L(\theta|C)$)

1.3.2. Approche paramétrique, non paramétrique

L'approche pharmacocinétique populationnelle peut être paramétrique ou non paramétrique en fonction de l'hypothèse suggérée initialement vis-à-vis de la distribution interindividuelle.

L'approche paramétrique repose sur l'hypothèse *a priori* que la distribution des valeurs prises par les paramètres fixes déterminés pour chaque individu de l'échantillon, suit une loi gaussienne. Si cette hypothèse n'est pas vérifiée, l'estimation des modes des paramètres sera erronée.

L'approche non paramétrique ne repose sur aucune hypothèse vis-à-vis de la distribution des valeurs des paramètres pharmacocinétiques.

Dans le cadre de ce travail, l'approche paramétrique a été choisie.

1.3.3. Gestion des erreurs liées au principe de modélisation

Le nombre de données observées intégré dans la construction d'un modèle pharmacocinétique est nécessairement limité. Plus ce nombre est important, plus le modèle sera robuste. Cependant, quelle que soit la richesse des données, un modèle est intrinsèquement entaché d'une erreur. Il est possible d'essayer de caractériser cette erreur pour mieux l'appréhender. L'erreur peut être divisée en deux types d'erreurs :

- L'erreur résiduelle, la part « non prévisible », non expliquée par le modèle, appelée $\varepsilon_{i,j}$.
- L'erreur interindividuelle, représentée par la variance des valeurs des paramètres pharmacocinétiques fixes estimées pour chaque individu, appelée ω_l^2 .

Tout comme les effets fixes, l'erreur aura une distribution supposée gaussienne.

La distribution des erreurs résiduelles estimée pour chaque patient est caractérisée par une variance, qui sera modélisée par une fonction appelée g . La fonction g pourra être constante $g(t_{i,j}, \theta_{i,j}) = a$, proportionnelle $g(t_{i,j}, \theta_{i,j}) = b \times f(t_{i,j}, \theta_{i,j})$ encore une combinaison des deux $g(t_{i,j}, \theta_{i,j}) = a + b \times f(t_{i,j}, \theta_{i,j})$, ou encore $g(t_{i,j}, \theta_{i,j}) = \sqrt{a^2 + (b \times f(t_{i,j}, \theta_{i,j}))^2}$. L'étape de construction du modèle structurel comprend cette modélisation de l'erreur résiduelle.

La modélisation pharmacocinétique correspond donc à une modélisation non linéaire à effets dits mixtes ; car elle combine des effets fixes et des effets aléatoires.

Les concentrations $y_{i,j}$ d'un sujet i ($i=...$) observées aux temps j ($j=...$) sont décrites par :

$$y_{i,j} = f(t_{i,j}, \psi_i) + g(t_{i,j}, \psi_i) * \varepsilon_{i,j}, \varepsilon_{i,j} \sim N(0, 1)$$

où :

- f représente la fonction exponentielle de l'évolution des concentrations plasmatiques du médicament dans le compartiment central,

- ψ_i représente le vecteur des paramètres pharmacocinétiques individuels pour un sujet i ,
- g représente le modèle d'erreur résiduelle,
- $\varepsilon_{i,j}$ représente l'erreur résiduelle, qui suit une loi normale.

L'estimation d'un effet fixe $\theta_{i,l}$, chez un individu donné s'exprimera sous la forme :

$$\log(\theta_{i,l}) = \log(\theta_l) + \eta_{i,l}, \quad \eta_{i,l} \sim N(0, \omega_l)$$

$$\text{soit, } \theta_{i,l} = \theta_l e^{\eta_{i,l}}, \quad \eta_{i,l} \sim N(0, \omega_l)$$

où :

- $\theta_{i,l}$ représente le $l^{\text{ème}}$ paramètre pharmacocinétique individuel ($l=(1, \dots, P)$), dans lequel P est le nombre total de paramètres pharmacocinétiques du jeu de paramètres.
- θ_l représente l'effet fixe sur paramètre l ,
- $\eta_{i,l}$ représente le $l^{\text{ème}}$ élément du vecteur d'effets aléatoires individuels η_i , qui caractérise la variabilité inter-individuelle sur le paramètre l pour le sujet i , qui suit une loi gaussienne de moyenne nulle et de variance ω_l^2

Finalement, la construction du modèle structurel consistera à déterminer le modèle compartimental qui décrit le mieux l'évolution des concentrations et le modèle qui décrit le mieux l'erreur résiduelle, puis à estimer les valeurs et la distribution des effets fixes, de l'erreur résiduelle et des variances interindividuelles.

1.3.4. Individualisation de la modélisation par intégration de covariables

Nous avons vu que le modèle pharmaco-statistique permettait d'estimer la variabilité interindividuelle de chaque paramètre pharmacocinétique.

Après détermination du meilleur modèle pharmaco-statistique, l'intégration de variables anthropométriques et physiologiques individuelles au modèle permet de caractériser la variabilité individuelle estimée précédemment. C'est à cette étape que l'ajustement individuel prend tout son sens.

Le choix des covariables est soumis à un fondement pharmacocinétique et physiologique. En effet, les phases ADME d'un médicament sont conditionnées par

les caractéristiques anthropométriques et physiologiques des patients ; c'est donc l'effet de ces caractéristiques anthropométriques et physiologiques sur les phases ADME qui explique la variabilité interindividuelle des paramètres pharmacocinétiques. En conséquence, les caractéristiques anthropométriques et physiologiques ayant un impact potentiel sur les phases ADME (poids, taille, âge, fonction rénale) sont généralement choisies comme covariables. Le choix de ces covariables dépend des données déjà mises en évidence dans la littérature pour la population et le médicament considéré.

Par exemple, la variabilité interindividuelle de la clairance pourra être associée aux marqueurs de la fonction rénale (clairance à la créatinine selon Cockcroft et Gault, urée, cystatine, ...) pour un médicament connu comme ayant une élimination rénale majoritaire pour la population considérée.

Pour donner un second exemple, la variabilité interindividuelle du volume de distribution d'un médicament pourra être associée au poids réel, au poids idéal, au poids ajusté, à la surface corporelle, à l'indice de masse corporelle des patients ; le choix des estimateurs anthropométriques à tester dépend du médicament et de la population considérée.

L'effet d'une covariable sur un paramètre pharmacocinétique, par incorporation dans le modèle structurel, peut être exprimé selon la formule suivante :

$$\log(\theta_{i,l}) = \log(\theta_l) + \beta_1 * x_1 + \eta_{i,l}, \quad \eta_{i,l} \sim N(0, \omega_l)$$

- $\theta_{i,l}$ représente le $l^{\text{ème}}$ paramètre pharmacocinétique individuel ($l=(1,\dots,P)$), dans lequel P est le nombre total de paramètres pharmacocinétiques du jeu de paramètres.
- θ_l représente l'effet fixe sur paramètre l ,
- β_1 représente l'effet de la covariable x_1 ,
- $\eta_{i,l}$ représente le $l^{\text{ème}}$ élément du vecteur d'effets aléatoires individuels η_i , qui caractérise la variabilité inter-individuelle sur le paramètre l pour le sujet i , qui suit une loi gaussienne de moyenne nulle et de variance ω_l^2 .

Deux méthodologies d'intégration des covariables peuvent être employées.

La méthode « forward selection » consiste à intégrer une à une les covariables au modèle, par étapes successives ; seules sont sélectionnées pour être

intégrées au modèle structurel, les couples paramètres-covariables pour lesquels la régression linéaire a montré un impact significatif du coefficient β_1 sur l'estimation individuelle du paramètre pharmacocinétique $\log(\theta_{i,l})$ (t-test de Student, $\alpha=0,05$ $H_0: \{\beta_1 = 0\}$). Une fois une covariable intégrée au modèle, le test de Wald permet d'évaluer si l'impact de la covariable sur le paramètre pharmacocinétique est significatif. Le test de Wald est effectué sur le rapport $\frac{\beta_1}{se_{\beta_1}}$ avec se_{β_1} l'erreur associée à la valeur estimée de β_1 ($\alpha=0,05$ $H_0: \left\{ \frac{\beta_1}{se_{\beta_1}} = 0 \right\}$). À chaque étape, chacune des relations paramètres-covariables restantes (c'est-à-dire non encore incluses) est ajoutée au modèle dans un modèle univarié et est exécutée.

La méthode « backward elimination » consiste à intégrer toutes les covariables au modèle puis à les éliminer de manière univariée pour évaluer l'impact de leur élimination. Cette méthode est efficace mais coûteuse en termes de nombre de tours exécutés, car elle nécessite d'estimer les paramètres de la population avec l'algorithme et de simuler les paramètres individuels à partir de distributions conditionnelles pour chaque modèle évalué.

Parmi tous les modèles testés à chaque étape, celui qui maximise la vraisemblance du modèle est sélectionné.

Pour ce travail de thèse, la méthode « forward selection » a été choisie.

1.3.5. Critères de choix d'un modèle

1.3.5.1. L'algorithme d'espérance-maximisation

L'approche populationnelle repose, comme vu précédemment, sur un algorithme basé sur le principe de la maximisation de la vraisemblance. Cet algorithme est appelé algorithme d'espérance-maximisation. Cet algorithme va considérer par un processus itératif toutes les combinaisons de valeurs possiblement prises par le jeu de paramètres pharmacocinétiques du modèle pharmaco-statistique (éventuellement avec covariables) et retiendra le jeu de paramètres qui minimisera la fonction objectif ; il est possible de travailler avec la méthode de Monte Carlo par chaîne de Markov qui

optimisent la convergence vers des valeurs possiblement prises par le jeu de paramètres pharmacocinétiques.

La fonction objectif est basée sur le calcul des carrés des écarts entre les concentrations observées et prédites par le modèle. Pour chaque jeu de paramètres testé, la valeur de cette fonction est calculée et le jeu minimisant la fonction, donc l'écart entre le prédit et l'observé, sera considéré comme le meilleur jeu. Cette fonction est appelée fonction objectif du Maximum *A Posteriori* (MAP) bayésien, et s'exprime sous la forme :

$$F = \sum \frac{(C_p - C_o)^2}{\sigma_c^2} + \sum \frac{(P_p - P_c)^2}{\sigma_p^2}$$

Avec

- C_p , concentration prédite
- C_o , concentration observée
- σ_c^2 , variance de la concentration mesurée
- P_p , paramètre pharmacocinétique de population
- P_c , paramètre pharmacocinétique calculé
- σ_p^2 , variance du paramètre calculé

Le principal problème rencontré en utilisant la minimisation de la fonction objectif du MAP bayésien comme critère de choix d'un modèle est qu'elle dépend du nombre de paramètres inclus dans le modèle. Plus le nombre de paramètres sera important, plus la fonction de vraisemblance sera maximisée et donc la fonction objectif minimisée. Le risque est de choisir un modèle qui possède un plus grand nombre de paramètres que nécessaire. En effet, le principe même de la modélisation est de définir l'équation la plus simple, comportant le moins de paramètres possibles, pour décrire un phénomène. Dans la mesure où les paramètres sont des variables aléatoires sensibles à l'échantillonnage, l'accroissement de leur nombre entraîne mécaniquement une augmentation de la variance donc de l'incertitude et diminue ainsi la robustesse du modèle.

Pour contrer cette paramétrisation, il est possible d'avoir recours à un système de pénalités qui vont pénaliser la richesse des données et des paramètres utilisés pour la construction du modèle.

1.3.5.2. Les critères d'information

Afin de choisir le modèle le plus ajusté aux valeurs observées, des critères dit « d'information » (IC) ont été développés ; il s'agit de critères numériques combinant le calcul de la maximisation de la fonction de vraisemblance et une fonction pénalisante.

Ils sont exprimés sous la forme $IC = -\log(L(\theta)) + p(n)$ où est l'algorithme de vraisemblance du modèle $-\log(L(\theta))$ et $p(n)$ est la fonction pénalisante.

Dans la littérature, on trouve différents types de pénalités. Akaike a introduit le critère AIC, Akaike Information Criterion, considérant le nombre de paramètres implémentés dans le modèle (k). Il pénalise les modèles comportant trop de variables, et évite le sur-apprentissage^[131].

$$AIC = -\log(L(\theta)) + 2k$$

En 1995, deux auteurs, Hurvich et Tsai, préconisent l'utilisation de l'AIC corrigé lorsque le nombre de paramètres k est grand par rapport au nombre d'observations n ($n / k < 40$)^[132], tel que :

$$AIC_c = AIC + \frac{2k(k+1)}{n-k-1}$$

Schwartz a proposé le critère BIC, Bayesian Information Criterion, basé sur l'estimation Bayésienne, introduisant dans la pénalisation le nombre de données utilisées dans la construction du modèle, n ^[133], tel que :

$$BIC = -\log(L(\theta)) + k \ln(n)$$

En 2014, un BIC corrigé (BIC_c), adapté aux modèles à effets mixtes a été décrit ^{[[134]]}, tel que :

$$BIC_c = -2LL + \dim(\theta_R) \log(N) + \dim(\theta_F) \log(n_{tot})$$

où

- θ_R représente les effets aléatoires (R pour « random ») du jeu de paramètres θ_i ,

- N représente le nombre de sujets,
- θ_F représente les effets fixes (F pour « fixed ») du jeu de paramètres θ_i ,
- n_{tot} le nombre d'observations.

La valeur numérique des critères d'information n'a d'interprétation que dans le cadre d'une comparaison de modèle. Dans une comparaison de modèle, le modèle à retenir est celui qui a le critère d'information le plus faible, car il s'agit du modèle présentant le meilleur ajustement en pénalisant le surdimensionnement du modèle^[135].

Ainsi, un modèle X est statistiquement mieux ajusté qu'un modèle Y si BICc du modèle X est inférieur d'au moins 3,84 points au BICc du modèle Y, 3,84 étant la valeur critique issue de la distribution du test du Chi Deux d'ajustement, $\chi^2_{ndf=1}$ en choisissant $\alpha = 0,05$.

1.3.5.3. La matrice d'information de Fisher

Les algorithmes implémentés dans les logiciels de modélisation calculent une matrice d'information de Fisher, qui est une matrice de covariance, dans laquelle chaque élément diagonal s'exprime selon la formule :

$$V_j = \frac{1}{1-R_j^2}$$

où V_j est le facteur d'inflation de la variance (VIF), et R_j^2 désigne le coefficient de détermination de la régression de la variable X sur les autres variables.

Le VIF permet de calculer la précision de l'estimation des effets fixes et aléatoires. Pour valider un modèle, il est admis que le coefficient de variation des effets fixes estimés doit être < 30% et le coefficient de variation des effets aléatoires estimés ω_l doit être < 50%.

La matrice d'information de Fisher nous fournit une deuxième information, l'indice de conditionnement κ , qui donne un aperçu des problèmes de multi colinéarité. La colinéarité de deux vecteurs signifie que ces vecteurs sont parallèles. En modélisation, la multi colinéarité survient lorsque plusieurs covariables du modèle influencent parallèlement les paramètres à estimer. Il en résulte que des jeux de

paramètres différents peuvent mener à des estimations identiques. Le modèle ne sera donc plus identifiable. En pratique, il est établi que le risque de multi colinéarité est faible si $\kappa < 100$, modéré si $100 \leq \kappa < 1000$, fort si $\kappa \geq 1000$ ^[136].

1.3.6. Critères de validation d'un modèle

Une fois le modèle final déterminé, il est possible de valider à l'aide de plusieurs outils^[137].

1.3.6.1. Les graphiques diagnostiques

Ces graphiques permettent d'évaluer visuellement la qualité de l'ajustement du modèle.

- (1) **Les graphiques concentrations observées versus concentrations prédites** : les concentrations prédites par le modèle sont représentées en abscisse et celles observées, en ordonnée. Lorsqu'un modèle est ajusté, les points sont répartis de manière homogène à proximité de la bissectrice $Y=X$.
- (2) **Les graphiques VPC (pour « Visual Predictive Checks »)** : les concentrations observées sont graphiquement superposées à l'intervalle de confiance à 90% des percentiles des concentrations prédites. Ce graphique permet d'avoir rapidement un aperçu de la qualité du modèle. Si plus de 20% des données sont en dehors de l'intervalle de confiance à 90%, cela traduit un manque de prédictivité du modèle.
- (3) **Le diagramme de répartition des résidus** : Les résidus représentent la différence entre la valeur observée et la valeur prédite. Ce graphique décrit la distribution des résidus autour de l'axe zéro (0). Dans le cadre d'une approche paramétrique, la distribution normale des résidus doit être vérifiée. Les résidus doivent donc être équitablement répartis autour de zéro et dans l'intervalle $[-2 ; 2]$. La distribution normale des résidus peut être vérifiée à l'aide d'un test de Shapiro Wilk mais ses limites ont été mises en évidence pour les modèles

présentant un grand nombre d'échantillons ($n \geq 50$ échantillons). Dans ce cas, on utilise plutôt le test de Kolmogorov-Smirnov^[138].

1.3.6.2. La validation interne du modèle par bootstrap

Un bootstrap consiste à répéter un échantillonnage aléatoire avec remplacement des données originales pour créer un nouvel ensemble de données de la même taille que l'original mais avec une combinaison différente de sujets (et de leurs données).

La robustesse d'un modèle peut être évaluée en effectuant une procédure de rééchantillonnage bootstrap. Le modèle est validé si les valeurs modales pour chaque paramètre pharmacocinétique obtenues à partir des données originales sont proches appartiennent à l'intervalle [Q1;Q3] des valeurs obtenues par bootstrap. La validation d'un modèle à effet mixte non linéaire est également sous-tendue par la précision des estimations obtenues par bootstrap ($\omega_l \leq 30\%$ pour les paramètres à effet fixe et $\leq 50\%$)).

1.4. Schéma de synthèse de la méthodologie employée pour conduire la modélisation pharmacocinétique.

Un schéma illustrant la méthodologie expliquée précédemment est représenté en Figure 24.

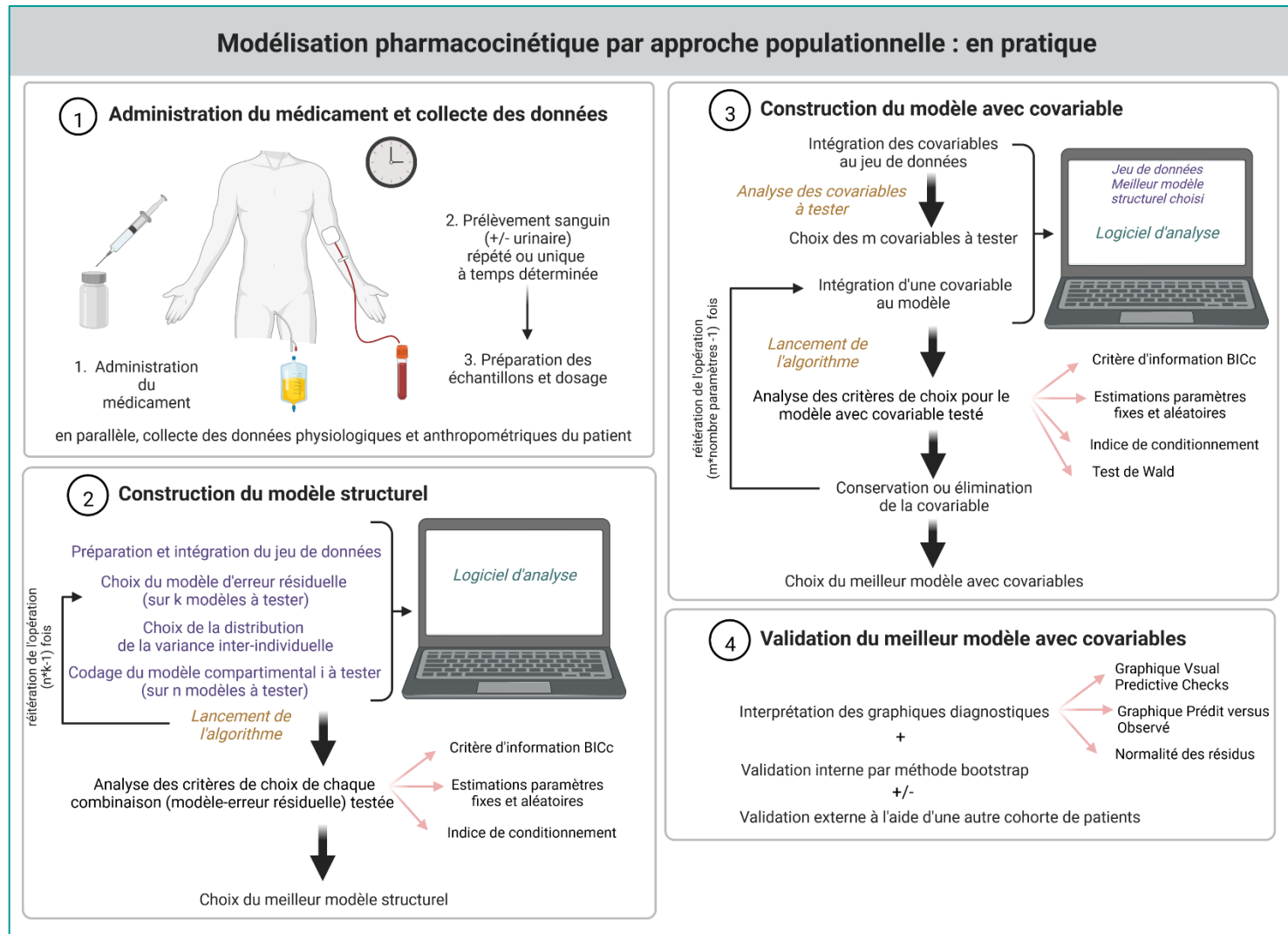


Figure 24 - Schéma récapitulatif de la méthodologie employée pour construire un modèle pharmacocinétique par approche populationnelle (production originale, créée avec BioRender.com).

2. La pharmacocinétique de l'acide tranexamique en curatif dans l'hémorragie du post-partum

2.1. Contexte

2.1.1. Pathologie et prise en charge

En 2010, l'hémorragie du post-partum (HPP) était responsable de plus d'un quart (27%) des décès maternels recensés dans le monde^[139]. En France, en 2014, elle demeurait la première cause de décès maternel (16%), et la plus évitable (80 %) et concerne 5% des accouchements. Sa prise en charge est donc un enjeu de santé publique majeur.

Dans les recommandations internationales, l'HPP est définie comme un saignement actif $\geq 500\text{mL}$ provenant du tractus génital, survenant dans les 24 heures suivant l'expulsion fœtale par les voies naturelles ou par césarienne. D'après les recommandations de l'OMS, la sévérité de l'HPP est caractérisée par un saignement actif $\geq 1000\text{ ml}$ après un accouchement par voie basse et $\geq 1500\text{mL}$ après une césarienne^[140].

La prise en charge de l'HPP est multidisciplinaire et repose sur des protocoles de soins chronométrés partagés. Des gestes obstétricaux (délivrance artificielle, révision utérine et de filière), l'administration d'utérotoniques (ocytocine et prostaglandines), le remplissage vasculaire, la transfusion et la prise en charge des anomalies de l'hémostase sont réalisés en parallèle. Les techniques de prise en charge de l'hémostase peuvent nécessiter la ligature ou l'embolisation des artères utérines, voire l'hystérectomie en dernier recours.

2.1.2. Place du TXA dans la prise en charge de l'HPP

Depuis le début des années 2000, l'utilisation de l'acide tranexamique (TXA), un anti fibrinolytique est discutée dans la prise en charge de l'HPP^[141,142]. Le rôle théorique de l'acide tranexamique dans l'HPP est liée à la place importante que joue l'hyperfibrinolyse dans l'HPP. En 2007, une différence significative entre de nombreux paramètres hémostatiques a été mise en évidence entre un échantillon de patientes diagnostiquées avec HPP sévère et les patientes avec une HPP non sévère^[143]. Parmi ces paramètres, on retrouvait la fibrinogénémie, les taux plasmatiques en facteur II et facteur V et les taux plasmatiques de D-dimères, d'antithrombine, de protéine C, de monomère de fibrine. Ces différences ont été mises en évidence dès le début de l'HPP et ont persisté pendant 4 heures. Le paramètre le plus discriminant était la

fibrinogénémie : pour chaque point de taux en fibrinogène perdu, le risque relatif (RR) de présenter une HPP sévère était 2,63 plus important (IC95% [1,66 ; 4,16], $p < 0,0001$). Le lien entre le mauvais pronostic de l'HPP et l'hyperfibrinolyse a été conforté par d'autres études avec une cinétique d'évolution de la fibrinogénémie similaire : une diminution du taux de fibrinolyse dès le début de l'HPP et maximale à la deuxième heure^[142,144].

En pratique clinique, les propriétés bénéfiques du TXA ont d'abord été mises en évidence dans des situations d'hémorragie traumatique ou de chirurgie cardiaque, notamment dans le contexte de mise en place de circulation extracorporelle.

Parmi les études ayant évalué l'intérêt du TXA dans une hémorragie traumatique, en 2010, l'étude CRASH-2 (Clinical Randomisation of Anti fibrinolytic in Significant Haemorrhage) a été la première étude multicentrique (n=20 211). Les patients étaient randomisés dans un groupe traité par TXA (1 g sur 10 minutes puis 1 g sur 8 heures en perfusion intraveineuse) ou dans un groupe placebo. Les résultats de l'étude ont mis en évidence une diminution significative nombre de décès imputables à l'hémorragie chez les patients traités (RR=0,85, IC95% [0,76 ; 0,96]) d'autant plus importante lorsque le traitement était administré dans les 3 heures post traumatisme (RR=0,72, 95%, IC95% [0,63 ; 0,83])^[145]. Devant les résultats positifs de l'étude CRASH-2, le TXA a été incorporé dans les protocoles de prise en charge en traumatologie dans de nombreux pays et dans la liste des médicaments essentiels de l'OMS^[146].

Les effets bénéfiques du TXA chez les patients subissant une chirurgie coronarienne ont été mis en évidence dans une large étude multicentrique de 2017 (n= 4662), randomisée contrôlée. Les résultats de cette étude suggèrent que le traitement par TXA est associé à un risque d'hémorragie plus faible que le traitement par placebo. L'étude souligne également un risque plus élevé de convulsions postopératoires dans le groupe traité. Les facteurs individuels de susceptibilité n'ont pas été évalués.^[147]

Les premières suggestions des effets bénéfiques du TXA dans l'hémorragie du *post partum* ont été présentées dans l'étude EXADELI, en 2011. Les résultats de cette étude ont suggéré l'efficacité du TXA sur la diminution du volume de saignement actif (p-value=0,04) et la durée du saignement (p-value=0,03) en comparant un groupe traité par 4 g d'AT en dose de charge puis 1 g par heure en perfusion IV jusqu'à l'arrêt de l'hémorragie (n=72) contrôlé par placebo (n=72)^[141].

En 2017, l'étude prospective randomisée WOMAN a comparé à grande échelle (n = 20 021) un groupe de patientes traitées par TXA 1 g par voie IV, répété après 30 minutes ou dans les 24 heures en cas d'échec à un groupe placebo^[148]. Cette étude a mis en évidence une diminution statistiquement significative du nombre de décès imputables au saignement chez le groupe TXA (RR=0,81 ; IC95% [0,65 ; 1,00] ; p=0,045) notamment chez les patientes pour lesquelles le TXA était administré dans les 3 heures après la naissance (RR=0,69, IC95% [0,52 ; 0,91], p=0,008).

Sur la base de ces dernières publications, les dernières recommandations de l'OMS préconisent l'administration précoce de TXA (dans les 3 heures suivant la naissance) lors du diagnostic d'une HPP suivant l'accouchement par voie basse ou un geste de césarienne ^[149]. Ces recommandations préconisent l'administration d'une dose fixe (1 g sur 10 minutes) répétée en cas de poursuite du saignement après 30 minutes ou de reprise dans les 24 heures suivant le geste. Cette posologie de 1 g par voie IV a été fixée empiriquement au cours des différentes études. Aucune étude pharmacocinétique du TXA administré à visée curative dans l'HPP n'a été menée jusqu'alors. Une telle étude pourrait fournir des informations essentielles pour l'adaptation posologique du TXA dans cette indication.

2.1.3. Mode d'action du TXA

Le TXA est un analogue synthétique de la lysine. Le principal mécanisme d'action décrit est le blocage réversible des sites de liaison du plasminogène qui empêche le plasminogène et la plasmine d'interagir avec les résidus lysine de la fibrine et de la cliver (Figure 25).

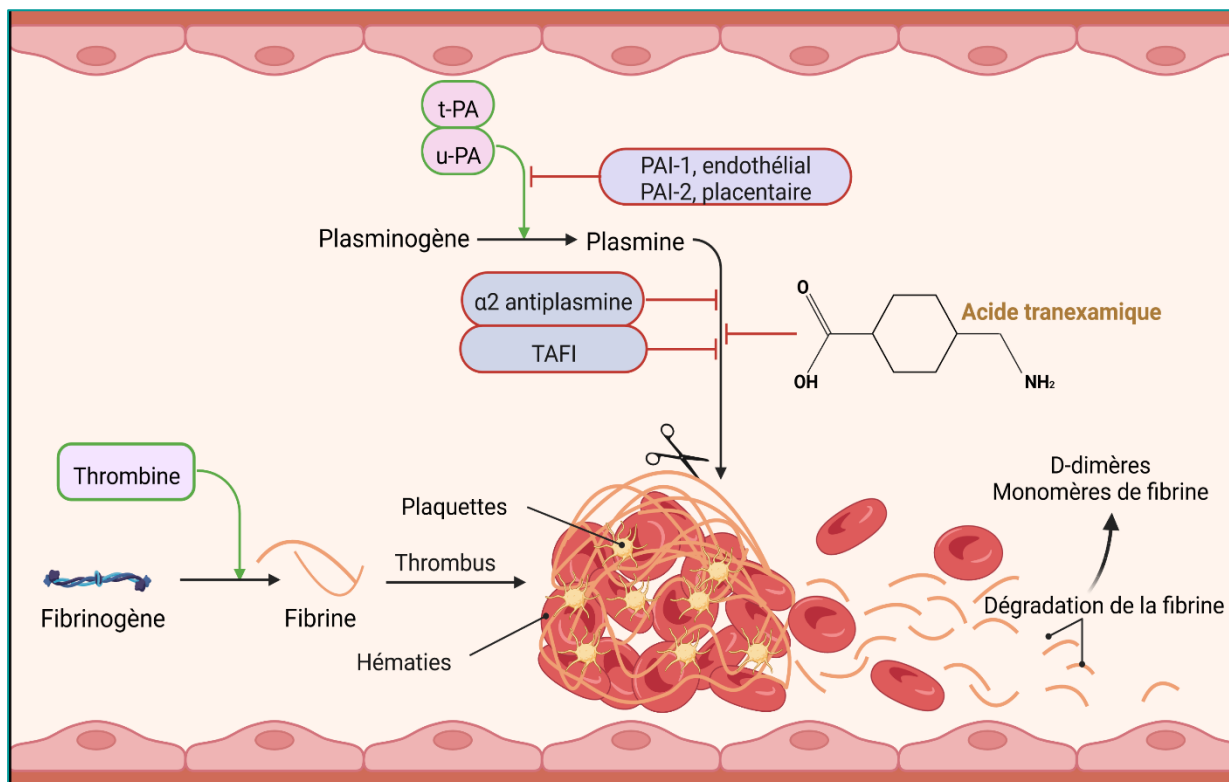


Figure 25 - Mécanisme d'action anti fibrinolytique de l'acide tranexamique (production originale, créée avec BioRender.com).

Ce mécanisme d'action est discuté par certains auteurs qui rappellent la lenteur de la cinétique de la fibrinolyse qui ne correspondrait pas à l'arrêt rapide de l'hémorragie observé chez les patients traités par TXA^[150]. D'autres mécanismes d'action ont donc été proposés pour expliquer l'arrêt rapide du saignement après administration de TXA tel que l'effet protecteur plaquettaire indirect par diminution de la génération des D-dimères et blocage partielle l'activation plaquettaire induite par la plasmine^[150,151] ou l'activation de la génération de thrombine au cours de la phase contact de la coagulation^[152].

2.1.4. Pharmacocinétique du TXA

Chez les volontaires sains, la pharmacocinétique du TXA est bien décrite. Son élimination sous forme inchangée se fait par voie urinaire à 95% ; en conséquence, seule une faible fraction est supposée être métabolisée par le foie^[153].

La complexité de la pharmacocinétique dans le contexte de césarienne hémorragique est liée aux changements physiologiques induits par la grossesse

(augmentation du volume plasmatique et de la clairance rénale, anémie et hypercoagulabilité), ainsi qu'aux modifications physiologiques secondaires à la chirurgie hémorragique (perte de sang brutale, inflammation, oligurie)^[154]. Ceci suggère l'hypothèse que le TXA présente une pharmacocinétique différente chez le volontaire sain et chez la patiente présentant une HPP dans les suites d'une césarienne.

Jusqu'à la mise en place de l'essai TRACES, présentée ci-dessous, aucune étude portant sur la pharmacocinétique du TXA dans cette population n'avait été conduite.

2.1.5. Présentation de l'essai TRACES

L'essai TRACES (TRANexamic acid in hemorrhagic CESarean section) est un essai clinique conduit en double aveugle, randomisé, contrôlé par placebo évaluant l'effet du TXA administré à différentes doses chez des patientes présentant une HPP dans les suites d'une césarienne. Une étude pilote monocentrique a précédé l'étude multicentrique.

L'étude principale est une étude pharmaco-biologique dont l'objectif était de comparer l'effet de l'administration d'un placebo et de deux schémas posologiques de TXA (1g ou à 0,5g, dose IV bolus) sur l'inhibition de la fibrinolyse.

Une sous-étude pharmacocinétique a été conduite sur l'étude pilote (étude I) et sur l'étude principale (étude II) ; ces deux sous-études ont fait l'objet de ce travail de thèse.

2.2. Objectifs

Les objectifs des sous-études pharmacocinétiques I et II ont été de déterminer le meilleur modèle pour décrire la pharmacocinétique du TXA et d'identifier les éventuelles covariables expliquant la variabilité interindividuelle de la pharmacocinétique du TXA administré dans le traitement de la césarienne hémorragique.

2.3. Méthodologie générale

L'étude I a évalué trois différentes doses de TXA administrés en bolus IV unique (une dose forte de 2g, une dose standard de 1g, une dose faible de 0,5g) *versus* un groupe contrôlé sous placebo.

L'étude II a évalué deux doses différentes de TXA administrés en bolus IV unique (dose standard de 1g, une dose faible de 0,5g) *versus* un groupe contrôlé sous placebo.

2.3.1. Conception des études

L'étude I (TRACES pilote) est une étude préliminaire exploratoire mono centrique, prospective. Elle a été conduite entre Mars 2013 et Mars 2014, avec pour objectif, la validation technique du test de génération simultanée de thrombine et de plasmine et la construction du premier modèle pharmacocinétique. Il s'agissait d'une étude ouverte, conduite au Centre Hospitalier Universitaire de Lille.

L'étude II (TRACES) est une étude multicentrique, prospective randomisée contrôlée (*versus* placebo) conduite entre Mars 2016 et Décembre 2019, dans huit centres dont le Centre Hospitalier Universitaire de Lille, le centre Paris Louis Mourier et Paris Trousseau qui ont été inclus dans la sous-étude pharmacocinétique.

La conduite des études a été rendue possible après autorisation du comité d'éthique régional (CPP 15/50 020216) et de l'ANSM (N°201500249926) conformément à l'article L1121-4 du Code de Santé Publique. L'étude a été enregistrée et signée sous le numéro NCT02797119.

2.3.2. Recrutement et inclusion

Chaque patiente admise pour une césarienne a été informée avant le début de l'intervention des modalités de l'étude. Un consentement signé était recueilli. L'inclusion était effectuée si le volume de saignement post-partum dépassait 800 mL. Le choix de ce volume seuil de saignement a été choisi en fonction des pratiques protocolisées dans le service d'obstétrique du CHU de Lille. Le temps d'étude précédant l'injection était désigné par T0.

La solution commerciale de TXA utilisée au cours de l'étude était commercialisée par Sanofi-Aventis (Paris, France) sous le nom d'Exacyl® 0,5g/5mL.

Pour l'étude I, les solutions de TXA 0,5 et 1g ont été préparées extemporanément à partir de la solution commerciale par les IDE du service de gynécologie obstétrique.

Pour l'étude II, les trois ou quatre flacons différents (contenant 0, 0,5 ou 1 g de TXA ou 2g d'Exacyl dans l'étude pilote, complétés à 10 mL avec du NaCl 0,9%) ont été préparés, conditionnés pour l'étude par le secteur préparatoire de la PUI du CHU de Lille, de manière à contrôler l'administration en aveugle.

Le TXA a été administré par bolus d'une minute sur une voie veineuse périphérique. La durée de l'injection de TXA a été contrôlée systématiquement. Le moment de la fin de l'injection est désigné par T1. Une seconde dose de secours de 0,5 g ou 1 g était administrée si la perte sanguine totale dépassait 1 500 mL.

2.3.3. Collecte des données

L'âge, le poids corporel, la taille, les concentrations de créatinine sérique, les concentrations d'urée plasmatique ont été recueillis pour chaque patiente au moment de l'inclusion (T0). Les volumes de remplissage, le volume de saignement à l'inclusion et additionnel ont été mesurés. Le volume de la perte de sang (mL) a été mesuré à l'aide du sac d'aspiration chirurgical, du Cellsaver® et du sac d'accouchement sous-fessier recueillant le saignement pendant la césarienne, et par pesée des draps et des serviettes.

Les échantillons de sang maternel ont été prélevés dans le bras opposé à l'administration du médicament par un cathéter veineux périphérique. Les échantillons de sang veineux ont été prélevés dans des tubes citratés et EDTA de 4 mL chacun à 15, 30, 60, 120, 180 et 360 min (définies comme T15, T30, T60, T120, T180, et T360) +/- 10 min après l'injection selon le protocole de l'étude. Les échantillons d'urine ont été collectés dans les 6 heures suivant le traitement. L'heure exacte des prélèvements de sang et d'urine a été recueillie afin de réaliser une modélisation pharmacocinétique fiable.

2.3.4. Analyse des échantillons

Les échantillons sanguins et urinaires ont été analysés par le laboratoire de toxicologie du Centre Hospitalier de Lille par CLHP couplé à un spectromètre de masse en tandem (détecteur Acquity Xevo-TQ, Waters, Milford, MA, USA) selon le protocole de l'essai TRACES. La calibration et validation de la méthode ont été réalisées par l'équipe de toxicologie et les résultats ont été présentés dans une étude préliminaire^[155].

2.3.5. Modélisation pharmacocinétique compartimentale par approche populationnelle

Le modèle pharmacocinétique a été développé de manière séquentielle à l'aide d'un logiciel de modélisation non linéaire à effets mixtes paramétrique (MONOLIX version 2019R1 pour l'étude TRACES pilote et version 2020R1 pour l'étude TRACES, Lixoft, Orsay, France). Les paramètres pharmacocinétiques ont été estimés en calculant l'estimateur du maximum de vraisemblance à l'aide de l'algorithme d'espérance-maximisation par approximation stochastique (SAEM) combiné à une procédure de Monte Carlo par chaîne de Markov^{[[156]]}.

Dans un premier temps, le modèle structurel a été construit à partir des concentrations plasmatiques et urinaires. Plusieurs modèles ont été codés en langage mlxtran^[157] et testés.

Les modèles structurels codés et testés sont présentés en Figure 26.

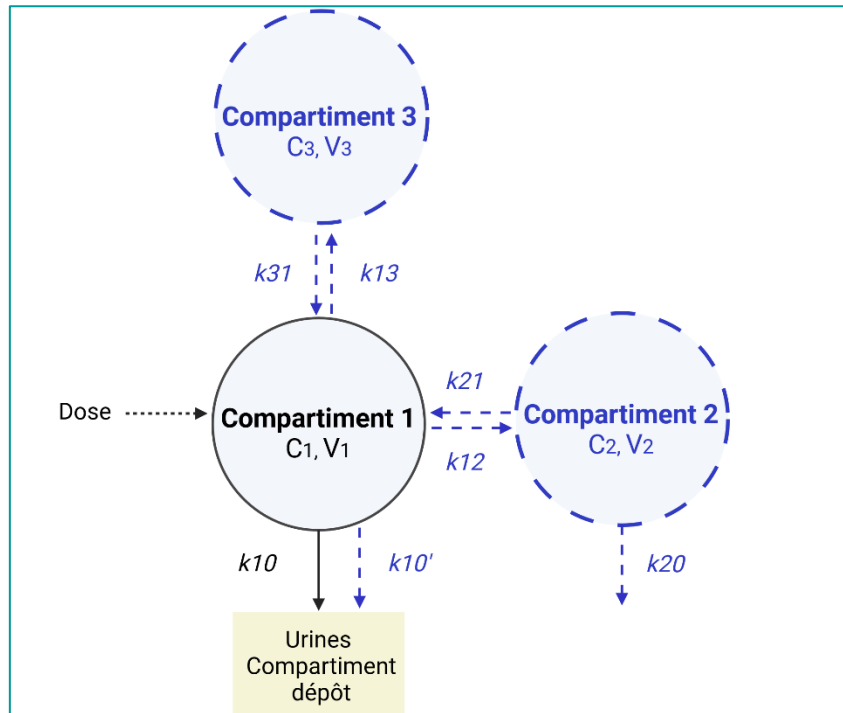


Figure 26 - Représentation des modèles compartimentaux testés jours (production originale, créée avec BioRender.com). Légende : en pointillés bleu, paramètres hypothétiques ; en noir et trait plein, paramètres constants.

Sur la Figure 26, le compartiment 1 représente le compartiment central, tandis que les compartiments 2 et 3 représentent des compartiments périphériques hypothétiques. La justification pour tester une élimination potentielle du compartiment 2 vient de la possibilité qu'il puisse représenter le compartiment hémorragique utérin. Dans ce cas, l'élimination du TXA dans le sang hémorragique serait reflétée par l'élimination du compartiment 2. La seule élimination qui n'était pas hypothétique était l'élimination du TXA du compartiment 1 puisque les concentrations de TXA ont été mesurées dans les urines dans les 6 heures suivant l'administration du TXA. La fraction de TXA éliminée via les urines est considérée comme " p_{urine} ", et est calculée comme suit : $p_{urine} = k_{urine} \times \frac{V_1}{CL} \wedge k_{urine} = \frac{dQ_u}{dt} \times \frac{1}{A_1}$

Avec Q_1 la quantité de TXA dans le compartiment central, et Q la quantité de TXA dans le compartiment urinaire.

Des modèles d'erreur additifs, proportionnels, combinés (additifs et proportionnels) ont été évalués pour modéliser la variabilité résiduelle inexplicée.

Une fois le meilleur modèle pharmaco-statistique choisi, l'influence potentielle des caractéristiques des patients sur la pharmacocinétique du TXA a été évaluée.

Compte tenu des résultats obtenus dans l'étude I, l'influence de certaines variables sur la variabilité interindividuelle des paramètres populationnels n'a pas été étudiée dans l'étude II.

Les covariables choisies pour les deux études sont présentées dans le Tableau 16.

Tableau 16 - Covariables testées pour intégration dans le meilleur modèle structurel dans les études I et II.

Covariables (unités)	Étude I	Étude II
Poids réel avant/après (kg)	✓	✓
Indice de masse corporelle (kg/m ²)	✓	✓
Poids idéal (kg)	✓	✓
Poids ajusté (kg)	✓	✓
Taille (cm)	✓	
Surface corporelle (m ²)	✓	✓
Clairance de créatinine selon Cockcroft-Gault (mL/min)	✓	✓
Créatinine (mg/L)	✓	✓
Urée (g/L)	✓	✓
Débit de filtration glomérulaire CKD-EPI (mL/min1,73m ²)	✓	✓
Débit de filtration glomérulaire MDRD (mL/min1,73m ²)	✓	✓
Clairance à la créatinine Jelliffe (mL/min)	✓	
Clairance à la créatinine Chiou (mL/min)	✓	
Volume de remplissage (mL)	✓	
Volume de saignement initial (mL)	✓	
Volume de saignement additionnel (mL)	✓	✓

Chaque caractéristique associée au poids réel a été calculée deux fois, d'abord en utilisant le poids corporel mesuré avant la grossesse et ensuite en utilisant le poids corporel mesuré après la grossesse. Le choix de tester le poids corporel mesuré avant la grossesse comme covariable potentielle est lié au fait que le poids pris pendant la grossesse ne correspond pas à une augmentation proportionnelle des tissus adipeux et du corps. Par conséquent, le poids corporel mesuré avant la grossesse pourrait être un meilleur estimateur de la distribution que le poids corporel mesuré le jour de la césarienne.

L'effet des covariables a été testé sur chaque paramètre pharmacocinétique, par incorporation des covariables une à une au meilleur modèle pharmaco-statistique (forward inclusion).

Une covariable était retenue si elle expliquait significativement la variabilité interindividuelle d'un paramètre pharmacocinétique (test de Wald, $p \leq 0,05$). Le choix des modèles a été réalisé en fonction du BICc estimé par l'algorithme SAEM^[133,134], et en fonction de l'indice de conditionnement κ , calculé à l'aide de la matrice d'information de Fisher inférieur à 100^[136].

L'évaluation de la performance du modèle final à covariables a utilisé la précision de l'estimation des paramètres exprimée par l'erreur standard relative requise pour être $\leq 30\%$ pour les paramètres fixes et $\leq 50\%$ pour ω_l ; et les diagrammes de diagnostics basés sur les simulations de Monte Carlo. Les erreurs standards relatives calculées par Monolix sont calculées asymptotiquement à partir de l'inverse de la matrice d'information de Fisher. Le graphique de vérification visuelle prédictive (VPC) évalue si le modèle peut reproduire la variabilité des données observées dont il est issu en superposant la distribution des observations et la distribution des prédictions. (2) Les diagrammes de dispersion des valeurs observées et prédites comparent graphiquement la distance entre la valeur observée et la valeur prédite, qui devrait être aussi faible que possible. (3) Un histogramme de la distribution de l'erreur de prédiction normalisée (NPDE) a été calculé et devrait suivre la distribution $N(0,1)$. Un test de Shapiro Wilk ($\alpha=5\%$) a été calculé pour évaluer la normalité des effets aléatoires $\eta_{i,l}$ et $\varepsilon_{i,j}$.

La robustesse du modèle a été évaluée en effectuant une procédure de rééchantillonnage bootstrap ($n=1000$ dans l'étude I, $n=500$ dans l'étude II) en utilisant le paquet Rsmlx (version 2.0.2) dans le logiciel R (version 3.6.1, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

2.3.6. Simulations de Monte Carlo

Afin de mieux visualiser l'influence de la variation des doses et des covariables sur la pharmacocinétique du TXA, des simulations de Monte Carlo de 1000 parturientes ont été répétées pour l'administration de doses uniques de TXA de 0,5 et 1g (et 2g pour l'étude I) administrées en bolus IV.

Les résultats ont été calculés à l'aide du paquet mlxR (version 4.0) et la présentation graphique des résultats a été réalisée avec le paquet ggplot2 (version 3.3.3) du logiciel R (version 3.6.1, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

2.3.7. Modélisation pharmacocinétique non compartimentale

Dans l'étude I, la concentration maximale (C_{max}) et l'AUC₀₋₃₆₀ (entre T0 et T360) ont été estimées à l'aide du logiciel PKAnalix version 2019R1, Lixoft, Orsay, France

Dans l'étude II, une ANC a également été réalisée (PKAnalix version 2020R1, Lixoft, Orsay, France). L'ASCT_{1-T360} (entre T1 et T360), l'ASC T_{1-T30} (entre T1 et T30), l'ASC T_{1-T60} (entre T1 et T60), le temps moyen de séjour (TMS) du TXA pour chaque patient et la C_{max} ont été estimés.

La méthode log linéaire trapézoïdale a été utilisée.

2.3.8. Recherche d'un critère PKPD

Dans les études I et II, afin de déterminer le meilleur prédicteur d'efficacité du TXA, un test de corrélation de spearman (logiciel R, version 3.6.1, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria) a été réalisé entre le volume de saignement additionnel mesuré pour chaque patiente et la C_{max} , l'ASC₀₋₃₆₀, la dose de TXA administrée.

Dans l'étude II, des groupes de patients ont été formés en fonction de l'état de saignement des patients à T30 et T60 (cf. Tableau 17).

Tableau 17 - Définition des groupes en fonction de l'état du saignement des patients inclus dans l'étude TRACES dans l'étude II.

Temps de l'analyse	Groupe A	Groupe B	Groupe C	Groupe D
T30	Arrêt du saignement définitif à partir de T30	Poursuite de saignement à T30	Arrêt du saignement à T30 mais reprise d'un saignement actif à T60, T120, ou T360.	
T60	Arrêt du saignement définitif à partir de T60	Poursuite de saignement à T60	Arrêt du saignement à T60 mais reprise d'un saignement actif à T120, ou T360.	Arrêt du saignement entre T0-T30 ou T30-T60 mais reprise d'un saignement actif à nouveau à T60.

Les comparaisons des valeurs moyennes de C_{max} , des concentrations sanguines de TXA mesurées à T30 (CT30), de l'ASC(T1-30), du TMS ont été calculées entre les différents groupes en fonction de l'état des saignements à T30.

Les comparaisons des valeurs moyennes pour le C_{max} , les concentrations sanguines de TXA mesurées à T60 (CT60), l'ASC(T1-60) ont été calculées entre les différents groupes en fonction de l'état de saignement à T60. Les comparaisons statistiques ont été effectuées en utilisant un test bilatéral de Kruskal-Wallis ($\alpha=0,05$, logiciel R, version 3.6.1, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

2.4. Résultats

2.4.1. Patientes

Les tableaux récapitulant les caractéristiques anthropométriques et physiologiques des patientes recrutées dans les études sont présentés dans les articles publiés.

2.4.1.1. Étude I

Vingt-cinq patientes ont été recrutées dans l'étude TRACES pilote, dix non hémorragiques et quinze hémorragiques. Parmi les quinze patientes hémorragiques, quatre ont reçu un placebo. Au total, neuf de ces patientes hémorragiques ont été recrutées dans l'étude, car deux ont été exclues en raison de données manquantes pour l'une et du non-respect des temps de prélèvements pour l'autre.

2.4.1.2. Étude II

Cent-soixante-quinze patientes hémorragiques ont été recrutées dans l'étude TRACES. Quarante-quatre patientes ont été recrutées dans la sous-étude TRACES PK avec covariable. Des doses supplémentaires de TXA ont été administrées à sept patientes du groupe TXA1g (1 g une fois pour six d'entre eux et 1 g deux fois pour l'un d'entre eux) et à une patiente du groupe TXA0,5g (0,5 g une fois). Ces huit patientes ont été incluses dans la modélisation pharmacocinétique populationnelle et leur schéma thérapeutique a été rigoureusement codifié dans l'ensemble des données.

2.4.2. Résultats pour le modèle structurel

2.4.2.1. Étude I

Cinquante-trois mesures de concentration sanguine et neuf mesures de concentration urinaire obtenus à partir des neuf patientes incluses ont été intégrés dans la construction du modèle structurel. L'étude I a permis de mettre en évidence que le meilleur modèle structurel était un modèle bi-compartimental avec une double élimination linéaire du compartiment central, dont une fraction d'élimination urinaire, caractérisé par le système d'équations différentielles suivant :

$$\frac{dQ_1}{dt} = -(k_{nonurine} + k_{urine}) \times Q_1 - k_{12} \times Q_1 + k_{21} \times Q_2$$

$$\frac{dQ_2}{dt} = k_{12} \times Q_1 - k_{21} \times Q_2$$

$$\frac{dQ_u}{dt} = k_{urine} \times Q_1$$

$$k_{urine} = p_{urine} \times \frac{cl}{V_1} ; k_{nonurine} = (1 - p_{urine}) \times \frac{cl}{V_1} ; k_{12} = \frac{Q}{V_1} ; k_{21} = \frac{Q}{V_2}$$

Avec Q_1 la quantité de TXA dans le compartiment central, Q_2 la quantité de TXA dans le compartiment périphérique, et Q_u la quantité de TXA recueillie dans les urines.

Ce modèle est présenté dans la Figure 27.

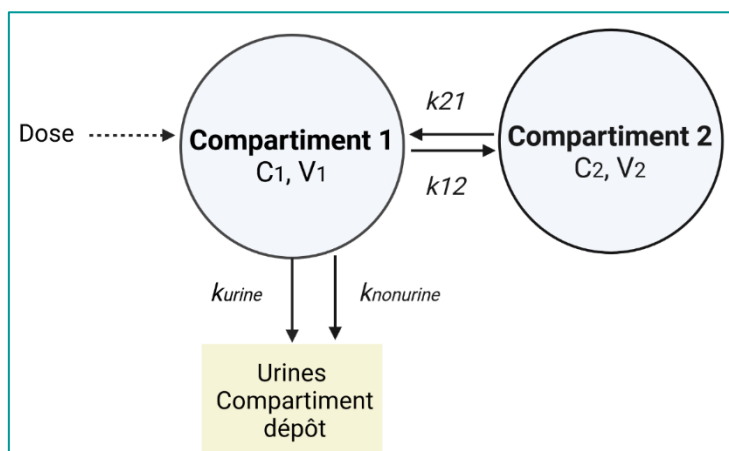


Figure 27 - Meilleur modèle structurel : modèle bi-compartmental avec double élimination du compartiment central (production originale, créée avec BioRender.com).

À cette étape, l'estimation populationnelle des effets fixes était la suivante : une clairance (Cl) à 0,171 L/min (ou 10,36 L/h), un volume de distribution (V1) à 12,3 L et une fraction urinaire (p_{urine}) à 26%. La demi-vie d'élimination a été estimée à 50 min et la constante d'élimination totale ($k_{nonurine} + k_{urine}$) a été estimée à 0,84 h⁻¹.

Le modèle d'erreur résiduelle des concentrations sanguines et urinaires était mieux décrit par un modèle d'erreur proportionnel. Le BICc de ce modèle a été estimé par l'algorithme à 510,22 points.

2.4.2.2. Étude II

335 mesures de concentration sanguine et 154 mesures de concentration urinaire obtenues à partir des quatre-vingt-quatre patientes incluses ont été intégrées dans la construction du modèle structurel. 315 mesures de concentration sanguine et 147 mesures de concentration urinaire obtenues chez soixante-dix-neuf patientes ont été intégrées dans la construction du modèle final avec covariables.

Le modèle structurel le mieux adapté aux données était le même que celui choisi dans notre étude préliminaire (Figure 27). Les valeurs estimées des effets fixes pour ce modèle étaient de 0,14 L/min (8,4L/h) pour CL, 17,66 L pour V1, 0,079 L/min pour Q, 8,12 L pour V2 et p_{urine} à 61%. Le BICc de ce modèle était de 4051,81.

Les résultats ont montré que le modèle d'erreur combinée et le modèle proportionnel étaient le plus adaptés pour évaluer l'erreur résiduelle des concentrations sanguines et urinaires respectivement.

2.4.3. Résultats pour le modèle avec covariable

2.4.3.1. Étude I

Les résultats ont montré que le modèle permettant une maximisation de la vraisemblance selon le BICc était le modèle pour lequel le rapport *Poids idéal/dose* avait été attribué à la variabilité inter-individuelle du volume de distribution. Ce modèle a permis une amélioration du BICc de 18,7 points par rapport au modèle structurel sans covariable ; son indice de conditionnement respectait les valeurs souhaitées ($\kappa=21$).

2.4.3.2. Étude II

Le modèle avec covariable présentant le BICc le plus faible (3790,77) avec un indice de conditionnement inférieur à 100 ($\kappa=35,14$), était le modèle pour lequel :

- la clairance rénale calculée selon Cockroft et Gault ($eClcr$ avait été intégrée dans l'expression de la clairance totale du TXA,
- le poids réel mesuré avant la grossesse rapporté à un poids moyen de la population (70kg) avait été intégré dans l'expression du volume de distribution du TXA.

Dans ce modèle, la clairance et le volume de distribution individualisés du TXA sont exprimés sous la forme :

$$CL_i = CL_{pop} \times e^{\beta CL \times eClcr_i}$$

Où, CL_i représente la clairance du TXA pour un individu i , CL_{pop} représente l'effet fixe (l'estimation populationnelle) de la clairance du TXA, βCL représente l'effet de la covariable $eClcr_i$ sur l'effet fixe, $eClcr_i$ la clairance à la créatinine estimée selon la formule de Cockroft et Gault à partir du poids mesurée en début de grossesse.

Et,

$$V1_i = V_{pop} \times \frac{BW_i^{\beta V1}}{70}$$

Où, $V1_i$ représente le volume de distribution du TXA pour un individu i , V_{pop} représente l'effet fixe (l'estimation populationnelle) du volume de distribution du TXA, $\beta V1$ représente l'effet de la covariable $\frac{BW_i}{70}$ sur l'effet fixe, BW_i , le poids réel mesuré en début de grossesse, rapporté au poids médian de cette population.

2.4.4. Simulations de Monte Carlo pour le modèle de l'étude II

Les simulations de Monte Carlo pour 1000 individus sont présentées dans la Figure 28. Ce graphique représente les prédictions classées en percentiles des concentrations plasmatiques de TXA après administration d'une dose unique de 0,5g (Figure 28-a) ou de 1g (Figure 28-b)

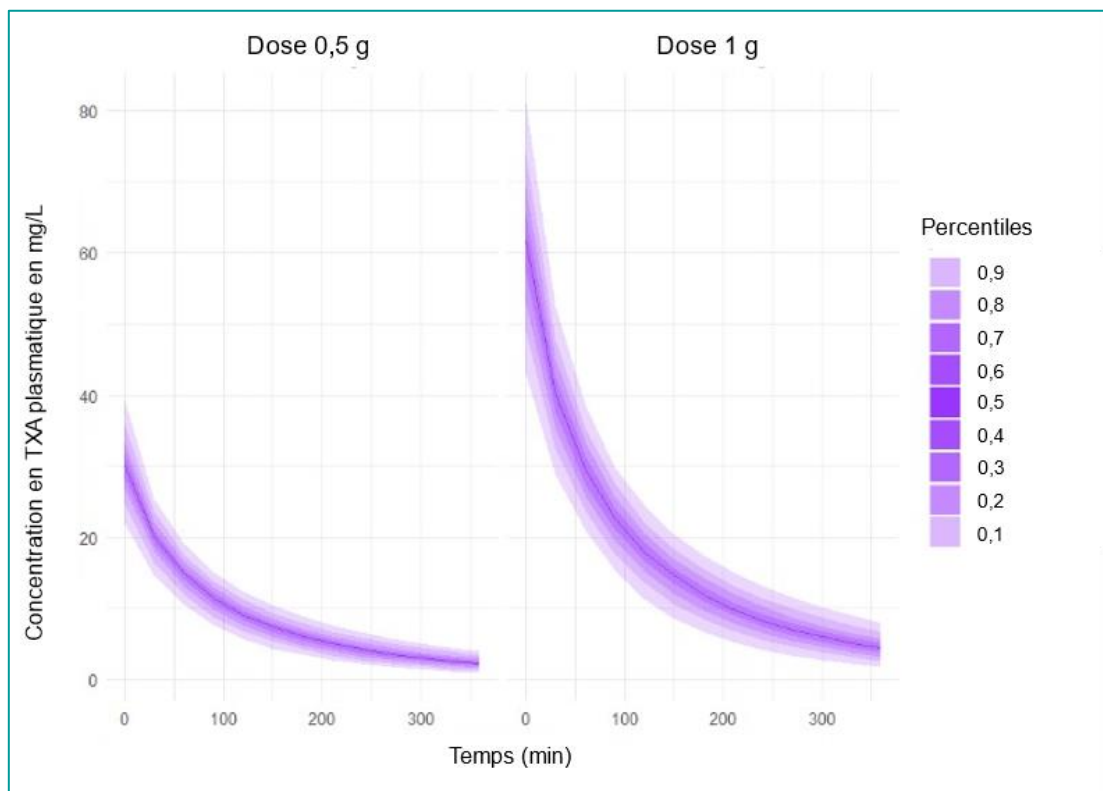


Figure 28 - Les simulations de Monte Carlo pour le modèle structurel pour 1000 individus. Légende : Administration d'une dose unique de 0,5g (a) ou 1g (b).

Ces résultats suggèrent que la concentration plasmatique en TXA a été maintenue au-delà de 30 mg/L et 15 mg/L pour 90% des individus suivant l'administration d'une dose de 1 g ou 0,5 g de TXA respectivement.

2.4.5. Analyse non compartimentale

2.4.5.1. Étude I

L'étude I n'a pas permis de mettre en évidence de corrélations statistiquement significatives entre la dose administrée et le volume de saignement additionnel ($r^2=0,009$), la C_{max} et le volume de saignement additionnel ($r^2=-0,153$, $p\text{-value}=0,695$), l'ASC0-360 et le volume de de saignement additionnel ($r^2=0,509$, $p\text{-value}=0,162$).

2.4.5.2. Étude II

Les résultats suggèrent l'absence de différence statistiquement significative pour les critères C_{T1} , C_{T30} , ASC(T1-T30), TMS entre les différents groupes de patientes définis en fonction de leur statut de saignement à T30. De la même manière, aucune différence statistiquement significative entre les différents groupes de patientes définis en fonction de leur statut de saignement à T60 n'a été mise en évidence pour les critères C_{T1} , C_{T60} , TMS, and ASC(T1-T60).

Les boîtes à moustaches représentant les ASC(T1-T30) et ASC(T1-T60) en fonction des groupes de patientes, suggèrent que les ASC(T1-T30) et ASC(T1-T60) ont tendance à être plus élevés chez les patientes qui présentent un arrêt définitif du saignement à T30 et T60 respectivement dans les autres groupes ; cette tendance n'est observée que dans le groupe recevant une dose de 1g. Cette même tendance est observée pour la C_{max} .

2.5. Discussion et conclusion

TRACES est la première étude pharmacocinétique populationnelle conduite chez des parturientes hémorragiques recevant du TXA en bolus IV à visée curative dans un contexte de césarienne. Les données pharmacocinétiques du TXA ont pu être décrites de manière adéquate par un modèle bicompartimental avec une double élimination du compartiment central.

La modélisation PK a mis en évidence des discordances entre l'étude I et II concernant les covariables expliquant la variabilité interindividuelle de la pharmacocinétique du TXA. Ceci s'explique par le plus grand nombre de patientes incluses dans cette nouvelle étude, qui décrit mieux l'effet des covariables individuelles sur les paramètres pharmacocinétiques. Il est donc plus probable que la variabilité interindividuelle de la clairance du TXA soit partiellement expliquée par la clairance

rénale estimée à l'aide de la formule de Cockcroft-Gault et que la variabilité interindividuelle du volume de distribution soit partiellement expliqué par le poids corporel mesuré avant la grossesse rapporté à un individu de 70 kg. Ces deux résultats sont cohérents avec la littérature, concernant la relation entre la clairance du TXA et la clairance à la créatinine^[158,159], ou la relation entre le volume de distribution du TXA et le poids réel des patientes^[160–163]. L'implémentation de ces deux covariables dans le modèle a permis de réduire le BICc de 55 points tout en maintenant un indice de conditionnement κ acceptable, inférieur à 100.

Nos résultats sont cohérents avec les précédentes études conduites sur des volontaires sains, des patients hospitalisés en traumatologie, des patients sous circulation extracorporelle pour lesquels la pharmacocinétique du TXA a également été décrite par un modèle à deux compartiments^[162–165], avec une clairance du TXA comprise entre 6,6 et 10,1 L/h et un volume central de distribution du TXA compris entre 4,8 et 17,9 L, tous deux normalisés en fonction du poids corporel d'un individu de 70 kg. Plus récemment, Li *et al* ont mené une étude pharmacocinétique populationnelle sur 30 patientes subissant une césarienne élective^[166]. Dans cette étude, le TXA a été administré par voie intraveineuse à des doses prophylactiques de 5 mg/kg (n=10), 10mg/kg (n=10) et 15 mg/kg (n=10) au moment du clampage du cordon ombilical. Leurs résultats ont également suggéré que la pharmacocinétique du TXA était mieux décrite par un modèle à deux compartiments avec élimination de premier ordre. La clairance du TXA a été estimée à 9,4 L/h, et le volume central de distribution a été estimé à 10,1L.

L'élimination urinaire du TXA prise en compte dans la conception de l'étude et le grand nombre de patientes recrutées ont contribué à la robustesse du modèle.

Dans l'étude II, les valeurs des paramètres pharmacocinétiques populationnels estimés étaient de 8,4 L/h pour la clairance normalisée pour une clairance de la créatinine à 150 mL/min (valeur médiane de la population) calculée en utilisant l'équation de Cockcroft-Gault, et de 9,25 L/70 kg⁻¹ pour le volume de distribution. Ces deux résultats sont cohérents avec l'étude I, suggérant une clairance CL et un volume de distribution central V1 estimés respectivement à 10,3 L/h et 11,5 L. En revanche, la fraction d'élimination urinaire p_{urine} a fortement varié entre les études I et II ; elle a été estimée à environ 50 % dans l'étude II contre 25 % dans l'étude I. Cette variabilité peut être associée à une covariable qui n'a pas encore été étudiée. Il sera intéressant

d'étudier la relation entre la variabilité de la p_{urine} et un critère pharmacodynamique afin de déterminer s'il existe un rapport entre l'élimination rénale et l'efficacité du TXA.

Selon nos résultats, cohérents entre l'étude I et l'étude II, le TXA présente une double élimination, une élimination urinaire et une élimination non urinaire. Deux hypothèses peuvent être évoquées pour expliquer ce phénomène :

- l'élimination du TXA dans le saignement utérin,
- la séquestration du TXA entre la plasmine et la fibrine ; en effet, le mécanisme d'action du TXA consiste à inhiber la fibrinolyse en empêchant le plasminogène et le t-PA de se lier à la fibrine. Selon cette hypothèse, il paraît vraisemblable que l'efficacité du TXA soit influencée par cette part d'élimination non-urinaire. En suivant ce raisonnement, la fraction urinaire serait donc prédictive de l'efficacité du TXA.

Dans notre étude, les résultats non publiés ont révélé qu'une partie du TXA est éliminée par le flux sanguin hémorragique ; cependant, des imprécisions concernant le prélèvement de ce sang ont rendu difficile la détermination de la concentration réelle de TXA dans le sang hémorragique et nous ont conduit à exclure ces concentrations sanguines utérines de l'analyse pharmacocinétique. En effet, le processus de collecte a été jugé trop imprécis pour mesurer le volume exact de sang utérin et donc, la quantité excrétée de TXA. La précision de la collecte du sang utérin a été considérée comme moins importante que la gestion de la césarienne hémorragique dans notre étude.

Concernant la concentration cible du TXA, une revue récente a suggéré que des concentrations de TXA de 10 à 15 mg/L peuvent être suffisantes pour inhiber l'hyperfibrinolyse *in vivo*^[159]. Selon les auteurs, cette plage de concentration devrait être ciblée dans les études pharmacocinétiques. Cependant, cette hypothèse ne repose que sur des études mesurant l'effet des concentrations de TXA sur l'hyperfibrinolyse *in vitro*. La relation *in-vivo* entre la pharmacocinétique et la pharmacodynamique du TXA n'est pas clairement décrite dans la littérature. Une étude a suggéré qu'un modèle I_{max} décrivait le mieux la relation entre la concentration de TXA et la lyse maximale mesurée à l'aide d'une analyse par thromboélastométrie rotationnelle (ROTEM)^[166]. Dans le modèle I_{max} , l'évolution de l'effet suit l'équation suivante :

$$E = E_0 \times \frac{(1 - I_{max}) \times (C_{cprédite})^\gamma}{IC50^\gamma + (C_{cprédite})^\gamma}$$

Ce modèle pharmacodynamique a été paramétré à l'aide de la valeur de Lyse Maximale (ML) initiale, de l'inhibition max (I_{max}), de la concentration en TXA permettant 50% de la lyse (IC_{50}) et du coefficient de Hill (γ). Dans ce travail, l' IC_{50} a été atteint à 6 mg/L. En considérant cette relation PKPD, les auteurs ont estimé qu'une dose de 650 mg était suffisante pour prévenir la survenue d'une césarienne. Cependant, cette étude a été menée sur des patients recevant des doses prophylactiques de TXA et n'a pas étudié les concentrations nécessaires pour mettre fin à l'hémorragie une fois que celle-ci a déjà commencé. Aucune étude n'a encore déterminé la concentration de TXA nécessaire pour mettre fin à l'hyperfibrinolyse dans le contexte d'une césarienne hémorragique.

Les simulations de Monte Carlo sur 1000 individus ont montré que les concentrations sanguines prédites de TXA diminuent rapidement en dessous de 20 mg/L, environ 30 min après l'administration d'une dose unique de 0,5 g en bolus. Nos résultats suggèrent donc que la fourchette de concentration de 10-15 mg/L a été atteinte par chaque patiente recevant du TXA à 0,5 ou 1 g.

Cependant, sur les huit patientes qui ont eu besoin d'une dose de secours de TXA au cours de l'étude, aucune des concentrations de TXA mesurées avant la deuxième dose n'était inférieure à la concentration cible de 10 mg/L min-max[14 - 89 mg/L]. Ces résultats soulignent la complexité du lien entre la pharmacocinétique et la pharmacodynamique dans le contexte d'une césarienne hémorragique. Nous suggérons que l'atteinte d'une concentration cible de 10-15 mg/L n'est pas suffisante pour inhiber la fibrinolyse et pour expliquer l'efficacité du TXA à mettre fin au processus hémorragique. Considérant que la concentration cible de TXA est encore inconnue dans cette population, aucune proposition d'ajustement de la dose par rapport à une concentration cible n'a été proposée dans notre étude. La première hypothèse est que l'efficacité du TXA est dépendante du temps, ce qui signifie qu'une durée pendant laquelle la concentration de TXA reste supérieure à une concentration cible est nécessaire. Une deuxième possibilité est que la dose requise puisse dépendre de la sévérité de l'hyperfibrinolyse initiale.

3. Articles

Le travail portant sur l'étude I a été publié dans *l'European Journal of Pharmaceutical Sciences*^[167]. Le travail portant sur l'étude II a été publié dans le journal *Pharmaceutics*^[168]. Les deux articles sont présentés ci-après (dernières version corrigées par les relecteurs et acceptées par l'éditeur).

Hypothesis for a partially non urinary elimination of tranexamic acid in haemorrhagic caesarean section: TRACES pilot pharmacokinetic study

Short title: Pharmacokinetics of tranexamic acid in obstetrics

Gilliot S.¹, Ducloy-Bouthors AS.^{1,2}, Hennart B.³, Loingeville F.⁴, Jeanne M.^{1,5}, Lebuffe G.^{1,6}, Odou P.¹.

¹ Univ. Lille, EA 7365 – GRITA - Groupe de Recherche sur les formes Injectables et les Technologies Associées, F-59000 Lille, France.

² CHU Lille, Pôle anesthésie-réanimation, maternité Jeanne de Flandre, F-59000 Lille, France

³ CHU Lille, Unité fonctionnelle de toxicologie, centre biologie pathologie, F-59000 Lille, France.

⁴ Univ. Lille, CHU Lille, EA 2694 - Santé publique : épidémiologie et qualité des soins, F-59000 Lille, France.

⁵ CHU Lille, Centre des Brûlés, F-59000 Lille, France

⁶ CHU Lille, Pôle anesthésie-réanimation, hôpital Huriez, F-59000, Lille, France

Corresponding author: Gilliot Sixtine, Univ. Lille, EA 7365 – GRITA - Groupe de Recherche sur les formes Injectables et les Technologies Associées, F-59000 Lille, France.
sixtine.gilliot.etu@univ-lille.fr.

Abstract

Background

In previous studies, the choice of doses of tranexamic acid was empirically defined as no pharmacokinetic study had been conducted in haemorrhagic caesarean section.

Objective

The objective was to build a pharmacokinetic model in patients receiving a single 0.5, 1 or 2 g intravenous bolus.

Method

A preliminary monocentric open study was performed in the Lille centre. Blood samples and one urinary sample were collected in the 6 hours following the injection. Nine patients were included. Tranexamic acid concentration was measured using liquid chromatography system coupled with tandem mass spectrometry. We used Monolix 2019R1 for population pharmacokinetic modelling. A structural model was constructed followed by the investigation of potential covariates.

Results

Data were best described with a two-compartment model with a double first-order elimination from the central compartment. The model was improved when the variable ideal weight per dose was affected as a covariate for the apparent volume of distribution. Assuming a dose of 1 g and a height of 160 cm, the pharmacokinetic parameters were estimated at $10.26 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$ for total clearance, 11.5 L for the volume of the central compartment, 15.8 L for the volume of the second compartment, a diffusional clearance of $30.36 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$, and a urinary excretion fraction of 25.8%.

Conclusions

The population pharmacokinetic model of tranexamic acid in haemorrhagic caesarean section was successfully established in our tiny sample of patients. The results of this preliminary TRACES pharmacokinetic study suggested that elimination of tranexamic acid is partially non urinary in contrast with healthy patients.

Keywords: caesarean section; intravenous; pharmacokinetics; postpartum haemorrhage; tranexamic acid.

Main text

1. Introduction

Primary postpartum haemorrhage (PPH) refers to an estimated blood loss of more than 500 mL after vaginal birth or 1000 mL after caesarean section within 24 hours of giving birth. In 2010, PPH was responsible for 27% of maternal death worldwide placing it at the head of the causes of maternal death (Say et al., 2014).

Tranexamic acid (TA) prevents bleeding by inhibiting the enzymatic breakdown of fibrin blood clots. This molecular analogue of lysine inhibits fibrinolysis by reducing the binding of plasminogen and t-PA to fibrin.

Previous findings showed that TA improved prognosis through reduction of death due to bleeding in surgery, trauma and PPH with various uniform dose regimen. The CRASH-2 trial proposed a loading dose of 1 g over 10 min followed by an infusion of 1g over 8 hours in trauma adults (“Effects of tranexamic acid on death, vascular occlusive events, and blood transfusion in trauma patients with significant haemorrhage (CRASH-2): a randomised, placebo-controlled trial,” 2010). Then, the EXADELI trial suggested a loading dose 4 g over 1 hour, followed by an infusion of 1 g/hour over 6 hours to evaluate the impact of TA on the blood loss volume and duration in women with PPH (Ducloy-Bouthors et al., 2011). Finally, the WOMAN Trial randomly recently assigned patients to receive TA 1 g intravenously (followed by a second if bleeding continued after 30 min or restarted within 24 hours) or matching placebo with successful results on the reduction of death due to bleeding in the treated group (Shakur et al., 2017). Based on those studies, WHO strongly recommends early use of intravenous tranexamic acid (within 3 h of birth) with an intravenous dose of 1 g over 10 min, followed by a second dose of 1 g if bleeding continues after 30 min or restarts within 24 h of completing the first dose (Vogel et al., 2018). The 1 g and 4 g dose regimen chosen in the EXADELI and WOMAN trials for the treatment of PPH relied on the results of studies conducted in patients with very different characteristics from parturient women. To investigate the best dose regimen and any need for dose adjustment in the treatment of PPH, pharmacokinetic (PK) studies are required. Until today, no PK studies for TA in the treatment of PPH have been held in literature. Contrary to common believes, TA have several mechanisms of action to be explored. In fact, plasmin-induced platelet activation and intrinsic generation of thrombin through activation of factor XII (Soslau et al., 1991; Stief, 2012, 2009) were proposed to explain its efficacy in acute haemorrhage. Parallel analysis of blood loss, TA concentration and fibrinolysis inhibition have never been performed in vivo in haemorrhagic caesarean section. Pharmacodynamic

pharmacokinetic (PK-PD) study will be required. The first step will consist in the build of a PK model.

Our objective was to build a PK model in patients receiving a single 0.5, 1 or 2 g intravenous (i.v) bolus and to identify the factors most closely tied up to therapeutic variability between individuals through a PK study.

2. Methods

TRACES trial is a multicenter randomized double-blind placebo-controlled study whose target will be to evaluate the dose-ranging efficiency of TA on blood loss reduction in patients experiencing PPH during elective or non-emergent caesarean section delivery (Bouthors et al., 2018). TRACES pilot is the preliminary PK study of TRACES trial.

2.1.Ethics approval

TRACES trial was approved by the competent national authorities (ANSM 201500249926) and the Ethics Committee (CPP 15/50 020216) before beginning the study following article L1121-4 of the Public Healthcare Code. This trial has been declared on the clinical trials registration under the number CT 02797119 (Bouthors et al., 2018).

2.2.Patients and Data Collection

TRACES pilot was a monocentric open preliminary technical validation study performed over 2 months (Appendix A). Nine patients participated in the preliminary PK study (Fig. 1). Patients were included if they were undergoing haemorrhagic cesarean section (blood loss > 800 mL) and receiving a single i.v dose of TA (0.5, 1 or 2 g over 1 minute). Non-inclusion criteria used were presented in the TRACES pilot study protocol (Bouthors et al., 2018).

2.3.Measurements and data handling

The blood TDM samples were obtained from our patients at T0 (inclusion time, when bleeding \geq 800 mL is diagnosed), T1 (at the end of injection), T15, T30, T60, T120, T180, and T360 (defined as 15, 30, 60, 120, 180 and 360 min after the injection). The urinary samples were collected within 6 hours after treatment.

The characteristics collected for each patient were age, body weight (BW), height, dose, TA concentration at any time from the injection to T360, serum creatinine concentration, urea, volume of intravenous fluids administered all along the study period, the loss of blood volume before inclusion (Vs1), and additional blood loss (Vs2). Urines were collected in a graduated

urinary bag from the administration of TA to T360. Body surface area (BSA) (Dubois and Dubois, 1916), ideal weight (IW) (Robinson et al., 1983), body mass index (BMI) were calculated. Clearance of creatinine (Clcr) was calculated thanks to Cockcroft and Gault formula. Glomerular filtration rate (GFR) was estimated with MDRD and CKD-EPI formulas. We also considered the unstability of the Clcr in this particulate and acute situation using the Jelliffe (1972) (Jelliffe and Jelliffe, 1972) and Chiou (1975) (Chiou and Hsu, 1975) computation formulas.

2.4. Sample Analysis

The sample analysis was described in the TRACES pilot study protocol (Bouthors et al., 2018). Blood and urinary samples were analyzed by the toxicology laboratory of the Lille centre.

Fifty microliters of plasma or pre-diluted (1/10th) urine were mixed and centrifuged (4500 g, 4 °C, 10 min) after addition of 400 µL of methanol containing 7β-hydroxyethyl-theophylline (Sigma-Aldrich, Saint Quentin Fallavier, France) at 20 mg.L⁻¹, as an internal standard. The supernatant (20 µL) was added to water/formic acid 0.1% (180 µL).

Measures were carried out on liquid chromatography system coupled with tandem mass spectrometry (Acquity Xevo-TQ Detector, Waters, Milford, MA, USA) following a fully validated method (Ducloy-Bouthors et al., 2018). The lower limit of quantification was 2 mg/L. Linearity was tested using the calibration range 5–200 mg/L ($r^2=0.995$). Intra-day and interday precisions were <3.80% and 5.30%, respectively, for a 20-mg/L-spiked sample and <2.90% and 4.15%, respectively, for a 150-mg/L-spiked sample. The system was equipped with an HSS T3 column (1.8 µm × 2.1 × 50 mm) maintained at +50°C. Compounds were separated using a mobile phase gradient consisting of methanol and formic acid. Ions of each analyzed compound were detected in a positive ion mode using multiple reaction monitoring (MRM). An injection volume of 5 µL was used for all the analyses. Data acquisition and quantification were performed using MassLynx 4.1 Software (Waters).

2.5. PK modelling

The PK parameters were estimated using the parametric NLMEM software program Monolix 2019R1 (Lixoft, Orsay, France) by applying the stochastic approximation expectation-maximization algorithm (SAEM) combined with a Markov Chain Monte Carlo procedure (Chan et al., 2011). This SAEM algorithm estimates for each patient the distribution of the fixed parameters. The fixed parameters were computed without any approximation of the model (no linearisation).

In this article, we considered NLMEMs for discrete data where the conditional probability for observation y_{ij} at sample $j=1$ to n_i from patient i can be written as:

$$y_{ij} = f(t_{ij}, \psi_{ij}) + g(t_{ij}, \psi_{ij}) * \varepsilon_{ij}, \varepsilon_{ij} \sim N(0, 1)$$

Where y represents the plasmatic or urinary concentration in TA estimated at t_j for a patient i , f represents the non-linear function of the model, t_{ij} represents the time of sampling, ψ_{ij} represents the set of PK parameters, g represents the residual error model and ε_{ij} represents the residual error.

The expression of the log of the population PK parameter for individual i is given by:

$$\log(P_i) = \log(\theta_P) + \beta_1 * x_1 + \eta_i, \eta_i \sim N(0, \omega_P)$$

Where θ_P represents the fixed effect parameter in our population, β_1 represents the effect of covariate x_1 , η_i represents the between subject variability (BSV) term on parameter P for subject i , ω_P^2 represents the variance of the interindividual error.

η_i is the realization of the random-variable η capturing the BSV. η is assumed normally distributed with variance ω_P^2 .

First, we built the base model for TA using the blood and the urinary concentrations. Secondly, we evaluated the potential influence of the patients' characteristics on the TA kinetics.

Random effects of parameters were plotted against covariates to identify possible relationships between them. Covariate testing was assessed with a multiple sequential regression analysis. Only the covariates significantly correlated with at least one PK parameter with a risk of 5% were included in the final structural model for investigation. Parameters considered for covariate testing were the followings: dose, age, BW, IW, height, BMI, BSA, serum creatinine, urea, volume of intravenous fluids, Vs1, Clcr and GFR calculated using the different formulas described above. Concerning our choice of covariates, we considered anthropometric parameters, parameters measuring the renal function and coagulation parameters. In fact, many studies tested successfully anthropometric parameters as covariates of the volume of distribution of TA; renal parameters are well known to influence the elimination of drugs and were also integrated to our analysis; the Vs2 was not introduced as covariate for our model as we were looking for predictive parameters for the time course of TA concentration.

For base and covariate modelling, the PK parameters were assumed to follow a log-normal distribution. The constant, proportional, and combined error models were tested to assess the residual variability. The base and covariate models were selected according to the minimisation of the objective function value including the maximized log-likelihood (-2LL) and the corrected Bayesian information criterion (BICc) (Delattre et al., 2014; Schwarz, 1978), while ensuring that the condition index calculated from the Fisher Information Matrix is within the limits

generally assumed (Gujarati, n.d.). We based our selection on the BICc which is penalized from the maximized log-likelihood by a term that depends on the number of fixed effect parameters and the sample size and which was adapted from the initial BIC for general mixed effects models. The model was accepted if the condition index was below 100. The validation of the models was assessed with (1) the precision of the parameter estimation expressed as the relative standard error (RSE, in %), the goodness of fit of each model according to diagnostic plots such as (2) the observed versus predicted concentration scatter plots, (3) the visual predictive check (VPC), and (4) the diagnostic plot for normalized prediction distribution error (NPDE) (Nguyen et al., 2017). The corrected VPC was used for this study as the doses were not the same for each patient (Bergstrand et al., 2011). The validation of a non-linear mixed-effect model is underpinned by the precision of the estimations obtained from the bootstrap mostly which must reach the required standards ($\leq 30\%$ for fixed effect parameters and $\leq 50\%$ for $\omega\theta$). As we worked on a parametric software, a Shapiro Wilk test ($\alpha=5\%$) was computed to assess the normality of the η and $\varepsilon_{i,j}$. The graphs were computed using Monolix 2019R1.

The RSE given by monolix are computed asymptotically from the inverse of the Fisher Information Matrix. However, only 9 subjects with 7 sampling times are considered in our study, which can lead to unprecised estimation of the uncertainty. In order to obtain a more accurate estimation of the uncertainty on the fixed effect parameters, a parametric bootstrap method was performed using R software (version 3.6.1) implemented with the Rsmxlx package (version 2.0.2). A bootstrap consists in repeating random sampling with replacement of the original data to create a new data set of the same size as the original but with a different combination of subjects (and their data). This resampling was repeated 1000 times. For the interpretation of our data, we considered the relative standard error (%) of the fixed and random parameters obtained from the bootstrap rather than the ones estimated from the original dataset.

2.6. PK simulations

To characterize the influence of the dose-regimen and the chosen covariates on TA kinetics, we generated PK simulations on a fictive group of 1000 individuals parametrized with individual randomization using R software (version 3.6.1) implemented with the mlxR package (version 4.0).

2.7. Correlations

A spearman correlation test (R software) between the Vs2 and the predicted maximal concentration of TA (C_{max}), the area under the curve (AUC) from 0 to 360 minutes (measured using PKAnalix, version 2019R1), the TA dose received was tested.

3. Results

3.1. Patients and Data Collection

Nine patients were recruited in the PK preliminary study (Fig. 1). The patients' baseline and PPH characteristics are presented in Appendix B. The analysis included a total of 53 TA plasma concentration data.

3.2. Population PK

3.2.1. Base model

We tested seven two-compartment models and a single three-compartment model based on previous studies. In the two-compartment models, the first compartment represented the central compartment with an elimination called A and the second compartment represented the peripheral compartment with an elimination called B. The rationale to test a potential elimination from the second compartment comes from the possibility that it may represent the uterine haemorrhagic compartment. Thus, the elimination of TA in the haemorrhagic blood would be represented by an elimination from the second compartment. The tested models were distinguished by their A/B elimination couple (first order, non-linear, absent). The elimination A was assumed to be ever-present as TA concentrations were objective in the 6 hours urine while there was no evidence that the elimination B of TA from the peripheral compartment existed. The results for the selection of the base model are summarized in Table 1.

The proportional error model was the most adequate for evaluating interpatient and residual variability. This model is written $y_1 = C_c + b_1 * C_c * \varepsilon$ with y_1 the predicted TA concentration in the blood, C_c the observed TA concentration in the blood and b_1 the fixed factor of the proportional residual error for the blood concentration. Observed data were best described with a two-compartment model with a double first-order elimination from the central compartment and no elimination from the second compartment (Fig. 2). The model n°7 is thus considered as the final base model in the remainder of this section.

This base model was parameterized using elimination clearance (Cl), the volume of central (V1) and peripheral (V2) compartments, diffusional clearance (Q), urinary excretion fraction (p_{urine}), according to the following equations:

$$\begin{aligned}\frac{dA_1}{dt} &= -(k_{non\ urine} + k_{urine}) \times A_1 - k_{12} \times A_1 + k_{21} \times A_2 \\ \frac{dA_2}{dt} &= k_{12} \times A_1 - k_{21} \times A_2 \\ \frac{dA_u}{dt} &= k_{urine} \times A_1\end{aligned}$$

$$k_{urine} = p_{urine} \times \frac{Cl}{V_1} ; k_{non\ urine} = (1 - p_{urine}) \times \frac{Cl}{V_1} ; k_{12} = \frac{Q}{V_1} ; k_{21} = \frac{Q}{V_2}$$

In those equations A_1 represents the amount of TA in the central compartment, A_2 represents the amount of TA in the peripheral compartment, and A_u represents the amount of TA collected in the urines.

At that step, Cl was 0.171 L.min⁻¹ (or 10.36 L.h⁻¹) with RSE=10.9%, V1 was 12.3 L (RSE=20.8%), and p_{urine} was 0.26 (RSE= 13.7%). We calculated a population elimination rate ($k_{non\ urine} + k_{urine}$) of 0.84 h⁻¹ (0.014 min⁻¹) and a population half-time of elimination of 0.82 h (49.87 min).

3.2.2. Covariate model

Results of covariate testing showed that dose ($r^2 = 0.84$, p-value=4.6 10⁻³), IW per dose ($r^2 = -0.95$, p-value=8.8 10⁻⁵), BW at the end of pregnancy per dose ($r^2 = -0.89$, p-value=1.5 10⁻³) and height per dose ($r^2 = -0.96$, p-value=5.8 10⁻⁵) significantly affected the apparent volume of distribution of TA. It was also found that height influenced the elimination clearance ($r^2 = -0.80$, p-value=8.9 10⁻³). No other covariates significantly influenced the PK parameters of TA with a risk of 5% bilateral. The significant covariates were included one by one in the base model.

According to the results (Table 2), the model with the lowest BICc was the one for which IWD was added as a covariate for the volume of distribution. This model was considered as the final covariate model (model B).

The fixed effect parameters identified for the model B are summarized in Table 3.

The precision of the estimations obtained from the bootstrap mostly reached the required standards ($\leq 30\%$ for fixed parameters and $\leq 50\%$ for ω_P) except for Q (RSE $\omega_Q = 88\%$) and V1 (RSE $\omega_{V1} = 69.7\%$). Diagnostic plots of the final model are presented in Fig. 3.

The proportion of outlier plasma and urinary concentration data individually predicted by the final covariate model were assessed respectively at 3.57% and 0%. Curves representing empirical percentiles were within the prediction intervals. NPDE plots were well distributed around the zero. The Shapiro Wilk test showed that their distribution was not significantly different from 0 (Fc = 0.973, p-value=0.26, for blood concentrations; Fc=0.870, p-value=0.12 for the urinary concentrations). The normal distribution of the η values was not rejected by any statistics at the 95% confidence level (Fc > 0.90, p>0.41).

When studying the time-course evolution of TA plasmatic concentrations in our study patients (Fig. 4), we observe a non-linear relation between the dose given and the C_{max} observed. In concordance with those observed concentrations, the results of the simulations performed also showed that the initial blood concentrations were higher when the dose given was 0.5 g than 1 g (Table 4). This revealed a non-linear relation between the C_{max} and the dose administered according to the simulated values (Table 4).

According to our model, the maximal blood concentration will be estimated with the following equation:

$$C_{max} = \frac{Dose}{V1_{pop} \cdot e^{\beta \cdot \frac{IW}{Dose}}}$$

This equation illustrates the non-linear relation between C_{max} and the dose given. This non-linearity is explained by the positive asymptotic evolution of the volume of distribution of TA with the dose given.

Fig. 5 represents the observed concentrations of TA on the time with curves stratified according to the volume of additional blood loss. According to the correlation tests, results revealed the absence of correlation between the dose received and the additional blood volume ($Vs2$; $r^2=0.009$), a negative non-significant correlation between the predicted C_{max} and the $Vs2$ ($r^2=-0.153$, p -value=0.695), a positive non-significant correlation between the predicted AUC and the $Vs2$ ($r^2=0.509$, p -value=0.162).

4. Discussion

Our results support that TA kinetics are best described with a two-compartment model with a double linear elimination from the central compartment. The analyses showed that the ideal weight per dose (IWD) was the covariate which best explained interindividual variability when it was tied up to the volume of distribution.

This was the first study which estimated PK parameters of TA when used for the treatment of PPH.

The results supported by our study are consistent with the previous findings. Most studies described the two-compartment model with first-order elimination as being the most adequate PK model for i.v TA (Benoni et al., 1995; Dowd et al., 2002; Eriksson et al., 1974; Gertler et al., 2017; Grassin-Delyle et al., 2019; Grassin-Delyle et al., 2018; S. Grassin-Delyle et al., 2013; Stanislas Grassin-Delyle et al., 2013; Sharma et al., 2012; Wesley et al., 2015). A study proposed a three-compartment model with a third exponential curve starting 8 h after treatment

(Pilbrant et al., 1981). As plasma samples weren't collected beyond 6 hours after treatment for our study, our results remain consistent with this last study.

In comparison with these latter studies, TA clearance appears increased in our study (10.6L/h versus 2.5-7.4L/h) and the volume of distribution appears smaller (12.3L versus 16.5 to 46.3L), while it is general knowledge that this latter parameter are in most cases increased in pregnant women. (Eriksson et al., 1974; Grassin-Delyle et al., 2019; Grassin-Delyle et al., 2018). The decrease in volume of distribution may be linked to the important loss of blood encountered during haemorrhagic caesarean section. Otherwise, if the assumption of consumption of TA turns out to be correct, the decrease in volume of distribution could be the consequence of the consumption of TA: the consumption of TA would cause the diminution of the free-TA concentration in the blood and therefore the decrease in the volume of distribution.

Two previous studies had completed their plasmatic dosages with urinary dosages in healthy volunteers in the past. These results supported that urinary excretion of TA was total in healthy volunteers (Eriksson et al., 1974; Pilbrant et al., 1981). However, our results pointed out that a double first-order elimination was the most appropriate to describe TA kinetics when adjusted on the quantity of TA excreted in the urine. The hypothesis of a non-urinary excretion in PPH could be easily explained by the excretion of TA in the haemorrhagic blood flow. To date, no PK study including urinary dosages were conducted in trauma, cardiac surgery or PPH. However, there are gaps in the interpretation of our model. First, if the amount of TA not excreted in the urines, was excreted in the haemorrhagic blood flow, this would represent an important quantity of TA. Yet, small additional volumes were measured for some patients (342 +/- 313 mL). Besides, our results showed a negative correlation (non-significant) between C_{max} and the Vs_2 , and a positive correlation between AUC and the Vs_2 which led us to consider the consumption of tranexamic acid as a hypothetical mechanism of elimination. This assumption would also explain the increase in clearance, that may be bound to important TA consumption. In fact, if we calculate the renal clearance of TA in our tiny sample, we obtain a value of 2.76 which is low but coherent with the one observed in some trauma patients. (Grassin-Delyle et al., 2018). The half-time elimination estimated here is consistent with the one observed in previous studies (Eriksson et al., 1974; Grassin-Delyle et al., 2019; Grassin-Delyle et al., 2018). Special attention will have to be paid to the volume of distribution and the urinary clearance in the currently recruiting study.

The major mechanism of tranexamic acid relies on its binding to the t-PA-activated-plasminogen which blocks native fibrin lysin sites connection. We could assume that, following its binding on t-PA-activated-plasminogen, TA could remain trapped on it. The method of

dosage permit to determine the total amount of TA in urinary and blood samples but may be not able to detect trapped TA. Interestingly, trapped TA could be related to fibrinolysis intensity which is highly variable from one patient to the other. Dosages in haemorrhagic blood were planned to be performed in the TRACES survey to confirm either assumptions.

The multivariate regression analysis revealed a good correlation between the ratio IW/D and the apparent volume of distribution of TA. The main covariate that stood out from previous studies was BW (Dowd et al., 2002; Gertler et al., 2017; Grassin-Delyle et al., 2019; Grassin-Delyle et al., 2018; S. Grassin-Delyle et al., 2013; Stanislas Grassin-Delyle et al., 2013; Wesley et al., 2015). Our results didn't point out any correlation between BW and the volume of distribution of TA. However, they suggested a strong correlation between the volume of distribution and the dose and especially the variable IWD. With IWD as a covariate for the volume of distribution, the model had a 15.07-point lower corrected BIC value compared to the model with no covariate. As the strength of the evidence against the model with the higher BIC is very strong when the difference between to BIC values overtake 10 points, our results support that this covariate model provides a more precise estimation of TA kinetics than the base model. It sounded difficult to compare our estimated populational PK parameters obtained in context of immediate post-partum to other results as the previous PK studies were led in trauma(Grassin-Delyle et al., 2018) or in infant^{21,23}, children^{21,22,23}, neonates^{21,23}, adults²⁴⁻²⁶ in cardiac surgery with cardiopulmonary bypass or in healthy volunteers (Benoni et al., 1995; Grassin-Delyle et al., 2019). As far as we know, the amount of TA administered hasn't been used as covariate for covariate testing in those studies. It seems plausible that the IW is better correlated with the volume of distribution than the BW is because of the influence of pregnancy on the BW. The fact that the volume of blood loss before inclusion (V_{s1}) was not significantly correlated with the volume of distribution of TA may due to the compensation of the loss by vascular filling.

The major limitation of our study is mainly tied up to the lack of data. The number of subjects included corresponds to what was planned in the published TRACES non-interventional pilot study protocol, with two patients excluded *a posteriori* for missing data or disrespect of sampling times. No control PK study was planned in the protocol as the administration of tranexamic acid is not recommended in non-hemorrhagic pregnant women. The dose of 0.5, 1g or 2g was left to the practitioners' appreciation. Yet, that number is consistent since this is a pilot study. Our results revealed a wide inter variability in initial plasma concentration data adjusted on the dose (RSE=69%) which is not explained by our model. Data provided by the TRACES study will be used to complete our model and investigate this variability.

Our model doesn't confer guidance for dose adjustment of TA as the targeted blood concentration remains uncertain. However, guidance in optimizing dose regimen is needed as far as TA used at high doses may lead to adverse effects (Couture et al., 2017; Hodgson et al., 2015). Several minimally effective blood concentrations of TA have yet been proposed in the literature, depending on the mechanism of action considered. It was found that 10 µg/mL of TA inhibited 80% of fibrinolysis when contacted with porcine tissues (Andersson et al., 1968). Otherwise, platelet-rich plasma incubated with 16 µg/mL of TA leads to a reduction by 50% plasmin-induced platelet activation, a study showed (Cortet et al., 2012). Finally, intrinsic generation of thrombin through activation of factor XII seemed to require concentrations of TA ranging from 126 to 252 µg/ml (Stief, 2009).

20 µg/mL of TA are basically assumed to be sufficient to inhibit the major part of fibrinolysis and this threshold has been already used to optimize TA dose regimen in clinical practise (Grassin-Delye et al., 2018). The previous studies dealing with that topic were led in vitro. The relationship between blood TA concentration and blood loss has never been demonstrated. A recent article even showed that the TA concentrations maintained above 10 mg.L⁻¹ weren't correlated with blood loss reduction (Lanoiselée et al., 2018). The 20µg/mL threshold was reached for each patient and so for each dose tested in our study. Also, according to Fig. 4.a and 4.b, what differs most between the 3 different doses given is not the C_{max} reached but the half-time of elimination. In our tiny sample, we didn't observe any link between the time spent above the 20µg/mL and the end of the additional bleeding (Fig. 5). There is currently no data establishing the threshold of 20µg/mL as the efficient one to reduce additional blood loss and inhibit fibrinolysis all together. This is the aim and the great interest of TRACES trial, in the way to be analyzed. Considering the gap between the populational volume of distribution estimated in our study and the one observed in healthy volunteers or trauma patients, we proceeded to a recalculation of what could be the efficacy concentration threshold. If we assume a median volume of distribution around 30 L for an efficacy concentration of 20µg/mL, the threshold quantity for a volume of distribution of 12.3L would be 50 µg/mL. The 50µg/mL threshold was reached for each patient and so for each dose tested in our study. We did not observe any relation between the time spent above the 50µg/mL and the end of the additional bleeding (Fig. 5).

Furthermore, the relation between the clinical efficacy of TA and the AUC has never been established to date. Comparing the AUC to the C_{max} as markers of efficacy of TA could be a first step for determining the best pharmacodynamic indicator of TA. As the correlation

between the AUC and the Vs2 was shown to be higher than the one between Cmax and Vs2 according to our results, the question of AUC as marker of efficacy needs to be investigated in future studies.

Additional blood volume was the only efficacy parameter collected according to the TRACES non-interventional pilot study protocol. The higher correlation between AUC and Vs2 than between Cmax and Vs2 forces us towards the assumption that the efficacy of TA is time dependent.

5. Conclusion

In summary, the population pharmacokinetic model of TA in haemorrhagic caesarean section was successfully established in our tiny sample of patients. The results of this preliminary TRACES pharmacokinetic study suggested that elimination of TA is partially non urinary in contrast with healthy patients. This raised the question of the secondary elimination of TA that we assumed to be either an haemorrhagic elimination or a TA antifibrinolytic trapping. On-going TRACES trial is expected to corroborate either assumptions.

Declarations sections

Acknowledgements

Special acknowledgements should be provided to Mrs Christine Nobecourt, TRACES research midwife who contributed to the study conception, elaboration of the samples' distribution channels and elaboration of the e-CRF, to Mrs Florence Duflot, who elaborated the e-CRF and to Mrs Sambou who contributes to the quality control of the protocol.

Compliance with ethical standards

Ethics approval

TRACES trial obtained approval from the competent national authorities (ANSM 201500249926) and the Ethics Committee (CPP 15/50 020216) before beginning the study, in accordance with article L1121-4 of the Public Healthcare Code. This trial has been declared on the clinical trials registration on 13 of june 2016 under the number CT 02797119. Registration will be performed in accordance with decree dated November 14, 2006 about gathering data in the national register of individuals participating in biomedical research.

Consent for publication

Authors and sponsors have given their consent and defined the publication rules.

Availability of supporting data

Supporting data are available

Funding

The TRACES clinical and biological trial is funded by 2014 exclusively public grants: one part pending ministry of Health: PHRC N°14-0032 and the other part aiming pharmacobiological analysis and model by national agency for drugs security: ANSM AAP-003.

Conflict of interest

The authors declare no competing interest.

Credit Author Statement

S.Gilliot contributed to formal analysis, methodology, software, writing, review and editing of the final version. AS Ducloy-Bouthors contributed to conceptualization, funding acquisition, investigation, project administration, validation of the data, writing and revising the final version of the present manuscript submitted for publication. Benjamin Hennart contributed to

conceptualization, data curation, formal analysis, methodology, validation, and revision the final version of the present manuscript submitted for publication. F Longeville contributed to methodology, formal analysis and revision. M Jeanne and G Lebuffe contributed to formal analysis and validation. P Odou contributed to methodology, formal analysis, validation and revision of the final version of the present manuscript submitted for publication.

REFERENCES

- Andersson, L., Nilsson, I.M., Colleen, S., Granstrand, B., Melander, B., 1968. Role of urokinase and tissue activator in sustaining bleeding and the management thereof with EACA and AMCA. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 146, 642–658.
- Benoni, G., Björkman, S., Fredin, H., 1995. Application of Pharmacokinetic Data from Healthy Volunteers for the Prediction of Plasma Concentrations of Tranexamic Acid in Surgical Patients. *Clin. Drug Investig.* 10, 280–287. <https://doi.org/10.2165/00044011-199510050-00005>
- Bergstrand, M., Hooker, A.C., Wallin, J.E., Karlsson, M.O., 2011. Prediction-Corrected Visual Predictive Checks for Diagnosing Nonlinear Mixed-Effects Models. *AAPS J.* 13, 143–151. <https://doi.org/10.1208/s12248-011-9255-z>
- Bouthors, A.-S., Hennart, B., Jeanpierre, E., Baptiste, A.-S., Saidi, I., Simon, E., Lannoy, D., Duhamel, A., Allorge, D., Susen, S., 2018. Therapeutic and pharmaco-biological, dose-ranging multicentre trial to determine the optimal dose of TRANexamic acid to reduce blood loss in haemorrhagic CESarean delivery (TRACES): study protocol for a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Trials* 19, 148. <https://doi.org/10.1186/s13063-017-2420-7>
- Chan, P.L.S., Jacqmin, P., Lavielle, M., McFadyen, L., Weatherley, B., 2011. The use of the SAEM algorithm in MONOLIX software for estimation of population pharmacokinetic-pharmacodynamic-viral dynamics parameters of maraviroc in asymptomatic HIV subjects. *J. Pharmacokinet. Pharmacodyn.* 38, 41–61. <https://doi.org/10.1007/s10928-010-9175-z>
- Chiou, W.L., Hsu, F.H., 1975. A new simple and rapid method to monitor the renal function based on pharmacokinetic consideration of endogeneous creatinine. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.* 10, 315–330.
- Cortet, M., Deneux-Tharoux, C., Dupont, C., Colin, C., Rudigoz, R.-C., Bouvier-Colle, M.-H., Huissoud, C., 2012. Association between fibrinogen level and severity of postpartum haemorrhage: secondary analysis of a prospective trial. *Br. J. Anaesth.* 108, 984–989. <https://doi.org/10.1093/bja/aes096>
- Couture, P., Lebon, J.-S., Laliberté, É., Desjardins, G., Chamberland, M.-È., Ayoub, C., Rochon, A., Cogan, J., Denault, A., Deschamps, A., 2017. Low-Dose Versus High-Dose Tranexamic Acid Reduces the Risk of Nonischemic Seizures After Cardiac Surgery With Cardiopulmonary Bypass. *J. Cardiothorac. Vasc. Anesth.* 31, 1611–1617. <https://doi.org/10.1053/j.jvca.2017.04.026>

- Delattre, M., Lavielle, M., Poursat, M.-A., 2014. A note on BIC in mixed-effects models. *Electron. J. Stat.* 8, 456–475. <https://doi.org/10.1214/14-EJS890>
- Dowd, N.P., Karski, J.M., Cheng, D.C., Carroll, J.A., Lin, Y., James, R.L., Butterworth, J., 2002. Pharmacokinetics of tranexamic acid during cardiopulmonary bypass. *Anesthesiology* 97, 390–399.
- Dubois, D., Dubois, EF., 871. A formula to estimate the approximate surface area if height and weight be known. *Arch Intern Med* 863.
- Ducloy-Bouthors, A.-S., Jeanpierre, E., Saidi, I., Baptiste, A.-S., Simon, E., Lannoy, D., Duhamel, A., Allorge, D., Susen, S., Hennart, B., 2018. TRANexamic acid in hemorrhagic CESarean section (TRACES) randomized placebo controlled dose-ranging pharmacobiological ancillary trial: study protocol for a randomized controlled trial. *Trials* 19. <https://doi.org/10.1186/s13063-017-2421-6>
- Ducloy-Bouthors, A.-S., Jude, B., Duhamel, A., Broisin, F., Huissoud, C., Keita-Meyer, H., Mandelbrot, L., Tillouche, N., Fontaine, S., Le Goueff, F., Depret-Mosser, S., Vallet, B., Susen, S., 2011. High-dose tranexamic acid reduces blood loss in postpartum haemorrhage. *Crit. Care* 15, R117. <https://doi.org/10.1186/cc10143>
- Effects of tranexamic acid on death, vascular occlusive events, and blood transfusion in trauma patients with significant haemorrhage (CRASH-2): a randomised, placebo-controlled trial, 2010. 376, 10.
- Eriksson, O., Kjellman, H., Pilbrant, Å., Schannong, M., 1974. Pharmacokinetics of tranexamic acid after intravenous administration to normal volunteers. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 7, 375–380. <https://doi.org/10.1007/BF00558210>
- Gertler, R., Gruber, M., Grassin-Delyle, S., Urien, S., Martin, K., Tassani-Prell, P., Braun, S., Burg, S., Wiesner, G., 2017. Pharmacokinetics of tranexamic acid in neonates and infants undergoing cardiac surgery. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 83, 1745–1757. <https://doi.org/10.1111/bcp.13274>
- Grassin-Delyle, Stanislas, Couturier, R., Abe, E., Alvarez, J.C., Devillier, P., Urien, S., 2013. A practical tranexamic acid dosing scheme based on population pharmacokinetics in children undergoing cardiac surgery. *Anesthesiology* 118, 853–862. <https://doi.org/10.1097/ALN.0b013e318283c83a>
- Grassin-Delyle, S., Semeraro, M., Foissac, F., Bouazza, N., Shakur-Still, H., Roberts, I., Treluyer, J.-M., Urien, S., 2019. Tranexamic acid through intravenous, intramuscular and oral routes: an individual participant data meta-analysis of pharmacokinetic studies in healthy volunteers. *Fundam. Clin. Pharmacol.* <https://doi.org/10.1111/fcp.12474>
- Grassin-Delyle, S., Theusinger, O.M., Albrecht, R., Mueller, S., Spahn, D.R., Urien, S., Stein, P., 2018. Optimisation of the dosage of tranexamic acid in trauma patients with population pharmacokinetic analysis. *Anaesthesia* 73, 719–729. <https://doi.org/10.1111/anae.14184>
- Grassin-Delyle, S., Tremey, B., Abe, E., Fischler, M., Alvarez, J.C., Devillier, P., Urien, S., 2013. Population pharmacokinetics of tranexamic acid in adults undergoing cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. *Br. J. Anaesth.* 111, 916–924. <https://doi.org/10.1093/bja/aet255>

- Gujarati, D.N., n.d. *Econométrie*, Editions de Boeck (4ème édition). ed.
- Hodgson, S., Larvin, J.T., Dearman, C., 2015. What dose of tranexamic acid is most effective and safe for adult patients undergoing cardiac surgery? *Interact. Cardiovasc. Thorac. Surg.* 21, 384–388. <https://doi.org/10.1093/icvts/ivv134>
- Jelliffe, R.W., Jelliffe, S.M., 1972. A computer program for estimation of creatinine clearance from unstable serum creatinine levels, age, sex, and weight. *Math. Biosci.* 14, 17–24. [https://doi.org/10.1016/0025-5564\(72\)90003-X](https://doi.org/10.1016/0025-5564(72)90003-X)
- Lanoiselée, J., Zufferey, P.J., Ollier, E., Hodin, S., Delavenne, X., for the PeriOperative Tranexamic acid in hip arthroplasty (PORTO) study investigators, 2018. Is tranexamic acid exposure related to blood loss in hip arthroplasty? A pharmacokinetic-pharmacodynamic study: Tranexamic acid exposure and blood loss in hip arthroplasty. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 84, 310–319. <https://doi.org/10.1111/bcp.13460>
- Nguyen, T.H.T., Mouksassi, M.-S., Holford, N., Al-Huniti, N., Freedman, I., Hooker, A.C., John, J., Karlsson, M.O., Mould, D.R., Ruixo, J.J.P., Plan, E.L., Savic, R., Hasselt, J.G.C. van, Weber, B., Zhou, C., Comets, E., Mentré, F., 2017. Model Evaluation of Continuous Data Pharmacometric Models: Metrics and Graphics. *CPT Pharmacomet. Syst. Pharmacol.* 6, 87–109. <https://doi.org/10.1002/psp4.12161>
- Pilbrant, Å., Schannong, M., Vessman, J., 1981. Pharmacokinetics and bioavailability of tranexamic acid. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 20, 65–72. <https://doi.org/10.1007/BF00554669>
- Robinson, J.D., Lupkiewicz, S.M., Palenik, L., Lopez, L.M., Ariet, M., 1983. Determination of ideal body weight for drug dosage calculations. *Am. J. Hosp. Pharm.* 40, 1016–1019.
- Say, L., Chou, D., Gemmill, A., Tunçalp, Ö., Moller, A.-B., Daniels, J., Gülmezoglu, A.M., Temmerman, M., Alkema, L., 2014. Global causes of maternal death: a WHO systematic analysis. *Lancet Glob. Health* 2, e323–e333. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(14\)70227-X](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(14)70227-X)
- Schwarz, G., 1978. Estimating the Dimension of a Model. *Ann. Stat.* 6, 461–464. <https://doi.org/10.1214/aos/1176344136>
- Shakur, H., Roberts, I., Fawole, B., Chaudhri, R., El-Sheikh, M., Akintan, A., Qureshi, Z., Kidanto, H., Vwalika, B., Abdulkadir, A., Etuk, S., Noor, S., Asonganyi, E., Alfirevic, Z., Beaumont, D., Ronsmans, C., Arulkumaran, S., Grant, A., Afsana, K., Gülmezoglu, M., Hunt, B., Olayemi, O., Roberts, I., Chalmers, I., Lumbiganon, P., Piaggio, G., Brady, T., Shakur, H., Roberts, I., Alfirevic, Z., Elbourne, D., Gülmezoglu, M., Ronsmans, C., Balogun, E., Pepple, T., Prowse, D., Quashi, N., Barneston, L., Barrow, C., Beaumont, D., Cook, L., Frimley, L., Gilbert, D., Gilliam, C., Jackson, R., Kawahara, T., Miah, H., Kostrov, S., Ramos, M., Roberts, I., Shakur, H., Edwards, P., Godec, T., Huque, S., Fawole, B., Okunade, O., Adetayo, O., Chaudhri, R., Kayani, A., Javaid, K., Fawole, B., Chaudhri, R., Biryabarema, Christine, Qureshi, Z., Tchounzou, R., El-Sheikh, M., Kidanto, H., Regmi, M., Vwalika, B., Dallaku, K., Sahani, M., Akhter, S., Abdulkadir, A., Meda, N., Dah, A.K., Akintan, A., Odekunle, O., Monehin, O., Ojo, A., Akinbinu, G., Offiah, I., Etuk, S., Akpan, U., Udofia, U., Okon, U., Omoronyia, E., James, O., Olayemi, O., Bello, N., Adeyemi, Blessed, Aimakhu, C., Akinsanya, O., Adeleye, B., Adeyemi, O., Oluwatosin, K., Aboyeji, A., Adeniran, A., Adewale, A., Olaomo, N., Omo-Aghoja, L., Okpako, E., Oyeye, L., Alu, F., Ogudu, J., Ladan, E., Habib, I., Okusanya, B., Onafowokan, O., Isah, D., Aye, A., Okogbo, F.,

Aigere, E., Ogbiti, M., Onile, T., Salau, O., Amode, Y., Shoretire, K., Owodunni, A., Ologunde, K., Ayinde, A., Alao, M., Awonuga, O., Awolaja, B., Adegbola, O., Habeebu-Adeyemi, F., Okunowo, A., Idris, H., Okike, O., Madueke, N., Mutahir, J., Joseph, N., Adebudo, B., Fasanu, A., Akintunde, O., Abidoye, O., Opreh, O., Udonwa, S., Dibia, G., Bazuaye, S., Ifemeje, A., Umoiyoho, A., Inyang-Etoh, E., Yusuf, S., Olayinka, K., Adeyemi, Babalola, Ajenifuja, O., Ibrahim, U., Adamu, Y.B., Akinola, O., Adekola-Oni, G., Kua, P., Iheagwam, R., Idrisa, A., Geidam, A., Jogo, A., Agulebe, J., Ikechebelu, J., Udegbonam, O., Awoleke, J., Adelekan, O., Sulayman, H., Ameh, N., Onaolapo, N., Adelodun, A., Golit, W., Audu, D., Adeniji, A., Oyelade, F., Dattijo, L., Henry, P., Adeyemi, Babalola, Loto, O., Umeora, O., Onwe, A., Nzeribe, E., Okorochukwu, B., Adeniyi, A., Gbejegbe, E., Ikpen, A., Nwosu, I., Sambo, A., Ladipo, O., Abubakar, S., Okike, O.N., Nduka, E.C., Ezenkwele, E.P., Onwusulu, D., Irinyenikan, T.A., Singh, S., Bariweni, A., Galadanci, H., Achara, P., Osayande, O., Gana, M., Chaudhri, R., Jabeen, K., Mobeen, A., Mufti, S., Zafar, M., Noor, S., Ahmad, B., Munawar, M., Gul, J., Usman, N., Shaheen, F., Tariq, M., Sadiq, N., Batool, R., Ali, H.S., Jaffer, M., Baloch, A., Mukhtiar, N., Ashraf, T., Asmat, R., Khudaiddad, S., Taj, G., Qazi, R., Dars, S., Sardar, F., Ashfaq, S., Majeed, S., Jabeen, S., Karim, R., Burki, F., Bukhari, S.R., Gul, F., Jabeen, M., Sherin, A., Ain, Q., Rao, S., Shaheen, U., Manzoor, Samina, Masood, S., Rizvi, S., Ali, Anita, Sajid, A., Iftikhar, A., Batool, S., Dar, L., Sohail, S., Rasul, S., Humayun, S., Sultana, R., Manzoor, Sofia, Mazhar, S., Batool, A., Nazir, A., Tasnim, N., Masood, H., Khero, R., Surhio, N., Aleem, S., Israr, N., Javed, S., Bashir, L., Iqbal, Samina, Aleem, F., Sohail, R., Iqbal, Saima, Dojki, S., Bano, A., Saba, N., Hafeez, M., Akram, N., Israr, N., Shaheen, R., Hashmi, H., Arshad, S., Hussain, R., Khan, S., Shaheen, N., Khalil, S., Sachdev, P., Arain, G., Zarreen, A., Saeed, S., Hanif, S., Tariq, N., Jamil, M., Chaudhry, S., Rajani, H., Wasim, T., Aslam, S., Mustafa, N., Quddusi, H., Karim, S., Sultana, S., Harim, M., Chohan, M., Salman, N., Waqar, F., Sadia, S., Kahloon, L., Manzoor, Shehla, Amin, S., Akram, U., Ikram, A., Kausar, S., Batool, T., Naila, B., Kyani, T., Biryabarema, Christine, Bulime, R., Akello, R., Lwasa, B.N., Ayikoru, J., Namulwasira, C., Komagum, P., Rebecca, I., Annet, N., Nuulu, N., Nionzima, E., Bwotya, R., Nankya, M., Babiryte, S., Ngonzi, J., Sanchez, C., Innocent, N., Anitah, K., Jackson, A., Ndagire, E., Nanyongo, C., Drametu, D., Meregurwa, G., Banya, F., Atim, R., Byaruhanga, E., Felix, L., Iman, H., Oyiengo, V., Waigi, P., Wangui, R., Nassir, F., Soita, M., Msengeti, R., Zubier, Z., Mabeya, H., Wanjala, A., Mwangi, H., Liyayi, B., Muthoka, E., Osoti, A., Otara, A., Ongwae, V., Qureshi, Z., Wanjohi, V., Musila, B., Wekesa, K., Bosire, A.N., Asonganyi, E., Ntem, A., Njoache, A., Ashu, A., Simo, A., Tchounzou, R., Keka, D., Bruno, K., Ndouoya, A., Saadio, M., Tchana, M., Gwan, O., Assomo, P., Mutsu, V., Eric, N., Foumane, P., Nsem, P., Fouedjio, J., Fouelifack, Y., Tebeu, P.M., Nko'ayissi, G., Mbong, E.N., Nabag, W., Desougi, R., Mustafa, H., Eltaib, H., Umbeli, T., Elfadl, K., Ibrahim, M., Mohammed, A., Ali, Awadia, Abdelrahiem, S., Musa, M., Awadalla, K., Ahmed, S., Bushra, M., Babiker, O., Abdullahi, H., Ahmed, M., Safa, E., Almardi, H., Rayis, D., Abdelgabar, S.A., Alfirevic, Z., Houghton, G., Sharpe, A., Thornton, J., Grace, N., Smith, C., Hinshaw, K., Edmundson, D., Ayuk, P., Bates, A., Bugg, G., Wilkins, J., Tower, C., Allibone, A., Oteng-Ntim, E., Kidanto, H., Kazumari, A., Danford, A., Ngarina, M., Abeid, M., Mayumba, K., Zacharia, M., Mtove, G., Madame, L., Massinde, A., Mwambe, B., Onesmo, R., Ganyaka, S.K., Regmi, M., Gupta, S., Bhatt, R., Agrawal, A., Pradhan, P., Dhakal, N., Yadav, P., Karki, G., Shrestha, B.R., Vwalika, B., Lubeya, M., Mumba, J., Silwimba, W., Hansingo, I., Bopili, N., Makukula, Z., Kawimbe, A., Lubeya, M.K., Mtambo, W., Ng'ambi, M., Dallaku, K., Cenameri, S., Tasha, I., Kruja, A., Brahimaj, B., Tola, A., Kaza, L., Sahani, M., Tshombe, D., Buligho, E., Paluku-Hamuli, R., Kacha, C., Faida, K., Musau, B., Kalyana, H., Simisi, P., Mulyumba, S., Jason, N.K., Lubamba, J.R., Misumba, W., Islam, F., Begum, N., Akhter, S., Chowdhury, F.,

- Begum, R., Basher, F., Nargis, N., Kholdun, A., Jesmin, S., Paul, S., Segni, H., Ayana, G., Haleke, W., Abdulkadir, A., Hussien, H., Geremew, F., Bambara, M., Somé, A., Ly, A., Pabakba, R., Fletcher, H., Samuels, L., Opare-Addo, H., Larsen-Reindorf, R., Nyarko-Jectey, K., Mola, G., Wai, M., Rahman, M.E., Basta, W., Khamis, H., Escobar, M.F., Vallecilla, L., Faye, G.E., 2017. Effect of early tranexamic acid administration on mortality, hysterectomy, and other morbidities in women with post-partum haemorrhage (WOMAN): an international, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *The Lancet* 389, 2105–2116. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)30638-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)30638-4)
- Sharma, V., Fan, J., Jerath, A., Pang, K.S., Bojko, B., Pawliszyn, J., Karski, J.M., Yau, T., McCluskey, S., Wąsowicz, M., 2012. Pharmacokinetics of tranexamic acid in patients undergoing cardiac surgery with use of cardiopulmonary bypass*: Pharmacokinetics of tranexamic acid in cardiac surgery. *Anaesthesia* 67, 1242–1250. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2044.2012.07266.x>
- Soslau, G., Horrow, J., Brodsky, I., 1991. Effect of tranexamic acid on platelet ADP during extracorporeal circulation. *Am. J. Hematol.* 38, 113–119.
- Stief, T., 2012. Effect of tranexamic acid on mortality in patients with traumatic bleeding: Prespecified analysis of data from randomised controlled trial. Tranexamic acid might stop severe bleeding by intrinsic generation of thrombin. *BMJ*. <https://doi.org/10.1136/bmj.e5839>
- Stief, T., 2009. Tranexamic acid triggers thrombin generation. *Hemostasis Laboratory* 73–82.
- Vogel, J.P., Oladapo, O.T., Dowswell, T., Gülmezoglu, A.M., 2018. Updated WHO recommendation on intravenous tranexamic acid for the treatment of post-partum haemorrhage. *Lancet Glob. Health* 6, e18–e19. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(17\)30428-X](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(17)30428-X)
- Wesley, M.C., Pereira, L.M., Scharp, L.A., Emani, S.M., McGowan, F.X., DiNardo, J.A., 2015. Pharmacokinetics of Tranexamic Acid in Neonates, Infants, and Children Undergoing Cardiac Surgery with Cardiopulmonary Bypass. *Anesthesiol. J. Am. Soc. Anesthesiol.* 122, 746–758. <https://doi.org/10.1097/ALN.0000000000000570>

Figure titles and captions.

Fig. 1 Flow chart

Fig. 2 Two-compartment model with a double linear elimination (model A)

Fig. 3 Goodness-of-fit plots obtained from the final covariate model. Observed versus population (A) and individually (B) predicted tranexamic acid (TA) plasma concentrations. Observed versus population (C) and individually (D) predicted tranexamic acid (TA) urinary concentrations. Green dotted lines represent the limits of the 90% confidence interval. (E) Visual predictive check plot obtained from the final covariate model: it represents observed plasmatic concentrations in tranexamic acid (TA) versus time-based on 1 000 Monte Carlo Simulation. Shaded areas represent 90% prediction intervals around the 10th, 50th, and 90th percentiles. Observed data are represented by red dots. Predicted medians are represented by the green dotted lines. Empirical percentiles are represented by the yellow lines. (F) Normalized prediction distribution errors (NPDE) plotted versus time and tranexamic acid (TA) plasma concentrations

Fig. 4 Time-course measurements of tranexamic acid plasma concentrations for the study patients

Figures

Fig.1.

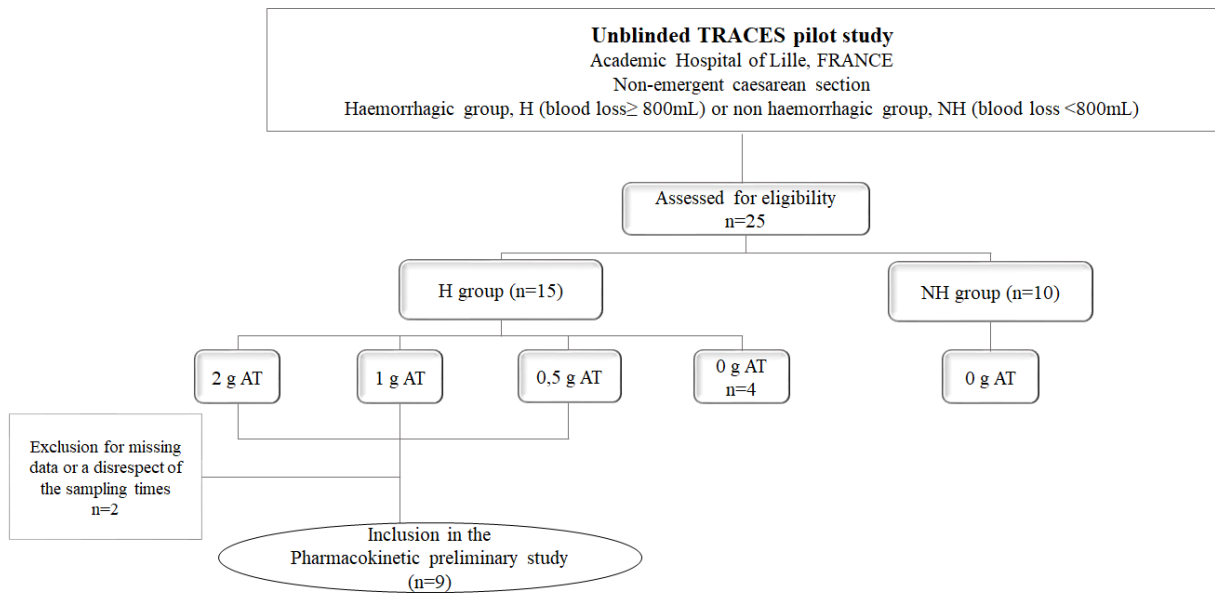


Fig. 2.

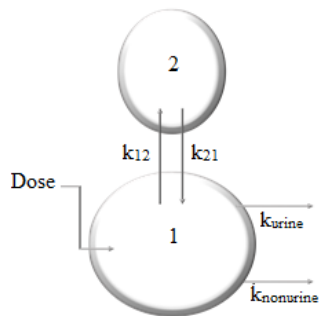


Fig.3.

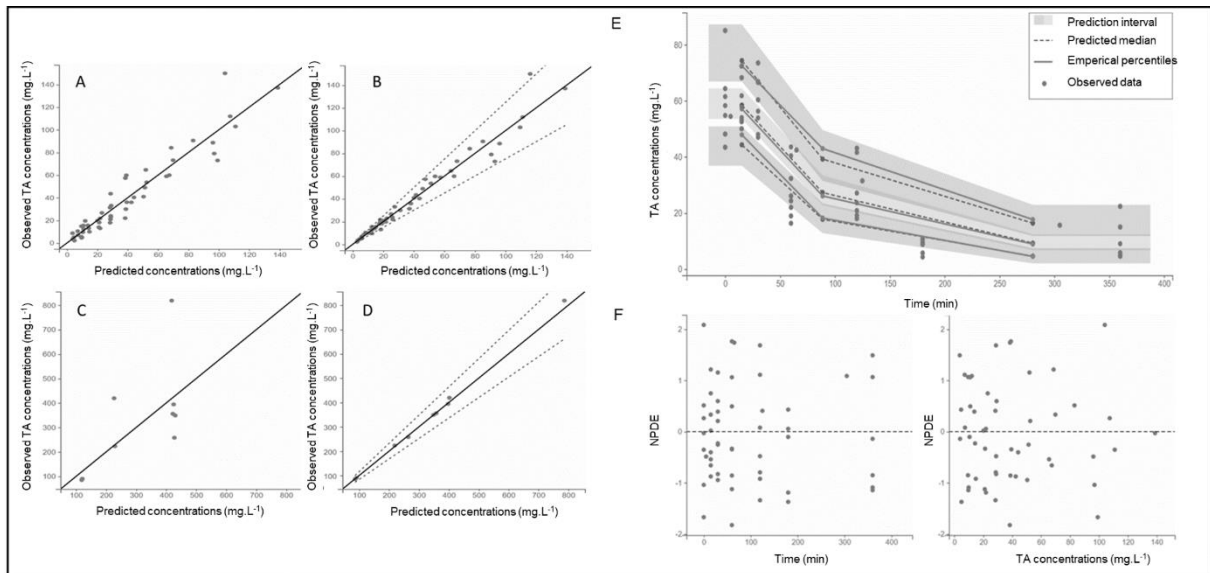
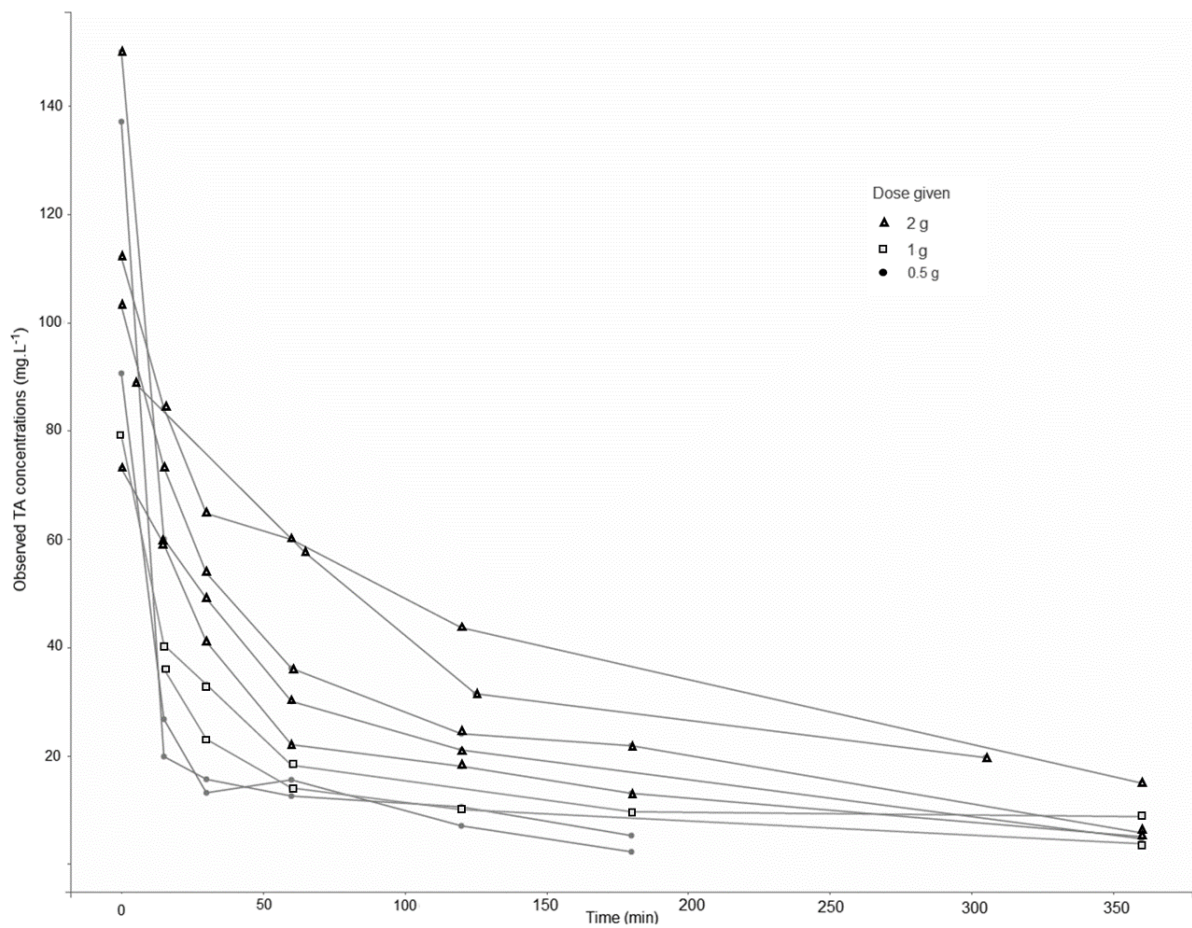


Fig.4.



Pharmacokinetics of curative tranexamic acid in parturients undergoing cesarean delivery

Sixtine Gilliot^{1,2*}, Anne-Sophie Bouthors^{1,3}, Florence Loingeville⁴, Benjamin Hennart⁵, Delphine Allorge^{5,6}, Gilles Lebuffe^{1,3}, Pascal Odou^{1,2}.

¹ Groupe de Recherche sur les formes Injectables et les Technologies Associées (GRITA), Centre Hospitalier Universitaire de Lille, ULR 7365, Lille, France.

² Institut de Pharmacie, CHU Lille, Lille, France.

³ CHU Lille, Pôle Anesthésie-Réanimation, hôpital Huriez, F-59000, Lille, France

⁴ Univ. Lille, CHU Lille, ULR2694 - METRICS - Evaluation des technologies de santé et des pratiques médicales, F-59000 Lille, France

⁵ CHU Lille, Unité fonctionnelle de toxicologie, centre biologie pathologie, F-59000 Lille, France.

Pôle Biologie Pathologie Génétique, Unité Fonctionnelle de Toxicologie, CHU Lille, CHU, Bd Pr. J. Leclerc-CS 70001, 59037 Lille, France.

⁶ ULR 4483-IMPECS-IMPact de l'Environnement Chimique sur la Santé, Faculté de Médecine-Pôle Recherche, Université de Lille, 1 Place de Verdun, F-59045 Lille, France.

* Correspondence: sixtine.gilliot.etu@univ-lille.fr.

Abstract: The aim was to evaluate the population pharmacokinetics of tranexamic acid (TXA) administered intravenously at a single dose of 0.5 or 1 g in parturients undergoing active haemorrhagic cesarean delivery and to evaluate the influence of patient variables on TXA pharmacokinetics.

Subjects from three recruiting centers were included in this PK sub-study if randomized in the experimental group (i.v TXA 0.5 g or 1g over one minute) of TRACES study. Blood samples and two urinary samples were collected within 6 hours after TXA injection. Parametric non-linear mixed effect modeling (Monolix v2020R1) was computed.

The final covariate model building used 315 blood and 117 urinary concentrations from seventy-nine patients. A two-compartment model with a double first-order elimination from the central compartment best described the data. The population estimates of clearance (CL), central volume of distribution (V1), and half-life for a typical 70 kg patient with an estimated renal clearance of 150 mL/min (Cockcroft-Gault) were 0.14 L/h, 9.25L, and 1.8 h. A correlation between estimated creatinine clearance and CL, body weight before pregnancy, and V1 was found and explained partly the PK variability. The final model was internally validated using a 500-runs bootstrap.

The first population pharmacokinetic model of TXA in active haemorrhagic caesarean section was successfully developed and internally validated.

Keywords: caesarean section; intravenous; pharmacokinetics; postpartum haemorrhage; tranexamic acid.

1. Introduction

Post-partum haemorrhage remains the first direct obstetrical cause of worldwide maternal morbidity. It is defined as a blood loss of more than 500 mL after vaginal birth or 1000 mL after caesarean section within 24 h of giving birth[1]. Even if the maternal mortality ratio has fallen by 45% between 1990 and 2013, it remains above the expectations, especially in developing countries[2,3].

To reduce the incidence of PPH, the WHO and professional bodies recommend active management of PPH using prophylactic administration of uterotonics in addition to other non-pharmacological interventions. In 2012, the WHO has issued guidelines for administrating intravenously tranexamic acid when uterotonics are unavailable or where

the bleeding may be partly due to genital tract trauma[4]. Tranexamic acid (TXA) is an antifibrinolytic drug that was found to reduce bleeding by inhibiting the breakdown of fibrin and fibrinogen by plasmin[5]. The treatment regimen proposed by the WHO consists of an early dose of 1 g of TXA, over 10 min, followed by a second dose of 1 g if bleeding continues after 30 min or restarts within 24 h of completing the first dose[4]. This treatment regimen was defined according to two major studies, the EXADELI and WOMAN trials, whose treatment regimen was itself derived from studies conducted on trauma patients (CRASH-2 trial, notably)[6–8].

In healthy volunteers, the PK of TXA is well described; TXA is reported to be eliminated by urinary excretion via glomerular filtration with more than 95% of the dose excreted unchanged in healthy volunteers. Accordingly, only a small fraction of TXA acid is assumed to be metabolized by the liver [9]. Pharmacokinetics (PK) complexity in haemorrhagic caesarean delivery is related to the alterations of body mass and elimination of drugs due to pregnancy-induced physiological changes (increased plasma volume and renal clearance, anemia, and hypercoagulability) and surgery-induced changes (blood loss and reduced blood mass, inflammation and oliguria[10]). Thus, drug disposition reported in healthy patients[9] and trauma patients[8] may not be applicable to drug disposition in parturients undergoing haemorrhagic caesarean section (CS).

Except for our preliminary model out of the TRACES pilot sub-study[11], a literature search failed to identify studies addressing specifically the haemorrhagic population for TXA PK model during CS. TRACES pilot study aimed to construct the PK model of tranexamic acid in patients receiving a single 0.5, 1 or 2 g intravenous (i.v) bolus and to identify the factors most closely tied up to therapeutic variability between individuals. The results suggested a partial non-urinary elimination of TXA in this population. However, the sample of patients included in the study was small and validation of the findings on a larger cohort are needed.

The current study was conducted (i) to characterize PK of TXA administered intravenously at a single dose of 0.5 or 1 g over one minute in parturients undergoing haemorrhagic CS, (ii) to assess the hypothesis of a partial non-urinary TXA elimination; (iii) to evaluate the influence of patient variables on TXA PK.

2. Materials and Methods

2.1. Ethics approval and consent to participate

The TRACES trial was conducted in accordance with the Article L. 1121-4 of the French Public Health Code. Approvals were obtained from the Regional Ethics Committee (15/50_020216) and the Competent Authority in France (ANSM 201500249926). It has been registered and assigned the NCT number NCT02797119.

The consent procedures have been described in detail in the TRACES trial protocol[12].

2.2 Patients and data collection

TRACES trial participants recruited in Lille, Paris Louis Mourier, and Paris Trousseau centers were considered for inclusion. Each patient admitted for CS before or during labor was informed before the beginning of the CS; a signed consent was collected. Patients were included when postpartum haemorrhage was superior to 800 mL according to TRACES trial protocol[12]. The choice of the bleeding volume cut-off was chosen according to our current practices. The time-point before injection was named T0. A single 10-mL vial containing 0, 0.5, or 1 g of TXA (Exacyl® 0.5 g/5 mL, Sanofi-Aventis, France)

was administered blindly over 1 min in included patients. The intravenous injection was performed using a strict control of 1 min-duration. T1 defined the time-point of the end of injection. It was suggested that T1 corresponded to the plasma concentration peak of TXA. A rescue second dose of 0.5g or 1 g was given if haemorrhage became severe (total blood loss >1500 mL). Blood loss volume (mL) was measured using the surgical or cell saver aspiration bag, the under-buttock delivery bag collecting vaginal blood flow during CS, and by weighing drapes and pads.

2.3. Measurements and data handling

Age, body weight, height, serum creatinine concentrations, plasma urea concentrations were collected for each included patient at inclusion time.

Maternal blood samples were collected from the opposite arm of drug administration through a peripheral venous catheter. The venous blood samples were taken in citrated and EDTA tubes of 4 mL each at 15, 30, 60, 120, 180 and 360 min (defined as T15, T30, T60, T120, T180, and T360) +/- 10 min after the injection according to the study protocol. The urinary samples were collected within 6 h after treatment. The exact time of blood and urine sampling were collected to perform reliable PK modeling.

The differences between the baseline characteristics of the experimental groups (TXA0.5g and TXA1g) were tested according to the results of the homogeneity of variance tests. If the assumption of homogeneous variances was met, an independent-samples t-test ($\alpha=5\%$) was performed. If the assumption of homogeneous variances was rejected, a Kruskal-Wallis test ($\alpha=5\%$) was conducted.

2.4. Sample analysis

Blood and urinary samples were analyzed by the toxicology laboratory of the Lille Hospital Centre according to the protocols displayed in the TRACES trial protocol.

Four hundred microliters of methanol containing 7 β -hydroxyethyl-theophylline (Sigma-Aldrich, Saint Quentin Fallavier, France) at 20mg.L⁻¹ were added to a 50 μ L-sample of plasma or diluted urine (1:10). This mixture was centrifuged (4500 g, 4 °C, 10g). Water/formic acid 0.1% (180 μ L).was mixed with 20 μ L of the obtained supernatant.

A liquid chromatography system coupled with tandem mass spectrometry (Acquity Xevo-TQ Detector, Waters, Milford, MA, USA) was used to perform the dosages as written in the protocol[13]. The system was equipped with an HSS T3 column (1.8 μ m \times 2.1 \times 50 mm) maintained at +50°C. The mobile phase gradient consisted of methanol and formic acid. A positive ion mode using multiple reaction monitoring (MRM) was used to detect each ion of the separated compound. A 5 μ L volume of was used for the injection of all the analyses. Data acquisition and quantification were performed using MassLynx 4.1 Software (Waters).

Concerning the qualification data for the HPLC-MS/MS detection assay, performed within the range 5-200 mg/L, the correlation coefficient was 0.995. The repeatability and the inter-day precision obtained were respectively < 2.90% and 4.15% for a 150 mg/L-spiked sample, and < 3.80% and 5.30% for a 20 mg/L-spiked sample.

2.5. PK modeling

The PK model was developed sequentially using non-linear mixed-effect modeling software (Monolix version 2020R1, Lixoft). Parameters were estimated by computing the maximum likelihood estimator using the stochastic approximation expectation-maximization (SAEM) algorithm combined with a Markov Chain Monte Carlo (MCMC: 5 for the number of chains) procedure.

In this article, Nonlinear Mixed Effect Models (NLMEM) were considered to model $y_{i,j}$, the plasma or urinary concentration in TA estimated for a patient i ($i=...$) at time j ($j=...$) as follows:

$$y_{i,j} = f(t_{i,j}, \Psi_i) + g(t_{i,j}, \Psi_i) * \epsilon_{i,j}, \epsilon_{i,j} \sim N(0, 1) \quad (1)$$

where, f represents the nonlinear function of the model, Ψ_i , represents the vector of individual PK parameter for subject i , g represents the residual error model and $\epsilon_{i,j}$ represents the residual error. As we worked on a parametric software, the normality of $\epsilon_{i,j}$ was assumed. The random variation in the population PK parameters was described by between-subject variability (BSV) for every fixed-effect assuming that parameters were log-normally distributed. The tested base models are displayed in Figure 1.

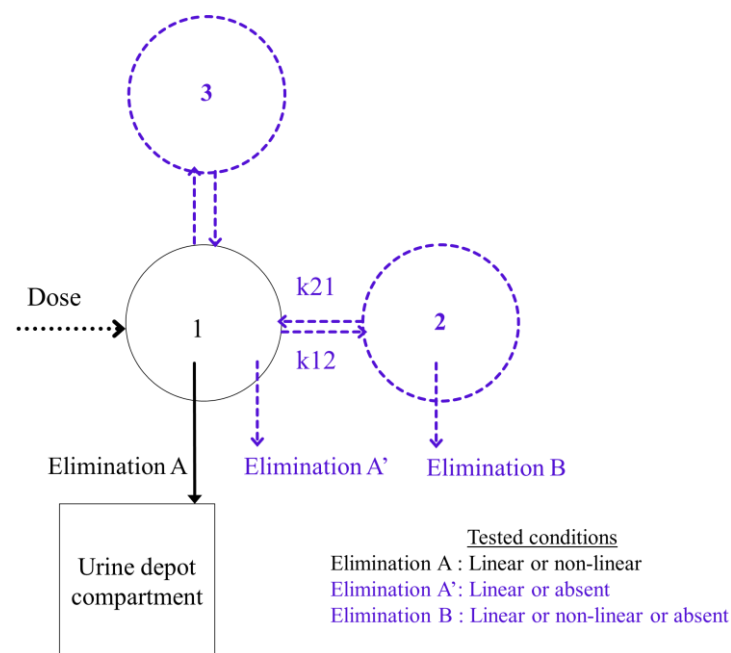


Figure 1. Hypothetic base models tested. The hypothetic tested parameters are represented in blue color.

Compartment 1 represents the central compartment, while compartments 2 and 3 represents hypothetic peripheral compartments. The rationale to test a potential elimination from compartment 2 comes from the possibility that it may represent the uterine haemorrhagic compartment. In that case, the elimination of TXA in the haemorrhagic blood would be reflected by elimination from compartment 2. The only elimination that was not hypothetical was the elimination of TXA from compartment 1 as TXA concentrations were measured in the urines within 6 hours after TXA administration. The fraction of TXA eliminated via urines is considered as “ p_{urine} ”, and is calculated as follows:

$$p_{urine} = k_{urine} \times \frac{V1}{CL} \text{ and } k_{urine} = \frac{dA_u}{dt} \times \frac{1}{A_1}$$

With A_1 the amount of TXA in the central compartment, and A_u the amount of TXA in the urine compartment. 166
167

Additive, proportional, combined (additive and proportional), and exponential error models were assessed to model the residual unexplained variability. 168
169

The choice of the base and error models was based on the calculation of the objective function (OFV) using the corrected Bayesian Information Criterion (BICc) which is penalized from the maximized log-likelihood by a term that depends on the number of fixed effect parameters and the sample size. A model X was better than a model Y if it led to a reduction in the BICc of at least 3.84 points (value taken from $\chi^2_{ndf=1}$ distribution at $\alpha = 0.05$) compared to model Y. Furthermore, a low value of the condition number κ (i.e. < 100) suggests that the model is not over-parameterized and the absence of collinearity between the PK parameters. 170
171
172
173
174
175
176
177

Once the best base model was selected, the influences of covariates were tested. We evaluated the following covariates: age, body weight (BW), body mass index (BMI), lean body weight (LBW), adjusted body weight (ABW), ideal body weight (IW), body surface area (BSA), estimated creatinine clearance (eClcr) using the Cockcroft–Gault formula estimated Glomerular Filtration Rate (eGFR) using the CKD-EPI formula or the MDRD formula (GFR_MDRD). The formulas used to calculate each parameter are displayed in Appendix A, Figure A1. Each characteristic (BMI, LBW, IW, BSA, eClcr, eGFR) was calculated twice, first using the body weight measured before pregnancy and secondly using the body weight measured after pregnancy. The choice of testing the body weight measured before pregnancy as a potential covariate is related to the fact that the weight gained during pregnancy doesn't correspond to a proportional increase of fat tissues and body. Accordingly, the body weight measured before pregnancy could be a better estimator of the distribution than the body weight measured on the day of CS. The effect of covariates was tested on each PK parameter, one at a time, by incorporation into the base model by the following relationship using a forward selection: 178
179
180
181
182
183
184
185
186
187
188
189
190
191
192

$$\log(\psi_{i,\ell}) = \log(\theta_\ell) + \beta_1 * x_1 + \eta_{i,\ell}, \eta_{i,\ell} \sim N(0, \omega_\ell^2) \quad (2) \quad 193$$

194

Where $(\psi_{i,\ell})$ represents the ℓ^{th} individual PK parameter ($\ell = (1, \dots, P)$), where P is the total number of PK parameters. θ_ℓ represents the fixed effect of the PK parameter ℓ , β_1 represents the effect of the covariate x_1 , $\eta_{i,\ell}$ represents the ℓ^{th} element of the vector η_i , capturing the BSV term on parameter ℓ for subject i , ω_ℓ^2 represents the variance of the interindividual error. 195
196
197
198
199

Women for whom weight and serum creatinine concentration were missing were excluded from the covariate analysis. 200
201

202

The selection of the covariates was computed in the same way as the selection of the base and error model. A covariate was retained if it explained significantly the BSV of a PK parameter (Wald test, $p \leq 0.05$). 203
204
205

Model performance evaluation of the final covariate model used the precision of the parameter estimation expressed as the relative standard error (RSE, in %) required to be $\leq 30\%$ for fixed parameters and $\leq 50\%$ for ω_ℓ ; and diagnostic plots (1-3) based on Monte Carlo simulations. (1) The Visual Predictive Check (VPC) plot assesses whether the model can reproduce the variability in the observed data from which it originates by overlapping the distribution of observations and the distribution of predictions. (2) Scatter plots of observed and predicted compares graphically the distance between the observed and 206
207
208
209
210
211
212

predicted value, which is expected to be as low as possible. (3) A histogram of the distribution of the Normalised Prediction Error (NPDE) was computed and expected to follow the $N(0,1)$ distribution. A Shapiro Wilk test ($\alpha=5\%$) was computed to assess the normality of the random effects $\eta_{i,\ell}$ and $\varepsilon_{i,j}$.

Model performance evaluation graphs were exported from Monolix v2020R1 computations.

2.6. Noncompartmental analysis

Noncompartmental PK analysis (NCA) was performed using PKAnalix (version 2020R1, Lixoft) to estimate the area under the curve (AUC) from T1 to T30 (AUC T1-T30) and the AUC from T1 to T60 (AUC T1-T60), to predict the mean residence time (MRT) of TXA for each patient and the maximal blood concentration (C_{T1}). The integral method was computed using linear log trapezoidal parametrization.

Groups of patients were formed according to the bleeding status of patients at T30 and T60. For the analysis performed at T30, group A consisted of the parturients who had definitely stopped bleeding from T30, group B corresponded to the patients who had continued to bleed, in group C were gathered the patients who had stopped bleeding at T30 but had bled again at T60, T120, or T360.

For the analysis performed at T60, group A consisted of the parturients who had definitely stopped bleeding from T60, group B corresponded to the parturients who continued to bleed at T60, in group C were gathered the patients who had stopped bleeding at T60 but had bled again at T120 or T360, and finally, group D consisted of the patients who stopped bleeding between T0-T30 or T30-T60 and who bled again at T60.

Comparisons of the mean values for C_{T1} , TXA blood concentrations measured at T30 (C_{T30}), AUC(T1-30), MRT were computed between the different groups according to the bleeding status at T30.

Comparisons of the mean values for C_{T1} , TXA blood concentrations measured at T60 (C_{T60}), AUC(T1-60) were computed between the different groups according to the bleeding status at T60.

Comparisons were computed using a Kruskal-Wallis test with an alpha-risk of 5%.

2.7. Model internal evaluation

The robustness of the model was assessed by performing a 500-runs bootstrap resampling procedure in Monolix using the Rsmplx package (version 2.0.2) in R software (version 3.6.1). The median values obtained from the 500 bootstrap runs were discussed regarding the mode values of the estimated values of fixed parameters. Final PK parameters were re-estimated for 500 samples and the median, the 1st quartile (Q1), and 3rd quartile (Q3) were calculated for each parameter. The mode values obtained from the original dataset were expected to be close to the median values obtained from the bootstrap runs and within the range [Q1; Q3]. The validation of a non-linear mixed-effect model was underpinned by the precision of the estimations obtained from the bootstrap mostly which must reach the required standards ($\leq 30\%$ for fixed effect parameters and $\leq 50\%$ for ω_{ℓ}).

2.8. Simulations to derive optimal dosing

Monte Carlo simulations of 1000 parturients were repeated for the two-dose regimens, 0.5 and 1g given as single bolus doses. Results were computed using mlxR package (version

4.0.6) and the graphic presentation of the outputs was computed with the ggplot2 package (version 3.3.3) in R software. 261
262

3. Results 263

3.1. Recruitment 264 265

In total, 175 haemorrhagic patients were enrolled in TRACES study. Eighty-four patients were recruited in TRACES PK sub-study. (Figure 2). 266
267

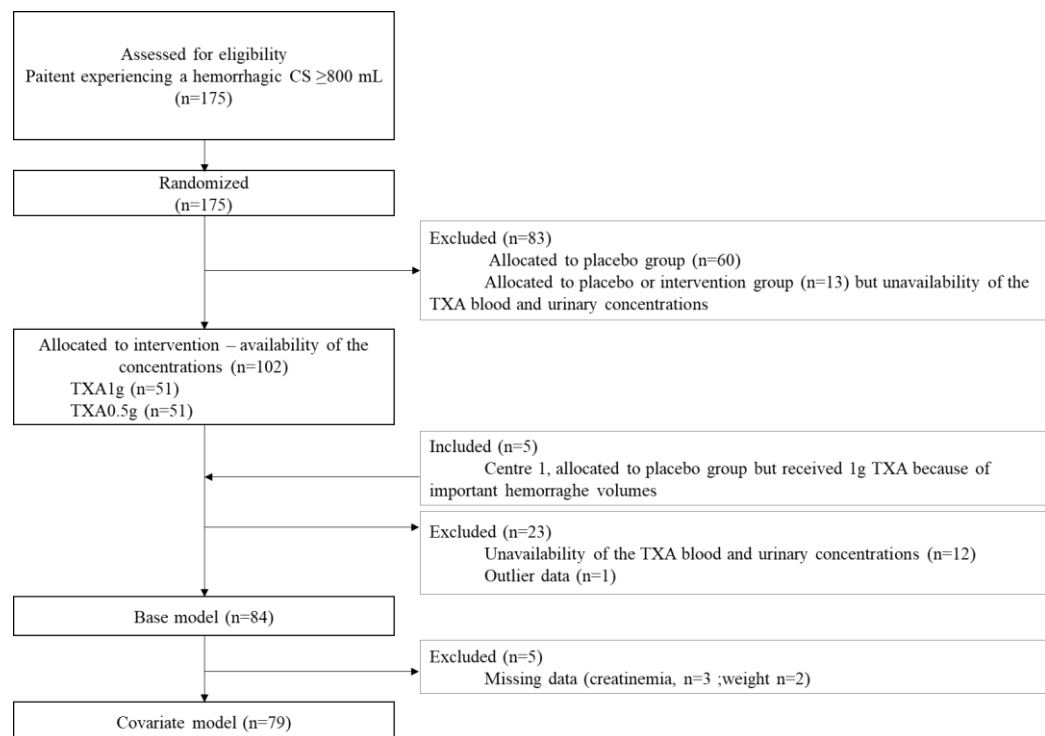


Figure 2. Study flowchart. Legend: CS for caesarean section; TXA for tranexamic acid 268
269

The patients' baseline characteristics are displayed in Table 1. 270

Table 1. Patients' baseline characteristics, with results displayed in mean and standard deviation. 271

Characteristics, mean (SD)	Group TXA0.5 g (n=34)	Group TXA1g (n=45)	p-value
Age (years)	34 (5)	33 (4)	0.47
Height (cm)	166 (8)	164 (7)	0.19
IW (kg)	58.3 (7.0)	56.3 (6.3)	0.19
BW before pregnancy (kg)	73.2 (21.1)	72 (17)	0.46
BW (kg)	84.3 (18.6)	83.0 (15.2)	0.73
BMI before pregnancy (kg/m ²)	26.4 (7.0)	26.6 (6.0)	0.54
BMI (kg/m ²)	30.4 (6.0)	30.8 (5.1)	0.68
ABW before pregnancy (kg) correction factor=0.4	68.7 (10.0)	67.0 (8.3)	0.65
LBW before pregnancy (kg)	43.9 (7.4)	43.0 (6.3)	0.65
LBW (kg)	47.8 (6.4)	46.9 (5.4)	0.58
BSA before pregnancy (m ²)	1.8 (0.2)	1.8 (0.2)	0.88
BSA (m ²)	1.9 (0.2)	1.9 (0.2)	0.54

Serum creatinine concentration (mg/dL)	6.5 (1.5)	6.7 (1.6)	0.25
eClcr (Cockcroft-Gault, mL/min) with BW before pregnancy	150.5 (64.5)	143.4 (53.2)	0.47
eClcr (Cockcroft-Gault, mL/min)	172.3 (62.3)	166.3 (56.1)	0.42
eGFR (CKD-EPI, mL/min/1.73 m ²) with BW before pregnancy	122.5 (20.8)	119.7 (17.2)	0.44
eGFR (CKD-EPI, mL/min/1.73 m ²)	130.3 (19.1)	127.9 (16.4)	0.42
eGFR (MDRD, mL/min/1.73 m ²) with BW before pregnancy	117.1 (37.1)	111.9 (35.5)	0.42
eGFR (MDRD, mL/min/1.73 m ²)	124.5 (37.5)	119.5 (37.0)	0.47
Bleeding volume at inclusion (mL)	1091 (273)	1163 (318)	0.34

Legend: ABW, adjusted body weight; BMI, body mass index; BSA, body surface area; BW, body weight; eClcr, estimated creatinine clearance; eGFR, estimated glomerular fraction rate; IW, ideal weight; LBW, lean body weight; SD, standard deviation; TXA, tranexamic acid.

Baseline characteristics suggest that the two regimen groups are well-balanced. Rescue doses were administered in 7 patients in the TXA1g group (1g once for six of them and 1g twice for one of them) and 1 patient in the TXA0.5g group (0.5g once). These eight patients were included in the populational PK modeling, and their therapeutic scheme was rigorously codified in the dataset.

3.2. Exploratory analysis.

335 blood and 154 urine concentration points obtained from the eighty-four included patients were computed to build the base model. 315 blood and 147 urine concentration points obtained from seventy-nine patients were used to build the final covariate model. Minimal and maximal concentrations measured at T15 were 11, and 38 mg/L after a single 0.5g dose, and 36.9, and 67.8 mg/L after a single 1g dose. Concentrations declined rapidly for the first hour, followed by a slighter decline until 360 min, at which time more than 90% of TXA was eliminated for half patients. The biphasic profile suggested a two-compartment disposition of TXA. Half-life was calculated at 111 min [95;127] (median[Q1;Q3]) according to non-compartmental analysis computed on the base model.

Concerning the eight participants who have received a rescue dose, a table summarizing the individual baseline data and the individual estimated PK parameters are presented in Appendix C.

3.3. Base model

The results of the base model building are presented in Table 2.

Table 2. Base model building.

Nb of compartments	Elimination A	Elimination A'	Elimination B	-2LL	BICc	Condition index
1	First-order	.	.	4283.98	4323.8	3
	First-order	First-order		4045.05	4101.69	12
2	Non-linear	.	.	4229.73	4301.42	111
2	Non-linear	.	First-order	NA	NA	NA
2	Non-linear	.	Non-linear	NA	NA	NA
2	First-order	.	.	4097.00	4158.44	6
2	First-order	.	First-order	4127.8	4199.49	33

2	First-order	.	Non-linear	4071.26	4153.57	84
2	First-order	First-order	.	3980.12	4051.81	81
3	First-order	.	.	3987.84	4080.78	14

Legend: -2LL, maximized log-likelihood; BICc, corrected Bayesian information criterion, NA for non-applicable, attributed to parameters that failed to be found by the algorithm. Elimination A represents the urinary elimination from compartment 1, elimination A' corresponds to the non-urinary elimination from compartment 1 and elimination B represents the non-urinary elimination from compartment 2.

The base model that fitted best with data was the same as the one chosen in our preliminary study (Figure 3).

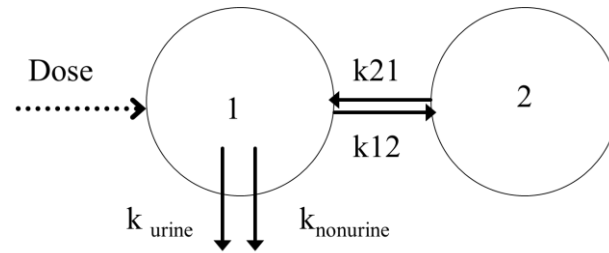


Figure 3. Base model result: two-compartment model with a double linear elimination (model A).

The chose model was a two-compartment model with a double first-order elimination from the central compartment. This base model was characterized by an elimination clearance (CL), a volume of central (V1) and peripheral (V2) compartments, a diffusional clearance (Q), and a urinary excretion fraction (purine). The estimate values of the PK parameter for this base model were 0.14 L/min for CL, 17.66 L for V1, 0.079 L/min for Q, 8.12 L for V2 and 0.61 for purine.

The combined error model was the most adequate for evaluating interpatient and residual variability of the blood concentrations. This model is written:

$$g(t_j, \psi_i) = \sqrt{a1^2 + b1^2 \times f(t_j, \psi_i^2)} \quad (3)$$

where f represents the nonlinear function of the model, g represents the residual error model, $a1$ and $b1$ the fixed factors of the combined residual error for the blood concentration. The proportional model was the most adequate for evaluating interpatient and residual variability of the urine concentrations. This model is written:

$$g(t_j, \psi_i) = b2 \times f(t_j, \psi_i) \quad (4)$$

where $b2$ represents the fixed factors of the proportional residual error for the urine concentrations.

3.4. Covariate model

Results of covariate testing showed that anthropometric parameters significantly affected the central volume of distribution of TXA with a risk of 5% bilateral with body weight measured at the beginning (BWbef) and the end of pregnancy (BW) affecting the BSV more significantly than the other parameters [$r^2=0.41$, $p\text{-value}=1.87 \times 10^{-4}$].

It was also found that CL was affected by renal parameters (estimated creatinine clearance (eClcr) using CG formula calculated using BWbef [$r^2=0.65$, $p\text{-value}=1.09 \times 10^{-10}$], estimated Glomerular Filtration Rate (eGFR) using CKD-EPI formula calculated using BWbef [$r^2=0.61$, $p\text{-value}=3.47 \times 10^{-9}$]).

According to the results (Table 3), the model with the lowest BICc was the one for which eClcr using CG formula calculated using the BWbef was added as a covariate of CL and BWbef was added as a covariate for V1.

Table 3. Steps for pharmacokinetic model building, $n=79$.

Model	Parametrization	-2LL (OFV)	BICc	κ
(A) Base model	CL, V1, V2, Q, purine	3774.45	3845.38	12.98
	*log(CL) = log(θ_{CL}) + $\beta_{CL} \times eClcr + \eta_{CL}$	3725.64	3800.94	41.21
(B): covariate effect	(A)+ log(V1) = log(θ_{V1}) + $\beta_{V1} \times BWbef + \eta_{V1}$	3760.16	3835.46	948.88
	log(Q) = log(θ_{V2}) + $\beta_Q \times BWbef + \eta_{V2}$	3758.82	3834.12	189.46
	log(V1) = log(θ_{V1}) + $\beta_{V1} \times \log(BWbef/70) + \eta_{V1}$	3762.93	3838.23	30.82
(C): covariate effect	(B)* + log(V1) = log(θ_{V1}) + $\beta_{V1} \times BW + \eta_{V1}$	3710.77	3790.44	227.97
	log(V1) = log(θ_{V1}) + $\beta_{V1} \times \log(BW/70) + \eta_{V1}$	3712.91	3792.58	71.90
	log(V1) = log(θ_{V1}) + $\beta_{V1} \times BWbef + \eta_{V1}$	3714.07	3793.74	137.24
	**log(V1) = log(θ_{V1}) + $\beta_{V1} \times \log(BWbef/70) + \eta_{V1}$	3711.10	3790.77	35.14
(D): covariate effect	(C)** + log(CL) = log(θ_{CL}) + $\beta_{CL} \times Age + \eta_{CL}$	3705.86	3789.90	346.30

Legend: -2LL, maximized log-likelihood; BICc, corrected Bayesian information criterion; eClcr, the creatinine clearance estimated according to the Cockcroft-Gault equation; BW, body weight before pregnancy; κ , condition index, β , factor applicated to the covariate, η , between-subject variability.

This model was considered as the final covariate model (model C). Model D wasn't chosen because of over-parametrization ($\kappa > 100$).

According to Table 3, TXA CL and V1 for the patient i were described as follows:

$$CL_i = CL_{pop} \times e^{\beta_{CL} \times eClcr} \text{ and } V1_i = V_{pop} \times \left(\frac{BW_i}{70}\right)^{\beta_{V1}}$$

The final PK parameters estimated identified for model C are summarized in Table 4.

Table 4. Parameter estimates of the final model in parturient women undergoing haemorrhagic caesarean section.

Parametrization		Original dataset	Bootstrap		
Population parameters	Covariate effect	Estimated values (RSE, %)	Shrinkage (Conditional distribution) %	Median	(Q1 ; Q3)
θ_{CL} (L.min ⁻¹)	$e^{(\beta_{CL} \times eClcr)}$	0.077 (7.3)	2.88	0.0785	(0.0746 ; 0.0825)
β_{CL}		0.0039 (11.8)	NA	0.0038	(0.0035 ; 0.0042)
θ_{V1} (L)	$\beta_{V1} \times \frac{BW}{70}$	9.25 (12.0)	0.857	9.76	(7.78 ; 12.61)
β_{V1}	-	1.41 (25.8)	NA	1.31	(0.93 ; 1.68)
θ_Q (L.min ⁻¹)	-	0.32 (15.3)	-3.74	0.30	(0.24 ; 0.37)
θ_{V2} (L)	-	9.49 (5.1)	2.64×10^{-4}	9.58	(8.41 ; 10.36)
θ_{purine}	-	0.54 (7.0)	-1.37	0.55	(0.53 ; 0.57)
ω_{CL} (%)	-	20 (11.2)	-	0.19	(0.18 ; 0.21)
ω_{V1} (%)	-	59 (14.1)	-	0.48	(0.32 ; 0.61)
ω_Q (%)	-	67 (18.8)	-	0.65	(0.54 ; 0.74)
ω_{V2} (%)	-	13 (31.9)	-	0.20	(0.14 ; 0.30)
ω_{purine} (%)	-	46 (11.9)	-	0.44	(0.36 ; 0.52)
a1	NA	0.44 (33.0)	NA	0.38	(0.10 ; 0.52)
b1	NA	0.15 (6.8)	NA	0.15	(0.14 ; 0.16)
b2	NA	0.52 (7.9)	NA	0.52	(0.49 ; 0.54)

Legend: BW, body weight before pregnancy; eClcr, estimated creatinine clearance; NA, non-applicable; Q1, first quartile; Q3, third quartile; RSE, residual standard error.

The estimated PK parameters were close to the median of the 500-runs bootstrap estimates and within the range [Q1; Q3] obtained from bootstrap, suggesting the robustness of the final PK model. Shrinkage values were found to be low, which suggests a good estimation of the individual parameters and attests that the diagnostic graphs are interpretable.

Correlations between $\log(\text{BW}_{\text{bef}}/70)$ and $\log(V1)$, and $\log(\text{ClCr})$ and $\log(\text{CL})$ are represented in Figure 4.

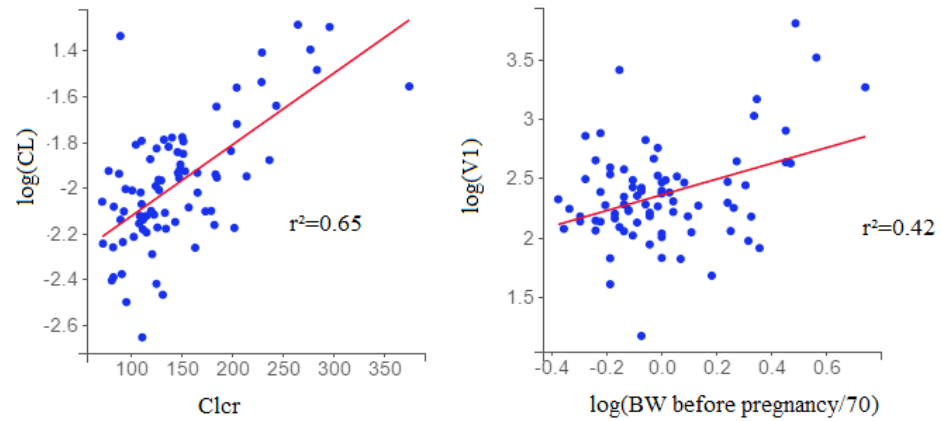


Figure 4. Correlations between the conditional mean of individual pharmacokinetic parameters and covariates of the final covariate model.

The significance of the Wald test is consistent with keeping the Clcr as a covariate for CL ($p < 2.2 \times 10^{-16}$) and $\log(\text{BW}_{\text{bef}}/70)$ as a covariate for $V1$ ($p\text{-value}=1.04 \times 10^{-4}$).

Diagnostic plots of the final covariate model are presented in Figure 5.

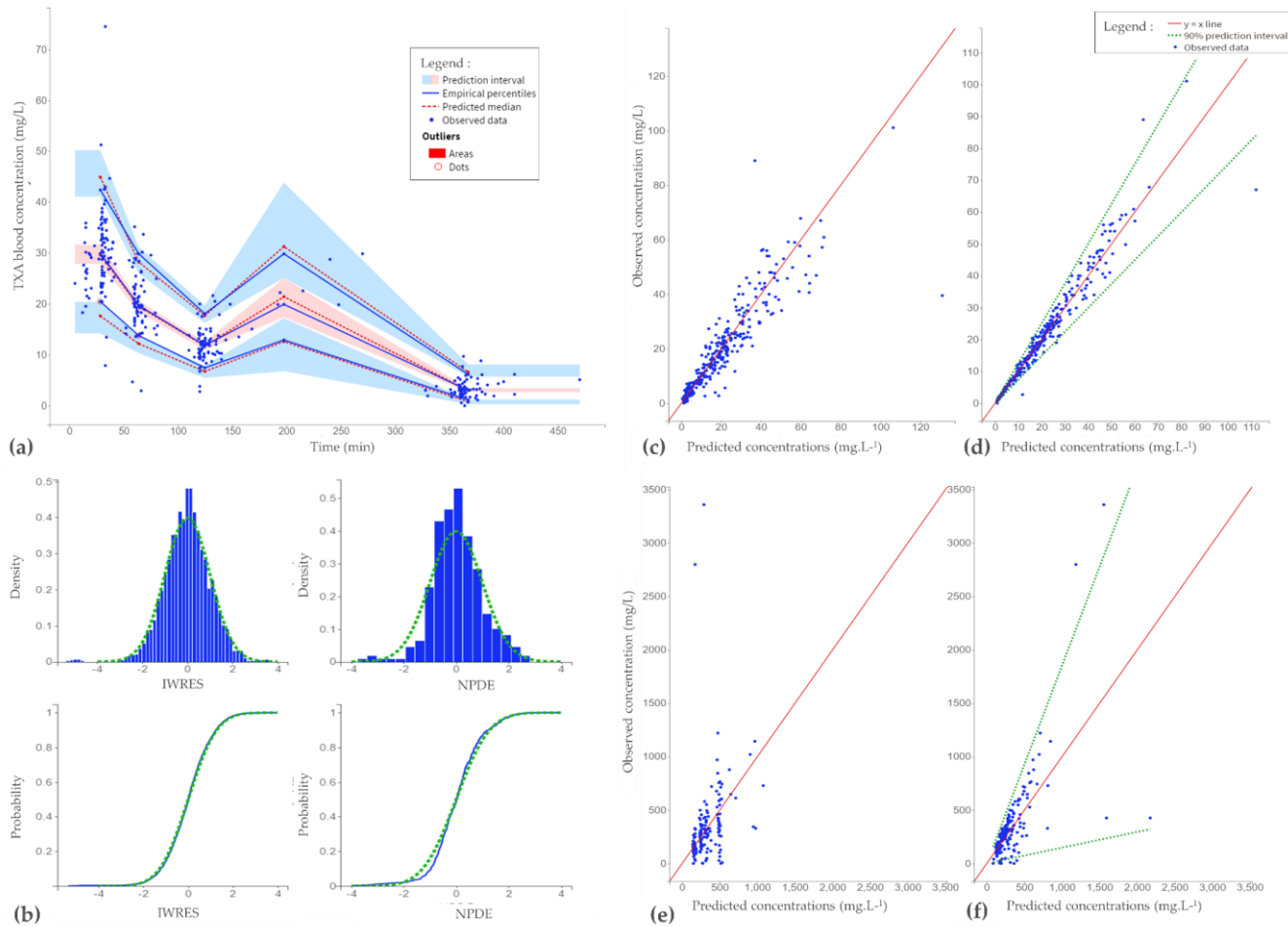


Figure 5. Goodness-of-fit plots obtained from the final covariate model. (a) the visual predictive check graph represents the observed plasma concentrations in tranexamic acid (TXA) plotted against time, based on 1 000 Monte Carlo Simulation. Prediction intervals for each percentile are estimated across all simulated data and represented as colored areas (pink for the 50th percentile, blue for the 10th and 90th percentiles). Observed data are displayed as blue dots. Predicted medians and empirical percentiles are displayed as green dotted lines and blue lines, respectively. (b) Normalized prediction distribution errors (NPDE) plotted against time and tranexamic acid (TXA) plasma concentrations. Observations plotted against populational (c) and individual (d) predicted tranexamic acid (TXA) plasma concentrations. Observations plotted against populational (e) and individual (f) predicted tranexamic acid (TXA) urinary concentrations. The limits of the 90% confidence interval as displayed as green dotted lines.

351

352

353

354

355

356

357

Concerning the VPC graph, curves representing empirical percentiles overlaid the prediction intervals. Concerning the observations versus predictions graph, the ratio observed/predicted concentrations was around the x=y line for both plasma and urinary values. The proportions of plasma and urinary ratios which fell outside the 90% prediction interval were 2.2% and 6.8% respectively. The distribution of NPDE was quite well adjusted to the density of the standard Gaussian distribution. The Shapiro-Wilk test of normality was significant, but the significance is often observed when analyzing a large number of observations (Fc = 0.98, p-value=5.8x10-5, for blood concentrations; Fc=0.96, p-value=4.84x10-4 for the urinary concentrations)[14].

Apart from a few outliers, the NPDE plots didn't suggest any misspecification of the model (Appendix B, Figure B1). The normal distribution of the η values was not rejected by the Shapiro Wilk test at 5% except purine (Fc= 0.91, p>0. 8.02x10-6).

In conclusion, TXA CL and V1 for the patient i were described as follows:

$$CL_i = 0.077 \times e^{0.0039 \times eClcr} \text{ and } V1_i = 9.25 \times \left(\frac{BW_i}{70}\right)^{1.41} "$$

3.4. Simulations

Monte Carlo simulations of 1000 parturients receiving single doses of 0.5 and 1 g are displayed in Figure 6.

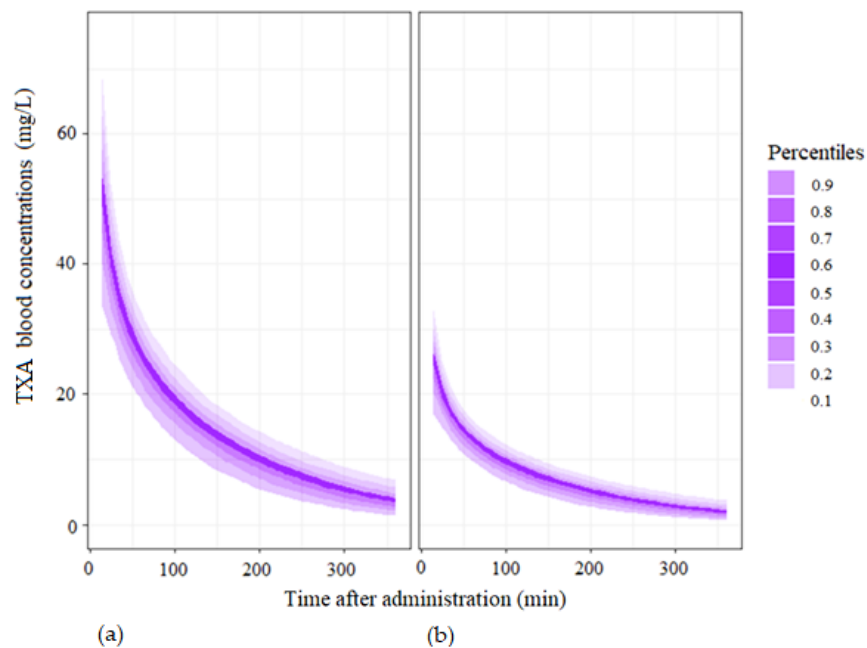


Figure 6. Monte Carlo simulations with the base model for N=1000 individuals. Legend: (a) Administration of a single dose of 1 g of tranexamic acid at T0; (b) Administration of a single dose of 0.5g of tranexamic acid at T0.

Our results suggest that 90% of individuals keep a blood concentration ≥ 30 mg/L and ≥ 15 mg/L for the first 15 minutes following the administration of a 1 g or 0.5 g bolus of TXA respectively. The mean concentrations estimated from the Monte Carlo simulations are presented in Table 5.

Table 5. Estimated mean concentrations after administration of a single dose of 1g of tranexamic acid and a single dose of 0.5g of tranexamic acid.

Mean (10th-90th percentile)	15 min after administration	30 min after administration	60 min after administration	120 min after administration	360 min after administration
Single dose of 0.5g of TXA	55.1 (35.3;77.8)	39.2 (28.7;51.6)	27.5 (19.6;35.6)	17.3 (10.7;23.9)	4.6 (1.3 ;8.8)
Single dose of 1g of TXA	27.1 (17.3 ;37.6)	19.6 (13.9 ;25.6)	13.8 (10.0 ;18.3)	8.9 (5.5 ;12.4)	2.4 (0.6;4.6)

Legend: TXA, tranexamic acid.

Rescue doses were administered at a median time of 87 min after the first administration, with two patients requiring a rescue dose 35 min after the first administration and one patient requiring a rescue dose at T50 min.

3.5. Noncompartmental analysis

Results of the NCA are presented in Figure 7A for analysis performed according to bleeding status at T30 et Figure 7B for analysis performed according to bleeding status at T60. Missing data correspond to data for which the number of concentrations collected can't provide a correct analysis.

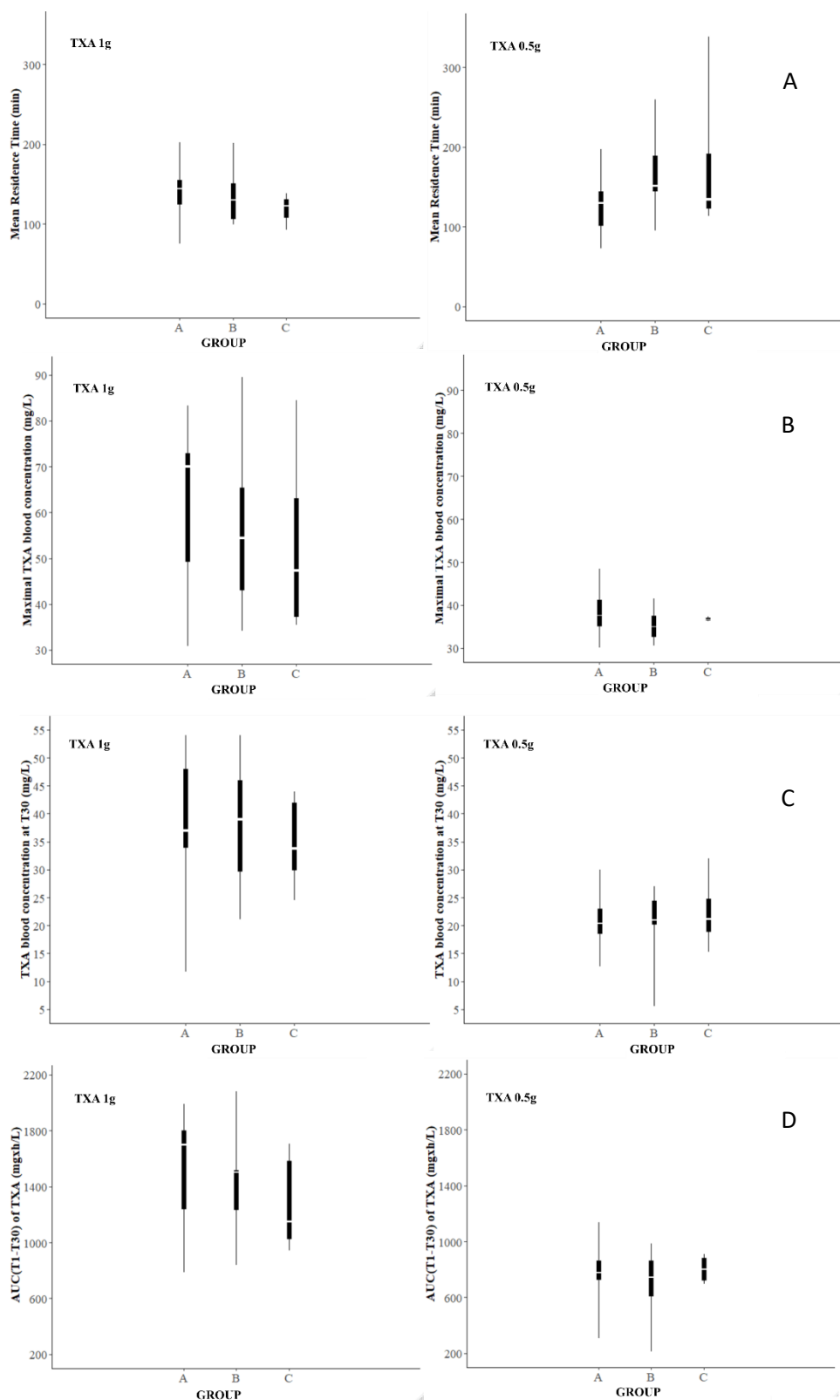


Figure 7A. Representation of the mean resident time of TXA (A), the predicted maximal blood concentration of TXA (B), the blood concentration of tranexamic acid measured 30 min after the administration (C) and the AUC estimated over the 30 min following the TXA administration (D) according to the groups of bleeding status defined 30 min after the first TXA injection. Legend: AUC, Area under the curve; TXA, tranexamic acid.

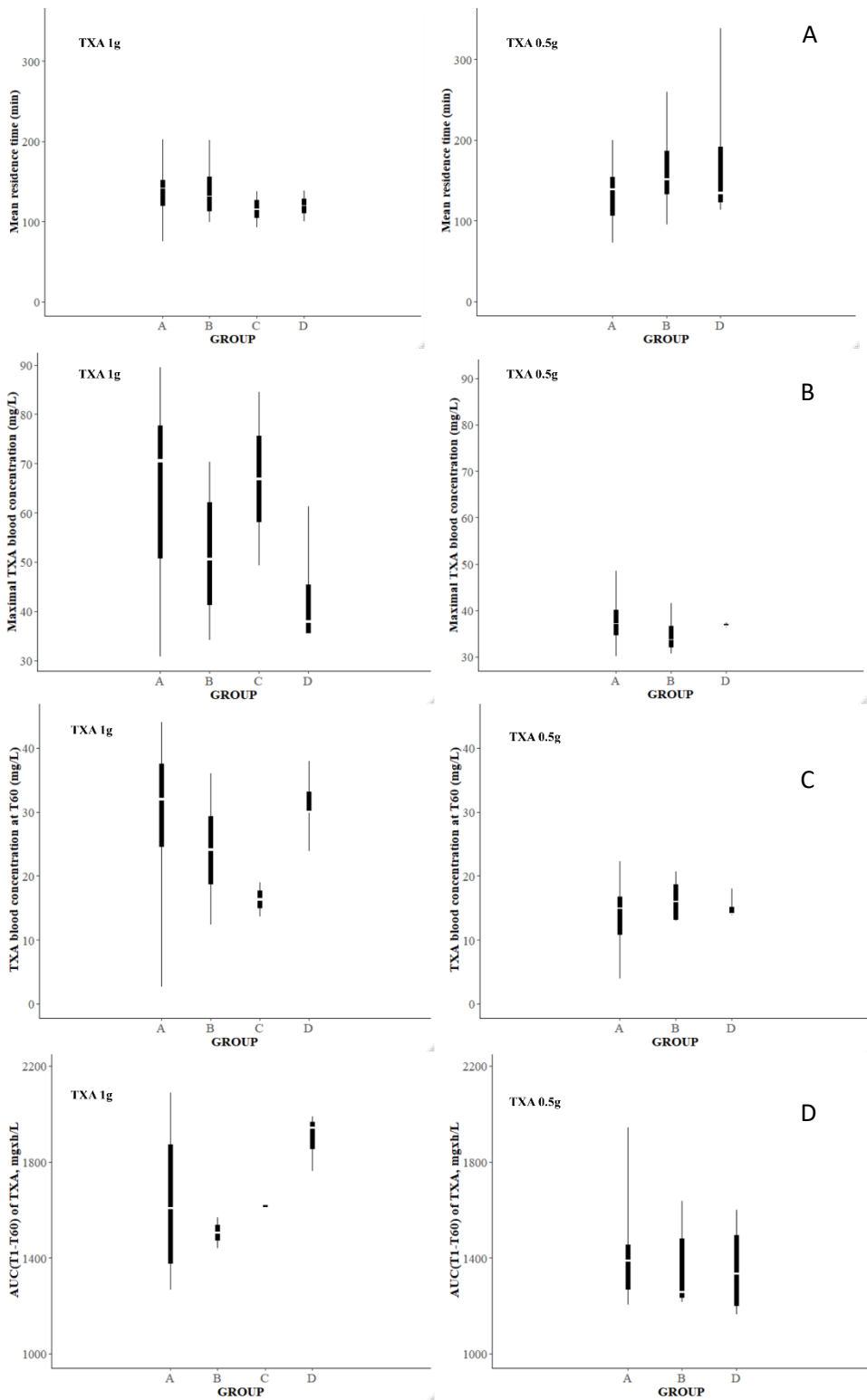


Figure 7B. Representation of the mean resident time of TXA (A), the predicted maximal blood concentration of TXA (B), the blood concentration of tranexamic acid measured 60 min after the administration (C) and the AUC estimated over the 60 min following the TXA administration (D) according to the groups of bleeding status defined 60 min after the first TXA injection. Legend: AUC, Area under the curve; TXA, tranexamic acid.

402
403
404
405
406
407

Our results showed no significant differences for C_{T1} , C_{T30} , $AUC(T1-T30)$, MRT between the groups defined according to their bleeding status at T30. Our results also failed to point out any significant differences for C_{T1} , C_{T60} , MRT, and $AUC(T1-T60)$ between the groups defined according to their bleeding status at T60.

However, the boxplots suggest that the $AUC(T1-T30)$ and the $AUC(T1-T60)$ are likely to be higher in the group of patients for who a definitive cessation of bleeding (group A) than in the other groups of patients (group B, C; and group D for T60 analysis), exclusively for patients recruited in the TXA1g group. The same observation can be made for predicted maximal concentration at T1 (C_{T1}). Concerning the results for patients recruited in the TXA0.5g group, C_{T1} , $AUC(T1-T30)$, and $AUC(T1-T60)$ were found to be quite similar regarding the status of bleeding of the patients. Concerning the MRT, C_{T30} , and C_{T60} , no tendency can be noticed for both groups (TXA0.5g and TXA1g).

Concerning the 8 participants who received a rescue dose of TXA, the anthropometric and biological baseline values, and the individual PK parameters are summarized in Appendix C. No noticeable value was noted in their baseline characteristics or their individual estimated PK parameters.

4. Discussion

TRACES is the first population PK study in haemorrhagic parturients receiving intravenous TXA during caesarean section. TXA PK data were adequately described by a two-compartment model. PK modeling highlighted that BSV was partly explained by renal clearance estimated using the Cockcroft-Gault formula and normalized body weight to a 70kg individual measured before pregnancy. PK results showed that the predicted TXA blood concentrations rapidly decline below 20 mg/L, around 30 min after the administration of a single bolus dose of 0.5g. The urinary elimination of TXA considered in the study design and the large number of patients recruited contributed to the robustness of the model.

In healthy volunteers, trauma patients, patients undergoing cardiopulmonary bypass, TXA PK data were also best described by a two-compartment model[15–19], with TXA clearance between 6.6 to 10.1 L/h and TXA central volume of distribution between 4.8 to 17.9 L, both normalized for body weight to a 70kg-individual. More recently, Li et al[20] conducted a populational PK study on 30 patients undergoing elective caesarean surgery. In this study, TXA was administered intravenously at prophylactic doses of 5 mg/kg (n=10), 10mg/kg (n=10) and 15 mg/kg (n=10) at the time of umbilical cord clamping. Their results also suggested that TXA PK was best described by a two-compartment model with first-order elimination. TXA clearance was estimated at 9.4 L/h, and the central volume of distribution was estimated at 10.1 L.

In our study, the estimated values for PK parameters found were 8.4 L/h for clearance normalized for creatinine clearance to 150 mL/min calculated using Cockcroft-Gault equation, and 9.25 L.70kg⁻¹, normalized for body weight to 70 kg. Both results are consistent with Li et al findings[20] and with our preliminary results, suggesting an estimated populational clearance and central distribution volume of 10.3 L/h and 11.5 L respectively[11]. One of the parameters that varied significantly in comparison with the preliminary model estimations was the fraction of urinary elimination. It was estimated at around 50% in this study versus 25% in the previous study. That variability may be associated with a covariate that hasn't been investigated yet; it will be interesting to study the variability of the purine regarding the pharmacodynamics to investigate whether there may be any balance between the renal elimination and the TXA efficacy. Indeed, the mechanism of action of TXA consists of inhibiting fibrinolysis by preventing the

plasminogen and t-PA from binding to fibrin. An assumption of the non-urinary elimination of TXA could be the trapping of TXA between plasmin and fibrin according to the mechanism of action of TXA that would influence either the efficacy of TXA and the fraction of TXA excreted in the urine. The second assumption that could explain the non-urinary elimination of TXA is the elimination of TXA through the uterine haemorrhagic blood flow. Unpublished results revealed that a part of the TXA is eliminated through the haemorrhagic blood flow; however, imprecisions concerning the collection of that blood made it difficult to determine the real concentration of TXA in the haemorrhagic blood and led us to exclude those blood uterine concentrations from the PK analysis. In fact, the collecting process was considered too imprecise to measure the exact volume of uterine blood and thus, the excreted amount of TXA. The precision of the uterine blood collection was considered as less important as the management of the haemorrhagic CS in our study.

Our results are also consistent with our preliminary results that suggested a partial urinary elimination of TXA[11]. The renal excretion of TXA is in accordance with the renal clearance explaining the BSV on urinary clearance of TXA. Previous studies reported that the eClcr and the eGFR of healthy pregnant women were poorly estimated with the existing prediction equations (i.e Cockcroft-Gault, MDRD, CKD-EPI)[21,22]. Unexpectedly, the eClcr according to the Cockcroft-Gault formula was found to be correlated significantly with the individual CL ($r^2=0.65$). This is the first study suggesting a correlation between the BSV on CL and the estimated renal clearance according to the Cockcroft-Gault formula.

The body weight of individuals reported before pregnancy was found to influence the BSV of V1 as described in previous studies[15–18].

The implementation of both eClcr and BW in the model provided a reduction of the BICc of 55 points while maintaining an acceptable condition index, below 100.

The incoherence of our final covariate model with our preliminary results is easily explained by the larger number of patients included in this new study, which better depicts the effect of the individual covariates on the BSV of PK parameters[11]. Moreover, the amount of data was strengthened by the addition of a second urinary collection point for this study in comparison with the pilot study (one urinary point). Our study is the only one in the literature to include TXA urinary dosage in the model building.

Concerning TXA target concentration, a recent review suggested that TXA concentrations of 10-15 mg/L may be sufficient to inhibit hyperfibrinolysis in vivo[23]. According to the authors, this concentration range should be targeted in PK studies. However, this assumption only relies on studies measuring the effect of TXA concentrations on hyperfibrinolysis in vitro. The in-vivo relation between the PK and the pharmacodynamics (PD) of TXA remains unclear. A study suggested that an Imax model best described the relationship between TXA concentration and the maximum lysis measured using a rotational thromboelastometry (ROTEM) analysis[20]. Considering this PKPD relationship, the authors suggest that a dose of 650 mg is sufficient to prevent haemorrhagic CS considering 10 mg/L as PK target and maximum lysis below 17%. Yet, this study was conducted on patients receiving prophylactic doses of TXA that may prevent haemorrhage and didn't study the concentrations needed to end up haemorrhage once this one has already started. No study has yet determined the TXA target concentration required to stop hyperfibrinolysis after the beginning of this phenomenon in the context of haemorrhagic CS.

According to the results of the NCA, no clear cut-offs concerning a target blood concentration or a target AUC of TXA were noticed. However, our results suggest that the concentrations needed to stop the bleeding are higher than those proposed in recent

literature (10 or 20µg/mL)[20,23]. Indeed, each patient receiving a dose of TXA 0.5g or 1g easily reached a TXA blood concentration of 20µg/mL, nevertheless, the bleeding didn't stop for many of them. According to our results, the concentration of tranexamic acid tended to be higher in patients who had stopped bleeding; but that result was only suggested for the analysis performed at T30 and for the patients recruited in the TXA1g group. However, no significant difference for any estimated parameter between the different groups of patients formed according to their bleeding status was pointed out in this study. Another noticeable fact is only 2 patients stopped bleeding between T30 and T60, and both belonged to the TXA1g group. Finally, no noticeable value concerning the baseline characteristics or individual estimated PK parameters of the 8 participants who had received a rescue dose, could be identified.

All these results tend to support a 1g administration with an early repetition within the first hour if the bleeding doesn't stop. However, as there is currently no data establishing a threshold of concentration as efficient enough to reduce additional blood loss and inhibit fibrinolysis, the TRACES PK/PD trial, including biological parameters and the results of simultaneous thrombin and plasmin generation assay, will be performed to determine a concentration-response relationship for TXA in the context of caesarean haemorrhage.

5. Conclusion

The population pharmacokinetic model of TXA in haemorrhagic CS was developed and internally validated. The BSV of CL was partly explained by eClcr and the BSV of V1 was partly explained by BW measured before pregnancy. This model confirmed the assumption of a partial urinary elimination of tranexamic acid brought by the preliminary study. Future pharmacodynamics may help to propose the best therapeutic schemes.

6. Patents

Supplementary Materials: Non applicable

Author Contributions: Conceptualization, AS.B and B.H.; methodology, S.G, AS.B. and B.H.; software, S.G.; validation, AS.B., F.L. and P.O.; formal analysis, S.G.; inv

estigation, AS.B. and B.H.; resources, AS.B., S.G. and B.H.; data curation, S.G and B.H.; writing – original draft preparation, S.G.; writing – review and editing, AS.B., B.H., F.L., G.L., P.O, and D.A., visualization, S.G.; supervision, G.L., P.O. and D.A.; project administration, AS.B and P.O.; funding acquisition, AS.B. and B.H.. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by 2014 exclusively public grants: one part pending ministry of Health: PHRC n° 14-0032 and the other part aiming pharmacobiological analysis and model by national agency for drugs security: ANSM AAP 15-003.

Institutional Review Board Statement: The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and approved by the competent national authorities (ANSM 201500249926) and the Ethics Committee (CPP 15/50 020216) before beginning the study, in accordance with article L1121-4 of the Public Healthcare Code.

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study. This trial has been declared on the clinical trials registration on 13 June 2016 under the number CT 02797119.

Data Availability Statement: Not applicable

Acknowledgments: Special acknowledgements should be provided to Mrs Christine Nobecourt, TRACES research midwife who contributed to the study conception, elaboration of the samples' distribution channels and elaboration of the e-CRF, to Mrs Florence Dufлот, who elaborated the e-CRF and to Mrs Sambou who contributes to the quality control of the protocol.

Conflicts of Interest: *The authors declare no conflict of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript, or in the decision to publish the results.*

555

556

557

558

559

Appendix A :

Figure A1. Formula used for the calculation of the anthropometric and renal characteristics.

Parameters	Formula
ABW, adjusted body weight, kg	$ABW = IW + 0.4 \times (BW - IW)$
BMI, body mass index, kg/m ²	$BMI = \frac{BW}{Height}$
LBW, lean body weight, kg.	$LBW = 9270 \times BW / [8780 + (244 * BMI)]$
IW, ideal weight, kg Devine et al, 1974, Height in cm.	$45.4 + 0.89 \times (Height (cm) - 152.4)$
BSA, body surface area, m ² Dubois et Dubois [24], Height in m.	$0.20247 \times Height^{0.725} \times BW^{0.425}$
eClcr, estimated creatinine clearance, mL/min Cockroft et Gault formula [25] SCr for serum creatinine in mg/dL.	$\frac{0.85 \times (140 - Age) \times BW}{SCr \times 72}$
eGFR, estimated glomerular filtration rate, mL/min/1.73 m ² , CKD-EPI formula [26] SCr for serum creatinine in mg/dL.	$\left[144 \times \left(\frac{SCr}{0.7} \right)^{-0.329} \times 0.993^{Age} \right] \times \frac{BSA}{1.73}$
eGFR, estimated glomerular filtration rate, mL/min/1.73 m ² , MDRD formula [27] SCr for serum creatinine in mg/dL.	$[0.742 \times 175 \times SCr^{-1.154} \times Age^{-0.203}] \times \frac{BSA}{1.73}$

Appendix B :

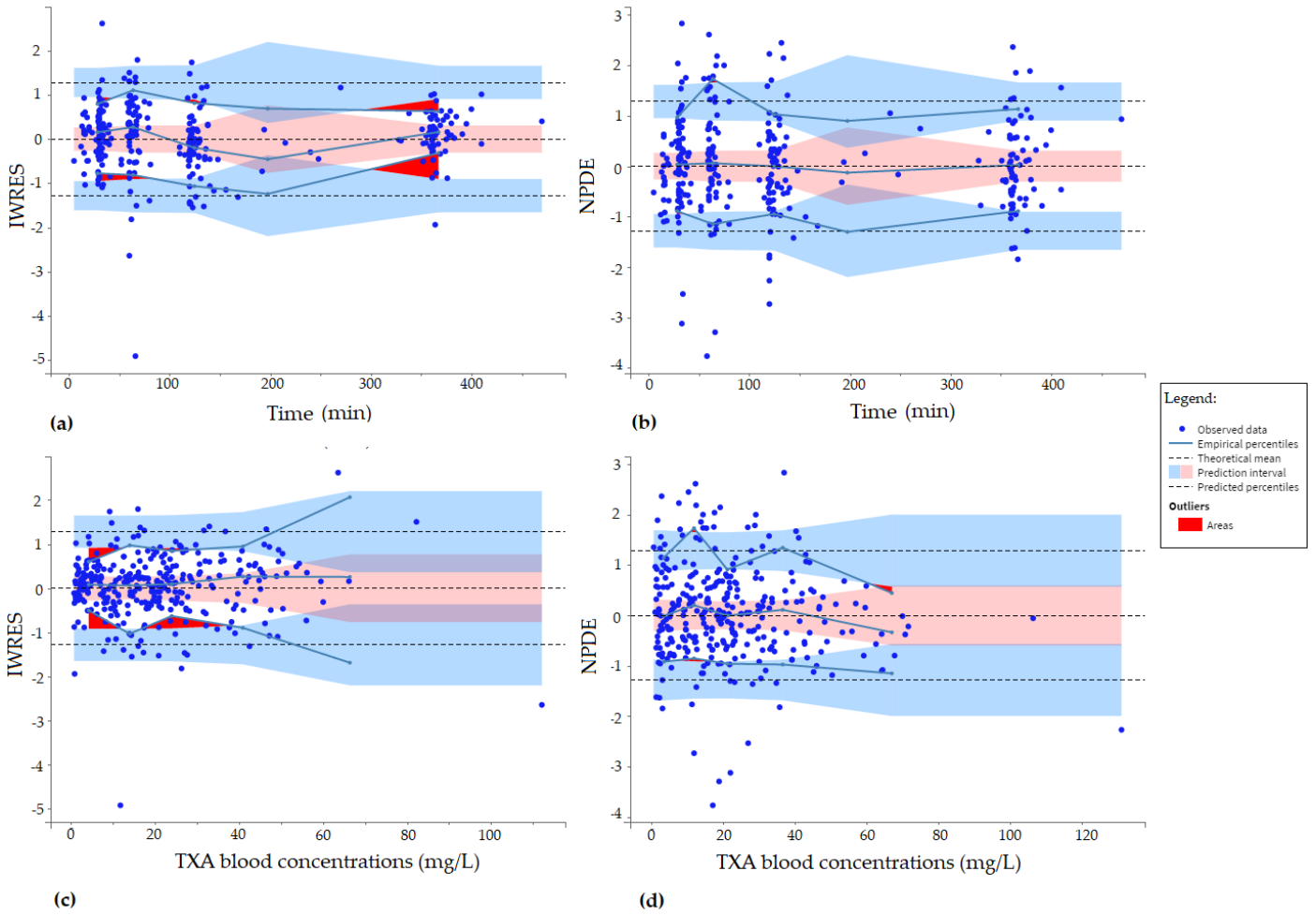
565

Figure B1. Individual weighted residuals (IWRES) plotted versus time (a) and tranexamic acid (TXA) blood concentrations (c) Normalized prediction distribution errors (NPDE) plotted versus time (b) and TXA blood concentrations (d).

566

567

568



569

Appendix C :
Figure C1. Baseline characteristics of the patients who have received a rescue dose (n=8).

Patient	Age	BW	BWbef	eClcr	Blood loss at T0	Inclusion group	Time of rescue dose (dose)	Additional blood loss at the time of second dose	TXA amount measured in the total urines at T360
Units	-	kg	kg	mL.min ⁻¹	mL	-	Min	mL	mg
01-1-049	33	73	60	151.6	1019	TA 1g	117 (1g)	802	1144
01-1-065	40	74	63	148.8	850	TA 1g	236 (1g) and 300 (1g)	1620	1058
01-1-070	36	66	53	72.3	1200	TA 1g	87 (1g)	1175	1199
01-1-099	37	85	75	182.4	1308	TA 1g	36 (1g)	345	1206
01-1-108	42	78	65	125.3	1275	TA 0.5g	72 (0.5g)	695	1303
01-1-119	33	86	68	95.4	1020	TA 1g	50 (1g)	1870	344
01-1-134	31	70	50	91.9	1720	TA 1g	153 (1g)	2020	105
01-1-151	35	115	99	204.5	1900	TA 1g	35 (1g)	600	648

Legend : BW, body weight; BWbef, body weight before pregnancy; TXA, tranexamic acid; T0, inclusion time; T360, 360min after TXA first injection

570

571

572

573

574

Figure C2. Estimated PK parameters of the patients who have received a rescue dose (n=8).

575

576

577

578

Patient	CL	V1	V2	Q	Purine
Units	L.min-1	L	L	L.min-1	-
01-1-049	0.16	29.37	0.32	9.5	0.61
01-1-065	0.16	8.08	0.38	9.58	0.39
01-1-070	0.11	16.79	0.27	10.01	0.51
01-1-099	0.12	6.43	0.068	9.4	0.46
01-1-108	0.16	9.87	0.39	8.98	0.77
01-1-119	0.086	14.62	0.46	9.64	0.31
01-1-134	0.11	8.21	0.38	9.64	0.36
01-1-151	0.19	25.34	0.31	9.61	0.53

References

1. Say L, Chou D, Gemmill A, Tunçalp Ö, Moller A-B, Daniels J, et al. Global causes of maternal death: a WHO systematic analysis. *The Lancet Global Health* 2014;2(6):e323-33.
2. Kassebaum NJ, Barber RM, Bhutta ZA, Dandona L, Gething PW, Hay SI, et al. Global, regional, and national levels of maternal mortality, 1990–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *The Lancet* 2016;388(10053):1775-812.
3. Borovac-Pinheiro A, Priyadarshani P, Burke TF. A review of postpartum haemorrhage in low-income countries and implications for strengthening health systems. *International Journal of Gynecology & Obstetrics* 2021;154(3):393-9.
4. Vogel JP, Oladapo OT, Dowswell T, Gülmezoglu AM. Updated WHO recommendation on intravenous tranexamic acid for the treatment of post-partum haemorrhage. *The Lancet Global Health* 2018;6(1):e18-9.
5. Cai J, Ribkoff J, Olson S, Raghunathan V, Al-Samkari H, DeLoughery TG, et al. The many roles of tranexamic acid: An overview of the clinical indications for TXA in medical and surgical patients. *European Journal of Haematology* 2020;104(2):79-87.
6. Ducloy-Bouthors A-S, Jude B, Duhamel A, Broisin F, Huissoud C, Keita-Meyer H, et al. High-dose tranexamic acid reduces blood loss in postpartum haemorrhage. *Crit Care* 2011;15(2):R117.
7. Shakur-Still H, Roberts I, Fawole B, Kuti M, Olayemi OO, Bello A, et al. Effect of tranexamic acid on coagulation and fibrinolysis in women with postpartum haemorrhage (WOMAN-ETAC): a single-centre, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Wellcome Open Research* 2018;3:100.
8. CRASH-2 trial collaborators, Shakur H, Roberts I, Bautista R, Caballero J, Coats T, et al. Effects of tranexamic acid on death, vascular occlusive events, and blood transfusion in trauma patients with significant haemorrhage (CRASH-2): a randomised, placebo-controlled trial. *Lancet* 2010;376(9734):23-32.
9. Pilbrant A, Schannong M, Vessman J. Pharmacokinetics and bioavailability of tranexamic acid. *Eur J Clin Pharmacol* 1981;20(1):65-72.
10. Elkomy MH, Sultan P, Drover DR, Epshtein E, Galinkin JL, Carvalho B. Pharmacokinetics of Prophylactic Cefazolin in Parturients Undergoing Cesarean Delivery. *Antimicrob Agents Chemother* 2014;58(6):3504-13.
11. Gilliot S, Ducloy-Bouthors AS, Hennart B, Loingeville F, Jeanne M, Lebuffe G, et al. Hypothesis for a partially non urinary elimination of tranexamic acid in haemorrhagic caesarean section: Traces pilot pharmacokinetic study: Pharmacokinetics of tranexamic acid in obstetrics. *Eur J Pharm Sci* 2020;153:105486.
12. Ducloy-Bouthors A-S, Jeanpierre E, Saidi I, Baptiste A-S, Simon E, Lannoy D, et al. TRANexamic acid in haemorrhagic CESarean section (TRACES) randomized placebo controlled dose-ranging pharmacobiological ancillary trial: study protocol for a randomized controlled trial. *Trials* [Internet] 2018 [cité 2019 avr 9];19. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5831219/>
13. Bouthors A-S, Hennart B, Jeanpierre E, Baptiste A-S, Saidi I, Simon E, et al. Therapeutic and pharmaco-biological, dose-ranging multicentre trial to determine the optimal dose of

- TRAnexamic acid to reduce blood loss in haemorrhagic CESarean delivery (TRACES): study protocol for a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Trials* 2018;19(1):148.
14. Ghasemi A, Zahediasl S. Normality Tests for Statistical Analysis: A Guide for Non-Statisticians. *Int J Endocrinol Metab* 2012;10(2):486-9.
 15. Grassin-Delyle S, Semeraro M, Foissac F, Bouazza N, Shakur-Still H, Roberts I, et al. Tranexamic acid through intravenous, intramuscular and oral routes: an individual participant data meta-analysis of pharmacokinetic studies in healthy volunteers. *Fundam Clin Pharmacol* 2019;
 16. Grassin-Delyle S, Tremey B, Abe E, Fischler M, Alvarez JC, Devillier P, et al. Population pharmacokinetics of tranexamic acid in adults undergoing cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. *Br J Anaesth* 2013;111(6):916-24.
 17. Grassin-Delyle S, Theusinger OM, Albrecht R, Mueller S, Spahn DR, Urien S, et al. Optimisation of the dosage of tranexamic acid in trauma patients with population pharmacokinetic analysis. *Anaesthesia* 2018;73(6):719-29.
 18. Dowd NP, Karski JM, Cheng DC, Carroll JA, Lin Y, James RL, et al. Pharmacokinetics of tranexamic acid during cardiopulmonary bypass. *Anesthesiology* 2002;97(2):390-9.
 19. Grassin-Delyle S, Semeraro M, Lamy E, Urien S, Runge I, Foissac F, et al. Pharmacokinetics of tranexamic acid after intravenous, intramuscular, and oral routes: a prospective, randomised, crossover trial in healthy volunteers. *British Journal of Anaesthesia* 2022;S0007091221007984.
 20. Li S, Ahmadzia HK, Guo D, Dahmane E, Miszta A, Luban NLC, et al. Population pharmacokinetics and pharmacodynamics of Tranexamic acid in women undergoing caesarean delivery. *Br J Clin Pharmacol* 2021;87(9):3531-41.
 21. Ahmed SB, Bentley-Lewis R, Hollenberg NK, Graves SW, Seely EW. A comparison of prediction equations for estimating glomerular filtration rate in pregnancy. *Hypertens Pregnancy* 2009;28(3):243-55.
 22. Gao M, Vilayur E, Ferreira D, Nanra R, Hawkins J. Estimating the glomerular filtration rate in pregnancy: The evaluation of the Nanra and CKD-EPI serum creatinine-based equations. *Obstet Med* 2021;14(1):31-4.
 23. Picetti R, Shakur-Still H, Medcalf RL, Standing JF, Roberts I. What concentration of tranexamic acid is needed to inhibit fibrinolysis? A systematic review of pharmacodynamics studies. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2019;30(1):1-10.
 24. Dubois D, Dubois EF. A formula to estimate the approximate surface area if height and weight be known. *Arch Intern Med* 871;(17):863.
 25. Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron* 1976;16(1):31-41.
 26. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang Y (Lucy), Castro AF, Feldman HI, et al. A New Equation to Estimate Glomerular Filtration Rate. *Ann Intern Med* 2009;150(9):604-12.
 27. Levey AS, Coresh J, Greene T, Marsh J, Stevens LA, Kusek JW, et al. Expressing the Modification of Diet in Renal Disease Study equation for estimating glomerular filtration rate with standardized serum creatinine values. *Clin Chem* 2007;53(4):766-72.

PARTIE III. DISCUSSION

L'enjeu de cette thèse était d'étudier des moyens de sécurisation de la prise en charge médicamenteuse compatibles avec la réalité d'un Centre Hospitalier Universitaire d'environ 4000 lits. Au cours de ce travail de thèse, deux grands axes de sécurisation de la prise en charge médicamenteuse ont été abordés ; d'une part la sécurisation de la préparation des médicaments injectables à risque ; et d'autre part la prédiction des concentrations des médicaments par approche populationnelle

1. Sécuriser la préparation des médicaments injectables à risque

Afin de trouver un moyen efficace pour prévenir les erreurs de précision liées à l'étape de préparation des médicaments injectables, nous nous sommes questionnés sur la possibilité de mettre en place un contrôle qualité des formes injectables préparées extemporanément dans les services de soins. Ce moyen ne semblait pas nécessiter de modifications importantes du système actuel. Cette faisabilité a été évaluée à l'aide de l'automate DrugLog® dans le service de réanimation néonatale.

À notre connaissance, à ce jour, le DrugLog® est le seul automate capable d'effectuer l'identification et la quantification d'une bibliothèque spécialités injectables proposant une interface simple d'utilisation, un rendu des résultats en quelques secondes et une interprétation simplifiée. Le concept de cette double capacité est prometteur. Cependant, de nombreuses limites ont été identifiées au travers de notre travail, nous conduisant à sursoir la mise en place en routine du projet dans le service de néonatalogie. En effet, le DrugLog® est une technique applicable qu'à certains médicaments, coûteuse en ressources humaines et en consommables, pour un bénéfice clinique non mesuré, même si le travail de cette thèse démontre que lorsque le médicament est adapté, cette technique présente certains atouts : simple d'utilisation, rapide.

Il se pose également la question du coût de l'appareil au regard du bénéfice attendu, difficilement quantifiable en pratique clinique. Une étude médico-économique intégrant le coût des ressources humaines nécessaire pour la calibration, l'utilisation (ressources humaines et consommables) et la maintenance de l'automate devrait être conduite avant tout référencement dans un système hospitalier.

Une autre étude réalisée dans notre centre hospitalier, dans un bloc opératoire et dans un service de soins intensifs post opératoire adulte cette fois ont montré une meilleure performance de l'automate^[60]. Toutefois, dans cette étude, il a été démontré également de nombreuses limites qui nous incite à ne pas déployer cette technologie au sein des services de soins du CHU de Lille. Après réflexion dans l'équipe, l'avenir du DrugLog® pourrait être

envisagé pour la qualification du personnel dans des services de soins, pour lesquels certains critères sont rencontrés : personnel dédié à cette manipulation, uniformité des concentrations pour chaque médicament injectable, exclusion des médicaments ne possédant pas de chromophores dans leur composition, nombre limité de préparations injectables à effectuer.

Compte tenu des limites rencontrées pour mettre en place ce système de contrôle qualité dans les services de soins, la centralisation des préparations de médicaments injectables a été envisagée comme alternative pour sécuriser l'administration de certains médicaments.

Le marché des automates conçus pour la préparation de seringues et de poches de perfusions intraveineuses est en expansion depuis quelques années, compte tenu du besoin clairement identifié de préparer des préparations injectables de manière précise, en respectant les règles d'asepsie, en assurant une protection du personnel soignant, et en limitant le risque d'erreurs médicamenteuses. Parmi les systèmes de préparation automatisés disponibles sur le marché, la plupart ont initialement été développés pour la préparation des médicaments injectables cytotoxiques ; c'est le cas de KIRO Oncology® (Bbraun, Melsungen, Allemagne), APOTECACHemo® (Loccioni, Ancona, Italy), IV station (Omniceil, Mountain View, Californie, États-Unis), Pharmoduct (Dedalus, Le Plessis-Robinson, France), Pharmahelp (Fresenius Kabi, Bad Homburg vor der Höhe, Allemagne), Kiro Oncology® (Grifols, Barcelone, Espagne).

L'automatisation complète du procédé de fabrication peut être complétée de contrôles « *in process* » qualitatifs (lecture des codes datamatrix et reconnaissance photographique des flacons) et quantitatifs (méthodes d'analyse gravimétrique basées sur la mesure de la densité des produits utilisés à l'aide d'un densitomètre), conçus pour renforcer la sécurité de la préparation. Grâce à ces automates, les préparations injectables sont préparées dans un environnement contrôlé, elles sont confinées de manière à protéger les manipulateurs vis-à-vis du contact avec des produits toxiques (CMR, irritants). Les fabricants revendiquent une sécurité, une efficacité, et une traçabilité de la fabrication. Ces automates ont cependant posé la question de leur rendement avec une productivité allant de 30 à 40 préparations par jour^[169–171].

Le 30 mai 2022, un nouvel automate Aseptic Technologies (Gembloux, Belgique) a été inauguré au CHU de Lille ; cet automate va permettre de développer une production de préparations standardisées stériles en séries de plusieurs centaines de flacons en COC par heure. La mise en place de cette production nécessite comme étapes préalables la

standardisation des doses des médicaments injectables entre les différents services de soins concernés et une anticipation des préparations qui nécessite elle-même d'avoir déterminé au préalable la date limite d'utilisation (DLU) de chaque préparation. Cette DLU est déterminée par la réalisation d'études de stabilité sur le long-terme. Le choix de cet automate a été influencé par les résultats positifs obtenus au cours des études de stabilité présentées dans ce travail de thèse. En effet, nos résultats ont montré que les flacons en COC commercialisés par Aseptic Technologies et remplis à l'aide de la ligne de remplissage automatisée M1 Filling Station conféraient une stabilité physico-chimique sur le long terme pour la dobutamine, l'insuline, la noradrénaline et le midazolam, supérieure à la stabilité des seringues en PP et une bonne inertie vis-à-vis des principes actifs et des excipients.

L'un des facteurs limitant de ce système de production réside dans le temps incompressible nécessaire pour conduire des études de stabilité sur le long terme. Une alternative a été apportée par l'industrie pharmaceutique et porte l'acronyme APS pour « accelerated predictive stability » ou études de stabilité prédictives en français ; il s'agit d'un outil semi-prédictif permettant d'extrapoler les données de stabilité obtenues sur une courte période, afin de prédire la date limite d'utilisation des formes injectables^[172]. Les APS sont généralement d'une durée d'un mois. Ces études portent sur la modélisation de l'évolution des concentrations du principe actif en fonction du temps et prennent en compte comme valeur explicatives de cette évolution des conditions environnementales telles que la température et l'humidité relative. L'une des limites des études APS est qu'elles ont tendance à se concentrer sur la dégradation chimique, ce qui peut ne pas être l'attribut limitant la durée de vie d'une formulation spécifique ; comme l'a montré la perte de la stabilité de la dobutamine 10 mg/mL à $-20\pm 5^{\circ}\text{C}$ dans des seringues dans notre étude^[120].

D'autres attributs indiquant la stabilité doivent donc être également pris en compte et étudiés, par exemple, la coloration des solutions, la contamination par des particules subvisibles, le changement de pH ou la croissance microbienne. Les résultats d'une enquête portée par le Consortium international pour l'innovation et la qualité dans le développement pharmaceutique (International Consortium for Innovation and Quality in Pharmaceutical Development (IQ)) montrent que certaines industries pharmaceutiques ont signalé avoir modélisé la stabilité physique par mesure de la dureté, du pH, et les changements de forme^[173]. La formation d'hydrates et la perte de solvates a par exemple été modélisée par Clancy *et al*^[174]. Bien que les études APS ne soient pas actuellement couvertes par des recommandations ICH ou par des directives d'autorités réglementaires spécifiques, les applications des études APS se développent et des expériences réglementaires de Pfizer ou

Astra Zeneca concernant l'utilisation de la stabilité prédictive ont été publiées récemment et fournissent un exemple de méthodologie à suivre^[175-177].

Ces études APS ne peuvent aujourd'hui remplacer les études de stabilité au long cours qui demeurent les études en situation réelle. De ce fait, il est vraisemblable que pour minimiser les coûts des études de stabilité, afin d'estimer la stabilité au long cours, les études APS seront réalisées dans un premier temps. Une fois, cette estimation réalisée, une étude de stabilité pourra être menée en minimisant les dosages et donc en réduisant les coûts de préparation et de dosage de cette étude au long cours. Le fait de pouvoir faire ces études plus rapidement et de manière moins onéreuse va dans le sens d'un accroissement de la centralisation des préparations au sein des hôpitaux français.

Cette centralisation est déjà bien répandue dans certains autres pays et les travaux suivants de stabilités montrent que cette technique est prometteuse^[178].

De plus, dans le contexte écologique actuel, il est important de mentionner que la fabrication de formes injectables prêtes à l'emploi revêt un enjeu particulier. À l'heure où les activités sont mesurées à l'aune du coût des matières premières et de l'énergie (exprimée en CO₂ émis) consommée pour la fabrication, la livraison et la destruction des déchets produits, la réduction de cette énergie consommée s'avère un réel enjeu. En effet, les émissions en CO₂ du secteur de la santé représentent plus de 7,5% des émissions françaises. L'approvisionnement de médicaments représente une part majeure des émissions de gaz à effet de serre du secteur de la santé^[179]. La mise en place des mesures de décarbonation concrètes est primordiale. La production de médicaments injectables à partir de poudres de référence à l'échelle d'un CHU permettrait de faire des économies importantes d'émissions de gaz à effet de serre. Cette activité permettrait de réduire :

- 1) L'impact du transport sur l'émission de CO₂ ; en effet, le transport de poudres demande un coût de transport moindre que le transport de palettes de spécialités commerciale, contenant la même masse de poudre, surtout lorsque les excipients principaux sont produits localement (eau pour préparations injectables, par exemple)
- 2) La masse de déchets ; il est possible de supprimer en interne au CHU les conditionnements secondaires en carton dans un certain nombre de situations, notamment si le conditionnement primaire est totalement clos, comme le flacons COC étudié dans ce travail de thèse.
- 3) Le nombre de conditionnements primaires non recyclés ; la pharmacie discute actuellement avec des verriers français pour essayer de mettre en place un recyclage du verre. Cette action est compliquée car nous ne savons pas réellement

ce qui est fourni par les industriels. La production avec des flacons de type I, estampillés « CHU » par exemple, permettrait de mettre en place des chaînes de lavage pour plusieurs cycles et d'ensuite de les renvoyer chez les verriers pour être refondus et réutilisés soit dans cette filière soit dans une autre.

2. Optimiser l'adaptation posologique à l'aide de l'approche populationnelle.

Une autre étape importante est la sécurisation de l'adaptation posologique. En France, un scepticisme persiste quant aux avantages de l'approche populationnelle et entrave probablement en partie son application généralisée en soins cliniques. Cependant, cette approche a montré depuis plusieurs années son impact bénéfique sur la sécurisation des soins. Il est probable qu'un des freins à son expansion soit les prérequis mathématiques et informatiques nécessaires, qui ne font pas partie de la formation commune médicale en France. Un autre frein est probablement lié au principe même de la modélisation probabiliste, chaque résultat obtenu à l'aide d'un modèle est associé à une incertitude de survenue de l'évènement prédit ; par ailleurs il est possible qu'un grand nombre de facteurs, non identifiés ou non inclus dans les modèles puissent influencer l'évolution des concentrations modélisées. Enfin, il peut sembler éloigné de la clinique le fait de réduire le vivant à une stricte représentation sous forme de compartiments alors que cette simplification mathématique permet souvent d'expliquer des phénomènes complexes tel que celui la cinétique de l'acide tranexamique lors de l'hémorragie de la délivrance, développé dans ce travail.

Il n'existe pas à ce jour de référentiel français sur la méthodologie et l'interprétation des études par approches populationnelles. La FDA a actualisé récemment ses recommandations datant initialement de 1999, destinées à l'industrie pharmaceutique^[180]. En 2007, l'EMA a donné des indications succinctes sur le rapport des résultats d'analyses populationnelles à présenter dans le cadre du développement des médicaments^[181], mais aucune recommandation pour conduire les études populationnelles.

Les impacts cliniques et économiques de l'application de l'approche populationnelle en routine n'ont pas fait l'objet d'études méthodologiquement robustes (contrôlées et randomisées) dans la littérature. En revanche, les bénéfices clinique et économique du STP et de l'individualisation thérapeutique sont décrits dans la littérature. L'influence du STP sur l'augmentation de l'efficacité et la réduction de la toxicité imputable à certains antibiotiques (notamment la vancomycine^[182] et les aminosides^[183]) ou encore aux immunosuppresseurs^[184] a été démontrée par le passé. Certaines équipes ont poussé le raisonnement jusqu'à se demander si l'intervention était coût-efficace, c'est-à-dire si elle permettait d'obtenir davantage d'économies qu'elle n'engendrait de dépenses ; les résultats

ont montré une diminution des coûts liés à l'absence de prise en charge d'une néphrotoxicité pour la vancomycine et les aminosides^[185-187] ; à l'inverse, pour les patients pour lesquels le risque de toxicité est plus faible, les bénéfices attendus du suivi thérapeutique sont plus modestes^[185].

Pour le TXA, le bénéfice clinique attendu au terme de notre étude est une diminution du volume et/ou de la durée de saignement, avec une diminution de la morbi mortalité chez les patientes présentant une hémorragie per césarienne. Le risque de neurotoxicité du TXA est probablement faible aux doses recommandées dans l'hémorragie per-partum ; en effet les crises épileptiques imputables à ce principe actif n'ont été objectivées que pour des fortes doses de TXA, administrées en chirurgie cardiaque notamment ; cependant, rien n'exclut le fait que ces doses soient nécessaires pour contrôler certaines hémorragies.

La proposition d'adaptation posologique d'un médicament nécessite la détermination d'une fenêtre thérapeutique et donc qu'un critère pharmacodynamique puisse être relié à la pharmacocinétique du médicament, ce qui n'est malheureusement pas le cas dans le travail présenté dans cette thèse car, à l'heure actuelle, aucun marqueur de l'efficacité du TXA en situation d'hémorragie n'a pu être mis en évidence dans les études publiées.

L'enjeu de la détermination d'une fenêtre thérapeutique et d'une relation PKPD pour le TXA administré par voie IV dans l'hémorragie per-césarienne pourrait être économique, car la durée d'hospitalisation et la prise en charge des complications dans les suites de l'hémorragiques pourraient être impactées par le choix du bon schéma thérapeutique ; en effet, l'HPP entraîne pour certaines patientes une prise en charge réanimatoire. Enfin, l'enjeu est intellectuel, car de nombreux cliniciens se posent la question de la stratégie thérapeutique à employer concernant le TXA et les critères d'efficacité de celui-ci ; en tant que clinicien, prendre une décision sans connaître le meilleur choix selon l'evidence-based medicine provoque un sentiment d'incertitude.

Dans le cadre de ce travail de thèse, nos résultats ont montré que la clairance rénale estimée selon la formule de Cockroft et Gault et le poids réel mesuré avant grossesse avaient un impact sur la variabilité interindividuelle des paramètres pharmacocinétiques du TXA ; cependant l'impact de ces variables sur l'efficacité du traitement dépend de la fenêtre thérapeutique du TXA et ne peut donc être discutée à l'heure actuelle.

Ainsi, tant que la relation entre un critère PK et un critère PD d'efficacité du TXA n'a pas été établie. Nous avons déjà essayé de modéliser la pharmacodynamie du TXA à l'aide de notre base de données, cependant, aucune relation entre un critère pharmacodynamique et la modélisation pharmacocinétique n'a pu être établi et nos investigations sont encore en

cours. Le choix des paramètres d'effets à tester s'est porté sur le volume de saignement par intervalles de temps, le débit de saignement, les D-dimères, les complexes plasmine- α 2-antiplasmine et les paramètres du « Simultaneous Thrombin and Plasmin Generation Assay » (SGTPA), en français, le test de génération simultanée de thrombine et de plasmine. Le test SGTPA permet de mesurer les paramètres relatifs à la génération de plasmine d'une part et les paramètres relatifs à la génération de thrombine d'autre part^[188].

Pour la suite des travaux menés sur ce sujet, les patientes incluses dans l'étude seront classées en fonction de critères de gravité clinique, de profondeur de la fibrinolyse, de marqueurs de la génération de plasmine, et les données seront analysées afin de définir la relation PKPD du TXA et de déterminer la fenêtre thérapeutique du TXA.

Au travers de ce travail de thèse, nous avons entraperçu l'application que l'approche populationnelle pouvait avoir en clinique. En pratique, il est fréquent que les études d'approche populationnelle donnent lieu à des nomogrammes décisionnels^[189] ; cependant, certaines équipes de pharmacologie ont développé des outils d'adaptation posologiques sous forme d'e-applications, qui fournissent une représentation graphique des prédictions en fonction du modèle codé et des paramètres du patient concerné. Ces outils ont l'intérêt d'être plus précis et didactiques que les nomogrammes.

Parmi les outils informatiques d'approche populationnelle disponibles sur le marché, seul Pmetrics est associé avec un outil d'adaptation posologique adaptable en routine ; il s'agit de l'application BestDose^[190] (<http://www.lapk.org/bestdose.php>).

Les autres outils d'approche populationnelle informatiques NONMEM, ADAPT, PHOENIX, et MONOLIX, ne possèdent pas de programme d'adaptation clinique associés et permettent uniquement la construction des modèles. Les modèles construits dans Monolix peuvent cependant être exploités via le logiciel R et les packages mlxR et shiny (et similaires) pour produire des applications simulant les prédictions pour des patients donnés. Cette possibilité sera utilisée au CHU de Lille si nous arrivons à développer le STP.

Dans notre travail, nous avons initialement choisi de travailler avec le logiciel Monolix. Cependant, plusieurs choses différencient les logiciels Monolix et Pmetrics ; Monolix utilise l'algorithme SAEM, c'est une interface conviviale, ergonomique, et fait appel à une approche paramétrique ; Pmetrics utilise l'algorithme NPAG, nécessite la maîtrise du logiciel R et du langage de programmation R et fait appel à une approche non paramétrique^[191].

Dans l'approche non paramétrique, la forme de la distribution des données est déterminée uniquement par les données elles-mêmes, et non par une équation. Cette approche ne génère aucune hypothèse sur les distributions sous-jacentes des paramètres.

Elle attribue une probabilité à chaque valeur de paramètre dans la population en fonction de la fréquence de d'occurrence. Elle permet de détecter des sous-populations différentes de manière inattendue. En revanche, cette approche est plus difficile à conceptualiser. Dans la suite de nos travaux, nous utiliserons Pmetrics pour modéliser la PK du TXA et vérifier la cohérence des résultats avec ceux fournis par Monolix.

Afin de rendre accessible à la compréhension des cliniciens du concept de pharmacocinétique populationnelle, les résultats du TXA, nous avons travaillé sur l'élaboration d'une application pour expliquer la variation de la pharmacocinétique du TXA chez les patientes en fonction de leurs caractéristiques anthropométriques. Le CHU de Lille ne dispose pas à ce jour d'équipe spécialisée dans l'adaptation posologique et dans la pharmacocinétique appliquée à la clinique. Les compétences acquises au travers de ce travail sont une première pierre pour la construction d'une nouvelle activité visant à sécuriser l'utilisation des médicaments à risque chez les populations fragiles.

3. Autres moyens de sécurisation des médicaments injectables à risque

Notre étude des moyens pour sécuriser la prise en charge médicamenteuses des populations fragiles n'est pas exhaustive ; la sécurisation de la préparation et l'apport potentiel de la modélisation dans l'adaptation posologique des médicaments injectables ne doit être réalisée en complément de la sécurisation des prescriptions par exemple ; la mise en place de logiciels d'aide à la prescription, la présence d'un pharmacien clinicien et d'une validation pharmaceutique des prescriptions ont montré leur efficacité pour sécuriser l'étape de prescription dans les services de soins critiques. Par ailleurs, l'étape de délivrance des médicaments est également primordiale car un délai trop important imputable à un problème logistique est susceptible d'entraîner un retard de prise en charge du patient. En ce sens, l'automatisation du circuit des médicaments et l'interconnexion des logiciels composant le système d'information de la pharmacie doivent être développés pour assurer la continuité de la prise en charge du patient.

Concernant la sécurisation des médicaments injectables, cette thèse n'a pas abordé les problématiques liées à l'étape d'administration à proprement parler. Il est essentiel de travailler à l'optimisation des montages de lignes de perfusion, la prise en compte des incompatibilités médicamenteuses et contenant-contenu, notamment en services de soins critiques au sein desquels les équipes sont parfois contraintes d'administrer plusieurs médicaments à risque sur une même ligne de perfusion.

Enfin, il ne faut pas sous-estimer les problématiques d'hygiène liées à la manipulation des médicaments injectables lors de la préparation et de l'administration des médicaments

injectables. La lutte contre les infections nosocomiales et notamment les infections sur cathéter est un combat quotidien dans les services de soins critiques.

Tout système est perfectible et il relève du rôle de pharmacien clinicien d'identifier les problématiques majeures pour optimiser la prise en charge médicamenteuse des patients fragiles dans les services de soins critiques.

BIBLIOGRAPHIE

1. National Coordinating Council for Medication Error Reporting and Prevention. About Medication Errors. Disponible sur: <http://www.nccmerp.org/about-medication-errors>
2. Société française de pharmacie clinique. Dictionnaire français de l'erreur médicamenteuse. 1^{re} éd. Paris: Société française de pharmacie clinique; 2006.
3. Direction de l'évaluation des médicaments et des produits biologiques de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (AFSSAPS). Guichet Erreurs Médicamenteuses : Présentation et bilan depuis la mise en place. 2009;23. Disponible sur: https://solidarites-sante.gouv.fr/IMG/pdf/GUICHET_EM.pdf
4. Article R5121-152. Code de la Santé Publique. Disponible sur: www.legifrance.gouv.fr
5. World Health Organization. Patient Safety Curriculum Guide - Multi professional Edition - French version. 2011;
6. Otero MJ, Schmitt E. Clarifying Terminology for Adverse Drug Events. *Ann Intern Med* 2005 ;142(1):77.
7. Brennan TA, Leape LL, Laird NM, Hebert L, Localio AR, Lawthers AG, et al. Incidence of Adverse Events and Negligence in Hospitalized Patients. *New England Journal of Medicine* 1991 ;324(6):370-6.
8. Leape LL, Brennan TA, Laird N, Lawthers AG, Localio AR, Barnes BA, et al. The nature of adverse events in hospitalized patients. Results of the Harvard Medical Practice Study II. *N Engl J Med* 1991;324(6):377-84.
9. Bates DW, Cullen DJ, Laird N, Petersen LA, Small SD, Servi D, et al. Incidence of adverse drug events and potential adverse drug events. Implications for prevention. ADE Prevention Study Group. *JAMA* 1995;274(1):29-34.
10. Michel P, Lathelize M, Quenon JL, Bru-Sonnet R, Domecq S, Kret M. Comparaison des deux Enquêtes Nationales sur les Événements Indésirables graves associés aux Soins menées en 2004 et 2009. Rapport final à la DREES (Ministère de la Santé et des

Sports). 2011; Disponible sur: <https://drees.solidarites-sante.gouv.fr/sites/default/files/2020-10/dt109.pdf>

11. Michel P, Quenon JL, Daucourt, Burdet S, Hoarau D, Klich A, et al. Incidence des évènements indésirables graves associés aux soins dans les établissements de santé (ENEIS 3) : quelle évolution dix ans après ? Bulletin épidémiologique hebdomadaire 2022;(13):229-37.
12. Haute Autorité de Santé (HAS). Outils de sécurisation et d'autoévaluation de l'administration des médicaments. 2013. Disponible sur : https://www.has-sante.fr/jcms/c_946211/fr/outils-de-securisation-et-d-autoevaluation-de-l-administration-des-medicaments
13. Aitken ML, Gorokhovich L. Advancing the Responsible Use of Medicines: Applying Levers for Change. IMS Institute for Healthcare Informatics; 2012.
14. Donaldson LJ, Kelley ET, Dhingra-Kumar N, Kieny MP, Sheikh A. Medication Without Harm: WHO's Third Global Patient Safety Challenge. The Lancet 2017 ;389(10080):1680-1.
15. Sheikh A, Dhingra-Kumar N, Kelley E, Kieny MP, Donaldson LJ. The third global patient safety challenge: tackling medication-related harm. Bull World Health Organ [Internet] 2017 ;95(8):546-546A.
16. Reason J. Human error: models and management. BMJ 2000 [cité 2022 juin 27];320(7237):768-70.
17. Syrowatka A, Song W, Amato MG, Foer D, Edrees H, Co Z, et al. Key use cases for artificial intelligence to reduce the frequency of adverse drug events: a scoping review. The Lancet Digital Health 2022;4(2):e137-48.
18. Slight SP, Tolley CL, Bates DW, Fraser R, Bigirumurame T, Kasim A, et al. Medication errors and adverse drug events in a UK hospital during the optimisation of electronic prescriptions: a prospective observational study. The Lancet Digital Health 2019;1(8):e403-12.
19. Haute Autorité de Santé (HAS). Référentiel fonctionnel de certification des logiciels hospitaliers d'aide à la prescription. 2021.

20. Jaam M, Naserallah LM, Hussain TA, Pawluk SA. Pharmacist-led educational interventions provided to healthcare providers to reduce medication errors: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2021 ;16(6):e0253588.
21. Kaushal R, Bates DW, Abramson EL, Soukup JR, Goldmann DA. Unit-based clinical pharmacists' prevention of serious medication errors in pediatric inpatients. *American Journal of Health-System Pharmacy* 2008 ;65(13):1254-60.
22. Marcilly R, Colliaux J, Robert L, Pelayo S, Beuscart JB, Rousselière C, et al. Improving the usability and usefulness of computerized decision support systems for medication review by clinical pharmacists: A convergent, parallel evaluation. *Res Social Adm Pharm* 2022;S1551-7411(22)00278-9.
23. Rich DS, Fricker MP, Cohen MR, Levine SR. Guidelines for the Safe Preparation of Sterile Compounds: Results of the ISMP Sterile Preparation Compounding Safety Summit of October 2011. *Hosp Pharm* 2013;48(4):282-94.
24. Hecq JD. Centralized intravenous additive services (CIVAS): the state of the art in 2010. *Ann Pharm Fr* 2011;69(1):30-7.
25. Weingart SN, Wilson RM, Gibberd RW, Harrison B. Epidemiology of medical error. *BMJ* 2000;320(7237):774-7.
26. Arrêté relatif au management de la qualité de la prise en charge médicamenteuse et aux médicaments dans les établissements de santé [Internet]. 2011 [cité 2021 sept 2]. Disponible sur: www.legifrance.gouv.fr
27. High-Alert Medications in Acute Care Settings [Internet]. Institute For Safe Medication Practices; 2018 [cité 2021 sept 2]. Disponible sur: www.ismp.org/MERP
28. Clinical Excellence Commission. High-Risk Medicines Management [Internet]. Government of New South Wales; 2020 [cité 2022 juin 27]. Disponible sur: <https://www1.health.nsw.gov.au>
29. Federico F. Preventing Harm from High-Alert Medications. *The Joint Commission Journal on Quality and Patient Safety* [Internet] 2007 [cité 2022 juin 27];33(9):537-42. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1553725007330572>

30. Raju TN, Kecskes S, Thornton JP, Perry M, Feldman S. Medication errors in neonatal and paediatric intensive-care units. *Lancet* 1989;2(8659):374-6.
31. Vincer MJ, Murray JM, Yuill A, Allen AC, Evans JR, Stinson DA. Drug errors and incidents in a neonatal intensive care unit. A quality assurance activity. *Am J Dis Child* 1989;143(6):737-40.
32. Simpson JH, Lynch R, Grant J, Alroomi L. Reducing medication errors in the neonatal intensive care unit. *Archives of Disease in Childhood - Fetal and Neonatal Edition* 2004 ;89(6):F480-2.
33. Stavroudis TA, Shore AD, Morlock L, Hicks RW, Bundy D, Miller MR. NICU medication errors: identifying a risk profile for medication errors in the neonatal intensive care unit. *J Perinatol* 2010;30(7):459-68.
34. Eslami K, Aletayeb F, Aletayeb SMH, Kouti L, Hardani AK. Identifying medication errors in neonatal intensive care units: a two-center study. *BMC Pediatr* 2019;19(1):365.
35. Krzyzaniak N, Bajorek B. Medication safety in neonatal care: a review of medication errors among neonates. *Ther Adv Drug Saf* 2016;7(3):102-19.
36. Fortescue EB, Kaushal R, Landrigan CP, McKenna KJ, Clapp MD, Federico F, et al. Prioritizing strategies for preventing medication errors and adverse drug events in pediatric inpatients. *Pediatrics* 2003;111(4 Pt 1):722-9.
37. Sorrentino E, Alegiani C. Medication errors in the neonate. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2012;25 Suppl 4:91-3.
38. Campino A, Lopez-Herrera MC, Lopez-de-Heredia I, Valls-i-Soler A. Educational strategy to reduce medication errors in a neonatal intensive care unit. *Acta Paediatr* 2009;98(5):782-5.
39. Brennan T, Leape L, Laird N, Hebert L, Localio A, Lawthers A, et al. Incidence of adverse events and negligence in hospitalized patients: results of the Harvard Medical Practice Study I*. *Qual Saf Health Care* 2004 ;13(2):145-52.
40. Kaushal R, Bates DW, Landrigan C, McKenna KJ, Clapp MD, Federico F, et al. Medication errors and adverse drug events in pediatric inpatients. *JAMA* 2001;285(16):2114-20.

41. Conroy S, McIntyre J. The use of unlicensed and off-label medicines in the neonate. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine* [Internet] 2005 [cité 2021 juill 5];10(2):115-22. Disponible sur: [https://www.sfnmjournals.com/article/S1744-165X\(04\)00082-4/abstract](https://www.sfnmjournals.com/article/S1744-165X(04)00082-4/abstract)
42. Conroy S. Association between licence status and medication errors. *Arch Dis Child* 2011;96(3):305-6.
43. Besunder JB, Reed MD, Blumer JL. Principles of drug biodisposition in the neonate. A critical evaluation of the pharmacokinetic-pharmacodynamic interface (Part I). *Clin Pharmacokinet* 1988;14(4):189-216.
44. Besunder JB, Reed MD, Blumer JL. Principles of drug biodisposition in the neonate. A critical evaluation of the pharmacokinetic-pharmacodynamic interface (Part II). *Clin Pharmacokinet* 1988;14(5):261-86.
45. Carvalho CG, Ribeiro MR, Bonilha MM, Fernandes M, Procianoy RS, Silveira RC. Use of off-label and unlicensed drugs in the neonatal intensive care unit and its association with severity scores. *J Pediatr (Rio J)* 2012;88(6):465-70.
46. Franke HA, Woods DM, Holl JL. High-alert medications in the pediatric intensive care unit. *Pediatr Crit Care Med* 2009;10(1):85-90.
47. Pawluk S, Jaam M, Hazi F, Al Hail MS, El Kassem W, Khalifa H, et al. A description of medication errors reported by pharmacists in a neonatal intensive care unit. *Int J Clin Pharm* 2017;39(1):88-94.
48. Basagoiti AD, Fernández A, Mendiola S, Miguel MD, Guerra E, Loureiro B, et al. Intravenous drug use in neonatal intensive care units. *Eur J Hosp Pharm* [Internet] 2021 [cité 2022 juin 24];28(6):341-5.
49. Miller LE, DeRienzo C, Smith PB, Bose C, Clark RH, Cotten CM, et al. Association between neonatal intensive care unit medication safety practices, adverse events, and death. *J Perinatol* 2021;41(7):1739-44.
50. De Giorgi I, Fonzo-Christe C, Cingria L, Caredda B, Meyer V, Pfister RE, et al. Risk and pharmacoeconomic analyses of the injectable medication process in the paediatric and neonatal intensive care units. *International Journal for Quality in Health Care* 2010;22(3):170-8.

51. Morin P, Guillois B, Gloanec L, Chatelier N, Saint-Lorant G. Professional practice evaluation of injectable drug preparation and administration in neonatology. *Arch Pediatr* 2017;24(9):795-801.
52. Campino A, Sordo B, Pascual Pi, Arranz C, Santesteban E, Unceta M, et al. Intravenous medicine preparation technique training programme for nurses in clinical areas. *Eur J Hosp Pharm* 2018 ;25(6):298-300.
53. Campino A, Santesteban E, Garcia M, Rueda M, Valls-I-Soler A. Intravenous drug preparation errors in a Neonatal Intensive Care Unit. A potential source of adverse events. *An Pediatr (Barc)* 2013;79(1):21-5.
54. Campino A, Arranz C, Unceta M, Rueda M, Sordo B, Pascual P, et al. Medicine preparation errors in ten Spanish neonatal intensive care units. *Eur J Pediatr* 2016;175(2):203-10.
55. Feutry F, Exquis A, Falaschi L, Guichard N, Odou P, Bonnabry P, et al. Evaluation d'un nouveau système de contrôle qualité des chimiothérapies par spectrophotométrie UV-visible (DrugLog®) [Internet]. Congrès GERPAC, Hyères, France: 2015
56. Lassalle A, Galvez D, Renard PY, Blandin M, Froger S, Cormier N. 3PC-022 Performances' evaluation of a new quality control system: the spectrophotometer druglog. *Eur J Hosp Pharm* 2018;25(Suppl 1):A33-4.
57. Vallecillo T, Marechal A, Burde F, Hettler D. 000096 - Évaluation d'un appareil de dosage par spectrophotométrie Druglog® pour la qualification du personnel dans une unité de préparation des chimiothérapies. Congrès Hopipharm, Bordeaux, France: 2018.
58. Witter B, Kock-Hauser C, Liekweg A. Examination of a new method for analysing identity and concentration of drugs in ready-to-use preparations – proof of concepts of the DrugLog® system [Internet]. Congrès EAHP, Gothenburg, Suède, 2020.
59. Larsson A, Lipcsey M, Dahlin H, Andersson M. Evaluation of Automated Determination of Bilirubin and Oxyhemoglobin in Cerebrospinal Fluid Using the DrugLog© Instrument. *Clin Lab* 2020;66(11).
60. Hennache T. Evaluation clinique d'un nouvel automate destiné au contrôle des préparations parentérales au bloc opératoire et en soins intensifs. 2017;

61. DrugLog™ - Hospital Pharmacy Compounding [Internet]. Pharmacolog [cité 2022 oct 1]; Disponible sur: <https://pharmacolog.com/fr/nos-solutions/druglog/>
62. Hubert Ph, Nguyen-Huu JJ, Boulanger B, Chapuzet E, Chiap P, Cohen N, et al. Harmonization of strategies for the validation of quantitative analytical procedures: A SFSTP proposal – Part II. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2007;45(1):70-81.
63. Max F. Chapitre 5 : Etalonnage d'une méthode. In: *Labo-Stat : Guide de validation des méthodes d'analyse*. 2009.
64. Direction Européenne de la Qualité du Médicament & Soins de Santé. Monographie 2.9.6 - Uniformité de teneur des préparations unidoses. In: *Ph. Eur édition 10.8*. Strasbourg: 2022.
65. Kim S, Chen J, Cheng T, Gindulyte A, He J, He S, et al. PubChem in 2021: new data content and improved web interfaces. *Nucleic Acids Research* 2021;49(D1):D1388-95.
66. Société Française de Pharmacie Clinique, Groupe d'Evaluation et de Recherche sur la Protection en Atmosphère Contrôlée. Partie 1 : Préparations Liquides. Guide méthodologique des études de stabilité des préparations. 2013. Disponible sur : <https://www.gerpac.net/plateforme/course/view.php?id=8>
67. Foinard A, Décaudin B, Simon N, Barthélémy C, Storme L, Odou P. Vancomycin syringe study shows significant reduction in dosing variability after introducing a revised protocol. *Acta Paediatr* 2014 ;103(3):e93-4.
68. Garrigue B, Dehu Y, Girault F, Figadère B, Leblanc K, Briole N, et al. Preparing Drugs for Infusion Via Syringe Pump: A Key Step to Ensure Homogeneous Concentration. *Critical Care Nurse [Internet]* 2016 [cité 2022 juin 19];36(4):36-44. Disponible sur: <https://doi.org/10.4037/ccn2016756>
69. Girault F, Garrigue B, Dehu Y, Lejan A, Laborne FX, Leblanc K, et al. Doit-on remettre en cause le mode de préparation des seringues électriques d'adrénaline et de noradrénaline ? [Internet]. In: *Congrès SRLF, Paris, France*. Paris: 2011 [cité 2022 juin 20]. page 247-50. Disponible sur: <https://doi.org/10.1007/s13546-010-0206-y>

70. Benkhadra M, Rivory JC, Wessels C, Guerard P, Vadot L, Astruc K, et al. Accuracy in obtaining 100 µg from 10 mg of morphine for spinal anesthesia. *Journal of Clinical Anesthesia* 2015;27(8):638-45.
71. Teunissen AJW, Koning MV, Ruijgrok EJ, Liefers WJ, de Bruijn B, Koopman SA. Measurement of drug concentration and bacterial contamination after diluting morphine for intrathecal administration: an experimental study. *BMC Anesthesiol* 2020;20(1):244.
72. Baker AR, Rutherford DM, Myles PS. Accuracy of Dilution of Morphine for Intrathecal Use. *Anaesth Intensive Care* 2007;35(3):378-81.
73. De Giorgi I. Sécurité de préparation et d'administration des médicaments aux soins intensifs de pédiatrie et en néonatalogie. Thèse de Doctorat. Université de Genève 2009;
74. Rios C, Vialet R, Dosmas C, Loundou A, Michel F. Comparing Three Methods for Dilution Accuracy of Intravenous Preparations. *J Perianesth Nurs* 2016;31(2):113-7.
75. Direction Européenne de la Qualité du Médicament & Soins de Santé. Monographie Générale 0520 - Préparations parentérales. In: Ph. Eur. Strasbourg: 2022.
76. Direction Européenne de la Qualité du Médicament & Soins de Santé. Monographie 5.17.2 - Recommandations relatives à l'essai de contamination particulière : particules visibles. In: Ph. Eur. édition 10.8. Strasbourg: 2022.
77. Direction Européenne de la Qualité du Médicament & Soins de Santé. Monographie 2.6.1 - Stérilité. In: Ph. Eur. édition 10.8. Strasbourg:
78. Stabilis 4.0 [Internet]. [cité 2022 mai 16]; Disponible sur: <https://www.stabilis.org/>
79. Trissel LA. Handbook on injectable drugs. 14^e éd. Bethesda; 2017.
80. Allwood MC. Practical guides. I: Central intravenous additive services. *J Clin Pharm Ther* 1994;19(3):137-45.
81. Curtis C, Sacks GS. Compounding Parenteral Nutrition: Reducing the Risks. *Nutrition in Clinical Practice* 2009 ;24(4):441-6.
82. Tallett ER. Centralized intravenous admixture program for nine British hospitals. *Am J Hosp Pharm* 1978;35(2):163-5.

83. Schneider PJ. Review of the justification for pharmacy parenteral admixture preparation. *Hosp Pharm* 1981;16(9):476, 478-9, 484.
84. Recommended guidelines for quality assurance in hospital centralized intravenous admixture services. National Coordinating Committee on Large Volume Parenterals. *Am J Hosp Pharm* 1980;37(5):645-55.
85. Anderson M, Brassington D, Bolger J. Development and operation of a pharmacy-based intravenous cytotoxic reconstitution service. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1983;286(6358):32-6.
86. Fransman W, Vermeulen R, Kromhout H. Dermal exposure to cyclophosphamide in hospitals during preparation, nursing and cleaning activities. *Int Arch Occup Environ Health* 2005;78(5):403-12.
87. Selevan SG, Lindbohm ML, Hornung RW, Hemminki K. A study of occupational exposure to antineoplastic drugs and fetal loss in nurses. *N Engl J Med* 1985;313(19):1173-8.
88. Vrignaud S. Resolution CM/Res(2016)2 and Centralised Intra Venous Additive Services (CIVAS): Challenges and Opportunities. *Pharmaceutical Technology in Hospital Pharmacy* 2017;2(3):137-42.
89. Larmené-Beld KHM, Spronk JT, Luttjeboer J, Taxis K, Postma MJ. A Cost Minimization Analysis of Ready-to-Administer Prefilled Sterilized Syringes in a Dutch Hospital. *Clin Ther* 2019;41(6):1139-50.
90. Fransman W, Roeleveld N, Peelen S, de Kort W, Kromhout H, Heederik D. Nurses with dermal exposure to antineoplastic drugs: reproductive outcomes. *Epidemiology* 2007;18(1):112-9.
91. Hon CY, Teschke K, Shen H, Demers PA, Venners S. Antineoplastic drug contamination in the urine of Canadian healthcare workers. *Int Arch Occup Environ Health* 2015;88(7):933-41.
92. *Am J Health-Syst Pharm. Guidelines on Handling Hazardous Drugs. Dans : Drug Distribution and Control : Preparation and Handling. 2018. page 20.*

93. Briot T, Vrignaud S, Lagarce F. Stability of micafungin sodium solutions at different concentrations in glass bottles and syringes. *Int J Pharm* 2015;492(1-2):137-40.
94. Pharmaceutical Inspection Convention and Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme. Pic/s - Guide to good practices for the preparation of medicinal products in healthcare establishments. 2009.
95. Institute for Safe Medication Practices (ISMP). ISMP Targeted Medication Safety Best Practices for Hospitals. 2022; Disponible sur: <https://www.ismp.org/guidelines/best-practices-hospitals>.
96. McKean L. Plastics Used in Medical Devices. In: *Handbook of Polymer Applications in Medicine and Medical Devices*. 2014. page 21-53.
97. Jung BN, Jung HW, Kang DH, Kim GH, Shim JK. A Study on the Oxygen Permeability Behavior of Nanoclay in a Polypropylene/Nanoclay Nanocomposite by Biaxial Stretching. *Polymers (Basel)* 2021;13(16):2760.
98. Lago WSR, Aymes-Chodur C, Ahoussou AP, Yagoubi N. Physico-chemical ageing of ethylene–norbornene copolymers: a review. *J Mater Sci* 2017 29];52(11):6879-904.
99. Agha A, Waheed W, Alamoodi N, Mathew B, Alnaimat F, Abu-Nada E, et al. A Review of Cyclic Olefin Copolymer Applications in Microfluidics and Microdevices. *Macromolecular Materials and Engineering* 2022 ;307(8):2200053.
100. Topas Advanced Polymer. Topas: Cyclic Olefin CoPolymer (COC) Packaging [Internet]. [cité 2016 avr 23]; Disponible sur: http://www.topas.com/sites/default/files/files/Packaging_E_2014-06.pdf
101. 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 Development and Industrial Pharmacy* [Internet] 2016 [cité 2019 mars 7];42(1):166-74. Disponible sur: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/03639045.2015.1038273>
102. M1 Filling Station. Aseptic Technologies - Safer & Easier Aseptic filling operations 2016 [cité 2022 sept 24]; Disponible sur: <https://www.aseptictech.com/products/m1-filling-station>

103. Verjans B. Using Closed-Vial Technology in Aseptic Filling. *Pharmaceutical Technology* 2012;36(5):s36-40.
104. Verjans B, Reed C. Assessing filling technologies for contamination risks. *International BioPharm* 2012;25:46-58.
105. Résumé des caractéristiques du produit - DOBUTAMINE MYLAN 250 mg/20 ml, solution à diluer pour perfusion - Base de données publique des médicaments [Internet]. [cité 2020 févr 14]; Disponible sur: <http://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/affichageDoc.php?specid=63149018&typedoc=R>
106. Résumé des caractéristiques du produit - MIDAZOLAM ACCORD 5 mg/ml, solution injectable - Base de données publique des médicaments [Internet]. [cité 2022 août 30]; Disponible sur: <https://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/affichageDoc.php?specid=68529120&typedoc=R>
107. Résumé des caractéristiques du produit - NORADRENALINE VIATRIS 2 mg/ml SANS SULFITES, solution à diluer pour perfusion - Base de données publique des médicaments [Internet]. [cité 2022 août 30]; Disponible sur: <https://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/affichageDoc.php?specid=65104648&typedoc=R>
108. Résumé des caractéristiques du produit - NOVORAPID 100 unités/ml, solution injectable [Internet]. [cité 2022 août 30]; Disponible sur: https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2021/20210922152960/anx_152960_fr.pdf
109. ICH Working Group. ICH (International Conference on Harmonisation), Harmonise tripartite guideline - Stability testing of new drug substances and products Q1A (R2), Step 4 version. [Internet]. 2003 [cité 2019 mars 2]. page 1041-54. Disponible sur: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q1A_R2/Step4/Q1A_R2__Guideline.pdf
110. Hubert Ph, Nguyen-Huu JJ, Boulanger B, Chapuzet E, Chiap P, Cohen N, et al. Harmonization of strategies for the validation of quantitative analytical procedures. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2004 ;36(3):579-86.
111. La Pharmacopée Européenne met à jour le contrôle de la contamination particulière dans les préparations pharmaceutiques [Internet]. Direction européenne de la qualité

du médicament & soins de santé [cité 2022 août 30]; Disponible sur: <https://www.edqm.eu/en/w/european-pharmacopoeia-updates-testing-for-particulate-contamination-in-pharmaceutical-preparations>

112. Direction Européenne de la Qualité du Médicament & Soins de Santé. Monographie 2.9.19 - Contamination particulaire : particules non visibles. In: Ph. Eur. édition 10.8. Strasbourg: 2022.
113. Direction Européenne de la Qualité du Médicament & Soins de Santé. Monographie 2.2.35 - Osmolalité. In: Ph. Eur. édition 10.8. Strasbourg:
114. Direction Européenne de la Qualité du Médicament & Soins de Santé. Monographie 2.2.3 - Détermination potentiométrique du pH. In: Ph. Eur. édition 10.8. Strasbourg: 2022.
115. Gilliot S, Masse M, Feutry F, Barthélémy C, Décaudin B, Genay S, et al. Long-term stability of ready-to-use 1-mg/mL midazolam solution. *Am J Health Syst Pharm* 2020;
116. Gilliot S, Masse M, Genay S, Lannoy D, Barthélémy C, Décaudin B, et al. Long-term stability of ready-to-use norepinephrine solution at 0.2 and 0.5 mg/mL. *Eur J Hosp Pharm* 2020;
117. Sautou-Miranda V, Gremeau I, Chamard I, Cassagnes J, Chopineau J. Stability of dopamine hydrochloride and of dobutamine hydrochloride in plastic syringes and administration sets. *Am J Health Syst Pharm* 1996;53(2):186, 193.
118. Pramdar Y, Das Gupta V, Gardner SN, Yau B. Stabilities of dobutamine, dopamine, nitroglycerin and sodium nitroprusside in disposable plastic syringes. *J Clin Pharm Ther* 1991;16(3):203-7.
119. Patel N, Taki M, Tunstell P, Forsey P, Forbes B. Stability of dobutamine 500 mg in 50 ml syringes prepared using a Central Intravenous Additive Service. *European Journal of Hospital Pharmacy: Science and Practice* [Internet] 2012 [cité 2020 févr 10];19(1):52-6. Disponible sur: <https://ejhp.bmj.com/content/19/1/52>
120. Gilliot S, Henry H, Carta N, Genay S, Barthélémy C, Décaudin B, et al. Long-term stability of 10 mg/mL dobutamine injectable solutions in 5% dextrose and normal saline solution stored in polypropylene syringes and cyclic-oleofin-copolymer vials. *Eur J Hosp Pharm* 2021 [cité 2021 nov 23];

121. Teska BM, Alarcón J, Pettis RJ, Randolph TW, Carpenter JF. Effects of Phenol and meta-Cresol Depletion on Insulin Analog Stability at Physiological Temperature. *Journal of Pharmaceutical Sciences* [Internet] 2014;103(8):2255-67. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022354915304597>
122. Tokhadzé N, Sahnoune M, Devémy J, Dequidt A, Goujon F, Chennell P, et al. Insulin Adsorption onto PE and PVC Tubings. *ACS Appl Bio Mater* [Internet] 2022;5(6):2567-75.
123. Henry H, Gilliot S, Genay S, Barthelemy C, Decaudin B, Odou P. Stability of 1-unit/mL insulin aspart solution in cyclic olefin copolymer vials and polypropylene syringes. *Am J Health Syst Pharm* 2021;zxab484.
124. Jelliffe R, Neely M, Bayard D. Chapter 7 - Pharmacokinetic methods for TDM data analysis and optimal individualization of drug dosage regimens [Internet]. In: Hempel G, éditeur. *Handbook of Analytical Separations*. Elsevier Science B.V.; 2020. page 135-68.
125. Bourguignon L, Goutelle S, Burdin De Saint Martin J, Guillermet A, Ducher M, Jelliffe R, et al. Modélisation Pharmacocinétique. In: *Bases rationnelles de la modélisation en thérapeutique*. Jacques André Editeur; 2008. page 39-84.
126. Yamaoka K, Nakagawa T, Uno T. Statistical moments in pharmacokinetics. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics* [Internet] 1978 [cité 2022 sept 24];6(6):547-58. Disponible sur: <https://doi.org/10.1007/BF01062109>
127. Cutler DJ. Definition of mean residence times in pharmacokinetics. *Biopharm Drug Dispos* 1987;8(1):87-97.
128. Riegelman S, Collier P. The application of statistical moment theory to the evaluation of in vivo dissolution time and absorption time. *J Pharmacokinet Biopharm* 1980;8(5):509-34.
129. Gabrielsson J, Weiner D. Non-compartmental analysis. *Methods Mol Biol* 2012;929:377-89.
130. Sheiner LB. The population approach to pharmacokinetic data analysis: rationale and standard data analysis methods. *Drug Metab Rev* 1984;15(1-2):153-71.

131. Akaike H. A new look at the statistical model identification. 1974;
132. Hurvich CM, Tsai CL. Model selection for extended quasi-likelihood models in small samples. *Biometrics* 1995;51(3):1077-84.
133. Schwarz G. Estimating the Dimension of a Model. *Ann Statist* [Internet] 1978 [cité 2019 juin 5];6(2):461-4. Disponible sur: <https://projecteuclid.org/euclid.aos/1176344136>
134. Delattre M, Lavielle M, Poursat MA. A note on BIC in mixed-effects models. *Electron J Statist* [Internet] 2014 [cité 2019 juin 11];8(1):456-75. Disponible sur: <http://projecteuclid.org/euclid.ejs/1399035845>
135. LeBarbier E, Mary-Huard T. Le critère BIC : fondements théoriques et interprétation. RR-5315, INRIA. 2004;
136. Gujarati DN. *Econométrie*. Editions de Boeck (4ème édition). 2015.
137. Nguyen THT, Mouksassi MS, Holford N, Al-Huniti N, Freedman I, Hooker AC, et al. Model Evaluation of Continuous Data Pharmacometric Models: Metrics and Graphics. *CPT: Pharmacometrics & Systems Pharmacology* 2017 ;6(2):87-109.
138. Mishra P, Pandey CM, Singh U, Gupta A, Sahu C, Keshri A. Descriptive Statistics and Normality Tests for Statistical Data. *Ann Card Anaesth* 2019;22(1):67-72.
139. Say L, Chou D, Gemmill A, Tunçalp Ö, Moller AB, Daniels J, et al. Global causes of maternal death: a WHO systematic analysis. *The Lancet Global Health* [Internet] 2014 [cité 2019 juin 7];2(6):e323-33.
140. Collège national des gynécologues et obstétriciens français. *Recommandations pour la pratique clinique. Les hémorragies du post-partum*. 2014;
141. Ducloy-Bouthors AS, Jude B, Duhamel A, Broisin F, Huissoud C, Keita-Meyer H, et al. High-dose tranexamic acid reduces blood loss in postpartum haemorrhage. *Crit Care* [Internet] 2011;15(2):R117.
142. Ducloy-Bouthors AS, Duhamel A, Kipnis E, Tournoys A, Prado-Dupont A, Elkalioubie A, et al. Postpartum haemorrhage related early increase in D-dimers is inhibited by tranexamic acid: haemostasis parameters of a randomized controlled open labelled trial. *Br J Anaesth* 2016;116(5):641-8.

143. Charbit B, Mandelbrot L, Samain E, Baron G, Haddaoui B, Keita H, et al. The decrease of fibrinogen is an early predictor of the severity of postpartum hemorrhage. *J Thromb Haemost* 2007;5(2):266-73.
144. Cortet M, Deneux-Tharoux C, Dupont C, Colin C, Rudigoz RC, Bouvier-Colle MH, et al. Association between fibrinogen level and severity of postpartum haemorrhage: secondary analysis of a prospective trial. *Br J Anaesth* 2012;108(6):984-9.
145. CRASH-2 trial collaborators, Shakur H, Roberts I, Bautista R, Caballero J, Coats T, et al. Effects of tranexamic acid on death, vascular occlusive events, and blood transfusion in trauma patients with significant haemorrhage (CRASH-2): a randomised, placebo-controlled trial. *Lancet* 2010;376(9734):23-32.
146. Liste modèle de l'OMS des médicaments essentiels . 17ème Liste (révision mars 2011) [Internet]. [cité 2019 juin 5]; Disponible sur: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/97642/a95968_fre.pdf;jsessionid=58362B0DD672EEAC9FE2668BFD453365?sequence=1
147. Myles PS, Smith JA, Forbes A, Silbert B, Jayarajah M, Painter T, et al. Tranexamic Acid in Patients Undergoing Coronary-Artery Surgery. *New England Journal of Medicine* 2017 ;376(2):136-48.
148. Shakur H, Roberts I, Fawole B, Chaudhri R, El-Sheikh M, Akintan A, et al. Effect of early tranexamic acid administration on mortality, hysterectomy, and other morbidities in women with post-partum haemorrhage (WOMAN): an international, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *The Lancet* [Internet] 2017 [cité 2019 juin 5];389(10084):2105-16. Disponible sur: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(17\)30638-4/abstract](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(17)30638-4/abstract)
149. Vogel JP, Oladapo OT, Dowswell T, Gülmezoglu AM. Updated WHO recommendation on intravenous tranexamic acid for the treatment of post-partum haemorrhage. *The Lancet Global Health* 2018;6(1):e18-9.
150. Stief T. Effect of tranexamic acid on mortality in patients with traumatic bleeding: Prespecified analysis of data from randomised controlled trial. Tranexamic acid might stop severe bleeding by intrinsic generation of thrombin. *BMJ* 2012;

151. Soslau G, Horrow J, Brodsky I. Effect of tranexamic acid on platelet ADP during extracorporeal circulation. *Am J Hematol* 1991;38(2):113-9.
152. Stief T. Tranexamic acid triggers thrombin generation. *Hemostasis Laboratory* 2009;(2):73-82.
153. Pilbrant Å, Schannong M, Vessman J. Pharmacokinetics and bioavailability of tranexamic acid. *Eur J Clin Pharmacol* [Internet] 1981 [cité 2019 juin 12];20(1):65-72. Disponible sur: <http://link.springer.com/10.1007/BF00554669>
154. Elkomy MH, Sultan P, Drover DR, Epshtein E, Galinkin JL, Carvalho B. Pharmacokinetics of Prophylactic Cefazolin in Parturients Undergoing Cesarean Delivery. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet] 2014 [cité 2021 nov 1];58(6):3504-13. Disponible sur: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/AAC.02613-13>
155. Ducloy-Bouthors AS, Jeanpierre E, Saidi I, Baptiste AS, Simon E, Lannoy D, et al. TRANexamic acid in hemorrhagic CESarean section (TRACES) randomized placebo controlled dose-ranging pharmacobiological ancillary trial: study protocol for a randomized controlled trial. *Trials* 2018;19.
156. Chan PLS, Jacqmin P, Lavielle M, McFadyen L, Weatherley B. The use of the SAEM algorithm in MONOLIX software for estimation of population pharmacokinetic-pharmacodynamic-viral dynamics parameters of maraviroc in asymptomatic HIV subjects. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* 2011 ;38(1):41-61.
157. Mlxtran Documentation and Language Reference [Internet]. Mlxtran [cité 2022 oct 8];Disponible sur: <https://mlxtran.lixoft.com/>
158. Gao M, Vilayur E, Ferreira D, Nanra R, Hawkins J. Estimating the glomerular filtration rate in pregnancy: The evaluation of the Nanra and CKD-EPI serum creatinine-based equations. *Obstet Med* 2021;14(1):31-4.
159. Picetti R, Shakur-Still H, Medcalf RL, Standing JF, Roberts I. What concentration of tranexamic acid is needed to inhibit fibrinolysis? A systematic review of pharmacodynamics studies. *Blood Coagul Fibrinolysis* [Internet] 2019;30(1):1-10.
160. Grassin-Delyle S, Semeraro M, Foissac F, Bouazza N, Shakur-Still H, Roberts I, et al. Tranexamic acid through intravenous, intramuscular and oral routes: an individual

participant data meta-analysis of pharmacokinetic studies in healthy volunteers. *Fundam Clin Pharmacol* 2019;

161. Grassin-Delyle S, Tremey B, Abe E, Fischler M, Alvarez JC, Devillier P, et al. Population pharmacokinetics of tranexamic acid in adults undergoing cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. *Br J Anaesth* 2013;111(6):916-24.
162. Grassin-Delyle S, Theusinger OM, Albrecht R, Mueller S, Spahn DR, Urien S, et al. Optimisation of the dosage of tranexamic acid in trauma patients with population pharmacokinetic analysis. *Anaesthesia* 2018;73(6):719-29.
163. Dowd NP, Karski JM, Cheng DC, Carroll JA, Lin Y, James RL, et al. Pharmacokinetics of Tranexamic Acid during Cardiopulmonary Bypass: *Anesthesiology* 2002;97(2):390-9.
164. Grassin-Delyle S, Tremey B, Abe E, Fischler M, Alvarez JC, Devillier P, et al. Population pharmacokinetics of tranexamic acid in adults undergoing cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. *British Journal of Anaesthesia* 2013 ;111(6):916-24.
165. Grassin-Delyle S, Semeraro M, Lamy E, Urien S, Runge I, Foissac F, et al. Pharmacokinetics of tranexamic acid after intravenous, intramuscular, and oral routes: a prospective, randomised, crossover trial in healthy volunteers. *British Journal of Anaesthesia* 2022.
166. Li S, Ahmadzia HK, Guo D, Dahmane E, Miszta A, Luban NLC, et al. Population pharmacokinetics and pharmacodynamics of Tranexamic acid in women undergoing caesarean delivery. *Br J Clin Pharmacol* 2021 ;87(9):3531-41.
167. Gilliot S, Ducloy-Bouthors AS, Hennart B, Loingeville F, Jeanne M, Lebuffe G, et al. Hypothesis for a partially non urinary elimination of tranexamic acid in haemorrhagic caesarean section: Traces pilot pharmacokinetic study: Pharmacokinetics of tranexamic acid in obstetrics. *Eur J Pharm Sci* 2020;153:105486.
168. Gilliot S, Ducloy-Bouthors AS, Loingeville F, Hennart B, Allorge D, Lebuffe G, et al. Pharmacokinetics of Curative Tranexamic Acid in Parturients Undergoing Cesarean Delivery. *Pharmaceutics* 2022 ;14(3):578.
169. Yaniv AW, Knoer SJ. Implementation of an i.v.-compounding robot in a hospital-based cancer center pharmacy. *Am J Health Syst Pharm* 2013;70(22):2030-7.

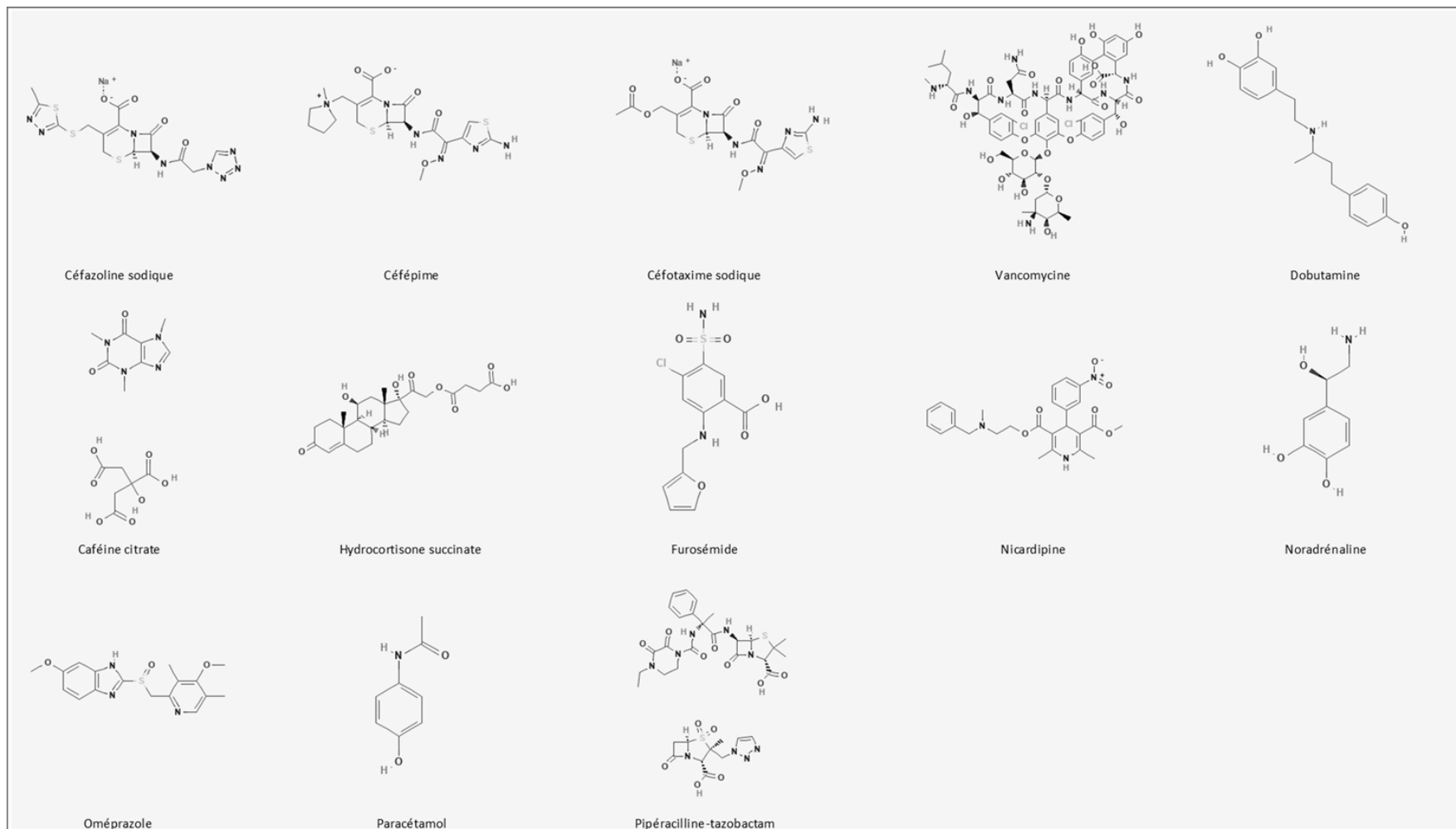
170. Nurgat Z, Faris D, Mominah M, Vibar A, Al-Jazairi A, Ewing S, et al. A three-year study of a first-generation chemotherapy-compounding robot. *Am J Health Syst Pharm* 2015;72(12):1036-45.
171. Deljehier T, Bouguéon G, Heloury J, Moreno V, Berroneau A, Crauste-Manciet S. Simulation program of a cytotoxic compounding robot for monoclonal antibodies and anti-infectious sterile drug preparation. *J Oncol Pharm Pract* 2019;25(8):1873-90.
172. Williams H. Predictive Stability Testing Utilizing Accelerated Stability Assessment Program (ASAP) Studies [Internet]. In: Bajaj S, Singh S, éditeurs. *Methods for Stability Testing of Pharmaceuticals*. New York, NY: Springer New York; 2018 [cité 2022 sept 23]. page 213-32.
173. Qiu F, Wu Y, Hahn D, McMahon M, Orr R, Webb D, et al. Risk-Based Predictive Stability—An Industry Perspective. *Pharmaceutical Technology* 2017;41(3):52-7.
174. Clancy D, Hodnett N, Orr R, Owen M, Peterson J. Kinetic Model Development for Accelerated Stability Studies. *AAPS PharmSciTech* 2017;18(4):1158-76.
175. McMahon M, Williams H, Debie E, Fu M, Bujalski R, Qiu F, et al. Utilization of risk-based predictive stability within regulatory submissions; industry's experience. *AAPS Open* [Internet] 2020 [cité 2022 sept 23];6(1):1.
176. Williams HE, Bright J, Roddy E, Poulton A, Cosgrove SD, Turner F, et al. A comparison of drug substance predicted chemical stability with ICH compliant stability studies. *Drug Development and Industrial Pharmacy* [Internet] 2019 [cité 2022 sept 23];45(3):379-86. Disponible sur: <https://doi.org/10.1080/03639045.2018.1542707>
177. Wang J, Qiu F, McMahon M, Debie E, Williams H, Stephens D, et al. Risk-Based Predictive Stability for Pharmaceutical Development—A Proposed Regulatory Template. *Pharmaceutical Technology* 2018;42(8):42-7.
178. 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):300-300.
179. Marraud L, Rambaud T, Sarfati M, Egnell M, Proto E, Geist JN. *Le Bilan Carbone de la santé en France : combien d'émissions de gaz à effet de serre ?* Paris: The Shift Project; 2021.

180. Food and Drug Administration. Population Pharmacokinetics; Revised Draft Guidance for Industry. Ref. FDA-2019-D-2398-0002. Juillet 2019. Disponible sur : <https://www.regulations.gov/document/FDA-2019-D-2398-0002>
181. Committee for Medicinal Products for Human Use of the European Medical Agency. Guideline on reporting the results of population pharmacokinetic analyses. Ref. CHMP/EWP/185990/06. Londres 2007. Disponible sur : https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-reporting-results-population-pharmacokinetic-analyses_en.pdf
182. Ye ZK, Tang HL, Zhai SD. Benefits of Therapeutic Drug Monitoring of Vancomycin: A Systematic Review and Meta-Analysis. PLoS One [Internet] 2013 [cité 2022 sept 23];8(10):e77169.
183. van Lent-Evers NA, Mathôt RA, Geus WP, van Hout BA, Vinks AA. Impact of goal-oriented and model-based clinical pharmacokinetic dosing of aminoglycosides on clinical outcome: a cost-effectiveness analysis. Ther Drug Monit 1999;21(1):63-73.
184. Le Meur Y, Büchler M, Thierry A, Caillard S, Villemain F, Lavaud S, et al. Individualized mycophenolate mofetil dosing based on drug exposure significantly improves patient outcomes after renal transplantation. Am J Transplant 2007;7(11):2496-503.
185. Slaughter RL, Cappelletty DM. Economic Impact of Aminoglycoside Toxicity and its Prevention Through Therapeutic Drug Monitoring. Pharmacoeconomics 1998 ;14(4):385-94. D
186. Benoit P, Garreau I, Mangerel K, Vonna P, Juste M. Pharmacokinetic monitoring of continuous vancomycin infusion: efficiency on medicine and surgery adult patients. Journal de Pharmacie Clinique 2006 ;25(3):170-6.
187. Kim Y, Kim S, Park J, Lee H. Clinical Response and Hospital Costs of Therapeutic Drug Monitoring for Vancomycin in Elderly Patients. J Pers Med 2022;12(2):163.
188. Geffen M van, Loof A, Lap P, Boezeman J, Gorkom BAPL van, Brons P, et al. A novel hemostasis assay for the simultaneous measurement of coagulation and fibrinolysis. Hematology 2011 ;16(6):327-36.
189. Roberts JA, Norris R, Paterson DL, Martin JH. Therapeutic drug monitoring of antimicrobials. British Journal of Clinical Pharmacology;73(1):27-36.

190. BestDose Software [Internet]. Disponible sur: <http://www.lapk.org/bestdose.php>
191. Neely M, van Guilder M, Yamada W, Schumitzky A, Jelliffe R. Accurate detection of outliers and subpopulations with Pmetrics, a non-parametric and parametric pharmacometric modeling and simulation package for R. Ther Drug Monit [Internet] 2012 [cité 2022 sept 23];34(4):467-76.

Annexes

ANNEXE 1 - STRUCTURE CHIMIQUE EN DEUX DIMENSIONS DES PRINCIPES ACTIFS* CONTENUS DANS LES SPECIALITES COMMERCIALES SELECTIONNEES POUR L'ETUDE.



*Deux structures n'ont pas été représentées ici, celles de l'héparine sodique et de l'insuline aspartate car elles sont très volumineuses.

ANNEXE 2 - LISTE DES EXCIPIENTS CONTENUS DANS LES SPECIALITES COMMERCIALES D'INTERET.

Légende : IM, intramusculaire ; IV, intraveineux ; PPI, pour préparation injectable ; *spécialités n'ayant pas répondu aux exigences de calibration.

Principe actif	Spécialité commerciale	Laboratoire fabricant	Excipient	Sel
Céfazoline	Céfazoline 1 g, poudre pour solution injectable (im-iv)	Mylan	Pas d'excipient	Céfazoline sodique
Céfépime	Céfépime 1 g, poudre pour solution injectable	Gerda	L-Arginine	Céfépime dichlorhydrate monohydraté
Céfotaxime	Céfotaxime 500 mg, poudre pour solution injectable (im-iv)	Mylan	Pas d'excipient	Céfotaxime sodique
Citrate de caféine	Citrate de caféine 25mg/mL solution injectable	Cooper	Eau PPI	Caféine citrate
Dobutamine*	Dobutamine 250 mg/20mL, solution à diluer pour perfusion	Panpharma	Sodium métabisulfite, acide chlorhydrique, eau PPI	Dobutamine chlorhydrate
Furosémide*	Furosémide 20mg/2mL, solution injectable	Renaudin	Sodium chlorure, sodium hydroxyde, eau PPI	Furosémide
Hémisuccinate d'hydrocortisone	Hydrocortisone UPJOHN 100 mg, préparation injectable	Serb	Phosphate monosodique anhydre, phosphate disodique anhydre, eau PPI	Sodium succinate sodique
Héparine sodique	Héparine sodique choay 5000 UI/mL, solution injectable iv	Laboratoires Cheplapharm	Chlorure de sodium, acide chlorhydrique, hydroxyde de sodium, eau PPI	Héparine sodique
Insuline Aspartate	Novorapid	Novo Nordisk	Glycérol, phénol, métacrésol, chlorure de zinc, phosphate disodique dihydrate, chlorure de sodium, acide chlorhydrique, hydroxyde de sodium, eau PPI	Insuline aspartate
Nicardipine	Nicardipine 10 mg/10 mL, solution injectable	Aguettant	Sorbitol, acide citrique monohydrate, citrate de sodium, acide chlorhydrique, hydroxyde de sodium, eau PPI	Nicardipine Chlorhydrate

Noradrénaline	Noradrénaline 2 mg/mL sans sulfites, solution à diluer pour perfusion	Mylan	Chlorure de sodium, eau PPI	Norépinéphrine bitartrate
Oméprazole	Oméprazole 40mg, poudre pour solution pour perfusion	Mylan	Edetate disodique, sodium hydroxyde	Oméprazole sodique
	Oméprazole 40mg, poudre pour solution pour perfusion	Mylan	Edetate disodique, sodium hydroxyde	Oméprazole
Paracétamol	Paracétamol 10 mg/mL, solution pour perfusion	Bbraun	Mannitol, citrate de sodium dihydraté, acide acétique glacial, eau PPI	Paracétamol
	Paracétamol 10 mg/mL, solution pour perfusion	Macopharma	Acétate de sodium trihydraté, acide acétique glacial, hydroxyde de sodium, eau PPI	Paracétamol
Pipéracilline-Tazobactam	Pipéracilline tazobactam 2 g/0,25 g, poudre pour solution pour perfusion	Mylan	Pas d'excipient	Pipéracilline sodique, tazobactam sodique
Vancomycine	Vancomycine 250 mg, poudre pour solution à diluer pour perfusion	Mylan	Pas d'excipient	Vancomycine chlorhydrate

ANNEXE 3 - RESULTATS DES PARAMETRES DE CALIBRATION POUR LES SPECIALITES COMMERCIALES AYANT REPONDU AUX CRITERES DE LINEARITE, DE PRECISION ET DE JUSTESSE.

<i>Spécialité commerciale</i>	<i>Céfépine</i>	<i>Citrate de caféine</i>	<i>Furosémide</i>	<i>Hémisuccinate d'hydrocortisone</i>	<i>Insuline Asparte</i>	<i>Nicardipine</i>	<i>Noradrénaline</i>	<i>Oméprazole</i>	<i>Paracétamol</i>	<i>Pipéracilline-tazobactam</i>	<i>Vancomycine</i>
<i>Paramètres</i>											
Longueur d'onde choisie pour la calibration	385 nm	304 nm	373 nm	304 nm	275 nm	415 nm	280 nm	340 nm	311 nm	352 nm	304 nm
Nombre de niveaux	4*	4*	5	4*	4*	5	4*	5	5	5	5
Gamme	10-60	1-10	0,25-8	0,25-2	0,1-0,75	0,025-0,200	0,03-0,12	0,1-1,0	1,0-10,0	25-150	1-10
Droite de régression											
• Pente	0,01185	0,07587	0,19204	0,5916	0,4521	0,9096	7,3067	0,6896	0,05086	0,003976	0,07434
• Ordonnée à l'origine (mg/mL)	0,04580	0,03288	0,000628	0,0195	0,01506	0,002557	0,02807	0,00517	0,00733	-0,01074	0,01087
Coefficient de corrélation	0,981	0,999	0,999	0,999	0,999	0,999	0,999	0,999	0,998	0,985	0,976
Limite de détection (mg/mL)	4,22	0,196	0,00369	0,046	0,015	0,003	0,002	0,014	0,125	7,99	6,51
Limite de quantification (mg/mL)	8,43	0,392	0,00739	0,092	0,028	0,006	0,004	0,027	0,250	15,98	13,02
Biais relatif (valeur absolue, %) [min-max]	4,61-11,64	1,05-5,17	0,13-5,38	0,37- 3,15	0,02-2,11	0,14-3,96	1,07-1,76	0,02-2,54	0,80-3,21	1,02-5,67	0,04-4,5
Fidélité intermédiaire (valeur absolue, %) [min-max]	7,42-9,96	0,75-7,53	0,84-3,11	2,32-3,96	2,10-12,86	2,09-9,73	1,13-2,32	2,73-5,89	1,57-5,66	6,00-10,98	9,07-13,35
Erreur totale [min-max]	12,46-19,45	1,81-12,70	1,34-7,41	2,69-6,98	2,18-14,97	2,35-13,69	2,56-3,56	3,13-8,43	2,45-8,87	7,16-13,15	9,54-17,89

ANNEXE 4 - RESULTATS DES PARAMETRES DE CALIBRATION POUR LES SPECIALITES COMMERCIALES NE REpondANT PAS AUX CRITERES DE LINEARITE, DE PRECISION ET DE JUSTESSE.

<i>Spécialité commerciale</i>	Céfazoline	Céfotaxime	Dobutamine	Héparine sodique
<i>Paramètres</i>				
Longueur d'onde choisie pour la calibration	347 nm	395 nm	298 nm	228 nm
Nombre de niveaux	5	5	8	5
Gamme	5-50	10-80	150-10 500	100-1000
Droite de regression				
• Pente	0.017711564	0.00855849	$9.69263 \cdot 10^{-5}$	0.00023406
• Ordonnée à l'origine (mg/mL)	-0.036615095	-0.01269007	0.019740414	0.02068272
Coefficient de corrélation	0,983	0,944	0,979	0,991
Limite de détection (mg/mL)	2.46	8,24	130,19	41,19
Limite de quantification (mg/mL)	4.93	16,49	260,37	82,39
Biais relatif (valeur absolue, %) [min-max]	5,15-10,29	0,79-13,669	2,96-19,13	1,31-2,55
Fidélité intermédiaire (valeur absolue, %) [min-max]	5,80-7,34	18,22-20,82	6,43-77,94	5,69-46,05
Erreur totale [min-max]	11,42-33,65	19,01-34,50	9,39-92,28	7,00-47,52

ANNEXE 5 - PRESCRIPTIONS GENEREES DANS L'ETUDE CLINIQUE ET UTILISEES COMME MODE OPERATOIRE PAR L'EQUIPE D'IDE/PUERICULTRICE DE L'UNITE DE REANIMATION NEONATALE POUR LA PREPARATION DES SOLUTIONS INJECTABLES.

CHU Lille Admission du 08/04/21 19h23 Clinique de Néonatalogie > UF TEST > chambre test > Lit test		Prescription C1
DN : 08/04/21 à 08h00 (PN 2 400 g) Dernière pesée : 900 g (02/05/21) Poids de prescription : 900 g Surface corporelle : 0,12 m ²	Sexe : Inconnu AG : 38 SA AC : 41 SA + 3 j APN : 3 S + 3 j	Intolérances / Hypersensibilités : Pathologies :

MÉDICAMENTS

Injectables continus

Vancomycine (VANCOMYCINE 250 mg inj) Traitement débuté le : 2 mai 2021 (J1)

Indications : traitement curatif des infections sévères (à l'exclusion des méningites)

Notes : Contrôler les taux sériques. Poids < 8 kg : utiliser vancomycine 125 mg ; poids > 16 kg : utiliser vancomycine 500 mg. Protéger la perfusion de la lumière. pH acide.

- **Dose d'entretien :** 2 mai 2021 à 16h13 au ?

13 mg/j, soit **0,542 mg/h**, en perfusion continue à un **débit de 0,2 ml/h**

Préparation : **Correspondant à 2 fois la quantité administrée, en raison des tubulures et des variations de débit prévisibles**
 Flacon de 250 mg, reconstituer avec 10 ml de EPPI, soit 25 mg/ml ;
 (1/1) - Prendre 1 ml, ajouter 8,6 ml de G5%, on obtient **9,6 ml = 25 mg** (2,6 mg/ml) ;

Administration : Administrer en perfusion continue à un **débit de 0,2 ml/h**

Nicardipine (LOXEN 10 mg/10 ml sol inj) Traitement débuté le : 8 avr. 2021 (J25)

Indications : hypertension artérielle

Notes : Protéger la perfusion de la lumière. Incompatible (risque de précipitation) avec les produits présentant en solution un pH > 6. Risque d'absorption de la nicardipine sur les matériaux plastiques des dispositifs de perfusion en présence de solutions salines.

- **Dose :** 2 mai 2021 à 16h13 au ?

Alarmes : La dose recommandée est habituellement supérieure ou égale à **0,5 mcg/kg/min**.

500 mcg/kg/j, soit **0,347 mcg/kg/min**, soit **0,313 mcg/min**, en perfusion continue à un **débit de 0,3 ml/h**

Préparation : **Correspondant à 2 fois la quantité administrée, en raison des tubulures et des variations de débit prévisibles**
 Ampoule de 10 000 mcg pour 10 ml (1 000 mcg/ml) ;
 (1/1) - Prendre 1 ml, ajouter 13,4 ml de G5%, on obtient **14,4 ml = 1 000 mcg** (69 mcg/ml) ;

Administration : Administrer en perfusion continue à un **débit de 0,3 ml/h**

Noradrénaline (NORADRENALINE 2 mg/ml sol diluer p perf sans conservateur) Traitement débuté le : 8 avr. 2021 (J25)

Indications : choc (sepsis)

Notes : Dilution nécessaire avant perfusion (G5%).
 pH acide : incompatible avec les solutions alcalines (dont bicarbonate de sodium).

- **Minimisation de volume :** 2 mai 2021 à 16h13 au ?

144 mcg/kg/j, soit **0,1 mcg/kg/min**, soit **0,09 mcg/min**, en perfusion continue à un **débit de 0,2 ml/h**

Préparation : **Correspondant à 2 fois la quantité administrée, en raison des tubulures et des variations de débit prévisibles**
 Ampoule de 8 000 mcg pour 4 ml (2 000 mcg/ml) ;
 (1/1) - Prendre 0,2 ml, ajouter 9,4 ml de G5%, on obtient **9,6 ml = 400 mcg** (42 mcg/ml) ;

Administration : Administrer en perfusion continue à un **débit de 0,2 ml/h**

Céfépime (AXEPIM 1 g inj) Traitement débuté le : 2 mai 2021 (J1)

Indications : méningite

Notes : A reconstituer avec 10 mL d'EPPI.
 Adapter la posologie en cas d'insuffisance rénale (toxicité neurologique).

- **Dose :** 2 mai 2021 à 16h13 au ?

150 mg/kg/j, soit 50 mg/kg toutes les 8 h, soit **45 mg toutes les 8 h** en intraveineuse en 30 min

Préparation : Flacon de 1 000 mg pour 10 ml (100 mg/ml) ;
 (1/1) - Prendre 0,5 ml, ajouter 1,5 ml de G5%, on obtient **2 ml = 50 mg** (25 mg/ml) ;

Administration : Administrer **2 ml** en intraveineuse en **30 min** à un **débit de 4 ml/h**

Rinçage : **0,6 ml** de G5% en intraveineuse sur **9 min** à un **débit de 4 ml/h**

MÉDICAMENTS (suite)

Injectables discontinus

Pipéracilline + Tazobactam (TAZOCILLINE 2 g/0,25 g pdre p sol p perf)

Traitement débuté le : 2 mai 2021 (J1)

Indications : infections à germes sensibles

Notes : TAZOCILLINE 2 g/0,25 g est administré par perfusion intraveineuse pendant 30 minutes au moins.

- Dose : 2 mai 2021 à 16h13 au ?

320 mg/kg/j, soit 80 mg/kg toutes les 6 h, soit **72 mg toutes les 6 h** en intraveineuse en 30 min

Préparation : Flacon de 2 000 mg, reconstituer avec 10 ml de EPPI, soit 200 mg/ml ;
(1/1) - Prendre 0,4 ml, ajouter 1,2 ml de G5%, on obtient **1,6 ml = 80 mg** (50 mg/ml) ;
Administration : Administrer **1,6 ml** en intraveineuse en **30 min** à un **débit de 3,2 ml/h**
Rinçage : **0,6 ml** de G5% en intraveineuse sur **11 min** à un **débit de 3,2 ml/h**

Oméprazole (MOPRAL 40 mg inj)

Traitement débuté le : 8 avr. 2021 (J25)

Indications : reflux gastro-oesophagien

- Dose : 2 mai 2021 à 16h13 au ?

1 mg/kg/j, soit 1 mg/kg toutes les 24 h, soit **0,9 mg toutes les 24 h** en intraveineuse en 20 min

Préparation : Flacon de 40 mg, reconstituer avec 5 ml de NaCl 0,9%, soit 8 mg/ml ;
(1/1) - Prendre 0,1 ml, ajouter 3 ml de NaCl 0,9%, on obtient **3,1 ml = 0,8 mg** (0,26 mg/ml) ;
Administration : Administrer **3,1 ml** en intraveineuse en **20 min** à un **débit de 9,3 ml/h**
Rinçage : **0,6 ml** de NaCl 0,9% en intraveineuse sur **4 min** à un **débit de 9,3 ml/h**

Furosémide (LASILIX 20 mg/2 ml inj)

Traitement débuté le : 19 avr. 2021 (J14)

Indications : oedème pulmonaire

Notes : Utiliser seringue et tubulure opaques.

- Dose : 19 avr. 2021 à 08h31 au ?

Alarmes : La dose recommandée est habituellement supérieure ou égale à 1 mg/kg.

1 mg/kg/j, soit 0,5 mg/kg toutes les 12 h, soit **0,45 mg toutes les 12 h** en intraveineuse en 15 min

Préparation : Ampoule de 20 mg pour 2 ml (10 mg/ml) ;
(1/2) - Prendre 1 ml de la solution et rajouter 9 ml de NaCl 0,9%, on obtient 10 ml = 10 mg (1 mg/ml) ;
(2/2) - Prendre 0,5 ml, ajouter 1,1 ml de NaCl 0,9%, on obtient **1,6 ml = 0,5 mg** (0,31 mg/ml) ;
Administration : Administrer **1,6 ml** en intraveineuse en **15 min** à un **débit de 6,4 ml/h**
Rinçage : **0,6 ml** de NaCl 0,9% en intraveineuse sur **6 min** à un **débit de 6,4 ml/h**

Caféine citrate (CAFEINE CITRATE 50 mg/2 ml inj)

Traitement débuté le : 15 avr. 2021 (J6)

Indications : Apnées du prématuré

- Dose d'entretien : 15 avr. 2021 à 21h55 au ?

5 mg/kg/j, soit 5 mg/kg toutes les 24 h, soit **4,7 mg toutes les 24 h** en intraveineuse en 30 min

Préparation : Ampoule de 50 mg pour 2 ml (25 mg/ml) ;
(1/2) - Prendre 1 ml de la solution et rajouter 9 ml de G5%, on obtient 10 ml = 25 mg (2,5 mg/ml) ;
(2/2) - Prendre 1,9 ml, ajouter 0 ml de G5%, on obtient **1,9 ml = 4,75 mg** (2,5 mg/ml) ;
Administration : Administrer **1,9 ml** en intraveineuse en **30 min** à un **débit de 3,8 ml/h**
Rinçage : **0,6 ml** de NaCl 0,9% en intraveineuse sur **9 min** à un **débit de 3,8 ml/h**

Hydrocortisone hémisuccinate sodique (HYDROCORTISONE 100 mg/2 ml inj)

Traitement débuté le : 18 avr. 2021 (J3)

Indications : prévention de la dysplasie bronchopulmonaire (PREMILOC)

- dose de J1 à J7 : 18 avr. 2021 à 11h46 au ?

1 mg/kg/j, soit 0,5 mg/kg toutes les 12 h, soit **0,47 mg toutes les 12 h** en intraveineuse directe lente en 30 min

Préparation : Flacon de 100 mg, reconstituer avec 2 ml de EPPI, soit 50 mg/ml ;
(1/3) - Prendre 1 ml de la solution et rajouter 9 ml de G5%, on obtient 10 ml = 50 mg (5 mg/ml) ;
(2/3) - Prendre 1 ml de la solution et rajouter 9 ml de G5%, on obtient 10 ml = 5 mg (0,5 mg/ml) ;
(3/3) - Prendre 0,9 ml, ajouter 0,7 ml de G5%, on obtient **1,6 ml = 0,45 mg** (0,28 mg/ml) ;
Administration : Administrer **1,6 ml** en intraveineuse directe lente en **30 min**
Rinçage : **0,5 ml** de G5% en intraveineuse directe lente

CHU Lille Admission du 08/04/21 19h23 Clinique de Néonatalogie > UF TEST > chambre test > Lit test		Prescription C2
DN : 08/04/21 à 08h00 (PN 2 400 g) Poids de prescription : 2 400 g Surface corporelle : 0,18 m ²	Sexe : Inconnu AG : 38 SA AC : 38 SA APN : 0 j	Intolérances / Hypersensibilités : Pathologies :

MÉDICAMENTS

Injectables continus

Vancomycine (VANCOMYCINE 250 mg inj) Traitement débuté le : 8 avr. 2021 (J1)

Indications : traitement curatif des infections sévères (à l'exclusion des méningites)

Notes : Contrôler les taux sériques. Poids < 8 kg : utiliser vancomycine 125 mg ; poids > 16 kg : utiliser vancomycine 500 mg.
Protéger la perfusion de la lumière. pH acide.

- **Dose d'entretien :** 8 avr. 2021 à 20h13 au ?

50 mg/j, soit **2,08 mg/h**, en perfusion continue à un **débit de 0,4 ml/h**

Préparation : **Correspondant à 2 fois la quantité administrée, en raison des tubulures et des variations de débit prévisibles**
 Flacon de 250 mg, reconstituer avec 10 ml de EPPI, soit 25 mg/ml ;
 (1/1) - Prendre 4 ml, ajouter 15,2 ml de G5%, on obtient **19,2 ml = 100 mg** (5,2 mg/ml) ;

Administration : Administrer en perfusion continue à un **débit de 0,4 ml/h**

Nicardipine (LOXEN 10 mg/10 ml sol inj) Traitement débuté le : 8 avr. 2021 (J1)

Indications : hypertension artérielle

Notes : Protéger la perfusion de la lumière. Incompatible (risque de précipitation) avec les produits présentant en solution un pH > 6. Risque d'absorption de la nicardipine sur les matériaux plastiques des dispositifs de perfusion en présence de solutions salines.

- **Dose :** 8 avr. 2021 à 20h13 au ?

750 mcg/kg/j, soit **0,521 mcg/kg/min**, soit **1,25 mcg/min**, en perfusion continue à un **débit de 0,8 ml/h**

Préparation : **Correspondant à 2 fois la quantité administrée, en raison des tubulures et des variations de débit prévisibles**
 Ampoule de 10 000 mcg pour 10 ml (1 000 mcg/ml) ;
 (1/1) - Prendre 3,6 ml, ajouter 34,8 ml de G5%, on obtient **38,4 ml = 3 600 mcg** (94 mcg/ml) ;

Administration : Administrer en perfusion continue à un **débit de 0,8 ml/h**

Noradrénaline (NORADRENALINE 2 mg/ml sol diluer p perf sans conservateur) Traitement débuté le : 8 avr. 2021 (J1)

Indications : choc (sepsis)

Notes : Dilution nécessaire avant perfusion (G5%).
pH acide : incompatible avec les solutions alcalines (dont bicarbonate de sodium).

- **Minimisation de volume :** 8 avr. 2021 à 20h13 au ?

288 mcg/kg/j, soit **0,2 mcg/kg/min**, soit **0,48 mcg/min**, en perfusion continue à un **débit de 0,4 ml/h**

Préparation : **Correspondant à 2 fois la quantité administrée, en raison des tubulures et des variations de débit prévisibles**
 Ampoule de 8 000 mcg pour 4 ml (2 000 mcg/ml) ;
 (1/1) - Prendre 0,6 ml, ajouter 18,6 ml de G5%, on obtient **19,2 ml = 1 200 mcg** (63 mcg/ml) ;

Administration : Administrer en perfusion continue à un **débit de 0,4 ml/h**

Céfépime (AXEPIM 1 g inj) Traitement débuté le : 8 avr. 2021 (J1)

Indications : méningite

Notes : A reconstituer avec 10 mL d'EPPI.
Adapter la posologie en cas d'insuffisance rénale (toxicité neurologique).

- **Dose :** 8 avr. 2021 à 20h13 au ?

150 mg/kg/j, soit 50 mg/kg toutes les 8 h, soit **120 mg toutes les 8 h** en intraveineuse en 30 min

Préparation : Flacon de 1 000 mg pour 10 ml (100 mg/ml) ;
 (1/1) - Prendre 1,2 ml, ajouter 2 ml de G5%, on obtient **3,2 ml = 120 mg** (38 mg/ml) ;
Administration : Administrer **3,2 ml** en intraveineuse en **30 min** à un **débit de 6,4 ml/h**
Rinçage : **0,6 ml** de G5% en intraveineuse sur **6 min** à un **débit de 6,4 ml/h**

MÉDICAMENTS (suite)

Injectables discontinus

Furosémide (LASILIX 20 mg/2 ml inj)

Traitement débuté le : 8 avr. 2021 (J1)

Indications : oedème pulmonaire

Notes : Utiliser seringue et tubulure opaques.

- **Dose :** 8 avr. 2021 à 20h13 au ?

Alarmes : L'intervalle est habituellement supérieur ou égal à 12 h.

La dose recommandée est habituellement supérieure ou égale à 1 mg/kg.

1 mg/kg/j, soit 0,333 mg/kg toutes les 8 h, soit **0,8 mg toutes les 8 h** en intraveineuse en 15 min

Préparation : Ampoule de 20 mg pour 2 ml (10 mg/ml) ;

(1/2) - Prendre 1 ml de la solution et rajouter 9 ml de NaCl 0,9%, on obtient 10 ml = 10 mg (1 mg/ml) ;

(2/2) - Prendre 0,8 ml, ajouter 0 ml de NaCl 0,9%, on obtient **0,8 ml = 0,8 mg** (1 mg/ml) ;

Administration : Administrer **0,8 ml** en intraveineuse en **15 min** à un **débit de 3,2 ml/h**

Rinçage : **0,6 ml** de NaCl 0,9% en intraveineuse sur **11 min** à un **débit de 3,2 ml/h**

Hydrocortisone hémisuccinate sodique (HYDROCORTISONE 100 mg/2 ml inj)

Traitement débuté le : 8 avr. 2021 (J1)

Indications : choc

- **Dose :** 8 avr. 2021 à 20h13 au ?

0,5 mg/kg/j, soit 0,167 mg/kg toutes les 8 h, soit **0,4 mg toutes les 8 h** en intraveineuse directe lente

Préparation : Flacon de 100 mg, reconstituer avec 2 ml de EPPI, soit 50 mg/ml ;

(1/2) - Prendre 1 ml de la solution et rajouter 9 ml de G5%, on obtient 10 ml = 50 mg (5 mg/ml) ;

(2/2) - Prendre 1 ml de la solution et rajouter 9 ml de G5%, on obtient **10 ml = 5 mg** (0,5 mg/ml) ;

Administration : Administrer **0,8 ml** en intraveineuse directe lente

Rinçage : **0,5 ml** de G5% en intraveineuse directe lente

Oméprazole (MOPRAL 40 mg inj)

Traitement débuté le : 8 avr. 2021 (J1)

Indications : reflux gastro-oesophagien

- **Dose :** 8 avr. 2021 à 20h13 au ?

2 mg/kg/j, soit 2 mg/kg toutes les 24 h, soit **4,8 mg toutes les 24 h** en intraveineuse en 20 min

Préparation : Flacon de 40 mg, reconstituer avec 5 ml de NaCl 0,9%, soit 8 mg/ml ;

(1/1) - Prendre 0,6 ml, ajouter 11,4 ml de NaCl 0,9%, on obtient **12 ml = 4,8 mg** (0,4 mg/ml) ;

Administration : Administrer **12 ml** en intraveineuse en **20 min** à un **débit de 36 ml/h**

Rinçage : **0,6 ml** de NaCl 0,9% en intraveineuse sur **1 min** à un **débit de 36 ml/h**

Pipéracilline + Tazobactam (TAZOCILLINE 2 g/0,25 g pdre p sol p perf)

Traitement débuté le : 8 avr. 2021 (J1)

Indications : infections à germes sensibles

Notes : TAZOCILLINE 2 g/0,25 g est administré par perfusion intraveineuse pendant 30 minutes au moins.

- **Dose :** 8 avr. 2021 à 20h13 au ?

320 mg/kg/j, soit 80 mg/kg toutes les 6 h, soit **192 mg toutes les 6 h** en intraveineuse en 60 min

Préparation : Flacon de 2 000 mg, reconstituer avec 10 ml de EPPI, soit 200 mg/ml ;

(1/1) - Prendre 1 ml, ajouter 1,5 ml de G5%, on obtient **2,5 ml = 200 mg** (80 mg/ml) ;

Administration : Administrer **2,5 ml** en intraveineuse en **60 min** à un **débit de 2,5 ml/h**

Rinçage : **0,6 ml** de G5% en intraveineuse sur **14 min** à un **débit de 2,5 ml/h**

Caféine citrate (CAFEINE CITRATE 50 mg/2 ml inj)

Traitement débuté le : 8 avr. 2021 (J1)

Indications : Apnées du prématuré

- **Dose d'entretien :** 8 avr. 2021 à 20h13 au ?

5 mg/kg/j, soit 5 mg/kg toutes les 24 h, soit **12 mg toutes les 24 h** en intraveineuse en 30 min

Préparation : Ampoule de 50 mg pour 2 ml (25 mg/ml) ;

(1/1) - Prendre 0,5 ml, ajouter 2 ml de G5%, on obtient **2,5 ml = 12,5 mg** (5 mg/ml) ;

Administration : Administrer **2,5 ml** en intraveineuse en **30 min** à un **débit de 5 ml/h**

Rinçage : **0,6 ml** de G5% en intraveineuse sur **7 min** à un **débit de 5 ml/h**

CHU Lille Admission du 08/04/21 19h23 Clinique de Néonatalogie > UF TEST > chambre test > Lit test		D N	Prescription C3
DN : 08/04/21 à 08h00 (PN 2 400 g) Poids de prescription : 2 400 g Surface corporelle : 0,18 m ²	Sexe : Inconnu AG : 38 SA AC : 38 SA APN : 0 j	Intolérances / Hypersensibilités : Pathologies :	

MÉDICAMENTS

Injectables continus

Vancomycine (VANCOMYCINE 250 mg inj) Traitement débuté le : 8 avr. 2021 (J1)

Indications : traitement curatif des infections sévères (à l'exclusion des méningites)

Notes : Contrôler les taux sériques. Poids < 8 kg : utiliser vancomycine 125 mg ; poids > 16 kg : utiliser vancomycine 500 mg. Protéger la perfusion de la lumière. pH acide.

- **Dose d'entretien** : 8 avr. 2021 à 20h13 au ?

70 mg/j, soit **2,92 mg/h**, en perfusion continue à un **débit de 0,4 ml/h**

Préparation : Correspondant à 2 fois la quantité administrée, en raison des tubulures et des variations de débit prévisibles
 Flacon de 250 mg, reconstituer avec 10 ml de EPPI, soit 25 mg/ml ;
 (1/1) - Prendre 5,6 ml, ajouter 13,6 ml de G5%, on obtient **19,2 ml = 140 mg** (7,3 mg/ml) ;

Administration : Administrer en perfusion continue à un **débit de 0,4 ml/h**

Nicardipine (LOXEN 10 mg/10 ml sol inj) Traitement débuté le : 8 avr. 2021 (J1)

Indications : hypertension artérielle

Notes : Protéger la perfusion de la lumière. Incompatible (risque de précipitation) avec les produits présentant en solution un pH > 6. Risque d'absorption de la nicardipine sur les matériaux plastiques des dispositifs de perfusion en présence de solutions salines.

- **Dose** : 8 avr. 2021 à 20h13 au ?

Alarmes : La concentration doit être inférieure ou égale à 100 mcg/ml.

1 000 mcg/kg/j, soit **0,694 mcg/kg/min**, soit **1,67 mcg/min**, en perfusion continue à un **débit de 0,7 ml/h**

Préparation : Correspondant à 2 fois la quantité administrée, en raison des tubulures et des variations de débit prévisibles
 Ampoule de 10 000 mcg pour 10 ml (1 000 mcg/ml) ;
 (1/1) - Prendre 4,8 ml, ajouter 28,8 ml de G5%, on obtient **33,6 ml = 4 800 mcg** (143 mcg/ml) ;

Administration : Administrer en perfusion continue à un **débit de 0,7 ml/h**

Céfépime (AXEPIM 1 g inj) Traitement débuté le : 18 mai 2021 (J1)

Indications : méningite

Notes : A reconstituer avec 10 mL d'EPPI.
 Adapter la posologie en cas d'insuffisance rénale (toxicité neurologique).

- **Dose** : 18 mai 2021 à 14h52 au ?

150 mg/kg/j, soit 50 mg/kg toutes les 8 h, soit **175 mg toutes les 8 h** en intraveineuse en 30 min

Préparation : Flacon de 1 000 mg pour 10 ml (100 mg/ml) ;
 (1/1) - Prendre 1,8 ml, ajouter 2,2 ml de G5%, on obtient **4 ml = 180 mg** (45 mg/ml) ;

Administration : Administrer **4 ml** en intraveineuse en **30 min** à un **débit de 8 ml/h**

Rinçage : **0,6 ml** de G5% en intraveineuse sur **5 min** à un **débit de 8 ml/h**

Pipéracilline + Tazobactam (TAZOCILLINE 2 g/0,25 g pdre p sol p perf) Traitement débuté le : 8 avr. 2021 (J1)

Indications : infections à germes sensibles

Notes : TAZOCILLINE 2 g/0,25 g est administré par perfusion intraveineuse pendant 30 minutes au moins.

- **Dose** : 8 avr. 2021 à 20h13 au ?

320 mg/kg/j, soit 80 mg/kg toutes les 6 h, soit **192 mg toutes les 6 h** en intraveineuse en 30 min

Préparation : Flacon de 2 000 mg, reconstituer avec 10 ml de EPPI, soit 200 mg/ml ;
 (1/1) - Prendre 1 ml, ajouter 0,6 ml de G5%, on obtient **1,6 ml = 200 mg** (125 mg/ml) ;

Administration : Administrer **1,6 ml** en intraveineuse en **30 min** à un **débit de 3,2 ml/h**

Rinçage : **0,6 ml** de G5% en intraveineuse sur **11 min** à un **débit de 3,2 ml/h**

Caféine citrate (CAFEINE CITRATE 50 mg/2 ml inj) Traitement débuté le : 8 avr. 2021 (J1)

Indications : Apnées du prématuré

- **Dose d'entretien** : 8 avr. 2021 à 20h13 au ?

5 mg/kg/j, soit 5 mg/kg toutes les 24 h, soit **12 mg toutes les 24 h** en intraveineuse en 30 min

Préparation : Ampoule de 50 mg pour 2 ml (25 mg/ml) ;
 (1/1) - Prendre 0,5 ml, ajouter 1,1 ml de G5%, on obtient **1,6 ml = 12,5 mg** (7,8 mg/ml) ;

Administration : Administrer **1,6 ml** en intraveineuse en **30 min** à un **débit de 3,2 ml/h**

Rinçage : **0,6 ml** de G5% en intraveineuse sur **11 min** à un **débit de 3,2 ml/h**

MÉDICAMENTS (suite)

Injectables discontinus (suite)

Hydrocortisone hémisuccinate sodique (HYDROCORTISONE 100 mg/2 ml inj) Traitement débuté le : 8 avr. 2021 (J1)

Indications : choc

- **Dose** : 8 avr. 2021 à 20h13 au ?

1 mg/kg/j, soit 0,333 mg/kg toutes les 8 h, soit **0,8 mg toutes les 8 h** en intraveineuse directe lente

Préparation : Flacon de 100 mg, reconstituer avec 2 ml de EPPI, soit 50 mg/ml ;

(1/2) - Prendre 1 ml de la solution et rajouter 9 ml de G5%, on obtient 10 ml = 50 mg (5 mg/ml) ;

(2/2) - Prendre 1 ml de la solution et rajouter 2,3 ml de G5%, on obtient **10 ml = 5 mg** (1,52 mg/ml) ;

Administration : Administrer **1,6 ml** en intraveineuse directe lente

Rinçage : **0,5 ml** de G5% en intraveineuse directe lente

Oméprazole (MOPRAL 40 mg inj) Traitement débuté le : 8 avr. 2021 (J1)

Indications : reflux gastro-oesophagien

- **Dose** : 8 avr. 2021 à 20h13 au ?

Alarmes : La concentration doit être inférieure ou égale à **0,4 mg/ml**.

1 mg/kg/j, soit 1 mg/kg toutes les 24 h, soit **2,4 mg toutes les 24 h** en intraveineuse en 20 min

Préparation : Flacon de 40 mg, reconstituer avec 5 ml de NaCl 0,9%, soit 8 mg/ml ;

(1/1) - Prendre 0,3 ml, ajouter 3 ml de NaCl 0,9%, on obtient **3,3 ml = 2,4 mg** (0,73 mg/ml) ;

Administration : Administrer **3,3 ml** en intraveineuse en **20 min** à un **débit de 9,9 ml/h**

Rinçage : **0,6 ml** de NaCl 0,9% en intraveineuse sur **4 min** à un **débit de 9,9 ml/h**

Furosémide (LASILIX 20 mg/2 ml inj) Traitement débuté le : 18 mai 2021 (J1)

Indications : rétention hydrique

Notes : Utiliser seringue et tubulure opaques.

- **Dose** : 18 mai 2021 à 14h52 au ?

4 mg/kg/j, soit 2 mg/kg toutes les 12 h, soit **7 mg toutes les 12 h** en intraveineuse en 15 min

Préparation : Ampoule de 20 mg pour 2 ml (10 mg/ml) ;

(1/1) - Prendre 0,7 ml, ajouter 0,9 ml de NaCl 0,9%, on obtient **1,6 ml = 7 mg** (4,4 mg/ml) ;

Administration : Administrer **1,6 ml** en intraveineuse en **15 min** à un **débit de 6,4 ml/h**

Rinçage : **0,6 ml** de NaCl 0,9% en intraveineuse sur **6 min** à un **débit de 6,4 ml/h**

Noradrénaline (NORADRENALINE 2 mg/ml sol diluer p perf sans conservateur) Traitement débuté le : 18 mai 2021 (J1)

Indications : choc (sepsis)

Notes : Dilution nécessaire avant perfusion (G5%).
pH acide : incompatible avec les solutions alcalines (dont bicarbonate de sodium).

- **Minimisation de volume** : 18 mai 2021 à 14h52 au ?

144 mcg/kg/j, soit **0,1 mcg/kg/min**, soit **0,45 mcg/min**, en perfusion continue à un **débit de 0,3 ml/h**

Préparation : **Correspondant à 2 fois la quantité administrée, en raison des tubulures et des variations de débit prévisibles**

Ampoule de 8 000 mcg pour 4 ml (2 000 mcg/ml) ;

(1/1) - Prendre 0,6 ml, ajouter 13,8 ml de G5%, on obtient **14,4 ml = 1 200 mcg** (83 mcg/ml) ;



Liste des publications

Publications originales scientifiques

Titre	Place auteur	IF (2022)	Liste des auteurs
Tranexamic acid dose response relationship for antifibrinolysis in postpartum haemorrhage during Caesarean delivery: TRACES, a double-blind, placebo-controlled, multicentre, dose-ranging biomarker study	2	11.7	Ducloy-Bouthors A.-S., Gilliot S. , Kyheng M., Faraoni D., Turbelin A., Keita-Meyer H., Rigouzzo A., Moyanotidou G., Constant B., Broisin F., Gouez A., Favier R., Peynaud E., Ghesquiere L., Lebuffe G., Duhamel A., Allorge A., Susen S., Hennart B., Jeanpierre E., Odou P., et le groupe de travail TRACES
Factors influencing accuracy when preparing injectable drug concentrations in appliance with clinical practice: a norepinephrine case study.	1	1.6	Gilliot S. , Martin Mena A., Genay S., Masse M., Thibaut M., Carta N., Lannoy D., Négrier L., Barthélémy C., Décaudin B., Odou P..
Pharmacokinetics of curative tranexamic acid in parturients undergoing cesarean delivery.	1	6.1	Gilliot, S. ; Ducloy-Bouthors, A.-S.; Loingeville, F.; Hennart, B.; Allorge, D.; Lebuffe, G.; Odou, P.
Stability of 1-unit/mL insulin aspart solution in cyclic olefin copolymer vials and polypropylene syringes.	2	2.6	Henry H, Gilliot S , Genay S, Barthélémy C, Décaudin B, Odou P.
Case Report: Persistent Pulmonary Hypertension of the Newborn and Narrowing of the Ductus Arteriosus After Topical Use of Non-Steroidal Anti-Inflammatory During Pregnancy.	2	3.4	Le Duc, K., Gilliot, S. , Baudalet, J. B., Mur, S., Boukhris, M. R., Domanski, O., Odou, P., Storme, L.
Case report: risk of skin necrosis related to injectable vancomycin in critically ill newborn infants.	1	2.1	Gilliot, S. , Boukhris, M. R., Masse, M., Storme, L., Décaudin, B., Odou, P., Le Duc, K.

Long-term stability of 10 mg/mL dobutamine injectable solutions in 5% dextrose and normal saline solution stored in polypropylene syringes and cyclic-oleofin-copolymer vials.	1	1.7	Gilliot S , Henry H, Carta N, Genay S, Barthélémy C, Décaudin B, Odou P
Hypothesis for a partially non urinary elimination of tranexamic acid in haemorrhagic caesarean section: TRACES pilot pharmacokinetic study.	1	4.4	Gilliot S , Ducloy-Bouthors A.S., Hennart B., Loingeville F., Jeanne M., Lebuffe G., Odou,
Long-term stability of ready-to-use norepinephrine solution at 0.2 and 0.5 mg/mL.	1	1.6	Gilliot S , Masse M, Genay S, Lannoy D, Barthélémy C, Décaudin B, Odou P.
Long-term stability of ready-to-use 1-mg/mL midazolam solution.	1	2.6	Gilliot S , Masse M, Feutry F, Barthélémy C, Décaudin B, Genay S, Odou P.
Association of prestroke metformin use, stroke severity, and thrombolysis outcome	NC	9.9	Westphal LP, Widmer R, Held U, Steigmiller K, Hametner C, Ringleb P, Curtze S, Martinez-Majander N, Tiainen M, Nolte CH, Scheitz JF, Erdur H, Polymeris AA, Traenka C, Eskandari A, Michel P, Heldner MR, Arnold M, Zini A, Vandelli L, Coutinho JM, Groot AE, Padjen V, Jovanovic DR, Béjot Y, Brenière C, Turc G, Seners P, Pezzini A, Magoni M, Leys D, Gilliot S , Scherrer MJ, Kägi G, Luft AR, Gensicke H, Nederkoorn P, Tatlisumak T, Engelter ST, Wegener S; Thrombolysis in Ischemic Stroke Patients (TRISP) Study Group.
Influence of on-going treatment with angiotensin-converting enzyme inhibitor or angiotensin receptor blocker on the outcome of patients treated with intravenous rt-PA for ischemic stroke.	1	4.2	Gilliot S , Sibon I, Mas JL, Moulin T, Béjot Y, Cordonnier C, Giroud M, Odou P, Bordet R, Vivien D, Leys D, OPHELIE Investigators.

Conférences sur invitation

« TRANexamic acid in hemorrhagic CESarean section (TRACES)
A randomized placebo controlled dose-ranging pharmacobiological trial ».

Co-présentation Bouthors A.-S. et **Gilliot S.**

UNITE GLOBE (*United Efforts to Reduce Global Obstetric Hemorrhage*) Conference, Congrès virtuel, le 18 juillet 2022

« Suivi Thérapeutique ».

Co-animation d'une session de travail

Congrès International Francophone de Pharmacie Hospitalière, Hopipharm, Marseille, 15 au 17 mai 2019

Communications (orales ou affichées)

Communication orale internationale

« Pharmacokinetics of curative tranexamic acid in parturient women undergoing cesarean delivery »

Gilliot S., Bouthors A.-S., Loingeville F., Hennart B., Lebuffe G., Odou P.

10th International Symposium on Women's Health Issues in Thrombosis and Haemostasis , Virtual, 30 septembre au 2 octobre 2022

« Influence of on-going Treatment with Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor or Angiotensin Receptor Blocker on the Outcome of Patients treated with Intravenous rt-PA for Ischemic Stroke. »

Gilliot S., Sibon I., Mas J.-L., Moulin T., Béjot Y., Cordonnier C., Giroud M., Odou P., Bordet R., Vivien D., Leys D. and OPHELIE Investigators.

American Academy of Neurology, Los Angeles, 21 au 27 avril 2018.

Communication orale nationale

« Évaluation et qualification d'une technique de prévention des erreurs médicamenteuses en réanimation néonatale. »

Gilliot S., Martin Mena A., Le Duc K., Riadh Boukhris M, Storme L., Odou P.

Journées Francophones de Recherche en Néonatalogie, Paris, les 9 et 10 décembre 2021.

Communications nationales affichées

Modélisation pharmacocinétique populationnelle de l'acide tranexamique intraveineux en curatif de l'hémorragie per-césarienne.

Gilliot S., Bouthors A.-S., Loingeville F., Hennart B., Lebuffe G., Odou P.

Congrès de la SFAR, Paris, 22 au 24 septembre 2022

« Analyse des demandes de référencement de dispositifs sur mesure à l'échelle locale sur une période de sept ans. »

Gilliot S. ; Toullic C. ; Décaudin B. ; Odou P.

Journées Europharmat, La Rochelle, 6 au 9 octobre 2020.

« Influence d'un traitement en cours par inhibiteur de l'enzyme de conversion (IECs) ou antagonistes des récepteurs de l'angiotensine 2 (ARAls) au cours de la thrombolyse pour ischémie cérébrale. »

Gilliot S., I. Sibon, JL. Mas, Moulin T., Béjot Y., Cordonnier C., Giroud M., Odou P., Bordet R., Vivien D., Leys D. et les investigateurs OPHELIE.

Journées de Neurologie de Langue Française, Bordeaux, 10 au 13 avril 2018.

« Traitement par voie orale de l'hypertension artérielle dans le syndrome du grêle court. »

Gilliot S., Walther J., Simon N., Cousin V., Décaudin B., Odou P.

Congrès de la Société Française de Pharmacie Clinique 2018, Lille, 7 au 9 février 2018.

From the development of dosage methods to the pharmacokinetic modeling to secure therapeutical strategies in high-risk patients

Abstract: Medication errors can occur at any stage of the healthcare product circuit in the hospital and can lead to adverse events with potentially fatal consequences for patients. Some actions can prevent the occurrence of these errors and optimize the use of drugs. This thesis brings together studies that led to secure the use of high-risk medications and the therapeutic strategies in high-risk patients.

The safety of drug preparation was investigated in critical care services using two ways. First, the DrugLog[®] (Pharmacolog, Sweden), an automated quality control system for injectable drugs prepared in care units, was evaluated in a neonatal intensive care unit. It allows the rapid identification and quantification of drugs in solution. The calibration of the DrugLog[®] was performed in the laboratory. Robustness and clinical feasibility studies were conducted in the unit. Among the medications, 11 were calibrated out of 15 evaluated; during the clinical study, 9 medications were studied and 68,90% of the preparations met the quantitative acceptance limits. Technical limitations, detailed in the following work, led to the postponement of its routine use; however, several qualities make this system an innovative and interesting tool for qualifying care teams in simulation situations. The second way to secure the drug preparation step was to assess the possibility of centralizing the preparations within the hospital pharmacy. With this aim in view, we evaluated the long-term stability of ready-to-use injectable solutions. Four stability studies were performed on insulin aspartate diluted at 1 IU/mL, dobutamine at 10 mg/mL, noradrenaline at 0.2 and 0.5 mg/mL, and midazolam at 1 mg/mL. The physicochemical and microbiological stability was evaluated over 1 year in two types of packaging: polypropylene (PP) syringes, to prepare ready-to-use solutions, and cyclic olefin copolymer (COC) vials, whose properties are interesting for the storage of injectable drugs and for which the filling is automated. These studies showed that the use of COC vials allowed for better long-term stability than that conferred by PP syringes. Using a dedicated automated filling machine for these vials allows for a significant manufacturing yield and ensures preparation in a controlled aseptic environment. This work encourages the development of hospital mass production.

The feasibility of optimizing the therapeutic regimen of a high-risk drug used in a critical situation was investigated through a particular case, tranexamic acid (TXA) for curative purposes in per partum hemorrhage. A single-center open-label pilot study and a double-blind randomized controlled multicenter study were performed as part of the TRACES (TRANexamic acid in hemorrhagic CESarean section) trial. TXA was given as a single bolus in selected patients and blood and urine TXA concentrations were determined. Nonlinear parametric mixed-effect modeling was performed. The pharmacokinetic model of TXA was validated and covariates influencing the variability of the pharmacokinetic parameters were identified: the creatinine clearance and the total body weight before pregnancy. This work led to the hypothesis of a double elimination of TXA by the central compartment which can be explained by leakage into the uterine hemorrhagic blood. The rapid decrease in plasmatic concentrations encourages to repeat dose of 1g TXA during the first hour if bleeding doesn't stop.

Key words : Medication error – injectable drug – drug compounding – drug stability – pharmacokinetics – patient safety .

Du développement des méthodes de dosage à la modélisation pharmacocinétique dans la sécurisation de prise en charge médicamenteuse des patients à risque

Résumé : Les erreurs médicamenteuses peuvent survenir à chaque étape du circuit des produits de santé à l'hôpital, et engendrer des événements indésirables dont les conséquences peuvent être fatales pour les patients. Des actions peuvent prévenir la survenue de ces erreurs et optimiser l'usage des médicaments. Cette thèse rassemble des travaux dont la finalité était de sécuriser la thérapeutique en minimisant les situations à risque liées soit au médicament soit au patient lui-même.

La sécurisation de la thérapeutique a été investiguée au niveau de la préparation des médicaments en services de soins critiques au travers de deux moyens de sécurisation. Le premier moyen est un automate de contrôle-qualité des médicaments injectables préparés en services de soins, le DrugLog® (Pharmacolog, Suède). La calibration de l'automate a été conduite en laboratoire et une étude de robustesse et de faisabilité clinique a été conduite dans un service de réanimation néonatale. Parmi les médicaments testés, 11/15 ont pu être calibrés. Au cours de l'étude clinique, 9 médicaments ont été étudiés et 68,90% des préparations étaient conformes aux limites d'acceptabilité quantitatives fixées. Des limites, détaillées dans le travail qui suit, ont conduit à sursoir son utilisation en routine ; cependant, plusieurs qualités font de cet automate un outil innovant et intéressant pour qualifier les équipes de soins en situations de simulation. Le second moyen pour sécuriser la préparation a été d'étudier la possibilité de centraliser les préparations au sein de la pharmacie à usage intérieur. La stabilité de ces solutions injectables prêtes à l'emploi a été étudiée ; quatre études de stabilité ont été conduites sur l'insuline aspartate diluée à 1 UI/mL, la dobutamine à 10 mg/mL, la noradrénaline à 0,2 et 0,5 mg/mL, le midazolam à 1 mg/mL. La stabilité physico chimique et microbiologique a été évaluée sur 1 an dans deux conditionnements : des seringues en polypropylène (PP), dans le but de préparer des solutions prêtes à l'emploi, et des flacons en copolymère oléofine cyclique (COC), dont les propriétés sont intéressantes pour le stockage des médicaments injectables et pour lesquels le remplissage est automatisé. Ces études montraient que l'utilisation de flacons en COC permettait une stabilité sur le long terme, meilleure que celle conférée par les seringues en PP. L'utilisation d'un automate dédié pour le remplissage de ces flacons permet un rendement important de fabrication et assure une préparation dans un environnement aseptique contrôlé. Ces travaux encouragent le développement de la fabrication hospitalière en série.

La sécurisation de la thérapeutique a également été étudiée pour connaître la possibilité d'optimiser le schéma thérapeutique d'un médicament à risque utilisé en situation critique. Cette sécurisation a été investiguée au travers d'un cas particulier, l'acide tranexamique (TXA) à visée curative dans l'hémorragie du *per partum*. Une étude pilote monocentrique ouverte et une étude multicentrique double aveugle randomisée et contrôlée ont été menées dans le cadre de l'essai TRACES (*TRANexamic acid in hemorrhagic CESarean section*). Le TXA a été administré en bolus unique chez les patientes sélectionnées puis des dosages sanguins et urinaires ont été effectués. Une modélisation non linéaire à effet mixte paramétrique a été réalisée. Le modèle pharmacocinétique du TXA a pu être validé et des covariables influençant la variabilité des paramètres pharmacocinétiques ont été déterminées : la clairance à la créatinine et le poids réel avant grossesse. Ce travail a conduit à l'hypothèse d'une double élimination du TXA par le compartiment central qui peut être expliquée par une fuite dans le sang hémorragique utérin. La rapide diminution des concentrations plasmatiques encourage la répétition d'une dose de 1g en cas de poursuite du saignement au cours de la 1^{ère} heure.

Mots clés : Erreur médicamenteuse – médicament injectable – préparation des médicaments – pharmacocinétique – sécurité du patient – stabilité des médicaments