



HAL
open science

Développement de méthodes analytiques pour l'étude de la stabilité et de la compatibilité de médicaments sous forme de solution ou de systèmes dispersés. Application en anesthésie-réanimation

Marine Roche

► To cite this version:

Marine Roche. Développement de méthodes analytiques pour l'étude de la stabilité et de la compatibilité de médicaments sous forme de solution ou de systèmes dispersés. Application en anesthésie-réanimation. Médicaments. Université de Lille, 2024. Français. NNT : 2024ULILS021 . tel-04693087

HAL Id: tel-04693087

<https://theses.hal.science/tel-04693087v1>

Submitted on 10 Sep 2024

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

2024

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

Spécialité

**Pharmacie en Sciences du Médicament et autres Produits de Santé
par Marine Roche**

**Développement de méthodes analytiques pour l'étude de la
stabilité et de la compatibilité de médicaments sous forme de
solution ou de systèmes dispersés.**

Application en anesthésie-réanimation

Soutenue publiquement le 10 Juillet 2024

Directeur de thèse :

M. le Professeur Nicolas SIMON, Université et CHU de Lille, Directeur de thèse

Président du Jury :

M. Le Professeur Gilles LEBUFFE, Université et CHU de Lille

Rapportrices :

Mme le Professeur Sylvie CRAUSTE-MANCIET, Université et CHU d'Angers

Mme le Professeur Valérie SAUTOU, Université et CHU de Clermont-Ferrand

Examineurs :

Mme le Docteur Cécile DANIEL, Université et CHU de Lille

Mme le Professeur Laurence GALANTI, Université catholique de Louvain et CHU Mont-Godinne

M. le Professeur Yves GUILLAUME, Université et CHU de Besançon

M. le Docteur Damien LANNOY, Université et CHU de Lille, co-encadrant de thèse

Le succès vient de la curiosité, de la concentration, de la
persévérance et de l'autocritique

Albert Einstein

Remerciements

Aux membres du jury pour le temps qu'ils ont accepté de consacrer à l'évaluation de ce travail, et pour leur patience face à mes (trop) nombreux messages pour définir la date de soutenance.

Professeur Sylvie Crauste-Manciet, merci d'avoir accepté d'être rapporteuse de ce travail, et de me faire l'honneur de participer à son évaluation, soyez assurée de ma reconnaissance.

Professeur Laurence Galanti, merci de m'avoir accompagnée tout au long de ce doctorat, pour votre bienveillance et vos conseils avisés, et pour votre disponibilité lors des comités de suivi de thèse. Vous me faites l'honneur de juger ce travail, soyez assurée de ma reconnaissance.

Professeur Valérie Sautou, merci d'avoir accepté d'être rapporteuse de ce travail, et de me faire l'honneur de participer à son évaluation, soyez assurée de ma reconnaissance.

Professeur Yves Guillaume, vous me faites l'honneur de juger ce travail, soyez assuré de ma reconnaissance.

Professeur Gilles Lebuffe, merci de vous être rendu disponible pour répondre à mes questions, de m'avoir permis de bénéficier de votre point de vue de clinicien sur ce travail afin qu'il puisse être plus pertinent. Merci également pour votre bienveillance et l'honneur que vous me faites en acceptant de juger ce travail. Soyez assuré de ma reconnaissance.

Docteur Cécile Danel, merci pour ta gentillesse et ton soutien indéfectible au cours de ce doctorat. Ton arrivée dans l'équipe du labo de contrôle a donné un nouvel élan à ma thèse. Sans ton soutien pour les manips, nos échanges et tes bonnes idées ce travail ne serait probablement pas ce qu'il est devenu. Merci également pour tes relectures attentives et tes commentaires pertinents. Merci d'avoir accepté de participer à l'évaluation de ce travail.

Docteur Damien Lannoy, merci de votre accompagnement tout au long de ces années lilloises – du Master 2 au Doctorat en passant par le mémoire de DES. Merci pour votre humanité, votre gentillesse, mais aussi pour nos innombrables discussions, pour vos conseils et commentaires avisés. Merci d'avoir été un soutien sans faille lors des difficultés rencontrées au cours de ces presque six années. Je suis heureuse d'avoir eu la chance de passer ces années à vos côtés et j'espère que nos chemins continueront de se croiser régulièrement.

Professeur Nicolas Simon, merci de m'avoir fait confiance en acceptant d'être mon directeur de thèse, et d'avoir reformé avec Monsieur Lannoy le duo gagnant de l'encadrement de mon Master 2. Merci pour vos encouragements, votre disponibilité, vos conseils et vos relectures en un temps record. Merci de m'avoir accompagnée et supportée tout au long de ces années de thèse, bien plus nombreuses que nous ne l'avions anticipé !

Aux équipes des services de réanimation du CHU de Lille pour leur aide précieuse, en particulier :

Docteur Anne Bignon et Monsieur Jonathan Brats, un immense merci pour le temps que vous m'avez consacré et toutes vos réponses concernant les protocoles et les montages de perfusion utilisés dans votre service de réanimation chirurgicale.

Professeur Farshid Sadeghipour merci de m'avoir accompagnée tout au long de ce doctorat, pour votre bienveillance et vos conseils avisés, et pour votre disponibilité lors des comités de suivi de thèse.

Aux membres du laboratoire GRITA, pour leur accueil et leurs commentaires lors des matinées thématiques qui ont permis d'améliorer la qualité de ce travail. Je souhaite remercier tout particulièrement :

Professeur Pascal Odou, merci de m'avoir accueillie au sein de votre équipe et de m'avoir permis de réaliser ce travail. Merci pour vos relectures et commentaires sur les différentes publications en lien avec le doctorat. Soyez assuré de ma reconnaissance.

Docteur Jean-François Goossens, merci de m'avoir accueillie et m'avoir permis d'utiliser le plateau technique de spectrométrie de masse, et de découvrir cette technique que je ne connaissais pas.

Docteur Mostafa Kouach, merci pour ton aide inestimable et ta disponibilité lors de l'utilisation de la spectrométrie de masse. Merci pour ces agréables moments passés en ta compagnie et ta pédagogie. Tu m'as donné confiance et l'envie de découvrir encore plus la LC-MS/MS ! Sans ton expertise, l'étude de stabilité du cisatracurium n'aurait pas été aussi aboutie.

A mes collègues du laboratoire de contrôle du CHU de Lille.

Docteur Christophe Berneron, je n'ai pas de mots assez forts pour vous exprimer ma gratitude pour ces années passées au laboratoire de contrôle. Vous m'avez appris tout ce que je sais aujourd'hui à ce sujet. Merci d'avoir pris ma part d'activité « de routine » au laboratoire, parfois pendant plusieurs semaines, pour me permettre d'avancer sur les manips et la rédaction de la thèse. Je n'aurais pas pu y arriver sans vous ! Merci également pour votre écoute, votre soutien et votre présence bienveillante à mes côtés depuis toutes ces années.

Blandine, merci me m'avoir permis de me dégager du temps pour la rédaction de la thèse en t'occupant du labo (et de l'allergo !) aux côtés de Monsieur Berneron ! Merci pour ces chouettes années partagées au labo ! J'ai gagné une super collègue et une amie !

Laura, merci pour ta douceur et ta gentillesse. C'est un plaisir de te compter dans l'équipe du labo de contrôle ! Merci pour tes conseils et tes encouragements, tu m'as montré le chemin avec ton doctorat.

Loïc, merci pour ta bonne humeur et ces années passées à tes côtés au labo. Merci de m'avoir enseigné les bases des techniques utilisées au labo, et d'avoir égayé nos journées avec tes blagues et tes citations culte ! (« Tu peux m'appeler Loïc »)

A mes collègues et amis du CHU de Lille pour ces presque dix années partagées, vous êtes un peu ma deuxième famille.

Merci aux équipes du préparatoire (Amélie, Charlotte, Elisa, Guillaume), de la Nut (Caroline, Christopher, Estelle, Mathilde, Margaux), cela a été un plaisir de travailler avec vous ! Merci aux équipes des essais cliniques (Delphine, Isabelle, Nathalie) pour leurs pauses ré-étiquetage ! Merci aux équipes de l'appro, de la rétrocession et du nominatif pour votre gentillesse, en particulier à Anaël, Christine, Delphine, Jessica, Lisa, Mélanie, Sixtine, Sophie et Stéphanie. Merci à Olivier, à Mohamed et à Stéphane d'avoir pris régulièrement de mes nouvelles. Merci à Marjorie pour nos petites discussions quotidiennes. Merci à Mado, Lulu et Julie de m'avoir accueillie chaque jour à la pharmacie avec vos sourires et les plus adorables surnoms.

Merci à Léa et Camille, mes super colocs de bureau, pour nos discussions et vos encouragements !

Marion, pour notre belle amitié, ton soutien et pour avoir formé notre binôme « de chic et de choc » pendant nos années de pharmacien assistant.

Héloïse, pour notre amitié, ton soutien et ton écoute, et nos soirées restau avec nos discussions intarissables.

Damien Rousseleau, merci pour ton enthousiasme, ta bonne humeur et ta gentillesse. Merci d'avoir dégrossi le travail lors de ton Master 2 sur le propofol, et de tes renseignements sur les protocoles d'anesthésie-réanimation. Merci pour les chouettes moments partagés en dehors de la pharmacie !

Félicie, Julie, Justine et Pierre-Alain, pour tous les repas à l'internat, nos soirées et les rires partagés.

Anne-Françoise et Patric, pour nos soirées belote-tapas.

Agathe, Arthur, Clarisse, Daniela, Elodie, Emilie, Erwin, Fanny, Flore, Justin, Khaoula, Laure, Laurine, Marie, Marie-Amélie, Mathieu, M^{elle} Brice, Myriam, Nicolas, Patricia, Stéphanie, Sayah, Sixtine pour tous les moments partagés.

A tous mes amis, pour leur présence, leur soutien et les joies partagées.

Amaury, merci d'être mon meilleur ami depuis toutes ces années. Merci de t'être autant intéressé à ce travail et de m'avoir écoutée et soutenue. Promis, c'est la dernière thèse!

Charlotte, merci pour nos week-ends, nos vacances, nos délires, nos appels réconfortants et toutes tes attentions. Je vais avoir plus de temps pour venir te voir maintenant !

Aurélie et Bertrand, merci pour ces moments privilégiés que nous avons partagés ensemble, pour vos appels et vos encouragements.

Amélie, Benjamin, Hélène, Terry, pour ces soirées jeux de société qui ont été de réelles bouffées d'oxygène !

Latifa et Bassam, merci pour tous les joyeux rassemblements que vous organisez autour de vous et pour vos encouragements.

Aline, Basile, Benjamin, Elodie, Marion, Perrine, Yamen, merci pour tous les moments que nous avons partagés autour d'un verre, d'un repas, au boulot et en dehors !

Amandine, Camille, Edouard, Julien, Juliette, Matthieu, Maxence, Rayane, Sylvie, merci pour nos retrouvailles qui sont toujours une fête !

Audrey, Bertrand, merci pour vos encouragements et vos appels. J'espère qu'on se reverra vite !

Marina, merci pour notre amitié précieuse depuis le début de nos études de pharmacie.

Alexandra, Antonio, Boubs, Carine, Elisa, Eric, Fabien, Faïza, Jacob, Junior, Kamikaze, Pauline, Rémy, Saïda, Valérie pour les fêtes, les repas et les anniversaires mémorables.

Pierre-Jean, merci pour ton soutien, nos soirées jeux et nos combats de sabre.

Alex, Claire, Elisa, Fabien, Florian, Gaëlle, Nicolas, Panthéa, Philibert, Pierre et Xabi, merci pour ces toujours très chouettes week-end à Pau.

Marie-Caroline, merci de nos moments partagés au CHU, de m'avoir fait découvrir les claquettes américaines, et de ton soutien depuis la belle Vendée !

Magali et Léonor, merci pour les week-ends entre Lille et Lyon

Adeline, France et Marion, pour nos moments entre filles, les bons repas, les voyages, nos discussions, vos encouragements et votre soutien sans faille !

Carole, tu as été mon double et mon binôme depuis notre rencontre au préparatoire du CHU de Lille, un soutien inconditionnel et une amie en or. Merci pour ta douceur, ton humour, ta force, et notre belle amitié. Tu me manques terriblement.

Merci à ma famille, mes piliers et mes supporteurs de la première heure

Maman, Papa, merci de m'avoir soutenue dans cette aventure, et dans tous les autres domaines de ma vie, de m'aimer et m'aider à grandir. J'espère vous le rendre au centuple.

Alice et Clémence, merci d'être les meilleures sœurs de l'Univers, et pour cette joie de vous retrouver à chaque fois.

Merci à Pierre et Gaspard d'avoir rejoint l'équipe (Papa se sent moins seul), de me faire rire aux réunions de famille avec votre rivalité pour gagner le titre de « beau-fils préféré ».

Merci à mes cousins Pauline, Nicolas, Mathieu, Aurélien et Alexis pour ces vacances, séjours et jeux partagés. Merci à Florent pour ta gentillesse et le plaisir de te retrouver aux réunions de famille, et merci à Fanny, j'espère bientôt rencontrer celle qui rend mon cousin si heureux.

Merci à mes oncles et tantes, Alain, Christine et Marion, pour leur présence bienveillante.

Merci à mes grands-parents, Mamie, Grand Père, Bon Papa et Grand Mie, qui m'ont entourée de leur amour et m'ont transmis tellement de leur savoir et de leur sagesse depuis mon plus jeune âge.

Merci à la nouvelle génération, Côme et Simon, de me faire fondre le cœur avec vos sourires et votre découverte de la vie.

Merci à ma formidable belle-famille, qui m'a accueillie à bras ouverts

Clarisse et Timothée, merci de m'avoir accueillie dans votre famille, pour vos prières et votre soutien. J'espère pouvoir bientôt vous rendre visite au Burkina.

Philippe et Ghislain, merci pour tous ces moments partagés, pour vos attentions, vous êtes comme des frères pour moi. Merci à Andrew pour ton soutien depuis la Chine, j'espère qu'on se croiera bientôt !

Mamou, Jean, Grégoire, Agathe, Natha, Renaud, Esther, Léo, Thibaut, Baptiste, Gauthier, Jules, merci pour ces réunions de famille animées et la joie de vous retrouver à chaque fois.

Serri, merci pour ta présence, de me faire rire, de m'aider à relativiser, de prendre soin de moi. Merci pour ta patience et ton amour. De nouveaux projets nous attendent, j'ai hâte de les réaliser à tes côtés.

Table des matières

Remerciements	5
Table des matières	9
Liste des abréviations	13
Liste des figures	17
Liste des tableaux	19
Liste des équations	21
Liste des annexes	23
Avant-propos	25
Introduction	27
1. Ruptures d’approvisionnement de médicaments dans le contexte de la pandémie de COVID-19 : causes, conséquences et réponses apportées	27
a. Impact de la pandémie sur la disponibilité des médicaments d’anesthésie-réanimation	27
b. Mesures mises en place pour préserver l’accès aux médicaments d’anesthésie-réanimation	28
c. Risques associés à l’utilisation de médicaments préparés localement par les PUI	29
d. Mesures de contrôle des risques associés à l’utilisation de médicaments préparés localement par les PUI	32
2. Etude de la stabilité de médicaments d’anesthésie-réanimation co-administrés sur une même voie de perfusion	33
a. Incompatibilités physico-chimiques : une problématique de sécurité pour les patients	33
b. Médicaments d’anesthésie-réanimation : Etat des lieux des pratiques et des problématiques liées à la co-perfusion	38
c. Stratégies pour limiter les risques liés à la co-perfusion	41

Premier travail expérimental : Solution de bésylate de cistracurium à 10 mg/mL préparée dans une pharmacie à usage intérieur pour pallier les pénuries de médicaments:

Etude de stabilité incluant quatre produits de dégradation.....	45
1. Introduction.....	47
2. Matériel et Méthodes	52
a. Préparation des solutions de cisatracurium	52
b. Analytes et réactifs.....	53
c. Instrument et conditions analytiques optimales pour la méthode indicatrice de stabilité.....	54
d. Etude de stabilité.....	57
3. Résultats et discussion	62
a. Essais de dégradation forcée	62
b. Validation des méthodes de dosage	63
c. Etude de stabilité.....	67
4. Conclusion	79

Second travail expérimental : Etude de la stabilité physico-chimique d'associations d'une émulsion lipidique de propofol avec des agonistes des récepteurs alpha-2-adrénergiques utilisées dans des protocoles d'analgésie multimodale ou de sédation aux soins intensifs et en réanimation

83

1. Introduction.....	85
2. Matériel et méthodes	87
a. Analytes et réactifs.....	87
b. Instrument et conditions analytiques optimales pour les méthodes indicatrices de stabilité.....	88
c. Essais de dégradation forcée	92
d. Validation de la méthode analytique.....	94
e. Etude de stabilité.....	95

f.	Analyse des données.....	100
3.	Résultats.....	101
a.	Essais de dégradation forcée	101
b.	Validation des méthodes analytiques.....	107
c.	Etude de stabilité.....	109
4.	Discussion - Conclusion	113
a.	Développement et validation de méthodes analytiques pour le dosage du propofol, de la clonidine et de la dexmédétomidine	113
b.	Etude de stabilité de l'association du propofol avec la clonidine ou la dexmédétomidine.....	115
	Discussion Générale	117
1.	Stabilité et compatibilité des médicaments d'anesthésie-réanimation : Validation des pratiques hospitalières par des études analytiques.....	117
2.	Place des méthodes analytiques dans la sécurisation de la prise en charge médicamenteuse.....	119
	Conclusion	125
	Références bibliographiques.....	127
	Annexes.....	147
	Publications et travaux.....	162
	Abstract	163
	Résumé.....	164

Liste des abréviations

$\alpha 2A$: Dans ce travail expérimental, $\alpha 2A$ = Agonistes des récepteurs alpha-2 adrénergiques

ACN : Acétonitrile

AGEPS : Agence Générale des Equipements et des Produits de Santé

ANSM : Agence Nationale de Sécurité des Médicaments et des produits de santé

BPP : Bonnes Pratiques de Préparation

C0 : Concentration initiale / de référence

CAD : *Charged Aerosol Detector* ou Détection d'aérosols chargés

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

CIVAS : *Centralized Intra Venous Additive Service* ou Préparation centralisée de médicaments intraveineux prêts à l'emploi

CLHP : Chromatographie liquide haute performance

COVID-19 : Maladie liée au Coronavirus 2019

CQI : Contrôle qualité interne ou standard de validation

DGOS : Direction Générale de l'Offre de Soins

DP : *Degradation product* ou Produit de dégradation

EDQM : *European Directorate for the quality of Medicines and healthcare* ou Direction européenne de la qualité du médicament et des soins de santé

EDTA : Edétate disodique

EIG : Evènements indésirables graves

ENEIS : Enquête nationale sur les évènements indésirables associés aux soins en établissements de santé

EPPI : Eau pour préparation injectable

ET : Ecart-type

EVA : Ethylène Vinyle Acétate

FDA : *Food and Drug Administration*

G5% : Glucose à 5%

GERPAC : Groupe d'Evaluation et de Recherche sur la Protection en Atmosphère Contrôlée

GMP : *Good Manufacturing Practices*

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

H₂SO₄ : Acide sulfurique

HCl : Acide chlorhydrique

H/E : Huile - dans – eau

HLB : *Hydrophile / lipophile balance* ou Equilibre hydrophile - lipophile

HR : Humidité relative

ICH : *International Conference on Harmonization*

IGAS : Inspection générale des affaires sociales

IV : Intraveineux

K : Dose seuil d'endotoxines ayant un effet pyrogène

λ : Longueur d'onde

J18 : 18^{ème} jour

LDD : Limite de détection

Log P : Coefficient de partage octanol-eau

LDQ : Limite de quantification

M : Dose totale maximale administrée

m/z : Masse apparente

M3 : 3 mois

MCT/LCT : *Medium chain triglyceride / long chain triglyceride* ou Mélange de chaînes de triglycérides de taille moyenne et longue

MDD : *Mean droplet diameter* ou Diamètre moyen des globules huileux

MeOH : Méthanol

MS/MS : Spectrométrie de masse en tandem

NaCl : Chlorure de sodium

NaOH : Hydroxyde de sodium

PDI : Indice de polydispersité

PE : Pharmacopée Européenne

PFAT5 : Pourcentage de globules graisseux de diamètre supérieur à 5 μm

PP : Polypropylène

PUI : Pharmacie à Usage Intérieur

PVC : PolyChlorure de Vinyle

PZ : Potentiel Zêta

réf. : Référence

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

RPLC : *Reverse phase liquid chromatography* ou Chromatographie liquide de phase inverse

Rpm : Rotation par minute

Rs : Résolution

RSD% : Ecart-types relatifs

SARS-CoV-2 : *Severe acute respiratory syndrome – coronavirus*

SCR : Substance chimique de référence

SD : Solution de dilution

SFAR : Société Française d'Anesthésie - Réanimation

SFPC : Société Française de Pharmacie Clinique

SFSTP : Société Française des Sciences et Techniques Pharmaceutiques

S/N : *Signal – to – noise ratio* ou ratio signal sur bruit

SPF : Santé Publique France

SI : Soins intensifs

SN : Numéro de série

SRLF : Société de Réanimation de Langue Française

T0 : Début de l'étude / de l'essai

t_R : Temps de rétention

USA : *United States of America* ou Etats Unis d'Amérique

USP: *United States Pharmacopeia* ou Pharmacopée Américaine

UV: Ultraviolet

Liste des figures

Figure 1 : Types d'erreurs liées à des préparations recensées aux USA de Janvier 1990 à Mars 2020 et conséquences cliniques (d'après les données de Watson <i>et al.</i> ^[18]).....	30
Figure 2 : Impact clinique des différents types d'erreurs liées aux préparations. Les résultats sont exprimés en pourcentage du nombre de patients affectés (d'après les données de Watson <i>et al.</i> ^[18]).....	31
Figure 3 : Proportion d'erreurs médicamenteuses ayant eu des conséquences cliniques en fonction du type d'erreurs retrouvées (concentration ou contamination).(d'après Watson <i>et al.</i> ^[18]).	31
Figure 4 : Structure chimique du cisatracurium.....	47
Figure 5: Structure chimique de la laudanosine	50
Figure 6 : Voies de dégradation du cisatracurium et structure des produits de dégradation (d'après Blazewicz <i>et al.</i> ^[122])	50
Figure 7 : Profil d'exactitude à 95% pour le cisatracurium	64
Figure 8 : Profil d'exactitude à 95% pour la laudanosine.....	65
Figure 9 : Evolution du nombre de particules non visibles (en particules par ampoule) dans les solutions à 10 mg/mL de cisatracurium conservées entre 2 et 8°C.....	68
Figure 10 : Evolution de la concentration en cisatracurium en fonction du temps sur 18 mois, exprimée comme pourcentage de la concentration initiale (C0).	69
Figure 11 : Evolution en fonction du temps des produits de dégradation, exprimés en pourcentages d'aire du cisatracurium.	71
Figure 12 : Chromatogramme d'une solution de cisatracurium après 18 mois de stockage à 2-8°C.	72
Figure 13 : Analyse LC-MS des fractions collectées	74
Figure 14 : Analyse LC-MS de la fraction correspondant au cisatracurium m/z = 464, M ²⁺ (Masse moléculaire = 929 g/mol).....	76
Figure 15 : Identification des produits de dégradation générés lors de l'étude de stabilité et des voies de dégradation impliquées (adapté de [122]).	78

Figure 16: Structures chimiques des α 2A.....	85
Figure 17: Structure chimique du propofol.....	86
Figure 18 : Structure chimique de l'impureté J du propofol ^[191]	87
Figure 19A : Chromatogrammes obtenus après la dégradation du propofol par de l'H ₂ O ₂ à 15 % (λ = 270 nm).....	101
Figure 19B : Chromatogrammes obtenus après la dégradation du propofol par du NaOH 5N (λ = 270 nm), par rapport à du propofol SCR à 24,8 μ g/mL.....	102
Figure 19C : Chromatogrammes obtenus après la dégradation du propofol par la chaleur (λ = 270 nm).	103
Figure 20 : Chromatogrammes obtenus après la dégradation de la clonidine par de l'H ₂ O ₂ à 3 % (λ = 210nm).....	104
Figure 21A : Chromatogrammes obtenus après la dégradation de la dexmédétomidine par de l'HCl 5N (λ = 210nm).....	105
Figure 21B : Chromatogrammes obtenus après la dégradation de la dexmédétomidine par du NaOH 5N (λ = 210nm).	106
Figure 21C : Chromatogrammes obtenus après la dégradation de la dexmédétomidine par de l'H ₂ O ₂ à 3 % (λ = 210 nm).	106
Figure 22: Profils d'exactitude.....	109
Figure 23 : Evolution des concentrations en propofol et en clonidine en fonction du temps, exprimées en pourcentage de la concentration initiale (%C ₀).....	110
Figure 24 : Evolution des concentrations en propofol et en dexmédétomidine en fonction du temps, exprimées en pourcentage de la concentration initiale (%C ₀).....	111

Liste des tableaux

Tableau I : Comparaison des différentes études de stabilité de l'atracurium et du cisatracurium ^[118-121]	49
Tableau II : Ecart-types relatifs (RSD%) pour la répétabilité, la fidélité intermédiaire et biais relatifs (méthode de dosage du cisatracurium).....	64
Tableau III : Paramètres de la droite de régression du cisatracurium, incluant les LDD et LDQ de la méthode	64
Tableau IV : Ecart-types relatifs (RSD%) pour la répétabilité, la fidélité intermédiaire et biais relatifs (méthode de dosage de la laudanosine).....	66
Tableau V : Paramètres des droites de régression pour les gammes de concentrations hautes et basses de la laudanosine, incluant les LDD et LDQ de la méthode.	66
Table VI : Identification des produits de dégradation du cisatracurium par LC-MS/MS.	75
Tableau VII : Aire des pics pour les produits de dégradation du cisatracurium	77
Tableau VIII : Conditions analytiques optimales pour le dosage en CLHP-UV du propofol, de la clonidine et de la dexmédétomidine	89
Tableau IX : Conditions d'acidification testées et résultats obtenus pour une solution à 0,5 µg/mL de dexmédétomidine.....	91
Tableau X : Conditions d'acidification testées et résultats obtenus pour une solution à 0,1 µg/mL de dexmédétomidine.....	92
Tableau XI : Conditions étudiées pour l'association du propofol avec la clonidine ou la dexmédétomidine	97
Tableau XII : Paramètres des droites de régression, écart-types relatifs (RSD%) pour la répétabilité, la fidélité intermédiaire (QCI) et les biais relatifs pour les méthodes de dosage du propofol, de la clonidine et de la dexmédétomidine.....	108

Liste des équations

Equation 1. Formule permettant le calcul de la limite de détection (LDD)	57
Equation 2. Formule permettant le calcul de la limite de quantification (LDQ).....	57

Liste des annexes

Figure S1. Chromatogrammes obtenus après la dégradation du cisatracurium par NaOH 0,005 N ($\lambda = 280$ nm).....	149
Figure S2. Chromatogrammes obtenus après la dégradation du cisatracurium par HCl 1N. ($\lambda = 280$ nm).	150
Figure S3. Chromatogrammes obtenus après l'exposition à la chaleur du cisatracurium ($\lambda = 280$ nm).	151
Figure S4. Chromatogrammes obtenus après la dégradation du cisatracurium par de l'H ₂ O ₂ 30% à 60°C. ($\lambda = 280$ nm).	152
Figure S5. Chromatogrammes obtenus après la photo-dégradation (UV 254 nm) du cisatracurium ($\lambda = 280$ nm).....	153
Tableau S1. Données détaillées de l'étude de stabilité à chaque temps d'analyse.....	154
Figure S6. Ajustement linéaire d'après l'ICH Q1E.....	155
Figure S7. Spectre de fragmentation MS/MS du cisatracurium ($m/z = 464$ (M ₂ ⁺)), énergie de collision = 30 eV.....	155
Figure S8. Spectre de fragmentation MS/MS du DP1, l'impureté A de la PE ($m/z = 430$ (M ⁺)), énergie de collision = 35 eV.	156
Figure S9. Spectre de fragmentation MS/MS de la laudanosine, l'impureté C de la PE ($m/z = 358$ (M+H ⁺)), énergie de collision = 25 eV.	156
Figure S10. Spectre de fragmentation MS/MS de DP2, l'impureté E et/ou F de la PE ($m/z = 516$ (M ⁺)), énergie de collision = 40 eV.....	157
Figure S11. Spectre de fragmentation MS/MS de DP3, l'impureté N et/ou O de la PE ($m/z = 570$ (M ⁺)), énergie de collision = 40 eV.....	157
Tableau S2. Résultats détaillés de l'étude de stabilité du propofol et de la clonidine pour un patient de 45 kg (n=3)	158
Tableau S3. Résultats détaillés de l'étude de stabilité du propofol et de la clonidine pour un patient de 150 kg (n=3)	159

Tableau S4. Résultats détaillés de l'étude de stabilité du propofol et de la dexmédétomidine pour un patient de 45 kg (n=3)	160
Tableau S5. Résultats détaillés de l'étude de stabilité du propofol et de la dexmédétomidine pour un patient de 150 kg (n=3)	161

Avant-propos

Le sujet de recherche de ce travail de Doctorat a porté sur le développement de méthodes analytiques afin d'évaluer la stabilité ou d'étudier les incompatibilités de médicaments en solution ou en systèmes dispersés. Il s'est focalisé sur des médicaments utilisés dans les services d'anesthésie et de réanimation.

La première partie de ce travail a été menée dans le contexte de rupture d'approvisionnement de médicaments essentiels d'anesthésie-réanimation rencontrée durant la pandémie de *severe acute respiratory syndrome – coronavirus* (SARS-CoV-2), nommée également COVID-19. Dans ce contexte, pour permettre la continuité des soins des patients atteints de formes sévères de COVID-19 dans les services de soins intensifs et de réanimation, il a été décidé de produire localement par la Pharmacie à Usage Intérieur (PUI) des lots de cisatracurium, un médicament de la famille des curares. Cette production a nécessité la mise au point et la validation de méthodes analytiques permettant de contrôler les lots fabriqués, ainsi que d'étudier leur stabilité dans l'optique de vérifier que celle-ci était compatible avec une utilisation en routine dans les services hospitaliers.

La seconde partie de ce travail s'est portée sur l'étude de la compatibilité de médicaments injectables administrés sur une même voie veineuse. Le manque de données de compatibilité, une problématique fréquemment rencontrée dans les services de soins intensifs-réanimation et au bloc opératoire, peut avoir des répercussions cliniques pour le patient en cas d'administration conjointe de médicaments incompatibles. Les protocoles ciblés dans cette partie étaient ceux utilisés soit pour la prise en charge de patients atteints de formes sévères de COVID-19 nécessitant une sédation et une ventilation invasive, soit des protocoles d'épargne morphinique basés sur l'analgésie multimodale, régulièrement utilisés au bloc opératoire. Ces protocoles avaient en commun la co-perfusion d'agonistes des récepteurs alpha-2 adrénergiques (clonidine ou dexmédétomidine) avec le propofol, un sédatif formulé sous la forme d'une émulsion lipidique (huile dans eau), à haut risque de déstabilisation. L'étude de ces protocoles a nécessité le développement et l'optimisation de méthodes analytiques permettant l'étude de la stabilité des trois molécules d'intérêt d'un point de vue chimique, et la stabilité physique de l'émulsion lors du mélange des médicaments dans des proportions représentatives des utilisations en pratique clinique.

Introduction

1. Ruptures d'approvisionnement de médicaments dans le contexte de la pandémie de COVID-19 : causes, conséquences et réponses apportées

a. Impact de la pandémie sur la disponibilité des médicaments d'anesthésie-réanimation

Entre Janvier 2020 et Novembre 2023, 771 820 937 cas confirmés de COVID-19 (et 6 978 175 décès) ont été recensés au niveau mondial par l'Organisation Mondiale de la Santé^[1]. Parmi eux, de nombreux patients ont nécessité une hospitalisation dans des services de soins intensifs ou de réanimation. Les cas les plus sévères ont développé une détresse respiratoire, nécessitant une prise en charge par une ventilation invasive et une sédation^[2].

Le fort afflux de patients vers les services de soins critiques, associé au besoin d'utiliser des doses plus élevées que celles des protocoles de soins habituels pour les soins de support de ces patients^[2] a entraîné une consommation accrue et massive de certains médicaments d'anesthésie-réanimation, au niveau mondial. Par exemple, une comparaison des données des mois d'avril 2019 et avril 2020 a décrit une nette augmentation de la consommation d'un anxiolytique, le midazolam (+ 204%), d'un hypnotique, le propofol (+ 165%), et d'un relaxant musculaire de la famille des curares, le cisatracurium (+ 302%)^[3,4]. Cette augmentation de la consommation mondiale de ces médicaments de soins critiques s'est accompagnée de multiples complications annexes, affectant leur disponibilité sur le marché. D'une part, la Chine, qui a été le premier pays touché par la pandémie, est également l'un des principaux producteurs de principes actifs à l'échelle mondiale et l'un des acteurs principaux de la distribution des médicaments^[5]. Ces perturbations portant sur la production de médicaments et leur distribution ont également été retrouvées chez les acteurs des autres pays concernés par la pandémie. D'autre part, afin de garantir la prise en charge de leurs patients dans un contexte de disponibilité perturbée des médicaments, de nombreux hôpitaux ont augmenté leurs stocks de médicaments d'anesthésie-réanimation accélérant leur rupture de stock globale^[6].

b. Mesures mises en place pour préserver l'accès aux médicaments d'anesthésie-réanimation

i. Mesures de surveillance et d'épargne

Face au risque de pénurie, plusieurs mesures ont été mises en place en France. D'une part, des mesures de surveillance quotidienne par l'Agence Nationale de Sécurité des Médicaments et des produits de santé (ANSM) des stocks produits et détenus par les laboratoires pharmaceutiques et par les hôpitaux ont été mises en place. Des mesures d'épargne des médicaments en tension d'approvisionnement ont été proposées, en lien avec l'instruction du ministère de la santé et de la Direction Générale de l'Offre de Soins (DGOS) du 24 avril 2020^[7] notamment par les sociétés françaises d'anesthésie-réanimation (SFAR) et la société de réanimation de langue française (SRLF) qui ont émis des recommandations et proposé des protocoles de soins adaptés. Il a par exemple été recommandé de privilégier les anesthésies loco-régionales aux anesthésies générales lorsque cela était possible^[8]. Une autre recommandation a été de recourir à des médicaments alternatifs (ex: utilisation du sévoflurane disponible, un halogéné volatil, pour économiser d'autres hypnotiques) et de favoriser les protocoles de co-analgésie (ex: association de propofol avec du midazolam, de la clonidine ou de la dexmédétomidine pour réduire les doses utilisées)^[9].

ii. Mesures de ré-internalisation de la production des médicaments en tension

En plus de ces mesures de surveillance et d'épargne, l'agence nationale Santé Publique France (SPF) a pu acquérir pour le compte de l'Etat des stocks de matières premières et organiser l'internalisation de la production par des façonniers et par un réseau de pharmacies à usage intérieur (PUI)^[10,11]. Ainsi, certains services de pharmacotechnie des PUI se sont mobilisés pour préparer et/ou contrôler localement ces médicaments classés sur la « liste des médicaments essentiels pour la prise en charge des patients admis en soins intensifs avec un diagnostic confirmé ou suspecté de COVID-19 »^[3].

C'est le cas par exemple des Hospices Civils de Lyon qui ont produit 5000 ampoules de bromure de pancuronium^[12,13], ou de la production par le Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Lille de 25 000 ampoules de bésylate de cisatracurium. Cette organisation, avec la réalisation de préparations locales de médicaments sur instruction nationale, dans un contexte de crise, a conduit à la définition d'une nouvelle catégorie de préparations : les préparations hospitalières spéciales^[14,15].

c. Risques associés à l'utilisation de médicaments préparés localement par les PUI

Le recours à des médicaments préparés localement par les PUI est potentiellement associé à plus de risques pour le patient que celui à des spécialités commerciales. En effet, le centre de recherche indépendant américain *PEW Research Centre* a recensé 1562 effets indésirables et 116 décès survenus entre 2001 et 2019 aux Etats-Unis d'Amérique (USA) en lien avec des médicaments préparés ou reconditionnés^[16].

Parmi ces évènements rapportés, plus de 50% des effets indésirables et plus de 67% des décès étaient liés à des méningites fongiques survenues en 2012-2013 suite à l'utilisation de trois lots d'une solution de méthylprednisolone pour administration intra-articulaire ou épidurale - préparée à partir d'un principe actif non stérile - contaminée par la moisissure *Exserohilum rostratum*, un germe opportuniste de l'environnement^[16-18]. Watson *et al.* ont recensé les erreurs en lien avec les préparations survenues aux USA entre janvier 1990 et mars 2020^[18]. Ils ont identifié 48 erreurs ayant eu des conséquences cliniques sur 1155 patients et 15 erreurs sans conséquences ayant concerné un nombre important de patients (Figure 1).

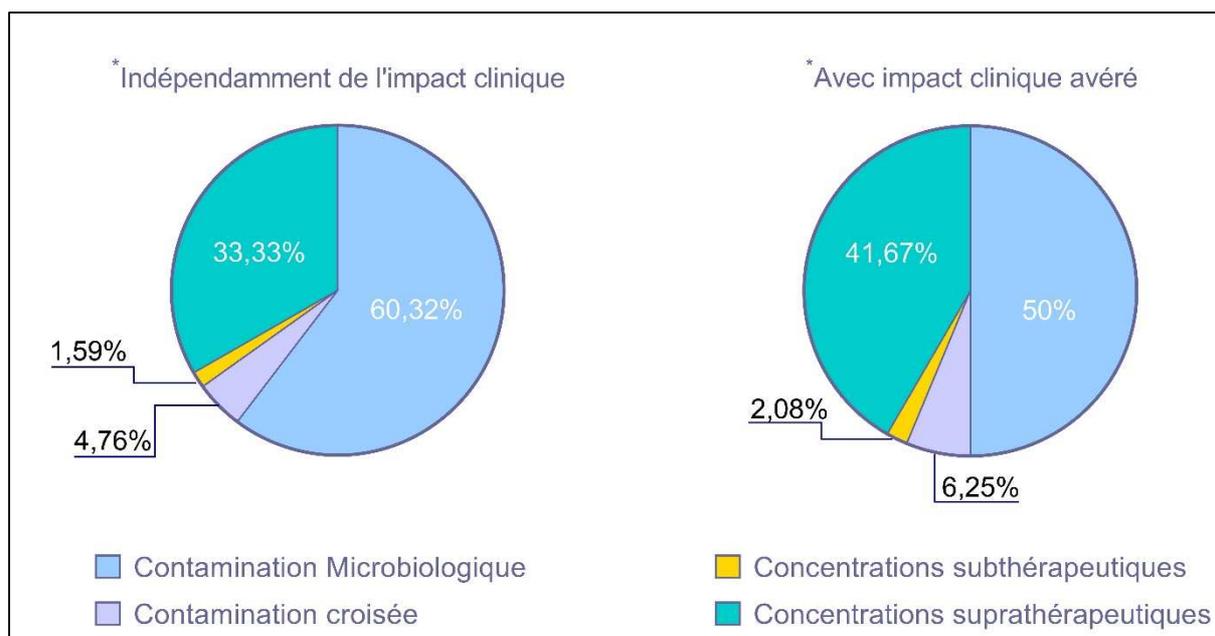


Figure 1 : Types d'erreurs liées à des préparations recensées aux USA de Janvier 1990 à Mars 2020 et conséquences cliniques (d'après les données de Watson *et al.*^[18]) Les données sont exprimées en pourcentage du nombre d'erreurs recensées.

Les erreurs retrouvées étaient soit liées à des contaminations (65,08%) qu'elles soient microbiologiques ou croisées, soit à des erreurs de concentrations (34,92%) de type sous-dosage ou sur-dosage (Figure 1). Les erreurs retrouvées étaient donc principalement la conséquence d'un mauvais contrôle des conditions de préparation.

Concernant le nombre de patients impactés par ces erreurs, une très large majorité (95,93%) était liée à une contamination microbiologique (Figure 2).

La proportion d'erreurs médicamenteuses ayant eu des conséquences cliniques, qu'elles soient liées soit à des contaminations, soit à des erreurs de concentration est présenté en figure 3.

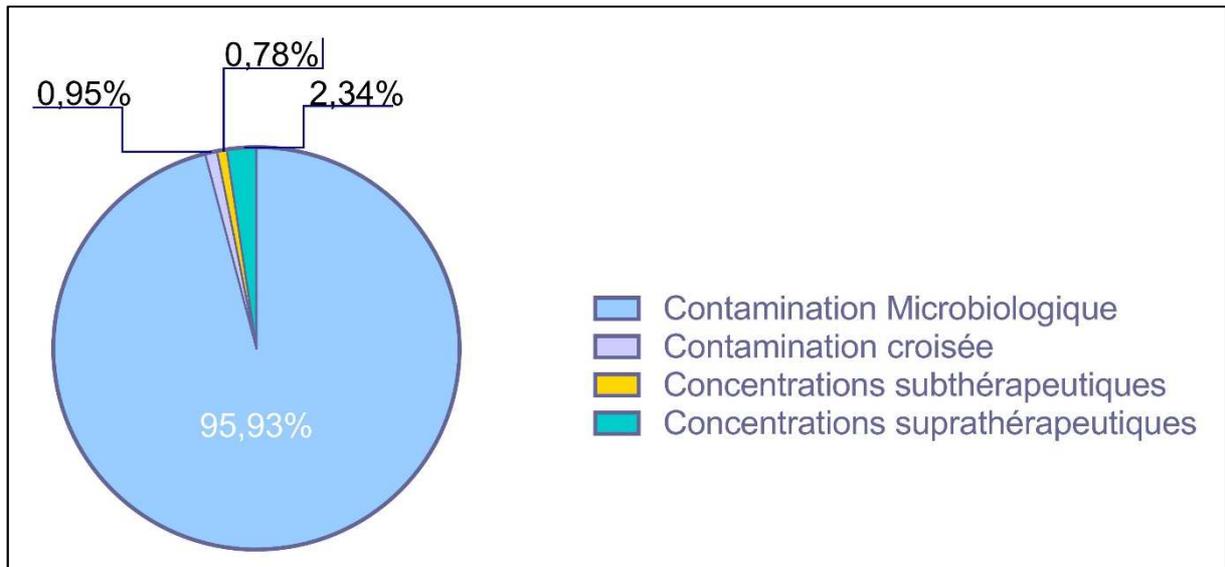


Figure 2 : Impact clinique des différents types d'erreurs liées aux préparations. Les résultats sont exprimés en pourcentage du nombre de patients affectés (d'après les données de Watson *et al.*^[18]).

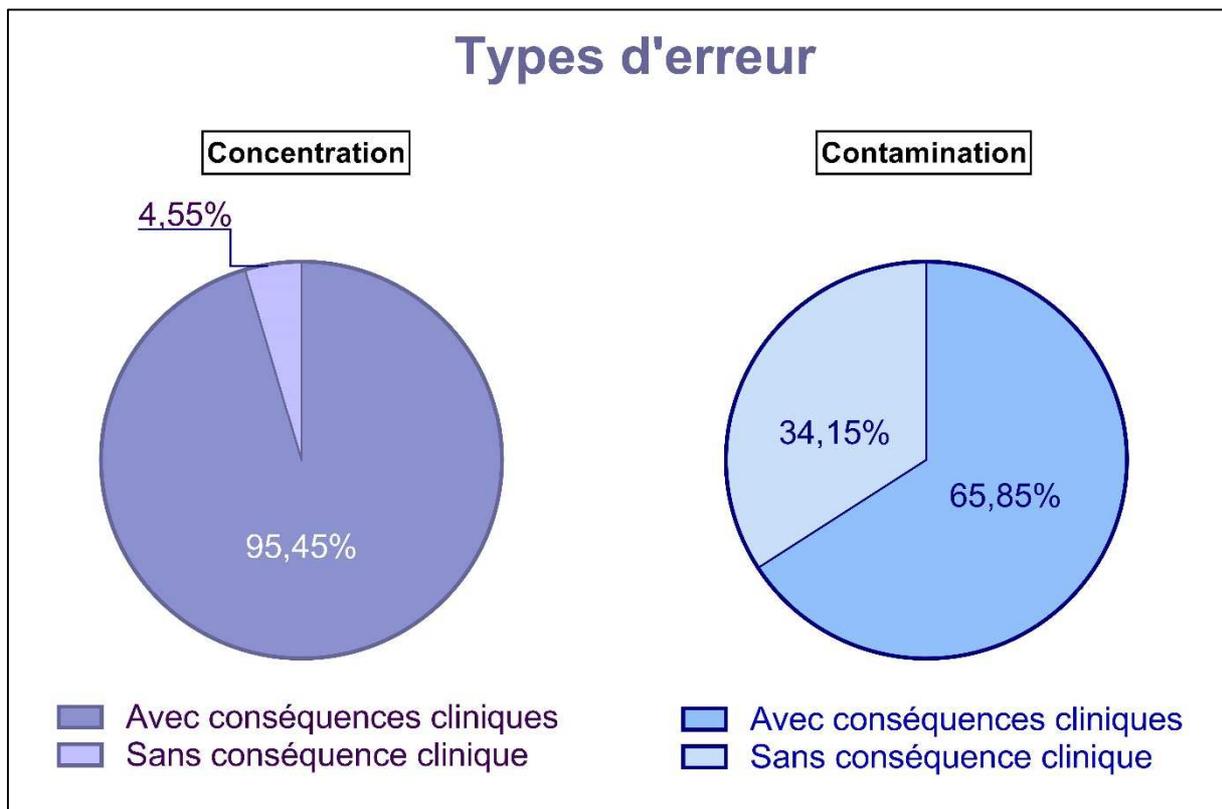


Figure 3 : Proportion d'erreurs médicamenteuses ayant eu des conséquences cliniques en fonction du type d'erreurs retrouvées (concentration ou contamination).(d'après Watson *et al.*^[18]). Les résultats sont exprimés en pourcentage du nombre d'erreurs recensées.

Guharoy *et al.* rapportent également des incidents survenus aux USA en lien avec des préparations^[17]. En 2002, quatre patients avaient développé des méningites après l'administration de solutions d'acétate de méthylprednisolone pour injection épidurale également contaminées (*Exophiala dermatitidis*, champignon dimorphique retrouvé principalement dans les lieux chauds et humides, comme les salles de bain)^[19]. En 2004, 1,4 millions de doses d'une solution pour inhalation contaminée par *Burkholderia cepacia* (germe ubiquitaire et pathogène opportuniste) avaient été distribuées au niveau national^[17,20], et en 2011 neuf patients sur les 19 ayant reçu une préparation injectable contaminée par *Serratia marcescens* (bactérie de l'environnement pathogène opportuniste) étaient décédés d'une bactériémie^[17].

En parallèle de cette problématique de contamination des préparations, des contrôles menés aléatoirement par Mahaguna *et al.* ont retrouvé un taux de non-conformité alarmant : neuf préparations sur dix d'ovules à la progestérone ne répondaient pas aux critères de qualité établis et une préparation était contaminée par la bactérie *Comamonas acidovorans* (organisme ubiquitaire et pathogène opportuniste)^[21]. Par ailleurs sur 29 préparations analysées aléatoirement par la Food and Drug Administration (FDA), près d'un tiers étaient non conformes pour au moins un des contrôles de qualité réalisés^[22].

d. Mesures de contrôle des risques associés à l'utilisation de médicaments préparés localement par les PUI

Suite à ces incidents, des mesures visant à renforcer la qualité des produits préparés ainsi que les contrôles réalisés sur ces préparations ont été mises en place aux Etats-Unis d'Amérique. Le durcissement de la législation aux Etats-Unis d'Amérique a été adopté également dans de nombreux pays du monde. Afin de limiter les risques pour les patients liés à l'utilisation de ces préparations, il est nécessaire de mener des études pour garantir dans le temps la qualité pharmaceutique des lots produits, et disposer de données de stabilité en production, en conservation ou lors de leur utilisation dans les services de soins. Les mesures de contrôle imposées dans les *Good Manufacturing Practices (GMP)*^[23] ont été intégrées dans la révision des Bonnes Pratiques de Préparation (BPP) et s'inscrivent dans cet encadrement des risques liés à la préparation de médicaments en milieu hospitalier^[24].

L'*International Conference on Harmonization* (ICH) définit la stabilité d'une préparation comme « l'aptitude d'un médicament à conserver ses propriétés chimiques, physiques, microbiologiques et biopharmaceutiques dans les limites spécifiées, pendant toute sa durée de validité »^[25]. D'après le Guide du Groupe d'Evaluation et de Recherche sur la Protection en Atmosphère Contrôlée et de la Société Française de Pharmacie Clinique (GERPAC-SFPC), la stabilité d'une préparation est définie comme l'absence de variation ou la variation dans des proportions tolérables des propriétés essentielles de la préparation dans un laps de temps donné^[26]. Une altération de la stabilité des préparations peut entraîner une perte d'efficacité et de sécurité d'un traitement. Ces instabilités peuvent être d'ordre chimique, physique ou microbiologique. Il est donc nécessaire de mener « des études de stabilité (...) dans des conditions rigoureuses et selon une méthodologie adaptée à la pratique » afin de « sécuriser le circuit du médicament en assurant un maintien de l'intégralité des propriétés de ce dernier, de sa préparation à son administration »^[26].

2. Etude de la stabilité de médicaments d'anesthésie-réanimation co-administrés sur une même voie de perfusion

- a. Incompatibilités physico-chimiques : une problématique de sécurité pour les patients

i. Définitions

L'incompatibilité est à distinguer de l'interaction médicamenteuse, qui repose sur des interactions d'ordre pharmacologique (pharmacocinétiques ou pharmacodynamiques).

L'incompatibilité médicamenteuse est un phénomène se manifestant par un phénomène d'instabilité physique ou chimique lorsque plusieurs médicaments incompatibles sont mélangés.

La définition de l'incompatibilité proposée par le *Handbook on Injectable Drugs*^[27] repose sur la présence d'au moins un des deux critères suivants : (i) l'incompatibilité visuelle ou physique (formation de particules, changement de coloration, apparition de gaz, d'un trouble ou d'un précipité, et (ii) la perte d'au moins 10% d'un ou plusieurs composés dans les conditions étudiées après au maximum 24h. Cette définition tient compte de deux possible types d'incompatibilité : l'incompatibilité physique et l'incompatibilité chimique.

L'incompatibilité physique est décrite comme généralement réversible et avec des manifestations visibles tandis que l'incompatibilité chimique est considérée comme irréversible et liée à des réactions d'instabilité chimique indétectables à l'œil nu^[28]. Parmi les instabilités chimiques pouvant survenir, on note les réactions d'hydrolyse, d'oxydation ou de réduction, la photolyse ou encore la racémisation de molécules chirales, ces instabilités pouvant entraîner des changements de pH^[26]. Des exemples d'instabilité physique sont les réactions de précipitation qui peuvent avoir des origines diverses, des modifications de solubilité, des dégagements gazeux, ou des déstabilisations d'émulsions^[28-32].

Une incompatibilité peut survenir entre plusieurs entités chimiques : entre deux principes actifs, entre deux excipients, entre un principe actif et un excipient, ou entre un principe actif ou un excipient et leur contenant.

ii. Facteurs influençant la compatibilité

De multiples facteurs peuvent influencer sur la compatibilité des médicaments soit en la préservant, soit en augmentant les réactions d'incompatibilité.

(1) Le pH

La solubilité de la plupart des molécules médicamenteuses est dépendante du pH des solutions dans lesquelles elles se trouvent. Pour les molécules de type acide ou base faible, un changement de pH - pouvant survenir lors du mélange de plusieurs médicaments sur une même voie de perfusion - peut entraîner un changement d'état d'ionisation, une baisse de solubilité voire une précipitation. Par ailleurs, le pH influence les réactions d'oxydation ainsi que celles d'hydrolyse^[26,28]. Des réactions acide-base peuvent également survenir entre des principes actifs et excipients au sein d'un mélange^[28].

(2) La formulation

De nombreux excipients jouent un rôle fondamental dans la compatibilité des médicaments. C'est le cas par exemple des co-solvants qui sont utilisés pour améliorer la solubilité de principes actifs faiblement solubles. En cas de dilution comme celles rencontrées lors du mélange de plusieurs thérapeutiques, le rapport de concentrations entre le principe actif et son co-solvant peut devenir insuffisant, entraînant une perte de solubilité de celui-ci. Cela est par exemple le cas lorsque l'on effectue une dilution supérieure au quart du diazépam dans de l'eau, formulé avec 50 % de propylène glycol et 10 % d'éthanol pour améliorer sa solubilité^[33]. Une étude a démontré des différences de compatibilité entre le propofol et la lidocaïne en fonction de la présence ou non de L-Lysine pour stabiliser l'émulsion de propofol^[34]. Deux formulations différentes de propofol, notamment en termes de conservateur (édétate disodique (EDTA) ou métabisulfite de sodium) ont démontré des profils de stabilité différents^[35,36]. Une autre étude a mis en évidence la déstabilisation de l'émulsion de propofol en présence de macrogol (polyéthylène glycol 400) présent dans la formulation de la nimodipine^[37]. Les sels formés à partir d'ions monovalents (Na^+ , K^+) sont généralement plus solubles que ceux formés avec des ions divalents (Ca^{2+} , Mg^{2+}), un mélange avec une solution contenant de tels ions peut entraîner la formation de sels insolubles de calcium, c'est le cas notamment avec la ceftriaxone^[33].

(3) L'oxygène

La plupart des principes actifs existent sous leur forme réduite et sont ainsi fortement sensibles à l'oxydation^[26]. Les réactions d'oxydation surviennent soit au contact de l'oxygène de l'air, soit en présence de molécules oxydantes.

(4) La lumière

Les rayonnements lumineux, et en particulier les rayonnements ultraviolets (UV) peuvent catalyser les réactions d'oxydation et d'hydrolyse. Leur impact va dépendre de la durée d'exposition ainsi que de l'intensité du rayonnement lumineux^[26].

(5) Le conditionnement

Les conditionnements, et notamment les matériaux qui les constituent, peuvent impacter la stabilité et la compatibilité des molécules qu'ils contiennent.

D'une part, le type de conditionnement va déterminer sa capacité à limiter l'exposition de son contenu aux rayonnements UV (présence de dioxyde de Titane, verre ambré) ou à l'oxygène, ou à limiter l'évaporation de l'eau (polypropylène (PP) ou polyéthylène (PE))^[26]. Par exemple, l'Éthylène Vinyle Acétate (EVA) est totalement perméable à l'oxygène^[26].

D'autre part, des interactions contenant-contenu peuvent survenir entre les matériaux constitutifs des contenants et les éléments du contenu (principe actif, excipient). Ces interactions peuvent être de différentes natures et sont dépendantes de la concentration des médicaments ainsi que du temps de contact avec le conditionnement. Il a été observé des phénomènes d'adsorption du propofol dans des contenants en PolyChlorure de Vinyle (PVC)^[38-40]. Un autre phénomène est le relargage de composés depuis le conditionnement vers la préparation médicamenteuse. C'est le cas notamment avec la désorption de plastifiants à partir de contenants en PVC qui peuvent être à l'origine d'effets indésirables ou toxiques^[41,42]. Un relargage d'ions alcalins depuis la surface de conditionnements en verre peut entraîner une variation du pH et ainsi influencer sur la compatibilité de leur contenu^[41]. L'impact du conditionnement sur la stabilité des médicaments a été largement étudié^[43].

Ainsi, une étude a retrouvé une moindre stabilité d'une émulsion de propofol diluée dans du chlorure de sodium (NaCl) à 0,9%, avec une augmentation du pourcentage de globules huileux de taille supérieure à 5 μm (PFAT5) lorsqu'elle était conservée dans un conditionnement plastique (PVC ou polyoléfine) par rapport à une conservation dans un conditionnement en verre (type II sodo-calcique)^[43].

(6) Le temps de contact

La probabilité de survenue d'une réaction d'incompatibilité entre deux médicaments augmente avec le temps de contact entre ceux-ci^[44]. Si certaines réactions d'incompatibilité surviennent instantanément (par exemple, précipitation de la phénytoïne immédiatement après dilution dans du glucose à 5%^[33]), d'autres ont des cinétiques plus lentes^[29]. Par exemple, une perte significative d'activité de l'ampicilline est observée après 4h de contact avec une solution de glucose à 5%^[45]. De même, un temps de contact plus long (1 mL/h versus 10 mL/h) entre le propofol et les tubulures de perfusion en PVC ont entraîné une baisse importante de concentration délivrée^[39,46]. D'après Nemeč *et al.*, le temps de contact maximal au sein d'une même tubulure de plusieurs médicaments est de l'ordre de 4 heures, en fonction de la longueur des tubulures de perfusion, de leur diamètre, et des débits d'administration^[47]. Les protocoles d'études de compatibilité entre médicaments doivent tenir compte de ces temps de contact.

(7) La concentration

La concentration des différents médicaments influe sur leur compatibilité. Une concentration élevée aura tendance à maximiser le risque de réactions, tandis qu'une faible concentration aura des conséquences plus délétères dans le cadre d'interactions avec le contenant de type adsorption ou absorption. Il a également été démontré que l'ordre de mélange des différents médicaments peut avoir un impact sur leur compatibilité, par exemple la formation de précipités phospho-calciques lors de la préparation de poches de nutrition parentérale^[48].

(8) La température

La température à laquelle sont exposés les médicaments va potentialiser les réactions d'oxydation ou d'hydrolyse ainsi que des réactions physiques^[49,50]. Une augmentation de la température de 10°C peut multiplier par un facteur 2 à 5 la vitesse des réactions de dégradation^[26]. Par ailleurs, la solubilité des molécules étant dépendante de la température, une baisse de celle-ci peut entraîner la précipitation d'une molécule à une concentration proche de sa limite de solubilité^[26].

b. Médicaments d'anesthésie-réanimation : Etat des lieux des pratiques et des problématiques liées à la co-perfusion

i. Un nombre important de médicaments intraveineux par patient

Les patients hospitalisés dans les services de soins critiques nécessitent un grand nombre de traitements. En raison de l'incapacité des patients à prendre ces médicaments par voie orale ou en lien avec la nécessité d'une action rapide, la voie intraveineuse (IV) est très souvent préférée aux autres voies d'administration^[47]. Plusieurs études ont rapporté un nombre élevé de médicaments administrés par voie IV : $7,74 \pm 2,84$ médicaments IV par patient pour Sriram *et al.*^[51] et $6,5 \pm 2,4$ médicaments dont 4 à 15 médicaments IV par prescription pour Marsilio *et al.*^[44]. En raison du nombre de voies veineuses limitées, et du nombre de traitements nécessitant une administration en continu chez ces patients, il n'est pas rare que plusieurs médicaments soient administrés simultanément sur une même voie veineuse^[52].

ii. De nombreuses incompatibilités et manque de données de compatibilité

Il n'est pas toujours possible de décaler l'administration d'un médicament, ni d'ajouter une voie IV pour limiter le risque d'incompatibilité physico-chimique. De nombreuses études se sont intéressées au risque d'incompatibilité entre les médicaments couramment administrés aux soins intensifs et en réanimation. La prévalence d'administrations en Y inappropriées dans une étude menée dans des services de soins intensifs canadiens était de 8,5% et augmentait à 18,7% pour les patients qui recevaient au moins 2 traitements en perfusion IV continue^[53].

D'après Tissot *et al.*, les incompatibilités médicamenteuses représentent 14,3% des erreurs médicamenteuses aux soins intensifs^[54]. Les données à ce sujet sont assez variables, puisque des études ont rapporté un taux d'incompatibilités entre 3,4 et 17%^[53,55-60]. Une étude a rapporté que 21,4% des montages de perfusion d'un service de greffe de moelle osseuse comportaient au moins une incompatibilité^[61]. La proportion de prescriptions comportant au moins une incompatibilité peut même s'élever jusqu'à plus de 60% dans des services de soins intensifs et de réanimation^[44,51] et jusqu'à 78,5% dans certaines études^[62]. Ces différences peuvent s'expliquer par la variété des services et de médicaments étudiés et des méthodologies des études.

Une des problématiques reste le manque de données disponibles de compatibilité pour les différents médicaments administrés, ou la présence de données contradictoires^[53]. Plusieurs études font état d'une absence de données publiées pour près de 50% des associations étudiées (55%^[59]; 54%^[53] ; 48%^[44] et 42%^[58]). Ce manque de données peut aboutir à une utilisation non sécuritaire des médicaments^[53].

iii. Conséquences cliniques

L'administration sur une même voie de perfusion de médicaments incompatibles peut avoir de graves répercussions cliniques pour les patients. En effet, une étude rapporte qu'aux soins intensifs près de 25% des incompatibilités ont des conséquences cliniques hautement significatives^[63].

L'une des conséquences d'une incompatibilité est la diminution de la concentration en principe actif entraînant une perte d'efficacité ou un échec thérapeutique^[47,53,64]. Par ailleurs, cette perte en principe actif peut s'accompagner de la formation d'un produit de dégradation toxique^[47,64].

Une autre conséquence possible est la formation de particules par précipitation, ou la déstabilisation d'émulsions, formes à haut risque de déstabilisation, entraînant l'augmentation de la taille des globules lipidiques. Ces particules et globules lipidiques peuvent obstruer les cathéters, entraîner des embolies, une inflammation et des dysfonctions d'organes parfois fatales^[47,48,52,65-74].

Des études menées sur des rats ont démontré qu'une perfusion d'émulsion ne répondant pas aux exigences de la Pharmacopée Américaine (USP ; PFAT5 > 0.05%) entraînait l'apparition de lésions hépatiques et pulmonaires^[71,72]. Des cas cliniques ont également rapporté des conséquences dramatiques survenues chez des patients suivant l'administration de médicaments incompatibles. En 2007, la *Food and Drug Administration* (FDA) a publié un message d'alerte suite aux signalements qui lui avaient été rapportés de 9 patients décédés suite à l'administration concomitante de ceftriaxone et de solutions contenant du calcium^[73]. Une autre équipe rapporte les cas de deux patientes précédemment en bonne santé chez qui un décès par arrêt cardio-respiratoire brutal est survenu suite à l'administration de nutrition parentérale contenant des précipités phospho-calciques invisibles à l'œil nu^[48].

iv. Exemple de l'analgésie multimodale

Depuis quelques années on observe un recours croissant à l'analgésie multimodale au bloc opératoire. Il s'agit d'une méthode d'anesthésie générale développée afin de limiter l'utilisation des dérivés morphiniques et ainsi réduire les effets indésirables post-opératoires, facilitant la récupération des patients et le déploiement de la chirurgie ambulatoire^[75]. La réalisation de ce type d'anesthésie repose sur l'administration simultanée de plusieurs médicaments tels que des hypnotiques (propofol), des agonistes α_2 -adrénergiques (clonidine ou dexmédétomidine), du sulfate de magnésium et des analgésiques (kétamine). Par ailleurs, l'association de propofol avec un agoniste α_2 -adrénergique fait partie des protocoles de sédation multimodale qui ont été proposés pour prendre en charge les patients atteints par la COVID-19 en services de soins intensifs et de réanimation^[2,9,76-81]. Ces associations ont permis de réduire les quantités de propofol nécessaires au maintien d'une sédation chez les patients intubés-ventilés en réanimation, et ont ainsi contribué à économiser ces médicaments en tension d'approvisionnement^[3,79,82-86].

c. Stratégies pour limiter les risques liés à la co-perfusion

L'une des stratégies les plus évidentes pour éviter les incompatibilités est l'administration de chaque médicament sur une voie dédiée. Une étude comparant deux services de soins intensifs a fait le lien entre un taux d'incompatibilités médicamenteuses significativement plus bas (2,16 vs. 6,82%) dans le service dans lequel était retrouvé un nombre plus important de cathéters par patients (2,41 cathéters par patient vs. 1,88)^[60]. Cependant, dans les services de soins critiques, les patients nécessitent un nombre important de traitements par voie IV, et le nombre de médicaments administrés simultanément excède le nombre de voies veineuses disponibles^[52]. De plus, l'ajout de voies d'abord veineux supplémentaires^[87] n'est pas sans risques puisqu'elle peut exposer à un risque de thrombose et d'infection plus élevé^[53,88]. Il est donc nécessaire de recourir à d'autres stratégies pour limiter les risques d'incompatibilités et garantir la sécurité du patient.

i. Optimisation des montages de perfusion

Une stratégie pour limiter les incompatibilités repose sur un travail d'optimisation des protocoles et des montages de perfusion^[66]. L'optimisation des protocoles est une action qui est menée par le pharmacien clinicien en lien avec le service de soins. Cette optimisation va consister (i) à prioriser les administrations IV en limitant au strict minimum le nombre de traitements à administrer par voie parentérale ou en changeant de voie d'abord^[87], et (ii) à définir des plans d'administration comportant la séquence d'administration des différents traitements, les co-administrations pouvant éventuellement être envisagées, les durées des perfusions et les rinçages^[56,66]. L'optimisation des montages de perfusion de manière à limiter la survenue d'incompatibilités physico-chimiques ou leurs conséquences cliniques, par exemple par l'ajout de filtres en ligne ne doit pas être négligée^[52,89,90]. Une étude a évalué l'impact de différentes stratégies pour réduire la charge particulaire d'un protocole couramment utilisé aux soins intensifs néonataux comportant une instabilité potentielle entre la vancomycine et la céfépime^[91]. Ce travail a démontré l'importance de la méthode de reconstitution et de dilution des médicaments ainsi que de la configuration choisie pour la perfusion (position des différents traitements sur les voies d'un cathéter veineux central 3 voies, ajout de filtres...) sur la réduction de la charge particulaire^[91].

ii. Recours à des dispositifs d'administration multi-lumières

Lorsque malgré les optimisations de protocoles le nombre de médicaments IV devant être administrés simultanément reste supérieur au nombre d'accès veineux disponibles, une solution peut être de recourir à des dispositifs d'administration multi-lumières^[47,52,65,66]. Ce type de dispositif a été développé ces dernières années et permet de réduire au maximum le temps de contact entre des médicaments potentiellement incompatibles, grâce à la limitation du volume commun dans la voie de perfusion. Une étude a démontré que le recours à un dispositif d'administration multi-lumières pour un protocole comportant une association à risque d'incompatibilité (vancomycine-pipéracilline) réduisait de 68% la charge globale de particules non visibles par rapport à un dispositif d'administration classique^[92].

Deux autres études menées *in vitro* ont démontré la possibilité d'administrer simultanément des médicaments incompatibles (furosémide (pH alcalin) et midazolam (pH acide)) grâce à l'utilisation de dispositifs d'administration multi-lumières dans certaines configurations^[93,94].

iii. Classification des médicaments en fonction de leur pH

De nombreuses incompatibilités physico-chimiques résultant de réactions acides-bases ou une perte de solubilité en lien avec une variation de pH, certains auteurs ont proposé de regrouper les médicaments en fonction de leur pH ou de leur structure chimique. Chaque groupe de médicament se voit attribuer une couleur, qui permet de visualiser facilement les médicaments ne devant pas être co-administrés^[47,55].

iv. Construction de tables de compatibilité personnalisées par service

Les équipes soignantes sont souvent confrontées à la problématique de devoir administrer un grand nombre de traitements IV sur un nombre d'accès veineux limités. Pour pouvoir prendre en charge les patients de manière optimale il est nécessaire qu'elles disposent d'informations claires et facilement accessibles sur les incompatibilités. De nombreuses bases de données et outils sont disponibles et recensent les données de compatibilité disponibles pour des paires de médicaments, on peut par exemple citer le Trissel's handbook^[95], le King's guide^[96], le tableau croisé des Hôpitaux Universitaires de Genève^[97] et la base de données Stabilis^[98]. Les protocoles de soins étant très variables d'un service à l'autre, la construction de diagrammes d'incompatibilité propres à chaque service et régulièrement mis à jour (actualisation en cas de changement de marché, rupture d'approvisionnement) et d'arbres décisionnels permet de rapidement et facilement vérifier la compatibilité d'une association de médicaments avant leur administration en Y^[87].

v. Etudes de compatibilité simulant les protocoles de soins

Lorsque des données de compatibilité sont disponibles et non contradictoires, il est possible de construire des tables de compatibilité pour sécuriser la co-administration de médicaments IV dans un service donné. Cependant, de nombreux travaux soulignent le manque de ressources sur la compatibilité, et l'intérêt de réaliser des études analytiques de compatibilité basées sur la pratique clinique^[44,47,53]. Certains auteurs évoquent même la nécessité de réaliser des études de simulation afin de valider les pratiques de soins^[87].

Comme nous venons de l'aborder dans cette partie introductive, le recours à des méthodes analytiques fiables est incontournable pour déterminer les meilleures conditions de conservation et durées de stabilité de médicaments fabriqués par des PUI ou lors de l'étude d'incompatibilités potentielles entre plusieurs médicaments administrés par voie intraveineuse.

Ainsi dans le prochain chapitre, nous allons détailler le travail analytique ayant permis d'étudier la stabilité et les voies de dégradation du cisatracurium, après fabrication par la PUI durant la crise de la COVID-19.

Premier travail expérimental :

Solution de bésylate de cistracurium à 10 mg/mL
préparée dans une pharmacie à usage intérieur
pour pallier les pénuries de médicaments: Etude de
stabilité incluant quatre produits de dégradation

1. Introduction

Le cisatracurium (figure 4) est un agent de blocage neuromusculaire non dépolarisant de durée d'action intermédiaire appartenant à la famille des benzylisoquinolines dont font partie les curares^[99-103]. Le cisatracurium (*cis-cis* atracurium) est l'un des 10 stéréo-isomères de l'a atracurium^[104,105] et possède une activité de blocage neuromusculaire 3 à 5 fois supérieure à celle de l'a atracurium^[106].

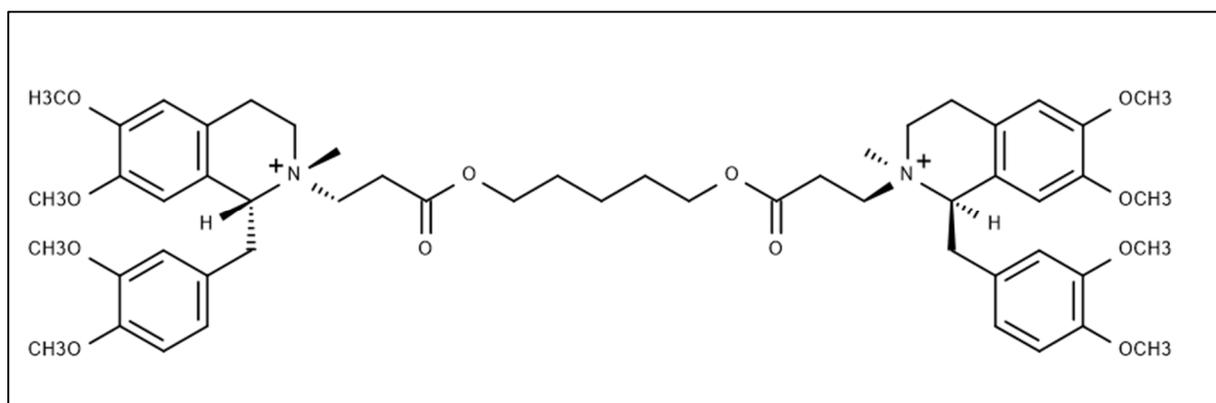


Figure 4 : Structure chimique du cisatracurium

En Europe, il est commercialisé sous la forme de bésylate de cisatracurium avec des concentrations variant entre 2 et 5 mg/mL de cisatracurium base^[99,103,107]. Il est utilisé pour induire la relaxation des muscles striés pendant les anesthésies générales ou lors de la sédation dans les services de réanimation et soins intensifs^[99,101-103,108,109]. Le cisatracurium est le seul curare recommandé pour les perfusions prolongées chez les patients souffrant de syndromes de détresse respiratoire aiguë ou de soins intensif-réanimation car il est associé à un risque plus faible d'histamino-libération^[100,106,109,110]. En raison du nombre important de patients nécessitant une ventilation invasive pendant la pandémie de maladie au coronavirus 2019 (COVID-19), les besoins en agents de blocage neuromusculaire ont considérablement augmenté au niveau mondial et ont conduit à des ruptures d'approvisionnement^[111-115].

Afin de pouvoir traiter les cas sévères de COVID-19 pendant toute la durée de la crise sanitaire, le préparatoire du Centre Hospitalo-Universitaire de Lille a préparé sur site des ampoules de solution injectable de cisatracurium titrées à 10 mg/mL, dans le cadre d'une démarche nationale sous l'égide de l'ANSM. La formulation s'est basée sur celles proposées dans la Pharmacopée américaine (USP)^[116] et dans le *Handbook of Pharmaceutical Manufacturing Formulations*^[117]. A ce jour, seules quelques données de stabilité sont disponibles pour des formes commerciales ou diluées de cisatracurium ou d'atracurium^[118-121] (tableau I).

Xu *et al.*^[120] ont étudié des solutions à 2 et 10 mg/mL de cisatracurium dans des flacons en verre et ont retrouvé une stabilité de 45 jours à 23°C et 90 jours à 4°C. Stockées dans des seringues en polypropylène, les solutions de cisatracurium à 2 mg/mL étaient considérées comme stables 30 jours à 4 et à 23°C, d'après Xu *et al.*^[120] ou au moins 7 jours à 5 et 25°C d'après Pignard *et al.*^[121]. Les solutions de cisatracurium à 5 mg/mL étaient stables pour au moins 7 jours à 5 et 25°C^[121]. Par ailleurs, la solution commerciale de cisatracurium à 10mg/mL (Nimbex®) est décrite comme stable 24 mois lorsqu'elle est conservée entre 2 et 8°C et à l'abri de la lumière^[103] avec une baisse de concentration de l'ordre de 5% par an dans ces mêmes conditions de conservation^[101,102,104,117]. Il n'y a cependant pas de donnée dans la littérature sur la stabilité de solutions injectables de cisatracurium à 10 mg/mL stockées réfrigérées en ampoules de verre ambré pendant plus de 90 jours.

L'instabilité du cisatracurium est déjà en partie documentée dans la littérature : les fournisseurs des solutions commerciales de cisatracurium recommandent un stockage entre 2 et 8°C^[101-103,108,116] car la molécule est décrite comme instable à température ambiante^[102]. Il est également recommandé de préserver les ampoules de la lumière et de ne pas les congeler^[101-103,108,116].

Tableau I : Comparaison des différentes études de stabilité de l'atracurium et du cisatracurium^[118-121]

G5% : Glucose à 5%, CLHP-UV : Chromatographie liquide haute performance couplée à une détection UV, HR : humidité relative, NaCl 0.9% : Chlorure de sodium à 0,9%, PP : Polypropylène

49

Auteur	Année	Molécule	Concentration	Solvant	Température	Conditionnement	Temps d'analyse	Paramètres étudiés	Conclusions
Russel	1990	Atracurium	Non renseignée	Non renseigné	20°C	Non renseigné	0, 1, 2, 3 mois	Dosage atracurium (CLHP-UV) Recherche des produits de dégradation	Stable 93 jours à 20°C (perte de 9,4%)
Pramar	1996	Atracurium	10 mg/mL	Pur	5°C 25°C 40°C	Seringues plastique	0, 7, 14, 21, 28, 35 et 42 jours	Dosage atracurium (CLHP-UV) Aspect visuel	Stable 42 jours à 5°C et à 25°C Stable 7 jours à 40°C puis perte de stabilité
			0,5 mg/mL	NaCl 0.9% G5%	5°C 25°C 40°C	Seringues plastique	0, 7 et 14 jours		Dégradé après 14 jours à 5°C et 25°C Dégradé après 7 jours à 40°C
Xu	1998	Cisatracurium	2 mg/mL	Pur	4°C 23°C ± lumière	Flacons non ouverts (5 et 10 mL) Seringues de 3 mL	0, 1, 7, 14, 21, 30, 45 et 90 jours (flacons) 0, 7, 14, 30 jours (seringues)	<u>Stabilité physique :</u> - Aspect visuel - Turbidité - Particules visibles - Particules non visibles <u>Stabilité chimique (CLHP-UV) :</u> - Dosage cisatracurium - Recherche des produits de dégradation	Stable 90 jours à 4°C (Flacon non ouvert) Stable 45 jours à 23°C (Flacons non ouverts, perte <6%) Stable 30 jours à 4°C et 23°C (Seringues, perte <5%)
			10 mg/mL	Pur	4°C 23°C ± lumière	Flacons non ouverts (20 mL)	0, 1, 7, 14, 21, 30, 45 et 90 jours		Stable 90 jours à 4°C Stable 45 jours à 23°C (perte de 1 à 4%) et à 90 jours protégé de la lumière (-7%)
			0,1 mg/mL 2 mg/mL 5 mg/mL	NaCl 0.9% G5%	4°C 23°C + lumière	Poches PVC	0, 7, 14, 30 jours		<u>0,1 mg/mL :</u> Stable (perte <3%) pendant au moins 30 jours à 4°C Stable 7 jours (G5%) et 14 jours (NaCl 0,9%) à 23°C, puis perte de stabilité <u>2 mg/mL :</u> Stable (perte <3%) pendant au moins 30 jours à 4°C Stable 14 jours (G5%, perte 8%) et 30 jours (NaCl 0,9%, perte 5%) à 23°C <u>5 mg/mL :</u> Stable 30 jours à 4°C et 23°C
Pignard	2014	Cisatracurium	0,1 mg/mL	NaCl 0.9% G5%	5°C 25°C + 60% HR	Seringues PP 50 mL Poches polyoléfine 50 mL	0, 1, 2, 7 jours	<u>Stabilité physique :</u> - Aspect visuel - Turbidité - Coloration - Particules visibles - Particules non visibles <u>Stabilité chimique :</u> - Dosage cisatracurium (CLHP-UV) - Recherche des produits de dégradation ou de racémisation (CLHP-UV) - pH - Osmolalité	Stable 7 jours à 5°C Stable 48 heures (NaCl 0,9% et G5%) à 25°C dans seringue et poche Apparition de produits de dégradation entre 24 et 48 heures à 25°C
			2 mg/mL 5 mg/mL	Pur		Seringues PP 50 mL			Stable 7 jours à 5°C et à 25°C (perte <3%)

La laudanosine (figure 5) est l'un des produits de dégradation finaux identifiés du cisatracurium à la fois par la voie de l'hydrolyse de l'ester et celle de l'élimination d'Hofmann^[105,106,109,122,123] (figure 6). Bien que la laudanosine soit décrite comme ayant des effets neurotoxiques^[122,124–129], elle est rarement quantifiée comme marqueur de la dégradation du cisatracurium dans les études^[121].

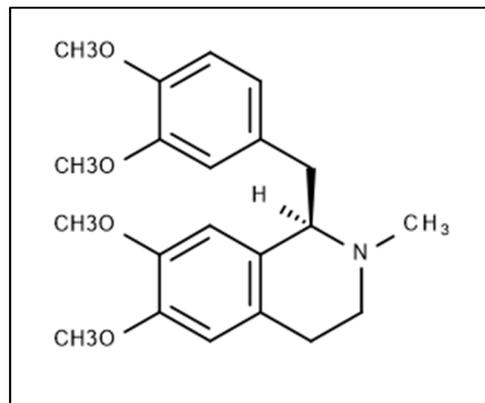


Figure 5: Structure chimique de la laudanosine

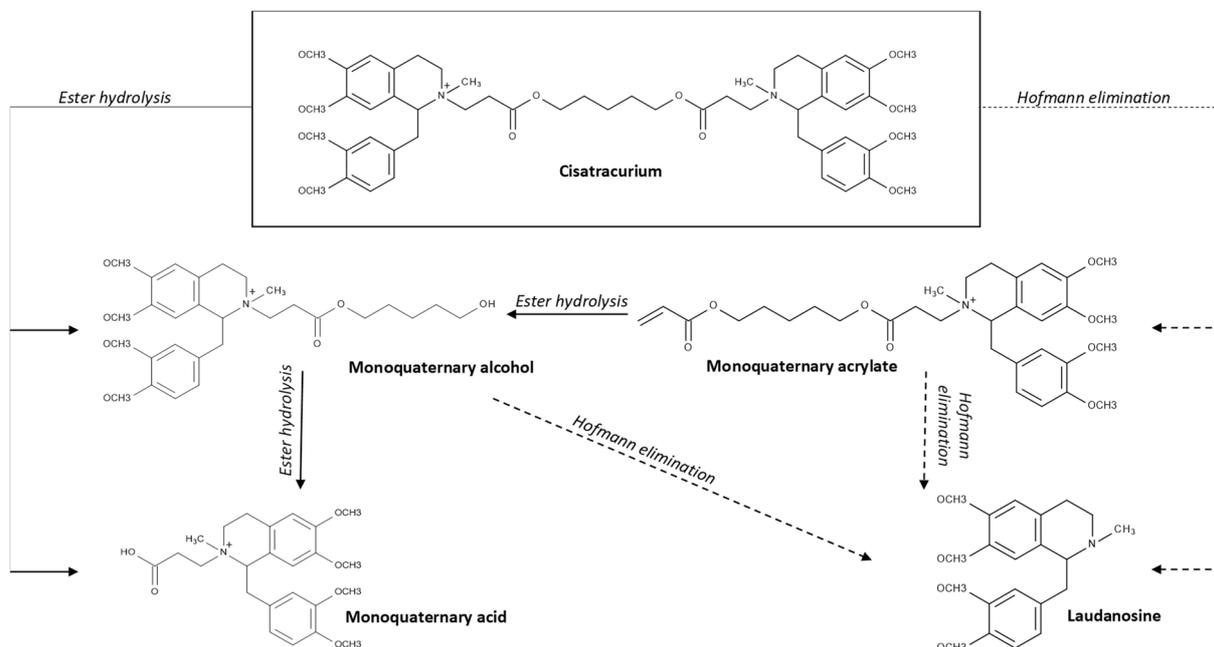


Figure 6 : Voies de dégradation du cisatracurium et structure des produits de dégradation (d'après Blazewicz *et al.*^[122])

De nombreuses méthodes de dosage de l'atracurium ou du cisatracurium avec leurs produits de dégradation ou leurs métabolites ont été décrites. Certaines techniques non séparatives avaient recours à la fluorimétrie^[130,131] ou à de l'électrochimie^[132]. D'autres avaient recours à l'électrophorèse capillaire couplée à une détection par électrochimiluminescence^[100].

Les autres techniques décrites étaient basées sur une séparation du (cis)atracurium de ses potentiels produits de dégradation par une chromatographie liquide haute performance (CLHP) en polarité de phase inverse (C18, C8)^[49,50,105,106,116,118-123,133-147].

Les méthodes de détection les plus souvent décrites pour le dosage de l'atracurium et du cisatracurium en CLHP sont l'UV à 280 nm^[49,50,116,118-121,123,133-137], la fluorescence avec des longueurs d'onde d'excitation de 230 ou 280 nm et d'émission de 312 ou 320 nm^[105,106,138-147], ou la spectrométrie de masse en mode positif^[104,148-154].

D'autres modes de détection plus anecdotiques, comme la Résonance Magnétique Nucléaire (ou RMN)^[155], la radioactivité^[150] ou par détection d'aérosols chargés (CAD)^[122] sont également décrits.

Dans le contexte de rupture d'approvisionnement observée durant la pandémie à la COVID-19, les objectifs du travail ont été de développer une formulation simple de cisatracurium en solution et d'étudier sa stabilité quand elle est stockée à température dirigée entre +2°C et +8°C après une production locale par des pharmacies à usage intérieur.

Pour cela, nous avons développé et validé une méthode de dosage à la fois du cisatracurium et de la laudanosine par CLHP-UV et nous nous sommes assurés de sa capacité à être indicatrice de stabilité. Puis, la stabilité de solutions injectables de cisatracurium pendant 18 mois a été évaluée. Les produits de dégradation formés au cours de cette étude ont été identifiés grâce à une technique de chromatographie liquide couplée à un spectromètre de masse en tandem (CLHP-MS/MS). Les fractions analysées en CLHP-MS/MS avaient préalablement été isolées grâce à une séparation semi-préparative réalisée en CLHP-UV sur une solution conservée pendant 18 mois entre 2 et 8°C. Les résultats obtenus nous ont permis d'identifier une voie de dégradation du cisatracurium dans les solutions préparées et conservées dans nos conditions opératoires.

2. Matériel et Méthodes

a. Préparation des solutions de cisatracurium

La formulation s'est basée sur celles proposées dans la Pharmacopée Américaine^[116] et dans le *Handbook of Pharmaceutical Manufacturing Formulations*^[117].

Les solutions de cisatracurium ont été préparées sous hotte à flux d'air vertical (ISO 4.8) dans une salle à atmosphère contrôlée (ISO 5). Le bésylate de cisatracurium de qualité Pharmacopée Européenne (Lianyungang Guike Pharmaceutical Co, Jiangsu, Chine) a été pesé sur une balance de précision (Quintix224-1CFR ; numéro de série (SN) : 0038103652, précision : 0,1 mg dans l'intervalle 10 mg - 220 g ; Sartorius, Goettingen, Allemagne).

La poudre a été placée dans une cuve en acier inoxydable de 47 L (Goavec Engineering, Alençon, France) et solubilisée dans de l'eau pour préparation injectable (Viaflo 1000 mL Baxter, Guyancourt, France) pour obtenir une concentration finale de 10 mg/mL en agitant à 300 tours/minute (rpm) pendant 20 min avec un agitateur IKA Eurostar 20 (EURO ST 20DS500, IKA, Staufen, Allemagne) et un bras à hélices IKA 3 (R1382). Une fois une solution homogène obtenue, le pH a été ajusté à 3,5 en ajoutant une quantité suffisante (environ 1,6 g par 20 L) d'acide benzène sulfonique de qualité pharmaceutique (Sigma Aldrich, Buchs, Suisse). Le pH d'un échantillon a ensuite été vérifié à l'aide d'un pH-mètre étalonné (HI5222 ; SN : 02190006991, Hanna Instruments, Woonsocket, RI, USA) et d'une électrode de verre HI1053B (SN : 05292DBN, Hanna Instruments).

La solution a ensuite été transférée via un filtre à capsule Fluorodyne EX EDF KLEENPAK de 0,22 µm (réf. : NP5LUEDFP1G, PALL, Port Washington, NY, USA) directement dans une seconde cuve en acier inoxydable de 47 L (Goavec Engineering) avec un tuyau en silicone catalysé au platine Pumpsil® (8,0 mm de diamètre x 1,6 mm d'épaisseur de paroi, référence (réf.) : 913.A080.016, Watson Marlow, Falmouth, Royaume Uni) et une pompe péristaltique 530S Watson Marlow (SN : 200608-302166, réf. : 050.9131.10E).

La solution pharmaceutique brute a été filtrée une seconde fois à travers une capsule KLEENPAK Fluorodyne EX EDF de 0,22 µm et conditionnée dans des ampoules en verre ambré de type 1 (14.75 EP 0.55) de 5 mL (SOTAPHARM, La Ferté Bernard, France), à l'aide d'une tubulure en silicone catalysé au platine Pumpsil® et d'une pompe de remplissage Watson Marlow 530S. Les ampoules ont été ouvertes, remplies (5,2-5,6 mL par ampoule) et scellées avec un remplisseur d'ampoules ROTA R910 (SN : 29588/79, ROTA, Wehr, Allemagne). Chaque lot était composé d'environ 4 000 ampoules de 5 mL (volume extractible : 5 mL).

b. Analytes et réactifs

Les substances chimiques de référence (SCR) pour le cisatracurium (réf : Y0001766) et la laudanosine (réf. : Y0001765) ont été obtenues auprès de la Direction européenne de la qualité du médicament et des soins de santé (EDQM ; Strasbourg, France).

L'acétonitrile de qualité chromatographique (ACN ; Hipersolv chromanorm, réf. : 83639.320) a été obtenu auprès de VWR BDH Prolabo (Fontenay-sous-Bois, France), le méthanol de qualité chromatographique (MeOH ; Lichrosolv supelco, réf. : 1. 06007.1000) a été obtenu auprès de Sigma Aldrich (Saint-Louis, MI, USA), et l'eau pour préparation injectable (EPPI ; VERSYLENE®, eau stérile réf. : B230531) a été obtenue auprès de Fresenius Kabi France (Sèvres, France). L'acide formique (réf. : 33015M) et le formiate d'ammonium (réf. : 798568) de qualité réactif Pharmacopée Européenne (PE) (≥ 98%) ont été obtenus auprès de Sigma Aldrich (Saint-Louis, MI, USA).

c. Instrument et conditions analytiques optimales pour la méthode indicatrice de stabilité

i. Conditions chromatographiques

Les solutions ont été analysées sur un système de chromatographie Ultimate 3000® (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, USA) composé d'une pompe quaternaire (LPG 3400SD, série #8188086), d'un passeur automatique d'échantillons (WPS 3000TSL, série #8188780), d'un four à effet Peltier (TCC 3000, série #06032578) et d'un détecteur à barrettes de diodes (DAD3000, série #8188520). Chaque analyse durait 20 minutes. Les données ont été analysées à l'aide du logiciel Chroméléon 7 (version 7.2.2.6394) et des algorithmes Cobra Wizard et Component Table Wizard (ThermoFisher Scientific).

La méthode chromatographique était basée sur celles décrites dans la littérature^[116,120,121,133]. Une précolonne Hypersil GOLD® C18 (10 × 4 mm ; 5µm, SN : 20023867, ThermoFisher Scientific) et d'une colonne Hypersil GOLD® C18 (150 × 4 mm ; 5 µm, SN : 20058938, ThermoFisher Scientific) ont été utilisées. La colonne était maintenue à 25 °C. La phase mobile était constituée d'un mélange de 20 % de MeOH, 20 % d'ACN, 60 % d'EPPI, et 1 % d'acide formique à 98 % et 10 g/L de formiate d'ammonium.

Une solution de dilution (SD) a été utilisée pour diluer les échantillons avant l'injection. Elle consistait en un mélange de 20 % de MeOH, 20 % d'ACN, 60 % d'EPPI et 0,04 % d'acide formique à 98 %, correspondant à la phase mobile sans sel d'ammonium et avec moins d'acide formique. La SD a été répartie dans des flacons de 50 mL et conservée à -20°C. Pour chaque jour d'analyse, les quantités nécessaires de SD ont été décongelées immédiatement avant utilisation.

La longueur d'onde de détection a été fixée à 280 nm, correspondant à l'un des maxima d'absorbance du cisatracurium et de la laudanosine ; l'autre pic à 235 nm étant considéré comme moins spécifique^[116,133]. Le débit était réglé à 1,5 mL/min (pression ≈ 180 bars). La température du passeur automatique d'échantillons était maintenue à 10°C. Un volume de 20 µL d'échantillon était injecté pour l'analyse.

ii. Etude de dégradation forcée

Une méthode indicatrice de stabilité valide est capable de séparer le composé et ses produits de dégradation (DP) avec un degré de résolution suffisant (résolution (Rs) > 1,5)^[26,156,157]. Pour valider les performances de notre méthode en matière d'indication de la stabilité, nous avons réalisé des essais de dégradation forcée du cisatracurium SCR conformément aux directives du groupe de travail commun du Groupe d'Evaluation et de Recherche sur la Protection en Atmosphère Contrôlée et de la Société Française de Pharmacie Clinique (GERPAC-SFPC)^[26] en mélangeant des volumes égaux d'une solution de cisatracurium de 400 µg/mL dans la SD et de l'hydroxyde de sodium (NaOH) à 0,005 N à température ambiante, de l'acide chlorhydrique (HCl) à 0,1 N à température ambiante ou du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) à 30 % à 60 °C. Les mélanges ont été neutralisés avant l'analyse à 0, 10, 20 et 30 min et à 1, 2 et 3 h. Le cisatracurium a également été dégradé en exposant une solution de bésylate de cisatracurium à 400 µg/mL à une température de 60 °C pendant trois heures, de 105 °C pendant deux heures, ou à une lumière UV (254 nm) pendant 7 jours au maximum.

Chaque condition a été maintenue jusqu'à ce que la concentration de cisatracurium ait diminué d'au moins 20%^[26]. Avant l'analyse, chaque échantillon a été dilué à 100 µg/mL dans la SD et filtré sur un filtre de 0,22 µm en acétate de cellulose régénérée (Chromoptic, réf. : 17162078, Courtaboeuf, France).

iii. Validation de la méthode analytique

Les solutions mères de cisatracurium ont été préparées en dissolvant précisément 10,0 mg de bésylate de cisatracurium SCR (balance Quintix 224-1CFR, SN : 0034905650 ; précision : 0,1 mg dans l'intervalle 10 mg - 220 g, Sartorius) dans 10 mL de SD dans une fiole jaugée. Les standards d'étalonnage (100, 120, 140, 160 et 180 µg/mL) et les standards de validation (contrôles de qualité internes - CQI) : 110, 130, 150 et 170 µg/mL) pour le bésylate de cisatracurium ont été préparés à partir de ces solutions mères.

La gamme de validation de la laudanosine a été choisie de manière à pouvoir la doser à partir de sa limite de quantification (LDQ) jusqu'à une concentration correspondant à la dégradation de 10 % du cisatracurium initialement présent, calculée en se basant sur l'hypothèse selon laquelle une molécule de cisatracurium peut se dégrader en deux molécules de laudanosine^[105,122]. En raison de la large gamme de concentrations ciblées (de 0,1 à 75 µg/mL) et afin d'augmenter la précision du dosage à de faibles concentrations de laudanosine, deux gammes d'étalonnage ont été réalisées : une gamme basse de 0,1 à 2,5 µg/mL et une gamme haute de 2 à 75 µg/mL.

Les solutions mères de laudanosine ont été préparées en dissolvant précisément 10,0 mg de laudanosine SCR dans 10 mL de SD dans une fiole jaugée. Les solutions mères ont été diluées dans de la SD à 100 µg/mL (S2), puis à 5 µg/mL (S3). Les gammes d'étalonnage hautes et basses et les standards de validation correspondants (CQI) ont été préparés à partir de S2 et S3, respectivement.

La validation statistique de la méthode de dosage a été menée conformément aux directives de la société française des sciences et techniques pharmaceutiques (SFSTP)^[158-161] par trois opérateurs différents, pendant trois jours consécutifs, et avec différentes solutions mères pour la gamme d'étalonnage (1 étalonnage par jour) et les CQI (3 séries par jour) préparées quotidiennement et pesées individuellement.

Conformément aux directives de la SFSTP, les critères d'acceptation pour l'écart-type relatif (pour les calculs de répétabilité et de fidélité intermédiaire) et le biais relatif ont été fixés à 15 %^[158-161].

Les lignes directrices de la SFSTP sont basées sur la "précision" (également appelée "erreur totale"), qui est la somme de l'erreur systématique (justesse) et de l'erreur aléatoire (fidélité intermédiaire) obtenues avec les standards de validation. Un profil d'exactitude est tracé pour chaque méthode analytique ; il représente l'erreur totale en fonction de la concentration des standards de validation et sert ainsi d'outil d'aide à la décision. L'analyste prédéfinit l'erreur acceptable (limites d'acceptation) et le risque (l'intervalle de tolérance avec un risque β). Le profil d'exactitude indique donc la probabilité avec laquelle les mesures sont incluses dans l'intervalle d'acceptation.

Conformément aux directives de la SFSTP, nous avons également déterminé la spécificité, la fonction de réponse, la linéarité, la justesse et la précision (répétabilité et précision intermédiaire). Le profil d'exactitude a été construit avec des limites d'acceptation fixées à $\pm 10\%$ pour la quantification (l'erreur maximale tolérable) et un risque de type 1 de 5%.

La limite de détection (LDD) et la LDQ de la méthode analytique ont été calculées selon la méthode de l'*International Conference on Harmonization* (ICH)^[162], en utilisant l'écart-type (ET) de l'amplitude du signal d'un blanc analysé 10 fois et la pente de la fonction de réponse (a), selon les équations 1 et 2, respectivement.

$$LDD = \frac{3,3 \times ET}{a}$$

Equation 1. Formule permettant le calcul de la limite de détection (LDD)

$$LDQ = \frac{10 \times ET}{a}$$

Equation 2. Formule permettant le calcul de la limite de quantification (LDQ)

d. Etude de stabilité

L'étude de stabilité a été réalisée conformément aux recommandations du guide méthodologique GERPAC-SFPC^[26]. Quarante-cinq ampoules ont été analysées immédiatement après la production (T0) : 12 pour le comptage des particules non visibles, 20 pour l'essai de stérilité, 10 pour la quantification par CLHP-UV et 3 pour les autres analyses (pH, osmolalité, caractères organoleptiques, recherche d'endotoxines bactériennes). Les ampoules restantes du lot ont été réfrigérées (à 2-8 °C) et analysées (teneur, pH et osmolalité) après 3 mois (M3), M5, M7, M9, M12, M15, M16, M17 et M18. La stérilité et la recherche des endotoxines bactériennes ont été testées à T0, M12, M15 et M18. Le comptage des particules non visibles dans la solution a été réalisé à T0, M5, M9, M12 et M18.

i. Comptage des particules, mesure de l'osmolalité et du pH

À chaque point de l'étude, un même opérateur a inspecté les solutions à la recherche d'un changement de couleur ou de l'apparition d'un trouble, de particules (conformément à la monographie PE 2.9.20)^[163], de gaz ou de précipités (par rapport à un contrôle EPPI).

Le pH des solutions a été mesuré à l'aide d'un pH-mètre HI5222 (SN : 02190006991, Hanna Instruments) et d'une électrode en verre HI1053B (SN : 05292DBN, Hanna Instruments). L'osmolalité a été mesurée à l'aide d'un osmomètre OSMO1 (SN 19101407B, Advanced Instruments, Norwood, MA, USA). Les mesures étaient répétées sur trois ampoules.

Les particules non visibles dans la préparation ont été dénombrées (selon la méthode 1 (par blocage de la lumière) de la monographie 2.9.19 de la PE^[164]) aux points d'analyse initiaux (T0) et finaux respectifs (M5, M9, M12 ou M18) de l'étude de stabilité, à l'aide d'un compteur à particules APSS-2000 (Particle Measuring Systems, Boulder, CO, USA) piloté par le logiciel SamplerSight Pharma (version 3.0 SP2 3.0.2.15744, Particle Measuring Systems). Pour répondre aux exigences de volume requis pour l'analyse (minimum 30 mL), six ampoules ont été regroupées pour chaque mesure. Toutes les analyses ont été dupliquées.

ii. Essai de stérilité et recherche d'endotoxines bactériennes

Les essais de stérilité ont été réalisés dans un laboratoire de microbiologie environnementale à T0, M12, M15, et M18. La méthodologie de l'essai combinait les monographies 2.6.1 et 5.1.9 de la PE 10.8^[165,166]. Les échantillons ont étéensemencés en condition aseptique sous une hotte à flux d'air laminaire vertical. La surface extérieure des ampoules a été décontaminée avec de l'éthanol 70% v/v et recouverte d'une compresse stérile de 10 × 10 cm. Puis, un total de 5 mL de la solution pour perfusion (2,5 mL par tube) a été injecté dans un milieu de culture (bouillon cœur-cervelle), dont la fertilité avait été validée précédemment. Les tubes ont ensuite été incubés à 22°C et 35°C pendant 14 jours et examinés après 4 et 14 jours d'incubation.

Conformément aux monographies 2.6.14 et 5.1.10 de la PE^[167,168], les endotoxines bactériennes ont été quantifiées à l'aide d'une méthode cinétique-chromogène (méthode D) en utilisant des cartouches EndoSafe® - portable Test System (Charles River, Charleston, NC, USA) et l'analyseur correspondant (Charles River série 6930). Les échantillons ont été dilués au 1/800^{ème} dans de l'eau exempte d'endotoxines bactériennes (LAL reagent water, Lonza, Walkersville, MD, USA).

iii. Analyse par CLHP-UV des ampoules fabriquées

Les ampoules étaient diluées dans de la SD pour obtenir une concentration de l'ordre de 100 µg/mL de cisatracurium base (correspondant à 134 µg/mL de bésylate de cisatracurium), ce qui correspond au milieu de la gamme de concentration validée. Avant l'analyse des échantillons, des blancs (phase mobile et SD) et des CQI (110, 130, 150 et 170 µg/mL) étaient préparés dans les mêmes conditions. Les CQI étaient analysés dans un ordre aléatoire afin de contrôler le processus analytique. Avant leur analyse, chaque échantillon a été filtré au travers d'une membrane en acétate de cellulose régénérée de 0,22 µm (Chromoptic, réf. : 17162078).

iv. Instrument et conditions analytiques pour l'identification des produits de dégradation

A la fin de l'étude de stabilité, afin d'identifier les DP du cisatracurium, les échantillons ont été analysés par CLHP-MS/MS sur une chaîne UFLC-XR (Shimadzu, Kyoto, Japon) couplée à un spectromètre de masse hybride triple quadripôle/linear ion trap QTRAP® 5500 MS/MS (AB Sciex, Foster City, CA, USA) équipé d'une source d'ions électrospray Turbo V™. Le contrôle des instruments, l'acquisition et l'analyse des données ont été réalisés à l'aide du logiciel Analyst (version 1.7.2, AB Sciex).

La séparation a été réalisée en chromatographie liquide de phase inverse (RPLC) sur une colonne Hypersil GOLD® (150 × 4 mm ; 5 µm, SN : 20058938) précédée d'une pré-colonne (même phase stationnaire ; 10 × 4 mm ; 5 µm, SN : 20058938 ; Thermo Fisher Scientific) maintenue à 25°C. Le volume d'injection était de 2 µL ou de 20 µL.

L'échantillon a été élué à un débit de 1 mL/min en mode isocratique. La phase mobile était composée d'une solution de formiate d'ammonium 5 mM et d'acide formique 0,1 %/MeOH/ACN-60/20/20 (%v/v/v). Chaque analyse durait 12 minutes.

La détection par spectrométrie de masse a été réalisée en mode d'ionisation positif. Les paramètres de la source d'ionisation ont été optimisés et réglés comme suit : tension de nébulisation des ions (5500 V), débit du gaz de nébulisation (air, 50 psi), débit du gaz rideau (azote, 25 psi), température de la source (600°C) avec un débit de gaz auxiliaire (air, 50 psi), et un potentiel de séparation (DP, 100 V). Le spectromètre de masse a fonctionné à une résolution unitaire. Les données ont été enregistrées en mode *full scan* pour des valeurs de *m/z* entre 300 et 1000 Da. Dans l'analyse MS/MS, le mode *product ion scan* a été utilisé, et les spectres ont été enregistrés pour des valeurs *m/z* comprises entre 50 et 600 Da. L'énergie de collision a été optimisée pour chaque composé.

(1) Préparation des fractions pour l'identification des DP du cisatracurium en CLHP-MS/MS

La phase mobile utilisée pour l'analyse en CLHP-UV n'était pas compatible avec une analyse en spectrométrie de masse et a donc été remplacée par une phase mobile moins chargée en sels. Les profils chromatographiques obtenus avec la phase mobile compatible avec la MS et ceux obtenus avec la phase mobile utilisée pour l'analyse CLHP-UV étaient globalement similaires mais comportaient quelques différences au regard de certains temps de rétention. Notre stratégie a donc été d'isoler les DP par une méthode CLHP-UV semi-préparative avant leur analyse par CLHP-MS/MS.

Chaque fraction correspondant à un produit de dégradation (DP) ou au cisatracurium a été collectée manuellement avant l'analyse CLHP-MS/MS à l'aide d'une méthode semi-préparative en CLHP-UV.

Dix échantillons de solution de cisatracurium provenant d'une ampoule ayant été stockée pendant 18 mois à 2-8°C ont été injectés successivement. Les 10 fractions séparées ont été regroupées avant l'analyse en CLHP-MS/MS.

v. *Analyse des données*

La stabilité chimique a été considérée comme acceptable si la concentration résiduelle de cisatracurium se situait entre 90 et 110 % de la valeur initiale (C0) et en l'absence de DP toxiques, ou de toute variation significative des autres paramètres étudiés (caractères organoleptiques, pH, osmolalité, etc.). Il n'existe pas de donnée spécifique dans la littérature sur la toxicité des DP du cisatracurium autres que la laudanosine. Étant donné que les DP du cisatracurium n'ont pas d'activité de blocage neuromusculaire^[121], un suivi semi-quantitatif des DP du cisatracurium a été considéré comme suffisant pour les DP autres que la laudanosine.

Selon la monographie USP pour les solutions injectables de bésylate de cisatracurium, la limite d'acceptation fixée pour les DP est de 4 % de la surface du pic correspondant au cisatracurium (base) pour la laudanosine, 4,3 % pour l'acide cis-quaternaire (impureté A de la PE^[133]), 5 % pour l'alcool cis-quaternaire (impureté F de la PE^[133]), 2,5 % pour le cis-monoacrylate (impureté O de la PE^[133]) et 14,4 % pour le total des DP^[116].

En ce qui concerne le comptage des particules non visibles dans les solutions injectables, et selon la méthode employée, la valeur maximale autorisée par la monographie PE 2.9.19 est de 6000 particules/contenant pour les particules > 10 µm et de 60 particules/contenant pour les particules > 25 µm^[164].

Le seuil limite d'endotoxines bactériennes a été calculé pour un poids corporel moyen de 70 kg, selon la formule de la monographie PE (limite d'endotoxine = K / M)^[167,168], avec une dose seuil d'endotoxines ayant un effet pyrogène (K) de 5 UI d'endotoxine par kg de masse corporelle, et une dose totale maximale administrée (M) de 20 mg/h (basée sur les protocoles standard de nos unités de soins intensifs et de réanimation^[110,169-171]). La valeur seuil obtenue était de 17,5 UI/mg (8,75 UI/mL).

3. Résultats et discussion

a. Essais de dégradation forcée

Quatre DP ont été détectés au cours de l'étude de dégradation forcée : l'un a été identifié comme étant la laudanosine (temps de rétention (t_R) = 1,7 min) et les trois autres ont été désignés comme DP1, DP2, et DP3 (avec des t_R de 1,4 ; 2,1 et 8,0 min, respectivement). Les chromatogrammes des essais de dégradation forcée sont présentés dans les figures S1-S5 de l'annexe.

À T0, 87 % du cisatracurium avaient été dégradés par l'ajout de 0,005 N NaOH (Figure S1), ce qui a conduit à de fortes augmentations des niveaux des quatre DP. Après 10 minutes d'exposition, le cisatracurium avait été entièrement dégradé, et seuls le DP1 et la laudanosine étaient détectés.

Le cisatracurium a été légèrement dégradé par l'ajout de HCl 1N (figure S2) ; 13,8 % de la substance étaient dégradés après 3 heures d'exposition, et les niveaux de DP1 et DP2 étaient augmentés.

Après une exposition à une température de 105°C pendant deux heures (figure S3), 27 % du cisatracurium avaient été dégradés - principalement en laudanosine et en DP3. Aucune dégradation n'a été constatée après 3 heures à 60°C.

Le cisatracurium est assez stable dans un environnement oxydant (Figure S4) ; seulement 13 % ont été dégradés après 2 heures d'exposition à du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) titré à 30 % à 60°C, et les niveaux de laudanosine et de DP3 ont augmenté.

Lors de l'exposition à la lumière UV (254 nm) (Figure S5), environ 5 % du cisatracurium étaient dégradés toutes les 24 heures. Ainsi, 19 % avaient été dégradés après 96 heures. Nous avons identifié quatre nouveaux DP (t_R = 4,5 min ; 5,5 min ; 9,5 min et 11 min).

Ces résultats sont cohérents (en partie) avec ceux rapportés par Xu *et al.*^[120] et Pignard *et al.*^[121], qui ont constaté que le cisatracurium se dégradait dans des conditions acides (HCl 1 N), alcalines (NaOH 1 N) et oxydantes (H₂O₂ 3 %)^[120], et après exposition à la chaleur^[120,121].

Sur la base des données de la littérature, les chercheurs avaient identifié deux DP : la laudanosine et l'acrylate monoquatenaire^[121]. Néanmoins, au vu du chromatogramme présenté dans la publication, deux autres DP (non identifiés) étaient également présents.

Ces résultats indiquent que notre méthode indicatrice de stabilité est valide car il n'y a pas eu d'interférence entre le pic du cisatracurium et les pics des DP ($R_s > 1,5$)^[26,156,157].

Pour évaluer la spécificité de notre méthode, nous avons réalisé des expériences CLHP-MS/MS (voir ci-dessous).

Nos techniques de préparation et de stockage du cisatracurium étaient appropriées au regard de la dégradation observée lors des essais de dégradation forcée à pH alcalin et à la chaleur. En effet, pour assurer la stabilité du cisatracurium, nous avons ajusté le pH à 3,5, stérilisé la solution par une double filtration stérilisante (plutôt que de recourir à une stérilisation thermique) et l'avons conservée dans des ampoules en verre ambré (pour la protection contre les UV).

b. Validation des méthodes de dosage

i. Méthode de dosage du cisatracurium

La précision intra-journalière (répétabilité), la précision inter-journalière (fidélité intermédiaire) et les biais relatifs étaient inférieurs à 2 % (tableau II). Les paramètres de la droite de régression pour le cisatracurium sont résumés dans le tableau III. Le profil d'exactitude à 95 % se situait dans les limites d'acceptation prédéfinies pour des concentrations de bésylate de cisatracurium allant de 110 à 170 µg/mL (figure 7).

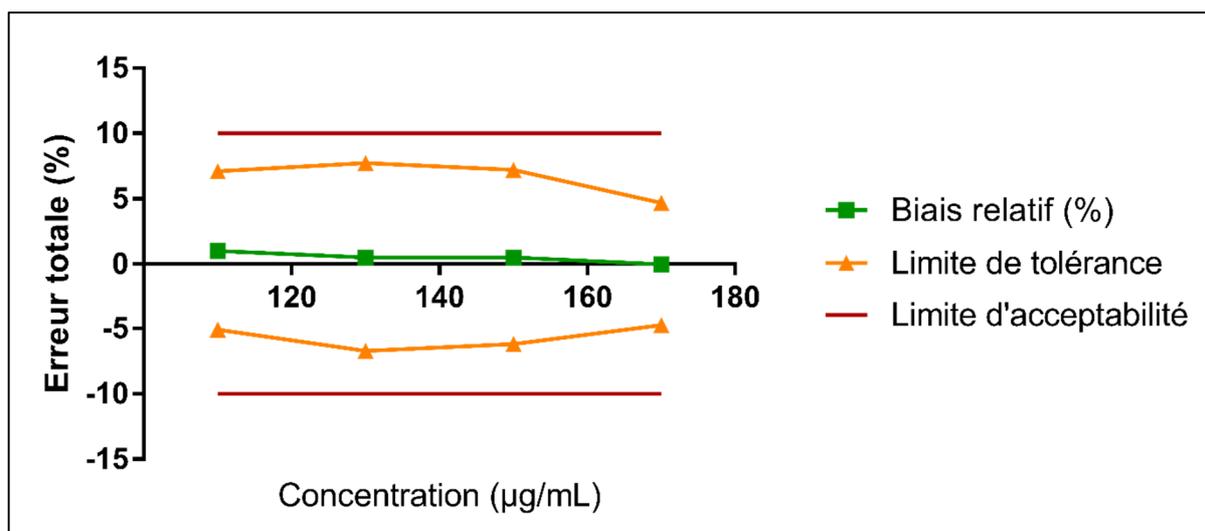


Figure 7 : Profil d'exactitude à 95% pour le cisatracurium

Tableau II : Ecarts-types relatifs (RSD%) pour la répétabilité, la fidélité intermédiaire et biais relatifs (méthode de dosage du cisatracurium)

Composé	Concentration (µg/mL)	%RSD répétabilité	%RSD fidélité intermédiaire	Biais relatif (%)
Cisatracurium (bésylate)	110	0,56%	1,68%	1,01%
	130	0,71%	1,99%	0,51%
	150	0,82%	1,39%	0,51%
	170	0,21%	1,29%	-0,02%

Tableau III : Paramètres de la droite de régression du cisatracurium, incluant les LDD et LDQ de la méthode

Composé	Concentration (µg/mL)	R ²	Pente	Ordonnée à l'origine	LDD (µg/mL)	LDQ (µg/mL)
Cisatracurium (bésylate)	100 – 180	0,9989	0,117	-0,667	0,78	2,38

ii. Méthode de dosage de la laudanosine

La précision intra-journalière (répétabilité), la précision inter-journalière (fidélité intermédiaire) et le biais relatif étaient inférieurs à 3 % (tableau IV). Les paramètres de la droite de régression pour les gammes de concentrations basses et hautes de laudanosine sont résumés dans le tableau V. Le profil d'exactitude à 95 % se situait dans les limites d'acceptation prédéfinies pour les gammes de concentrations basses et élevées (Figure 8).

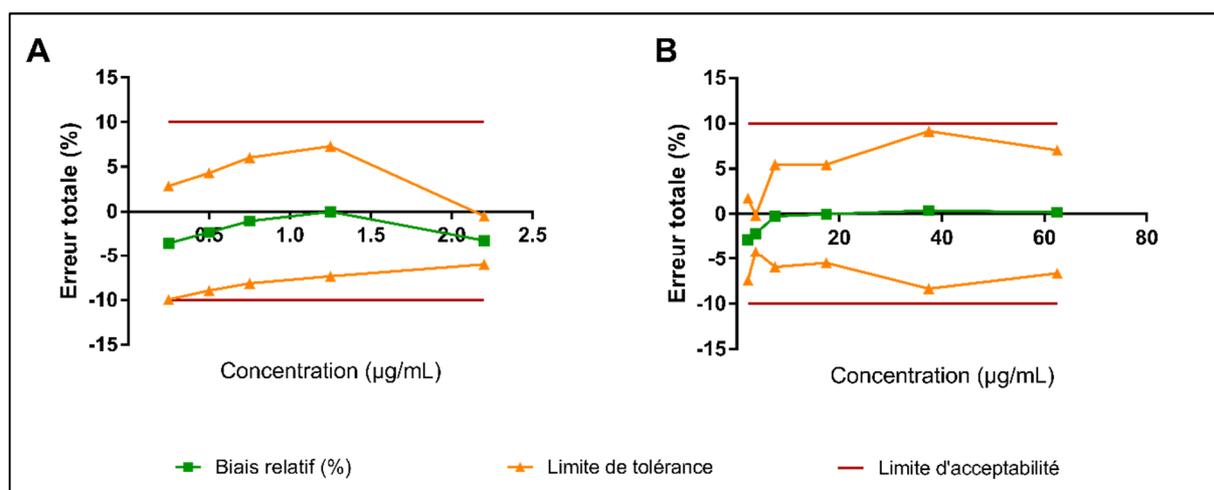


Figure 8 : Profil d'exactitude à 95% pour la laudanosine. **A)** Gamme de concentrations basses, la limite de tolérance inférieure pour une concentration de 0,25 µg/mL est égale à -9,95%. **B)** Gamme de concentrations hautes

Tableau IV : Ecart-types relatifs (RSD%) pour la répétabilité, la fidélité intermédiaire et biais relatifs (méthode de dosage de la laudanosine).

Laudanosine	Concentration (µg/mL)	%RSD répétabilité	%RSD fidélité intermédiaire	Biais relatif (%)
Concentrations basses	0,25	2,64%	2,64%	-3,54%
	0,5	1,04%	1,85%	-2,31%
	0,75	0,80%	1,96%	-1,05%
	1,25	0,89%	2,03%	-0,02%
	2,20	0,57%	0,89%	1,07%
Concentrations hautes	2,20	0,57%	1,27%	-2,82%
	3,70	0,45%	0,66%	-2,17%
	7,50	0,78%	1,58%	-0,25%
	17,50	0,76%	1,52%	-0,02%
	37,50	0,36%	1,77%	0,39%
	62,50	0,37%	1,38%	0,20%

Tableau V : Paramètres des droites de régression pour les gammes de concentrations hautes et basses de la laudanosine, incluant les LDD et LDQ de la méthode.

Composé	Concentration (µg/mL)	R ²	Pente	Ordonnée à l'origine	LDD (µg/mL)	LDQ (µg/mL)
Laudanosine concentrations basses	0,1 – 2,5	0,9996	0,213	0,008	0,290	0,877
Laudanosine concentrations hautes	2 – 75	0,99998	0,213	0,006	0,290	0,878

c. Etude de stabilité

Sur une période de 18 mois, nous avons étudié la stabilité de solutions de bésylate de cisatracurium à 10 mg/mL préparées par la PUI de l'hôpital de Lille et conservées entre 2 et 8°C dans des ampoules en verre ambré.

i. Comptage particulaire, osmolalité et pH

Tout au long de l'étude de stabilité, aucune modification des caractères organoleptiques de la solution de cisatracurium n'a été observée. L'osmolalité moyenne \pm écart-type (ET) est restée stable (et dans l'intervalle validé de 10 à 30 mOsm/kg) tout au long de l'étude : $25,0 \pm 0,0$ mOsm/kg à T0, $24,6 \pm 0,8$ mOsm/kg à M15 et $24,7 \pm 0,7$ mOsm/kg à M18^[116,172].

Le pH de la solution de cisatracurium a légèrement diminué, passant de $3,43 \pm 0,02$ (T0) à $3,14 \pm 0,01$ à M15 et à $3,10 \pm 0,02$ à M18, mais il est resté dans l'intervalle de pH déterminé (de 3,0 à 3,7)^[116,172].

Bien que le nombre de particules non visibles $\geq 10 \mu\text{m}$ ait légèrement diminué, et que le nombre de particules non visibles $\geq 25 \mu\text{m}$ ait légèrement augmenté, les valeurs sont restées bien en dessous des seuils de la PE pour les solutions injectables^[164]. (Figure 9). Les valeurs obtenues pour chaque essai sont présentées en détail dans les données supplémentaires en annexe (tableau S1).

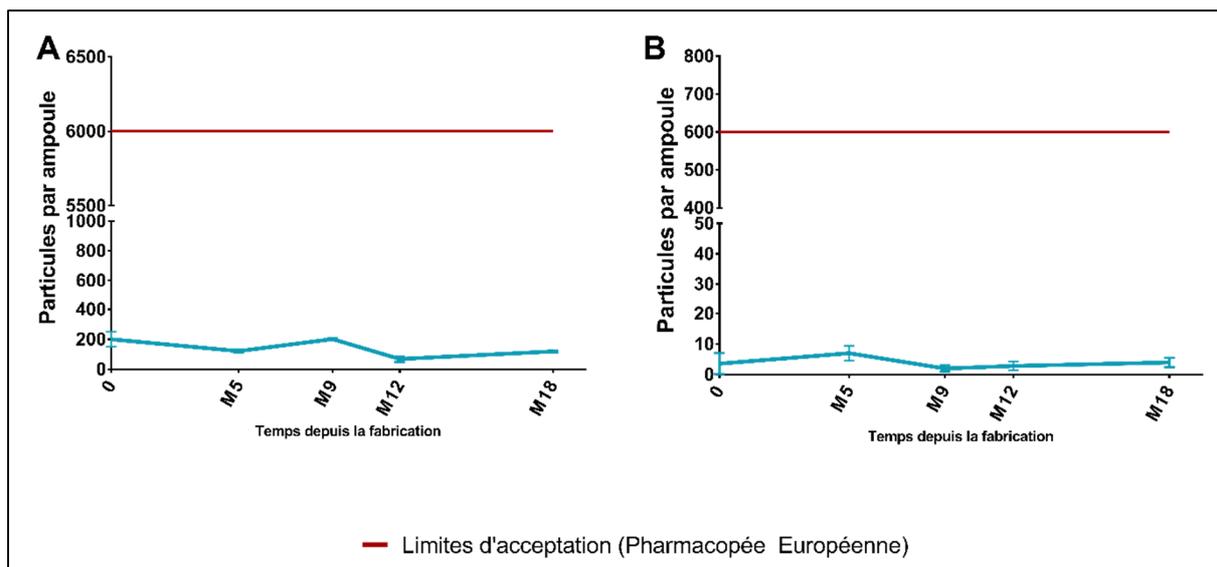


Figure 9 : Evolution du nombre de particules non visibles (en particules par ampoule) dans les solutions à 10 mg/mL de cisatracurium conservées entre 2 et 8°C.

A) Particules non visibles $\geq 10 \mu\text{m}$; B) Particules non visibles $\geq 25 \mu\text{m}$.

ii. Essai de stérilité et recherche des endotoxines bactériennes

Aucune croissance bactérienne n'ayant été détectée dans les solutions de cisatracurium conservées entre 2 et 8°C dans aucune des conditions testées, nous avons conclu à un maintien de la stérilité des solutions pendant les 18 mois de l'étude de stabilité.

La quantité d'endotoxines bactériennes est restée inférieure à 8 UI/mL tout au long de l'étude et était inférieure à la limite calculée de 8,75 UI/mL^[167,168].

iii. Analyse par CLHP-UV des ampoules fabriquées

Immédiatement après la fabrication, la teneur en cisatracurium mesurée dans les ampoules était de $9,73 \pm 0,20$ mg/mL. La concentration en cisatracurium a diminué au cours des quinze premiers mois de l'étude de stabilité (figure 10). A partir de M15, et une concentration en cisatracurium égale à 93,9% de C0, la concentration est rapidement devenue inférieure à la limite basse de l'intervalle d'acceptation à $\pm 10\%$, avec une concentration égale à 88,7% de C0 après 18 mois de conservation entre 2 et 8°C.

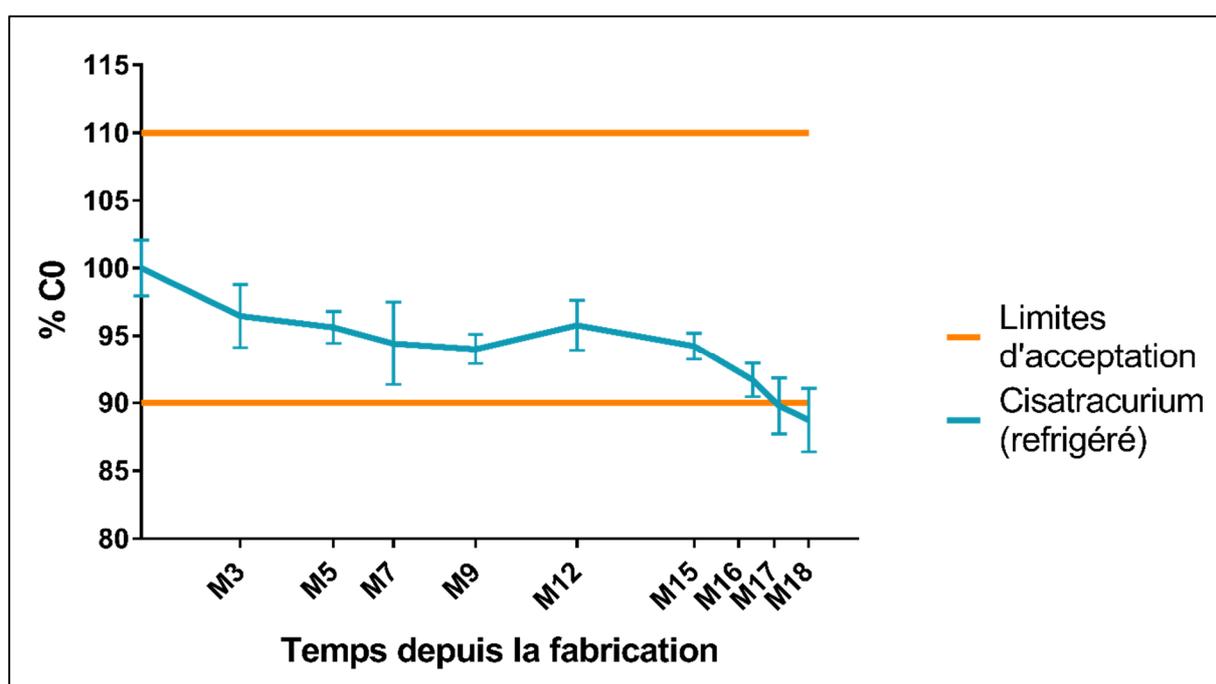


Figure 10 : Evolution de la concentration en cisatracurium en fonction du temps sur 18 mois, exprimée comme pourcentage de la concentration initiale (C0). Les solutions de cisatracurium étaient conservées en ampoules de verre ambré entre 2 et 8 °C.

Sur la base de ces résultats, nous avons conclu que les ampoules de solution injectable de cisatracurium restent stables pendant 15 mois entre 2 et 8°C. Le fait que la concentration initiale en cisatracurium du seul lot pilote produit pour l'étude de stabilité soit égale à 97% de la concentration cible entraîne une réduction de la date de péremption, puisque la limite de 90% de la concentration cible sera atteinte plus rapidement qu'avec une concentration initiale égale à 100% de la concentration cible.

Sachant que le taux de perte d'activité est constant^[101,102], ce problème pourrait être résolu en modifiant notre procédé de préparation de manière à obtenir une solution de cisatracurium volontairement surdosée, comme cela est mentionné dans le résumé des caractéristiques du produit Nimbex[®]^[173]. Bien que cette pratique soit généralement déconseillée, notamment par l'ICH Q8 R2^[174], dans notre cas, il s'agit d'une solution complémentaire intéressante qui doit être prise en considération, même s'il faut définir avec précision le montant potentiel de l'ajustement de concentration pour ce médicament dont la marge thérapeutique est étroite.

Par ailleurs, une étude de stabilité devra être réalisée pour évaluer la durée de conservation des ampoules de cisatracurium avec une surconcentration définie.

Nous avons défini la durée de conservation des ampoules en utilisant soit la méthodologie du GERPAC-SFPC, soit le modèle de l'ICH (Q1E) utilisant une droite de régression et un intervalle de confiance. La durée de conservation a été définie par l'intersection entre l'intervalle de confiance bas et la valeur égale à 90% de la cible^[175].

Les résultats obtenus avec les deux méthodes sont concordants puisque la stabilité a été estimée à 15 mois avec la méthode GERPAC-SFPC, tandis que la méthode de l'ICH Q1E a estimé une stabilité de 16,3 mois (Annexe figure S6).

A notre connaissance, ce travail est le premier à avoir démontré la stabilité pendant plus de 90 jours d'une solution de cisatracurium conservée entre 2-8°C^[120,121].

La concentration en laudanosine a augmenté de $15,24 \pm 1,34 \mu\text{g/mL}$ à T0 jusqu'à $61,09 \pm 0,85 \mu\text{g/mL}$ à M15 (durée maximale retenue pour la stabilité des ampoules de cisatracurium), ce qui correspond à une dégradation d'environ 1,5% de la concentration initiale en cisatracurium. L'aire du pic de laudanosine a été multipliée par 5 après 18 mois de conservation, et les aires correspondant aux DP1, DP2 et DP3 ont été multipliées par 50, 30 et 6 fois respectivement sur la même période (Figure 11).

Cela suggère, contrairement à l'hypothèse communément admise, que la dégradation du cisatracurium en deux molécules de laudanosine par la voie d'élimination d'Hofmann n'est pas la voie de dégradation majoritaire. En effet, d'autres produits de dégradation, dont le DP1 et le DP2 semblent être générés en plus grande quantité pendant notre étude de stabilité.

Ces différences pourraient être expliquées par des formulations, des modes de stérilisation ou des conditionnements différents par rapport à notre formulation.

L'aire totale des produits de dégradation correspond à 6,68% et 8,25% de l'aire correspondant au cisatracurium sous forme base après 15 et 18 mois de conservation respectivement. Ces valeurs sont inférieures à la limite de 14,4% établie par l'USP^[116].

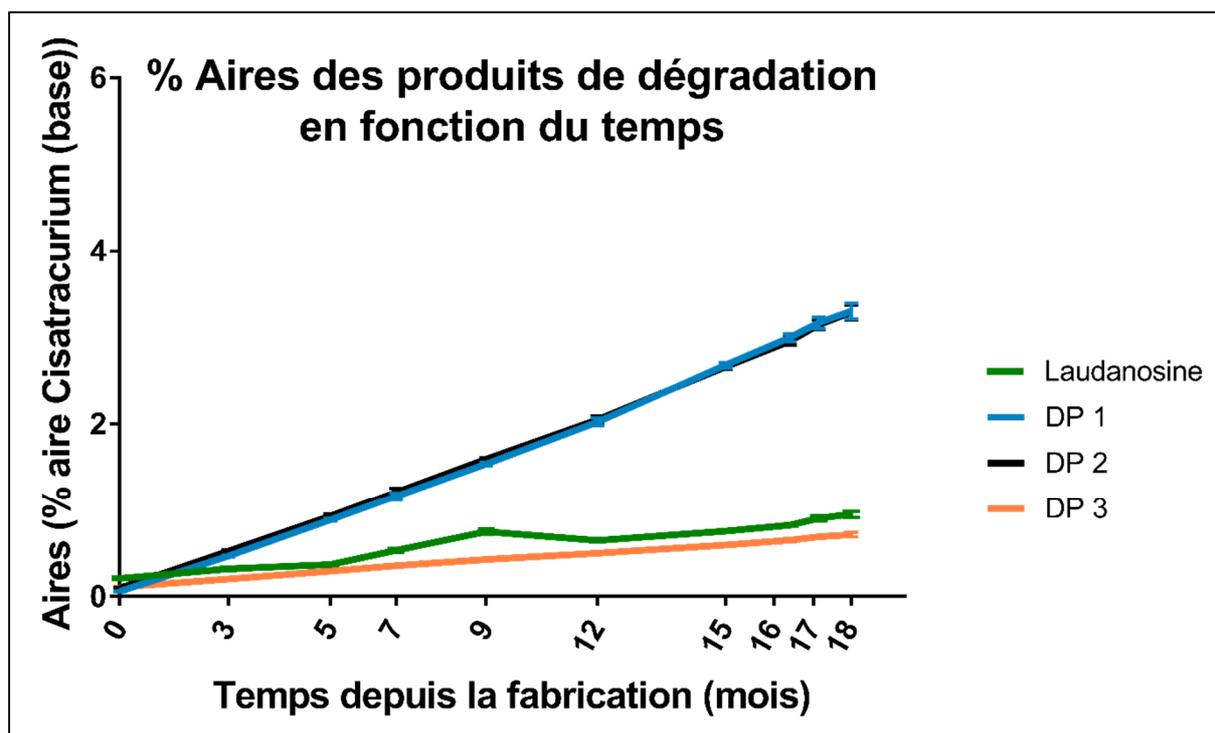


Figure 11 : Evolution en fonction du temps des produits de dégradation, exprimés en pourcentages d'aire du cisatracurium.

Les SCR correspondant aux différents produits de dégradation du cisatracurium n'étant pas disponibles à l'achat, nous ne pouvons pas les quantifier en raison de potentielles différences dans l'absorbance molaire entre les DP. Cependant, si nous comparons la perte en pourcentage d'aire pour le cisatracurium entre T0 et M15 ou M18 avec l'augmentation du pourcentage d'aire pour les DP sur la même période, la différence est de l'ordre de $\pm 2\%$.

Les diastéréoisomères du cisatracurium auraient été détectés par notre méthode CLHP-UV ; en effet, nous avons analysé une solution d'atracurium SCR et retrouvé trois temps de rétention différents pour les diastéréoisomères trans-trans, cis-trans et cis-cis. L'identification des DP nous a également conduit à proposer une voie de dégradation pour les solutions préparées de cisatracurium dans nos conditions de conservation.

iv. Identification des produits de dégradation du cisatracurium par CLHP-MS/MS

Tout d'abord, les quatre fractions correspondant aux DP du cisatracurium et la fraction correspondant au cisatracurium ont été collectées, d'après le profil chromatographique (Figure 12), par la méthode CLHP-UV précédemment décrite.

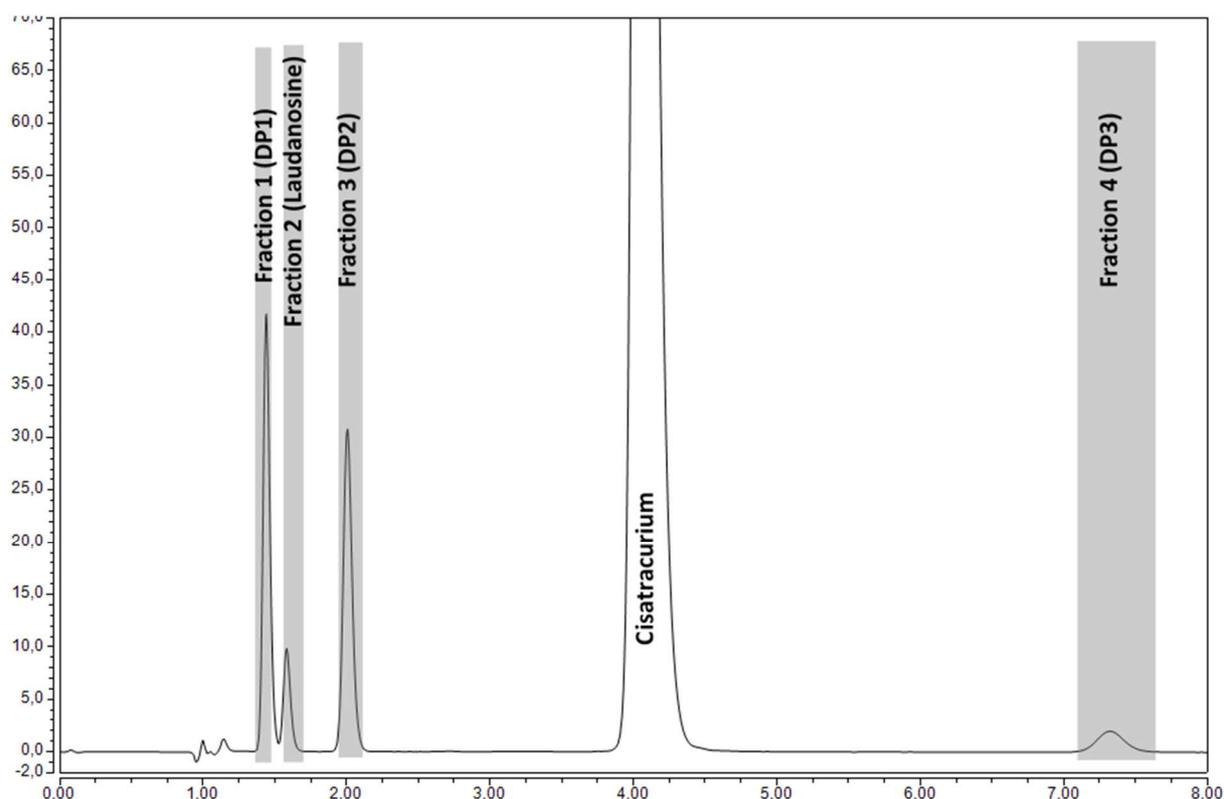
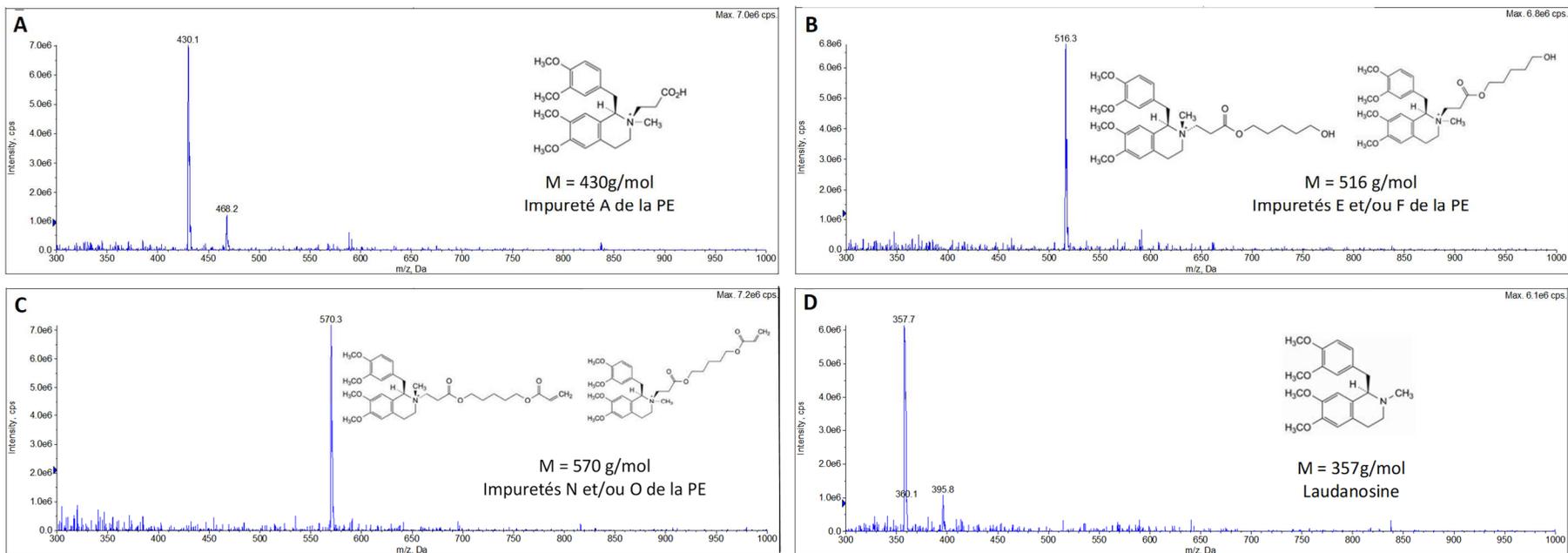


Figure 12 : Chromatogramme d'une solution de cisatracurium après 18 mois de stockage entre 2 et 8°C. Les quatre fractions collectées pour les produits de dégradation sont représentées en gris.

Par la suite, l'analyse en CLHP-MS nous a permis d'identifier les produits de dégradation en comparant les masses apparentes (m/z) avec les masses molaires des impuretés décrites dans la monographie de la Pharmacopée Européenne du cisatracurium^[133]. Nous avons identifié l'impureté A de la PE ($m/z = 430, M^+$) dans la fraction 1 correspondant au DP1 (Figure 13A), l'impureté E et/ou son stéréoisomère F ($m/z = 516, M^+$) dans la fraction 3 correspondant au DP2 (Figure 13B), et l'impureté N et/ou son stéréoisomère O ($m/z = 570, M^+$) dans la fraction 4 correspondant au DP3 (Figure 13C). L'analyse LC-MS a également confirmé que le composé de la fraction 2 était la laudanosine ($m/z = 358, M + H^+$; Figure 13D), précédemment identifiée par la concordance des temps de rétention avec celui de la laudanosine SCR.



74

Figure 13 : Analyse LC-MS des fractions collectées. A) Fraction 1 : DP1, correspondant à l'impureté A de la Pharmacopée Européenne ($m/z = 430$, M^+)^[133]; **B)** Fraction 3 : DP2, correspondant à l'impureté E et/ou son stéréoisomère F de la Pharmacopée Européenne ($m/z = 516$, M^+)^[133]; **C)** Fraction 4 : DP3, correspondant à l'impureté N et/ou son stéréoisomère O de la Pharmacopée Européenne ($m/z = 570$, M^+)^[133]; **D)** Fraction 2 : Laudanosine, correspondant à l'impureté C de la Pharmacopée Européenne ($m/z = 358$, $M + H^+$)^[133].

Les spectres ont été analysés après soustraction du spectre correspondant à la phase mobile.

Pour plus de spécificité, nous avons réalisé une analyse CLHP-MS/MS. Les fragments principaux retrouvés dans chaque fraction sont présentés dans le tableau VI. Ces résultats confirment la correspondance entre les DP et les impuretés et/ou stéréoisomères décrits dans la PE^[176].

Table VI : Identification des produits de dégradation du cisatracurium par LC-MS/MS. Les ions produits sont classés par rapport à leur abondance relative. Les spectres de fragmentation par MS/MS sont présentés en annexe (figures S7-S11)

Composé	Impureté	Ion parent (m/z)	Ions produits (m/z)	Energie de collision (eV)
Cisatracurium	-	464 (M ²⁺)	189; 307; 151; 327; 165; 601; 370; 516	30
DP1	A	430 (M ⁺)	116; 189; 151; 165; 327; 370	35
Laudanosine	C	358 (M+H ⁺)	260; 206; 189; 327	25
DP2	E et/ou F	516 (M ⁺)	202; 116; 189; 370; 151; 165	40
DP3	N et/ou O	570 (M ⁺)	256; 189; 370; 151; 516	40

L'analyse CLHP-MS/MS de la fraction correspondant au cisatracurium ($t_R = 5,0$ min) a confirmé l'absence de co-élution d'un produit de dégradation avec le cisatracurium, et ainsi la spécificité de la méthode CLHP-UV préalablement développée (Figure 14, Table VI).

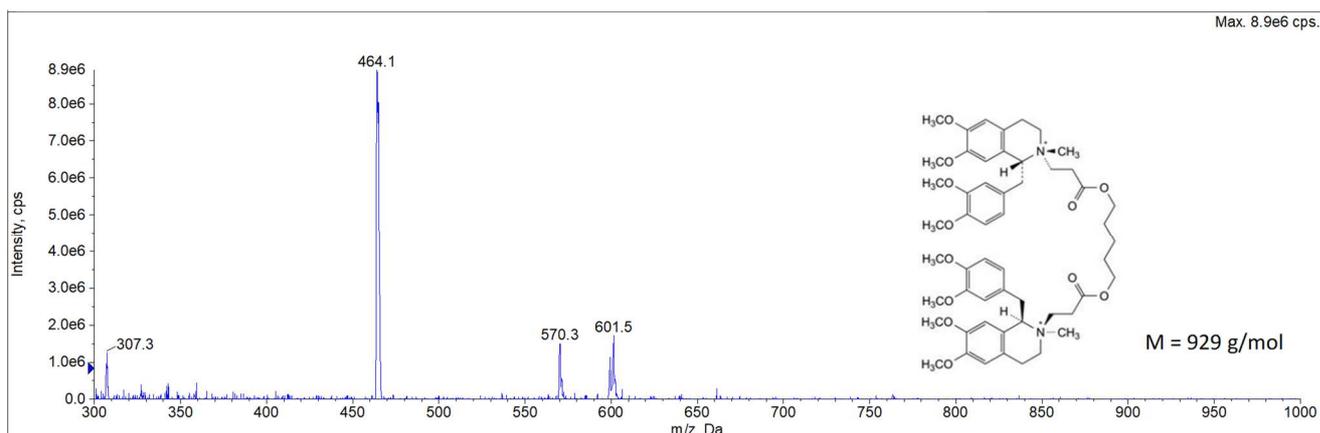


Figure 14 : Analyse LC-MS de la fraction correspondant au cisatracurium $m/z = 464$, M^{2+} (Masse moléculaire = 929 g/mol)^[133]. $m/z = 570$, M^+ et $m/z = 601$, M^+ correspondent à des fragments générés dans la source. Les spectres ont été analysés après soustraction du spectre correspondant à la phase mobile.

Ces résultats ont permis de confirmer la stabilité des solutions de cisatracurium pendant 15 mois. En effet, les aires des pics correspondants aux impuretés A de la Pharmacopée Européenne (DP1), à la laudanosine, à l'impureté E et/ou son stéréoisomère F de la Pharmacopée Européenne (DP2) et à l'impureté N et/ ou O de la Pharmacopée Européenne (DP3) correspondaient respectivement à 2,7% ; 0,8% ; 2,7% et 0,6% de l'aire du pic correspondant au cisatracurium base au temps d'analyse correspondant. Les valeurs obtenues étaient de fait bien inférieures aux limites définies par l'USP (Table VII)^[116].

Tableau VII : Aire des pics pour les produits de dégradation du cisatracurium. Les aires sont exprimées en pourcentage de l'aire du pic de cisatracurium base au temps d'analyse correspondant après 15 et 18 mois de conservation entre 2 et 8°C.

Produit de dégradation ^[133]	Impureté A de la PE	Laudanosine	Impureté E (ou F) de la PE	Impureté N (ou O) de la PE	Total Produits de dégradation
M15	2,7%	0,8%	2,7%	0,6%	6,7%
M18	3,3%	0,9%	3,3%	0,7%	8,2%
Limite d'acceptation USP^[116]	4,3%	4%	5%	2,5%	14,4%

Notre méthode CLHP-MS/MS ne permet pas la détection de l'acide acrylique, qui pourrait potentiellement être généré par la dégradation du DP3.

La laudanosine formée pendant les 18 mois de l'étude de stabilité correspond à moins d'un cinquième du cisatracurium dégradé, indiquant qu'un autre mécanisme de dégradation est en jeu. Au regard des produits de dégradation formés, et de l'évolution des aires correspondantes au cours de l'étude de stabilité (figure 11), il semble que le cisatracurium ait principalement été dégradé par la voie de l'hydrolyse de l'ester (générant les impuretés A et E et/ou F de la Pharmacopée Européenne), qui se produit aussi bien en milieu acide qu'en milieu alcalin^[122]. La dégradation du cisatracurium par la voie de Hofmann, favorisée par l'exposition à la chaleur, s'est produite à un moindre niveau et a conduit à la formation de laudanosine et impureté N et/ou O de la Pharmacopée Européenne. Les voies de dégradation supposées du cisatracurium sont représentées en figure 15. Nos résultats ne sont pas concordants avec ceux de Blazewicz *et al.*^[122] qui avaient observé une dégradation uniquement par la voie d'Hofmann. Cette discordance pourrait être expliquée par des différences entre les protocoles expérimentaux dans les deux études : Blazewicz *et al.* ont étudié des formes commerciales de cisatracurium (donc stérilisées par la chaleur humide) diluées à 100 µg/mL dans de l'acide formique à 0,1% dans l'eau (pH = 3) ou du méthanol à 20%.

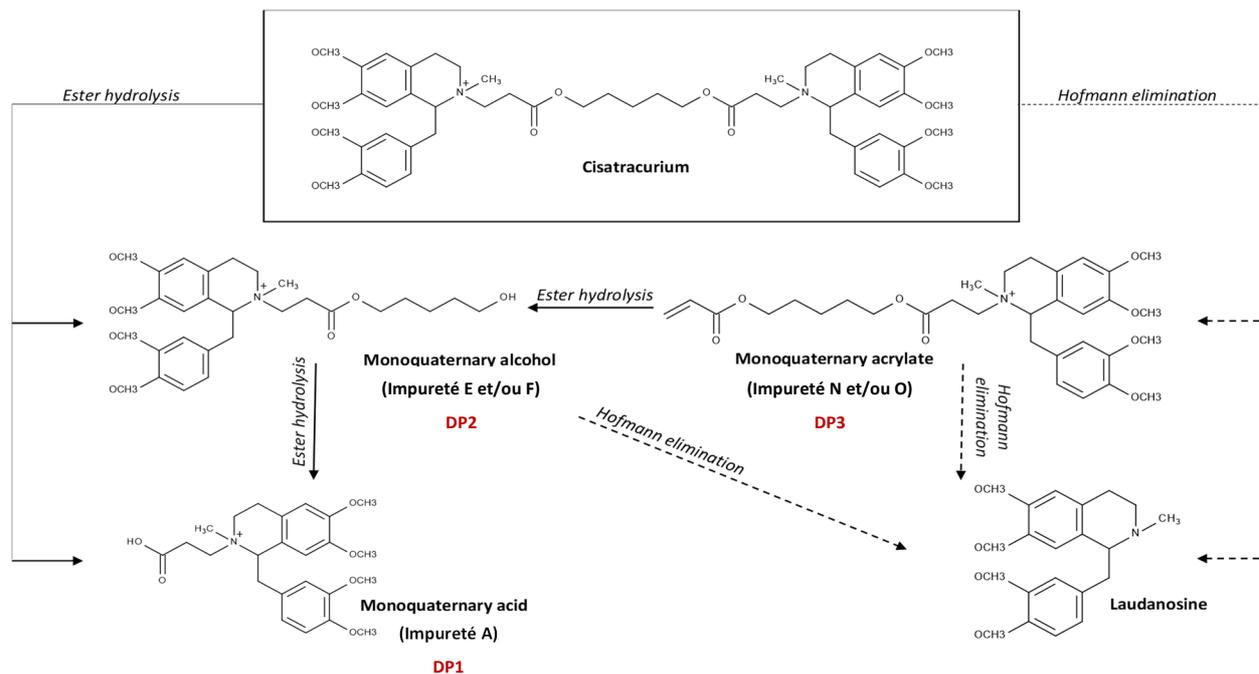


Figure 15 : Identification des produits de dégradation générés lors de l'étude de stabilité et des voies de dégradation impliquées (adapté de [122]). Les impuretés A, E, F, N et O ont été nommées pour correspondre à celles décrites dans la Pharmacopée Européenne (E et F sont des stéréoisomères, tout comme N et O).

4. Conclusion

Au regard de l'évolution des caractéristiques physico-chimiques, du pH, de l'osmolalité, de la stérilité et du taux d'endotoxines bactériennes, nous avons établi que les solutions injectables de cisatracurium à 10 mg/mL sont stables 15 mois lorsqu'elles sont conservées dans des ampoules en verre ambré entre 2 et 8°C après fabrication en milieu aseptique et sans conservateur. Ces résultats suggèrent que les solutions de cisatracurium peuvent être préparées en toute sécurité dans les PUI en cas de rupture d'approvisionnement, comme ceux survenus pendant la pandémie liée à la COVID-19. Nos résultats ont confirmé de précédents travaux sur la dégradation du cisatracurium. Cependant, contrairement à ce qui a été observé lors des essais de dégradation forcée, nous avons observé que la dégradation par la voie de l'hydrolyse de l'ester est plus active que celle par l'élimination d'Hofmann entre 2 et 8°C ; cela questionne quant à l'utilisation de la laudanosine comme seul marqueur de la dégradation du cisatracurium dans les études de stabilité. Une étude de stabilité des solutions de cisatracurium à température ambiante pourrait compléter de manière utile ce travail, puisque les voies de dégradation impliquées pourraient différer de celles observées entre 2 et 8°C.

Ce travail a fait l'objet d'une publication internationale: Roche M., Danel C., Simon N., Kouach M., Bouchfaa M., Berneron C., Odou P., Lannoy D. Cisatracurium besylate 10 mg/mL solution compounded in a hospital pharmacy to prevent drug shortages: a stability study involving four degradation products. *Pharmaceutics*. 2023 May 4 ; 15(5):1404; DOI: 10.3390/pharmaceutics15051404.

Ce travail a permis la mise à disposition aux services de soins critiques d'ampoules de bésylate de cisatracurium injectable titrées à 10 mg/mL, préparées localement par une pharmacie à usage intérieur. Bien que réalisée dans une situation d'urgence, cette préparation garantissait la prise en charge sécuritaire des patients grâce à la réalisation de contrôles analytiques de la qualité des lots produits, et à l'étude menée pour évaluer leur stabilité dans les conditions de préparation et de conservation en vie réelle. Cette production a permis de subvenir aux besoins des patients hospitalisés dans les services de soins intensifs et réanimation de notre établissement pendant toute la durée des tensions d'approvisionnement de ces médicaments essentiels, survenues dans le contexte de la pandémie de COVID-19. Cela a ainsi permis une redistribution des doses disponibles aux autres établissements hospitaliers français.

Ces initiatives ont été également réalisées par d'autres établissements hospitaliers, avec par exemple la production d'ampoules de bromure de pancuronium par les Hospices Civils de Lyon^[12], l'étude de la faisabilité d'une production locale de propofol sous la forme d'une nano-émulsion à Bordeaux^[177] ou en Malaisie^[178], d'une production extemporanée de propofol à 4% dans une émulsion commerciale (SMOFLipid® 20%) aux Pays Bas^[179], ou d'une solution en recourant à des cyclodextrines^[180-184].

Si les données de stabilité en production et lors du stockage des médicaments sont essentielles pour leur bon usage et la sécurité des patients, il est de plus en plus recommandé de disposer de données de stabilité en conditions réelles d'utilisation^[53]. En effet, les protocoles rencontrés dans les services de soins intensifs et de réanimation sont souvent complexes, nécessitant l'administration simultanée de plusieurs médicaments injectables et le recours à de nombreux dispositifs de perfusion. Ces études permettent ainsi de prendre en compte l'impact potentiel des matériaux des dispositifs de perfusion et des médicaments co-administrés sur la stabilité, l'efficacité et l'innocuité des médicaments.

Le propofol se présente sous la forme d'une émulsion lipidique de type huile - dans - eau (H/E), à haut risque de déstabilisation. Le propofol est un hypnotique très régulièrement utilisé en anesthésie et dans les services de soins intensifs et de réanimation.

Le cisatracurium et le propofol sont régulièrement co-administrés dans les protocoles d'anesthésie et de sédation aux soins intensifs^[138]. Des travaux ont déjà été menés pour évaluer la compatibilité de ces deux médicaments et ont démontré une incompatibilité se manifestant par une déstabilisation de l'émulsion lipidique du propofol^[36]. Par ailleurs, de nombreuses sources recommandent de ne pas les mélanger afin d'éviter ce phénomène d'incompatibilité physique^[27,103,185].

En raison de la gravité de l'état de santé des patients hospitalisés aux soins intensifs, et de la complexité des protocoles d'anesthésie au bloc opératoire, le propofol est fréquemment administré sur la même voie de perfusion que d'autres médicaments. Dans ce contexte, il est nécessaire de disposer de données de compatibilité pour le propofol avec les médicaments couramment utilisés dans les services d'anesthésie et de réanimation.

Dans la seconde partie de ce travail, nous avons étudié la compatibilité physique et chimique d'une émulsion lipidique de propofol en association avec des agonistes des récepteurs alpha-2 adrénergiques ($\alpha 2A$; clonidine ou dexmédétomidine) dans des conditions représentatives des protocoles utilisés pour la prise en charge de patients aux soins intensifs ou pour l'analgésie multimodale au bloc opératoire.

Second travail expérimental :

Etude de la stabilité physico-chimique d'associations d'une émulsion lipidique de propofol avec des agonistes des récepteurs alpha-2-adrénergiques utilisées dans des protocoles d'analgésie multimodale ou de sédation aux soins intensifs et en réanimation

1. Introduction

Ces dernières années, il a été observé une augmentation du recours à des protocoles d'analgésie multimodale au bloc opératoire. Ce protocole d'anesthésie générale a été développé afin de limiter le recours aux morphiniques, de réduire les effets indésirables au réveil de l'anesthésie, d'accélérer la récupération et de favoriser le développement de la chirurgie ambulatoire^[169,186]. L'analgésie multimodale repose sur l'administration de plusieurs médicaments aux modes d'action complémentaires, tels que les agonistes des récepteurs alpha-2 adrénergiques (α 2A ; ex : clonidine ou dexmédétomidine ; Figure 16), les hypnotiques (ex : propofol, Figure 17), les antalgiques (ex : kétamine) et du sulfate de magnésium (utilisé comme agent anti-nociceptif)^[186]. L'association du propofol avec les α 2A a été régulièrement employée dans les services de soins intensifs (SI) pour la prise en charge des patients atteints de formes sévères de COVID-19 nécessitant une assistance respiratoire invasive^[2,77,80,81,187], et elle est fréquemment utilisée lors du sevrage de la sédation pour accompagner le passage des patients d'un état de coma profond à un état d'éveil calme.

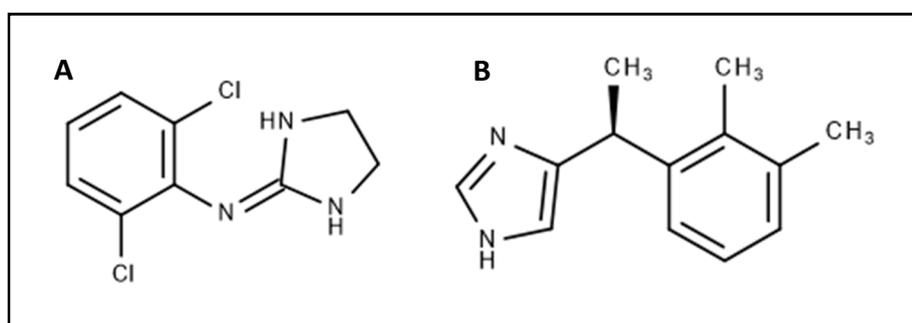


Figure 16: Structures chimiques des α 2A

A) Structure chimique de la clonidine ; **B)** structure chimique de la dexmédétomidine.

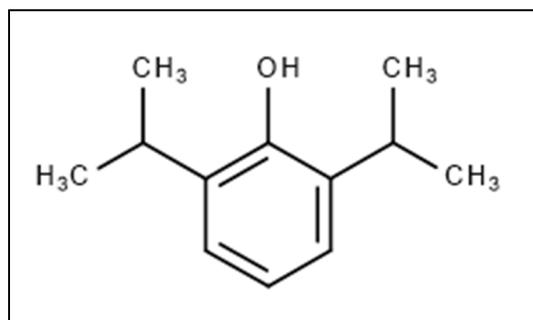


Figure 17: Structure chimique du propofol

La stabilité et la compatibilité du propofol avec différents médicaments ont été décrites dans une revue systématique^[188]. La co-administration de ces médicaments sur une même voie de perfusion peut entraîner l'apparition d'incompatibilités physiques (déstabilisation de l'émulsion) et/ou chimique (perte de substance active)^[44,60]. Par exemple, Masaki *et al.*^[189] ont observé une augmentation du diamètre moyen des globules huileux accompagnée d'une perte en principe actif lorsqu'une émulsion de propofol était associée avec 40 mg de chlorhydrate de lidocaïne. Un seul travail a étudié la stabilité du propofol avec la clonidine et la dexmédétomidine dans des seringues en polypropylène. Il n'avait pas retrouvé d'incompatibilités après 7 jours pour des ratios (v : v) de 1:10 ; 1:1 et 10:1^[190]. Cependant, les proportions et les concentrations rencontrées dans cette étude ne sont pas représentatives des protocoles standards de soin de nos services de soins intensifs et de réanimation, ni de ceux utilisés pour des procédures d'anesthésie générale. De plus, la méthode analytique utilisée dans cette étude pour le dosage du propofol, de la clonidine et de la dexmédétomidine n'a pas été validée pour son caractère indicateur de stabilité, c'est-à-dire sa capacité à détecter les produits de dégradation qui pourraient se former.

L'objectif de ce travail a été d'évaluer la stabilité physico-chimique d'une émulsion de propofol associée avec soit la clonidine, soit la dexmédétomidine, dans des conditions représentatives des protocoles standards. Pour chaque association, huit conditions ont été évaluées, en faisant varier le poids du patient simulé ainsi que les débits d'administration simulés de chaque principe actif.

Dans ce but nous avons, dans un premier temps, développé et validé trois méthodes CLHP-UV pour le dosage du propofol, de la clonidine et de la dexmédétomidine et nous avons évalué sa capacité à être indicatrice de stabilité. Ces méthodes ont ensuite été mises en œuvre pour étudier la stabilité des molécules mélangées ; des méthodes analytiques complémentaires ont été employées afin de rechercher une éventuelle instabilité de l'émulsion.

2. Matériel et méthodes

a. Analytes et réactifs

Les substances chimiques de référence (SCR) du propofol (réf. : Y0000016), de son impureté J (Figure 18) (réf. : Y0000018) et de la clonidine (réf. : C2400000) ont été obtenues auprès de la Direction européenne de la qualité du médicament et des soins de santé (Strasbourg, France). Le SCR pour la dexmédétomidine (réf. 83639.320) a été obtenu auprès de Sigma Aldrich (Saint Louis, MI, USA). L'acétonitrile de qualité chromatographique (ACN ; Hipersolv chromanorm, réf. : 83639.320) a été obtenu auprès de VWR BDH Chemicals (Fontenay-sous-Bois, France). L'eau pour préparation injectable (EPPI ; VERSYLENE®, eau stérile réf. : B230531) a été obtenue auprès de Fresenius Kabi France (Sèvres, France). Le chlorure d'ammonium de qualité pharmaceutique (réf. : 11209) et la solution d'ammoniac à 25% de qualité analytique (réf. : 133.1000) ont été obtenus auprès de VWR BDH Chemicals.

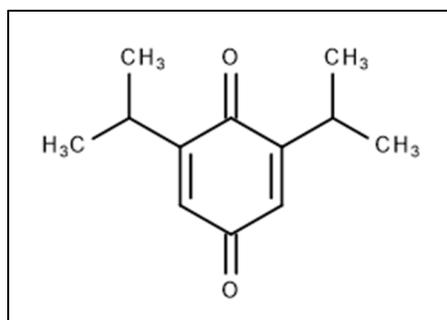


Figure 18 : Structure chimique de l'impureté J du propofol^[191]

b. Instrument et conditions analytiques optimales pour les méthodes indicatrices de stabilité

i. Conditions chromatographiques

Les solutions ont été analysées sur un système de chromatographie Ultimate 3000® (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, USA) composé d'une pompe quaternaire (LPG 3400SD, série #8188086), d'un passeur automatique d'échantillons maintenu à 10°C (WPS 3000TSL série #8188780), d'un four à effet Peltier réglé à 25°C (TCC 3000 série #06032578), et d'un détecteur à barrettes de diodes (DAD3000 série #8188520). Les données ont été analysées à l'aide du logiciel Chroméléon 7 (version 7.2.2.6394) et des algorithmes Cobra Wizard et Component Table Wizard (ThermoFisher Scientific). Les conditions analytiques pour chaque principe actif sont synthétisées dans le tableau VIII.

Tableau VIII : Conditions analytiques optimales pour le dosage en CLHP-UV du propofol, de la clonidine et de la dexmédétomidine

	Propofol	Clonidine	Dexmédétomidine
Phase stationnaire	Précolonne Hypersil GOLD [®] C18 (10 x 4 mm; 5 µm, SN: 20485401, Thermo Scientific) Colonne Hypersil GOLD [®] C18 (150 x 4 mm; 5 µm, SN: 20504947, Thermo Scientific)		
Température de la colonne	25°C		
Température du passeur automatique d'échantillons	10°C		
Débit	1 mL/min		
Phase mobile	A : Tampon NH ₄ Cl/NH ₄ OH 25 mM à pH 9,2 B : Acétonitrile		
	Isocratique : 52% A et 48% B	Gradient d'élution : 0 – 10 min : 73% A et 27% B 11 – 20 min : 40% A et 60% B 20 – 30 min : 73% A et 27% B	Gradient d'élution : 0 – 14 min : 70% A et 30% B 15 – 22 min : 40% A et 60% B 22 – 32 min : 70% A et 30% B
Volume injecté (µL)	10	40	50
Longueurs d'onde de détection	210 nm : dosage du propofol 270 nm : détection des produits de dégradation 258 nm : détection de l'impureté J	210 nm	210 nm
Temps d'analyse total (min)	17	30	32

ii. Préparation des échantillons

Tous les échantillons étaient filtrés avant leur analyse par CLHP-UV sur une membrane 0,22µm en acétate de cellulose régénérée (Chromoptic, réf. : 17162078, Courtaboeuf, France).

(1) Préparation des échantillons pour le dosage du propofol

Les échantillons pour le dosage du propofol ont été dilués de la sorte, en deux temps : Les échantillons ont été dilués une première fois dans de l'ACN afin d'obtenir une concentration de l'ordre de 400 µg/mL. Puis, une seconde dilution dans un mélange proche de la phase mobile (A/B 50/50 v/v) a été réalisée pour obtenir une concentration proche de 16 µg/mL.

(2) Préparation des échantillons pour le dosage des agonistes des récepteurs α_2 adrénergiques

En raison de la faible absorbance de la clonidine et de la dexmédétomidine à 210 nm aux concentrations rencontrées lors de l'étude de stabilité, il serait nécessaire d'injecter un plus grand volume d'échantillon afin d'abaisser les limites de quantification des méthodes de dosage. Cependant, l'augmentation de ce volume entraînerait également l'augmentation de l'intensité du signal du propofol et ainsi risquerait de saturer le détecteur UV. Face à ce constat, il a été nécessaire d'optimiser le traitement des échantillons avant leur analyse.

Concernant le dosage de la clonidine et de la dexmédétomidine, une étape de purification de l'échantillon par double centrifugation permettait d'éliminer la majorité du propofol. L'échantillon était ensuite dilué dans la phase mobile puis injecté pour analyse. Cependant, cette méthode de préparation des échantillons s'est révélée inadaptée, notamment en raison de l'affinité de la clonidine et de la dexmédétomidine pour la phase lipophile (Log P = 1,6 pour la clonidine^[192] et 2,8 pour la dexmédétomidine^[193]) qui entraînait une perte de plus de 50% de la dexmédétomidine en solution. Cette perte était associée à une baisse d'intensité du signal correspondant aux α_2A et à une mauvaise sensibilité de la méthode de dosage.

La seconde approche pour améliorer le signal des $\alpha 2A$ a été d'acidifier l'échantillon avant la double centrifugation décrite précédemment, afin de se placer à un $\text{pH} \leq 5$ soit deux unités en dessous des pKa de la clonidine ($\text{pKa} = 8,05^{[192]}$) et de la dexmédétomidine ($\text{pKa} = 7,1^{[193]}$). Dans ces conditions, les $\alpha 2A$ se retrouvent majoritairement sous leur forme ionisée et ont ainsi une meilleure affinité pour la phase aqueuse.

Plusieurs conditions ont été testées pour la préparation des échantillons de dexmédétomidine, et ont permis d'augmenter la quantité de dexmédétomidine retrouvée dans l'échantillon à l'issue des deux centrifugations. Les résultats sont décrits dans les tableaux IX et X.

Tableau IX : Conditions d'acidification testées et résultats obtenus pour une solution à 0,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de dexmédétomidine. Les conditions sont décrites pour un échantillon de 1 mL et sont suivies de la double centrifugation (deux fois 15 min à 13200 rpm). S/N : ratio signal sur bruit.

Conditions de préparation d'échantillon	Dexmédétomidine (% de C0)	Ratio S/N
Dexmédétomidine sans propofol (C0)	100	66
Dexmédétomidine + propofol	46	30
Dexmédétomidine + propofol + 10 μL HCl 0,1N	74	50
Dexmédétomidine + propofol + 20 μL HCl 0,1N	79	50
Dexmédétomidine + propofol + 50 μL HCl 0,1N	84	56
Dexmédétomidine + propofol + 10 μL HCl 0,5N	84	46
Dexmédétomidine + propofol + 50 μL HCl 0,5N	91	64
Dexmédétomidine + propofol + 10 μL HCl 1N	90	64
Dexmédétomidine + propofol + 25 μL HCl 1N	92	67
Dexmédétomidine + propofol + 50 μL HCl 1N	94	62

Les résultats obtenus lors de cette analyse nous ont permis de constater que le volume d'acide chlorhydrique ajouté était moins impactant que le pH de la solution obtenue pour l'extraction des $\alpha 2A$. En effet, on retrouve des résultats similaires en termes de rendement d'extraction pour l'échantillon de dexmédétomidine à 0,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ traité par 50 μL d'HCl à 0,1 N et celui traité par 10 μL d'HCl à 0,5 N. Les conditions de préparation de l'échantillon présentant les meilleurs résultats, c'est-à-dire celles permettant d'obtenir le meilleur rendement et un ratio S/N équivalent à celui de la dexmédétomidine sans propofol (en orange), ont été testées sur une concentration plus faible de dexmédétomidine (0,1 $\mu\text{g}/\text{mL}$) afin de définir les conditions retenues.

Tableau X : Conditions d'acidification testées et résultats obtenus pour une solution à 0,1 µg/mL de dexmédétomidine. Les conditions sont décrites pour un échantillon de 1 mL et sont suivies de la double centrifugation (deux fois 15 min à 13200 rpm). S/N : ratio signal sur bruit.

Condition de préparation d'échantillon	Dexmédétomidine (% de C0)	S/N
Dexmédétomidine sans propofol (C0)	100	12,5
Dexmédétomidine + propofol + 10 µL HCl 1N	95	12,6
Dexmédétomidine + propofol + 25 µL HCl 1N	98	13,5
Dexmédétomidine + propofol + 50 µL HCl 1N	95	13

Au vu des résultats obtenus pour la dexmédétomidine, et en raison de la similarité des propriétés chimiques de la clonidine avec la dexmédétomidine, la méthodologie optimisée retenue afin d'extraire les α 2A de la phase lipophile du propofol, consistait en l'ajout de 25 µL d'HCl 1N à 1,5 mL du mélange propofol - α 2A, suivie par une double centrifugation à 15°C (pendant 30 minutes puis 15 minutes) à 13200 rpm (Eppendorf AG 22331, SN 542608150, Hambourg, Allemagne). Le surnageant était éliminé après chaque centrifugation. Le volume initial de mélange a été augmenté afin de permettre l'obtention d'un volume de solution purifiée d' α 2A suffisant pour l'analyse et la validation de méthode. Les échantillons étaient ensuite dilués dans la phase mobile en fonction de leur concentration initiale de manière à obtenir une concentration d'environ 0,5 µg/mL.

c. Essais de dégradation forcée

La sélectivité des méthodes analytiques ainsi que leur caractère indicateur de stabilité ont été évalués selon les recommandations formulées par le groupe de travail commun du GERPAC et de la SFPC par des essais de dégradation forcée des SCR de propofol, de clonidine et de dexmédétomidine^[26]. Chaque condition de dégradation a été maintenue jusqu'à ce que la concentration en substance active ait diminué de 20%^[26].

i. Essai de dégradation forcée du propofol

La dégradation forcée du propofol SCR a été effectuée en réalisant un mélange équimoléculaire d'une solution de propofol SCR à 280 µg/mL dans de l'ACN avec de l'HCl 5N à 60°C ou de l'H₂O₂ 15% à 60°C. En raison de la séparation de phases avec l'ACN, la dégradation forcée en milieu alcalin a été réalisée en mélangeant des volumes égaux d'une solution de propofol à 280 µg/mL dans du méthanol et du NaOH 5N à 60°C. Les milieux ont été neutralisés avant leur analyse à 0, 10, 20 et 30 minutes et 1, 2, 3 et 24 heures. Le propofol a également été dégradé en exposant la solution de propofol SCR à 280 µg/mL dans l'ACN à une température de 100°C jusqu'à évaporation complète, ou à une lumière UV (254 nm) jusqu'à 48 heures à température ambiante.

Pour la dégradation à la chaleur et après évaporation totale de la solution de propofol, les échantillons ont été refroidis avant l'ajout de 2 mL d'ACN. Les échantillons ont ensuite été dilués à 24,8 µg/mL dans la phase mobile.

ii. Essai de dégradation forcée de la clonidine

La dégradation forcée du chlorhydrate de clonidine SCR a été réalisée en mélangeant des volumes équivalents d'une solution de clonidine à 280 µg/mL dans l'EPPI et d'HCl 5N à 60°C, de NaOH 5N à 60°C ou d'H₂O₂ à 3% à 60°C. Les milieux ont été neutralisés avant leur analyse à 0, 10, 20 et 30 minutes et 1, 2, 3 et 24 heures. La clonidine a également été dégradée en exposant la solution de clonidine SCR à 280 µg/mL à une température de 90°C ou à des rayonnements UV (254 nm) jusqu'à 48 heures à température ambiante. Les échantillons ont ensuite été dilués à 14 µg/mL dans la phase mobile.

iii. Essai de dégradation forcée de la dexmédétomidine

La dégradation forcée de la dexmédétomidine SCR a été réalisée en mélangeant des volumes équivalents d'une solution de dexmédétomidine à 220 µg/mL dans l'EPPI et d'HCl 5N à 60°C, de NaOH 5N à 60°C ou d'H₂O₂ à 3% à 60°C. Les milieux ont été neutralisés avant leur analyse à 0, 10, 20 et 30 minutes et 1, 2, 3, 24 et 48 heures. La dexmédétomidine a également été dégradée en exposant la solution de dexmédétomidine SCR à 220 µg/mL à une température de 90°C ou à des rayonnements UV (254 nm) jusqu'à 48 heures à température ambiante. Les échantillons ont ensuite été dilués à 11 µg/mL dans la phase mobile.

d. Validation de la méthode analytique

Les solutions mères de clonidine et de dexmédétomidine ont été préparées en dissolvant précisément 10,0 mg de SCR (balance Quintix224-1CFR, SN : 0034905650 ; précision : 0,1 mg dans l'intervalle 10 mg - 220 g, Sartorius) dans 10 mL d'EPPI dans une fiole jaugée (S1). Puis, 100 µL de S1 ont été dilués dans une fiole jaugée avec 3 mL de Propofol Lipuro® à 2% et le volume était complété à 10 mL avec de l'EPPI (S2). La solution S2 a ensuite été traitée de la même manière que les échantillons selon la méthode optimisée décrite précédemment. Les standards d'étalonnage et de validation (contrôles de qualité internes (CQI)) ont été préparés à partir de ces solutions mères.

Les solutions mères de propofol ont été préparées en dissolvant 10,5 µL de propofol SCR dans 10 mL d'ACN dans une fiole jaugée (S1'). Puis, cette solution a été diluée au 1/10^{ème} dans de l'ACN et utilisée pour préparer les standards de calibration et les CQI dans la phase mobile.

La validation statistique des trois méthodes de dosage a été menée conformément aux recommandations de la SFSTP^[158-161] par au moins deux opérateurs différents et pendant trois jours consécutifs. Des solutions mères différentes étaient utilisées pour la gamme d'étalonnage (1 étalonnage par jour) et les CQI (3 séries par jour) et étaient préparées quotidiennement à partir de pesées distinctes.

Conformément aux recommandations de la SFSTP, nous avons déterminé la spécificité, la fonction de réponse, la linéarité, la justesse et la précision (répétabilité et précision intermédiaire). Le profil d'exactitude a été construit avec des limites d'acceptation fixées à $\pm 10\%$ pour la quantification (l'erreur maximale tolérable) et un risque de type 1 de 5% pour la clonidine et la dexmédétomidine, et de 10% pour le propofol.

Les LDD et les LDQ des méthodes analytiques ont été calculées selon la méthode de l'*International Conference on Harmonization (ICH)*^[162], en utilisant les équation 1 et 2 décrites précédemment.

e. Etude de stabilité

i. Médicaments et conditions étudiées

Notre étude a été menée afin d'évaluer la stabilité du propofol lorsqu'il est mélangé avec la clonidine ou la dexmédétomidine dans des proportions et des concentrations représentatives de leur utilisation dans les services de soins intensifs et au bloc opératoire pour des patients de faible poids corporel (45 kg) ou de poids élevé (150 kg).

Du Propofol Lipuro® 2% pur, formulé avec un mélange 1 : 1 de chaînes de triglycérides de taille moyenne et longue (MCT/LCT ; lot: 221068071, exp: 02/2024, BBraun, Saint-Cloud, France) a été mélangé avec de la dexmédétomidine 100 µg/mL (lot : D6AM1B exp: 01/2026, Ever Pharma, Lyon, France) ou de la clonidine 150 µg/mL (lot: C42709 exp: 07/2023, Boehringer Ingelheim France, Paris, France) dans des flacons en verre blanc de type 3 de 30 mL (réf.: 2506500, COOPER, Melun, France) munis de bouchons inviolables en polyéthylène haute densité avec un joint en polyéthylène expansé (réf.: 2502770, COOPER).

Les ampoules de dexmédétomidine étaient diluées dans du NaCl 0,9% (Viaflo®, réf. : DKE1323, Baxter, Guyancourt, France) pour atteindre une concentration de 9 µg/mL (patient de 45 kg) ou de 30 µg/mL (patient de 150 kg).

Les ampoules de clonidine étaient diluées dans du NaCl 0,9% pour atteindre une concentration de 22,5 µg/mL (patient de 45 kg) ou de 75 µg/mL (patient de 150kg).

D'après les protocoles standards utilisés dans nos services de soins intensif, nous avons défini des débits minimaux et maximaux pour chaque médicament : Le propofol a été étudié à des débits de 1 et 4 mg.kg⁻¹.h⁻¹, la clonidine a été étudiée à des débits de 1 et 3 µg.kg⁻¹.h⁻¹, et la dexmédétomidine à des débits de 0,4 et 1,4 µg.kg⁻¹.h⁻¹[86,194]. Quatre conditions ont été évaluées en triplicat pour chaque association propofol-α2A et chaque poids de patient théorique, de manière à évaluer la stabilité de mélanges statiques dans des proportions simulant leur administration (Tableau XI).

Tableau XI : Conditions étudiées pour l'association du propofol avec la clonidine ou la dexmédétomidine

Seize conditions expérimentales ont été étudiées. Chaque condition a été préparée en mélangeant un volume d'une émulsion de propofol et d'une solution d' α_2 agoniste dans des proportions représentatives des protocoles standards de soins intensifs. Chaque condition a été réalisée en triplicat.

		Concentration initiale		Débit		Concentration finale	
Condition	Poids théorique	Propofol (mg/mL)	Clonidine ($\mu\text{g/mL}$)	Propofol ($\text{mg.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$)	Clonidine ($\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$)	Propofol (mg/mL)	Clonidine ($\mu\text{g/mL}$)
1	45 kg	20	22,5	1	1	10,59	10,59
2				4	1	16,36	4,09
3				1	3	5,45	16,36
4				4	3	12,00	9,00
5	150 kg		75	1	1	15,79	15,79
6				4	1	18,75	4,69
7				1	3	11,11	33,33
8				4	3	16,67	12,50
		Concentration initiale		Débit		Concentration finale	
Condition	Poids théorique	Propofol (mg/mL)	Dexmédétomidine ($\mu\text{g/mL}$)	Propofol ($\text{mg.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$)	Dexmédétomidine ($\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$)	Propofol (mg/mL)	Dexmédétomidine ($\mu\text{g/mL}$)
9	45 kg	20	9	1	0,4	10,59	4,24
10				4	0,4	16,36	1,64
11				1	1,4	4,86	6,81
12				4	1,4	11,25	3,94
13	150 kg		30	1	0,4	15,79	6,32
14				4	0,4	18,75	1,88
15				1	1,4	10,34	14,48
16				4	1,4	16,22	5,68

ii. Plan de l'étude de stabilité

Chaque association propofol- α 2A a été analysée immédiatement après le mélange (T0) et après 24, 48, 72, et 96 heures de stockage à température ambiante et non protégé de la lumière. Le point final de l'étude de stabilité à 96 heures a été choisi car il correspond à l'intervalle de temps maximal autorisé entre deux changements de ligne de perfusion dans notre hôpital^[195,196]. Les études de stabilité ont été menées en accord avec les recommandations GERPAC-SFPC^[26].

iii. Compatibilité chimique

(1) Analyse par CLHP-UV

A chaque point d'analyse, les concentrations en propofol et en α 2A ont été déterminées en utilisant les méthodes de dosage validées. Pour le dosage du propofol, les échantillons étaient dilués en fonction de leur concentration initiale, une première fois dans de l'ACN puis dans une solution proche de la phase mobile (A/B, 50/50 v/v) pour obtenir une concentration d'environ 16 μ g/mL. Pour le dosage des α 2A, les échantillons étaient préparés selon la méthodologie optimisée décrite précédemment.

(2) Mesures du pH et de l'osmolalité

A chaque point de l'étude de stabilité, le pH du mélange a été mesuré à l'aide d'un pH-mètre FiveEasy® F20 (SN : C128157124, Mettler Toledo, Greifensee, Suisse) et d'une électrode en verre (InLab® Ultra Micro ISM, SN : 1473876, Mettler Toledo). L'osmolalité du mélange a été mesurée par un osmomètre OSMO®1 (SN : 19101407B, Advanced Instruments, Norwood, MA, USA).

iv. Compatibilité physique

(1) Aspect visuel

A chaque point d'analyse, un même opérateur a analysé les mélanges à la recherche d'un changement de couleur, ou de la présence d'un dégagement gazeux, d'un précipité, d'un crémage, d'une floculation ou d'une sédimentation de l'émulsion, par rapport à un contrôle constitué d'une émulsion de propofol Lipuro® 2%.

(2) Mesure du potentiel Zeta et du Z-average

Le Z-average (un indicateur de granulométrie, permettant d'estimer le diamètre moyen des globules huileux ou *mean droplet diameter* (MDD)) a été mesuré à l'aide d'une technique de rétrodiffusion dynamique de la lumière. Le potentiel Zêta (PZ) a été mesuré par électrophorèse en utilisant le Zetasizer Nano ZSP® (SN : MAL1179738, Malvern Instruments, Malvern, UK). L'indice de polydispersité (PDI, représentant la dispersion de la distribution) a également été calculé. Avant l'analyse, chaque mélange a été dilué au 1/100^{ème} dans de l'EPPI et transféré dans des cellules zêta à capillaire replié dédiées, à usage unique (DTS1070, Malvern Instruments). La méthode de préparation des échantillons était basée sur les résultats de travaux antérieurs sur la dilution optimale des émulsions menés au sein de notre équipe de recherche.

Le Z-average a été mesuré à 20°C, en utilisant la procédure du logiciel Zetasizer® (version 7.12, Malvern Instruments). Chaque analyse a consisté en trois mesures, et chaque mesure comportait 11 passages individuels. Le PZ a été mesuré à 25°C en utilisant la procédure du logiciel Zetasizer® ; chaque détermination a consisté en quatre mesures.

Afin de vérifier la capacité de notre méthode à détecter une déstabilisation de l'émulsion, nous avons préparé deux contrôles positifs d'instabilité. Le premier a été obtenu en mélangeant 10 mL de Propofol Lipuro® 2% avec 2,5 mL de lidocaïne 2% (lot : 18Y0607 exp : 01/2026, Fresenius Kabi France) ; Masaki *et al.*^[189] ayant observé une augmentation du MDD dans ces conditions. Le second contrôle positif consistait en une émulsion-maison avec une valeur d'équilibre hydrophile-lipophile (HLB) égale à 11, instable, que nous avons préparée en mélangeant 20 g d'huile de paraffine (réf. : 700381, Fagron, Thiais, France) avec 75 g d'eau distillée et un mélange d'émulsifiants à base d'alcools gras éthoxylés (0,93 g de Brij 02LQ® (HLB = 4,9) et 4,07 g de Brij O10SS® (HLB = 12,4), CRODA, Barcelone, Espagne).

Du Propofol Lipuro® à 2% (BBraun) a été utilisé comme témoin positif de la stabilité des émulsions.

f. Analyse des données

La stabilité chimique des mélanges était considérée comme acceptable si (i) les concentrations résiduelles de propofol et des α 2A (exprimée sous la forme moyenne \pm écart-type) étaient comprises entre 90% et 110% de la concentration initiale (C_0), (ii) que l'association était dépourvue de produits de dégradation toxiques, et (iii) qu'il n'y avait de variation significative du pH et de l'osmolalité. La stabilité physique était définie par l'absence de variation des caractères organoleptiques, un MDD inférieur à 500 nm (Z-average)^[197], et un $PZ \geq \pm 30$ mV^[198]. D'après Gersonde *et al.*^[190], une valeur de PDI entre 0,0 et 0,1 indique une monodispersité et une étroitesse de la distribution des tailles de globules ; une valeur entre 0,1 et 0,4 indique une large distribution des tailles et une polydispersité ; tandis qu'une valeur supérieure à 0,4 est associée à une très large distribution des tailles et une grande polydispersité.

3. Résultats

a. Essais de dégradation forcée

i. Dégradation forcée du propofol

Le propofol a été dégradé par l'ajout d'HCl 5N. Après 2 heures d'exposition, 13,4 % avaient été dégradés mais aucun produit de dégradation n'a pu être détecté. L'oxydation du propofol par de l'H₂O₂ à 15% a entraîné une dégradation du propofol de 25,7% en 3 heures et huit produits de dégradation ont été détectés (temps de rétention (t_R) : 2,5 min ; 2,7 min ; 2,9 min ; 3,3 min ; 3,8 min ; 4,1 min ; 10,1 min et 11,6 min) (Figure 19A).

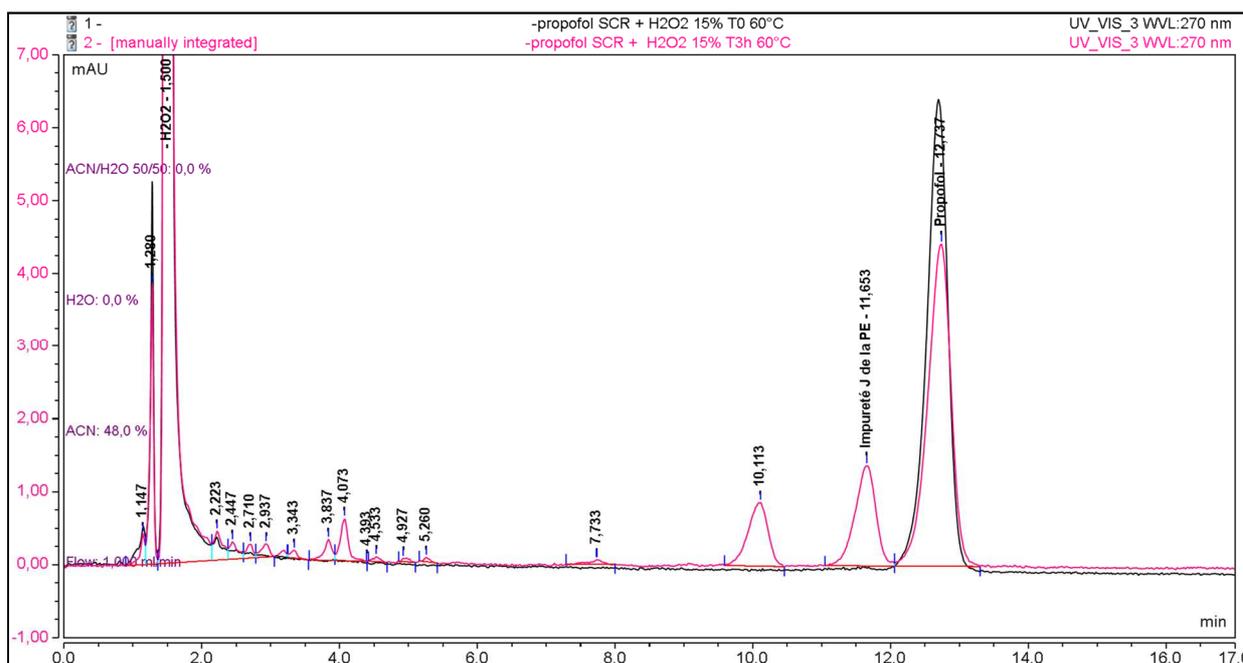


Figure 19A : Chromatogrammes obtenus après la dégradation du propofol par de l'H₂O₂ à 15 % ($\lambda = 270$ nm). T0 : immédiatement après l'ajout de H₂O₂ ; T3h : Après 3 heures d'exposition.

Après 24 heures d'exposition à du NaOH 5N, 12,5 % du propofol avait été dégradés et un produit de dégradation était détecté ($t_R = 11,8$ min) (Figure 19B). En se basant sur la similitude du temps de rétention et sur le spectre UV, le produit de dégradation mis en évidence suite à l'exposition au NaOH a été identifié comme l'impureté J décrite par la Pharmacopée Européenne^[191] (Figure 18).

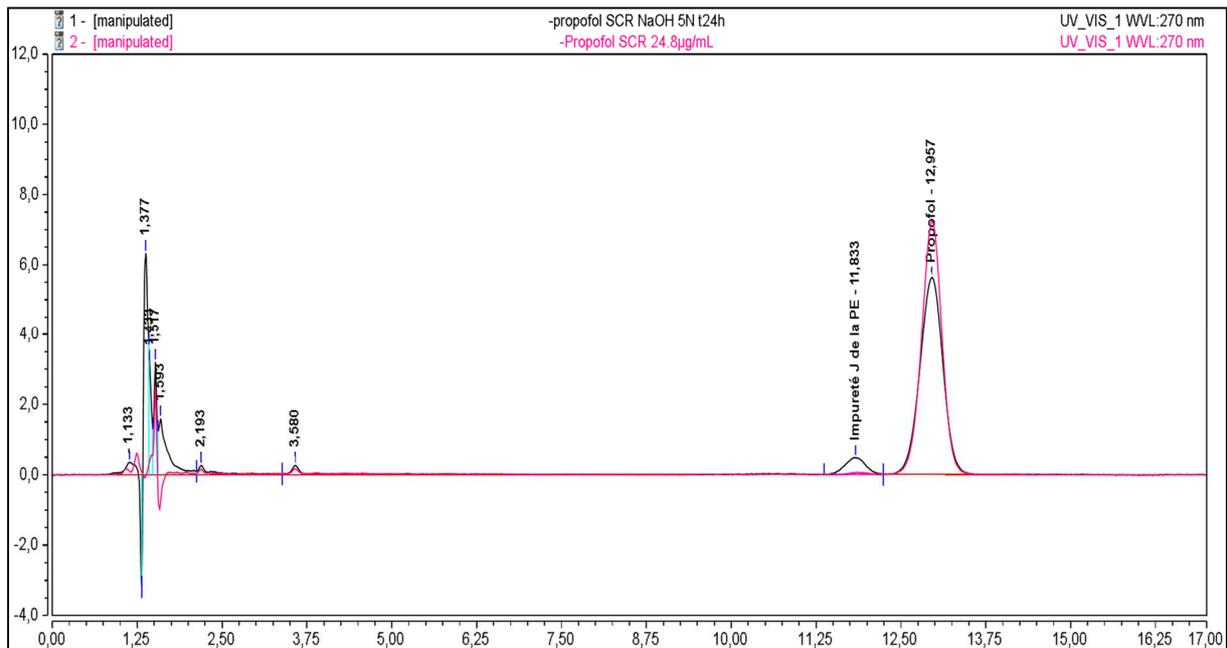


Figure 19B : Chromatogrammes obtenus après la dégradation du propofol par du NaOH 5N ($\lambda = 270$ nm), par rapport à du propofol SCR à 24,8 µg/mL. T24h : Après 24 heures d'exposition.

Après une exposition à une température de 100°C pendant 3 heures, le propofol était dégradé (61,9 % de dégradation) et un produit de dégradation était détecté ($t_R = 14,4$ min, figure 19C). Aucun produit de dégradation n'a été mis en évidence après 48 heures d'exposition aux rayonnements UV.

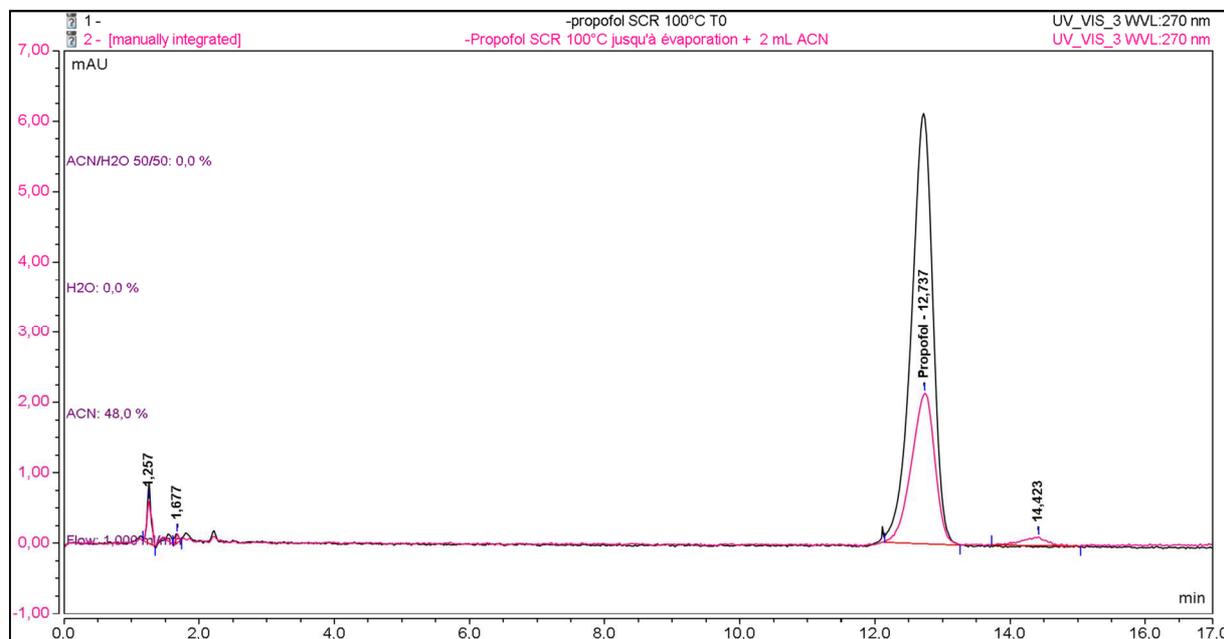


Figure 19C : Chromatogrammes obtenus après la dégradation du propofol par la chaleur ($\lambda = 270$ nm). T0 : immédiatement après le début de l'exposition à la chaleur

ii. Dégradation forcée de la clonidine

La clonidine était dégradée en présence d' H_2O_2 à 3% (19,2% de dégradation après 3 heures), avec la formation de six produits de dégradation ($t_R = 2,14$ min ; 2,31 min ; 2,46 min ; 2,94 min ; 6,08 min et 7,15 min) (Figure 20). Aucune dégradation n'a été observée dans les autres conditions testées.

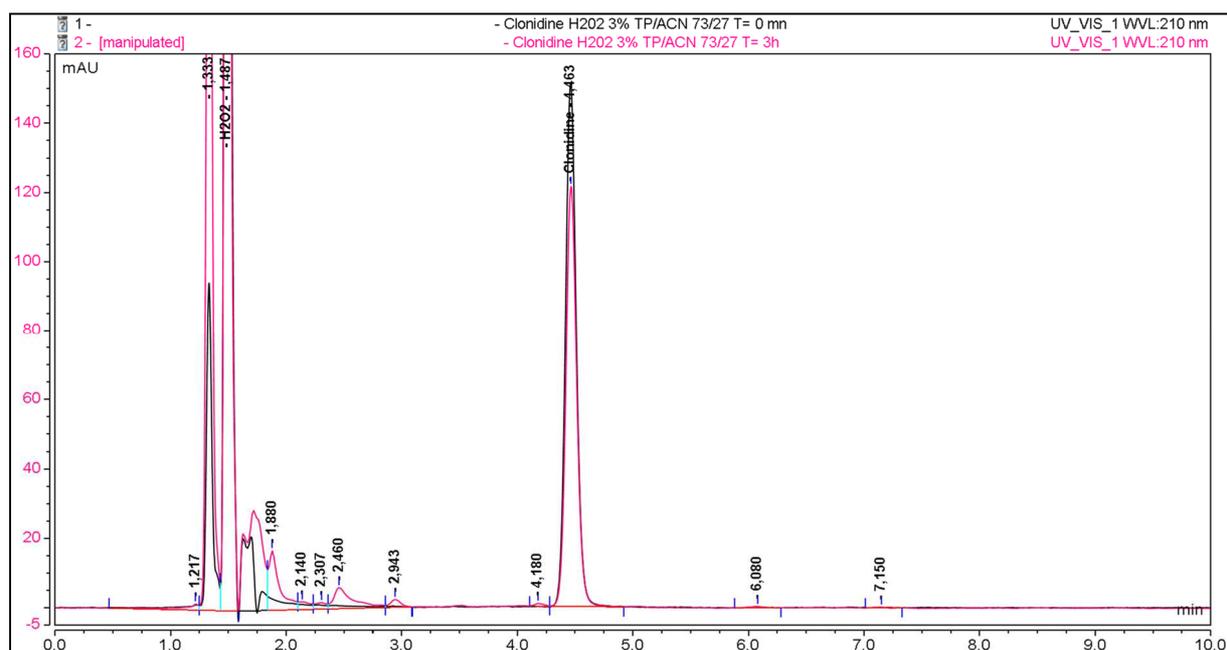


Figure 20 : Chromatogrammes obtenus après la dégradation de la clonidine par de l' H_2O_2 à 3% ($\lambda = 210\text{nm}$). T0 : immédiatement après l'ajout de H_2O_2 ; T3h : Après 3 heures d'exposition.

iii. Dégradation forcée de la dexmédomidine

Une perte de 5,5% de dexmédomidine a été observée après 24 heures d'exposition à de l'HCl 5N à 60°C, mais aucun produit de dégradation n'a été détecté (Figure 21A). La dexmédomidine était dégradée par l'ajout de NaOH 5N (24,5% de dégradation après 48 heures), avec la détection d'un produit de dégradation ($t_R = 5,1$ minutes, Figure 21B). La dexmédomidine était fortement dégradée en conditions oxydantes avec 74,2% de dégradation après 1 heure d'exposition à de l'H₂O₂ 3% à 60°C, et six produits de dégradation étaient détectés ($t_R = 3,1$ min ; 4,4 min ; 4,7 min ; 5,3 min ; 9,0 min et 13,3 min ; Figure 21C). Aucune dégradation n'a été observée après l'exposition de la dexmédomidine à la chaleur et aux rayonnements UV.

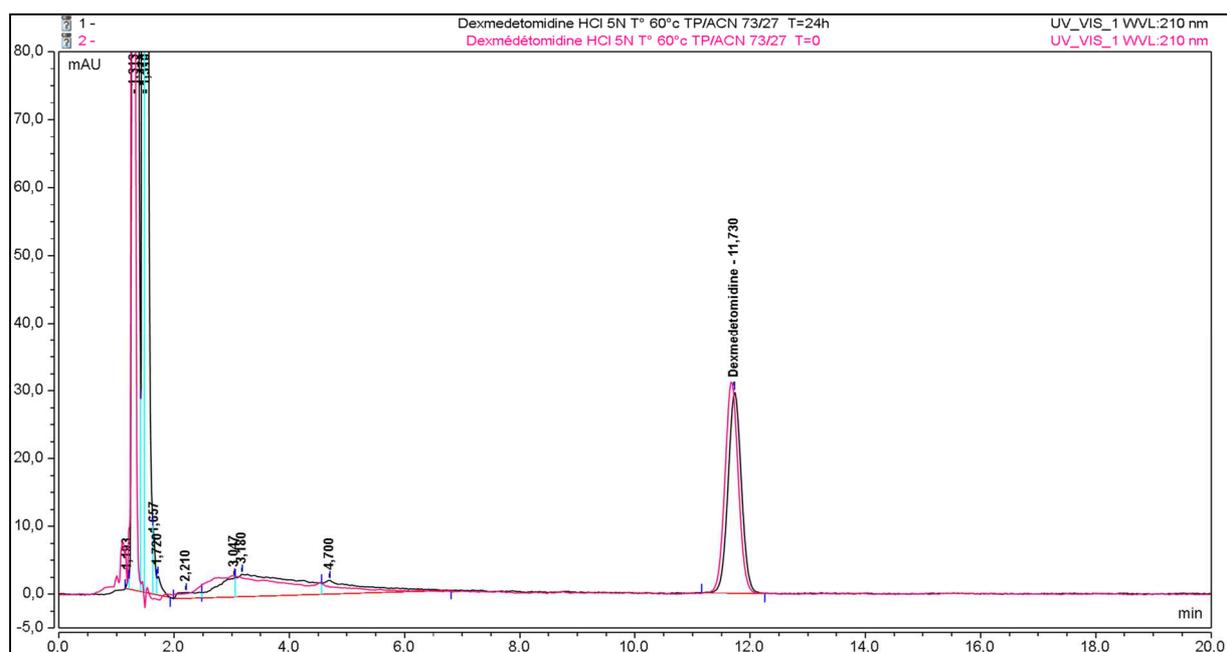


Figure 21A : Chromatogrammes obtenus après la dégradation de la dexmédomidine par de l'HCl 5N ($\lambda = 210\text{nm}$). T0 : immédiatement après l'ajout de HCl ; T24h : Après 24 heures d'exposition.

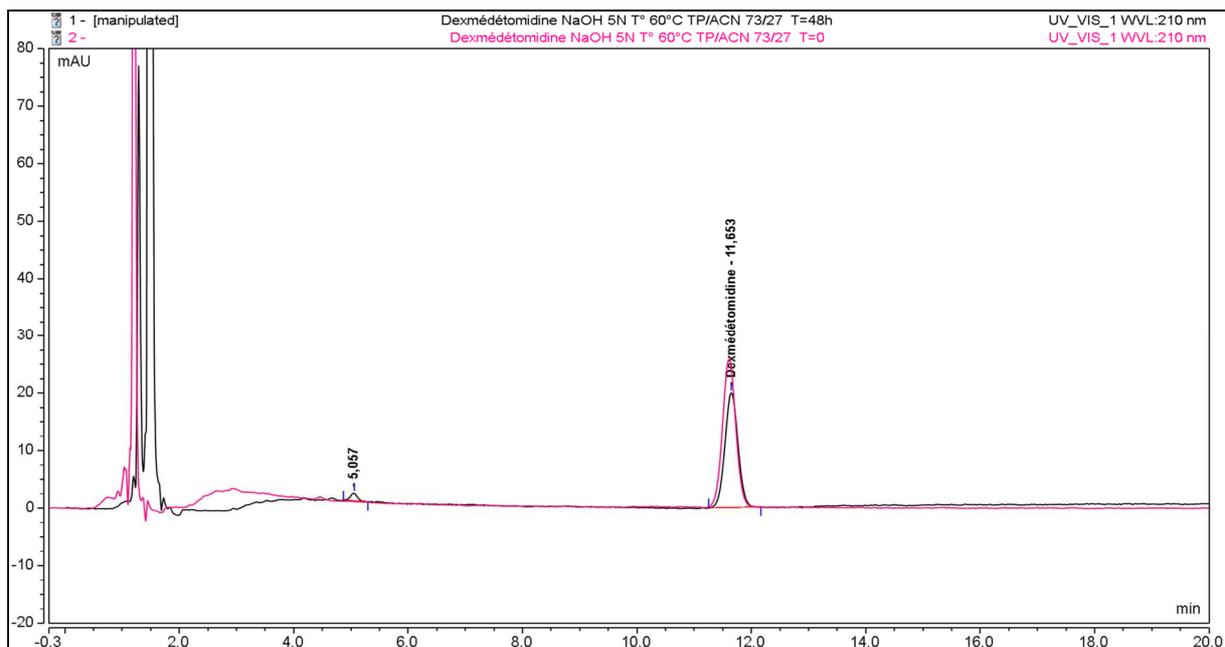


Figure 21B : Chromatogrammes obtenus après la dégradation de la dexaméthosone par du NaOH 5N ($\lambda = 210\text{nm}$). T0 : immédiatement après l'ajout de NaOH ; T48h : Après 48 heures d'exposition.

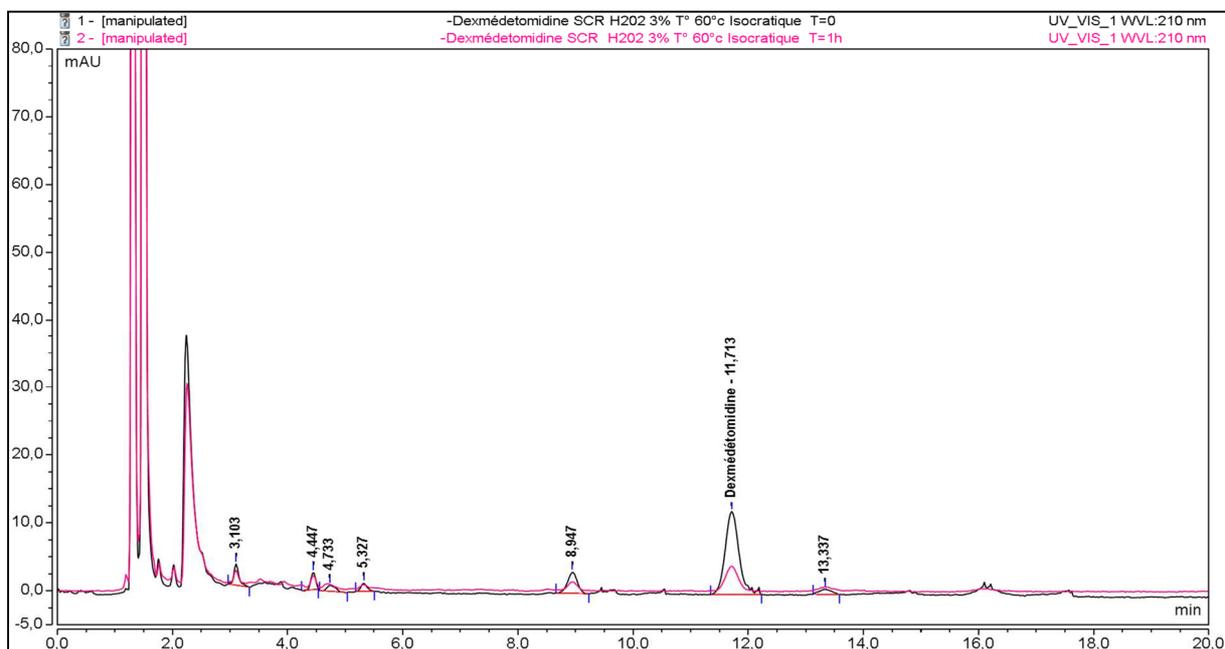


Figure 21C : Chromatogrammes obtenus après la dégradation de la dexaméthosone par de l' H_2O_2 à 3 % ($\lambda = 210\text{ nm}$). T0 : immédiatement après l'ajout de H_2O_2 ; T1h : Après 1 heure d'exposition.

Les résultats des essais de dégradation forcée indiquent que les méthodes de dosage développées sont indicatrices de stabilité car aucune interférence n'a été observée entre les pics du propofol, des $\alpha 2A$, et de leurs produits de dégradation. De plus, la sélectivité de la méthode a été confirmée par une vérification de l'absence de modification des spectres d'absorbance aux temps de rétention du propofol, de la clonidine et de la dexmédétomidine.

b. Validation des méthodes analytiques

La précision intra-journalière (répétabilité), la précision inter-journalière (fidélité intermédiaire) et les biais relatifs étaient inférieurs à 4 % pour les trois méthodes de dosage (tableau XII). Le profil d'exactitude à 90 % (propofol) et à 95 % ($\alpha 2A$) se situait dans les limites d'acceptation prédéfinies pour le propofol (pour des concentrations comprises entre 7,56 et 22,68 $\mu\text{g/mL}$) et les $\alpha 2A$ (entre 0,17 et 0,87 $\mu\text{g/mL}$) (Figure 22).

Tableau XII : Paramètres des droites de régression, écarts-types relatifs (RSD%) pour la répétabilité, la fidélité intermédiaire (QCI) et les biais relatifs pour les méthodes de dosage du propofol, de la clonidine et de la dexmédétomidine.

LDD : limite de détection, LDQ : limite de quantification

Composé	Concentration (µg/mL)	%RSD Répétabilité	%RSD Fidélité intermédiaire	Biais relatif (%)	Gamme de concentration (µg/mL)	R ²	Pente	Ordonnée à l'origine	LDD (µg/mL)	LDQ (µg/mL)
Propofol	7,56	0,97	1,78	1,45	5,04 – 25,2	0,9990	0,552	0,057	0,10	0,30
	12,60	0,85	1,99	1,81						
	17,64	0,90	2,88	2,23						
	22,68	0,27	2,68	2,27						
Clonidine	0,17	1,34	1,64	2,96	0,10 -1,00	0,9969	4,836	0,008	0,03	0,10
	0,37	2,09	3,12	0,85						
	0,62	0,99	1,60	1,96						
	0,87	2,23	2,71	2,43						
Dexmédétomidine	0,17	2,27	2,39	-3,89	0,10-1,00	0,9992	3,448	-0,002	0,02	0,07
	0,37	0,22	0,22	-3,07						
	0,62	0,33	0,33	-3,31						
	0,87	0,79	1,52	-2,24						

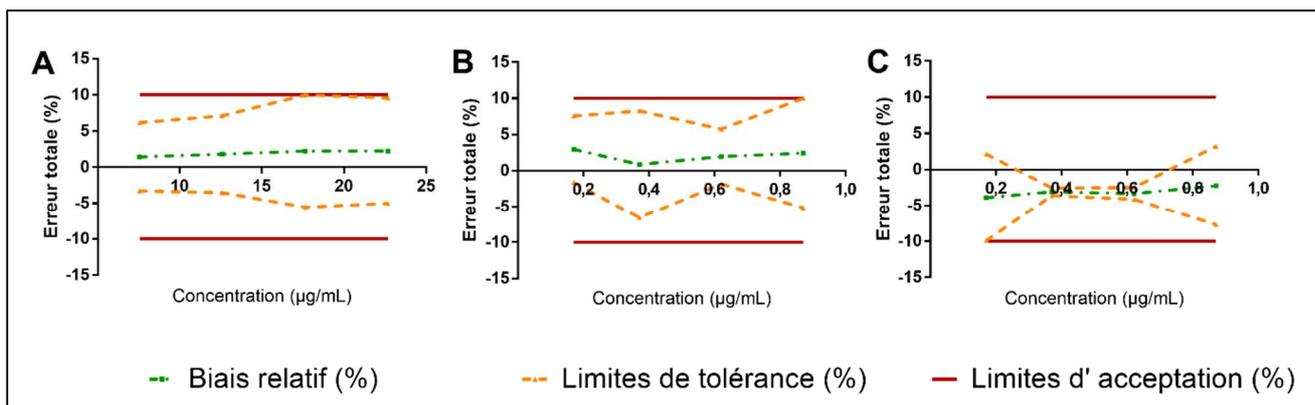


Figure 22: Profils d'exactitude.

A) Profil d'exactitude à 90% du propofol, **B)** Profil d'exactitude à 95% de la clonidine, et **C)** Profil d'exactitude à 95% de la dexmédétomidine. La limite de tolérance supérieure du propofol pour les concentrations 17,64 µg/mL et 22,68 µg/mL étaient égales à 9,98% et 9,55% respectivement. La limite de tolérance supérieur de la clonidine pour une concentration égale à 0,87 µg/mL est égale à 10%. La limite de tolérance inférieure de la dexmédétomidine à la concentration de 0,17 µg/mL est de -9,92%.

c. Etude de stabilité

Les résultats détaillés sont fournis en annexe (tableaux S2-S5).

i. Stabilité chimique

Pendant toute la durée de l'étude, les concentrations en propofol et en $\alpha 2A$ ne sont pas descendues sous la limite prédéfinie de 90 % de C_0 (93,0 – 105,7 % C_0) (Figures 23 et 24). Cependant, nous avons observé une légère diminution de la concentration en propofol après 72 heures (condition 7) et une baisse de la concentration en dexmédétomidine après 48 heures (conditions 13 à 16) ou 72 heures (conditions 9 à 12). A chaque point d'analyse, le pH mesuré n'a pas varié de plus de 0,16 unités par rapport au T0 pour chacune des conditions testées. L'osmolalité n'a pas varié de plus de 6 mOsm/kg (par rapport à la valeur à T0) pour chacune des conditions testées. Pour toutes les associations propofol- $\alpha 2A$ évaluées, le pH est resté compris entre 6,72 et 7,32 ; et l'osmolalité est restée comprise entre 299 et 340 mOsm/kg.

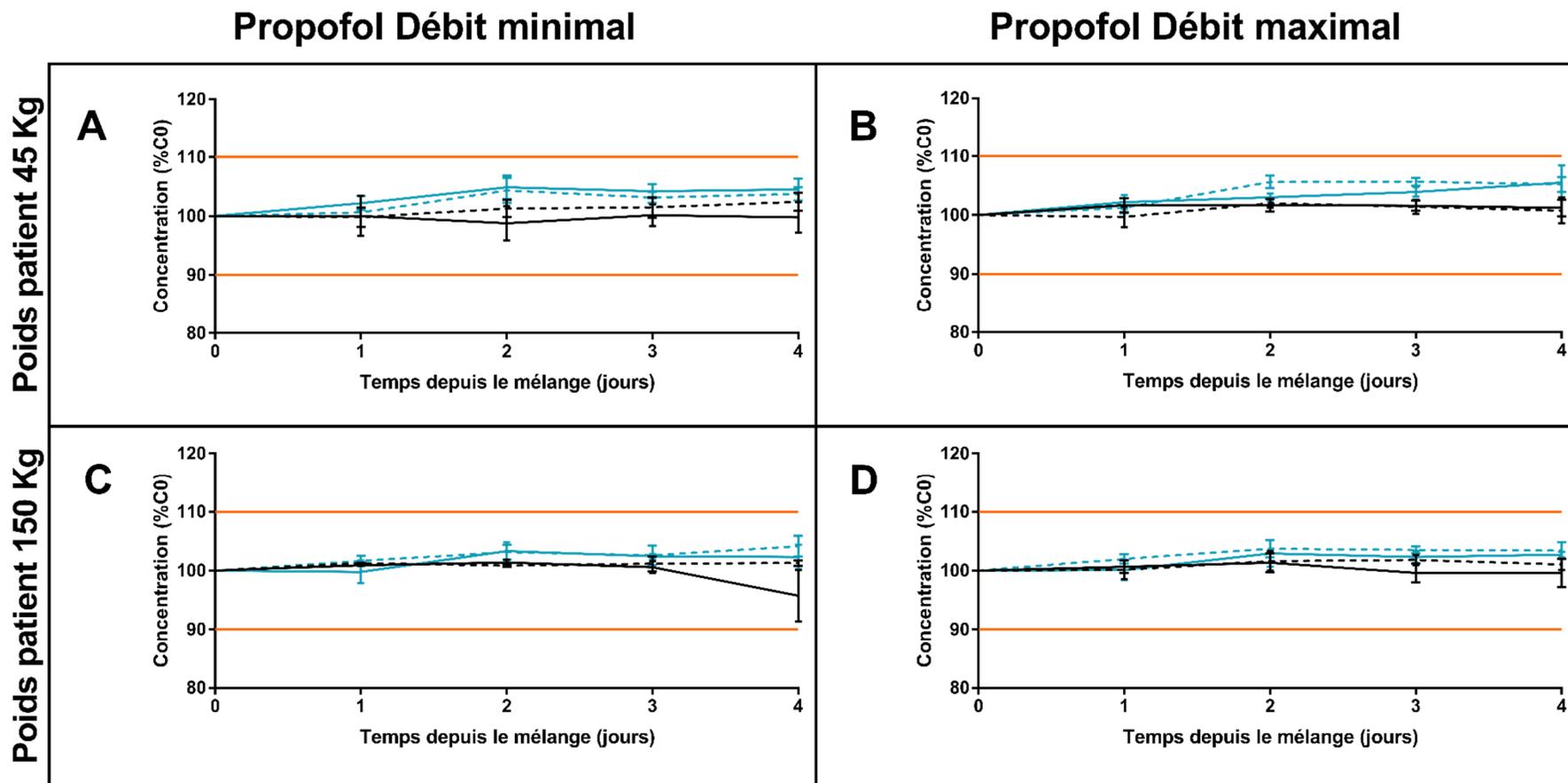


Figure 23 : Evolution des concentrations en propofol et en clonidine en fonction du temps, exprimées en pourcentage de la concentration initiale (%C0). **A)** Conditions 1 et 3 ; **B)** Conditions 2 et 4 ; **C)** Conditions 5 et 7 ; **D)** Conditions 6 et 8

Les concentrations en propofol sont représentées en noir, et celles de la clonidine en bleu. Les limites d'acceptation ($\pm 10\%$) sont représentées en orange. Les lignes en pointillés représentent les concentrations retrouvées dans les conditions avec un débit minimal de clonidine, tandis que les lignes pleines représentent les résultats obtenus dans les conditions avec un débit maximal de clonidine.

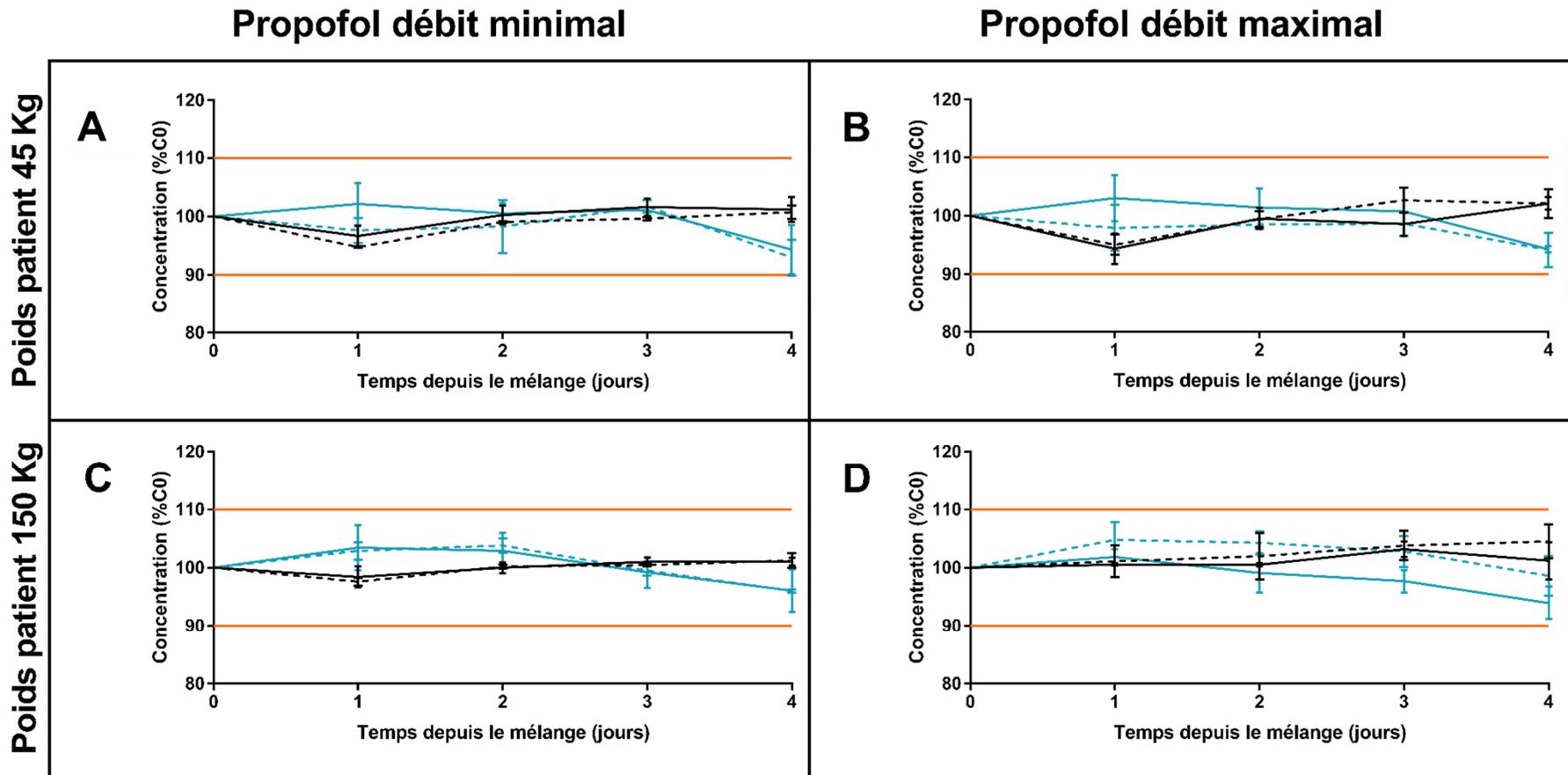


Figure 24 : Evolution des concentrations en propofol et en dexmédétomidine en fonction du temps, exprimées en pourcentage de la concentration initiale (%C0). **A)** Conditions 9 et 11 ; **B)** Conditions 10 et 12 ; **C)** Conditions 13 et 15 ; **D)** Conditions 14 et 16

Les concentrations en propofol sont représentées en noir, et celles de la dexmédétomidine en bleu. Les limites d'acceptation ($\pm 10\%$) sont représentées en orange. Les lignes en pointillés représentent les concentrations retrouvées dans les conditions avec un débit minimal de dexmédétomidine, tandis que les lignes pleines représentent les résultats obtenus dans les conditions avec un débit maximal de dexmédétomidine.

ii. Stabilité physique

Tout au long de l'étude de stabilité, aucun changement n'a été observé dans les caractères organoleptiques des mélanges propofol- α 2A (par rapport à un contrôle positif de stabilité de l'émulsion, consistant en du propofol Lipuro® 2%).

Pour le premier témoin positif de l'instabilité des émulsions (propofol + lidocaïne), le MDD a augmenté de $166,9 \pm 1,0$ nm (T0) à $183,1 \pm 1,9$ nm (24 h) puis à $854,2 \pm 71,6$ nm (J 18), tandis que le PZ est resté $\geq \pm 30$ mV. Pour le second contrôle d'instabilité de l'émulsion (émulsion-maison instable de HLB 11), le MDD mesuré était de $419,3 \pm 50,8$ nm, le PDI était calculé à 0,525, et le PZ égal à -8.2 mV.

Concernant le contrôle positif de la stabilité de l'émulsion (Propofol Lipuro® 2% seul), le Z-average était de $171,6 \pm 1,2$ nm, le PDI de $0,07 \pm 0,017$ et le PZ était égal à $-34,6 \pm 0,78$ mV.

Le Z-average est resté inférieur à la limite de 500 nm tout au long de l'étude, avec un diamètre moyen de globule compris entre 165 et 195 nm pour toutes les conditions évaluées. Toutes les valeurs de PDI étaient inférieures à 0,4 ; 78,7 % étaient inférieures à 0,1 ; et 21,3 % étaient comprises entre 0,1 et 0,4. Ce dernier groupe concernait les conditions 4 et 7 de l'association propofol-clonidine (soit 30 % des PDI de l'association propofol – clonidine) ainsi que les conditions 11 et 15 de l'association propofol-dexmédétomidine (soit 12,5% des PDI de l'association propofol-dexmédétomidine).

Les valeurs de PZ n'ont pas varié de plus de 8 mV (par rapport à T0) pour l'ensemble des conditions et étaient comprises entre -31,3 et -42,9 mV pendant l'étude (à l'exception d'une valeur de $-29,7 \pm 1,1$ mV pour la condition 11 à 48 h).

4. Discussion - Conclusion

- a. Développement et validation de méthodes analytiques pour le dosage du propofol, de la clonidine et de la dexmédétomidine

Les résultats obtenus pour la dégradation forcée du propofol sont concordants avec ceux de Cèbe *et al.*^[177] qui avaient observé une dégradation du propofol en conditions alcalines (NaOH 1N pendant 1 heure à 80°C) et oxydantes (H₂O₂ 30% pendant 2 heures à 80°C), avec des pertes en propofol de 25,7% et 29,4% respectivement et l'apparition de respectivement deux et trois produits de dégradation. Nos résultats sont également partiellement concordants avec ceux de Peng *et al.*^[199] qui avaient utilisé la spectrométrie de masse et détecté 11 produits de dégradation dans des échantillons exposés à de l'HCl 0,1N ; NaOH 0,1 N, H₂O₂ 30% à 60°C, UV 254 nm et à 105°C. Les différences observées peuvent être expliquées par des divergences dans le protocole de l'essai et la méthode de détection utilisée.

Concernant la dégradation forcée de la clonidine, nos résultats étaient partiellement concordants avec ceux de Potier *et al.*^[200], qui mettaient en évidence (i) une perte d'intensité du pic correspondant à la clonidine sans apparition de produits de dégradation après une exposition à de l'HCl 0,1 N ou à de l'H₂O₂ 3% à 60°C, et (ii) aucune dégradation après une exposition à du NaOH 0,1N à 60°C ou une exposition à une température de 60°C. Nos résultats diffèrent de ceux de Lu *et al.*^[201] qui ont observé une dégradation de la clonidine suite à une exposition à de l'acide sulfurique (H₂SO₄) 1N à 90°C ou à une température de 90°C pendant 10 jours. Cependant, les conditions étudiées par Lu *et al.* ont conduit à une dégradation de la clonidine supérieure aux 20% recommandés par le guide GERPAC-SFPC. De fait, certains des produits de dégradation détectés pourraient avoir été formés suite à la dégradation secondaire des produits de dégradation primaires.

Nos résultats diffèrent également de ceux de Verlhac *et al.*^[202] qui avaient observé une dégradation de la clonidine après une exposition à de l'HCl 5N, du NaOH 5N ou de H₂O₂ 30% à 100°C pendant 3 jours. Ces différences peuvent être expliquées par des différences de protocole utilisé pour l'essai de dégradation forcée, ainsi que par les plus faibles concentrations de clonidine utilisées dans notre étude (choisies pour mimer les concentrations retrouvées dans les protocoles de soin standards) ; les concentrations des produits de dégradation potentiellement générés pourraient être inférieures à la limite de détection de notre méthode.

Preslaski *et al.*^[203] avaient également observé une dégradation de la dexmédétomidine après une exposition pendant 48 heures à des conditions alcalines (NaOH de 0,25 à 6N et à 70°C) ou oxydantes (H₂O₂ de 10 à 30% et à 70°C), ainsi qu'une faible dégradation après une exposition à des conditions acides (HCl de 0,25 à 6N et à 70°C), à des rayonnements UV (270 nm à 38°C) ou à la chaleur (70°C). Ces résultats étaient obtenus grâce à une méthode de CLHP-MS/MS et une méthode de chromatographie gazeuse couplée à une détection en spectrométrie de masse. Nos résultats sont concordants avec ceux d'Anderson *et al.*^[204] pour la dégradation de la dexmédétomidine par du NaOH 0,1N, et avec ceux de Krisna *et al.*^[205] pour la dégradation de la dexmédétomidine après 3 heures d'exposition à de l'H₂O₂ 50% à 70°C. Les différences observées dans les résultats de ces études sont probablement liées à des différences de protocole opératoire.

Nous avons développé et validé trois méthodes CLHP-UV robustes et indicatrices de stabilité pour le dosage de trois molécules dans un milieu complexe composé d'une émulsion lipidique. L'utilisation d'une méthode de dosage par CLHP-MS/MS permettrait de confirmer la sélectivité des méthodes analytiques validées. Ces méthodes utilisaient la même phase stationnaire et les mêmes solvants (bien qu'en différentes proportions), ce qui nous a permis de réaliser les dosages de ces différentes molécules sur un même jour d'analyse pendant les études de stabilité.

b. Etude de stabilité de l'association du propofol avec la clonidine ou la dexmédétomidine

Nous avons également étudié la stabilité physico-chimique d'émulsions comportant différentes proportions de propofol et d' α 2A afin de couvrir les différents débits, concentrations et proportions rencontrées lors des procédures chirurgicales ou dans les services de soins intensifs. L'étude de stabilité a été menée sur 96 heures pour représenter le scénario le plus défavorable, c'est-à-dire l'intervalle de temps maximal autorisé entre deux remplacements des voies de perfusion d'après les protocoles de notre hôpital^[195,196].

Au vu des résultats obtenus lors du dosage par CLHP-UV, ainsi que des mesures de pH et d'osmolalité, nous avons conclu que tous les mélanges étudiés étaient chimiquement stables pendant au moins 96 heures. Nos résultats obtenus sur une période de 96 heures concordent avec ceux rapportés par Gersonde *et al.*^[190] sur une période de 24 heures. Il est important de souligner que, contrairement aux résultats de Gersonde *et al.*, nos données correspondent parfaitement aux gammes de concentrations et aux proportions de médicaments utilisées dans les protocoles standard de soins intensifs et de chirurgie. Les gammes de concentration étudiées par Gersonde *et al.* et celles de notre étude étaient respectivement : 2,00 – 18,00 mg/mL et 5,45 – 18,75 mg/mL pour le propofol ; 0,002 – 0,014 mg/mL et 0,004 – 0,033 mg/mL pour la clonidine ; et 0,002 – 0,018 mg/mL et 0,002 – 0,015 mg/mL pour la dexmédétomidine.

De plus, nos résultats ont confirmé que tous les mélanges propofol- α 2A étudiés étaient physiquement stables. Une légère augmentation du MDD a été observée à 96 heures dans les conditions 4, 7, 11 et 15, accompagnées de valeurs légèrement plus élevées du PDI indiquant une distribution des tailles élargie. Cela pourrait être un signe de déstabilisation précoce de l'émulsion. Cependant, les valeurs de MDD étant restées inférieures à 500 nm, l'usage de ces émulsions est resté compatible avec une administration par voie intraveineuse^[197].

Nos résultats pour le PZ (supérieur à ± 30 mV dans toutes les conditions) diffèrent de ceux de Gersonde *et al.*^[190] ; ces derniers avaient retrouvé un PZ entre -10 et -15 mV pour les ratios 1 : 1 propofol- $\alpha 2A$, et un PZ égal à -4 mV pour le ratio 1 : 10 propofol- $\alpha 2A$. Ces différences pourraient être expliquées par la différence de contenant, de concentrations et de ratios étudiés. Cependant ces valeurs de PZ retrouvées par Gersonde *et al.*^[190] confirment notre suspicion de déstabilisation précoce de l'émulsion dans les conditions 4, 11 et 15 (avec un ratio de concentration proche du ratio 1 : 1 v/v de l'étude de Gersonde *et al.*) et la condition 7 (proche du ratio 1 : 10 v/v de l'étude de Gersonde *et al.*).

Nos résultats ont donc démontré la stabilité physico-chimique de mélanges propofol- $\alpha 2A$ représentatifs de ceux utilisés en pratique courante. Cependant, nous n'avons pas évalué les potentielles interactions contenant-contenu qui pourraient survenir avec les éléments des lignes de perfusion. Une confirmation de la stabilité des mélanges d'un point de vue physico-chimique et microbiologique pourrait compléter notre travail de manière intéressante.

Dans les services de soins intensifs et au bloc opératoire, les patients sont amenés à recevoir plusieurs médicaments intraveineux sur une même voie de perfusion. Il a été démontré précédemment que la co-perfusion de plusieurs médicaments pouvait entraîner des incompatibilités et donc une perte d'efficacité ou une augmentation de la toxicité^[44,60,64,206]. Les émulsions sont des formulations qui peuvent être déstabilisées par de nombreux facteurs, comme un changement de pH ou dans la concentration en ions. Ces changements sont susceptibles de survenir lors de la co-perfusion de plusieurs traitements^[207]. Nos résultats soulignent la nécessité d'étudier la stabilité et la compatibilité des médicaments fréquemment administrés aux soins intensifs, avec une attention toute particulière pour ceux formulés comme des émulsions intraveineuses (ex : le propofol et les produits de nutrition parentérale)^[88,190,207-209].

Ce travail a fait l'objet d'une publication internationale: **Roche M.**, Rousseleau D., Danel C., Henry H., Lebuffe G., Odou P., Lannoy D., Simon N. Combination of a propofol emulsion with alpha-2 adrenergic receptor agonist used for multimodal analgesia or sedation in intensive care units: a physicochemical stability study. Eur J Hosp Pharm. 2024 Jan 30: ejhpharm-2023-004027. DOI: 10.1136/ejhpharm-2023-004027. Epub ahead of print

Discussion Générale

1. Stabilité et compatibilité des médicaments d'anesthésie-réanimation : Validation des pratiques hospitalières par des études analytiques

Ce travail avait pour objectif l'étude de la stabilité et/ou de la compatibilité de médicaments d'anesthésie-réanimation dans des conditions représentatives de leur fabrication, conservation ou de leur administration dans les services de soins. Afin de répondre aux questions posées, il a été nécessaire de développer et valider des méthodes analytiques fiables et adaptées aux molécules étudiées.

Dans un premier temps, nous avons mis au point et validé une méthode de dosage par CLHP-UV pour le cisatracurium et la laudanosine, un de ses marqueurs de dégradation décrit. La méthode analytique permettait également de détecter les autres produits de dégradation du cisatracurium, comme cela a été validé lors d'essais de dégradation forcée, et deux stéréoisomères, le cis-trans atracurium et le trans-trans atracurium. Les résultats des essais de dégradation forcée étaient concordants avec les données disponibles dans la littérature [120,121]. Cependant, à notre connaissance, ce travail est le premier à avoir décrit une dégradation du cisatracurium lors d'une exposition à un rayonnement UV. Les résultats d'une étude de stabilité menée sur un lot d'ampoules de bésylate de cisatracurium à 10 mg/mL produites localement en réponse aux ruptures d'approvisionnement ont permis de définir une stabilité de 15 mois. Il s'agit de la stabilité la plus longue décrite pour des solutions non commerciales de cisatracurium à 10 mg/mL conservées entre 2 et 8°C. En l'absence de substance chimique de référence commerciale disponible pour les autres produits de dégradation du cisatracurium, une seconde méthode par CLHP-MS/MS a été développée pour leur identification. Ce travail a ainsi permis de proposer une voie de dégradation du cisatracurium pour la formulation choisie et dans nos conditions de conservation. Contrairement à ce qui avait été décrit précédemment, la voie de dégradation majoritaire du cisatracurium dans nos conditions de conservation était la voie de l'hydrolyse de l'ester, qui aboutit à la formation d'alcool monoquatenaire (impuretés E/F de la PE^[133]) et d'un acide monoquatenaire (impureté A de la PE^[133]).

La voie de dégradation la plus décrite dans la littérature était celle de la dégradation d'Hofmann qui génère de l'acrylate monoquatenaire (impuretés N/O de la PE^[133]) et de la laudanosine^[105,106,122]. Ces travaux avaient étudié la stabilité de formes commerciales de cisatracurium dont la stérilisation terminale par la chaleur humide - qui diffère de la filtration stérilisante utilisée avec notre préparation - pourrait influencer la dégradation en favorisant la voie d'Hofmann. Cette différence de résultats souligne la nécessité d'être en mesure de détecter et d'identifier tous les produits de dégradation du cisatracurium plutôt que de se baser sur la laudanosine comme seul marqueur de la dégradation du cisatracurium comme cela a parfois été le cas dans les études de stabilité^[121].

Dans un second temps, pour répondre à une problématique récurrente des services de soins critiques, nous avons souhaité valider la compatibilité de plusieurs médicaments co-perfusés lors de protocoles de sédation en réanimation^[2,77,80,187] ou lors de procédures d'analgésie multimodale au bloc opératoire^[138,169,170,186]. Nous nous sommes intéressés à l'association du propofol - un hypnotique formulé sous la forme d'une émulsion lipidique H/E, dont la forme galénique complexe présente un haut potentiel de déstabilisation en mélange – avec des agonistes des récepteurs alpha-2 adrénergiques tels que la clonidine ou la dexmédétomidine. Afin d'étudier la stabilité chimique de ces médicaments en mélange, il a été nécessaire de développer et valider trois méthodes analytiques CLHP-UV indicatrices de stabilité permettant le dosage des composés d'intérêt dans une matrice complexe d'émulsion lipidique. Par ailleurs, afin de valider la stabilité physique de l'émulsion de propofol en présence de la clonidine ou de la dexmédétomidine, et en l'absence de témoins décrits pour l'instabilité des émulsions, nous avons préparé des témoins positifs d'instabilité pour valider les résultats obtenus par analyse par le Zêtasizer. Les méthodes analytiques développées ont permis de valider la compatibilité des mélanges propofol- α 2A dans des proportions et des concentrations représentatives des protocoles d'anesthésie-réanimation. Bien que la compatibilité de l'association du propofol avec la clonidine et la dexmédétomidine ait déjà été étudiée^[190], ce travail est le premier à avoir utilisé les concentrations et les proportions des deux médicaments identiques à celles rencontrées dans les services de soins intensifs et d'anesthésie pour construire le protocole de l'étude de compatibilité.

De plus, cette étude a été menée sur une durée de 96 heures, supérieure également aux autres études réalisées précédemment^[190]. Elle permet donc de disposer dorénavant de données rassurantes sur la compatibilité de cette association fréquemment rencontrée en anesthésie-réanimation.

Les résultats de ces travaux expérimentaux ont ainsi permis une validation scientifique des pratiques hospitalières de la pharmacie et des services de soins. En effet, il est nécessaire de connaître la stabilité des médicaments lors de leur conservation et/ou leur compatibilité lors de leur utilisation ainsi que les voies de dégradation impliquées afin de garantir leur bon usage.

2. Place des méthodes analytiques dans la sécurisation de la prise en charge médicamenteuse

L'assurance de la qualité et de la sécurité de la prise en charge médicamenteuse est un point critique de la certification des établissements de santé^[210]. La prise en charge médicamenteuse repose sur un processus complexe comprenant de nombreuses étapes et acteurs, avec des risques d'erreurs associés à chaque niveau. D'après les résultats de l'enquête nationale sur les événements indésirables associés aux soins en établissements de santé (ENEIS) menée en 2009^[211], les erreurs liées à la prise en charge médicamenteuse sont la troisième cause d'évènements indésirables graves (EIG) avec 60 000 à 130 000 évènements recensés par an dont 51,2% étaient considérés comme évitables et près de 54,5% ont conduit à une hospitalisation. En 2019, l'étude ENEIS 3 a montré entre 55 000 et 130 000 EIG évitables par an au cours d'une hospitalisation^[212]. D'après les études ENEIS 1 et 2, près d'un tiers des EIG associés aux soins étaient d'origine médicamenteuse^[213]. De ce fait, nous pouvons estimer à partir des résultats de l'étude ENEIS 3, qu'entre 18 000 et 43 000 EIG par an pourraient être évités. Parmi les causes identifiées d'erreurs, les pratiques de soins notamment lors de la reconstitution, de la préparation ou de l'administration des médicaments injectables ont été identifiées^[213-215].

On observe une forte proportion de ces erreurs dans les services de soins intensifs et de réanimation, qui accueillent les patients les plus sévères et recevant une forte proportion de traitements par voie intraveineuse^[44,51-59,61,62,65].

Dans notre hôpital, nous avons par exemple mis en évidence une grande variabilité de la concentration en vancomycine dans des seringues préparées par les infirmières d'un service de soins intensifs néonataux ayant entraîné une variabilité des concentrations plasmatiques mesurées chez le patient^[216]. Une autre étude menée sur des seringues de kétamine, rémifentanil et sufentanil préparées au sein d'un bloc opératoire pédiatrique avait retrouvé des concentrations non conformes (hors de l'intervalle d'acceptation à $\pm 10\%$) dans 15,3% des seringues étudiées^[217].

Dans ce contexte, le pharmacien joue un rôle fondamental en mettant ses compétences en chimie analytique au service de la qualité de la prise en charge médicamenteuse du patient.

Suite aux études menées dans notre établissement, les protocoles de préparation ont été révisés et standardisés et les équipes de soin ont été formées, permettant de prévenir les erreurs de concentration pour les médicaments IV préparés dans les services^[216,217].

Ses compétences pourront par exemple être utilisées pour sécuriser l'étape d'administration des médicaments injectables, grâce à l'évaluation des données de compatibilité et de stabilité. De fait, un des problèmes majeurs rapportés par les équipes médicales est l'absence de données de stabilité ou de compatibilité disponibles représentatives des situations rencontrées dans leurs services de soins^[44,53,58,59]. En effet, les données disponibles ne correspondent parfois pas aux solvants, aux concentrations et aux mélanges de thérapeutiques des protocoles du service. De plus, lorsqu'elles sont disponibles, ces données sont parfois contradictoires^[53]. En l'absence de données disponibles adaptées aux problématiques rencontrées dans les services de soins, il est alors possible de mener des essais en laboratoire en reproduisant les conditions rencontrées dans la pratique clinique^[218-221].

Cette expertise est d'autant plus précieuse lorsque ces études concernent des médicaments à marge thérapeutique étroite pour lesquels une incompatibilité entraînant une perte en principe actif peut conduire à une perte d'efficacité qui aurait de graves conséquences cliniques^[47,63,64]. C'est le cas par exemple avec la perte d'activité biologique de l'aldesleukine (une forme d'interleukine-2 recombinante utilisée comme immunostimulant dans le traitement de cancers rénaux) observée lorsqu'elle est associée avec du ganciclovir (un agent antiviral utilisé en prévention ou traitement des infections à cytomégalo virus chez les patients immunodéprimés)^[220]. Cette perte d'activité est survenue sans être associée ni à un signe visible d'instabilité (trouble ou précipitation) ni à une modification de l'analyse par spectrophotométrie, ce qui souligne la nécessité de disposer de données de stabilité chimique ou d'activité en plus des données de stabilité physique le plus souvent retrouvées dans les études. Ces études d'incompatibilités sont par ailleurs plus complexes à élaborer pour les médicaments à structure protéique, où la perte d'activité doit être à mesurer^[220,222].

Lorsqu'une incompatibilité est détectée ou suspectée, l'efficacité de mesures de prévention telles que l'optimisation des montages de perfusion^[91,218,219] ou le recours à des dispositifs d'administration multi-lumières peut également être évaluée par des essais en laboratoire^[92-94].

Le pharmacien pourra également contribuer à sécuriser l'étape de reconstitution ou de préparation des médicaments, notamment par le biais de la préparation centralisée de médicaments intraveineux prêts à l'emploi (*Centralized Intra Venous Additive Service* ou CIVAS)^[223-225]. Le choix des médicaments concernés par les CIVAS repose sur plusieurs critères, le principal étant d'assurer la sécurité du patient et du personnel en limitant les erreurs de dilution des médicaments et en garantissant que celle-ci a été réalisée en conditions aseptiques, ou en limitant l'exposition des soignants liée à la manipulation d'une molécule toxique^[224]. En plus de réduire le nombre d'erreurs médicamenteuses, le recours à des CIVAS permet également de limiter le gaspillage en préparant plusieurs doses à partir d'un même flacon, et un gain de temps pour les soignants en mettant à leur disposition des traitements prêts à l'emploi et en leur permettant de recentrer leur activité autour du soin du patient^[223-225].

Avant la mise en place de chaque préparation standardisée prête à l'emploi, il est également nécessaire de disposer de données de stabilité du médicament à la concentration souhaitée et dans les conditions de conservation souhaitées (solvant de dilution, conditionnement, température et lieu de stockage...)^[226-228].

Enfin, le pharmacien participe aux démarches mises en place pour garantir la continuité des soins en cas de tension d'approvisionnement sur des médicaments essentiels. Ces dernières années, les ruptures d'approvisionnement sont en constante augmentation. Ces ruptures sont causées par une combinaison complexe de plusieurs facteurs, parmi lesquels on retrouve par exemple une production par un nombre limité de fabricants (le plus souvent situés en dehors du territoire national), un fonctionnement en flux-tendu avec une limitation des quantités de produits finis stockées par les établissements pharmaceutiques, et un manque de capacité à adapter la production pour répondre aux augmentations des demandes^[229,230]. Cette organisation fragile est d'autant plus impactée par des événements de grande ampleur, tels que la crise liée à la pandémie de COVID-19 qui a conduit à un pic dans le nombre de ruptures recensées au niveau mondial. Cela peut être expliqué d'une part par l'augmentation des consommations de médicaments d'urgence, et d'autre part par une diminution des exportations et de la production des substances actives et des produits finis suite à la fermeture d'usines de production^[231]. Parmi les mesures proposées pour limiter l'impact clinique des ruptures d'approvisionnement, on retrouve l'autorisation de la production par des façonniers ou par les pharmacies hospitalières des médicaments classés sur la liste des médicaments en rupture^[229,231-236]. En France, la définition des « préparations hospitalières spéciales » par l'article L5121-1 du Code de la Santé Publique encadre le nouveau rôle des pharmaciens hospitaliers dans la production des médicaments en tension d'approvisionnement^[15]. Ces préparations font l'objet d'une autorisation temporaire délivrée par le directeur général de l'ANSM en cas de rupture de stock ou d'arrêt de commercialisation d'un médicament d'intérêt thérapeutique majeur, ou par le ministre chargé de la santé en cas de menace ou crise sanitaire grave. De la même manière que pour la mise en place de CIVAS, la mise en œuvre de préparations hospitalières spéciales repose sur la capacité des pharmacies à contrôler la qualité des médicaments produits, en ayant recours à des méthodes analytiques appropriées.

Le rapport de l'inspection générale des affaires sociales (IGAS) publié en 2021 sur les vulnérabilités d'approvisionnement des produits de santé évoque comme levier pour lutter contre les ruptures la mise en œuvre de productions en partenariat public-privé comme cela a été réalisé pour la production de lots de cisatracurium injectable par le façonnier DELPHARM pour le compte de l'Agence générale des équipements et produits de santé (AGEPS ; quatre lots de 200 000 ampoules en 2021 et 4 lots de 200 000 ampoules en 2022^[232,237,238] et pour lequel les contrôles libératoires avaient été réalisés par plusieurs centres hospitaliers français (réseau de 6 PUI) et par l'ANSM (Dosage CLHP-UV par le laboratoire de contrôle du CHU de Lille)^[4,237].

Au CHU de Lille, l'expérience de la crise sanitaire a notamment permis l'acquisition d'un semi-automate de remplissage aseptique permettant un conditionnement de solutions médicamenteuse injectables sous atmosphère protectrice (ASEPTIC technologies), utilisé pour améliorer la stabilité de préparations sensibles à l'oxydation. Cela a également accéléré le développement de l'automatisation des productions dans l'optique de pouvoir répondre à une demande urgente de production de médicaments pour pallier les ruptures d'approvisionnement, avec par exemple l'étude de la faisabilité de solutions injectables de propofol formulées avec des cyclodextrines. De même, un grand nombre de molécules pouvant être éligibles à des CIVAS sont actuellement à l'étude selon les mêmes principes de contrôle de la qualité et de la stabilité que ceux mis en œuvre dans ce travail : notamment, des solutions prêtes à l'emploi de noradrénaline pour les blocs opératoires.

Enfin, le rapport de l'IGAS recommande également d'envisager la constitution par les établissements hospitaliers concernés par les ruptures d'un groupement de coopération sanitaire basé sur le modèle américain CIVICA Rx^[232]. Il s'agit d'un service public de santé à but non lucratif et autosuffisant fondé en 2018 aux Etats-Unis par des systèmes de santé américains (représentant près de 1500 hôpitaux) et trois organisations philanthropiques pour sécuriser l'accès aux médicaments inscrits sur la liste des médicaments en rupture de la FDA au prix le plus bas soutenable^[239].

Cette initiative a démontré sa supériorité par rapport aux circuits classiques de distribution de médicaments sur les critères de fiabilité de l'approvisionnement (notamment grâce à la constitution d'un stock correspondant à environ 6 mois de consommation), de capacité à répondre à une augmentation des besoins, et avec un moindre coût financier^[239].

Afin de sécuriser l'approvisionnement des médicaments, cet établissement pharmaceutique a établi une collaboration à long terme avec des fabricants de médicaments auxquels il sous-traite la production, puis il s'assure de la qualité des lots produits et les distribue aux hôpitaux avec lesquels il a établi un contrat représentant environ 50% des besoins estimés pour une durée de 5 ans. Afin de renforcer la sécurité de l'approvisionnement, CIVICA Rx a construit son propre site de production équipé d'un laboratoire de contrôle qualité^[239].

Conclusion

Les médicaments de l'anesthésie réanimation sont à haut risque d'erreurs médicamenteuses. En effet, ces médicaments disposent le plus souvent d'une marge thérapeutique étroite, et sont administrés par voie intraveineuse au cours de protocoles complexes impliquant de nombreuses co-administrations. Ce travail a permis de confirmer la place essentielle du pharmacien dans l'assurance de la qualité de la prise en charge médicamenteuse dont l'objectif est de fournir le bon traitement au bon patient, à la bonne dose, par la bonne voie et au bon moment. Le recours à des méthodes analytiques fiables et adaptées permet de répondre aux questions posées en lien avec cette prise en charge.

Ce travail a été mené en partie dans un contexte de pandémie à la COVID 19, mais ses résultats sont transposables à de nombreuses autres situations. Les méthodes et protocoles mis en œuvre dans ce travail pourront par exemple être déclinés pour valider la sécurité et l'efficacité de protocoles complexes impliquant la co-administration de médicaments à marge thérapeutique étroite, ou étant formulés sous une forme galénique complexe. Les protocoles mis en œuvre dans ce travail pour le contrôle de la qualité, l'étude des voies de dégradation, ainsi que les études de stabilité ont quant à eux une place prépondérante dans la mise en œuvre de la production de CIVAS, ou la production temporaire de médicaments pour limiter l'impact des ruptures de médicaments sur la qualité des soins dispensés aux patients.

Références bibliographiques

1. COVID-19 cases | WHO COVID-19 dashboard [Internet]. Datadot [Cité 2024 févr 26] ; Available from : <https://data.who.int/dashboards/covid19/cases>
2. Balakrishna A, Walsh EC, Hamidi A, Berg S, Austin D, Pino RM, *et al.* An examination of sedation requirements and practices for mechanically ventilated critically ill patients with COVID-19. *Am J Health Syst Pharm* 2021;78(21):1952-61.
3. Chapuis C, Collomp R, Albaladejo L, Terrisse H, Honoré S, Bosson JL, *et al.* Redistribution of critical drugs in shortage during the first wave of COVID-19 in France: from operating theaters to intensive care units. *J Pharm Policy Pract* 2022 ;15(1) :28.
4. Bruneaux F. Gestion de crise, prévention des pénuries et impact sur la coordination des acteurs publics et privés [Internet]. 2022 [cité 2023 oct 26]; Available from: https://www.acadpharm.org/dos_public/1-ACADEMIE_PHARMACIE_FBR_09_MARS_2022.pdf
5. Merks P, Jakubowska M, Drelich E, Świeczkowski D, Bogusz J, Bilmin K, *et al.* The legal extension of the role of pharmacists in light of the COVID-19 global pandemic. *Res Soc Adm Pharm* 2021 ;17(1) :1807-12.
6. Les soins critiques [Internet]. Cour des comptes ; 2021 [cité 2023 nov 13]. Available from: <https://www.senat.fr/rap/r20-841/r20-841-annexe.pdf>
7. Ministère des Solidarités et de la Santé. Message d'Alerte Sanitaire : M.A.R.S du 24 avril 2020 : achat et approvisionnement pour certains médicaments prioritaires Covid-19 [Internet]. 2020 [cité 2023 nov 13] ; Available from : <https://www.snphpu.org/syndicat-pharmaciens/message-d39alerte-sanitaire-mars-du-24-avril-2020-achat-et-approvisionnement-pour-certains-medicaments-prioritaires-covid-19~3258.html>
8. La SFAR. Préconisations pour l'adaptation de l'offre de soins en anesthésie-réanimation dans le contexte de pandémie de COVID-19 [Internet]. 2020 [cité 2021 oct 19]; Available from: <https://sfar.org/preconisations-pour-ladaptation-de-loffre-de-soins-en-anesthesie-reanimation-dans-le-contexte-de-pandemie-de-covid-19/>
9. La SFAR. Préconisations pour l'utilisation parcimonieuse des molécules en tension durant la pandémie COVID-19 [Internet]. 2020 [cité 2023 nov 23] ; Available from : <https://sfar.org/preconisations-pour-lutilisation-parcimonieuse-des-molecules-en-tension-durant-la-pandemie-covid-19/>
10. Décret n° 2020-466 du 23 avril 2020 complétant le décret n° 2020-293 du 23 mars 2020 prescrivant les mesures générales nécessaires pour faire face à l'épidémie de covid-19 dans le cadre de l'état d'urgence sanitaire - Légifrance [Internet]. 2020 [cité 2023 nov 20]. Available from : <https://www.legifrance.gouv.fr/loda/id/JORFTEXT000041817203>

11. Décret n° 2020-293 du 23 mars 2020 prescrivant les mesures générales nécessaires pour faire face à l'épidémie de covid-19 dans le cadre de l'état d'urgence sanitaire [Internet]. 2020 [cité 2023 nov 20].
Available from : <https://www.legifrance.gouv.fr/loda/id/JORFTEXT000041746694>
12. Merienne C, Filali S, Marchand C, Lapras B, Paillet C, Pirot F. Predictive stability, novel HPLC-MS analysis and semi-automatic compounding process for the emergency implementation of a production line of pancuronium in injectable solution. *Eur J Pharm Sci* 2023 ;187 :106464.
13. Guillotel R. Production de médicaments d'intérêt thérapeutique majeur : exemple du bromure de pancuronium [Internet]. 2020 [cité 2024 févr 15] ; Available from : <https://www.gerpac.eu/production-de-medicaments-d-interet-therapeutique-majeur-exemple-du-bromure-de-pancuronium>
14. Loi n° 2021-1754 du 23 décembre 2021 de financement de la sécurité sociale pour 2022 (1) [Internet]. 2021 [cité 2023 nov 20].
Available from : <https://www.legifrance.gouv.fr/jorf/id/JORFTEXT000044553428>
15. Article L5121-1 - Code de la santé publique - Légifrance [Internet]. [Cité 2024 févr 27]; Available from:
https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article_lc/LEGIARTI000044628485
16. PEW Research Centre. U.S. Illnesses and Deaths Associated With Compounded or Repackaged Medications, 2001-19 [Internet]. 2020 [cité 2023 nov 20]; Available from: <https://pew.org/387dQaT>
17. Guharoy R, Noviasky J, Haydar Z, Fakih MG, Hartman C. Compounding Pharmacy Conundrum. *Chest* 2013;143(4):896-900.
18. Watson CJ, Whitley JD, Siani AM, Burns MM. Pharmaceutical Compounding: A History, Regulatory Overview, and Systematic Review of Compounding Errors. *J Med Toxicol* 2021;17(2):197-217.
19. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Exophiala infection from contaminated injectable steroids prepared by a compounding pharmacy--United States, July-November 2002. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2002;51(49):1109-12.
20. Sellers S, Utian WH. Pharmacy Compounding Primer for Physicians: Prescriber Beware. *Drugs* 2012;72(16):2043-50.
21. Mahaguna V, McDermott JM, Zhang F, Ochoa F. Investigation of Product Quality Between Extemporaneously Compounded Progesterone Vaginal Suppositories and an Approved Progesterone Vaginal Gel. *Drug Dev Ind Pharm* 2004;30(10):1069-78.
22. Report: Limited FDA Survey of Compounded Drug Products. Food and Drug Administration [Internet] 2018 [cité 2024 févr 26]; Available from: <https://www.fda.gov/drugs/human-drug-compounding/report-limited-fda-survey-compounded-drug-products>

23. WHO Good Manufacturing Practices [Internet]. [Cité 2024 févr 26] ; Available from : <https://www.who.int/teams/health-product-and-policy-standards/standards-and-specifications/norms-and-standards-for-pharmaceuticals/guidelines/production>
24. Bonnes Pratiques de Préparation 2023. ANSM 2023 [Internet]. [Cité 2024 févr 26] ; Available from : <https://ansm.sante.fr/uploads/2023/08/02/20230802-bonnes-pratiques-de-preparation-08-2023.pdf>
25. ICH, Stability Testing of new Drug Substances and Products Q1A(R2). In: International Conference On Harmonisation Of Technical Requirements For Registration Of Pharmaceuticals For Human Use. 2006. cité 2024 févr 29
26. Brossard D, Chedru-Legros V, Crauste-Manciet S, Fleury-Souverain S, Lagarce F, Odou P, *et al.* Guide méthodologique des études de stabilité des préparations. [Clermont-Ferrand]; [Pau]: SFPC; GERPAC; 2013. cité 2019 mars 10
27. McEvoy GK, American Society of Health System Pharmacists, éditeurs. Handbook on injectable drugs: ASHP's guide to IV compatibility and stability. 20th edition. Bethesda, MD: American Society of Health-System Pharmacists; 2018.
28. Newton DW. Drug incompatibility chemistry. *Am J Health Syst Pharm* 2009;66(4):348-57.
29. Lambart L. Prévention du risque d'incompatibilité médicamenteuse : mise à disposition d'un outil pratique. [Internet]. 2021 [cité 2024 janv 12] ; Available from : <https://archive.bu.univ-nantes.fr/pollux/fichiers/download/ac7b30c8-7ada-4926-aec5-393134d6d39e>
30. Humbert-Delaloye V. Administration des médicaments par voie intraveineuse aux soins intensifs adultes : évaluation et validation des pratiques par la littérature et des essais en laboratoire [Internet]. 2013 [cité 2019 avr 25] ; Available from : https://www.chuv.ch/fileadmin/sites/pha/documents/pha_these_vhd.pdf
31. Perez M. Evaluation de différentes stratégies de prévention des incompatibilités médicamenteuses dans le contexte de la perfusion continue [Internet]. 2015 [cité 2023 nov 20] ; Available from : <https://pepite-depot.univ-lille.fr/LIBRE/EDBSL/2015/2015LIL2S020.pdf>
32. Sautou V, Lagarce F. Methods for the Study of Physical and Chemical Stability and Container-Content Interactions: Report of a GERPAC Workshop. *Pharm Technol Hosp Pharm* 2019;4(2):95-7.
33. Murney P. To mix or not to mix – compatibilities of parenteral drug solutions. *Aust Prescr* 2008;31(4):98-101.
34. Park JW, Park ES, Chi SC, Kil HY, Lee KH. The Effect of Lidocaine on the Globule Size Distribution of Propofol Emulsions: *Anesth Analg* 2003;769-71.
35. Han J, Davis SS, Washington C. Physical properties and stability of two emulsion formulations of propofol. *Int J Pharm* 2001;215(1-2):207-20.

36. Trissel LA. Drug Compatibility Differences with Propofol Injectable Emulsion Products: *Crit Care Med* 2001;29(2):466-7.
37. Ortner A, Nemec K, Germ E, *et al.* The effect of nimodipine, fentanyl and remifentanyl intravenous products on the stability of propofol emulsions. *Pharmazie* 2009 Feb; 64(2):94-7.
38. Levadoux E. Medical plastics: compatibility of alfentanil and propofol alone or mixed stability of the alfentanil-propofol mixture. *Int J Pharm* 1996;127(2):255-9.
39. Sautou-Miranda V, Levadoux E, Groueix MT, Chopineau J. Compatibility of propofol diluted in 5% glucose with glass and plastics (polypropylene, polyvinylchloride) containers. *Int J Pharm* 1996;130(2):251-5.
40. Stewart JT, Warren FW, Maddox FC, Viswanathan K, Fox JL. The Stability of Remifentanyl Hydrochloride and Propofol Mixtures in Polypropylene Syringes and Polyvinylchloride Bags at 22°C–24°C: *Anesth Analg* 2000;90(6):1450-1.
41. Feenstra P, Brunsteiner M, Khinast J. Prediction of drug-packaging interactions via molecular dynamics (MD) simulations. *Int J Pharm* 2012;431(1-2):26-32.
42. Loff S, Kabs F, Witt K, Sartoris J, Mandl B, Niessen KH, *et al.* Polyvinylchloride infusion lines expose infants to large amounts of toxic plasticizers. *J Pediatr Surg* 2000;35(12):1775-81.
43. Wei LJ, Yu HY, Chang WB, Lin CH, Chen YC, Wu JB. Effect of container on the physicochemical stability of propofol injectable emulsion after being diluted with 0.9% NaCl for intravenous infusion. *J Food Drug Anal* 2013;21(4):421-5.
44. Marsilio NR, Silva DD, Bueno D. Drug incompatibilities in the adult intensive care unit of a university hospital. *Rev Bras Ter Intensiva* [Internet] 2016 [cité 2023 sept 15];28(2). Available from : <http://www.gnresearch.org/doi/10.5935/0103-507X.20160029>
45. "HIDDEN DANGERS". *Br J Anaesth* 1971;43(2):109.
46. Bailey C, Tang KT, Rogozinski A. The determination of 2,6-diisopropylphenol (propofol) in an oil in water emulsion dosage form by high-performance liquid chromatography and by second derivative UV spectroscopy. *J Pharm Biomed Anal* 1991;9(6):501-6.
47. Nemec K, Kopelent-Frank H, Greif R. Standardization of infusion solutions to reduce the risk of incompatibility. *Am J Health Syst Pharm* 2008;65(17):1648-54.
48. Hill SE, Heldman LS, Goo EDH, Whippo PE, Perkinson JC. Fatal Microvascular Pulmonary Emboli From Precipitation of a Total Nutrient Admixture Solution. *J Parenter Enter Nutr* 1996;20(1):81-7.
49. De Winter S, Vanbrabant P, Vi NTT, Deng X, Spriet I, Van Schepdael A, *et al.* Impact of Temperature Exposure on Stability of Drugs in a Real-World Out-of-Hospital Setting. *Ann Emerg Med* 2013;62(4):380-387.e1.

50. De Winter S, Bronselaer K, Vanbrabant P, Blanchaert B, Mansour MF, Brandolisio D, *et al.* Stability of Drugs Used in Helicopter Air Medical Emergency Services: An Exploratory Study. *Air Med J* 2016;35(4):247-50.
51. Sriram S, Aishwarya S, Moithu A, Sebastian A, Kumar A. Intravenous drug incompatibilities in the intensive care unit of a tertiary care hospital in India: Are they preventable? *J Res Pharm Pract* 2020;9(2):106-111.
52. Benlabed M, Martin Mena A, Gaudy R, Perez M, Genay S, Hecq JD, *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(1):38-46.
53. Kanji S, Lam J, Johanson C, Singh A, Goddard R, Fairbairn J, *et al.* Systematic review of physical and chemical compatibility of commonly used medications administered by continuous infusion in intensive care units: *Crit Care Med* 2010;38(9):1890-8.
54. Tissot E, Cornette C, Demoly P, Jacquet M, Barale F, Capellier G. Medication errors at the administration stage in an intensive care unit. *Intensive Care Med* 1999;25(4):353-9.
55. Vogel Kahmann I, Bürki R, Denzler U, Höfler A, Schmid B, Splisgardt H. [Incompatibility reactions in the intensive care unit. Five years after the implementation of a simple « colour code system »]. *Anaesthesist* 2003;52(5):409-12.
56. Bertsche T, Mayer Y, Stahl R, Hoppe-Tichy T, Encke J, Haefeli WE. Prevention of intravenous drug incompatibilities in an intensive care unit. *Am J Health Syst Pharm* 2008;65(19):1834-40.
57. Gikic M, Di Paolo ER, Pannatier A, Cotting J. Evaluation of physicochemical incompatibilities during parenteral drug administration in a paediatric intensive care unit. *Pharm World Sci* 2000;22(3):88-91.
58. Nunez-Nunez M, Murillo-Izquierdo M, Moya-Martin M, Hoxha M, Quesada Pérez MT, Ultra-Hostalet F, *et al.* Compatibility of prolonged infusion antibiotics during Y-site administration. *Nurs Crit Care* 2022;27(6):849-58.
59. Maison O, Tardy C, Cabelguenne D, Parat S, Ducastelle S, Piriou V, *et al.* Drug incompatibilities in intravenous therapy: evaluation and proposition of preventive tools in intensive care and hematology units. *Eur J Clin Pharmacol* 2019;75(2):179-87.
60. Machotka O, Manak J, Kubena A, Vlcek J. Incidence of intravenous drug incompatibilities in intensive care units. *Biomed Pap* 2015;159(4):652-6.
61. Canann D, Tyler LS, Barker B, Condie C. Visual compatibility of i.v. medications routinely used in bone marrow transplant recipients. *Am J Health Syst Pharm* 2009;66(8):727-9.
62. Garcia Moraes C, Da Silva D, Bueno D. [Analysis of intravenous drug incompatibilities at the adult intensive care unit of hospital Das clínicas of Porto Alegre]. *Rev HCPA* 2011;31(1):31-8.

63. Barber N, Taxis K. Incidence and severity of intravenous drug errors in a German hospital. *Eur J Clin Pharmacol* 2004;59(11):815-7.
64. Mohamed HB, El-Shanawany SM, Hamad MA, Elsabahy M. Niosomes: A Strategy toward Prevention of Clinically Significant Drug Incompatibilities. *Sci Rep* 2017;7(1):6340.
65. Benlabed M, Perez M, Gaudy R, Genay S, Lannoy D, Barthélémy C, *et al.* Clinical implications of intravenous drug incompatibilities in critically ill patients. *Anaesth Crit Care Pain Med* 2019 ;38(2) :173-80.
66. Bruno B, Capelle L, Denis V, Duval O, Selmouni S, Villate A, *et al.* Interactions médicamenteuses et incompatibilités physico-chimiques en phase aiguë post-allogreffe : quelle influence des médicaments de support ? Recommandations de la SFGM-TC. *Bull Cancer* 2023 ;110(2) : S88-96.
67. Jack T, Brent BE, Boehne M, Müller M, Sewald K, Braun A, *et al.* Analysis of particulate contaminations of infusion solutions in a pediatric intensive care unit. *Intensive Care Med* 2010;36(4):707-11.
68. Jack T, Boehne M, Brent BE, Hoy L, Köditz H, Wessel A, *et al.* In-line filtration reduces severe complications and length of stay on pediatric intensive care unit: a prospective, randomized, controlled trial. *Intensive Care Med* 2012;38(6):1008-16.
69. Boehne M, Jack T, Köditz H, Seidemann K, Schmidt F, Abura M, *et al.* In-line filtration minimizes organ dysfunction: New aspects from a prospective, randomized, controlled trial. *BMC Pediatr* 2013;13(1):21-28.
70. Nilsson N, Storesund I, Tho I, Nezvalova-Henriksen K. Co-administration of drugs with parenteral nutrition in the neonatal intensive care unit—physical compatibility between three components. *Eur J Pediatr* 2022;181(7):2685-93.
71. Driscoll DF, Ling PR, Bistran BR. Pathological consequences to reticuloendothelial system organs following infusion of unstable all-in-one mixtures in rats. *Clin Nutr* 2006;25(5):842-50.
72. Driscoll DF, Ling PR, Silvestri AP, Bistran BR. Fine vs. coarse complete all-in-one admixture infusions over 96 hours in rats: Fat globule size and hepatic function. *Clin Nutr* 2008;27(6):889-94.
73. Bradley JS, Wassel RT, Lee L, Nambiar S. Intravenous Ceftriaxone and Calcium in the Neonate: Assessing the Risk for Cardiopulmonary Adverse Events. *Pediatrics* 2009;123(4): e609-13.
74. Staven V, Wang S, Grønlie I, Tho I. Development and evaluation of a test program for Y-site compatibility testing of total parenteral nutrition and intravenous drugs. *Nutr J* 2015 ;15(1) :29-46.

75. F. Aubrun. Analgésie postopératoire chez l'adulte. *Anesth-Réanimation* [Internet] 2020; [cité 2024 févr 26]; Available from: <https://www.em-consulte.com/article/1362524/analgesie-postoperatoire-chez-l-adulte>
76. Dou H, Hu F, Wang W, Ling L, Wang D, Liu F. Assessment of the sedative effects of dexmedetomidine and propofol treatment in patients undergoing mechanical ventilation in the ICU and relationship between treatment and occurrence of ventilator-associated pneumonia and detection of pathogenic bacteria. *Exp Ther Med* 2020;20(1):599-606.
77. Donato M, Carini FC, Meschini MJ, Saubidet IL, Goldberg A, Sarubio MG, *et al.* Consensus for the management of analgesia, sedation and delirium in adults with COVID-19-associated acute respiratory distress syndrome. *Rev Bras Ter Intensiva* 2021 ;33(1) :48-67.
78. INESSS. COVID-19 et pénurie de sédatifs, analgésiques et bloqueurs neuromusculaires - Alternatives et principes de sédation aux soins intensifs et au bloc opératoire. [Internet] 2020; [cité 2021 oct 28]. Available from: https://www.inesss.qc.ca/fileadmin/doc/INESSS/COVID-19/COVID-19_SedationSI_et_bloc.pdf
79. Park JH, Derry KL, Owens RL. Dexmedetomidine as add-on sedation to reduce continuous infusion sedative use in mechanically ventilated patients. *Am J Health Syst Pharm* 2021;78(Supplement_1): S1-9.
80. Ammar MA, Sacha GL, Welch SC, Bass SN, Kane-Gill SL, Duggal A, *et al.* Sedation, Analgesia, and Paralysis in COVID-19 Patients in the Setting of Drug Shortages. *J Intensive Care Med* 2021;36(2):157-74.
81. Adams CD, Altshuler J, Barlow BL, Dixit D, Droege CA, Effendi MK, *et al.* Analgesia and Sedation Strategies in Mechanically Ventilated Adults with COVID-19. *Pharmacotherapy*. 2020;40(12):1180-91.
82. Hoy SM, Keating GM. Dexmedetomidine: A Review of its Use for Sedation in Mechanically Ventilated Patients in an Intensive Care Setting and for Procedural Sedation. *Drugs* 2011 ;71(11) :1481-501.
83. Kunisawa T, Ueno M, Kurosawa A, Nagashima M, Hayashi D, Sasakawa T, *et al.* Dexmedetomidine can stabilize hemodynamics and spare anesthetics before cardiopulmonary bypass. *J Anesth* 2011;25(6):818-22.
84. Marinangeli F, Cocco C, Ciccozzi A, Ciccone A, Donatelli F, Facchetti G, *et al.* Haemodynamic effects of intravenous clonidine on propofol or thiopental induction. *Acta Anaesthesiol Scand* 2000;44(2):150-6.
85. Nociti JR, Serzedo PSM, Zuccolotto EB, Sebben F, Gonzales RF. [Dexmedetomidine/Propofol Association for Plastic Surgery Sedation during Local Anesthesia]. *Rev Bras Anesthesiol* 2003;53(2):198-208.

86. Shehabi Y, Botha J, Ernest D, Freebairn R, Reade M, Roberts B, *et al.* Clinical application, the use of dexmedetomidine in intensive care sedation. *Crit Care Shock* 2010;13(2):40-50.
87. Oduyale MS, Patel N, Borthwick M, Claus S. Co-administration of multiple intravenous medicines: Intensive care nurses' views and perspectives. *Nurs Crit Care* 2020;25(3):156-64.
88. Greenhill K, Hornsby E, Gorman G. Investigations of Physical Compatibilities of Commonly Used Intravenous Medications with and without Parenteral Nutrition in Pediatric Cardiovascular Intensive Care Unit Patients. *Pharmaceutics* 2019;12(2):67.
89. Ball PA, Bethune K, Fox J, Ledger R, Barnett M. Particulate contamination in parenteral nutrition solutions: still a cause for concern? *Nutrition* 2001;17(11-12):926-9.
90. Lehr HA, Brunner J, Rangoonwala R, James Kirkpatrick C. Particulate Matter Contamination of Intravenous Antibiotics Aggravates Loss of Functional Capillary Density in Postischemic Striated Muscle. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;165(4):514-20.
91. Martin Mena A, Masse M, Négrier L, Nguyen TH, Ladam B, Storme L, *et al.* Optimising an Infusion Protocol Containing Cefepime to Limit Particulate Load to Newborns in a Neonatal Intensive Care Unit. *Pharmaceutics* 2021;13(3):351.
92. Perez M, Décaudin B, Abou Chahla W, Nelken B, Barthélémy C, Lebuffe G, *et al.* *In vitro* analysis of overall particulate contamination exposure during multidrug IV therapy: Impact of infusion sets. *Pediatr Blood Cancer* 2015;62(6):1042-7.
93. Perez M, Décaudin B, Foinard A, Barthélémy C, Debaene B, Lebuffe G, *et al.* Compatibility of medications during multi-infusion therapy: A controlled in vitro study on a multilumen infusion device. *Anaesth Crit Care Pain Med* 2015;34(2):83-8.
94. Foinard A, Décaudin B, Barthélémy C, Debaene B, Odou P. The Impact of Multilumen Infusion Devices on the Occurrence of Known Physical Drug Incompatibility: A Controlled In Vitro Study. *Anesth Analg* 2013;116(1):101-6.
95. Trissel LA. *Handbook on injectable drugs*. 17th ed. Bethesda: American society of health-system pharmacists; 2013.
96. King Guide Online IV Drug Compatibility [Internet]. [Cité 2024 mars 26] ; Available from : <https://kingguide.com/online.html>
97. Compatibilité des médicaments injectables administrés en Y [Internet]. Hôp. Univ. Genève (2010) [cité 2024 mars 26] ; Available from : https://pharmacie.hug.ch/infomedic/utilismedic/HUG_CompatAdm_DCI.pdf
98. Stabilis 4.0 [Internet]. [Cité 2024 mars 26] ; Available from : <https://www.stabilis.org/>
99. Substances Cisatracurium bésilate - VIDAL eVIDAL [Internet]. [Cité 2021 sept 11] ; Available from : https://evidal-vidal-fr.ressources-electroniques.univ-lille.fr/substance/details/16481/cisatracurium_besilate.html

100. Zuo M, Gao J, Zhang X, Cui Y, Fan Z, Ding M. Capillary electrophoresis with electrochemiluminescence detection for the simultaneous determination of cisatracurium besylate and its degradation products in pharmaceutical preparations: Electrodriven Separations. *J Sep Sci* 2015 ;38(13) :2332-9.
101. NIMBEX[®] Product Monograph [Internet]. 2012 [cité 2023 avr 18] ; Available from : https://pdf.hres.ca/dpd_pm/00018102.PDF
102. Pfizer Canada inc. Monograph - Cisatracurium besylate injection [Internet]. 2017 [cité 2021 oct 2] ; Available from : https://pdf.hres.ca/dpd_pm/00042058.PDF
103. Résumé des caractéristiques du produit - NIMBEX 2 mg/ml, solution injectable/pour perfusion - Base de données publique des médicaments [Internet]. [Cité 2023 avr 21] ; Available from : <https://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/affichageDoc.php?specid=68123109&typedoc=R>
104. Wang P, Zhang H, Stewart JT, Bartlett MG. Simultaneous detection of cisatracurium, its degradation products and propofol using positive ion detection followed by negative ion detection in a single LC/MS run. *J Pharm Biomed Anal* 1998;17(3):547-53.
105. Weindlmayr-Goettel M, Kress HG, Hammerschmidt F, Nigrovic V. In vitro degradation of atracurium and cisatracurium at pH 7.4- and 37-degrees C depends on the composition of the incubating solutions. *Br J Anaesth* 1998;81(3):409-14.
106. Weindlmayr-Goettel M, Gilly H, Kress HG. Does ester hydrolysis change the in vitro degradation rate of cisatracurium and atracurium? *Br J Anaesth* 2002;88(4):555-62.
107. EMA. List of nationally authorised medicinal products - Cisatracurium. Procedure no.: PSUSA/00000777/202007. 2021;46.
108. Cisatracurium 2mg/ml solution for injection/infusion - Summary of Product Characteristics (SmPC) - (emc) [Internet]. [cité 2021 oct 2]; Available from: <https://www.medicines.org.uk/emc/product/2595/smpc>
109. Haberer JP. EMC-Pharmacologie des curares. In : *Anesthésie-Réanimation*. 2017. page 1-25.
110. Sauder P, Andreoletti M, Cambonie G, Capellier G, Feissel M, Gall O, *et al.* Sédation-analgésie en réanimation (nouveau-né exclu). *Ann Fr Anesth Réanimation* 2008 ;27(7-8) :541-51.
111. FDA Drug Shortages [Internet]. [Cité 2021 sept 11] ; Available from : https://www.accessdata.fda.gov/scripts/drugshortages/dsp_ActiveIngredientDetails.cfm?AI=Cisatracurium%20Besylate%20Injection&st=r

112. Robinson J. Almost a third of hospitals report 'complete outages' of medicines during COVID-19 pandemic. The Pharmaceutical Journal; Online: DOI:10.1211/PJ.2021.20208706 [Internet] 2021 [cité 2021 sept 11]
113. Central Alerting System (CAS)-ViewAlert [Internet]. [cité 2021 sept 11]; Available from: <https://www.cas.mhra.gov.uk/ViewandAcknowledgment/ViewAlert.aspx?AlertID=103029>
114. Sen-Crowe B, McKenney M, Elkbuli A. Medication shortages during the COVID-19 pandemic: Saving more than COVID lives. *Am J Emerg Med* 2021 ;45:557-9.
115. ANSM. Disponibilités des produits de santé de type médicaments [Internet]. [Cité 2021 sept 11] ; Available from: <https://ansm.sante.fr/disponibilites-des-produits-de-sante/medicaments>
116. USP NF-Cisatracurium Besylate Injection. p. 4. [(accessed on 17 April 2020)]. Available online: https://online.uspnf.com/uspnf/document/1_GUID-62F21D66-13E9-49
117. Niazi SK. Handbook of Pharmaceutical Manufacturing Formulations, Third Edition: Volume Six, Sterile Products. :453.
118. Russell WJ, Meyer-Witting M. The Stability of Atracurium in Clinical Practice. *Anaesth Intensive Care* 1990;18(4):550-2.
119. Pramart YV, Loucas VA, Word D. Chemical stability and adsorption of atracurium besylate injections in disposable plastic syringes. *J Clin Pharm Ther* 1996 ;21(3) :173-5.
120. Xu QA, Zhang YP, Trissel LA, Gilbert DL, Martinez JF, Fox JL. Stability of cisatracurium besylate in vials, syringes, and infusion admixtures. *Am J Health Syst Pharm* 1998 ;55(10) :1037-41.
121. Pignard J, Bourdeaux D, Kauffmann S, Constantin JM, Sautou V. Stabilité physico-chimique des solutions injectables de bésilate de cisatracurium dans les conditions cliniques d'utilisation. *Ann Fr Anesth Réanimation* 2014;33(5):304-9.
122. Błażewicz A, Fijałek Z, Warowna-Grzeńkiewicz M, Jadach M. Determination of atracurium, cisatracurium and mivacurium with their impurities in pharmaceutical preparations by liquid chromatography with charged aerosol detection. *J Chromatogr A* 2010;1217(8):1266-72.
123. Nehmer U. Simultaneous determination of atracurium besylate and its major decomposition products and related impurities by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr A* 1988; 435:425-33.
124. Ingram MD, Sclabassi RJ, Cook DR, Stiller RL, Bennett MH. Cardiovascular and Electroencephalographic Effects of Laudanosine in "Nephrectomized" Cats. *Br J Anaesth* 1986; 58:145-185.

125. Yate PM, Flynn PJ, Arnold RW, Weatherly BC, Simmonds RJ, Dopson T. Clinical experience and plasma laudanosine concentrations during the infusion of atracurium in the intensive therapy unit. *Br J Anaesth* 1987;59(2):211-7.
126. Eddleston JM, Harper NJN, Pollard BJ, Edwards D, Gwinnutt CL. Concentrations of atracurium and laudanosine in cerebrospinal fluid and plasma during intracranial surgery. *Br J Anaesth* 1989;63(5):525-30.
127. Gwinnutt CL, Eddleston JM, Edwards D, Pollard BJ. Concentrations of atracurium and laudanosine in cerebrospinal fluid and plasma in three intensive care patients. *Br J Anaesth* 1990;65(6):829-32.
128. Grigore AM, Brusco L, Kuroda M, Koorn R. Laudanosine and atracurium concentrations in a patient receiving long-term atracurium infusion: *Crit Care Med* 1998;26(1):180-3.
129. Fodale V, Santamaria LB. Laudanosine, an atracurium and cisatracurium metabolite. *Eur J Anaesthesiol* 2002;19: 466-473
130. Fernández R, Bello MA, Callejón M, Jiménez JC, Guiraúm A. Spectrofluorimetric determination of cisatracurium and mivacurium in spiked human serum and pharmaceuticals. *Talanta* 1999;49(4):881-7.
131. El Sharkasy ME, Walash M, Belal F, Salim MM. Conventional and first derivative synchronous spectrofluorimetric methods for the simultaneous determination of cisatracurium and nalbuphine in biological fluids. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc* 2020; 228:117841.
132. Torres R. Electrochemical oxidation of cisatracurium on carbon paste electrode and its analytical applications. *Talanta* 2001;53(6):1179-85.
133. Cisatracurium besilate - European Pharmacopoeia 10.8 [Internet]. [cité 2022 nov 26]; Available from: <https://pheur-edqm-eu.ressources-electroniques.univ-lille.fr/app/10-8/content/10-8/2763E.htm>
134. Bjorksten AR, Beemer GH, Crankshaw DP. Simple high-performance liquid chromatographic method for the analysis of the non-depolarizing neuromuscular blocking drugs in clinical anaesthesia. *J Chromatogr B Biomed Sci App* 1990; 533:241-7.
135. Elmansi H, Elsayed N, Belal F. Novel approach for chromatographic separation of atracurium and thiopental using factorial model. *Microchem J* 2021; 170:106751.
136. USP NF- Atracurium Besylate Injection. p.3. [(accessed on 17 April 2020)]. Available online: https://online.uspnf.com/uspnf/document/1_GUID-72873092-09C1-4955-B7CE-71F536945989_1_en-US
137. Nessiem MA, Riad SM, Fayed AS, Arafa RM. Comparative study for chiral separation of Atracurium besylate isomers: Eco-friendly HPLC using Lux Cellulose-3 chiral column, and TLC-Densitometry approaches. *Sustain Chem Pharm* 2024; 37:101358.

138. Ayad MM, Belal F, Hosney MM, Elmansi H, Elsayed N. Simultaneous HPLC Determination of Cisatracurium and Propofol in Human Plasma via Fluorometric Detection. *J Chromatogr Sci* 2018;56(6):524-30.
139. Gao J, Yang T, Ye M, Zhang X, Tian G, Zhen Q, *et al.* High-performance liquid chromatography assay with programmed flow elution for cisatracurium in human plasma: Application to pharmacokinetics in infants and children. *J Chromatogr B* 2014;955-956:58-63.
140. Li J, Chen B, Yang WH, Zhang YL. [Determination of cisatracurium in human plasma by iron-pair HPLC with fluorescence detection]. *Chin J Pharm Anal* 2011;31(4):713-6.
141. Welch RM, Brown A, Ravitch J, Dahl R. The in vitro degradation of cisatracurium, the R, cis-R'-isomer of atracurium, in human and rat plasma. *Clin Pharmacol Ther* 1995;58(2):132-42.
142. Boyd AH, Eastwood NB, Parker CJ, Hunter JM. Comparison of the pharmacodynamics and pharmacokinetics of an infusion of cis-atracurium (51W89) or atracurium in critically ill patients undergoing mechanical ventilation in an intensive therapy unit. *Br J Anaesth* 1996;76(3):382-8.
143. Bryant BJ, James CD, Ryan Cook D, Croft Harrelson J. High Performance Liquid Chromatographic Assay for Cisatracurium and Its Metabolites in Human Urine. *J Liq Chromatogr Relat Technol* 1997;20(13):2041-51.
144. Chen C, Yamaguchi N, Varin F. Dose-dependency of pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters after intravenous bolus doses of cisatracurium. *Br J Anaesth* 2008;101(6):788-97.
145. De Wolf AM, Freeman JA, Scott VL, Tullock W, Smith DA, Kisor DF, *et al.* Pharmacokinetics and pharmacodynamics of cisatracurium in patients with end-stage liver disease undergoing liver transplantation. *Br J Anaesth* 1996;76(5):624-8.
146. Farenc C, Audran M, Lefrant JY, Mazerm I, Bressolle F. High-performance liquid chromatographic method for the determination of atracurium and laudanosine in human plasma. *J Chromatogr B Biomed Sci App* 1999;724(1):117-26.
147. Simmonds RJ. Determination of atracurium, laudanosine and related compounds in plasma by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr B Biomed Sci App* 1985; 343:431-6.
148. Zhang H, Wang P, Bartlett MG, Stewart JT. HPLC determination of cisatracurium besylate and propofol mixtures with LC-MS identification of degradation products. *J Pharm Biomed Anal* 1998;16(7):1241-9.
149. Xin B, Wan L, Wang J, Liu J, Huo Y, Guo C. [Cisatracurium assay in human plasma by LC-MS]. *J Pharm Pract Serv* 2020;38(2):148-51.

150. Dear GJ, Jones AE, Pleasance S, Harrelson JC, Johnson TE. Identification of urinary and biliary conjugated metabolites of the neuromuscular blocker 51w89 by liquid chromatography/mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom* 1995;9(14):1457-64.
151. Ariffin M, Anderson R. LC/MS/MS analysis of quaternary ammonium drugs and herbicides in whole blood☆. *J Chromatogr B* 2006;842(2):91-7.
152. Cirimele V, Villain M, Pepin G, Ludes B, Kintz P. Screening procedure for eight quaternary nitrogen muscle relaxants in blood by high-performance liquid chromatography–electrospray ionization mass spectrometry. *J Chromatogr B* 2003;789(1):107-13.
153. Dinsmore KG, Campbell B, Archibald T, Mosier G, Brown S, Gonzalez-Estrada A. Refrigerated Stability of Diluted Cisatracurium, Rocuronium, and Vecuronium for Skin Testing After Perioperative Anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol* 2018;141(2): AB33.
154. Sayer H, Quintela O, Marquet P, Dupuy JL, Gaulier JM, Lachatre G. Identification and Quantitation of Six Non-Depolarizing Neuromuscular Blocking Agents by LC-MS in Biological Fluids. *J Anal Toxicol* 2004;28(2):105-10.
155. Lindon JC, Nicholson JK, Wilson ID. Directly coupled HPLC–NMR and HPLC–NMR–MS in pharmaceutical research and development. *J Chromatogr B Biomed Sci App* 2000;748(1):233-58.
156. Ravisankar P, Sankar R. A review on step-by-step analytical method validation. *IOSR J Pharm* 2015 ;5(10) : 7-19.
157. 2.2.46. Chromatographic separation techniques - European Pharmacopoeia 10.8
158. 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 I. *J Pharm Biomed Anal* 2004;36(3):579-86.
159. 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. *J Pharm Biomed Anal* 2007 ;45(1) :70-81.
160. Hubert Ph, Nguyen-Huu JJ, Boulanger B, Chapuzet E, Cohen N, Compagnon PA, *et al.* Harmonization of strategies for the validation of quantitative analytical procedures: A SFSTP proposal—Part III. *J Pharm Biomed Anal* 2007 ;45(1) :82-96.
161. Hubert Ph, Nguyen-Huu JJ, Boulanger B, Chapuzet E, Cohen N, Compagnon PA, *et al.* Harmonization of strategies for the validation of quantitative analytical procedures: A SFSTP proposal: Part IV. Examples of application. *J Pharm Biomed Anal* 2008;48(3):760-71.

162. Borman P, Elder D. Chapter 5: Q2(R1) Validation of analytical procedures: text and methodology [Internet]. In: ICH Quality Guidelines: An implementation Guide. John Wiley & Sons, Inc.; 2018 [cité 2016 août 24]. page 127-66. Available from: <http://somatek.com/content/uploads/2014/06/sk140605h.pdf>
163. 2.9.20. Particulate contamination : Visible particles - European Pharmacopoeia 10.8
164. 2.9.19. Particulate contamination : Sub-visible particles - European Pharmacopoeia 10.8
165. 2.6.1. Sterility - European Pharmacopoeia 10.8
166. 5.1.9. Guidelines for using the test for sterility - European Pharmacopoeia 10.8
167. 2.6.14. Bacterial endotoxins - European Pharmacopoeia 10.8
168. 5.1.10. Guidelines for using the test for bacterial endotoxins - European Pharmacopoeia 10.8
169. Beloeil H, Laviolle B, Menard C, Paugam-Burtz C, Garot M, Asehnoune K, *et al.* POFA trial study protocol: a multicentre, double-blind, randomised, controlled clinical trial comparing opioid-free versus opioid anaesthesia on postoperative opioid-related adverse events after major or intermediate non-cardiac surgery. *BMJ Open* 2018;8(6): e020873.
170. Beloeil H, Garot M, Lebuffe G, Gerbaud A, Bila J, Cu villon P, *et al.* Balanced Opioid-free Anesthesia with Dexmedetomidine *versus* Balanced Anesthesia with Remifentanyl for Major or Intermediate Noncardiac Surgery. *Anesthesiology* 2021;134(4):541-51.
171. Murray MJ, DeBlock HF, Erstad BL, Gray AW, Jacobi J, Jordan CJ, *et al.* Clinical practice guidelines for sustained neuromuscular blockade in the adult critically ill patient: 2016 update—executive summary. *Am J Health Syst Pharm* 2017;74(2):76-8.
172. AGEPS. Cisatracurium AP-HP - FUT et FBU [Internet]. 2021; [cité 2023 jan 30]; Available from: <https://ageps.aphp.fr/wp-content/blogs.dir/67/files/2022/10/FUT-et-FBU-Cisatracurium-2021-12-14.pdf>
173. Nimbex 10mg/ML · Abbott Laboratories, Limited · 8401 Trans-Canada Highway, Saint-Laurent, Quebec H4S 1Z1, CANADA [Internet]. [Cité 2023 avr 25] ; Available from : <https://opengovca.com/drug-product/47232>
174. Tietje C, Brouder A, éditeurs. Pharmaceutical development Q8(R2) [Internet]. In: International Conference On Harmonisation Of Technical Requirements For Registration Of Pharmaceuticals For Human Use. Brill | Nijhoff ; 2010 [cité 2023 avr 26]. p.1041-53. Available from : https://brill.com/view/book/edcoll/9789004181564/Bej.9789004163300.i-1081_085.xml

175. Tietje C, Brouder A, éditeurs. Evaluation for stability Data (Q1E) [Internet]. In: International Conference On Harmonisation Of Technical Requirements For Registration Of Pharmaceuticals For Human Use. Brill | Nijhoff ; 2010 [cité 2023 avr 18]. p. 1041-53. Available from : https://brill.com/view/book/edcoll/9789004181564/Bej.9789004163300.i-1081_085.xml
176. Ballard KD, Vickery WE, Nguyen LT, Diamond FX, Rieders F. An analytical strategy for quaternary ammonium neuromuscular blocking agents in a forensic setting using LC-MS/MS on a tandem quadrupole/time-of-flight instrument. *J Am Soc Mass Spectrom* 2006;17(10):1457-68.
177. Cèbe A, Dessane B, Gohier P, Bernadou JM, Venet A, Xuereb F, *et al.* Hospital Production of Sterile 2% Propofol Nanoemulsion: Proof of Concept. *Pharmaceutics* 2023;15(3):905.
178. Prasetyo BE, Azmi N, Shamsuddin AF. Preparation and Physical Stability Evaluation of Palm Oil-Based Nanoemulsion as a Drug Delivery System for Propofol. *J Sains Kesihat Malays* 2018 ;16(02) :5-13.
179. Rooimans T, Damen M, Markesteijn CMA, Schuurmans CCL, De Zoete NHC, Van Hasselt PM, *et al.* Development of a compounded propofol nanoemulsion using multiple non-invasive process analytical technologies. *Int J Pharm* 2023 ;640 :122960.
180. Rousseleau D, Bouchfaa M, Roche M, Lannoy D, Lebuffe G, Odou P. Du propofol « made in France » est-il réalisable ? [Internet]. 2023 [cité 2024 févr 27] ; Available from : <https://sfar-lecongres.com/wp-content/uploads/2023/resumes-decoupees/229.pdf>
181. Trapani G, Lopodota A, Franco M, Latrofa A. Effect of 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin on the aqueous solubility of the anaesthetic agent propofol (2,6-diisopropylphenol). *Int J Pharm* 1996;139: 215-218.
182. Trapani G, Latrofa A, Franco M, Lopodota A, Sanna E, Liso G. Inclusion Complexation of Propofol with 2-Hydroxypropyl- β - cyclodextrin. Physicochemical, Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopic Studies, and Anesthetic Properties in Rat. *J Pharm Sci* 1998 ;87(4) :514-8.
183. Trapani A, Laquintana V, Lopodota A, Franco M, Latrofa A, Talani G, *et al.* Evaluation of new propofol aqueous solutions for intravenous anesthesia. *Int J Pharm* 2004;278(1):91-8.
184. Wallentine CB, Shimode N, Egan TD, Pace NL. Propofol in a Modified Cyclodextrin Formulation: First Human Study of Dose–Response with Emphasis on Injection Pain. *Anesth Analg* 2011;113(4):738-41.
185. Sweetman SC. Martindale: the complete drug reference - Volume A: Drug Monographs. 37th ed. London: Pharmaceutical press; 2011.

186. Tochie JN, Bengono Bengono RS, Metogo JM, Ndikontar R, Ngouatna S, Ntock FN, et al. The efficacy and safety of an adapted opioid-free anesthesia regimen versus conventional general anesthesia in gynecological surgery for low-resource settings: a randomized pilot study. *BMC Anesthesiol* 2022;22(1):325.
187. Chanques G, Constantin JM, Devlin JW, Ely EW, Fraser GL, Gélinas C, *et al.* Analgesia and sedation in patients with ARDS. *Intensive Care Med* 2020;46(12):2342-56.
188. Husna M, Munawiroh SZ, Puji Ekawati R, Hanifah S. Systematic review of the stability and compatibility of propofol injection. *Anaesthesiol Intensive Ther* 2021;53(1):79-88.
189. Masaki Y, Tanaka M, Nishikawa T. Physicochemical Compatibility of Propofol-Lidocaine Mixture: *Anesth Analg* 2003;97(6):1646-51.
190. Gersonde F, Eisend S, Haake N, Kunze T. Physicochemical compatibility and emulsion stability of propofol with commonly used analgesics and sedatives in an intensive care unit. *Eur J Hosp Pharm* 2017;24(5):293-303.
191. Propofol - European Pharmacopoeia 10.8 [Internet]. [cité 2022 nov 26]; Available from: <https://pheur.edqm.eu/app/10-8/content/10-8/1558F.htm>
192. PubChem. Clonidine [Internet]. [cité 2021 oct 20]; Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2803>
193. PubChem. Dexmedetomidine [Internet]. [cité 2021 oct 20]; Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5311068>
194. Cloesmeijer ME, Van Den Oever HLA, Mathôt RAA, Zeeman M, Kruisdijk-Gerritsen A, Bles CMA, *et al.* Optimising the dose of clonidine to achieve sedation in intensive care unit patients with population pharmacokinetics. *Br J Clin Pharmacol* 2020;86(8):1620-31.
195. Loveday HP, Wilson JA, Pratt RJ, Golsorkhi M, Tingle A, Bak A, *et al.* epic3: National Evidence-Based Guidelines for Preventing Healthcare-Associated Infections in NHS Hospitals in England. *J Hosp Infect* 2014;86: S1-70.
196. Queensland Health. Health., Guidelines for Peripheral intravenous catheter (PIVC) [Internet]. 2013 [cité 2023 sept 16]; Available from: https://www.health.qld.gov.au/__data/assets/pdf_file/0025/444490/icare-pivc-guideline.pdf
197. The United States Pharmacopoeial Convention. USP Chapter: <729> Globule size distribution in lipid injectable emulsions. In: *The United States Pharmacopoeia*. 39th rev. Rockville, MD: US Pharmacopoeial convention; 2016. page 559-61.
198. Swarbrick J, éditeur. Zeta Potential [Internet]. In: *Encyclopedia of Pharmaceutical Science and Technology*, Fourth Edition. CRC Press; 2013 [cité 2023 sept 16]. p. 3875-87. Available from: <https://www.taylorfrancis.com/books/9781000030723/chapters/10.1081/E-EPT4-120050380>

199. Peng M, Le J, Yang Y. Simultaneous determination of 11 related impurities in propofol by gas chromatography/tandem mass spectrometry coupled with pulsed splitless injection technique: Gas Chromatography. *J Sep Sci* 2013;36(12):1959-66.
200. Potier A, Voyat J, Nicolas A. Stability study of a clonidine oral solution in a novel vehicle designed for pediatric patients. *Pharm Dev Technol* 2018;23(10):1067-76.
201. Lu D, Harmanjeet H, Wanandy T, Paine M, Peterson GM, Patel RP. Physicochemical stability of extemporaneously prepared clonidine solutions for use in neonatal abstinence syndrome. *J Clin Pharm Ther* 2019;44(6):883-7.
202. Verlhac C, Lannoy D, Bourdon F, Titecat M, Frealle E, Nassar C, *et al.* Physicochemical and Microbiological Stability of a New Oral Clonidine Solution for Paediatric Use. *Pharm Technol Hosp Pharm* 2018; 3(2): 79–90.
203. Preslaski CR, Mueller SW, Wempe MF, MacLaren R. Stability of dexmedetomidine in polyvinyl chloride bags containing 0.9% sodium chloride injection. *Am J Health Syst Pharm* 2013;70(15):1336-41.
204. Anderson CR, Mackay MW, Holley M, Kay BA. Stability of dexmedetomidine 4 µg/mL in polypropylene syringes. *Am J Health Syst Pharm* 2012;69(7):595-7.
205. Krishna M, Nadre M, Sherikar A, Reddy R. Analytical method validation for determination of related substances of dexmedetomidine (impurity-1) in dexmedetomidine hydrochloride injection. *Int J Pharm Sci Res* 2015;6(12): 5070-5076.
206. Koller AK, Krebs S, Dörje F. Medication Safety in Intravenous Therapy: A Compatibility Study of Clonidine with Drugs Frequently Used in Intensive Care. *Pharmaceutics* 2020;13(1):21.
207. Staven V, Iqbal H, Wang S, Grønlie I, Tho I. Physical compatibility of total parenteral nutrition and drugs in Y-site administration to children from neonates to adolescents. *J Pharm Pharmacol* 2017;69(4):448-62.
208. Stucki C, Sautter AM, Bonnabry P. Physical compatibility of the propofol emulsion with 33 drugs used in anaesthesiology. *ESCP – GSASA Symp Clin Pharm* 2009;1.
209. Campos-Baeta Y, Saavedra-Mitjans M, Garin N, Cardenete J, Cardona D, Riera P. Physicochemical Compatibility of Dexmedetomidine With Parenteral Nutrition. *Nutr Clin Pract* 2020 ;35(5) :967-72.
210. Haute Autorité de Santé. Certification des établissements de santé pour la qualité des soins. 2024 [Internet]. [Cité 2024 févr 27] ; Available from : https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2023-09/manuel_2024.pdf
211. Ministère Trav. Santé Solidar.Sécurité du médicament à l'hôpital [Internet]. 2022 [cité 2024 févr 27] ; Available from : <https://sante.gouv.fr/soins-et-maladies/medicaments/professionnels-de-sante/bon-usage-par-les-professionnels/article/securite-du-medicament-a-l-hopital>

212. DGOS du Ministère des Solidarités et de la Santé. Enquête nationale sur les évènements indésirables graves associés aux soins dans les établissements de santé - Description des résultats 2019. [Internet] 2021. [Cité 2024 févr 27] ; Available from : https://sante.gouv.fr/IMG/pdf/eneis_3_2019_.pdf
213. Haute Autorité de Santé. Retour d'expérience sur les évènements indésirables graves associés à des soins (EIGS) - Rapport annuel 2019 [Internet]. 2020. [cité 2024 févr 27] ; Available from : https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2020-12/2020-12-10-rapport-annuel-eigs_vd.pdf
214. Fahimi F, Sefidani Forough A, Taghikhani S, Saliminejad L. The Rate of Physicochemical Incompatibilities, Administration Errors. Factors Correlating with Nurses' Errors. Iran J Pharm Res IJPR 2015;14(Suppl):87-93.
215. Haute Autorité de Santé. Erreurs associées aux produits de santé (médicaments, dispositifs médicaux, produits sanguins labiles) déclarées dans la base de retour d'expérience nationale des évènements indésirables graves associés aux soins (EIGS) [Internet]. 2020 [cité 2024 févr 22]. Available from : https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2021-01/rapport_eigs_medicament.pdf
216. 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–e95
217. Bourdon F, Simon N, Lannoy D, Berneron C, Décaudin B, Reumaux L, *et al.* Quality control and stability of ketamine, remifentanyl, and sufentanyl syringes in a pediatric operating theater. Pediatr Anesth 2019 ;29(2) :193-9.
218. Martin Mena A, Négrier L, Treizebré A, Guilbert M, Bonnaire L, Daniau V, *et al.* Evaluation of Strategies for Reducing Vancomycin-Piperacillin/Tazobactam Incompatibility. Pharmaceutics 2023;15(8):2069.
219. Négrier L, Martin Mena A, Lebuffe G, Maury É, Gaudy R, Degand F, *et al.* Simultaneous infusion of two incompatible antibiotics: Impact of the choice of infusion device and concomitant simulated fluid volume support on the particulate load and the drug mass flow rates. Int J Pharm 2022; 627:122220.
220. Alex S, Gupta SL, Minor JR, Turcovski-Corrales S, Gallelli JF, Taub D, *et al.* Compatibility and activity of aldesleukin (recombinant interleukin-2) in presence of selected drugs during simulated Y-site administration: Evaluation of three methods. Am J Health Syst Pharm 1995;52(21):2423-6.
221. Vallée M, Barthélémy I, Friciu M, Pelletier É, Forest JM, Benoit F, *et al.* Compatibility of Lactated Ringer's Injection With 94 Selected Intravenous Drugs During Simulated Y-site Administration. Hosp Pharm 2021;56(4):228-34.
222. Gupta S, Jiskoot W, Schöneich C, Rathore AS. Oxidation and Deamidation of Monoclonal Antibody Products: Potential Impact on Stability, Biological Activity, and Efficacy. J Pharm Sci 2022;111(4):903-18.

223. Mitchell ED, Czoski Murray C, Meads D, Minton J, Wright J, Twiddy M. Clinical and cost-effectiveness, safety and acceptability of community intra venous antibiotic service models: CIVAS systematic review. *BMJ Open* 2017;7(4): e013560.
224. Hecq JD. Centralized intravenous additive services (CIVAS): The state of the art in 2010. *Ann Pharm Fr* 2011;69(1):30-7.
225. Jessurun JG, Hunfeld NGM, Van Rosmalen J, Van Dijk M, Van Den Bemt PMLA. Effect of a Pharmacy-based Centralized Intravenous Admixture Service on the Prevalence of Medication Errors: A Before-and-After Study. *J Patient Saf* 2022 ;18(8) : e1181-8.
226. CIVAS disponibles aux HUG [Internet]. Hôp. Univ. Genève. 2020 [cité 2024 févr 13] ; Available from : <https://pharmacie.hug.ch/infomedic/utilismedic/CIVAS.pdf>
227. Vilanti A, Helin-Tanninen M, Isotalo A, Mustonen J, Koskivuori J, Korhonen O, *et al.* Physicochemical stability of high-concentration cefuroxime aqueous injection reconstituted by a centralised intravenous additive service. *Eur J Hosp Pharm* 2023; ejhpharm-2023-003769.
228. 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):300-303.
229. Fox ER, McLaughlin MM. ASHP guidelines on managing drug product shortages. *Am J Health Syst Pharm* 2018;75(21):1742-50.
230. Elbeddini A, Hooda N, Yang L. Role of Canadian pharmacists in managing drug shortage concerns amid the COVID-19 pandemic. *Can Pharm J.* 2020;153(4):198-203.
231. Piatek OI, Ning JC min, Touchette DR. National drug shortages worsen during COVID-19 crisis: Proposal for a comprehensive model to monitor and address critical drug shortages. *Am J Health Syst Pharm* 2020 ;77(21) :1778-85.
232. Rapport IGAS portant sur les vulnérabilités d'approvisionnement en produits de santé [Internet]. Conseil général de l'économie, de l'industrie, de l'énergie et des technologies/ Inspection générale des affaires sociales ; 2021 [cité 2023 nov 20] ; Available from : https://www.economie.gouv.fr/files/files/directions_services/cge/produits-sante.pdf
233. DuBiner R, Hardey K, King B. Pharmacy Developments Related to COVID-19 Testing and Compounding of Critical Drugs [Internet]. 2020 [cité 2023 juin 12] ; Available from : <https://www.jdsupra.com/legalnews/pharmacy-developments-related-to-covid-37270/>
234. Emmett D. Supply Chains in Healthcare Organizations: Lessons Learned from Recent Shortages. *Hosp Top* 2019;97(4):133-8.
235. MacArthur RB, Bentur OS, MacArthur IC, Bartoo AS, Capozzi DL, Christensen JA, *et al.* CTSA pharmacies: Contribution to research and public health during the COVID-19 pandemic. *J Clin Transl Sci* 2021;5(1): e108.

236. Food and Drug Administration. Temporary policy for compounding of certain drugs for hospitalized patients by pharmacy compounders not registered as outsourcing facilities during the COVID-19 public Health emergency (Revised) - Guidance for Industry. [Internet] 2020 ; [cité 2024 févr 27] ;
Available from : <https://www.fda.gov/media/137125/download>
237. Audition de M. Jérôme Salomon, directeur général de la santé [Internet]. Sénat ; 2023.
Available from :
https://www.senat.fr/compte-rendu-commissions/20230227/ce_penurie.html#toc3
238. Rapport fait au nom de la commission d'enquête sur la pénurie de médicaments et les choix de l'industrie pharmaceutique française [Internet]. Sénat; 2023. Available from:
<https://www.senat.fr/rap/r22-828-1/r22-828-11.pdf>
239. Dredge C, Scholtes S. Vaccinating Health Care Supply Chains Against Market Failure: The Case of Civica Rx. *NEJM Catal* 2023 ;4(10) :1-20.

Annexes

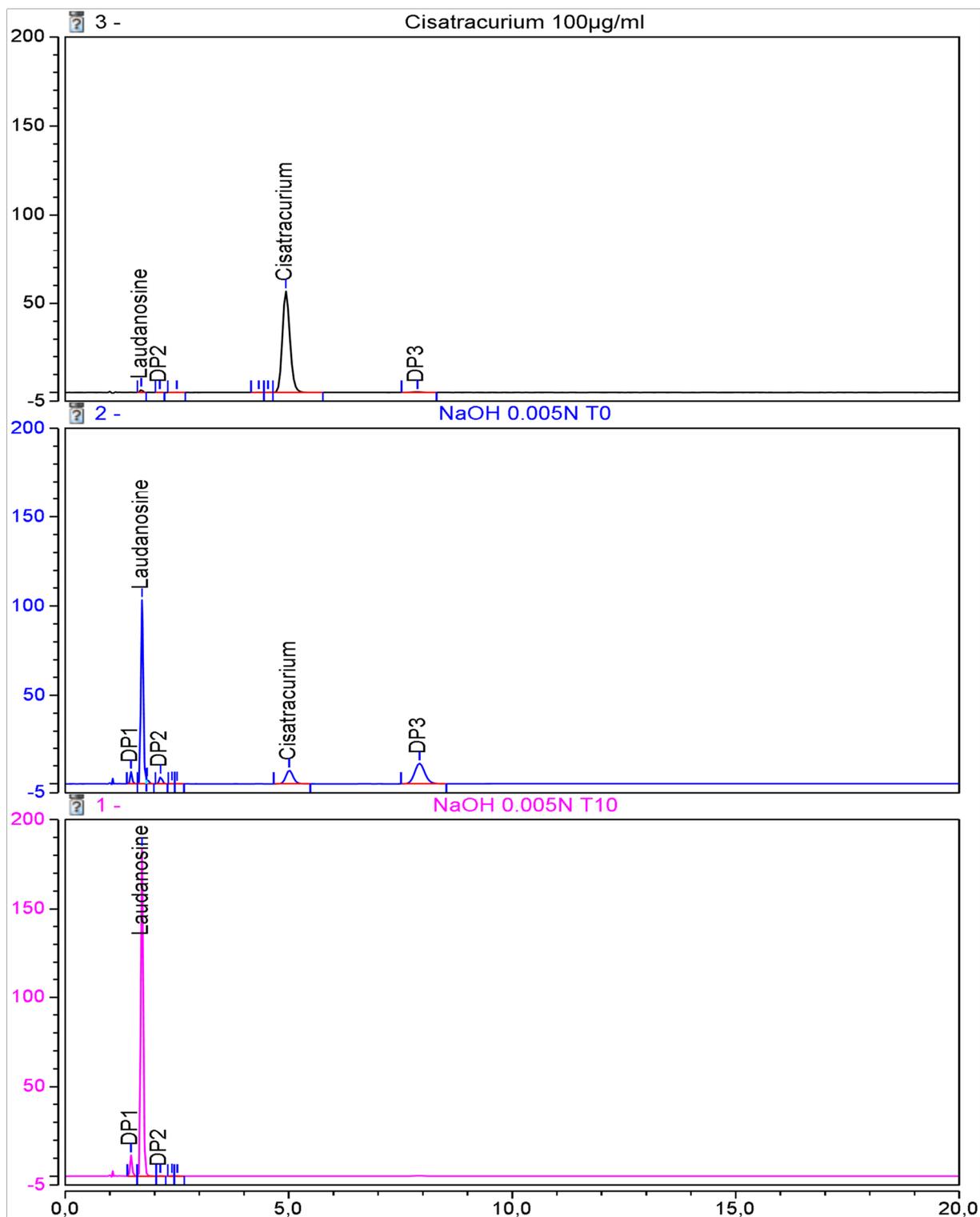


Figure S1. Chromatogrammes obtenus après la dégradation du cisatracurium par NaOH à 0,005 N ($\lambda = 280$ nm).

T0 : immédiatement après l'ajout du NaOH ; T10 : Après 10 minutes d'exposition à température ambiante.

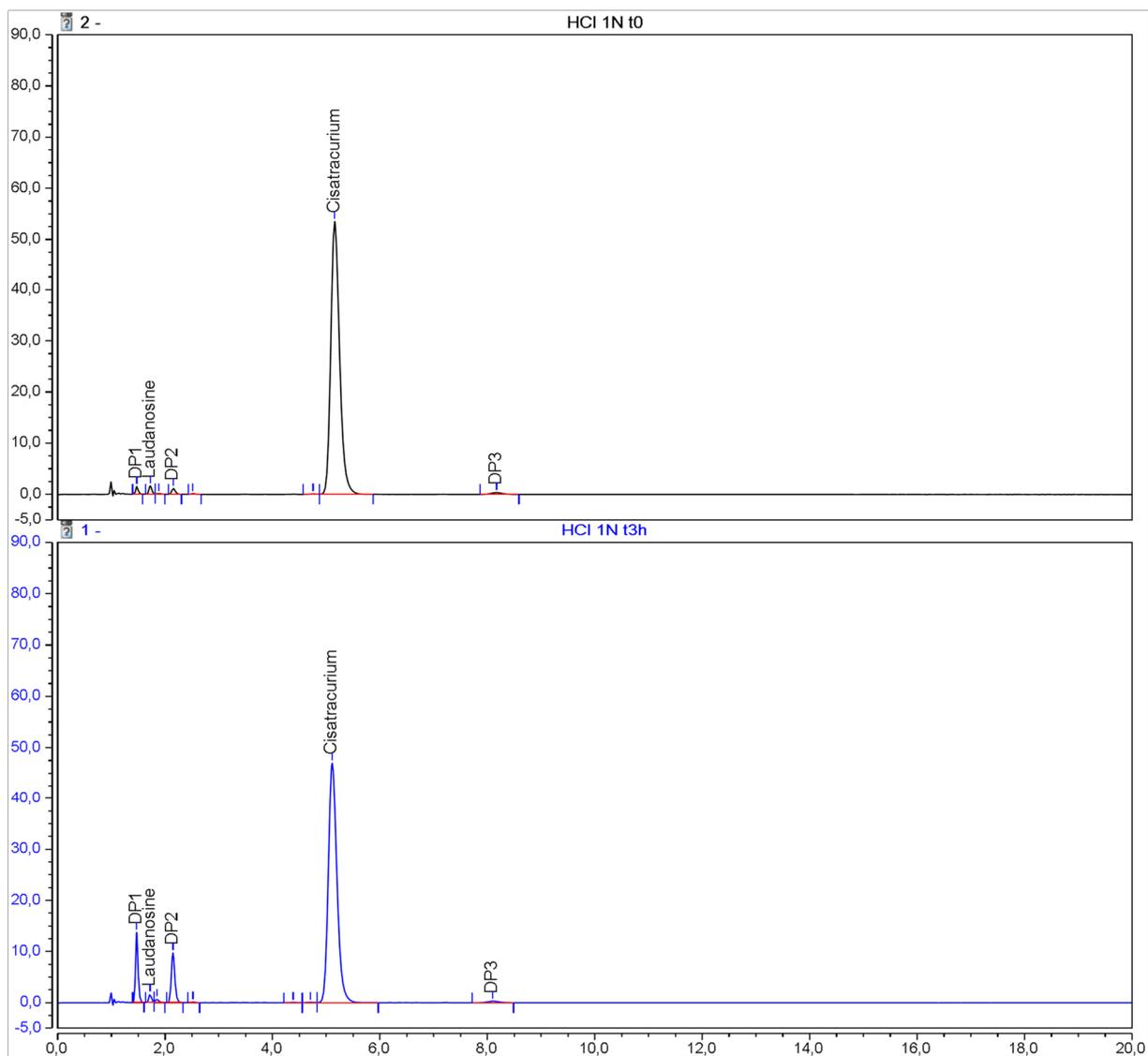


Figure S2. Chromatogrammes obtenus après la dégradation du cisatracurium par HCl à 1N. ($\lambda = 280 \text{ nm}$).

T0 : immédiatement après l'ajout de l'HCl ; T3h : Après 3 heures d'exposition à température ambiante.

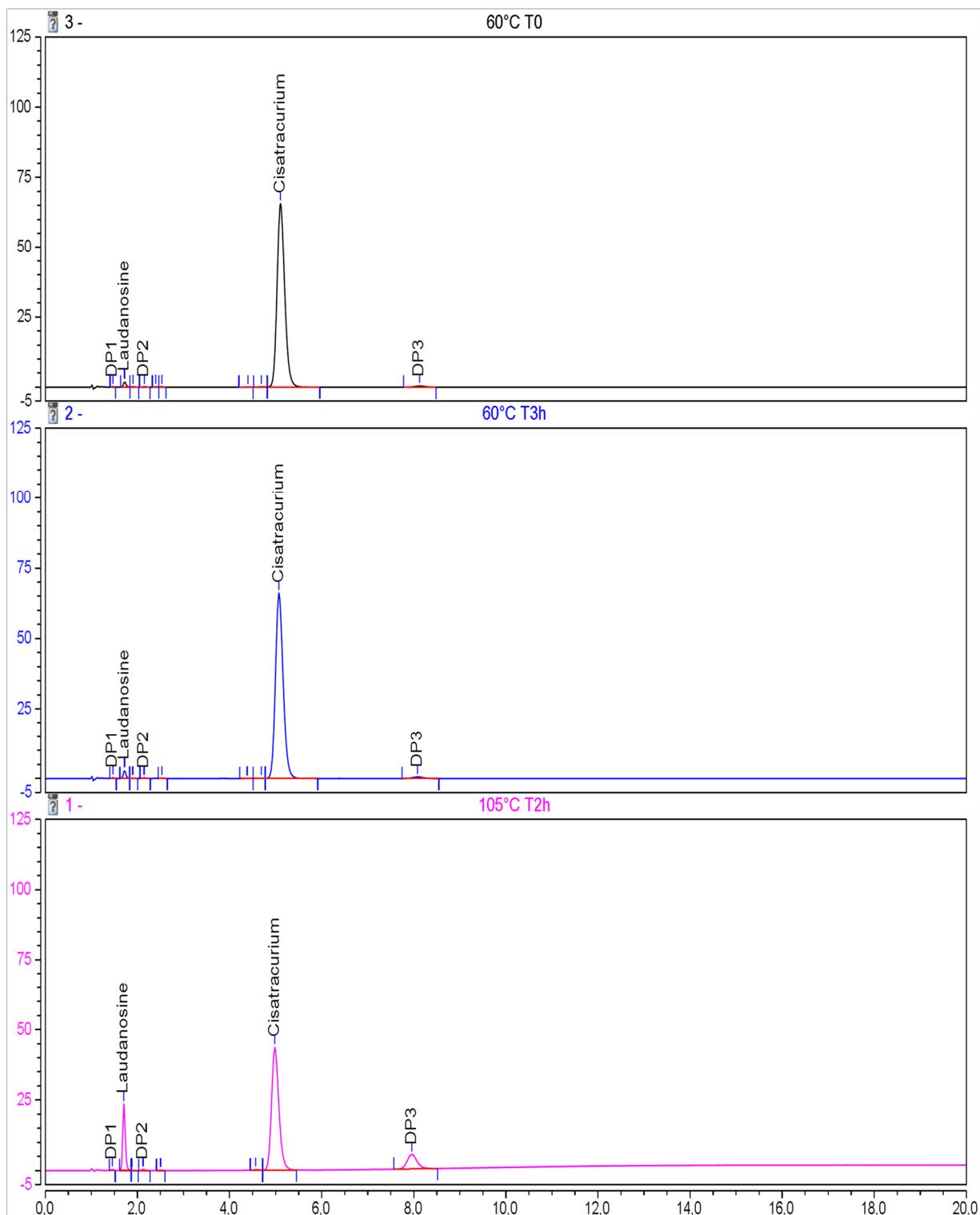


Figure S3. Chromatogrammes obtenus après l'exposition à la chaleur du cisatracurium ($\lambda = 280 \text{ nm}$).

T0 : immédiatement après le début de l'exposition à la chaleur, T2h : Après 2 heures d'exposition à 105°C, T3h : Après 3 heures d'exposition at 60°C.

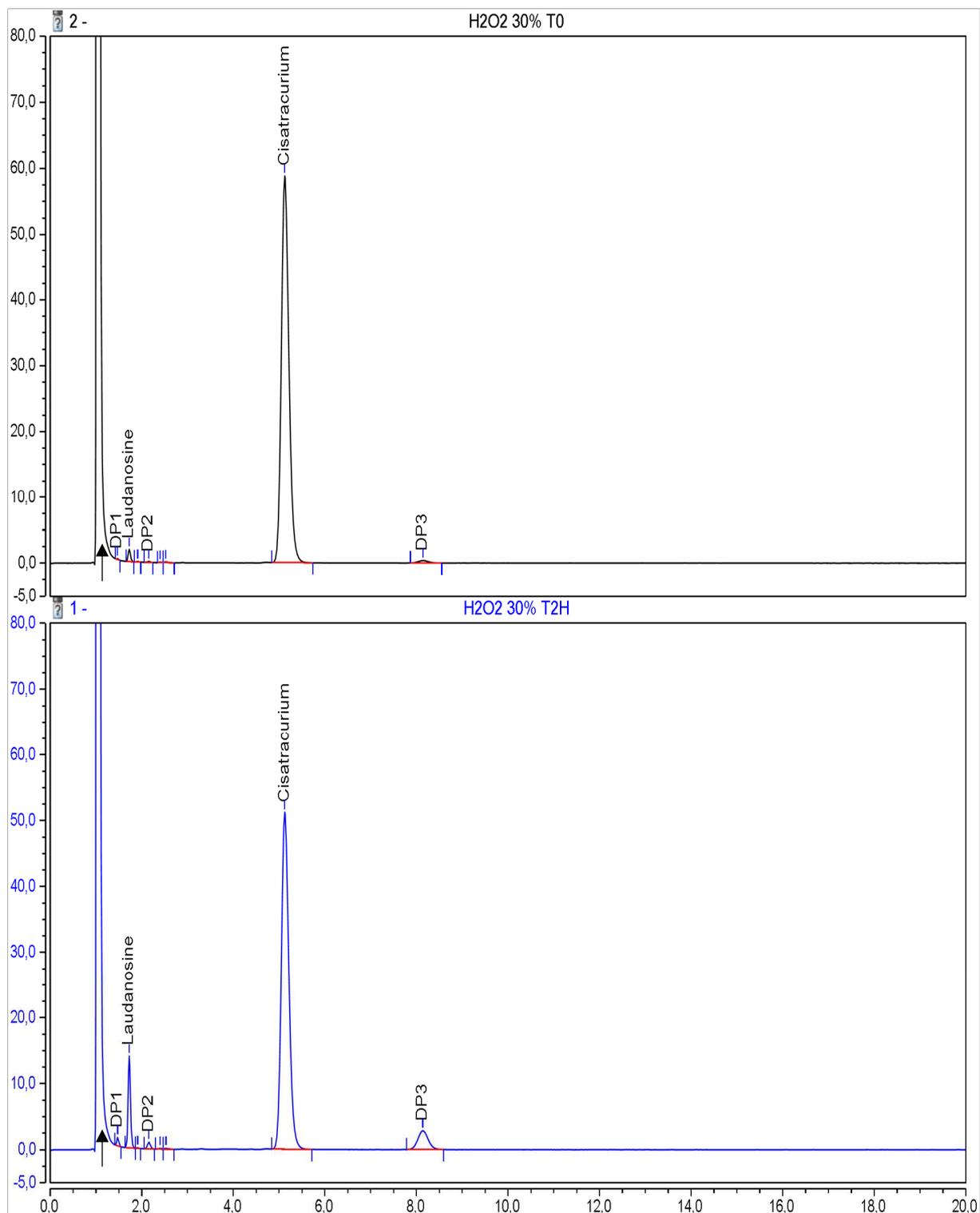


Figure S4. Chromatogrammes obtenus après la dégradation du cisatracurium par de l' H_2O_2 à 30% à 60°C. ($\lambda = 280 \text{ nm}$).

Les flèches indiquent le pic correspondant à l' H_2O_2 .

T0 : immédiatement après l'ajout de l' H_2O_2 ; T2h : Après 2 heures d'exposition.

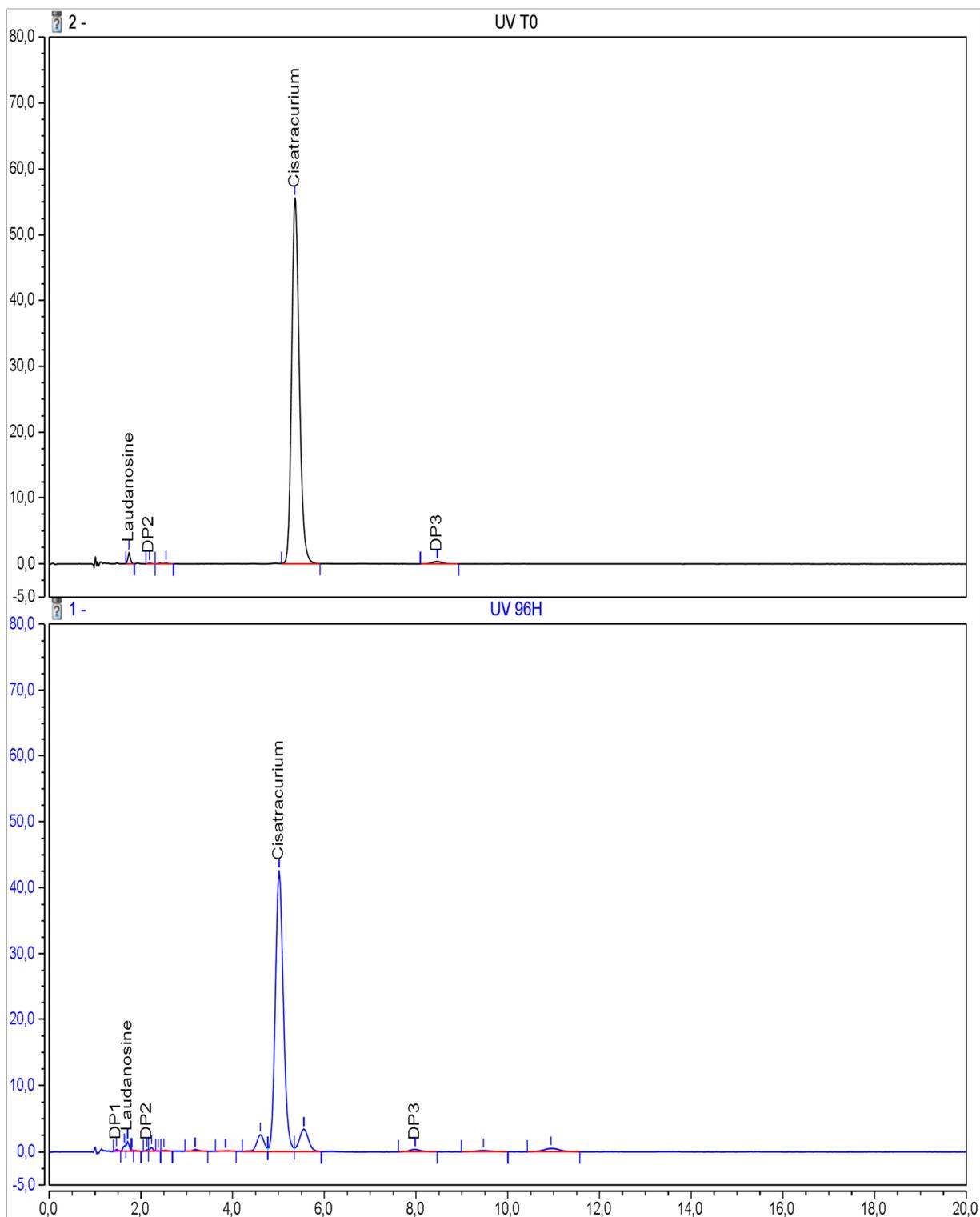


Figure S5. Chromatogrammes obtenus après la photo-dégradation (UV 254 nm) du cisatracurium ($\lambda = 280 \text{ nm}$).

T0 : immédiatement après le début de l'exposition aux UV ; 96h : après 96 heures d'exposition.

Tableau S1. Données détaillées de l'étude de stabilité à chaque temps d'analyse

Les données sont présentées sous la forme moyenne \pm écart-type.

Point d'analyse de l'étude de stabilité	0	M3	M5	M7	M9	M12	M15	M16	M17	M18
Cisatracurium (%C0)	100 \pm 2,06	96,46 \pm 2,34	95,62 \pm 1,17	94,41 \pm 3,07	93,99 \pm 1,10	95,76 \pm 1,85	94,21 \pm 0,99	91,69 \pm 1,25	89,77 \pm 2,07	88,73 \pm 2,35
Laudanosine (%Aire) *	0,21 \pm 0,01	0,32 \pm 0,02	0,37 \pm 0,01	0,53 \pm 0,02	0,75 \pm 0,03	0,65 \pm 0,01	0,76 \pm 0,01	0,82 \pm 0,01	0,90 \pm 0,03	0,95 \pm 0,03
DP1 (%Aire) *	0,06 \pm 0,00	0,47 \pm 0,01	0,89 \pm 0,02	1,16 \pm 0,04	1,54 \pm 0,02	2,02 \pm 0,04	2,68 \pm 0,03	2,99 \pm 0,05	3,16 \pm 0,06	3,30 \pm 0,09
DP2 (%Aire) *	0,10 \pm 0,00	0,52 \pm 0,01	0,93 \pm 0,02	1,20 \pm 0,05	1,59 \pm 0,02	2,05 \pm 0,04	2,66 \pm 0,03	2,95 \pm 0,04	3,14 \pm 0,06	3,29 \pm 0,09
DP3 (%Aire) *	0,11 \pm 0,01	0,20 \pm 0,01	0,29 \pm 0,01	0,35 \pm 0,02	0,43 \pm 0,01	0,50 \pm 0,01	0,60 \pm 0,02	0,65 \pm 0,02	0,69 \pm 0,01	0,71 \pm 0,03
pH	3,43 \pm 0,02	3,38 \pm 0,08	3,24 \pm 0,03	-	3,27 \pm 0,01	3,22 \pm 0,03	3,14 \pm 0,01	3,05 \pm 0,02	3,10 \pm 0,04	3,10 \pm 0,02
Osmolalité (mOsm/kg)	25 \pm 0	25 \pm 0	26,33 \pm 1,53	-	28,5 \pm 0,71	23 \pm 0,47	24,6 \pm 0,84	24,5 \pm 0,71	23,9 \pm 0,32	24,7 \pm 0,67
Particules \geq 10 μ m (nombre/ampoule)	200,70 \pm 49,65	-	122,00 \pm 12,59	-	201,67 \pm 7,51	68,67 \pm 19,70	-	-	-	119,33 \pm 5,65
Particules \geq 25 μ m (nombre/ampoule)	3,60 \pm 3,45	-	7,00 \pm 2,35	-	2,00 \pm 1,00	2,83 \pm 1,47	-	-	-	4 \pm 1,55
Endotoxines (IU/mL)	2,23 \pm 0,40	-	-	-	-	4 \pm 0	8 \pm 0	-	-	8 \pm 0

* Le pourcentage d'aire des pics pour les DP du cisatracurium est exprimé en pourcentage de l'aire du pic de cisatracurium (base) au temps d'analyse correspondant

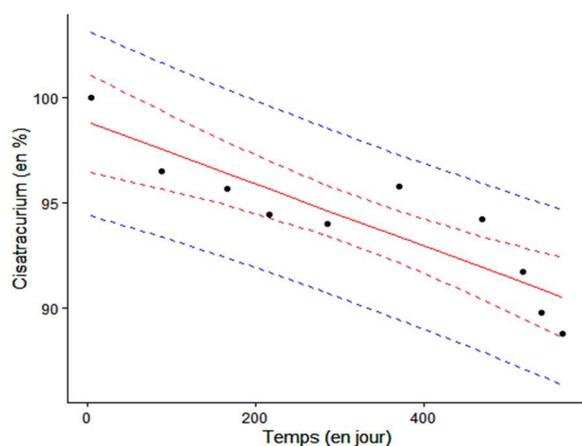


Figure S6. Ajustement linéaire d'après l'ICH Q1E.

La ligne rouge continue représente l'ajustement linéaire applicable à nos données. La ligne rouge en pointillés représente les limites de l'intervalle de confiance calculé à 95%. La ligne bleue en pointillé représente l'intervalle de prédiction à 95%.

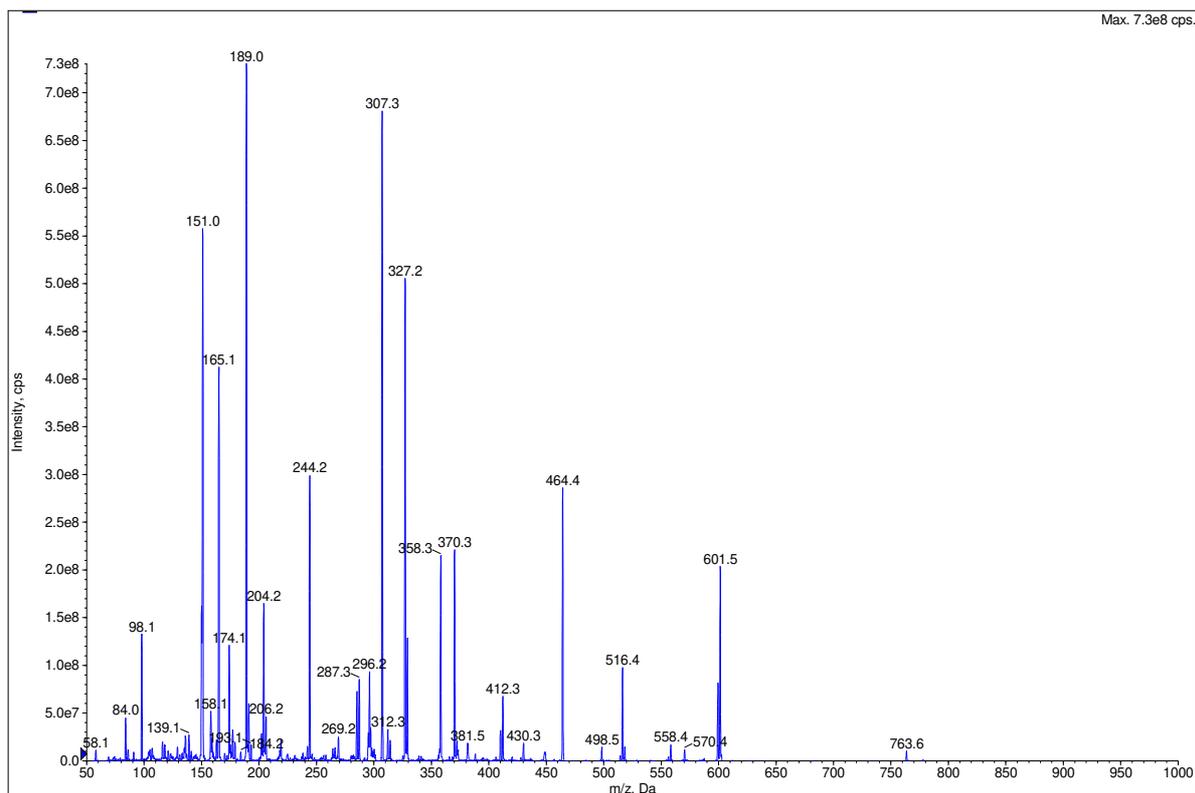


Figure S7. Spectre de fragmentation MS/MS du cisatracurium ($m/z = 464$ (M_2^+)), énergie de collision = 30 eV.

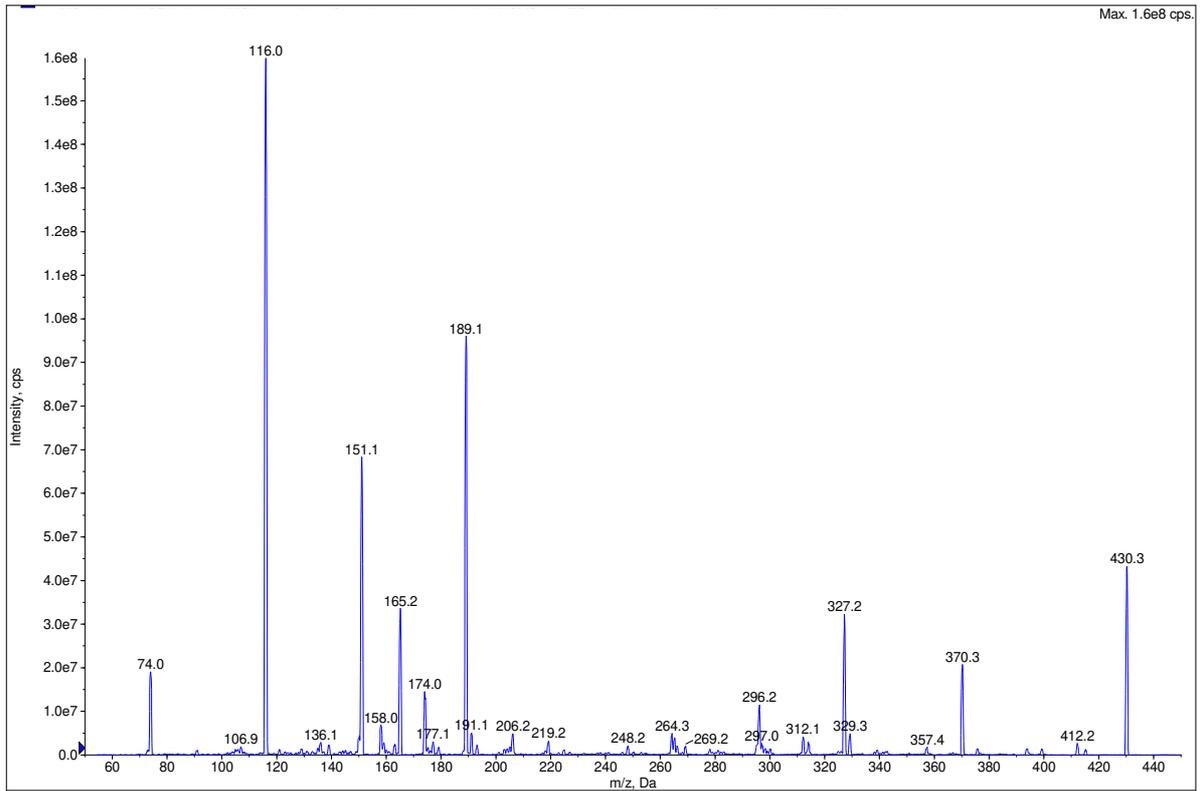


Figure S8. Spectre de fragmentation MS/MS du DP1, l'impureté A de la PE ($m/z=430 (M^+)$), énergie de collision = 35 eV.

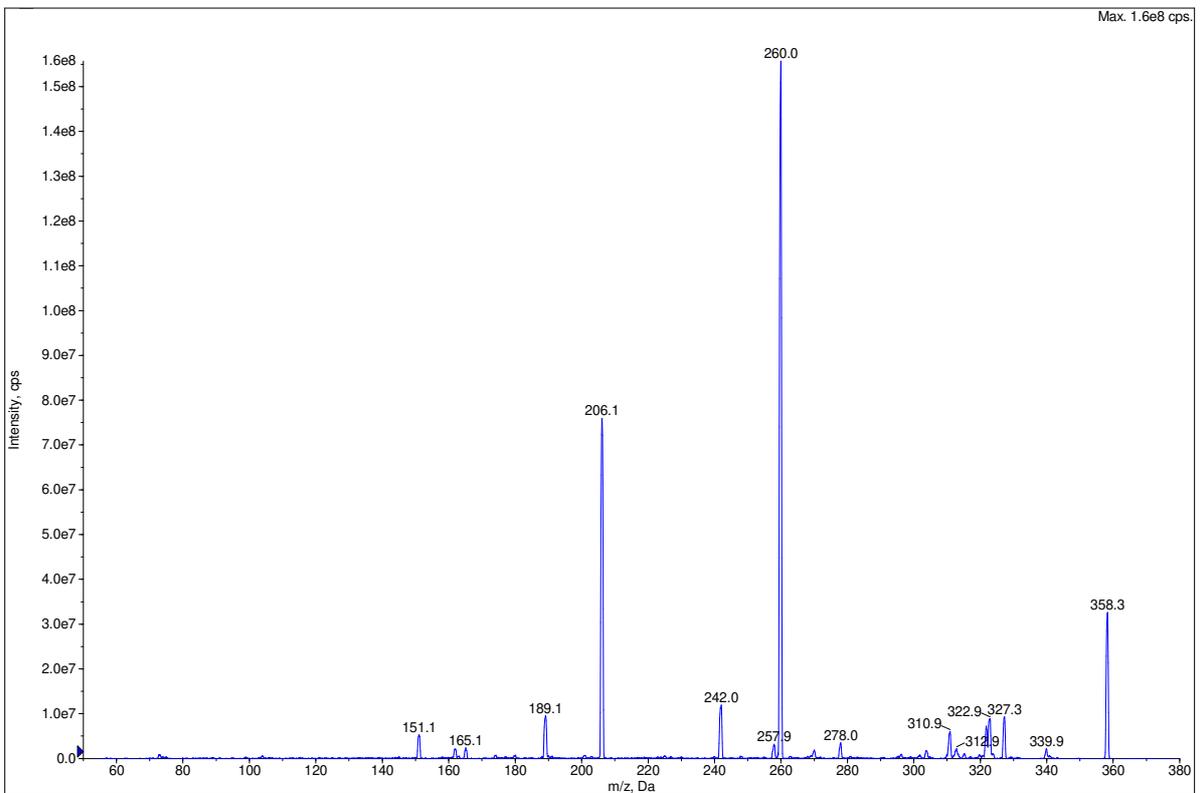


Figure S9. Spectre de fragmentation MS/MS de la laudanosine, l'impureté C de la PE ($m/z=358 (M+H^+)$), énergie de collision = 25 eV.

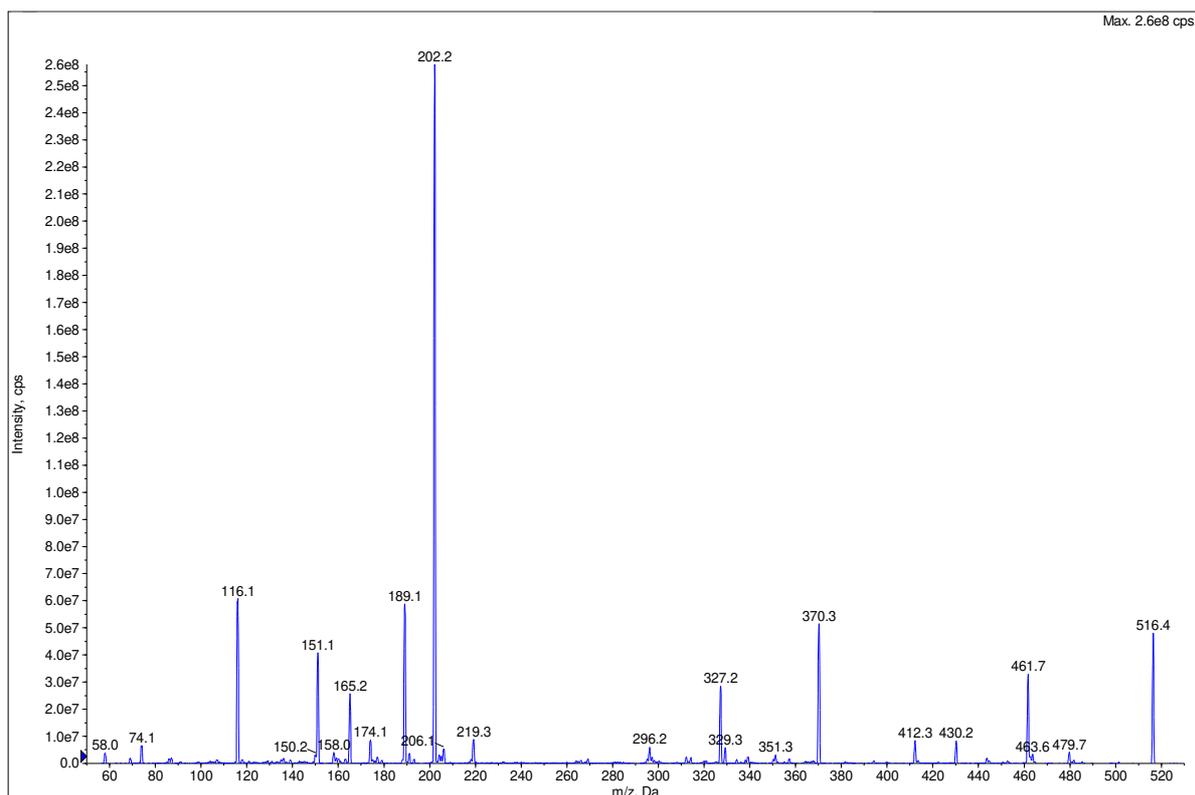


Figure S10. Spectre de fragmentation MS/MS de DP2, l'impureté E et/ou F de la PE ($m/z=516$ (M⁺)), énergie de collision = 40 eV.

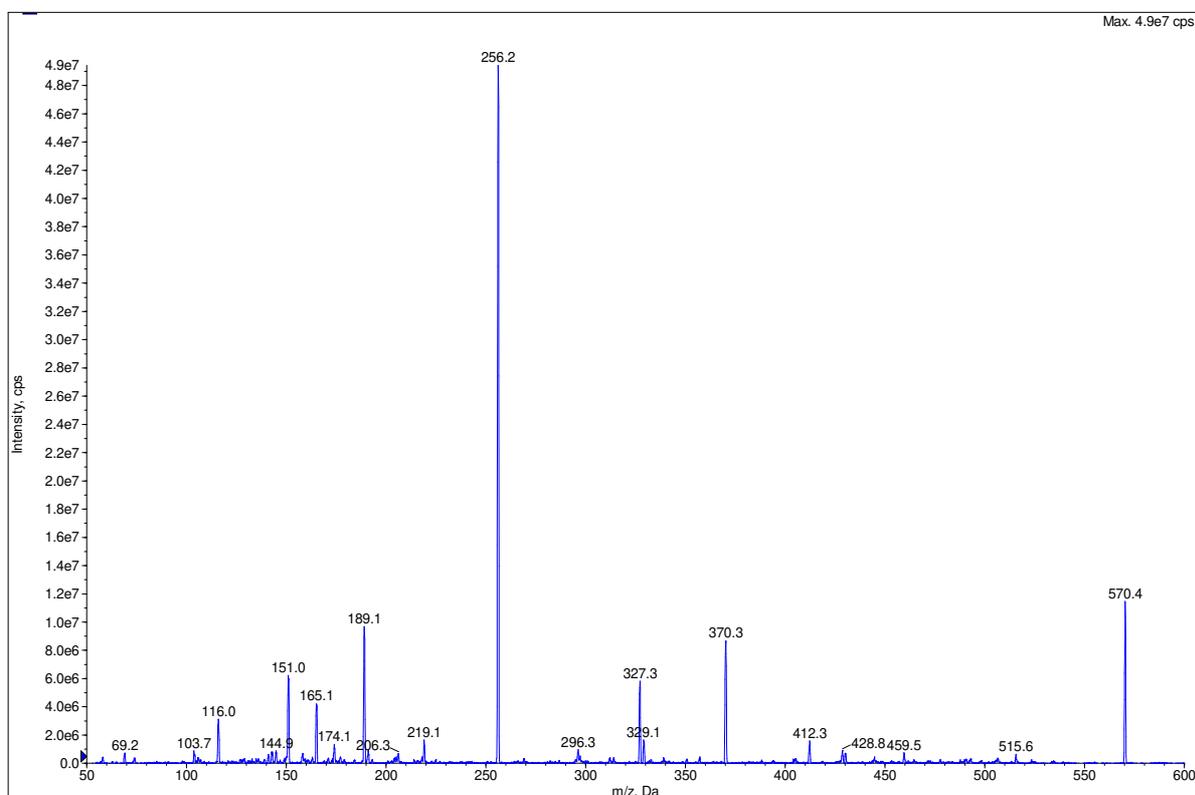


Figure S11. Spectre de fragmentation MS/MS de DP3, l'impureté N et/ou O de la PE ($m/z=570$ (M⁺)), énergie de collision = 40 eV.

Tableau S2. Résultats détaillés de l'étude de stabilité du propofol et de la clonidine pour un patient de 45 kg (n=3)

PZ = potentiel Zêta, PDI = Index de Polydispersité, Z-average = MDD

Condition	Point d'analyse (jour)	pH	Osmolalité (mOsm/kg)	PZ (mV)	Z-average (d.nm)	PDI
1	0	6,93 ± 0,10	316,3 ± 3,2	-37,8 ± 0,8	168,4 ± 0,3	0,082 ± 0,017
	1	6,97 ± 0,06	315,7 ± 0,6	-38,0 ± 0,6	169,1 ± 2,9	0,041 ± 0,012
	2	6,98 ± 0,02	313,3 ± 3,1	-34,8 ± 0,3	172,1 ± 0,8	0,067 ± 0,019
	3	6,94 ± 0,02	314,0 ± 1,0	-33,6 ± 0,8	171,2 ± 1,9	0,072 ± 0,012
	4	6,93 ± 0,03	314,7 ± 2,1	-33,0 ± 0,7	173,7 ± 0,3	0,075 ± 0,030
2	0	7,15 ± 0,03	332,0 ± 2,0	-37,7 ± 0,9	179,4 ± 1,2	0,144 ± 0,023
	1	7,09 ± 0,05	333,3 ± 2,9	-41,5 ± 1,0	173,2 ± 1,1	0,055 ± 0,013
	2	7,10 ± 0,03	332,3 ± 2,1	-39,0 ± 0,6	171,7 ± 1,7	0,059 ± 0,002
	3	7,09 ± 0,02	331,7 ± 0,6	-35,7 ± 0,8	170,4 ± 0,6	0,074 ± 0,010
	4	7,11 ± 0,03	332,3 ± 0,6	-36,6 ± 0,7	173,2 ± 2,1	0,066 ± 0,006
3	0	6,86 ± 0,03	300,3 ± 1,2	-34,7 ± 1,1	171,7 ± 0,7	0,097 ± 0,024
	1	6,82 ± 0,05	300,7 ± 1,5	-38,2 ± 0,2	171,2 ± 0,4	0,085 ± 0,013
	2	6,78 ± 0,07	302,3 ± 1,5	-34,1 ± 0,6	174,1 ± 1,2	0,080 ± 0,009
	3	6,79 ± 0,02	300,7 ± 1,5	-31,3 ± 0,7	175,8 ± 1,5	0,081 ± 0,013
	4	6,80 ± 0,02	302,7 ± 0,6	-31,7 ± 0,4	178,5 ± 0,8	0,108 ± 0,007
4	0	7,03 ± 0,04	319,3 ± 2,5	-34,6 ± 1,0	165,2 ± 1,7	0,084 ± 0,026
	1	6,93 ± 0,04	318,7 ± 1,5	-42,6 ± 1,0	172,1 ± 0,6	0,154 ± 0,010
	2	6,96 ± 0,06	320,0 ± 1,7	-36,9 ± 0,8	168,1 ± 1,7	0,109 ± 0,007
	3	6,87 ± 0,04	318,7 ± 0,6	-35,2 ± 0,6	178,3 ± 1,2	0,172 ± 0,017
	4	6,90 ± 0,09	319,0 ± 1,0	-37,3 ± 1,5	190,7 ± 1,0	0,210 ± 0,014

La composition des conditions 1 à 4 est décrite dans le Tableau XI.

Tableau S3. Résultats détaillés de l'étude de stabilité du propofol et de la clonidine pour un patient de 150 kg (n=3)

PZ = potentiel Zêta, PDI = Index de Polydispersité, Z-average = MDD

Condition	Point d'analyse (jour)	pH	Osmolalité (mOsm/kg)	PZ (mV)	Z-average (d.nm)	PDI
5	0	7,10 ± 0,02	327,3 ± 0,6	-38,8 ± 2,6	168,1 ± 0,5	0,067 ± 0,024
	1	7,05 ± 0,05	329,0 ± 1,0	-42,9 ± 0,4	171,9 ± 1,0	0,115 ± 0,020
	2	7,05 ± 0,03	328,7 ± 1,5	-39,0 ± 1,2	170,1 ± 1,3	0,068 ± 0,027
	3	6,99 ± 0,02	327,0 ± 1,0	-38,8 ± 1,3	168,4 ± 0,3	0,066 ± 0,029
	4	7,04 ± 0,02	328,7 ± 1,2	-36,8 ± 0,3	169,3 ± 0,8	0,069 ± 0,025
6	0	7,21 ± 0,02	337,7 ± 0,6	-38,2 ± 0,3	173,3 ± 0,9	0,065 ± 0,018
	1	7,27 ± 0,03	338,0 ± 1,0	-42,8 ± 1,0	171,8 ± 0,6	0,060 ± 0,027
	2	7,26 ± 0,02	336,3 ± 1,2	-41,1 ± 0,3	172,6 ± 1,2	0,056 ± 0,003
	3	7,22 ± 0,03	337,0 ± 1,0	-38,4 ± 0,8	171,0 ± 0,6	0,098 ± 0,011
	4	7,18 ± 0,07	337,3 ± 1,5	-36,9 ± 1,1	172,9 ± 2,6	0,075 ± 0,018
7	0	7,03 ± 0,04	313,0 ± 1,7	-34,8 ± 0,6	170,4 ± 1,8	0,088 ± 0,005
	1	6,88 ± 0,04	312,7 ± 1,5	-42,4 ± 0,5	190,8 ± 0,5	0,195 ± 0,005
	2	6,95 ± 0,03	312,7 ± 0,6	-36,9 ± 1,1	179,0 ± 1,7	0,130 ± 0,009
	3	6,95 ± 0,02	313,3 ± 1,5	-36,0 ± 0,8	178,8 ± 0,2	0,150 ± 0,007
	4	6,88 ± 0,01	313,3 ± 1,5	-35,0 ± 0,2	194,9 ± 1,8	0,179 ± 0,015
8	0	7,09 ± 0,01	331,7 ± 0,6	-38,1 ± 2,1	170,9 ± 1,4	0,106 ± 0,006
	1	7,08 ± 0,01	331,3 ± 0,6	-39,6 ± 1,2	169,2 ± 0,6	0,072 ± 0,012
	2	7,10 ± 0,03	330,7 ± 1,5	-37,9 ± 0,8	167,7 ± 0,6	0,097 ± 0,016
	3	7,06 ± 0,03	331,0 ± 1,0	-38,4 ± 1,0	168,4 ± 1,3	0,085 ± 0,025
	4	7,04 ± 0,04	331,3 ± 2,1	-37,4 ± 1,2	168,4 ± 1,6	0,087 ± 0,031

La composition des conditions 5 à 8 est décrite dans le Tableau XI.

Tableau S4. Résultats détaillés de l'étude de stabilité du propofol et de la dexmédétomidine pour un patient de 45 kg (n=3)

PZ = potentiel Zêta, PDI = Index de Polydispersité, Z-average = MDD

Condition	Point d'analyse (jour)	pH	Osmolalité (mOsm/kg)	PZ (mV)	Z-average (d.nm)	PDI
9	0	6,90 ± 0,04	317,3 ± 1,2	-36,2 ± 0,2	166,5 ± 0,8	0,063 ± 0,018
	1	6,94 ± 0,01	315,7 ± 0,6	-34,6 ± 0,9	168,8 ± 1,6	0,061 ± 0,020
	2	6,90 ± 0,07	316,0 ± 2,7	-34,8 ± 1,2	169,3 ± 2,6	0,069 ± 0,003
	3	6,93 ± 0,08	317,7 ± 3,1	-34,9 ± 1,7	178,1 ± 1,6	0,096 ± 0,015
	4	6,92 ± 0,02	316,0 ± 0,0	-33,5 ± 0,4	177,6 ± 2,3	0,088 ± 0,006
10	0	7,17 ± 0,05	334,0 ± 2,7	-41,4 ± 1,2	170,0 ± 1,8	0,099 ± 0,024
	1	7,12 ± 0,02	333,0 ± 0,0	-36,6 ± 1,6	171,9 ± 1,2	0,076 ± 0,003
	2	7,13 ± 0,08	335,3 ± 0,6	-37,0 ± 0,6	171,2 ± 2,5	0,068 ± 0,011
	3	7,10 ± 0,02	334,7 ± 2,1	-37,8 ± 0,6	171,6 ± 0,4	0,060 ± 0,019
	4	7,09 ± 0,04	335,7 ± 3,8	-37,0 ± 0,5	175,8 ± 3,2	0,074 ± 0,019
11	0	6,73 ± 0,01	300,0 ± 1,0	-32,5 ± 0,5	167,5 ± 1,8	0,080 ± 0,009
	1	6,72 ± 0,02	299,7 ± 0,6	-31,0 ± 0,1	174,7 ± 1,8	0,125 ± 0,009
	2	6,73 ± 0,06	299,0 ± 1,0	-29,7 ± 1,1	172,0 ± 1,0	0,069 ± 0,023
	3	6,79 ± 0,06	300,7 ± 1,5	-31,4 ± 1,3	170,1 ± 2,2	0,077 ± 0,009
	4	6,74 ± 0,02	300,0 ± 1,0	-32,0 ± 1,0	188,2 ± 2,7	0,158 ± 0,018
12	0	6,93 ± 0,04	316,7 ± 0,6	-37,6 ± 1,4	167,6 ± 2,0	0,063 ± 0,017
	1	6,92 ± 0,01	318,3 ± 1,2	-34,6 ± 0,4	170,5 ± 0,9	0,072 ± 0,022
	2	6,99 ± 0,01	317,0 ± 1,0	-33,2 ± 1,0	173,1 ± 2,6	0,076 ± 0,024
	3	6,92 ± 0,04	317,3 ± 1,2	-35,1 ± 1,0	175,4 ± 0,6	0,061 ± 0,002
	4	6,99 ± 0,02	319,0 ± 1,7	-34,6 ± 0,5	182,2 ± 2,3	0,087 ± 0,016

La composition des conditions 9 à 12 est décrite dans le Tableau XI.

Tableau S5. Résultats détaillés de l'étude de stabilité du propofol et de la dexmédétomidine pour un patient de 150 kg (n=3)

PZ = potentiel Zêta, PDI = Index de Polydispersité, Z-average = MDD

Condition	Point d'analyse (jour)	pH	Osmolalité (mOsm/kg)	PZ (mV)	Z-average (d.nm)	PDI
13	0	7,05 ± 0,01	326,7 ± 4,9	-39,3 ± 0,8	176,8 ± 0,5	0,116 ± 0,020
	1	7,07 ± 0,01	330,3 ± 0,6	-39,1 ± 0,2	170,3 ± 1,9	0,074 ± 0,019
	2	7,04 ± 0,05	331,0 ± 1,0	-36,8 ± 0,8	169,8 ± 1,9	0,085 ± 0,009
	3	7,02 ± 0,03	332,3 ± 1,5	-39,0 ± 0,8	170,6 ± 1,0	0,045 ± 0,025
	4	7,03 ± 0,04	330,3 ± 0,6	-38,1 ± 0,7	175,2 ± 2,4	0,069 ± 0,014
14	0	7,30 ± 0,01	339,0 ± 2,0	-39,4 ± 1,2	169,4 ± 0,6	0,064 ± 0,034
	1	7,25 ± 0,03	339,3 ± 1,2	-40,5 ± 0,2	169,7 ± 0,6	0,063 ± 0,030
	2	7,26 ± 0,04	338,7 ± 3,1	-39,5 ± 0,9	171,2 ± 1,0	0,092 ± 0,022
	3	7,32 ± 0,01	339,0 ± 4,6	-39,9 ± 0,3	173,3 ± 2,0	0,080 ± 0,026
	4	7,22 ± 0,04	339,0 ± 1,0	-38,9 ± 0,5	176,5 ± 2,6	0,063 ± 0,005
15	0	6,90 ± 0,07	315,3 ± 0,6	-35,9 ± 1,6	168,4 ± 1,5	0,088 ± 0,018
	1	6,94 ± 0,03	316,0 ± 1,0	-33,7 ± 0,3	168,3 ± 1,0	0,087 ± 0,015
	2	6,95 ± 0,01	315,3 ± 2,1	-33,8 ± 1,2	177,2 ± 0,8	0,103 ± 0,010
	3	6,99 ± 0,01	314,0 ± 3,0	-33,4 ± 0,8	176,6 ± 1,4	0,108 ± 0,004
	4	7,01 ± 0,05	317,0 ± 1,0	-35,5 ± 0,9	181,3 ± 3,4	0,086 ± 0,030
16	0	7,13 ± 0,01	334,0 ± 1,0	-41,3 ± 0,7	173,2 ± 0,6	0,089 ± 0,012
	1	7,13 ± 0,02	332,0 ± 1,7	-40,0 ± 0,5	169,9 ± 1,9	0,078 ± 0,008
	2	7,11 ± 0,02	332,0 ± 1,0	-38,5 ± 0,9	169,6 ± 1,5	0,082 ± 0,016
	3	7,19 ± 0,01	333,3 ± 0,6	-39,5 ± 0,7	171,9 ± 0,8	0,056 ± 0,009
	4	7,15 ± 0,01	332,3 ± 3,1	-38,2 ± 1,1	175,6 ± 3,2	0,048 ± 0,007

La composition des conditions 13 à 16 est décrite dans le Tableau XI.

Publications en relation avec le sujet de thèse

1. Roche M., Danel C., Simon N., Kouach M., Bouchfaa M., Berneron C., Odou P., Lannoy D. Cisatracurium besylate 10 mg/mL solution compounded in a hospital pharmacy to prevent drug shortages: a stability study involving four degradation products. *Pharmaceutics*. 2023 May 4; 15(5):1404; DOI: 10.3390/pharmaceutics15051404.

2. Roche M., Rousseleau D., Danel C., Henry H., Lebuffe G., Odou P., Lannoy D., Simon N. Combination of a propofol emulsion with alpha-2 adrenergic receptor agonist used for multimodal analgesia or sedation in intensive care units: a physicochemical stability study. *Eur J Hosp Pharm*. 2024 Jan 30: ejhpharm-2023-004027. DOI: 10.1136/ejhpharm-2023-004027. Epub ahead of print

Abstract

The research subject of this PhD focused on the development of analytical methods to assess the stability or incompatibilities of injectable anaesthetic drugs in solution or in dispersed systems.

The first part of this work involved a study of the stability of cisatracurium besylate ampoules produced by the pharmacy of Lille University Hospital to ensure continuity of care for intensive care patients in the context of supply disruptions caused by the COVID-19 pandemic. The stability study was conducted on a batch of 4,000 ampoules stored at 2-8°C for 18 months. This study required the validation of a stability-indicating HPLC-UV method for the determination of cisatracurium and laudanosine, one of its degradation products described as a marker of its instability. In addition, the use of an HPLC-mass spectrometry method enabled the identification of degradation products and the study of degradation pathways. Our results showed that cisatracurium solutions at 10mg/mL were stable for 15 months under our preparation and storage conditions. The main degradation pathway observed under our study conditions (ester hydrolysis) differed from that previously described (Hofmann pathway). This highlights the imponderability of conducting stability studies under conditions representative of the actual use of drugs.

The second part of this thesis led us to study the incompatibility between different drugs used in anaesthesia and intensive care units. The models studied were the simultaneous administration of propofol and alpha-2 adrenergic receptor agonists (α 2A; clonidine or dexmedetomidine) used in multimodal analgesia. The data available in the literature refers to concentrations and ratios that are not representative of those encountered in hospital wards, potentially exposing patients to drug hazards. We assessed the compatibility of propofol- α 2A combinations under conditions mimicking those encountered in critical care units. Eight conditions per combination were evaluated over 96 hours, in triplicate, varying the simulated mass flow rates for each drug and for patient weights of 45 and 150 kg. To assess the chemical compatibility of these combinations, we developed and validated 3 stability-indicating HPLC-UV assay methods to study the stability of propofol, clonidine and dexmedetomidine in combination for 96 hours. The physical compatibility of the emulsion in combination was assessed using a granulometer coupled to a zeta potential measurement (with positive and negative controls). Our results demonstrated the physico-chemical stability of propofol- α 2A mixtures representative of those used in current practice.

In conclusion, the results of this work have provided scientific validation of hospital pharmacy and care service practices. They also highlighted the fundamental role of pharmacists in guaranteeing the quality of patient drug management, by using their skills in analytical chemistry to assess compatibility and stability data.

Key words: Injectable; drug compounding; drug stability; anaesthesia and Intensive care; emulsion; drug physico-chemical compatibility

Résumé

Le sujet de recherche de ce Doctorat a porté sur le développement de méthodes analytiques afin d'évaluer la stabilité ou les incompatibilités de médicaments injectables d'anesthésie-réanimation en solution ou en systèmes dispersés.

La première partie de ce travail a porté sur l'étude de la stabilité d'ampoules de bésylate de cisatracurium produites par la pharmacie du CHU de Lille pour permettre la continuité de la prise en charge des patients de réanimation dans le contexte des ruptures d'approvisionnement occasionnées par la pandémie à la COVID-19. L'étude de stabilité a été menée sur un lot de 4000 ampoules conservées entre 2 et 8 °C pendant 18 mois. Ce travail a nécessité la validation d'une méthode CLHP-UV indicatrice de stabilité pour le dosage du cisatracurium et de la laudanosine, un produit de dégradation décrit comme marqueur de son instabilité. Par ailleurs le recours à une méthode CLHP couplée à la spectrométrie de masse a permis une identification des produits de dégradation et l'étude des voies de dégradation. Nos résultats ont permis de conclure à la stabilité durant 15 mois des solutions de cisatracurium à 10mg/mL dans nos conditions de préparation et de conservation. La voie de dégradation principale observée dans nos conditions d'étude (l'hydrolyse de l'ester) différait de celle précédemment décrite (voie d'Hofmann). Cela souligne l'impondérabilité de mener des études de stabilité dans les conditions représentatives de l'utilisation réelle des médicaments.

La seconde partie de cette thèse nous a conduit à étudier l'incompatibilité entre différents médicaments utilisés dans les services d'anesthésie et de réanimation. Les modèles étudiés étaient l'administration simultanée de propofol et d'agonistes des récepteurs alpha-2 adrénergiques (α_2A ; clonidine ou dexmédétomidine) utilisés dans le cadre de l'analgésie multimodale. Les données disponibles dans la littérature concernent des concentrations et des ratios non représentatifs de ceux rencontrés dans les services de soins, exposant potentiellement les patients à un risque médicamenteux. Nous avons évalué la compatibilité d'associations propofol - α_2A dans des conditions mimant celles des services de soins critiques. Huit conditions par association ont été évaluées pendant 96 heures, en triplicat, et en faisant varier les débits massiques simulés pour chaque médicament et pour des poids de patients de 45 et 150 kg. Afin d'évaluer la compatibilité chimique de ces associations, nous avons développé et validé 3 méthodes de dosage indicatrices de stabilité par CLHP-UV pour l'étude de la stabilité en association du propofol, de la clonidine et de la dexmédétomidine pendant 96 heures. La compatibilité physique de l'émulsion en association a été évaluée à l'aide d'un granulomètre couplé à une mesure du potentiel zeta (avec contrôles positifs et négatifs). Nos résultats ont permis de démontrer la stabilité physico-chimique de mélanges propofol- α_2A représentatifs de ceux utilisés en pratique courante.

En conclusion, les résultats de ce travail ont ainsi permis une validation scientifique des pratiques hospitalières de la pharmacie et des services de soins. Ils ont également permis de souligner le rôle fondamental du pharmacien pour garantir la qualité de la prise en charge médicamenteuse du patient, au travers de l'utilisation de ses compétences en chimie analytique pour l'évaluation des données de compatibilité et de stabilité.

Mots-clés : injectable ; préparation de médicaments ; stabilité de médicaments ; anesthésie-réanimation ; émulsion ; compatibilité physico chimique de médicaments