

Université de Poitiers  
Faculté de Médecine et de Pharmacie

2017

Thèse n°

THÈSE  
POUR LE DIPLÔME D'ETAT  
DE DOCTEUR EN PHARMACIE  
(Arrêté du 17 juillet 1987)  
et  
MÉMOIRE  
DU DIPLÔME D'ETUDES SPECIALISÉES  
DE PHARMACIE HOSPITALIÈRE, PRATIQUE ET RECHERCHE  
(Décret 88-996 du 19 octobre 1988)

présentée et soutenue publiquement  
le 07 avril 2017  
à l'UFR Santé, Université de Poitiers  
par Madame BOUTET Mérédith, Albane, Éléonore  
née le 30 septembre 1989 à Poitiers (86)

Stabilité physico-chimique des nutriments parentéraux pédiatriques :  
Etude préliminaire

Composition du jury

Président : Pr Frédéric Lagarce, PU-PH, UFR Santé, Université d'Angers, service pharmacie du CHU d'Angers

Membres : - Dr Emmanuelle Olivier, pharmacien, CHU de Nantes, Hôpital Hôtel Dieu  
- Dr Karine Beuzit, pharmacien, CHU de Poitiers  
- Dr Antoine Dupuis, MCU-PH, faculté de Médecine et Pharmacie, Université de Poitiers, service pharmacie du CHU de Poitiers

Directeur de thèse : Dr Antoine Dupuis, MCU-PH, faculté de Médecine et Pharmacie, Université de Poitiers, service pharmacie du CHU de Poitiers



## PHARMACIE

### Professeurs

- CARATO Pascal, Chimie Thérapeutique
- COUET William, Pharmacie Clinique
- FAUCONNEAU Bernard, Toxicologie
- GUILLARD Jérôme, Pharmaco chimie
- IMBERT Christine, Parasitologie
- MARCHAND Sandrine, Pharmacocinétique
- OLIVIER Jean Christophe, Galénique
- PAGE Guylène, Biologie Cellulaire
- RABOUAN Sylvie, Chimie Physique, Chimie Analytique
- SARROUILHE Denis, Physiologie
- SEGUIN François, Biophysique, Biomathématiques

### Maîtres de Conférences

- BARRA Anne, Immunologie-Hématologie
- BARRIER Laurence, Biochimie
- BODET Charles, Bactériologie (HDR)
- BON Delphine, Biophysique
- BRILLAULT Julien, Pharmacologie
- BUYCK Julien, Microbiologie
- CHARVET Caroline, Physiologie
- DEBORDE Marie, Sciences Physico-Chimiques
- DEJEAN Catherine, Pharmacologie
- DELAGE Jacques, Biomathématiques, Biophysique
- DUPUIS Antoine, Pharmacie Clinique (HDR)
- FAVOT Laure, Biologie Cellulaire et Moléculaire
- GIRARDOT Marion, pharmacognosie, botanique, biodiversité végétale
- GREGOIRE Nicolas, Pharmacologie (HDR)
- GRIGNON Claire, PH
- HUSSAIN Didja, Pharmacie Galénique (HDR)
- INGRAND Sabrina, Toxicologie
- MARIVINGT-MOUNIR Cécile Pharmaco chimie

- PAIN Stéphanie, Toxicologie (HDR)
- RAGOT Stéphanie, Santé Publique (HDR)
- RIOUX BILAN Agnès, Biochimie
- TEWES Frédéric, Chimie et Pharmaco chimie
- THEVENOT Sarah, Hygiène et Santé publique
- THOREAU Vincent, Biologie Cellulaire
- WAHL Anne, Pharmaco chimie, Produits naturels

### PAST - Maître de Conférences Associé

- DELOFFRE Clément, Pharmacien
- HOUNKANLIN Lydwin, Pharmacien

### Professeur 2<sup>nd</sup> degré

- DEBAIL Didier

### Enseignante Contractuelle en Anglais

- ELLIOT Margaret

### Maître de Langue - Anglais

- DHAR Pujasree

### Poste d'ATER

- FERRU-CLEMENT Romain

### Poste de Moniteur

- VERITE Julie

### Poste de Doctorant

- BERNARD Clément
- PELLETIER Barbara

*Le Doyen,*

Année universitaire 2016 - 2017

## LISTE DES ENSEIGNANTS DE MEDECINE

### Professeurs des Universités-Praticiens Hospitaliers

AGIUS Gérard, bactériologie-virologie (**surnombre jusqu'en 08/2018**)  
ALLAL Joseph, thérapeutique  
BATAILLE Benoît, neurochirurgie  
BRIDOUX Frank, néphrologie  
BURUCOA Christophe, bactériologie – virologie  
CARRETIER Michel, chirurgie générale  
CHEZE-LE REST Catherine, biophysique et médecine nucléaire  
CHRISTIAENS Luc, cardiologie  
CORBI Pierre, chirurgie thoracique et cardio-vasculaire  
DAHOT-FIZELIER Claire, anesthésiologie – réanimation  
DEBAENE Bertrand, anesthésiologie réanimation  
DEBIAIS Françoise, rhumatologie  
DROUOT Xavier, physiologie  
DUFOUR Xavier, Oto-Rhino-Laryngologie  
FAURE Jean-Pierre, anatomie  
FRITEL Xavier, gynécologie-obstétrique  
GAYET Louis-Etienne, chirurgie orthopédique et traumatologique  
GICQUEL Ludovic, pédopsychiatrie  
GILBERT Brigitte, génétique  
GOMBERT Jean-Marc, immunologie  
GOUJON Jean-Michel, anatomie et cytologie pathologiques  
GUILHOT-GAUDEFROY François, hématologie et transfusion (**surnombre jusqu'en 08/2019**)  
GUILLEVIN Rémy, radiologie et imagerie médicale  
HADJADJ Samy, endocrinologie, diabète et maladies métaboliques  
HAUET Thierry, biochimie et biologie moléculaire  
HERPIN Daniel, cardiologie  
HOUETO Jean-Luc, neurologie  
INGRAND Pierre, biostatistiques, informatique médicale  
JAAFARI Nematollah, psychiatrie d'adultes  
JABER Mohamed, cytologie et histologie  
JAYLE Christophe, chirurgie thoracique et cardio-vasculaire  
KARAYAN-TAPON Lucie, cancérologie  
KEMOUN Gilles, médecine physique et de réadaptation (**en détachement**)  
KITZIS Alain, biologie cellulaire (**surnombre jusqu'en 08/2018**)  
KRAIMPS Jean-Louis, chirurgie générale  
LECRON Jean-Claude, biochimie et biologie moléculaire  
LELEU Xavier, hématologie  
LEVARD Guillaume, chirurgie infantile  
LEVEQUE Nicolas, bactériologie-virologie  
LEVEZIEL Nicolas, ophtalmologie  
LEVILLAIN Pierre, anatomie et cytologie pathologiques (**surnombre jusqu'en 08/2018**)  
MACCHI Laurent, hématologie  
MARECHAUD Richard, médecine interne  
MAUCO Gérard, biochimie et biologie moléculaire (**surnombre jusqu'en 08/2017**)  
MEURICE Jean-Claude, pneumologie  
MIGEOT Virginie, santé publique  
MILLOT Frédéric, pédiatrie, oncologie pédiatrique  
MIMOZ Olivier, anesthésiologie – réanimation  
NEAU Jean-Philippe, neurologie

ORIOU Denis, pédiatrie  
PACCALIN Marc, gériatrie  
PERAULT Marie-Christine, pharmacologie clinique  
PERDRISOT Rémy, biophysique et médecine nucléaire  
PIERRE Fabrice, gynécologie et obstétrique  
PRIES Pierre, chirurgie orthopédique et traumatologique  
RICCO Jean-Baptiste, chirurgie vasculaire  
RICHER Jean-Pierre, anatomie  
RIGOARD Philippe, neurochirurgie  
ROBERT René, réanimation  
ROBLOT France, maladies infectieuses, maladies tropicales  
ROBLOT Pascal, médecine interne  
RODIER Marie-Hélène, parasitologie et mycologie  
SENON Jean-Louis, psychiatrie d'adultes (**surnombre jusqu'en 08/2017**)  
SILVAIN Christine, hépato-gastro-entérologie  
SOLAU-GERVAIS Elisabeth, rhumatologie  
TASU Jean-Pierre, radiologie et imagerie médicale  
THIERRY Antoine, néphrologie  
THILLE Arnaud, réanimation  
TOUGERON David, gastro-entérologie  
TOURANI Jean-Marc, cancérologie  
WAGER Michel, neurochirurgie

**Maîtres de Conférences des Universités-Praticiens Hospitaliers**

ALBOUY-LLATY Marion, santé publique  
BEBY-DEFAUX Agnès, bactériologie – virologie  
BEN-BRIK Eric, médecine du travail  
BILAN Frédéric, génétique  
BOURMEYSTER Nicolas, biologie cellulaire  
CASTEL Olivier, bactériologie - virologie – hygiène  
CREMNITER Julie, bactériologie – virologie  
DIAZ Véronique, physiologie  
FAVREAU Frédéric, biochimie et biologie moléculaire  
FEIGERLOVA Eva, endocrinologie, diabète et maladies métaboliques  
FRASCA Denis, anesthésiologie – réanimation  
FROUIN Eric, anatomie et cytologie pathologiques  
HURET Jean-Loup, génétique  
LAFAY Claire, pharmacologie clinique  
PERRAUD Estelle, parasitologie et mycologie  
RAMMAERT-PALTRIE Blandine, maladies infectieuses  
SAPANET Michel, médecine légale  
SCHNEIDER Fabrice, chirurgie vasculaire  
THUILLIER Raphaël, biochimie et biologie moléculaire

**Professeur des universités de médecine générale**

BINDER Philippe  
GOMES DA CUNHA José

**Maître de conférences des universités de médecine générale**

BOUSSAGEON Rémy

**Professeur associé des disciplines médicales**

ROULLET Bernard, radiothérapie

**Professeurs associés de médecine générale**

BIRAULT François  
VALETTE Thierry

**Maîtres de Conférences associés de médecine générale**

AUDIER Pascal  
ARCHAMBAULT Pierrick  
BRABANT Yann  
FRECHE Bernard  
GIRARDEAU Stéphane  
GRANDCOLIN Stéphanie  
PARTHENAY Pascal  
VICTOR-CHAPLET Valérie

**Enseignants d'Anglais**

DEBAIL Didier, professeur certifié  
DHAR Pujasree, maître de langue étrangère  
ELLIOTT Margaret, contractuelle enseignante

**Professeurs émérites**

EUGENE Michel, physiologie (08/2019)  
GIL Roger, neurologie (08/2017)  
MARCELLI Daniel, pédopsychiatrie (08/2017)  
MENU Paul, chirurgie thoracique et cardio-vasculaire (08/2017)  
POURRAT Olivier, médecine interne (08/2018)  
TOUCHARD Guy, néphrologie (08/2018)

**Professeurs et Maîtres de Conférences honoraires**

ALCALAY Michel, rhumatologie  
ARIES Jacques, anesthésiologie-réanimation  
BABIN Michèle, anatomie et cytologie pathologiques  
BABIN Philippe, anatomie et cytologie pathologiques  
BARBIER Jacques, chirurgie générale (ex-émérite)  
BARRIERE Michel, biochimie et biologie moléculaire  
BECQ-GIRAUDON Bertrand, maladies infectieuses, maladies tropicales (ex-émérite)  
BEGON François, biophysique, médecine nucléaire  
BOINOT Catherine, hématologie – transfusion  
BONTOUX Daniel, rhumatologie (ex-émérite)  
BURIN Pierre, histologie  
CASTETS Monique, bactériologie -virologie – hygiène  
CAVELLIER Jean-François, biophysique et médecine nucléaire  
CHANSIGAUD Jean-Pierre, biologie du développement et de la reproduction  
CLARAC Jean-Pierre, chirurgie orthopédique  
DABAN Alain, oncologie radiothérapie (ex-émérite)  
DAGREGORIO Guy, chirurgie plastique et reconstructrice  
DESMAREST Marie-Cécile, hématologie  
DEMANGE Jean, cardiologie et maladies vasculaires  
DORE Bertrand, urologie (ex-émérite)  
FAUCHERE Jean-Louis, bactériologie-virologie (ex-émérite)  
FONTANEL Jean-Pierre, Oto-Rhino Laryngologie (ex-émérite)  
GRIGNON Bernadette, bactériologie  
GUILLARD Olivier, biochimie et biologie moléculaire  
GUILLET Gérard, dermatologie  
JACQUEMIN Jean-Louis, parasitologie et mycologie médicale  
KAMINA Pierre, anatomie (ex-émérite)  
KLOSSEK Jean-Michel, Oto-Rhino-Laryngologie  
LAPIERRE Françoise, neurochirurgie (ex-émérite)  
LARSEN Christian-Jacques, biochimie et biologie moléculaire  
MAGNIN Guillaume, gynécologie-obstétrique (ex-émérite)  
MAIN de BOISSIERE Alain, pédiatrie  
MARILLAUD Albert, physiologie  
MORICHAU-BEAUCHANT Michel, hépato-gastro-entérologie  
MORIN Michel, radiologie, imagerie médicale  
PAQUEREAU Joël, physiologie  
POINTREAU Philippe, biochimie  
REISS Daniel, biochimie  
RIDEAU Yves, anatomie  
SULTAN Yvette, hématologie et transfusion  
TALLINEAU Claude, biochimie et biologie moléculaire  
TANZER Joseph, hématologie et transfusion (ex-émérite)  
VANDERMARCO Guy, radiologie et imagerie médicale

## Remerciements

### **A Monsieur le Professeur Frédéric Lagarce,**

Vous me faites l'honneur de présider cette thèse. Merci de m'avoir donné goût à la pharmacotechnie lors de mon premier semestre d'internat, et d'être là, ce jour, pour juger ce travail. Je vous adresse mes remerciements les plus sincères.

### **A Monsieur le Docteur Antoine Dupuis,**

Merci de m'avoir guidée pendant mon cursus de pharmacie, de m'avoir transmis autant, aussi bien dans l'enseignement qu'en stage. Merci pour la confiance que vous m'avez accordée. Veuillez trouver ici l'expression de ma sincère reconnaissance.

### **A Madame le Docteur Karine Beuzit,**

Merci pour la richesse de ton enseignement en nutrition parentérale pédiatrique. Merci d'être là aujourd'hui.

### **A Madame le Docteur Emmanuelle Olivier,**

Merci d'avoir accepté de juger ce travail. Votre avis nous était précieux.

Je remercie l'équipe de biochimie du CHU de Poitiers qui nous a été d'une grande aide à la réalisation de ce projet.

A Emmanuelle Nicolas, pharmacien biologiste au laboratoire de biochimie du CHU de Poitiers. Pour ta disponibilité et ton aide lors des dosages. Pour tous les échanges de mails et appels. Je te remercie sincèrement et garderai un excellent souvenir de notre collaboration.

Aux internes du service de biochimie du CHU de Poitiers : Clara, Thibault et Benoit. Pour votre aide aux dosages du calcium et pour l'envoi des résultats.

A Claire Grignon, pharmacien. Merci pour ton aide et tes conseils pour la réalisation de ce projet.

Aux préparateurs en pharmacie du secteur nutrition parentérale du CHU de Poitiers. Merci de m'avoir formée à la préparation des poches. Merci pour votre gentillesse et votre patience.

Merci aux personnes qui de près ou de loin ont contribué à ce travail.

Merci à Antoine Robelet, Carine Bergeron Goichon, Sylvain Rajezakowski et Jessica Drouet pour votre aide et votre soutien à la réalisation de cette étude.

Aussi la réalisation de ce travail n'aurait pu être accomplie sans vous :

A toi, Renaud. Merci d'être à mes côtés, d'être à l'écoute et de m'accompagner depuis bientôt 7 ans. Merci d'être toi. A nous, à nos projets et à notre avenir.

A mes parents. Pour votre soutien, votre amour inconditionnel et les valeurs que vous m'avez transmises. Mes plus sincères remerciements.

A mes sœurs et mon frère, Daphné, Gersende et Mallory. Pour votre écoute, votre soutien et votre amour.

A mes beaux-frères, Romain et Frédéric, qui trouvent toujours les mots pour me faire rire.

A mes beaux-parents, Jean-Luc et Lynda. Pour tout le soleil que vous me communiquez depuis votre magnifique île.

A ma bichette, ma cocotte et ma natoune. Pour vos sourires, vos rires et votre innocence.

A mes ami(e)s, de plus ou moins longue date, qui sont toujours présents, avec qui j'ai grandi et partagé d'inoubliables moments.

A zot, mes ami(e)s créols. A toutes nos soirées passées ensemble, et aux prochaines.

A mes cointernes et collègues, sans qui la vie d'interne n'aurait pas été aussi enrichissante. Une mention spéciale pour Isabelle, Angéline, Thomas, Karen, Guillaume, Aurélie et Erelle.

A mes colocataires de l'internat d'Angers. Merci pour votre présence, vos encouragements et tous ces moments passés à vos côtés.

A tous les professeurs et pharmaciens, avec qui j'ai eu l'honneur d'apprendre et de travailler. Merci de m'avoir transmis les qualités et connaissances qui ont permis aujourd'hui l'aboutissement de ce projet.

Puisse cette thèse être le reflet du grand intérêt que j'ai porté à la réalisation de ce travail.

A vous tous, merci.

## Liste des abréviations

ANSM : Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

BPF : Bonnes Pratiques de Fabrication

BBP : Bonnes Pratiques de Préparation

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

CV : Coefficient de Variation

DEHP : DiEthylExyl Phtalate

DLU : Durée Limite d'Utilisation

ELBW : Extrem Low Birth Weight (Extrême Petit Poids de Naissance)

G1P : Glucose-1-Phosphate

G6P : Glucose-6-Phosphate

HPLC-UV : Chromatographie Liquide Haute Performance, détection UltraViolet

IGAS : Inspection Générale des Affaires Sociales

LBW : Low Birth Weight (Petit Poids de Naissance)

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PM : Préparation Magistrale

PH : Préparation Hospitalière

PUI : Pharmacie à Usage Intérieur

RCP : Résumé des Caractéristiques du Produit

SA : Semaine d'Aménorrhée

SFN : Société Française de Néonatalogie

VLBW : Very Low Birth Weight (Très Petit Poids de Naissance)

ZAC : Zone à Atmosphère Contrôlée

## Table des matières

|  |    |
|--|----|
| Liste des Tableaux .....   | 1  |
| Liste des Figures.....   | 2  |
| Liste des Graphiques .....   | 3  |
| Introduction .....   | 4  |
| Première partie - La nutrition parentérale et les besoins nutritionnels chez l'enfant..... | 6  |
| I. La nutrition parentérale : définition.....  | 6  |
| II. La nutrition parentérale en pédiatrie .....  | 7  |
| 1. Néonatalogie et prématurité.....  | 7  |
| a. Définition .....  | 7  |
| b. La population concernée .....   | 7  |
| c. Les différences de besoins selon l'âge .....  | 7  |
| d. Les degrés de prématurité .....   | 8  |
| e. La place de la nutrition parentérale en néonatalogie .....                              | 9  |
| 2. Les besoins nutritionnels en pédiatrie .....  | 9  |
| a. Les apports nutritionnels.....  | 9  |
| b. Poches binaires et poches ternaires.....  | 10 |
| Deuxième partie - La nutrition parentérale : une préparation pharmaceutique .....          | 12 |
| I. Le statut pharmaceutique .....  | 12 |
| 1. La nutrition parentérale.....   | 12 |
| 2. Les poches avec AMM.....  | 12 |
| 3. Les poches type PM.....   | 12 |
| 4. Les poches type PH .....  | 13 |
| 5. Recommandations d'emploi des différents types de poches.....                            | 13 |
| 6. Recommandations de fabrication.....   | 13 |
| II. Répartition des types de nutrition parentérale pédiatrique en France .....             | 14 |
| 1. Bilan et recommandations de l'IGAS.....   | 14 |
| 2. Etat des lieux en France par l'IGAS.....  | 14 |
| a. Généralités.....  | 14 |
| b. Pratique de préparation en services de soins .....                                      | 15 |
| c. Pratique de prescription et fabrication.....  | 15 |
| III. Les facteurs d'influence sur la stabilité physico-chimique d'une préparation.....     | 18 |
| 1. Définition de la DLU .....  | 18 |

|   |    |
|---|----|
| 2. Les principaux facteurs influençant la stabilité.....                    | 18 |
| Troisième partie - L'étude de stabilité.....                                | 20 |
| Objectifs de l'étude.....   | 20 |
| Matériel et méthode.....  | 22 |
| I. Les poches de nutrition parentérale de l'étude.....                      | 22 |
| 1. Composition des poches.....  | 22 |
| a. Etude de prescriptions des poches « à la carte » au CHU de Poitiers..... | 22 |
| b. Définition de la composition d'une « poche de base » à étudier.....      | 22 |
| c. Définition de la composition des autres poches à étudier.....            | 23 |
| 2. Fabrication des poches.....  | 23 |
| 3. Etude de dégradation forcée sur la poche de base.....                    | 24 |
| II. Les analyses effectuées.....  | 25 |
| A. Stabilité physique.....  | 26 |
| 1. Inspection visuelle.....   | 26 |
| 2. Mesure de l'osmolalité.....  | 26 |
| 3. Test de limpidité.....   | 27 |
| 4. Mesure du pH.....  | 28 |
| B. Stabilité chimique.....  | 29 |
| 1. Dosage du glucose.....   | 29 |
| 2. Dosage du sodium et du potassium.....                                    | 30 |
| 3. Dosage du calcium ionisé.....  | 30 |
| 4. Dosage des phosphates par dosage du Glucose-1-Phosphate (G1P).....       | 31 |
| 5. Dosage du fer total.....   | 33 |
| 6. Dosage de la vitamine E.....   | 33 |
| 7. Dosage de la vitamine B1.....  | 34 |
| 8. Dosage de la méthionine.....   | 35 |
| a. Méthode de dosage de la méthionine.....                                  | 35 |
| b. Validation de la méthode de dosage de la méthionine par HPLC-UV.....     | 36 |
| • Linéarité, spécificité, fidélité et justesse.....                         | 36 |
| • Evaluation de l'effet matrice.....  | 37 |
| • Etude de dégradation forcée de la méthionine.....                         | 39 |
| Résultats.....  | 41 |
| I. Les poches de nutrition parentérale de l'étude.....                      | 41 |
| 1. Composition des poches.....  | 41 |

|     |   |    |
|-----|---|----|
| 2.  | Concentration théorique des composants des poches.....  | 43 |
| II. | Les analyses effectuées .....   | 43 |
| A.  | Stabilité physique.....   | 43 |
| 1.  | Inspection visuelle .....   | 43 |
| 2.  | Mesure de l'osmolalité .....  | 44 |
| 3.  | Test de limpidité.....  | 45 |
| 4.  | Mesure du pH.....   | 47 |
| B.  | Stabilité chimique.....   | 48 |
| 1.  | Dosage du glucose.....  | 48 |
| 2.  | Dosage du sodium et du potassium .....  | 50 |
| 3.  | Dosage du calcium ionisé .....  | 53 |
| 4.  | Dosage des phosphates par dosage du glucose-1-phosphate.....  | 54 |
| 5.  | Dosage du fer total .....   | 56 |
| 6.  | Dosage de la vitamine E.....  | 58 |
| 7.  | Dosage de la vitamine B1 .....  | 59 |
| 8.  | Dosage de la méthionine.....  | 60 |
| a.  | Résultats de la validation de la méthode de dosage de la méthionine .....   | 60 |
| •   | Linéarité, spécificité, fidélité et justesse .....  | 60 |
| •   | Evaluation de l'effet matrice .....   | 63 |
| •   | Etude de dégradation forcée de la méthionine .....  | 64 |
| b.  | Résultats des dosages de la méthionine .....  | 66 |
|     | Discussion.....   | 68 |
|     | Conclusion-Perspectives .....   | 72 |
|     | Bibliographie.....  | 74 |
|     | Annexes .....   | 77 |
|     | Annexe I : Validation des méthodes de dosage du glucose, du fer, du calcium ionisé, de l'osmolalité, du sodium, du potassium, des vitamines E et B1 ..... | 77 |
|     | Résumé.....   | 82 |
|     | Abstract : .....  | 82 |

## Liste des Tableaux

|   |    |
|---|----|
| Tableau I. Principaux besoins nutritionnels du prématuré à respecter lors d'une prescription de nutrition parentérale (3)   | 10 |
| Tableau II. Manipulations de la dégradation hydrolytique d'une solution mère de méthionine.   | 39 |
| Tableau III. Valeurs de la moyenne, de l'écart-type, du coefficient de variation (CV), de la médiane, du pourcentage de présence, des valeurs maximales et minimales en volume des différents composants des 335 poches étudiées. | 42 |
| Tableau IV. Descriptif du volume des 335 poches sélectionnées : volume moyen, médiane, écart-type, CV.  | 42 |
| Tableau V. Composition des 11 poches de l'étude.  | 42 |
| Tableau VI. Concentrations théoriques des composants dosés des poches.  | 43 |
| Tableau VII. Résultats de l'évolution de l'osmolalité après dégradation forcée.   | 44 |
| Tableau VIII. Résultats de l'évolution de l'absorbance à 350 nm après dégradation forcée.   | 45 |
| Tableau IX. Résultats de l'évolution de l'absorbance à 550 nm après dégradation forcée.   | 46 |
| Tableau X. Résultats de l'évolution du pH après dégradation forcée.   | 47 |
| Tableau XI. Résultats de l'écart entre concentration obtenue à J0 (noté C.) et concentration théorique en glucose des moyennes des triplicatas des 11 poches.   | 48 |
| Tableau XII. Résultats de l'évolution de la concentration en glucose après dégradation forcée.  | 49 |
| Tableau XIII. Résultats de l'écart entre concentration obtenue à J0 (noté C.) et concentration théorique en sodium des moyennes des triplicatas des 11 poches.  | 50 |
| Tableau XIV. Résultats de l'évolution de la concentration en sodium après dégradation forcée.   | 51 |
| Tableau XV. Résultats de l'écart entre concentration obtenue à J0 (noté C.) et concentration théorique en potassium des moyennes des triplicatas des 11 poches.   | 51 |
| Tableau XVI. Résultats de l'évolution de la concentration en potassium après dégradation forcée.  | 52 |
| Tableau XVII. Résultats de l'écart entre concentration obtenue à J0 (noté C.) et concentration théorique en calcium ionisé des moyennes des triplicatas des 11 poches.  | 53 |
| Tableau XVIII. Résultats de l'évolution de la concentration en calcium ionisé après dégradation forcée.   | 54 |
| Tableau XIX. Résultats de l'écart entre concentration obtenue à J0 (noté C.) et concentration théorique en G1P des moyennes des triplicatas des 11 poches.  | 55 |
| Tableau XX. Résultats de l'évolution de la concentration en G1P après dégradation forcée.   | 55 |
| Tableau XXI. Résultats de l'écart entre concentration obtenue à J0 (noté C.) et concentration théorique en fer total des moyennes des triplicatas des 11 poches.  | 56 |
| Tableau XXII. Résultats de l'évolution de la concentration en fer après dégradation forcée.   | 57 |
| Tableau XXIII. Résultats de l'écart entre concentration obtenue à J0 (noté C.) et concentration théorique en vitamine E des 11 poches.  | 58 |
| Tableau XXIV. Résultats de l'écart entre concentration obtenue à J0 (noté C.) et concentration théorique en vitamine B1 des 11 poches.  | 59 |
| Tableau XXV. Représentation des valeurs moyennes pour les 5 gammes de $r^2$ , du coefficient directeur (noté a), de l'ordonnée à l'origine (noté b), de leur écart-type et de leur Coefficient de Variation (noté CV).            | 60 |

|   |    |
|---|----|
| Tableau XXVI. Représentation des résultats de la linéarité (la concentration calculée notée C.calculée est exprimée en $\mu\text{g}/\text{mL}$ ). _____   | 60 |
| Tableau XXVII. Représentation des résultats de la répétabilité de la méthode sur une journée. _____   | 62 |
| Tableau XXVIII. Représentation des résultats de la fidélité intermédiaire de la méthode sur six journées. _____   | 62 |
| Tableau XXIX. Représentation des valeurs des coefficients directeurs (notés a), coefficients directeurs moyens, écart-type, et coefficient de variation (noté CV) des gammes réalisées pour tester l'effet matrice. _____ | 64 |
| Tableau XXX. Résultats des tests de dégradation hydrolytique. _____   | 64 |
| Tableau XXXI. Résultats de l'écart entre concentration obtenue à J0 (noté C.) et concentration théorique en méthionine des moyennes des triplicatas des 11 poches. ____   | 66 |
| Tableau XXXII. Résultats de l'évolution de la concentration en méthionine après dégradation forcée. _____   | 67 |

## Liste des Figures

|   |    |
|---|----|
| Figure I. Répartition de la prescription, par région, des poches de nutrition parentérale pédiatriques selon le type de formule _____   | 16 |
| Figure II. Répartition de la prescription, par région, des poches de nutrition parentérale pédiatrique, selon le type de fabrication et le statut _____   | 17 |
| Figure III. Structure moléculaire de la méthionine [15]. _____  | 40 |
| Figure IV. Chromatogrammes obtenus pour le Primène <sup>®</sup> dosé à $120 \mu\text{g}/\text{mL}$ en méthionine (à gauche), pour la poche de composition 1 diluée à $97 \mu\text{g}/\text{mL}$ en méthionine (au centre) et pour la solution de méthionine à $100 \mu\text{g}/\text{mL}$ (à droite). _____ | 61 |
| Figure V. Chromatogrammes de la méthionine dans l'eau (à gauche), dans la poche de nutrition (au centre) à $100 \mu\text{g}/\text{mL}$ et chromatogramme de la méthionine dans la poche de nutrition à $0 \mu\text{g}/\text{mL}$ (à droite). _____  | 63 |
| Figure VI. Chromatogramme de la solution mère témoin de méthionine (à gauche), de la solution de dégradation hydrolytique n°4 sans méthionine (au centre) et de la solution de dégradation hydrolytique n°3 (à droite). _____   | 65 |
| Figure VII. Chromatogramme du premier mélange (à gauche) et du second mélange (à droite) de dégradation oxydative de la méthionine. _____   | 65 |
| Figure VIII. Chromatogramme de la solution de méthionine témoin à $100 \mu\text{g}/\text{mL}$ (à gauche) et de la solution exposée 6h sous lampe UV (à droite) _____  | 66 |

## Liste des Graphiques

|   |    |
|---|----|
| Graphique I. Résultats de l'évolution de l'osmolalité à J3 et J7 des moyennes des triplicatas des 11 poches et écarts-type associés. _____                    | 44 |
| Graphique II. Résultats de l'évolution de l'absorbance à J3 et J7 à 350 nm des moyennes des triplicatas des 11 poches et écarts-type associés. _____          | 45 |
| Graphique III. Résultats de l'évolution de l'absorbance à J3 et J7 à 550 nm des moyennes des triplicatas des 11 poches et écarts-type associés. _____         | 46 |
| Graphique IV. Résultats de l'évolution du pH à J3 et J7 des moyennes des triplicatas des 11 poches et écarts-type associés. _____                             | 47 |
| Graphique V. Résultats de l'évolution de la concentration en glucose à J7 des moyennes des triplicatas des 11 poches et écarts-type associés. _____           | 49 |
| Graphique VI. Résultats de l'évolution de la concentration en sodium à J3 et J7 des moyennes des triplicatas des 11 poches et écarts-type associés. _____     | 51 |
| Graphique VII. Résultats de l'évolution de la concentration en potassium à J3 et J7 des moyennes des triplicatas des 11 poches et écarts-type associés. _____ | 52 |
| Graphique VIII. Résultats de l'évolution de la concentration en calcium ionisé à J7 des moyennes des triplicatas des 11 poches et écarts-type associés. _____ | 53 |
| Graphique IX. Résultats de l'évolution de la concentration en G1P à J3 et J7 des moyennes des triplicatas des 11 poches et écarts-type associés. _____        | 55 |
| Graphique X. Résultats de l'évolution de la concentration en fer à J7 des moyennes des triplicatas des 11 poches et écarts-type associés. _____               | 57 |
| Graphique XI. Résultats de l'évolution de la concentration en méthionine à J3 et J7 des moyennes des triplicatas des 11 poches et écarts-type associés. _____ | 67 |

## Introduction

La nutrition parentérale consiste en la perfusion intraveineuse d'un mélange nutritif médicamenteux (1). Elle fait partie intégrante de la prise en charge des enfants, notamment en réanimation néonatale, qui ne peuvent pas être nourris totalement par voie orale ou entérale, en raison d'un tractus gastro-intestinal non fonctionnel (1).

Les poches de nutrition parentérale correspondent à des spécialités pharmaceutiques réalisées par l'industrie pharmaceutique ou à des préparations réalisées au sein d'une pharmacie à usage intérieur d'un établissement de santé.

Les nutrition parentérales pédiatriques « à la carte » sont des Préparations Magistrales (PM) destinées et formulées spécifiquement pour l'enfant auquel s'applique la prescription. Elles sont préparées extemporanément et ne sont pas destinées à être conservées. Cependant, l'administration ne peut se faire immédiatement à la suite de la fabrication de la poche. Notamment du fait de la difficulté que représente la synchronisation entre la prescription, la fabrication, le contrôle, la libération de la préparation et son administration.

Actuellement, très peu de données sont disponibles sur la stabilité de tels mélanges. En vue de sécuriser l'administration de ces poches, il est essentiel d'acquérir des notions sur leur conservation.

L'objectif de ce projet consiste en une étude préliminaire de la stabilité de poches de nutrition parentérale pédiatrique « à la carte ».

Pour ce faire, plusieurs axes ont été définis.

Dans un premier temps, une étude des prescriptions des poches « à la carte » au Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Poitiers a été faite, sur une période de temps définie. Celle-ci a permis de cibler et de définir la composition des poches dont nous souhaitons étudier la stabilité physico-chimique.

Dans un second temps, s'est posée la question de la réalisation de l'étude physico-chimique en elle-même. Pour ce faire, il a été défini les paramètres physiques et chimiques à suivre dans le temps. Et il a été défini les méthodes à appliquer pour réaliser ces suivis.

Dans un concept d'étude préliminaire, il a été décidé de tester les méthodes disponibles au laboratoire de contrôle et laboratoire de biochimie du CHU de Poitiers. Le but étant de pouvoir distinguer celles pouvant être envisagées et celles n'étant

pas adaptées, en prenant en compte les méthodes classiquement disponibles dans un CHU.

Une nouvelle méthode de dosage n'était envisagée que si aucune méthode préalable ne pouvait être testée.

Cette étude préliminaire vise ainsi à apporter des notions sur des paramètres de stabilité physico-chimiques de mélanges de nutrition parentérale « à la carte » majoritairement représentés.

## **Première partie - La nutrition parentérale et les besoins nutritionnels chez l'enfant**

### **I. La nutrition parentérale : définition**

La nutrition parentérale est une technique de nutrition artificielle au cours de laquelle l'apport nutritif est réalisé par voie intraveineuse. Elle s'administre par voie veineuse centrale ou périphérique.

C'est une technique non-physiologique dont le but est, le plus souvent, de se substituer à une fonction digestive partiellement ou totalement absente et d'assurer les apports nutritionnels au patient.

Elle est mise en place lorsque les apports nutritifs ne peuvent plus, ou de façon insuffisante, être réalisés par voie orale ou entérale, aussi, lorsque la voie entérale est contre-indiquée. Les principales contre-indications de la nutrition entérale sont les vomissements fréquents, l'occlusion, la diarrhée par malabsorption sévère, l'insuffisance intestinale sévère.

La nutrition parentérale est indiquée lorsque les patients ne peuvent pas manger (situations de coma, néoplasie ORL, obstacle digestif, entérite radique grave, grêle court par exemple), lorsque les patients ne doivent pas manger (après chirurgie digestive lourde, lors d'une fistule digestive, d'une pancréatite aiguë, d'une diarrhée sévère par exemple), lorsque les patients ne veulent pas manger (anorexies psychogènes, lors de refus de la nutrition entérale par exemple) (2).

La nutrition parentérale peut être complémentaire d'une nutrition orale ou entérale insuffisante ou bien être exclusive et dans ce cas, elle assure la couverture de l'ensemble des besoins.

## **II. La nutrition parentérale en pédiatrie**

### **1. Néonatalogie et prématurité**

#### *a. Définition*

Depuis près de cinquante ans, la nutrition parentérale fait partie intégrante de la prise en charge des enfants qui ne peuvent pas être nourris totalement par voie orale ou entérale, en raison d'un tractus gastro-intestinal non fonctionnel (3). Le système digestif est alors incapable d'ingérer, de digérer ou d'absorber suffisamment de nutriments et/ou d'eau et d'électrolytes pour maintenir la santé et la croissance de l'enfant.

#### *b. La population concernée*

La nutrition parentérale pédiatrique concerne une vaste population, allant des nouveau-nés prématurés aux adolescents pesant jusqu'à 100 kg (4). Celle-ci concerne donc des individus aux besoins en substrats extrêmement variables. Les changements liés à l'âge et à la maturité du métabolisme, les besoins en fluides et en éléments nutritifs ainsi que la situation clinique doivent être pris en considération pendant toute la durée pour laquelle la nutrition parentérale est prescrite (4).

#### *c. Les différences de besoins selon l'âge*

##### ✓ Adulte versus enfant

Le support nutritionnel chez un enfant ne peut être basé sur les mêmes préceptes que ceux appliqués chez l'adulte. En effet, chez l'enfant, non seulement les fonctions métaboliques de base doivent être maintenues, mais les apports nutritionnels doivent également couvrir les besoins anaboliques de la croissance (3). L'indication, le mode opératoire ainsi que la prise de fluides et de substrats sont très différents de ceux connus dans la pratique de la nutrition parentérale chez des patients adultes. Les besoins en fluides, en nutriments et en énergie des nourrissons et des nouveau-nés

prématurés par kg de poids corporel sont nettement plus élevés que chez les patients plus âgés pédiatriques et adultes (4). Chez les nouveau-nés, la quantité réelle de nutrition parentérale administrée doit être calculée (et non estimée).

✓ **Enfant versus enfant**

Les besoins nutritionnels des enfants évoluent en fonction de leur âge, de leur composition corporelle, de leur statut métabolique et de leur(s) pathologie(s) éventuelle(s). De manière générale, les enfants prématurés ont des besoins énergétiques, protéiques et hydriques supérieurs aux nouveau-nés à terme. La qualité des nutriments indispensables, par exemple certains acides aminés dits essentiels, est également différente.

Les enfants prématurés ont des besoins nutritionnels bien spécifiques (3).

Les nourrissons prématurés nés avant 35 Semaines d'Aménorrhée (SA) et les nourrissons à terme les plus malades exigent habituellement une nutrition parentérale complète ou partielle (4).

*d. Les degrés de prématurité*

La néonatalogie correspond à la médecine du nouveau-né, né à terme ou prématurément, jusqu'à l'âge d'un mois (3).

La plus large population prise en charge par une unité de néonatalogie est représentée par les enfants prématurés.

Plusieurs degrés de prématurité sont décrits par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) : la prématurité extrême en cas de naissance avant la 28<sup>ème</sup> SA, la grande prématurité pour une naissance entre la 28<sup>ème</sup> et la 32<sup>ème</sup> SA, et la prématurité moyenne ou tardive, entre la 32 et la 37<sup>ème</sup> SA (5).

Le poids du nouveau-né revêt également une grande importance.

Ainsi un « petit poids de naissance » ou Low Birth Weight (LBW) est défini comme un poids inférieur à 2,5 kg, les « très petits poids » ou Very Low Birth Weight (VLBW) sont inférieurs à 1,5 kg et les « extrêmes petits poids » ou Extrem Low Birth Weight (ELBW) sont inférieurs à 1 kg (3).

### *e. La place de la nutrition parentérale en néonatalogie*

L'insuffisance de la prise de substrats au début de la petite enfance peut causer des effets préjudiciables à long terme. En conséquence, si les besoins en énergie et en nutriments chez les enfants et les adolescents ne peuvent être satisfaits par la nutrition entérale, la nutrition parentérale partielle ou totale devrait être envisagée dans les sept jours ou moins, selon l'état nutritionnel et les conditions cliniques (4). Cependant, la nutrition entérale devrait être introduite progressivement et devrait remplacer la nutrition parentérale aussi rapidement que possible afin de minimiser les effets secondaires de l'exposition à la nutrition parentérale (4). Effets secondaires pouvant être des complications métaboliques causées par des apports insuffisants ou excessifs, comme par exemple des troubles de l'homéostasie du glucose (hypoglycémie, hyperglycémie) ; des complications hépatiques. Il existe également des complications liées à la présence d'un cathéter : complications mécaniques, complications thrombotiques et complications infectieuses (6,7).

## **2. Les besoins nutritionnels en pédiatrie**

### *a. Les apports nutritionnels*

Les apports nutritionnels du prématuré sont à déterminer de façon précise et ceci quelle que soit la nature de l'apport : l'apport liquidien, l'apport énergétique (protéines, glucides, lipides), les électrolytes, les oligoéléments et les vitamines (5).

Les principaux besoins nutritionnels du prématuré à respecter lors de prescription d'une nutrition parentérale sont présentés dans le tableau I.

**Tableau I.** Principaux besoins nutritionnels du prématuré à respecter lors d'une prescription de nutrition parentérale (3)

|                |   |
|----------------|---|
| Liquides       | 120-150 mL/kg/24h<br>(augmentation par paliers la 1 <sup>ère</sup> semaine) |
| Energie        | 110-120 kcal/kg/24h   |
| Protéines      | 1.5-4 g/kg/24h  |
| Glucose        | 4-8 mg/kg/min   |
| Lipides        | 0.5-4 g/kg/24h<br>(introduire par paliers de 0.5g/kg/24h)                   |
| Sodium         | 2-5 mmol/kg/24h   |
| Potassium      | 1-3 mmol/kg/24h   |
| Calcium        | 1-4 mmol/kg/24h   |
| Phosphates     | 0.75-3 mmol/kg/24h  |
| Rapport Ca : P | 1.3-1.7 (mmol)  |
| Magnésium      | 0.1-0.2 mmol/kg/24h   |

La nutrition parentérale pédiatrique a pour but l'apport de tous les éléments nutritifs, énergétiques et chimiques en réponse aux besoins des nouveau-nés ou des enfants hospitalisés afin de soutenir leur croissance dès leurs premiers jours de vie. Ces besoins nutritionnels évoluent notamment avec l'âge de l'enfant, leur poids et/ou leurs pathologies. La nutrition parentérale doit tenir compte de ces évolutions et proposer en permanence, une solution la plus adaptée à la situation particulière des enfants.

#### *b. Poches binaires et poches ternaires*

Afin d'honorer au mieux les prescriptions de nutrition parentérale, deux types de poches sont proposés.

Tout d'abord, les poches à base d'acides aminés et glucose, pouvant contenir également électrolytes, oligoéléments et vitamines. Il s'agit de poches dites binaires qui sont conditionnées industriellement sous forme bi-compartmentée. Chaque compartiment contient respectivement une solution de glucose et une solution d'acides aminés (8). Un conditionnement monocompartmental peut également être utilisé (5).

Les poches dites ternaires sont des mélanges binaires auxquels sont ajoutés des lipides. Ces mélanges ternaires sont conditionnés en poches bi- ou tri-compartimentées, dont les compartiments sont mélangés au moment de l'administration de la poche. Les poches tri-compartimentées présentent un compartiment contenant la solution de glucose, un second compartiment contenant la solution d'acides aminés et un troisième pour l'émulsion lipidique (8). En cas d'indisponibilité de ce type de poche, les lipides peuvent être administrés en dérivation aux côtés d'une poche binaire (5) .

## **Deuxième partie - La nutrition parentérale : une préparation pharmaceutique**

### **I. Le statut pharmaceutique**

#### **1. La nutrition parentérale**

La nutrition parentérale consiste en la perfusion intraveineuse d'un mélange nutritif médicamenteux ayant le statut de spécialité pharmaceutique bénéficiant d'une Autorisation de Mise sur le Marché (AMM), ou de Préparation Magistrale (PM) ou Hospitalière (PH) définies à l'article L.5121-1 du code de la santé publique (1).

#### **2. Les poches avec AMM**

Les poches de nutrition parentérale qui correspondent à des spécialités pharmaceutiques disposant d'une AMM sont produites industriellement par des laboratoires pharmaceutiques. Il s'agit par exemple des spécialités Pediaven® permettant de répondre aux besoins du nourrisson, de l'enfant et de l'adolescent, en état stable. Si l'Assistance Publique des Hôpitaux de Paris est titulaire de ces AMM depuis 2011, ce médicament est fabriqué et commercialisé par un industriel privé (5). Actuellement, seuls les mélanges binaires ont une AMM chez les prématurés (5).

#### **3. Les poches type PM**

Les PM sont définies comme des médicaments préparés extemporanément selon une prescription médicale destinée à un malade déterminé. Ceci en raison de l'absence de spécialité pharmaceutique disponible ou adaptée.

Les poches de nutrition parentérale « à la carte » répondent à cette définition.

Une PM est prescrite pour un enfant clairement identifié et est administrée à cet enfant exclusivement (5). Les PM peuvent être binaires ou ternaires.

#### **4. Les poches type PH**

Les PH sont définies comme des médicaments préparés selon les indications de la pharmacopée, en raison de l'absence de spécialité pharmaceutique disponible ou adaptée. Elles sont dispensées sur prescription médicale et ne sont pas spécifiquement destinées à un patient unique.

Les poches « standardisées », de formulation définie, répondent à cette définition.

A l'heure actuelle, leur composition varie d'un établissement de santé à l'autre mais vise à répondre aux besoins nutritifs d'un plus grand nombre de prématurés ou d'enfants hospitalisés. Les PH font l'objet d'une déclaration auprès de l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé (ANSM) (5). Elles peuvent être binaires ou ternaires.

#### **5. Recommandations d'emploi des différents types de poches**

Les PM et PH ne peuvent être prescrites qu'en l'absence de spécialité pharmaceutique disponible ou adaptée disposant d'une AMM.

Lorsque les besoins des patients ne peuvent pas être couverts par les spécialités pharmaceutiques disponibles, il est alors recommandé de prescrire en premier lieu des PH dites aussi « standardisées ». Les PM dites « à la carte », fabriquées pour un patient donné, doivent être réservées en dernier recours en cas de besoins spécifiques non couverts par les deux premières catégories (1).

#### **6. Recommandations de fabrication**

Du fait de leur administration par voie intraveineuse, ces mélanges doivent être stériles, apyrogènes et exempts de particules. Pour respecter l'ensemble de ces conditions, il a été défini des pratiques à appliquer. Les Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF) s'adressent aux spécialités et préparations fabriquées dans un établissement pharmaceutique tandis que les Bonnes Pratiques de Préparations (BPP) s'adressent aux PM et PH, de lots inférieurs à 300 unités, réalisées dans les Pharmacies à Usage Intérieur (1).

## **II. Répartition des types de nutrition parentérale pédiatrique en France**

### **1. Bilan et recommandations de l'IGAS**

Ces dernières décennies, les accidents en lien avec la nutrition parentérale chez les nourrissons hospitalisés ont considérablement diminué (9). Cependant les risques demeurent importants et ne sont pas parfaitement maîtrisés, comme l'atteste le décès de trois nourrissons en décembre 2013 au Centre Hospitalier de Chambéry (9). Un état des lieux du circuit de la nutrition parentérale pédiatrique en France a été réalisé par des experts de l'Inspection Générale des Affaires Sociales (IGAS), par le biais d'une enquête faite auprès de 247 établissements publics et privés (9). Les résultats, publiés en janvier 2015, montrent que les spécialités ayant une AMM représentent 27 % des prescriptions, les préparations dites standardisées « dont la composition varie d'un établissement à l'autre » représentent 20 % des prescriptions et les préparations « à la carte », 53 % des prescriptions.

L'IGAS estime qu'il est préférable « de privilégier le recours à des poches ayant l'AMM compte-tenu de leur sécurité de fabrication » (9).

Cette même idée est partagée par la Société Française de Néonatalogie (SFN) qui recommande de limiter les prescriptions « à la carte » et celles dites « standardisées » non fabriquées par les industriels, au profit des poches avec AMM, c'est-à-dire fabriquées par les industriels (10).

### **2. Etat des lieux en France par l'IGAS**

#### *a. Généralités*

De façon générale, la nutrition parentérale peut être prescrite sous forme de préparation industrielle avec AMM, de PH ou PM. Les PH et PM sont préparées en Pharmacie à Usage Intérieur (PUI) de l'établissement. En cas de non-faisabilité, une sous-traitance peut être mise en place et les poches sont alors réalisées par une PUI d'un autre établissement ou un façonnier.

En effet, la réalisation d'un mélange complexe comme une nutrition parentérale constitue un mélange non textuellement prévu par les Résumés des Caractéristiques

des Produits (RCP) des médicaments mélangés, et relève par défaut, au sens des BPP et du Code de la Santé Publique, d'une préparation sous la responsabilité d'un pharmacien (5,11). L'exclusion de ces reconstitutions dans les services par les infirmières n'est pas prévue explicitement dans les textes réglementaires relatifs aux actes relevant de la responsabilité infirmière (5). Cependant, l'IGAS recommande de cesser toute activité de préparation de nutrition parentérale en unité de soins, en faisant appel en première intention, aux spécialités pharmaceutiques avec AMM présentes sur le marché, et en seconde intention, à la réalisation de préparations en PUI en conditions sécurisées sous responsabilité pharmaceutique (5).

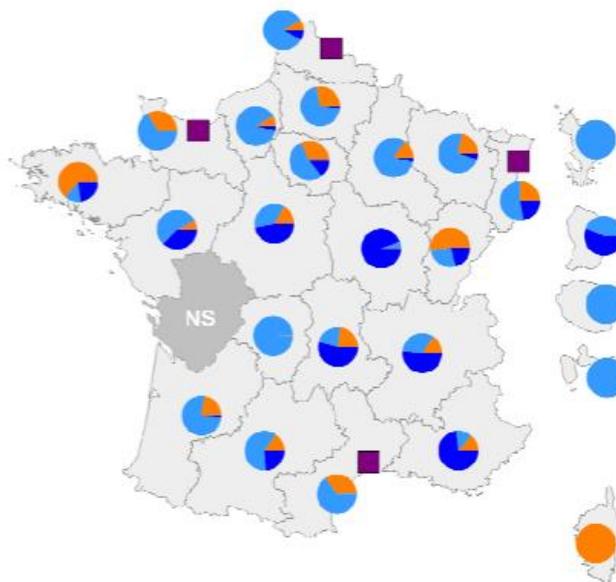
*b. Pratique de préparation en services de soins*

L'IGAS a évalué l'importance de la fabrication des nutriments parentéraux pédiatriques dans les services de soins. Les résultats de l'enquête montrent que ce mode de fabrication représentait en 2013 environ 65 000 poches, soit moins de 4% du total des besoins en pédiatrie et 20% du total des besoins en néonatalogie. Elle représente en revanche plus de 97,5% des besoins pour 16 établissements de santé parmi lesquels figurent des établissements avec maternité de niveau 3. Cette activité a été déclarée par 43 établissements de santé parmi ceux ayant répondu à l'enquête soit un peu plus de 20%.

*c. Pratique de prescription et fabrication*

L'IGAS a évalué les pratiques de prescription et fabrication au regard du découpage géographique régional. Les résultats sont présentés au travers des figures I et II.

### Répartition des types de formules par région



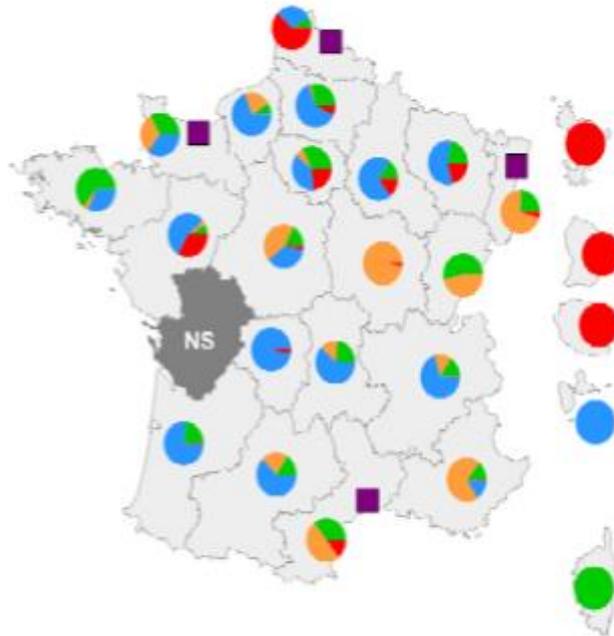
Source : enquête mission IGAS 2014 sur données 2013  
Traitement : octobre 2014

**Figure I.** Répartition de la prescription, par région, des poches de nutrition parentérale pédiatriques selon le type de formule

Les pratiques de prescription sont multiples au regard du découpage géographique régional. Ceci alors que dans chaque territoire régional, toutes les activités de soins en pédiatrie existent, de la réanimation néonatale à la pédiatrie en regard des différents niveaux de maternité.

Les modalités de fabrication par une PUI ou par un façonnier peuvent être une des raisons explicatives. Mais cela ne rend pas compte de l'hétérogénéité de ces prescriptions et plus particulièrement des écarts régionaux entre les prescriptions « à la carte » et les prescriptions standardisées ou de l'utilisation plus ou moins importante des poches sous AMM, à situation clinique comparable (5).

### Répartition des types de fabrication par région



Source : enquête mission IGAS 2014 sur données 2013  
Traitement : octobre 2014

**Figure II.** Répartition de la prescription, par région, des poches de nutrition parentérale pédiatrique, selon le type de fabrication et le statut

Est observée l'influence de la présence de façonniers dans le sud, le nord-est et le nord-ouest de la France sur la part de production de nutrition parentérale attribuée à ce type de sous-traitant.

Cette cartographie met également en évidence la part importante de production des nutriments parentéraux pédiatriques dans les unités de soins dans certaines régions, comme cité précédemment (5).

### **III. Les facteurs d'influence sur la stabilité physico-chimique d'une préparation**

#### **1. Définition de la DLU**

Avant la mise en place et la réalisation de toute préparation pharmaceutique destinée à être administrée à des patients, il est nécessaire d'avoir défini une Durée Limite d'Utilisation (DLU). Le choix de la DLU d'une préparation dépend de nombreux paramètres de stabilité. En effet, la compatibilité d'un mélange de plusieurs composants dépend de plusieurs facteurs.

#### **2. Les principaux facteurs influençant la stabilité**

Les principaux facteurs influençant la stabilité d'une préparation correspondent au pH, à la température, à l'oxygène, à la lumière, et au conditionnement de la préparation.

Le pH a un rôle important dans la solubilisation, et par conséquent la biodisponibilité du principe actif pris par voie orale, mais peut également, à des valeurs extrêmes, être responsable d'une dégradation importante de la préparation (12).

La température est l'un des facteurs les plus importants dans la stabilité des médicaments. Pour certaines molécules, la stabilité physico-chimique n'est optimale que dans une limite étroite de température en dehors de laquelle une augmentation de la dégradation est constatée (12).

La présence d'oxygène au sein d'une préparation peut entraîner l'instabilité de celle-ci par oxydation de l'un de ses composants (12) ; d'où l'importance d'éliminer l'air de la poche de nutrition parentérale à la fin de sa fabrication.

La lumière est un paramètre susceptible de provoquer une instabilité chimique des molécules photosensibles. Si des mesures préventives sont mises en place lors de la préparation, comme la conservation à l'abri de la lumière par exemple, il est essentiel de les maintenir dans le temps (12).

Les emballages primaires et leurs fermetures ont également une influence sur la stabilité de la préparation pharmaceutique. Celle-ci peut être sujette à des

interactions contenant/contenu avec les matériaux constitutifs des articles de conditionnement. Ces interactions sont essentiellement de 2 types : absorption et adsorption (12).

Les interactions possibles entre chaque composant inclus dans la préparation, c'est-à-dire notamment par leur nature, leur concentration, le type de sel utilisé, leur ordre d'introduction dans la poche de nutrition par exemple, sont également à prendre en compte (5).

Par ailleurs, les nutriments parentéraux sont des mélanges complexes classés comme des préparations à risque de contamination microbiologique et doivent être préparées en conditions aseptiques, dans un environnement contrôlé (hotte ou isolateur placé dans un environnement à minima de classe C) (5).

## Troisième partie - L'étude de stabilité

### Objectifs de l'étude

L'objectif de ce travail correspond à une étude préliminaire de stabilité physico-chimique de poches de nutrition parentérale pédiatrique « à la carte » sur une durée de 7 jours. En effet, bien que l'IGAS et la SFN recommandent de privilégier la prescription et l'administration de poches industrielles avec AMM, les poches « à la carte » représentent plus de la moitié des poches de nutrition parentérale pédiatrique.

C'est pourquoi, étudier la stabilité physico-chimique des poches pédiatriques « à la carte », qui sont encore très utilisées, trouve ici tout son sens.

Les BPP et BPF prévoient également le suivi des « éléments et validations ayant conduit à la détermination de la date de péremption et des conditions de conservation » ; critères auxquels l'étude de stabilité répond (1). A cela s'ajoute les investigations de l'IGAS montrant que les DLU fixées sur les préparations ne s'appuient pas toujours sur des études de stabilité physico-chimique et de stérilité (5). D'autant plus que l'IGAS préconise également la sécurisation de l'usage de la nutrition parentérale.

De façon à réaliser cette étude, plusieurs axes ont été définis.

Dans un premier temps, une étude des prescriptions des compositions des poches pédiatriques « à la carte » au CHU de Poitiers a été réalisée. L'objectif était d'identifier les compositions de mélanges les plus fréquemment retrouvées. Ceci afin de définir la composition de poches dont nous souhaitons étudier la stabilité physico-chimique.

Dans un second temps, il a été défini la nature des paramètres à suivre dans le temps, afin de pouvoir juger de la stabilité physique et chimique de ces compositions de poches à tester.

Dans un troisième temps, il a été question de définir les méthodes de dosage à utiliser permettant de suivre l'évolution des paramètres physico-chimiques choisis d'être étudiés. Cette étude préliminaire visait à identifier et à tester des méthodes déjà en pratique au sein de l'établissement, au laboratoire de contrôle et au laboratoire de biochimie. Ceci afin de pouvoir distinguer celles pouvant être

envisagées et celles n'étant pas adaptées. La mise au point d'une nouvelle méthode de dosage n'était envisagée que lorsque l'établissement n'en disposait pas pour le suivi d'un paramètre choisi d'être étudié.

Après avoir défini les cadres de l'étude, les différentes poches ont été fabriquées et l'étude de stabilité en elle-même a été réalisée.

## Matériel et méthode

### I. Les poches de nutrition parentérale de l'étude

#### 1. Composition des poches

##### *a. Etude de prescriptions des poches « à la carte » au CHU de Poitiers*

Dans un premier temps, il a été choisi d'identifier les compositions de mélanges « à la carte » les plus fréquemment retrouvés au CHU de Poitiers. Ceci afin de définir les compositions de poches souhaitées être étudiées.

Pour cela, une étude des prescriptions des poches de nutrition parentérale pédiatrique, au CHU de Poitiers, sur une durée de temps déterminée, a été faite.

Les poches pédiatriques « à la carte », de composition binaire, prescrites entre janvier et juillet 2014, au CHU de Poitiers, pour les enfants d'âge gestationnel inférieur à 32 semaines et de poids inférieur à 1,5 kg ont été recensées. Cela représente un total de 800 poches.

Sur cette première sélection de 800 poches, il a été identifié que la valeur médiane du nombre de jours de prescription était de 13 jours.

Afin de cibler les poches majoritairement représentées, la sélection initiale des poches a été restreinte à celles des 13 premiers jours après naissance. Ce qui correspond à une seconde sélection dont le total s'élève à 335 poches.

A partir de ce pool de 335 poches, il a été déterminé les compositions des poches faisant l'objet de l'étude.

##### *b. Définition de la composition d'une « poche de base » à étudier*

La composition d'une poche de départ, également appelée, « poche de base » ou poche n°1 est à définir.

Pour cela, le pourcentage de présence de chacun des composants retrouvés dans la sélection de 335 poches a été déterminé.

Il a été décidé que cette poche de base contiendrait tous les composants retrouvés dans plus de 90 % des 335 poches étudiées.

Il a été choisi d'apporter ces éléments à une concentration correspondant à la valeur médiane retrouvée pour chacun d'eux parmi les 335 poches.

*c. Définition de la composition des autres poches à étudier*

A partir des 335 prescriptions recensées, des composants qualifiés de « variants » ont été identifiés. Ces composants « variants » sont des composants inclus ou non dans la composition de la poche de base, pour lesquels une forte variation de leur concentration a été observée au travers du pool des 335 poches.

De façon à voir l'impact de la modification de concentration de ces éléments « variants », il a été défini à partir de la poche de base, plusieurs autres compositions de poches à étudier. Et il a été choisi de tester l'impact de ces éléments « variants » en les incluant en proportion maximale retrouvée parmi les 335 poches. C'est-à-dire qu'à chaque déclinaison de la poche de base, un élément « variant » est introduit en proportion maximale, de façon à ce que les poches ne diffèrent que par ce facteur.

## **2. Fabrication des poches**

Chacune des poches a été fabriquée en triplicata (n=3). Les poches ont été fabriquées sur paillasse, à la seringue et à l'aiguille par le même manipulateur.

Les composants utilisés pour la fabrication sont :

- Eau pour préparation injectable (B Braun)
- Cernevit<sup>®</sup> (Baxter) (*solution de vitamines : rétinol ou vitamine A, cholécalciférol ou vitamine D3, alpha-tocophérol ou vitamine E, acide ascorbique ou vitamine C, thiamine ou vitamine B1, riboflavine ou vitamine B2, pyridoxine ou vitamine B6, cyanocobalamine ou vitamine B12, acide folique ou vitamine B9, acide pantothénique ou vitamine B5, biotine ou vitamine B8, nicotinamide ou vitamine PP*) : chaque flacon a été reconstitué extemporanément avec 5 mL d'eau pour préparation injectable
- Phocytan<sup>®</sup> 0,66 mmol/mL (Aguettant) (*glucose-1-phosphate disodique tétrahydraté*)
- NaCl 20 % (B Braun)

- Sulfate de magnésium 10 % (AP-HP)
- Solution injectable d'oligoéléments enfants et nourrissons (Aguettant)
- Gluconate de calcium 10 % (Lavoisier)
- Zinc 1mg/mL (Aguettant)
- Primène<sup>®</sup> 10 % (Baxter) (*solution d'acides aminés : L-isoleucine, L-leucine, L-valine, L-lysine, L-méthionine, L-phénylalanine, L-thréonine, L-tryptophane, L-arginine, L-histidine, L-alanine, L-acide aspartique, L-cystéine, L-acide glutamique, Glycine, L-proline, L-sérine, L-tyrosine, chlorhydrate de L-ornithine, L-aurine*)
- Chlorure de potassium 10 % (AP-HP)
- Laroscorbine<sup>®</sup> 1g/5mL (Bayer) (*acide ascorbique ou vitamine C*) : chaque ampoule a été diluée au demi extemporanément avec 5 mL d'eau pour préparation injectable
- Glucose 50 % (Macopharma)

Les poches utilisées pour cette étude de stabilité sont les poches monocompartimentales sans DiEthylHexyl Phtalate (DEHP) ExactaMix™ EVA bag de Baxa de 125 mL. Les poches ont été conservées à température réfrigérée et à l'abri de la lumière pendant toute la durée de l'étude.

### **3. Etude de dégradation forcée sur la poche de base**

Plusieurs essais de dégradation forcée ont été menés sur une poche de base (poche n°1.1), qui a été divisée en autant de poches que d'essais réalisés.

Essai n° 1 : la poche a été exposée 24h à température ambiante à l'abri de la lumière

Essai n° 2 : la poche a été exposée 24h à température ambiante à la lumière du jour

Essai n° 3 : la poche a été exposée 6h à 80°C

Essai n° 4 : la poche a été exposée 6h à 80°C puis 12h à 60°C

Le but de ces essais est de vérifier leur capacité à provoquer une dégradation.

## II. Les analyses effectuées

Différents dosages et contrôles ont été réalisés sur chacune des poches.

La stabilité physique a été évaluée par réalisation du test d'inspection visuelle, suivi de l'osmolalité, réalisation du test de limpidité et suivi du pH.

Concernant l'étude de la stabilité chimique, il a été choisi de réaliser au moins un dosage pour chaque catégorie de composant introduit dans les poches : glucides, électrolytes, oligoéléments, vitamines hydrosolubles, vitamines liposolubles et protéines.

Une méthode de dosage permettant le suivi de la concentration dans le temps d'un élément de chaque catégorie a été définie. Pour ce faire, il a été évalué et privilégié les méthodes disponibles au laboratoire de biologie et laboratoire de contrôle du CHU de Poitiers. Lorsqu'aucune méthode n'était disponible pour le suivi d'un composant d'une catégorie, une méthode de dosage était mise en place.

Plusieurs méthodes de dosage disponibles au CHU de Poitiers ont été testées : le dosage du glucose représentant les glucides ; le dosage du sodium, potassium, calcium ionisé, phosphates par le biais du Glucose-1-Phosphate pour les électrolytes ; le dosage du fer total pour les oligoéléments ; le dosage de la vitamine B1 pour les vitamines hydrosolubles et vitamine E pour les vitamines liposolubles. Le suivi du calcium ionisé et des phosphates a été réalisé afin d'étudier une éventuelle réaction de précipitation phosphocalcique.

Aucune méthode n'étant disponible pour le suivi de la concentration dans le temps des protéines, une méthode indicatrice de stabilité a été développée pour le dosage de la méthionine, acide aminé rentrant dans la composition des protéines utilisées.

La stabilité chimique se définit comme la période pendant laquelle la concentration en médicament se maintient à plus de 90% par rapport à sa concentration initiale (13).

## **A. Stabilité physique**

### **1. Inspection visuelle**

#### Définition et objectif

La contamination particulaire des préparations injectables et des préparations pour perfusion est caractérisée par des particules non dissoutes et mobiles autres que des bulles de gaz.

L'objectif de l'essai est de détecter ces particules visibles non dissoutes.

#### Principe de la méthode

L'essai est adapté de la pharmacopée européenne 5.0.

L'essai a été conduit en utilisant une mireuse comprenant un panneau noir mat placé en position verticale, un panneau blanc placé en position verticale à côté du panneau noir, ceci sous éclairage. Chaque poche a été agitée doucement en veillant à éviter la formation de bulles d'air, puis observée contre le panneau blanc, puis contre le panneau noir (14,15). L'absence ou la présence de particules visibles a été notée.

La conformité de l'essai est atteinte lorsqu'aucune particule en suspension n'est visible.

#### Application

Ce test a été effectué sur chacune des poches à J0, J3, J7 au laboratoire de contrôle du CHU de Poitiers.

A chaque jour d'analyse, une vérification macroscopique de la coloration de chaque poche a également été faite.

### **2. Mesure de l'osmolalité**

#### Définition et objectif

L'osmolalité est définie par la quantité de particules osmotiquement actives contenues dans 1 kg de solution et s'exprime en mOsm/kg.

L'osmolarité est définie par la quantité de particules osmotiquement actives contenues dans 1 L de solution et s'exprime en mOsm/L (16).

Dans le cadre de préparations injectables, si le solvant est l'eau, l'osmolalité et l'osmolarité sont approximées l'une par l'autre pour des solutions diluées, car la masse volumique de l'eau est de 1,00 kg/L.

L'objectif étant la mesure de l'osmolarité, on approxime la valeur de l'osmolarité par la mesure de l'osmolalité (16).

#### Principe de la méthode

L'appareil utilisé pour la mesure de l'osmolalité est l'osmomètre Wescor Vapro® Model 5600. Celui-ci détermine l'osmolalité par le principe de l'abaissement de la tension de vapeur. La méthode par tension de vapeur détermine l'osmolalité à température ambiante d'un échantillon à l'état d'équilibre naturel.

La calibration de l'appareil est réalisée à chaque jour d'analyse à l'aide de trois standards : 100 ; 290 et 1000 mOsm/Kg. Le volume d'injection est de 10 µL, la résolution est de 1 mOsm/Kg et le domaine de mesure est compris entre 20 et 3200 mOsm/Kg.

La validation de la méthode de mesure est présentée en l'Annexe I.

#### Application

L'osmolalité a été déterminée pour chacune des poches, sans dilution des échantillons, à J0, J3 et J7 au laboratoire de contrôle du CHU de Poitiers.

### **3. Test de limpidité**

#### Définition et objectif

Le test de limpidité a été réalisé par mesure de l'absorbance des poches à 350 et 550 nm (17,18).

Ce test permet de suivre l'évolution de l'absorbance et de mettre en évidence une éventuelle apparition de précipités.

Une mesure de l'absorbance du Cernevit® dilué dans de l'eau distillée à la même concentration que celle de la poche de base a été réalisée également à ces 2 longueurs d'onde.

### Principe de la méthode

Le spectrophotomètre utilisé est le spectrophotomètre Thermo Scientific Genesys 10S UV-VIS qui utilise une lampe au xénon à forte intensité lumineuse et un système optique de type double faisceau.

La plage de longueurs d'ondes étudiées s'étend de 190 à 1100 nm ; la vitesse de balayage est de 3600 nm/min et la largeur de bande spectrale est de 1,8 nm.

### Application

La mesure d'absorbance a été réalisée sur chacune des poches, aux différents jours d'analyse J0, J3 et J7 au laboratoire de contrôle du CHU de Poitiers.

## **4. Mesure du pH**

### Définition et objectif

Le pH ou Potentiel d'Hydrogène est une grandeur chimique mesurant le caractère acide ou basique d'une solution aqueuse en évaluant la concentration en ion hydrogène.

L'objectif de ce test est de suivre l'évolution du pH des poches.

### Principe de la méthode

Les mesures ont été réalisées avec le pH-mètre de paillasse Ecoscan<sup>®</sup> (Eutech Instruments), muni d'une sonde de température et d'une électrode de pH.

Le domaine de mesure du pH s'étend de 0 à 14.

Le pH-mètre est étalonné avec des solutions tampons : pH 4 et pH 7, à chaque jour d'analyse.

### Application

Les mesures ont été réalisées sur chacune des poches à chaque jour d'analyse de l'étude J0, J3 et J7 au laboratoire de contrôle du CHU de Poitiers.

## ***B. Stabilité chimique***

- Stabilité des glucides

### **1. Dosage du glucose**

#### Principe de la méthode

Le glucose a été dosé par méthode photométrique, sur l'automate Roche Cobas<sup>®</sup> 8000.

Le principe consiste à phosphoryler le glucose en glucose-6-phosphate (G6P) par l'action de l'hexokinase en présence d'Adénosine TriPhosphate (ATP). Le G6P est ensuite oxydé en gluconate-6-phosphate par la glucose-6-phosphate déshydrogénase en présence de Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate (NADP), formant du NADPH, qui correspond à la forme réduite du NADP.

Les autres hydrates de carbone ne sont pas oxydés. La vitesse de l'augmentation du NADPH est directement proportionnelle à la concentration en glucose et est mesurée par photométrie. Le système Cobas<sup>®</sup> 8000 Roche calcule automatiquement la concentration en analyte de chaque échantillon.

Cette méthode est validée pour les échantillons de sérum, plasma, urine et liquide céphalo-rachidien.

La validation de la méthode de dosage est présentée en Annexe I.

Le domaine de mesure est compris entre 0,11 et 41,60 mmol/L, soit de 0,02 à 7,50 g/L.

#### Application

Les échantillons des poches pour lesquelles la concentration théorique en glucose est de 689,31 mmol/L ont été dilués, extemporanément au 1/20<sup>ème</sup> avec du chlorure de sodium 0,9 % et les échantillons des poches n°11 de concentration théorique 1261,24 mmol/L ont été dilués extemporanément au 1/40<sup>ème</sup> avec du chlorure de sodium 0,9 %.

Le dosage du glucose a été réalisé sur chacune des poches à J0 et J7 au laboratoire de biochimie du CHU de Poitiers.

- Stabilité des électrolytes

## **2. Dosage du sodium et du potassium**

### Principe de la méthode

Les mesures ont été réalisées avec un photomètre de flamme Sherwood model 420 et un diluteur Sherwood 805.

L'appareil procède à la mesure de l'échantillon par dilution dans un diluant, avec utilisation d'un étalon interne, ici une solution de lithium à 3 M.

L'étalonnage est réalisé avant tout dosage à l'aide d'une solution étalon contenant 100 mmol/L de sodium et 100 mmol/L de potassium, diluée aux concentrations 5, 10, 25, 50 et 100 mmol/L. L'étalonnage est validé si le coefficient de corrélation obtenu est supérieur à 0,999 et si le contrôle à 50 mmol/L est conforme, avec une acceptation jusqu'à 5% d'écart.

Avant et après le dosage des poches de nutrition, un contrôle à 50 mmol/L en sodium et potassium est testé.

La validation de la méthode de dosage est présentée en Annexe I.

### Application

Les dosages en sodium et potassium ont été réalisés sur chacune des poches à J0, J3 et J7 sans dilution des échantillons, au laboratoire de contrôle du CHU de Poitiers.

## **3. Dosage du calcium ionisé**

### Principe de la méthode

Le calcium ionisé a été dosé sur un appareil à gaz du sang Rapidlab® 1265 de Siemens.

La technique de mesure est la potentiométrie faisant appel à des électrodes sélectives. L'électrode de calcium s'associe à une électrode de référence externe ce qui permet de mesurer la concentration en calcium dans un échantillon sanguin. L'électrode contient un fil argent/chlorure d'argent entouré d'une solution d'électrolyte dont la concentration en ions calcium est fixe. Une membrane, composée d'un

ionophore intégré dans une membrane en PVC, sépare la solution d'électrolyte de l'échantillon. L'ionophore est un composé très sélectif vis-à-vis des ions calcium. Lorsque l'échantillon entre en contact avec la membrane de l'électrode de mesure, un potentiel de membrane se développe du fait de l'échange d'ions potassium dans la membrane. Ce potentiel de membrane est comparé au potentiel constant de l'électrode de référence externe. Le potentiel final mesuré est proportionnel à la concentration en ions calcium dans l'échantillon.

La validation de la méthode pour les gaz du sang est présentée en Annexe I. La limite de quantification est de 0,25 mmol/L et la limite supérieure de linéarité, de 5,00 mmol/L.

### Application

Les échantillons des poches pour lesquelles la concentration théorique en calcium ionisé est de 14,16 mmol/L ont été extemporanément dilués au 1/10<sup>ème</sup> avant dosage, avec du chlorure de sodium 0,9%. Par contre, les échantillons des poches n°7 de concentration théorique 25,96 mmol/L ont été dilués extemporanément au 1/20<sup>ème</sup> avec du chlorure de sodium 0,9%.

Le dosage du calcium ionisé a été réalisé sur chacune des poches à J0 et J7 au laboratoire de biochimie du CHU de Poitiers.

## **4. Dosage des phosphates par dosage du Glucose-1-Phosphate (G1P)**

### Principe de la méthode

Le dosage du G1P a été réalisé à l'aide d'un kit de dosage : « glucose-1-phosphate colorimetric assay kit », commercialisé par Sigma-Aldrich référence MAK 098.

La technique consiste à convertir le G1P en G6P par la phosphoglucomutase en présence de glucose-1,6-biphosphate (les enzymes sont fournies dans le kit). Le G6P est ensuite oxydé par la glucose-6-phosphate deshydrogenase pour former du Nicotinamide Adénine Dinucléotide (NADH). Le NADH produit réduit un réactif en un produit coloré, absorbant à 450 nm ; et ceci proportionnellement à la concentration en G1P.

A chaque jour d'analyse, une gamme de concentration de G1P standard est réalisée (19). Cinq points de gamme, de volume 50 µL, sont obtenus à une concentration de

0 ; 2 ; 6 ; 8 et 10 nmol/ $\mu$ L. La dilution des échantillons est prévue de façon à ce que leur concentration théorique en G1P soit incluse dans cette gamme. Chaque échantillon présente un volume de 50  $\mu$ L.

Par la suite, chaque point de gamme et chaque échantillon est mis en contact pendant 30 minutes, à l'abri de la lumière, avec 50  $\mu$ L d'un mélange réactionnel dont les composants sont fournis dans le kit (44  $\mu$ L de tampon G1P Assay Buffer, 2  $\mu$ L de G1P Enzyme Mix, 2  $\mu$ L de G1P Developer, 2  $\mu$ L de G1P Substrate Mix) (19). Un blanc, de volume final de 50  $\mu$ L, dont le solvant de dilution est le tampon du kit, est réalisé et est mis en contact dans les mêmes conditions avec 50  $\mu$ L d'un second mélange réactionnel (46  $\mu$ L de tampon G1P Assay Buffer, 2  $\mu$ L de G1P Developer, 2  $\mu$ L de G1P Substrate Mix)(19).

L'absorbance des différents échantillons des poches, des blancs, ainsi que celle des points de gamme sont mesurées au spectrophotomètre UV à 450 nm. L'absorbance étant proportionnelle à la concentration en G1P, la droite d'étalonnage obtenue par les différents points de la gamme de calibration permet de déterminer la concentration en G1P des échantillons des poches analysées.

### Application

Les concentrations théoriques des échantillons des poches étant de 15,64 mmol/L ou 37,22 mmol/L, une dilution au  $\frac{1}{2}$  avec la solution tampon a été réalisée pour les poches de concentration théorique 15,64 mmol/L (donnant une concentration théorique de 7,82 nmol/ $\mu$ L) et une dilution au  $\frac{1}{5^{\text{ème}}}$  a été réalisée pour les poches de concentration théorique 37,22 mmol/L (donnant une concentration théorique de 7,44 nmol/ $\mu$ L).

Les mesures ont été réalisées sur chacune des poches à chaque jour d'analyse de l'étude J0, J3 et J7 au laboratoire de contrôle du CHU de Poitiers.

- Stabilité des oligoéléments

## **5. Dosage du fer total**

### Principe de la méthode

Le dosage du fer total a été réalisé par méthode photométrique sur l'automate Roche Cobas® 8000.

A pH acide, le fer se détache de la transferrine, puis l'addition d'ascorbate permet de réduire les ions  $Fe^{3+}$  en ions  $Fe^{2+}$  qui forment ensuite un complexe coloré avec la Ferrozine. L'intensité de la coloration développée est directement proportionnelle à la concentration en fer.

Cette méthode est validée pour le sérum et le plasma humain.

La validation de la méthode de dosage est présentée en Annexe I.

Le domaine de mesure est compris entre 0,90 et 179,00  $\mu\text{mol/L}$ .

### Application

Le dosage du fer total a été réalisé sur chacune des poches, sans dilution, à J0 et à J7 au laboratoire de biochimie du CHU de Poitiers.

- Stabilité des vitamines

## **6. Dosage de la vitamine E**

### Principe de la méthode

La technique est utilisée en routine pour la détermination quantitative de la vitamine E contenue dans des échantillons de plasma.

Pour extraire la vitamine E, l'échantillon est mélangé à un agent précipitant.

Après centrifugation, trois phases se forment. La phase supérieure est récupérée puis mélangée avec un agent stabilisant. Après centrifugation, 50 $\mu\text{L}$  de ce surnageant sont injectés dans le système de Chromatographie Liquide Haute Performance couplé à une détection Ultra-Violet (HPLC-UV).

Le système HPLC-UV comprend une colonne en phase inverse Recipe<sup>®</sup>, une phase mobile Recipe<sup>®</sup> (composition non communiquée, référence 2210), un injecteur Waters, une pompe Merck et un détecteur UV Waters.

La longueur d'onde de détection est de 295 nm.

Le temps de rétention de la vitamine E est d'environ 7,1 minutes.

La validation de la méthode de dosage est présentée en Annexe I.

Le domaine de mesure est compris entre 0,40 et 50,00 mg/L.

### Application

Les échantillons des poches pour lesquelles la concentration théorique en vitamine E est de 23,87 mg/L ont été dosés sans dilution préalable. Par contre, l'échantillon des poches n°2 de concentration théorique 67,52 mg/L a été dilué au 1/3 avec du chlorure de sodium 0,9 %, avant dosage.

Le dosage de la vitamine E a été réalisé à J0 et J7 sur la 1ère poche de chaque triplicata de poches, au laboratoire de biochimie du CHU de Poitiers.

## **7. Dosage de la vitamine B1**

### Principe de la méthode

La technique utilisée permet la détermination quantitative de la vitamine B1, sous forme de thiamine et Thiamine PyroPhosphate (TPP), contenue dans des échantillons de sang total.

L'échantillon est mélangé avec un réactif précipitant. Ce mélange est agité puis centrifugé. Le surnageant est ensuite mélangé avec un agent stabilisant.

En milieu alcalin, la thiamine et la TPP sont oxydées en thiochrome, composant présentant une fluorescence bleu-violette quand il est exposé à la lumière UV.

L'échantillon est stabilisé en milieu acide, puis injecté dans le système HPLC.

Ce système HPLC-fluorescence comprend une colonne en phase inverse Recipe<sup>®</sup>, une phase mobile Recipe<sup>®</sup> (composition non communiquée), un injecteur Waters, une pompe Merck et un détecteur à fluorescence Waters.

Le volume d'injection est de 50 µL.

La longueur d'onde d'excitation est de 376 nm, et celle d'émission est de 435 nm.

Le temps de rétention de la vitamine B1 est d'environ 4,9 minutes.

La validation de la méthode de dosage est présentée en Annexe I.

Le domaine de mesure est compris entre 1 et 200 µg/L (soit entre 3,77 et 753,71 nmol/L).

### Application

Les échantillons des poches pour lesquelles la concentration théorique en vitamine B1 est de 30952,50 nmol/L ont été dilués au 1/100<sup>ème</sup> avec du chlorure de sodium 0,9 % avant dosage. Par contre, l'échantillon des poches n°2 de concentration théorique 87566,47 nmol/L a été dilué au 1/300<sup>ème</sup> avec du chlorure de sodium 0,9 %, avant dosage.

Le dosage de la vitamine B1 a été réalisé à J0 et J7 sur la 1ère poche de chaque triplicata de poches, au laboratoire de biochimie du CHU de Poitiers.

- Stabilité des protéines

## **8. Dosage de la méthionine**

### *a. Méthode de dosage de la méthionine*

Le dosage a été mis au point selon une méthode par HPLC-UV au laboratoire de contrôle du CHU de Poitiers.

L'analyse est réalisée à l'aide du système HPLC Elite LaChrom<sup>®</sup> de VWR constitué d'un injecteur L-2200 et d'une pompe L-2130. Le détecteur utilisé est un détecteur UV Hitachi UV detector L-2400 Elite Lachrom<sup>®</sup>. La séparation est réalisée à l'aide d'une colonne phase inverse C18 Purospher<sup>®</sup> STAR (4,6 X 150 mm, 5 µm) (Merck Millipore). Le logiciel d'intégration des données est EZ Chrom Elite.

La composition de la phase mobile a été déterminée à partir de celle utilisée pour doser le ziconotide<sup>®</sup> (20), qui lors d'une étude parallèle s'est révélée être adéquate pour la détection de la méthionine. Après de multiples essais, les conditions permettant la meilleure résolution sont : une phase mobile composée d'un mélange eau/acétonitrile (90 : 10, v/v) acidifiée par 0,1 % d'acide trifluoroacétique ; un débit de 1mL/min et un volume d'injection de 10 µL. La longueur d'onde de détection a été fixée à 205 nm. Le temps de rétention de la méthionine est de 2,9-3,0 minutes.

La matière première utilisée pour mettre au point cette technique est la L-méthionine de la Cooper, diluée dans de l'eau distillée du laboratoire Aguetant. L'acétonitrile, de qualité HPLC, a été acheté au laboratoire VWR Chemicals et l'acide trifluoroacétique chromasolv<sup>®</sup> a été acheté à Sigma Aldrich.

*b. Validation de la méthode de dosage de la méthionine par HPLC-UV*

- **Linéarité, spécificité, fidélité et justesse**

La validation de la méthode de dosage est réalisée selon la Conférence Internationale d'Harmonisation (ICH) et le « Guide méthodologique des études de stabilité des préparations », 1<sup>ère</sup> Edition, publiée sous l'égide de la Société Française de Pharmacie Clinique et du Groupe d'Evaluation et de Recherche sur la Protection en Atmosphère Contrôlée (GERPAC), en avril 2013 (12,21).

- Linéarité

La fonction de calibration, ici, linéarité, est déterminée par le passage de cinq gammes indépendantes sur cinq jours différents, composées chacune de six points : 0, 25, 50, 100, 150 et 200 µg/mL. Chaque point de gamme est obtenu par dilution de la L-méthionine sous forme de poudre (Cooper) dans de l'eau distillée. Un biais inférieur à 5% et un coefficient de détermination  $r^2$  supérieur à 0,997 pour chaque gamme permet de valider la linéarité.

- Spécificité

La spécificité d'une méthode analytique est sa capacité à mesurer seulement ce qu'elle est destinée à mesurer. Une méthode est spécifique lorsqu'elle permet de mesurer l'analyte avec la garantie que le signal instrumental ne provient que de l'analyte. Une méthode spécifique permet de séparer les produits de dégradation et les excipients. Elle a été testée par comparaison du chromatogramme d'une solution de méthionine diluée dans de l'eau distillée, avec celui du Primène<sup>®</sup> utilisé pour l'étude, et avec celui de la poche de nutrition de composition 1. Elle a aussi été testée par réalisation de tests de dégradation forcés présentés par la suite.

- **Fidélité**

La fidélité, également appelée précision exprime l'étroitesse de l'accord entre une série de mesures provenant d'un même échantillon homogène dans des conditions fixées. Elle renseigne uniquement sur la distribution des erreurs aléatoires.

La fidélité est évaluée à deux niveaux : la répétabilité et la fidélité intermédiaire ou reproductibilité intra-laboratoire.

La répétabilité consiste à doser 6 exemplaires de 3 niveaux de contrôle différents : 25, 100 et 200 µg/mL, par le même opérateur avec une même gamme d'étalonnage au cours d'une même journée.

La fidélité intermédiaire consiste à doser 6 exemplaires de 3 niveaux de contrôle différents : 25, 100 et 200 µg/mL lors de 6 journées différentes, avec des gammes d'étalonnage différentes réalisées chaque jour et avec deux opérateurs différents. Pour chaque niveau de concentration, la moyenne, l'écart-type et le coefficient de variation ont été calculés. Une admissibilité de 5 % a été appliquée.

- **Justesse**

La justesse, également appelée exactitude, exprime l'étroitesse de l'accord entre la valeur moyenne obtenue à partir d'une série de résultats d'essais et une valeur théorique. Elle traduit l'erreur systématique d'une méthode de dosage.

La justesse a été validée à partir des résultats obtenus lors des essais de répétabilité et de reproductibilité intra-laboratoire.

Pour chaque niveau de concentration, la moyenne et le biais de la moyenne par rapport à la valeur théorique ont été calculés.

Une admissibilité de 5 % a été appliquée.

- **Evaluation de l'effet matrice**

La validation de la méthode de dosage de la méthionine a été réalisée sur la L-méthionine sous forme de poudre (Cooper), introduite dans de l'eau distillée.

Cependant, l'étude de stabilité porte sur des poches de nutrition parentérale, pour lesquelles la méthionine a été apportée par l'intermédiaire du Primène®.

La matrice étant donc différente entre les essais de validation de la méthode de dosage de la méthionine (matrice eau) et l'étude de stabilité de la méthionine dans

les poches de nutrition parentérale (matrice nutrition parentérale), l'évaluation de l'effet matrice a été réalisé (12).

Celui-ci permet de mettre en évidence d'éventuelles interférences dues aux composants des poches de nutrition parentérale (autres que la méthionine), qui pourraient impacter sur le dosage de la méthionine.

Pour cela, deux gammes de linéarité ont été faites sur une même journée :

- Une première gamme composée de cinq points pour laquelle la L-méthionine sous forme de poudre (Cooper) a été introduite dans de l'eau distillée aux mêmes concentrations que celles testées pour l'évaluation de la linéarité : 0 ; 25 ; 50 ; 100 ; 150 et 200 µg/mL.
- Une seconde gamme composée de cinq points pour laquelle la L-méthionine sous forme de poudre (Cooper) a été introduite dans un volume représentatif de la poche de nutrition parentérale de base, dénué de Primène<sup>®</sup>, aux concentrations également de 0 ; 25 ; 50 ; 100 ; 150 et 200 µg/mL. Dans ce mélange, le Primène<sup>®</sup> a été remplacé respectivement en terme de volume par de l'eau pour préparation injectable.

Les dosages ont été réalisés selon la méthode HPLC-UV développée pour le dosage de la méthionine.

Pour chacune des gammes, chaque point a été dosé en triplicata (n=3) et les résultats obtenus pour ces deux gammes ont fait l'objet de tests statistiques.

De façon à déterminer la dépendance ou corrélation entre les deux variables, c'est-à-dire entre les deux matrices : matrice eau et matrice nutrition parentérale, un test de corrélation a été mené : le test de Pearson.

Le coefficient de corrélation de Pearson permet de mesurer une corrélation linéaire. Elle est testée ici entre les valeurs d'AUC (Area Under the Curve ou aire sous la courbe) obtenues respectivement aux cinq points des trois gammes pour les deux matrices (22).

Un second test statistique porte sur la comparaison entre les équations (aire sous la courbe en fonction de la concentration en méthionine) obtenues pour les gammes réalisées dans l'eau et celles réalisées sur la matrice de nutrition parentérale.

- **Etude de dégradation forcée de la méthionine**

L'étude a été réalisée selon le « Guide méthodologique des études de stabilité des préparations » incluant trois parties : une dégradation hydrolytique, une dégradation oxydative et une photodégradation (12).

- **Dégradation hydrolytique**

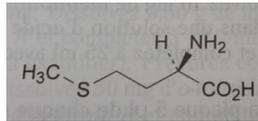
Les manipulations de dégradation hydrolytique sont présentées dans le tableau II. Un témoin de la solution mère de méthionine diluée à 100 µg/mL dans de l'eau distillée a été également analysé.

**Tableau II.** Manipulations de la dégradation hydrolytique d'une solution mère de méthionine.

| Solution mère de méthionine (SM) à 400 µg/mL            |     |     |     |     |     |                 |     |     |     |
|---|-----|-----|-----|-----|-----|-----------------|-----|-----|-----|
| Solution n°   | 1   | 2   | 3   | 4   | 5   |                 | 6   | 7   | 8   |
| SM (µL)   | 200 | 200 | 200 | 0   | 200 |                 | 200 | 200 | 200 |
| HCl 0.1 N (µL)  | 200 |     |     |     |     | NaOH 0.1 N (µL) | 200 |     |     |
| HCl 0.5 N (µL)  |     | 200 |     |     |     | NaOH 0.5 N (µL) |     | 200 |     |
| HCl 1 N (µL)  |     |     | 200 | 200 |     | NaOH 1 N (µL)   |     |     | 200 |
| HCl 5 N (µL)  |     |     |     |     | 200 | NaOH 5 N (µL)   |     |     |     |
| Chauffer à 80°C pendant 1 heure puis neutraliser avec : |     |     |     |     |     |                 |     |     |     |
| NaOH 0.1 N (µL)   | 200 |     |     |     |     | HCl 0.1 N (µL)  | 200 |     |     |
| NaOH 0.5 N (µL)   |     | 200 |     |     |     | HCl 0.5 N (µL)  |     | 200 |     |
| NaOH 1 N (µL)   |     |     | 200 | 200 |     | HCl 1 N (µL)    |     |     | 200 |
| NaOH 5 N (µL)   |     |     |     |     | 200 | HCl 5 N (µL)    |     |     |     |
| Phase mobile (µL)                                       | 200 | 200 | 200 | 400 | 200 |                 | 200 | 200 | 200 |

- **Dégradation oxydative**

Certains oxydants, dont le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), attaquent les acides aminés et provoquent une désamination associée à une décarboxylation(23). Le soufre de la méthionine est sensible à l'oxydation qui donne lieu à deux dérivés : la méthionine sulfone et la méthionine sulfoxyde. La structure moléculaire de la méthionine est présentée dans la figure III.



**Figure III.** Structure moléculaire de la méthionine [15].

Une solution mère de méthionine à 1 mg/mL a été réalisée. Un volume de 100  $\mu$ L de cette solution a été mis en contact avec 900  $\mu$ L de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%, soit une concentration en méthionine de 100  $\mu$ g/mL. Un second volume de 100  $\mu$ L de cette solution mère a été mis en contact avec 450  $\mu$ L de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3% et 450  $\mu$ L d'eau distillée, soit une concentration en méthionine de 100  $\mu$ g/mL. Les 2 mélanges ont été dosés immédiatement en HPLC-UV ainsi qu'un témoin à 100  $\mu$ g/ mL.

- Photodégradation

Une solution de méthionine à 1 mg/mL a été exposée 2h sous lampe UV ; une seconde solution pendant 3h30 et une troisième pendant 6h. Chaque solution a ensuite été diluée au 1/10<sup>ème</sup> dans de l'eau distillée puis analysée en HPLC-UV. Un témoin à 100  $\mu$ g/ mL a également été analysé.

## Résultats

### I. Les poches de nutrition parentérale de l'étude

#### 1. Composition des poches

##### Eléments de théorie

Au cours de cette étude, il a été choisi d'identifier la composition d'une poche de base et d'identifier parmi notre sélection de prescriptions, les paramètres « variants » en termes de quantité. Il a été choisi de tester l'impact de ces paramètres « variants » en les apportant en proportion maximale retrouvée parmi la sélection de 335 poches. Pour pouvoir les tester, plusieurs autres compositions de poches ont été définies à partir de celle de la poche de base.

La différence de composition entre la poche de base et les autres poches correspond à l'ajout d'un élément « variant » apporté à sa proportion maximale.

Il a été identifié 10 éléments « variants », donc 10 déclinaisons de la poche de base ont été faites. La poche de base et sa déclinaison en 10 autres compositions de poches font qu'au total 11 compositions de poches ont ainsi été testées. Chacune étant réalisée en triplicata, 33 poches ont été fabriquées et étudiées.

##### Eléments de pratique

Concernant les 335 poches sélectionnées, le pourcentage de présence de chacun des composants a été déterminé et est présenté dans le tableau III. Par exemple, pour le Primène<sup>®</sup>, le pourcentage de présence est de 100 %. Il présente une médiane en volume de 40,53 mL. Etant retrouvé dans plus de 90 % des 335 poches, il a été introduit dans la composition de la poche de base à hauteur de 40,53 mL. Pour illustrer les différences de composition, la différence entre la poche de base et la poche n°8 est que le Primène<sup>®</sup> a été introduit dans la poche 8 à sa valeur de volume maximale retrouvée parmi les 335 poches étudiées, soit 59,52 mL.

La médiane en termes de volume total des 335 poches sélectionnées, présentée dans le tableau IV, est de 103,01 mL, il a ainsi été décidé de fabriquer l'ensemble des poches à un volume total de 100 mL. Toutes les poches présentent donc un volume final de 100 mL, volume qui a été obtenu par l'ajout éventuel d'Eau Pour

Préparation Injectable. La composition des 11 poches est présentée dans le tableau V.

**Tableau III.** Valeurs de la moyenne, de l'écart-type, du coefficient de variation (CV), de la médiane, du pourcentage de présence, des valeurs maximales et minimales en volume des différents composants des 335 poches étudiées.

|                    | Eau   | Cernevit <sup>®</sup> | Phocytan <sup>®</sup><br>0,66<br>mmol/mL | NaCl<br>20 % | SO4Mg<br>10 % | Oligo-<br>Éléments | Gluconate<br>de calcium<br>10 % | Zinc<br>1mg/mL | Primène <sup>®</sup><br>10 % | KCl<br>10 % | Vit C<br>1g/5mL | Glucose<br>50 % |
|--------------------|-------|-----------------------|--|--------------|---------------|--------------------|---------------------------------|----------------|------------------------------|-------------|-----------------|-----------------|
| Moyenne<br>(mL)    | 25,19 | 1,18                  | 2,55                                     | 0,38         | 1,03          | 1,02               | 6,49                            | 0,29           | 40,57                        | 1,94        | 0,19            | 25,05           |
| Ecart-type<br>(mL) | 11,93 | 0,35                  | 0,93                                     | 0,20         | 0,25          | 0,39               | 1,73                            | 0,12           | 9,69                         | 0,58        | 0,06            | 5,10            |
| CV (%)             | 47,37 | 29,40                 | 36,41                                    | 51,62        | 24,04         | 38,48              | 26,59                           | 41,98          | 23,88                        | 29,69       | 31,57           | 20,34           |
| Médiane<br>(mL)    | 24,55 | 1,17                  | 2,37                                     | 0,38         | 0,99          | 0,92               | 6,35                            | 0,27           | 40,53                        | 1,95        | 0,17            | 24,84           |
| % de<br>présence   | 76,12 | 90,45                 | 98,81                                    | 20,90        | 95,52         | 93,43              | 100,00                          | 93,13          | 100,00                       | 92,84       | 46,27           | 100,00          |
| Maximum<br>(mL)    | 54,43 | 3,31                  | 5,64                                     | 0,98         | 1,91          | 2,61               | 11,64                           | 0,82           | 59,52                        | 4,28        | 0,33            | 49,95           |
| Minimum<br>(mL)    | 1,68  | 0,59                  | 0,45                                     | 0,11         | 0,36          | 0,50               | 1,57                            | 0,14           | 10,42                        | 0,39        | 0,10            | 12,92           |

**Tableau IV.** Descriptif du volume des 335 poches sélectionnées : volume moyen, médiane, écart-type, CV.

| Volume des 335 poches sélectionnées |        |
|-------------------------------------|--------|
| Médiane (mL)                        | 103,01 |
| Volume moyen (mL)                   | 111,82 |
| Ecart-type (mL)                     | 33,46  |
| CV (%)                              | 29,92  |

**Tableau V.** Composition des 11 poches de l'étude.

| poche | Eau<br>(mL) | Cernevit <sup>®</sup><br>(mL) | Phocytan <sup>®</sup><br>0,66<br>mmol/mL<br>(mL) | NaCl<br>20 %<br>(mL) | SO4Mg<br>10 %<br>(mL) | Oligo-<br>éléments<br>(mL) | Gluconate<br>de calcium<br>10 %<br>(mL) | Zinc<br>1mg/mL<br>(mL) | Primène <sup>®</sup><br>10 %<br>(mL) | KCl<br>10 %<br>(mL) | Vit C<br>1g/5mL<br>(mL) | Glucose<br>50 %<br>(mL) |
|-------|-------------|-------------------------------|--|----------------------|-----------------------|----------------------------|---|------------------------|--------------------------------------|---------------------|-------------------------|-------------------------|
| 1     | 20,61       | 1,17                          | 2,37   | -                    | 0,99                  | 0,92                       | 6,35                                    | 0,27                   | 40,53                                | 1,95                | -                       | 24,84                   |
| 2     | 18,47       | <b>3,31</b>                   | 2,37   | -                    | 0,99                  | 0,92                       | 6,35                                    | 0,27                   | 40,53                                | 1,95                | -                       | 24,84                   |
| 3     | 17,34       | 1,17                          | <b>5,64</b>                                      | -                    | 0,99                  | 0,92                       | 6,35                                    | 0,27                   | 40,53                                | 1,95                | -                       | 24,84                   |
| 4     | 19,63       | 1,17                          | 2,37   | <b>0,98</b>          | 0,99                  | 0,92                       | 6,35                                    | 0,27                   | 40,53                                | 1,95                | -                       | 24,84                   |
| 5     | 19,69       | 1,17                          | 2,37   | -                    | <b>1,91</b>           | 0,92                       | 6,35                                    | 0,27                   | 40,53                                | 1,95                | -                       | 24,84                   |
| 6     | 18,92       | 1,17                          | 2,37   | -                    | 0,99                  | <b>2,61</b>                | 6,35                                    | 0,27                   | 40,53                                | 1,95                | -                       | 24,84                   |
| 7     | 15,32       | 1,17                          | 2,37   | -                    | 0,99                  | 0,92                       | <b>11,64</b>                            | 0,27                   | 40,53                                | 1,95                | -                       | 24,84                   |
| 8     | 1,62        | 1,17                          | 2,37   | -                    | 0,99                  | 0,92                       | 6,35                                    | 0,27                   | <b>59,52</b>                         | 1,95                | -                       | 24,84                   |
| 9     | 18,28       | 1,17                          | 2,37   | -                    | 0,99                  | 0,92                       | 6,35                                    | 0,27                   | 40,53                                | <b>4,28</b>         | -                       | 24,84                   |
| 10    | 20,28       | 1,17                          | 2,37   | -                    | 0,99                  | 0,92                       | 6,35                                    | 0,27                   | 40,53                                | 1,95                | <b>0,33</b>             | 24,84                   |
| 11    | 0           | 1,17                          | 2,37   | -                    | 0,99                  | 0,92                       | 6,35                                    | 0,27                   | 40,53                                | 1,95                | -                       | <b>45,45</b>            |

## 2. Concentration théorique des composants des poches

Les concentrations théoriques de chaque élément dosé ont été calculées à partir des RCP des composants utilisés pour la fabrication des poches. Elles sont présentées dans le tableau VI.

**Tableau VI.** Concentrations théoriques des composants dosés des poches.

| Poche | Sodium (mmol/L) | Potassium (mmol/L) | Fer total ( $\mu\text{mol/L}$ ) | Calcium ionisé (mmol/L) | Glucose (mmol/L) | Vit. E (mg/L) | Vit. B1 (nmol/L) | Glucose-1-phosphate (mmol/L) | Méthionine (g/L) |
|-------|-----------------|--------------------|---------------------------------|-------------------------|------------------|---------------|------------------|------------------------------|------------------|
| 1     | 33,78           | 26,13              | 8,18                            | 14,16                   | 689,31           | 23,87         | 30952,50         | 15,64                        | 0,97             |
| 2     | <b>38,30</b>    | 26,13              | 8,18                            | 14,16                   | 689,31           | <b>67,52</b>  | <b>87566,47</b>  | 15,64                        | 0,97             |
| 3     | <b>76,94</b>    | 26,13              | 8,18                            | 14,16                   | 689,31           | 23,87         | 30952,50         | <b>37,22</b>                 | 0,97             |
| 4     | <b>67,29</b>    | 26,13              | 8,18                            | 14,16                   | 689,31           | 23,87         | 30952,50         | 15,64                        | 0,97             |
| 5     | 33,78           | 26,13              | 8,18                            | 14,16                   | 689,31           | 23,87         | 30952,50         | 15,64                        | 0,97             |
| 6     | <b>33,85</b>    | 26,13              | <b>23,23</b>                    | 14,16                   | 689,31           | 23,87         | 30952,50         | 15,64                        | 0,97             |
| 7     | 33,78           | 26,13              | 8,18                            | <b>25,96</b>            | 689,31           | 23,87         | 30952,50         | 15,64                        | 0,97             |
| 8     | 33,78           | 26,13              | 8,18                            | 14,16                   | 689,31           | 23,87         | 30952,50         | 15,64                        | <b>1,43</b>      |
| 9     | 33,78           | <b>57,35</b>       | 8,18                            | 14,16                   | 689,31           | 23,87         | 30952,50         | 15,64                        | 0,97             |
| 10    | <b>35,57</b>    | 26,13              | 8,18                            | 14,16                   | 689,31           | 23,87         | 30952,50         | 15,64                        | 0,97             |
| 11    | 33,78           | 26,13              | 8,18                            | 14,16                   | <b>1261,24</b>   | 23,87         | 30952,50         | 15,64                        | 0,97             |

## II. Les analyses effectuées

Les résultats présentés dans cette partie sont les moyennes des 3 poches de chaque composition.

### A. Stabilité physique

#### 1. Inspection visuelle

Initialement, toutes les poches ont une coloration jaune claire, due aux vitamines du Cernevit®.

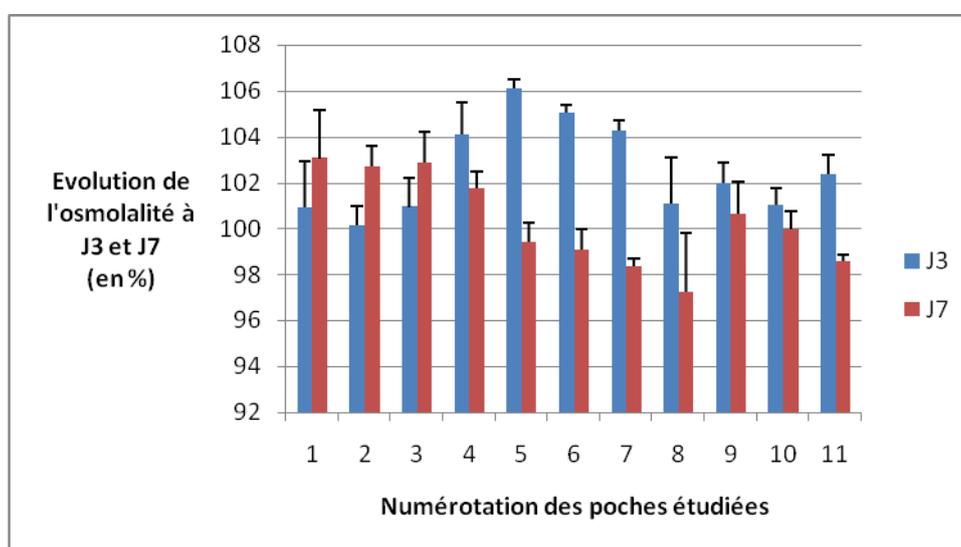
A tous les jours de dosage et pour toutes les poches, aucune particule visible non dissoute n'a été mise en évidence par l'observateur, ainsi qu'aucun changement de coloration.

Les poches 3 et 4 des tests de dégradation forcée présentent une coloration marron après test ; tandis que les poches 1 et 2 présentent la coloration jaune clair initiale.

## 2. Mesure de l'osmolalité

Les résultats obtenus concernant l'évolution de l'osmolalité des poches à J3 et J7 sont présentés dans le graphique I.

Les résultats concernant les tests de dégradation forcés sont présentés dans le tableau VII.



**Graphique I.** Résultats de l'évolution de l'osmolalité à J3 et J7 des moyennes des triplicats des 11 poches et écarts-type associés.

**Tableau VII.** Résultats de l'évolution de l'osmolalité après dégradation forcée.

|                      | Osm. poche 1.1 avant dégradation (mOsm/Kg) | Osm. après dégradation (mOsm/Kg) | % retrouvé après dégradation |
|----------------------|--|----------------------------------|------------------------------|
| Dégradation forcée 1 | 1273,00                                    | 1347,00                          | 105,81                       |
| Dégradation forcée 2 | 1273,00                                    | 1355,00                          | 106,44                       |
| Dégradation forcée 3 | 1273,00                                    | 1353,00                          | 106,28                       |
| Dégradation forcée 4 | 1273,00                                    | 1356,00                          | 106,52                       |

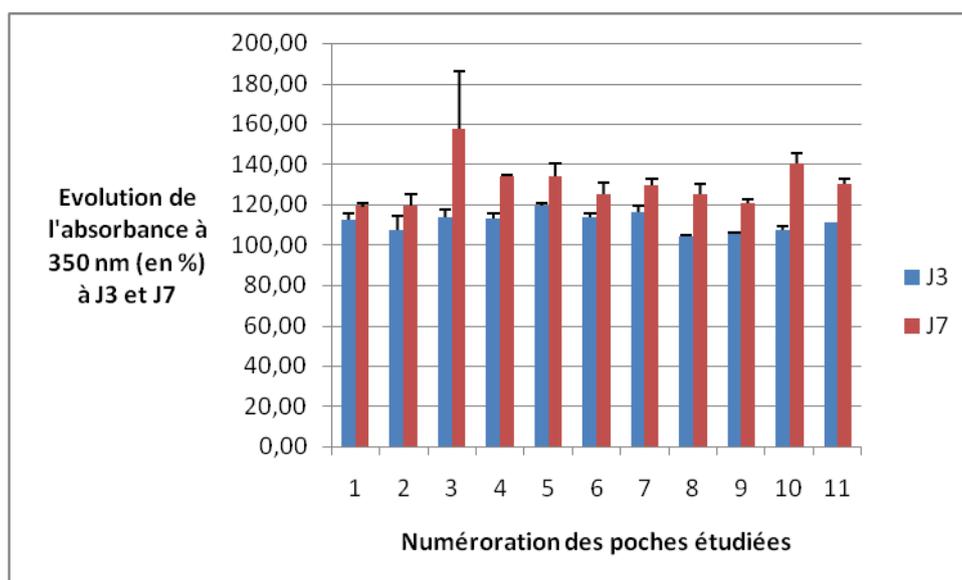
Les variations d'osmolalité des 11 compositions de poches ainsi que des poches de dégradation forcée n'excèdent pas 10 %, limite fixée pour cette étude. Cela témoigne de la stabilité de ce paramètre.

### 3. Test de limpidité

Les résultats obtenus concernant l'évolution de l'absorbance à J3 et J7, à 350 et 550 nm, sont présentés dans les graphiques II et III.

Les résultats concernant les tests de dégradation forcés sont présentés dans les tableaux VIII et IX.

- Absorbance à 350 nm

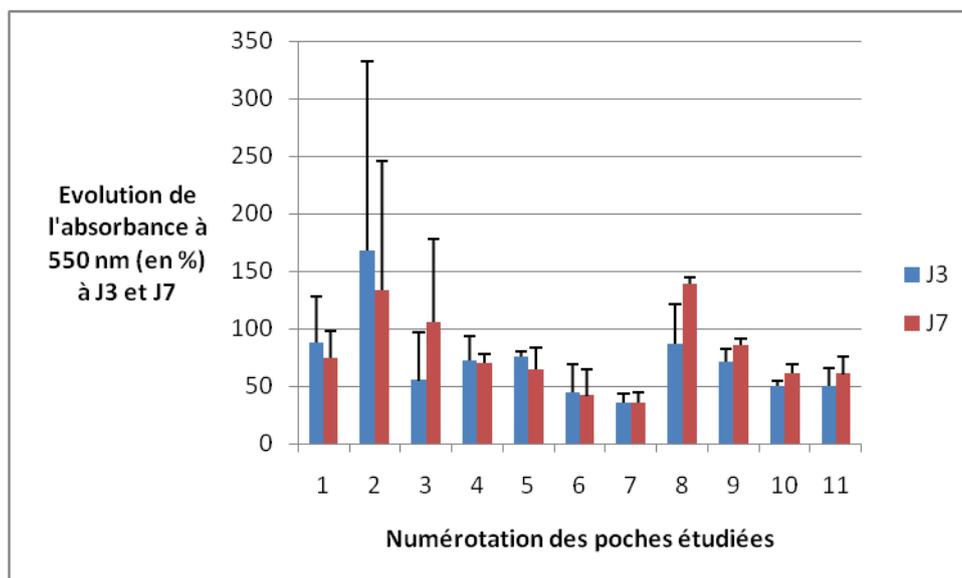


**Graphique II.** Résultats de l'évolution de l'absorbance à J3 et J7 à 350 nm des moyennes des triplicatas des 11 poches et écarts-type associés.

**Tableau VIII.** Résultats de l'évolution de l'absorbance à 350 nm après dégradation forcée.

|                      | A. poche 1.1 avant dégradation | A. après dégradation | % retrouvé après dégradation |
|----------------------|--------------------------------|----------------------|------------------------------|
| Dégradation forcée 1 | 0,70                           | 1,72                 | 243,83                       |
| Dégradation forcée 2 | 0,70                           | 1,76                 | 250,07                       |
| Dégradation forcée 3 | 0,70                           | 3,25                 | 460,99                       |
| Dégradation forcée 4 | 0,70                           | 3,75                 | 531,91                       |

- Absorbance à 550 nm



**Graphique III.** Résultats de l'évolution de l'absorbance à J3 et J7 à 550 nm des moyennes des triplicatas des 11 poches et écarts-type associés.

**Tableau IX.** Résultats de l'évolution de l'absorbance à 550 nm après dégradation forcée.

|                      | A. poche 1.1 avant dégradation | A. après dégradation | % retrouvé après dégradation |
|----------------------|--------------------------------|----------------------|------------------------------|
| Dégradation forcée 1 | 0,04                           | 0,41                 | 953,49                       |
| Dégradation forcée 2 | 0,04                           | 0,40                 | 925,58                       |
| Dégradation forcée 3 | 0,04                           | 0,53                 | 1239,53                      |
| Dégradation forcée 4 | 0,04                           | 0,45                 | 1034,88                      |

Les mesures des absorbances à 350 et 550 nm obtenues sont supérieures aux valeurs attendues pour une solution « d'aspect clair » (17,18) bien que les poches présentent visuellement cet aspect. Cependant, les valeurs d'absorbance du Cernevit® dilué à la concentration de la poche de base sont de 0,58 à 350 nm et de 0,02 à 550 nm ; ce qui permet de dire que l'absorbance des poches serait majoritairement due aux vitamines.

A 550 nm, le pourcentage moyen d'évolution entre J0 et J7 sur les 11 triplicatas de poches correspond à 79 % (de 35 % pour les poches 7 à 139 % pour les poches 8). A 350 nm, le pourcentage moyen d'évolution entre J0 et J7 sur les 11 triplicatas de poches correspond à 130 % (de 119 % pour les poches 1 et 2 à 157 % pour les poches 3). Il y a une tendance à l'augmentation de l'absorbance à J3, confirmée à J7, ceci particulièrement à 350 nm.

Les tests de dégradation forcée induisent une forte augmentation de l'absorbance : de 243,83 à 531,91 % à 350 nm et de 925,58 à 1239,53 % à 550 nm, corrélée à une coloration brune des poches 3 et 4.

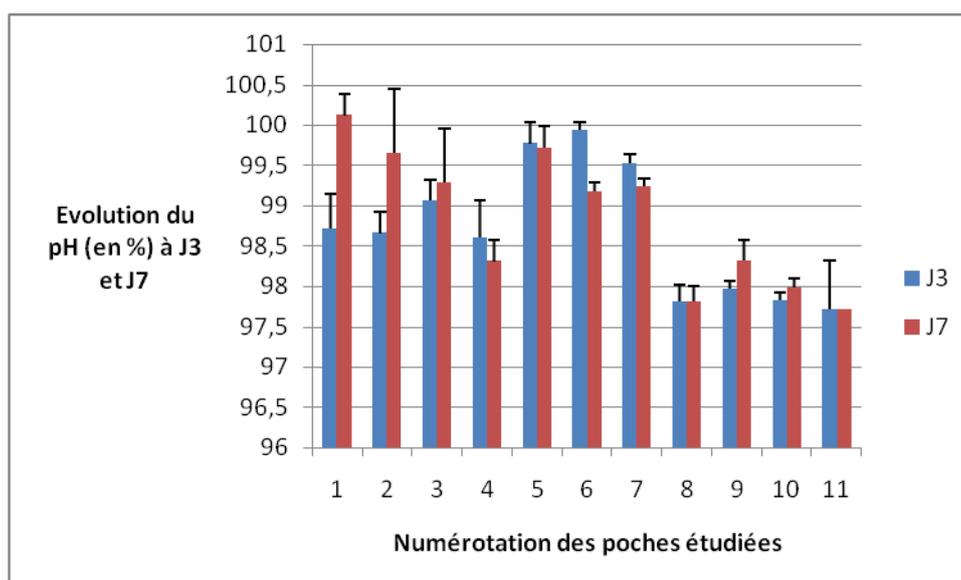
Les résultats obtenus ne permettent pas de conclure quant à la limpidité des solutions (17,18).

Ce test de limpidité ne semble pas adapté à la composition des poches de nutrition parentérale.

#### 4. Mesure du pH

Les résultats obtenus concernant l'évolution de l'absorbance du pH des poches à J3 et J7 sont présentés dans le graphique IV.

Les résultats concernant les tests de dégradation forcés sont présentés dans le tableau X.



**Graphique IV.** Résultats de l'évolution du pH à J3 et J7 des moyennes des triplicatas des 11 poches et écarts-type associés.

**Tableau X.** Résultats de l'évolution du pH après dégradation forcée.

|                      | pH poche 1.1 avant dégradation | pH après dégradation | % retrouvé après dégradation |
|----------------------|--------------------------------|----------------------|------------------------------|
| Dégradation forcée 1 | 5,67                           | 5,58                 | 98,41                        |
| Dégradation forcée 2 | 5,67                           | 5,61                 | 98,94                        |
| Dégradation forcée 3 | 5,67                           | 5,60                 | 98,77                        |
| Dégradation forcée 4 | 5,67                           | 5,61                 | 98,94                        |

Les valeurs de pH obtenues à J3 et J7 pour chaque poche et pour les poches de dégradation forcée présentent un écart par rapport à J0 inférieur à 10 %, et inférieur à 1 unité pH (12), ce qui témoigne de la stabilité du pH.

## ***B. Stabilité chimique***

Pour tous les composants étudiés, la concentration obtenue à J0 est considérée comme 100 %. L'évolution à J3 et J7 sont définies à partir du J0.

- Stabilité des glucides

### **1. Dosage du glucose**

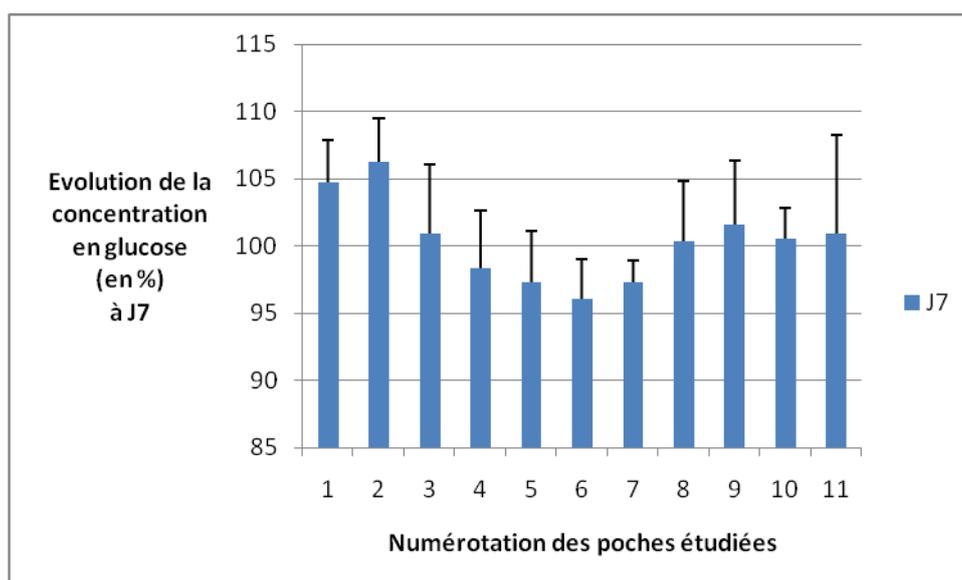
Les résultats de l'écart entre concentration obtenue à J0 des moyennes des triplicatas des 11 poches et concentration théorique, en glucose, sont présentés dans le tableau XI.

Les résultats de l'évolution de la concentration en glucose à J7 des moyennes des triplicatas des 11 poches sont présentés dans le graphique V.

Les résultats de l'évolution de la concentration en glucose après dégradation forcée sont présentés dans le tableau XII.

**Tableau XI.** Résultats de l'écart entre concentration obtenue à J0 (noté C.) et concentration théorique en glucose des moyennes des triplicatas des 11 poches.

| <b>N° de poche</b> | <b>C. théorique (mmol/L)</b> | <b>C. à J0 (écart-type) (mmol/L)</b> | <b>Ecart (%) à la valeur théorique</b> |
|--------------------|------------------------------|--------------------------------------|--|
| <b>1</b>           | 689,31                       | 693,00 (22,00)                       | 0,54                                   |
| <b>2</b>           | 689,31                       | 711,33 (22,90)                       | 3,19                                   |
| <b>3</b>           | 689,31                       | 728,57 (33,48)                       | 5,70                                   |
| <b>4</b>           | 689,31                       | 729,67 (25,40)                       | 5,85                                   |
| <b>5</b>           | 689,31                       | 729,67 (16,80)                       | 5,85                                   |
| <b>6</b>           | 689,31                       | 740,67 (16,80)                       | 7,45                                   |
| <b>7</b>           | 689,31                       | 702,00 (51,39)                       | 1,84                                   |
| <b>8</b>           | 689,31                       | 680,17 (22,15)                       | -1,33                                  |
| <b>9</b>           | 689,31                       | 715,37 (24,60)                       | 3,78                                   |
| <b>10</b>          | 689,31                       | 726,00 (0,00)                        | 5,32                                   |
| <b>11</b>          | 1261,24                      | 1283,33 (12,70)                      | 1,75                                   |



**Graphique V.** Résultats de l'évolution de la concentration en glucose à J7 des moyennes des triplicatas des 11 poches et écarts-type associés.

**Tableau XII.** Résultats de l'évolution de la concentration en glucose après dégradation forcée.

|                      | C. poche 1.1 avant dégradation (mmol/L) | C. après dégradation (mmol/L) | % retrouvé après dégradation |
|----------------------|---|-------------------------------|------------------------------|
| Dégradation forcée 1 | 693,00                                  | 165,00                        | 23,81                        |
| Dégradation forcée 2 | 693,00                                  | 176,00                        | 25,40                        |
| Dégradation forcée 3 | 693,00                                  | 156,75                        | 22,62                        |
| Dégradation forcée 4 | 693,00                                  | 142,45                        | 20,56                        |

L'écart moyen constaté entre la concentration théorique et la moyenne des concentrations à J0 des 11 triplicatas de poches est de 3,6 %. Le faible écart retrouvé entre la moyenne des concentrations à J0 et la concentration théorique montre que la méthode est adaptée.

Aucune variation de concentration en glucose n'excède 10 % ce qui témoigne de la stabilité de cet élément dans les poches étudiées.

Une dégradation comprise entre 74,60 et 79,44 % est observée pour les 4 poches ayant subi un test de dégradation forcée.

- Stabilité des électrolytes

## 2. Dosage du sodium et du potassium

Les résultats de l'écart entre concentration obtenue à J0 des moyennes des triplicatas des 11 poches et concentration théorique, en sodium et potassium, sont présentés dans les tableaux XIII et XV.

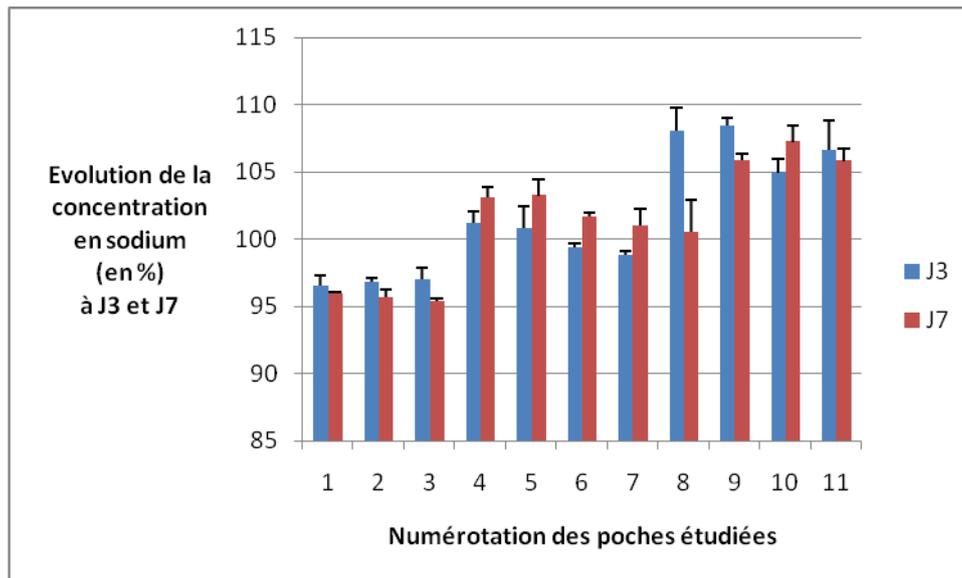
Les résultats de l'évolution des concentrations en sodium et du potassium, à J3 et J7, des moyennes des triplicatas des 11 poches sont présentés dans les graphiques VI et VII.

Les résultats de l'évolution de la concentration en sodium et potassium après dégradation forcée sont présentés dans les tableaux XIV et XVI.

- Sodium

**Tableau XIII.** Résultats de l'écart entre concentration obtenue à J0 (noté C.) et concentration théorique en sodium des moyennes des triplicatas des 11 poches.

| N° de poche | C. théorique (mmol/L) | C. à J0 (écart-type) (mmol/L) | Ecart (%) à la valeur théorique |
|-------------|-----------------------|-------------------------------|---------------------------------|
| 1           | 33,78                 | 33,50 (0,00)                  | -0,83                           |
| 2           | 38,30                 | 37,57 (0,06)                  | -1,91                           |
| 3           | 76,94                 | 78,60 (1,06)                  | 2,16                            |
| 4           | 67,29                 | 65,57 (0,74)                  | -2,56                           |
| 5           | 33,78                 | 34,10 (0,52)                  | 0,95                            |
| 6           | 33,85                 | 34,63 (0,15)                  | 2,31                            |
| 7           | 33,78                 | 34,57 (0,35)                  | 2,33                            |
| 8           | 33,78                 | 33,13 (0,32)                  | -1,91                           |
| 9           | 33,78                 | 33,17 (0,06)                  | -1,82                           |
| 10          | 35,57                 | 36,37 (0,64)                  | 2,24                            |
| 11          | 33,78                 | 32,70 (0,62)                  | -3,20                           |



**Graphique VI.** Résultats de l'évolution de la concentration en sodium à J3 et J7 des moyennes des triplicatas des 11 poches et écarts-type associés.

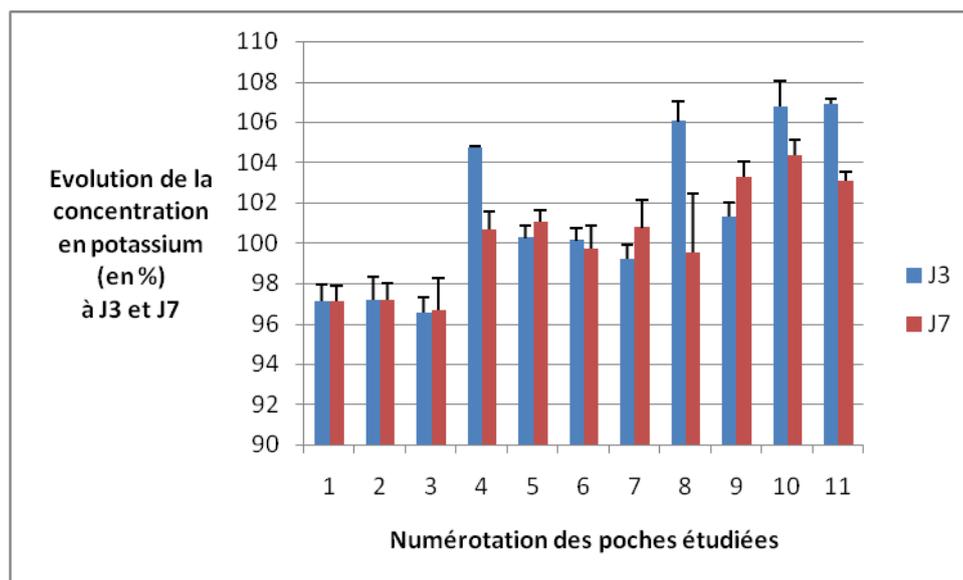
**Tableau XIV.** Résultats de l'évolution de la concentration en sodium après dégradation forcée.

|                      | C. poche 1.1 avant dégradation (mmol/L) | C. après dégradation (mmol/L) | % retrouvé après dégradation |
|----------------------|---|-------------------------------|------------------------------|
| Dégradation forcée 1 | 33,50                                   | 35,90                         | 107,16                       |
| Dégradation forcée 2 | 33,50                                   | 35,70                         | 106,57                       |
| Dégradation forcée 3 | 33,50                                   | 36,00                         | 107,46                       |
| Dégradation forcée 4 | 33,50                                   | 36,00                         | 107,46                       |

- Potassium

**Tableau XV.** Résultats de l'écart entre concentration obtenue à J0 (noté C.) et concentration théorique en potassium des moyennes des triplicatas des 11 poches.

| N° de poche | C. théorique (mmol/L) | C. à J0 (écart-type) (mmol/L) | Ecart (%) à la valeur théorique |
|-------------|-----------------------|-------------------------------|---------------------------------|
| 1           | 26,13                 | 26,40 (0,26)                  | 1,03                            |
| 2           | 26,13                 | 26,17 (0,84)                  | 0,14                            |
| 3           | 26,13                 | 27,07 (0,12)                  | 3,58                            |
| 4           | 26,13                 | 25,37 (0,29)                  | -2,92                           |
| 5           | 26,13                 | 25,67 (0,21)                  | -1,77                           |
| 6           | 26,13                 | 25,73 (0,06)                  | -1,52                           |
| 7           | 26,13                 | 25,93 (0,06)                  | -0,75                           |
| 8           | 26,13                 | 25,40 (0,78)                  | -2,79                           |
| 9           | 57,35                 | 55,97 (0,15)                  | -2,41                           |
| 10          | 26,13                 | 26,07 (0,12)                  | -0,24                           |
| 11          | 26,13                 | 25,73 (0,29)                  | -1,52                           |



**Graphique VII.** Résultats de l'évolution de la concentration en potassium à J3 et J7 des moyennes des triplicatas des 11 poches et écarts-type associés.

**Tableau XVI.** Résultats de l'évolution de la concentration en potassium après dégradation forcée.

|                      | C. poche 1.1 avant dégradation (mmol/L) | C. après dégradation (mmol/L) | % retrouvé après dégradation |
|----------------------|---|-------------------------------|------------------------------|
| Dégradation forcée 1 | 26,20                                   | 27,40                         | 104,58                       |
| Dégradation forcée 2 | 26,20                                   | 27,40                         | 104,58                       |
| Dégradation forcée 3 | 26,20                                   | 27,60                         | 105,34                       |
| Dégradation forcée 4 | 26,20                                   | 27,80                         | 106,11                       |

L'écart moyen constaté entre la concentration théorique et la moyenne des concentrations à J0 des 11 triplicatas de poches est de -0,2% pour le sodium et de -0,8 % pour le potassium. Le faible écart retrouvé entre la moyenne des concentrations à J0 et la concentration théorique montre que la méthode est adaptée.

Aucune variation de concentration en sodium et potassium n'excède 10 % ce qui témoigne de la stabilité de ces éléments dans les poches étudiées. Les tests de dégradation forcée n'ont pas permis d'obtenir une évolution des concentrations en sodium et potassium excédant 10 %.

### 3. Dosage du calcium ionisé

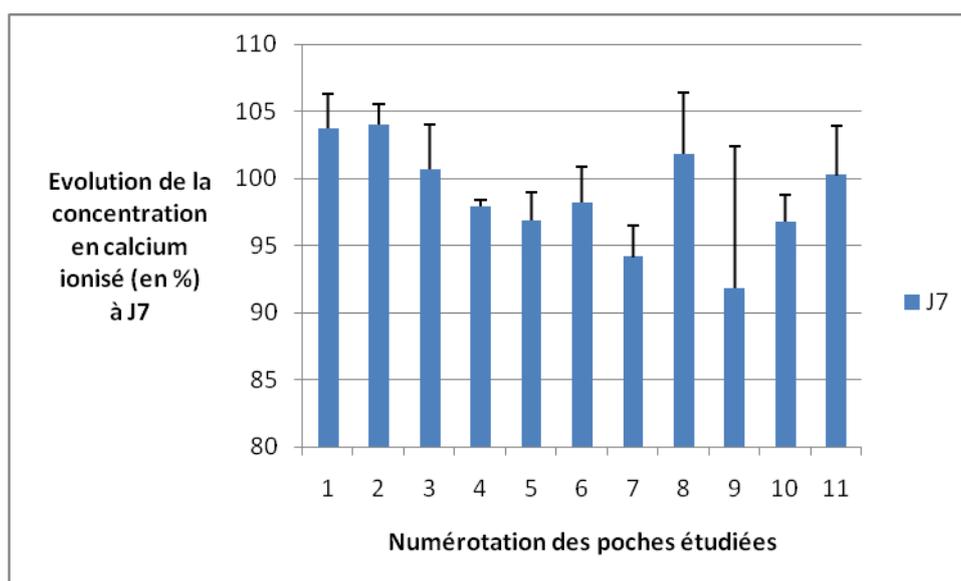
Les résultats de l'écart entre concentration obtenue à J0 des moyennes des triplicatas des 11 poches et concentration théorique, en calcium ionisé, sont présentés dans le tableau XVII.

Les résultats de l'évolution de la concentration en calcium ionisé à J7 des moyennes des triplicatas des 11 poches sont présentés dans le graphique VIII.

Les résultats de l'évolution de la concentration en calcium ionisé après dégradation forcée sont présentés dans le tableau XVIII.

**Tableau XVII.** Résultats de l'écart entre concentration obtenue à J0 (noté C.) et concentration théorique en calcium ionisé des moyennes des triplicatas des 11 poches.

| N° de poche | C. théorique (mmol/L) | C. à J0 (écart-type) (mmol/L) | Ecart (%) à la valeur théorique |
|-------------|-----------------------|-------------------------------|---------------------------------|
| 1           | 14,16                 | 10,77 (0,21)                  | -23,93                          |
| 2           | 14,16                 | 10,90 (0,26)                  | -23,02                          |
| 3           | 14,16                 | 10,63 (0,29)                  | -24,91                          |
| 4           | 14,16                 | 11,07 (0,06)                  | -21,85                          |
| 5           | 14,16                 | 11,63 (0,15)                  | -17,84                          |
| 6           | 14,16                 | 11,03 (0,42)                  | -22,08                          |
| 7           | 25,96                 | 22,60 (0,69)                  | -12,94                          |
| 8           | 14,16                 | 13,10 (3,90)                  | -7,79                           |
| 9           | 14,16                 | 10,90 (0,20)                  | -23,02                          |
| 10          | 14,16                 | 11,30 (0,10)                  | -20,20                          |
| 11          | 14,16                 | 11,30 (0,20)                  | -20,20                          |



**Graphique VIII.** Résultats de l'évolution de la concentration en calcium ionisé à J7 des moyennes des triplicatas des 11 poches et écarts-type associés.

**Tableau XVIII.** Résultats de l'évolution de la concentration en calcium ionisé après dégradation forcée.

|                             | <b>C. poche 1.1 avant dégradation (mmol/L)</b> | <b>C. après dégradation (mmol/L)</b> | <b>% retrouvé après dégradation</b> |
|-----------------------------|--|--------------------------------------|-------------------------------------|
| <b>Dégradation forcée 1</b> | 10,70  | 11,10                                | 103,74                              |
| <b>Dégradation forcée 2</b> | 10,70  | 10,40                                | 97,20                               |
| <b>Dégradation forcée 3</b> | 10,70  | 10,40                                | 97,20                               |
| <b>Dégradation forcée 4</b> | 10,70  | 10,50                                | 98,13                               |

L'écart moyen constaté entre la concentration théorique en calcium et la moyenne des concentrations à J0 des 11 triplicatas de poches est de -19,8 %. L'important écart retrouvé entre la concentration théorique et la moyenne des concentrations à J0 laisse penser que cette méthode n'est pas bien adaptée. Elle n'est pas juste. Il semblerait qu'une partie du calcium n'ait pas été dosée. Néanmoins, cette méthode est fidèle avec un biais constant retrouvé (excepté pour les poches n°8 ou une erreur est suspectée). L'objectif étant d'apprécier la stabilité au vu de l'évolution des concentrations, on peut supposer que cette méthode permet d'estimer la stabilité du calcium ionisé.

Aucune variation de concentration n'excède 10 %, à l'exception de la poche 9.1 présentant à J7 un pourcentage de 80,18 % par rapport à la concentration obtenue à J0. L'évolution à J7 semble témoigner de la stabilité.

Les tests de dégradation forcée n'ont pas permis d'obtenir une évolution des concentrations en calcium excédant 10 %.

#### **4. Dosage des phosphates par dosage du glucose-1-phosphate**

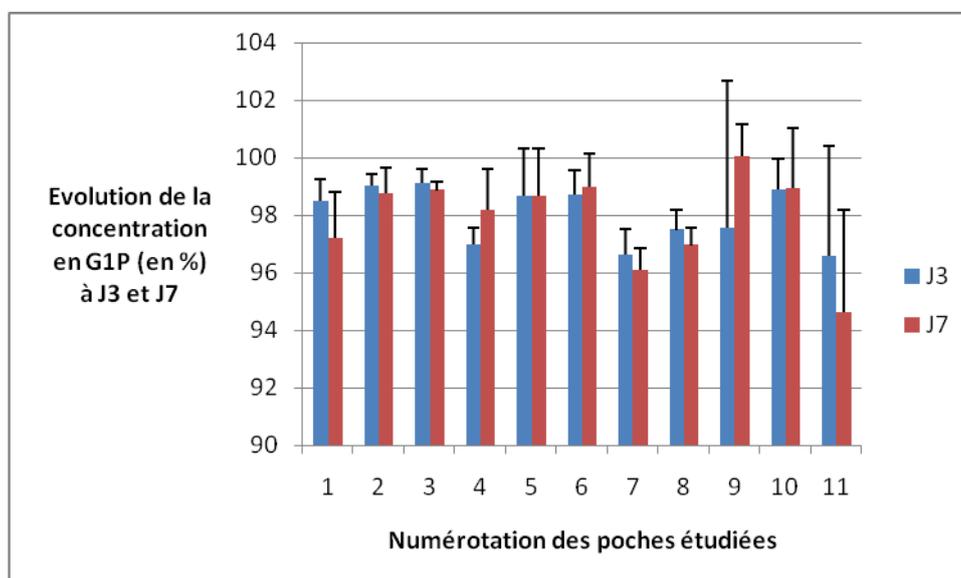
Les résultats de l'écart entre concentration obtenue à J0 des moyennes des triplicatas des 11 poches et concentration théorique, en G1P, sont présentés dans le tableau XIX.

Les résultats de l'évolution de la concentration en G1P, à J3 et J7, des moyennes des triplicatas des 11 poches sont présentés dans le graphique IX.

Les résultats de l'évolution de la concentration en glucose après dégradation forcée sont présentés dans le tableau XX.

**Tableau XIX.** Résultats de l'écart entre concentration obtenue à J0 (noté C.) et concentration théorique en G1P des moyennes des triplicatas des 11 poches.

| N° de poche | C. théorique (mmol/L) | C. à J0 (écart-type) (mmol/L) | Ecart (%) à la valeur théorique |
|-------------|-----------------------|-------------------------------|---------------------------------|
| 1           | 15,64                 | 13,17 (0,06)                  | -15,81                          |
| 2           | 15,64                 | 13,43 (0,21)                  | -14,11                          |
| 3           | 37,22                 | 35,50 (0,36)                  | -4,62                           |
| 4           | 15,64                 | 12,70 (0,19)                  | -18,80                          |
| 5           | 15,64                 | 12,47 (0,15)                  | -20,29                          |
| 6           | 15,64                 | 12,63 (0,42)                  | -19,22                          |
| 7           | 15,64                 | 12,77 (0,12)                  | -18,37                          |
| 8           | 15,64                 | 12,92 (0,23)                  | -17,41                          |
| 9           | 15,64                 | 12,38 (0,38)                  | -20,82                          |
| 10          | 15,64                 | 12,59 (0,41)                  | -19,50                          |
| 11          | 15,64                 | 13,70 (0,77)                  | -12,43                          |



**Graphique IX.** Résultats de l'évolution de la concentration en G1P à J3 et J7 des moyennes des triplicatas des 11 poches et écarts-type associés.

**Tableau XX.** Résultats de l'évolution de la concentration en G1P après dégradation forcée.

|                      | C. poche 1.1 avant dégradation (mmol/L) | C. après dégradation (mmol/L) | % retrouvé après dégradation |
|----------------------|---|-------------------------------|------------------------------|
| Dégradation forcée 1 | 13,20                                   | 13,69                         | 103,71                       |
| Dégradation forcée 2 | 13,20                                   | 13,55                         | 102,65                       |
| Dégradation forcée 3 | 13,20                                   | 13,70                         | 103,79                       |
| Dégradation forcée 4 | 13,20                                   | 13,42                         | 101,67                       |

L'écart moyen constaté entre la concentration théorique et la moyenne des concentrations à J0 des 11 triplicatas de poches est de -16,5 %.

L'important et le fluctuant écart retrouvé entre concentration théorique et moyenne des concentrations à J0 laissent penser que cette méthode n'est pas bien adaptée.

Aucune variation de concentration en G1P n'excède 10 %. L'évolution obtenue à J3 et J7 semble témoigner de la stabilité du G1P mais ces résultats nécessitent d'être confirmés par une autre méthode.

Les tests de dégradation forcée n'ont pas permis d'obtenir une évolution des concentrations en G1P excédant 10 %.

- Stabilité des oligoéléments

## 5. Dosage du fer total

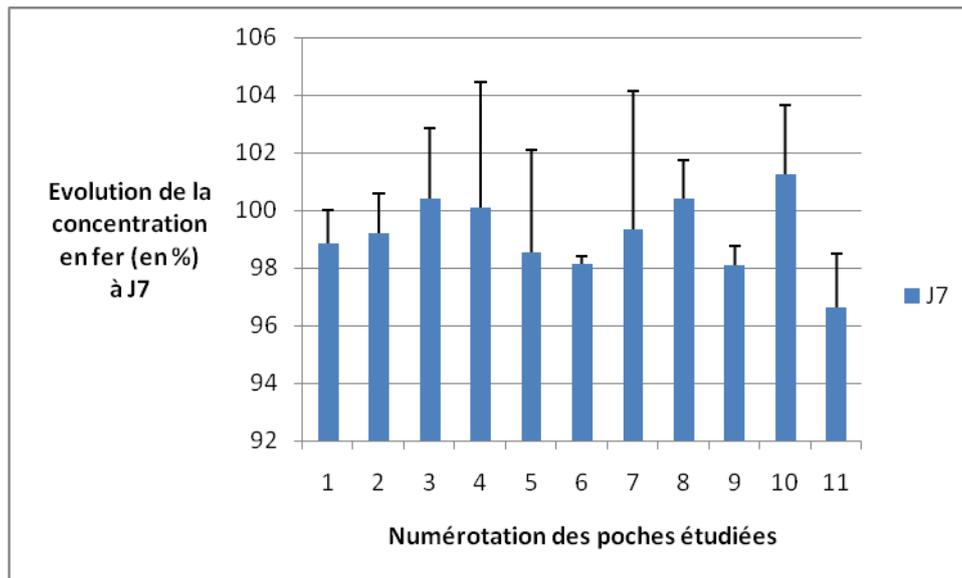
Les résultats de l'écart entre concentration obtenue à J0 des moyennes des triplicatas des 11 poches et concentration théorique, en fer total, sont présentés dans le tableau XXI.

Les résultats de l'évolution de la concentration en fer total, à J3 et J7, des moyennes des triplicatas des 11 poches sont présentés dans le graphique X.

Les résultats de l'évolution de la concentration en fer total après dégradation forcée sont présentés dans le tableau XXII.

**Tableau XXI.** Résultats de l'écart entre concentration obtenue à J0 (noté C.) et concentration théorique en fer total des moyennes des triplicatas des 11 poches.

| N° de poche | C. théorique (µmol/L) | C. à J0 (écart-type) (µmol/L) | Ecart (%) à la valeur théorique |
|-------------|-----------------------|-------------------------------|---------------------------------|
| 1           | 8,18                  | 8,50 (0,10)                   | 3,91                            |
| 2           | 8,18                  | 8,50 (0,00)                   | 3,91                            |
| 3           | 8,18                  | 8,47 (0,06)                   | 3,50                            |
| 4           | 8,18                  | 8,43 (0,35)                   | 3,10                            |
| 5           | 8,18                  | 8,60 (0,35)                   | 5,13                            |
| 6           | 23,23                 | 23,47 (0,06)                  | 1,02                            |
| 7           | 8,18                  | 8,57 (0,35)                   | 4,73                            |
| 8           | 8,18                  | 8,63 (0,29)                   | 5,54                            |
| 9           | 8,18                  | 8,67 (0,06)                   | 5,95                            |
| 10          | 8,18                  | 8,53 (0,31)                   | 4,32                            |
| 11          | 8,18                  | 8,87 (0,21)                   | 8,39                            |



**Graphique X.** Résultats de l'évolution de la concentration en fer à J7 des moyennes des triplicatas des 11 poches et écarts-type associés.

**Tableau XXII.** Résultats de l'évolution de la concentration en fer après dégradation forcée.

|                      | C. poche 1.1 avant dégradation (μmol/L) | C. après dégradation (μmol/L) | % retrouvé après dégradation |
|----------------------|---|-------------------------------|------------------------------|
| Dégradation forcée 1 | 8,60                                    | 8,70                          | 101,16                       |
| Dégradation forcée 2 | 8,60                                    | 8,70                          | 101,16                       |
| Dégradation forcée 3 | 8,60                                    | 8,40                          | 97,67                        |
| Dégradation forcée 4 | 8,60                                    | 7,90                          | 91,86                        |

L'écart moyen constaté entre la concentration théorique et la moyenne des concentrations à J0 des 11 triplicatas de poches est de 4,5 %. Le faible écart retrouvé entre la moyenne des concentrations à J0 et la concentration théorique montre que la méthode est adaptée.

Aucune variation de concentration en fer n'excède 10 % ce qui témoigne de la stabilité de cet élément dans les poches étudiées.

Les tests de dégradation forcée n'ont pas permis d'obtenir une évolution des concentrations en fer excédant 10 %.

- Stabilité des vitamines

## 6. Dosage de la vitamine E

Les résultats de l'écart entre concentration obtenue à J0 des 11 poches et concentration théorique en vitamine E sont présentés dans le tableau XXIII.

**Tableau XXIII.** Résultats de l'écart entre concentration obtenue à J0 (noté C.) et concentration théorique en vitamine E des 11 poches.

| N° de poche | C. théorique (mg/L) | C. à J0 (mg/L) | Ecart (%) à la valeur théorique |
|-------------|---------------------|----------------|---------------------------------|
| 1           | 23,87               | 15,20          | -36,32                          |
| 2           | 67,52               | 52,70          | -21,95                          |
| 3           | 23,87               | 19,70          | -17,47                          |
| 4           | 23,87               | 16,00          | -32,97                          |
| 5           | 23,87               | 23,60          | -1,13                           |
| 6           | 23,87               | 23,30          | -2,39                           |
| 7           | 23,87               | 23,60          | -1,13                           |
| 8           | 23,87               | 21,40          | -10,35                          |
| 9           | 23,87               | 24,50          | 2,64                            |
| 10          | 23,87               | 24,80          | 3,90                            |
| 11          | 23,87               | 25,10          | 5,15                            |

L'écart moyen constaté entre la concentration théorique en vitamine E et la moyenne des concentrations à J0 des 11 triplicatas de poches est de -10,2 %.

D'importantes fluctuations de cet écart sont retrouvées entre les 11 compositions de poches.

La méthode ne semble pas adaptée, ceci sûrement dû au fait que la méthode ne soit pas développée sur un milieu de nutrition parentérale.

Les résultats concernant l'évolution de la concentration dans le temps en vitamine E ne sont pas interprétables.

## 7. Dosage de la vitamine B1

Les résultats de l'écart entre concentration obtenue à J0 des 11 poches et concentration théorique en vitamine B1 sont présentés dans le tableau XXIV.

**Tableau XXIV.** Résultats de l'écart entre concentration obtenue à J0 (noté C.) et concentration théorique en vitamine B1 des 11 poches.

| N° de poche | C. théorique (nmol/L) | C. à J0 (nmol/L) | Ecart (%) à la valeur théorique |
|-------------|-----------------------|------------------|---------------------------------|
| 1           | 30952,50              | 35300,00         | 14,05                           |
| 2           | 87566,47              | 106200,00        | 21,28                           |
| 3           | 30952,50              | 48800,00         | 57,66                           |
| 4           | 30952,50              | 37300,00         | 20,51                           |
| 5           | 30952,50              | 32090,00         | 3,67                            |
| 6           | 30952,50              | 32940,00         | 6,42                            |
| 7           | 30952,50              | 34780,00         | 12,37                           |
| 8           | 30952,50              | 36300,00         | 17,28                           |
| 9           | 30952,50              | 37200,00         | 20,18                           |
| 10          | 30952,50              | 44300,00         | 43,12                           |
| 11          | 30952,50              | 46000,00         | 48,61                           |

L'écart moyen constaté entre la concentration théorique en vitamine B1 et la moyenne des concentrations à J0 des 11 triplicatas de poches est de 24,1 %.

D'importantes fluctuations de cet écart sont retrouvées entre les 11 compositions de poches.

La méthode ne semble pas adaptée, ceci sûrement dû au fait que la méthode ne soit pas développée sur un milieu de nutrition parentérale.

Les résultats concernant l'évolution de la concentration dans le temps en vitamine B1 ne sont pas interprétables.

## 8. Dosage de la méthionine

### a. Résultats de la validation de la méthode de dosage de la méthionine

- **Linéarité, spécificité, fidélité et justesse**

- Linéarité

Les résultats de la linéarité sont présentés dans les tableaux XXV et XXVI.

**Tableau XXV.** Représentation des valeurs moyennes pour les 5 gammes de  $r^2$ , du coefficient directeur (noté a), de l'ordonnée à l'origine (noté b), de leur écart-type et de leur Coefficient de Variation (noté CV).

|                                       |        |                        |          |                        |          |
|---------------------------------------|--------|------------------------|----------|------------------------|----------|
| <b>moyenne de <math>r^2</math></b>    | 0,9993 | <b>moyenne de a</b>    | 30258,60 | <b>moyenne de b</b>    | 48430,40 |
| <b>écart-type de <math>r^2</math></b> | 0,0004 | <b>écart-type de a</b> | 621,89   | <b>écart-type de b</b> | 19565,30 |
| <b>CV (%) de <math>r^2</math></b>     | 0,04   | <b>CV (%) de a</b>     | 2,06     | <b>CV (%) de b</b>     | 40,40    |

**Tableau XXVI.** Représentation des résultats de la linéarité (la concentration calculée notée C.calculée est exprimée en  $\mu\text{g/mL}$ ).

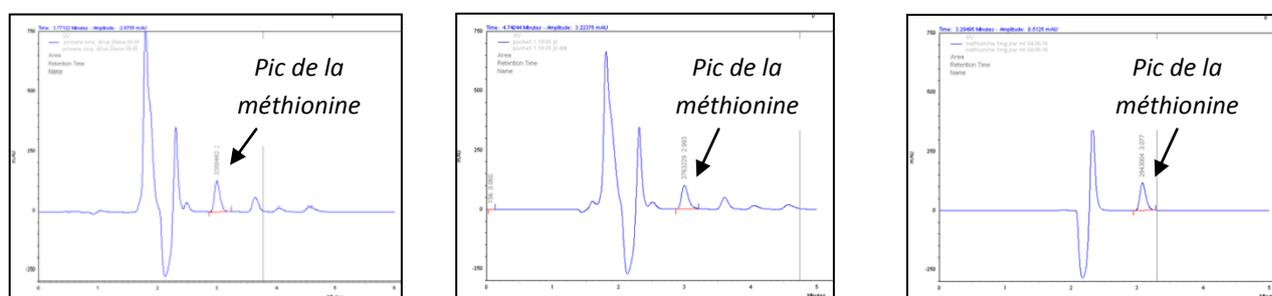
| Points de gamme      |            | Gamme 1 | Gamme 2 | Gamme 3 | Gamme 4 | Gamme 5 | Moyenne | Ecart-type | CV % | Biais de la moyenne (%) |
|----------------------|------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|------------|------|-------------------------|
| 25 $\mu\text{g/mL}$  | C.calculée | 24,35   | 25,31   | 24,02   | 26,24   | 25,57   | 25,10   | 0,91       | 3,62 | 0,40                    |
|                      | Biais (%)  | -2,60   | 1,24    | -3,92   | 4,97    | 2,30    |         |            |      |                         |
| 50 $\mu\text{g/mL}$  | C.calculée | 50,01   | 49,44   | 50,61   | 50,75   | 49,88   | 50,15   | 0,54       | 1,08 | 0,30                    |
|                      | Biais (%)  | 0,02    | -1,14   | 1,22    | 1,50    | -0,23   |         |            |      |                         |
| 100 $\mu\text{g/mL}$ | C.calculée | 99,64   | 95,41   | 96,02   | 96,67   | 96,38   | 96,82   | 1,64       | 1,70 | 3,28                    |
|                      | Biais (%)  | -0,36   | -4,59   | -3,98   | -3,33   | -3,62   |         |            |      |                         |
| 150 $\mu\text{g/mL}$ | C.calculée | 149,37  | 150,10  | 151,55  | 152,42  | 151,19  | 150,92  | 1,21       | 0,80 | 0,61                    |
|                      | Biais (%)  | -0,42   | 0,06    | 1,04    | 1,61    | 0,79    |         |            |      |                         |
| 200 $\mu\text{g/mL}$ | C.calculée | 200,73  | 202,32  | 200,80  | 203,65  | 200,88  | 201,67  | 1,28       | 0,64 | 0,83                    |
|                      | Biais (%)  | 0,36    | 1,16    | 0,40    | 1,82    | 0,44    |         |            |      |                         |

Pour chacune des gammes réalisées, un coefficient de détermination  $r^2$  strictement supérieur à 0,997 a été obtenu. Pour chaque point d'étalonnage de chaque gamme, le biais est inférieur à 5%. Pour chaque niveau de concentration, le CV et le biais de

la concentration moyenne par rapport à la concentration théorique est inférieure à 5%.  
La linéarité est validée entre 25 et 200 µg/mL.

- Spécificité

Le Primène<sup>®</sup> présente une concentration en méthionine de 2,40 mg/mL. Celui-ci a été dilué dans de l'eau distillée et un échantillon à 120 µg/mL et un second à 80 µg/mL ont été analysés en HPLC-UV, de même qu'un échantillon de poche 1 dilué au 1/10<sup>ème</sup> dans de l'eau distillée (soit une concentration théorique à 97 µg/mL) et qu'un échantillon d'une solution de méthionine à 100 µg/mL. Les chromatogrammes obtenus sont présentés dans la figure IV.



**Figure IV.** Chromatogrammes obtenus pour le Primène<sup>®</sup> dosé à 120 µg/mL en méthionine (à gauche), pour la poche de composition 1 diluée à 97 µg/mL en méthionine (au centre) et pour la solution de méthionine à 100 µg/mL (à droite).

Nous obtenons sur chacun des chromatogrammes, un pic à 3 minutes de temps de rétention, correspondant à la méthionine : la méthode est spécifique.

- Fidélité et justesse

Les résultats de la répétabilité et de la fidélité intermédiaire sont présentés dans les tableaux XXVII et XXVIII.

**Tableau XXVII.** Représentation des résultats de la répétabilité de la méthode sur une journée.

***Répétabilité de la méthode (intra-day)***

| Contrôles                           | CQ1           | CQ2      | CQ3       |
|-------------------------------------|---------------|----------|-----------|
| Niveaux                             | Bas           | Moyen    | Haut      |
| Concentrations ( $\mu\text{g/mL}$ ) | 25            | 100      | 200       |
|                                     | (23,75-26,25) | (95-105) | (190-210) |
| C1                                  | 25,50         | 96,60    | 198,10    |
| C2                                  | 24,00         | 96,30    | 204,50    |
| C3                                  | 24,90         | 95,40    | 194,60    |
| C4                                  | 24,00         | 95,60    | 199,90    |
| C5                                  | 24,20         | 97,20    | 203,60    |
| C6                                  | 24,80         | 95,20    | 199,80    |
| Moyenne ( $\mu\text{g/mL}$ )        | 24,57         | 96,05    | 200,08    |
| Ecart-type                          | 0,60          | 0,78     | 3,63      |
| CV (%)                              | 2,45          | 0,81     | 1,82      |
| Biais de la moyenne(%)              | -1,73         | -3,95    | 0,04      |
| Admissibilité (%)                   | 5,00          | 5,00     | 5,00      |

**Tableau XXVIII.** Représentation des résultats de la fidélité intermédiaire de la méthode sur six journées.

***Reproductibilité intra-laboratoire de la méthode (inter-day)***

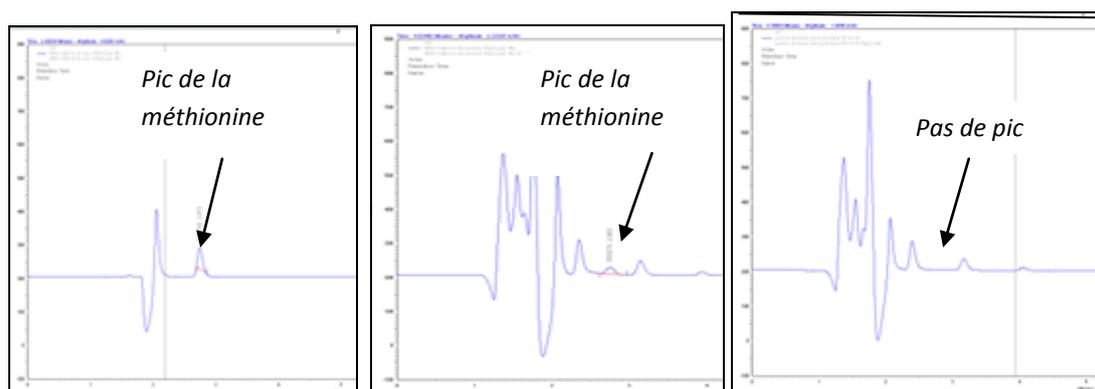
| Contrôles                           | CQ1           | CQ2      | CQ3       |
|-------------------------------------|---------------|----------|-----------|
| Niveaux                             | Bas           | Moyen    | Haut      |
| Concentrations ( $\mu\text{g/mL}$ ) | 25            | 100      | 200       |
|                                     | (23,75-26,25) | (95-105) | (190-210) |
| C1                                  | 25,20         | 96,20    | 194,60    |
| C2                                  | 24,50         | 97,60    | 206,90    |
| C3                                  | 24,20         | 98,70    | 197,10    |
| C4                                  | 24,60         | 96,50    | 202,20    |
| C5                                  | 25,10         | 97,40    | 199,50    |
| C6                                  | 24,90         | 104,80   | 198,60    |
| Moyenne ( $\mu\text{g/mL}$ )        | 24,75         | 98,53    | 199,82    |
| Ecart-type                          | 0,38          | 3,19     | 4,29      |
| CV (%)                              | 1,55          | 3,24     | 2,15      |
| Biais de la moyenne (%)             | -1,00         | -1,47    | -0,09     |
| Admissibilité (%)                   | 5,00          | 5,00     | 5,00      |

Pour chaque niveau de concentration, les coefficients de variation sont inférieurs à 5%. La méthode est considérée comme répétable et reproductible, ce qui valide la fidélité. Pour chaque niveau de concentration, le biais de la moyenne est inférieur à 5%. La méthode est donc considérée comme juste.

- **Evaluation de l'effet matrice**

Pour les deux gammes testées, un pic similaire à 2,9 minutes de temps de rétention, correspondant à la méthionine, a été obtenu.

Les chromatogrammes obtenus pour la méthionine dans l'eau (matrice eau) et dans la poche de nutrition parentérale (matrice nutrition parentérale) à 100 µg/mL sont présentés dans la figure V, ainsi que celui de la méthionine dans la poche de nutrition à 0 µg/mL.



**Figure V.** Chromatogrammes de la méthionine dans l'eau (à gauche), dans la poche de nutrition (au centre) à 100 µg/mL et chromatogramme de la méthionine dans la poche de nutrition à 0 µg/mL (à droite).

De façon à déterminer la dépendance ou corrélation entre les deux variables, c'est-à-dire entre les deux méthodes : matrice eau et matrice nutrition parentérale, un test de corrélation a été mené : le test de Pearson.

La comparaison des deux méthodes par le test de Pearson permet d'obtenir  $R = 0,9992$  ; permettant d'affirmer que celles-ci sont statistiquement corrélées (25).

Etant donné qu'une concentration en méthionine de 0 µg/mL est associée à une absence de pic au temps de rétention de 2,9 minutes (pic de rétention de la méthionine), il a été décidé d'analyser les gammes de concentration en utilisant une équation linéaire de type  $y = ax$  où  $y$  représente la valeur de l'Aire sous la Courbe (AUC);  $x$ , la valeur de la concentration en méthionine en µg/mL et  $a$ , le coefficient directeur.

Les valeurs obtenues pour les trois gammes réalisées dans l'eau et les trois gammes réalisées dans le milieu de nutrition parentérale sont représentées dans le tableau XXIX.

**Tableau XXIX.** Représentation des valeurs des coefficients directeurs (notés a), coefficients directeurs moyens, écart-type, et coefficient de variation (noté CV) des gammes réalisées pour tester l'effet matrice.

|                                    |                        | Valeurs de a | Moyenne de a | Ecart-type | CV (%) |
|------------------------------------|------------------------|--------------|--------------|------------|--------|
| Matrice dans eau                   | 1 <sup>ère</sup> gamme | 12755        | 12723        | 33,12      | 0,26 % |
|                                    | 2 <sup>ème</sup> gamme | 12727        |              |            |        |
|                                    | 3 <sup>ème</sup> gamme | 12689        |              |            |        |
| Matrice dans nutrition parentérale | 1 <sup>ère</sup> gamme | 12489        | 12677        | 257,48     | 2,03 % |
|                                    | 2 <sup>ème</sup> gamme | 12971        |              |            |        |
|                                    | 3 <sup>ème</sup> gamme | 12573        |              |            |        |

Le test statistique sur le coefficient directeur de deux variables non appariées permet d'obtenir une valeur  $P = 0,7742$  ; permettant d'affirmer que les valeurs de a ne sont pas statistiquement différentes entre les gammes de méthionine dans l'eau et les gammes de méthionine en milieu de nutrition parentérale (26).

Ceci nous permet d'affirmer l'absence d'effet matrice.

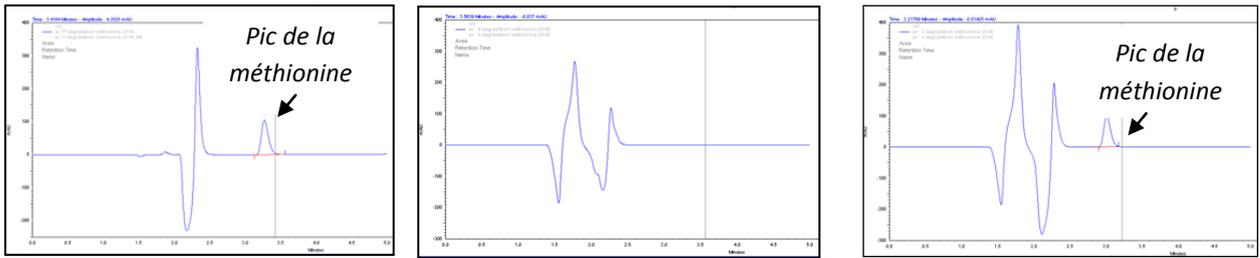
- **Etude de dégradation forcée de la méthionine**

- Dégradation hydrolytique

Les résultats de la dégradation hydrolytique sont présentés dans le tableau XXX et les chromatogrammes obtenus sont présentés dans la figure VI.

**Tableau XXX.** Résultats des tests de dégradation hydrolytique.

| <b>Solution n°</b>                                   | <b>1</b> | <b>2</b> | <b>3</b> | <b>4</b> | <b>5</b> | <b>6</b> | <b>7</b> | <b>8</b> |
|--|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| Concentration après dégradation ( $\mu\text{g/mL}$ ) | 85,9     | 77,6     | 87,0     | 0        | 17,7     | 86,6     | 83,9     | 78,2     |
| % de dégradation                                     | 14,1     | 24,4     | 13,0     | 0        | 82,3     | 13,4     | 16,1     | 21,8     |

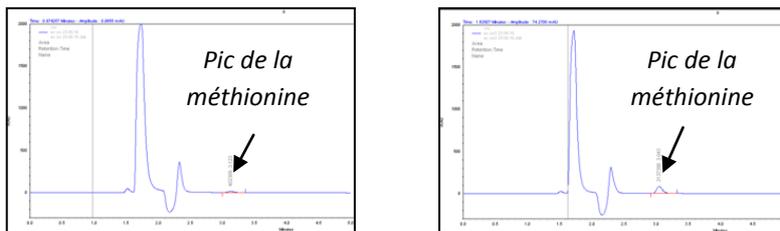


**Figure VI.** Chromatogramme de la solution mère témoin de méthionine (à gauche), de la solution de dégradation hydrolytique n°4 sans méthionine (au centre) et de la solution de dégradation hydrolytique n°3 (à droite).

La dégradation hydrolytique a bien été obtenue mais aucun produit de dégradation n'est visible à 205 nm.

- Dégradation oxydative

Les chromatogrammes obtenus pour la dégradation oxydative sont présentés dans la figure VII.

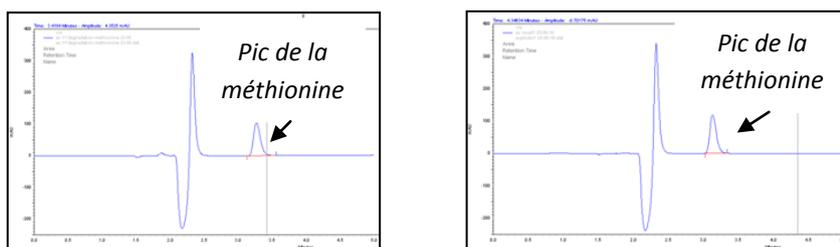


**Figure VII.** Chromatogramme du premier mélange (à gauche) et du second mélange (à droite) de dégradation oxydative de la méthionine.

Le résultat du premier mélange correspond à une dégradation de 85,7 %, et le second, à une dégradation de 27.8 %. Aucun produit de dégradation n'est visible à 205 nm.

- Photodégradation

Les résultats obtenus pour la photodégradation sont présentés dans la figure VIII.



**Figure VIII.** Chromatogramme de la solution de méthionine témoin à 100 µg/mL (à gauche) et de la solution exposée 6h sous lampe UV (à droite)

Aucune dégradation n'a été observée sur les 3 solutions.

*b. Résultats des dosages de la méthionine*

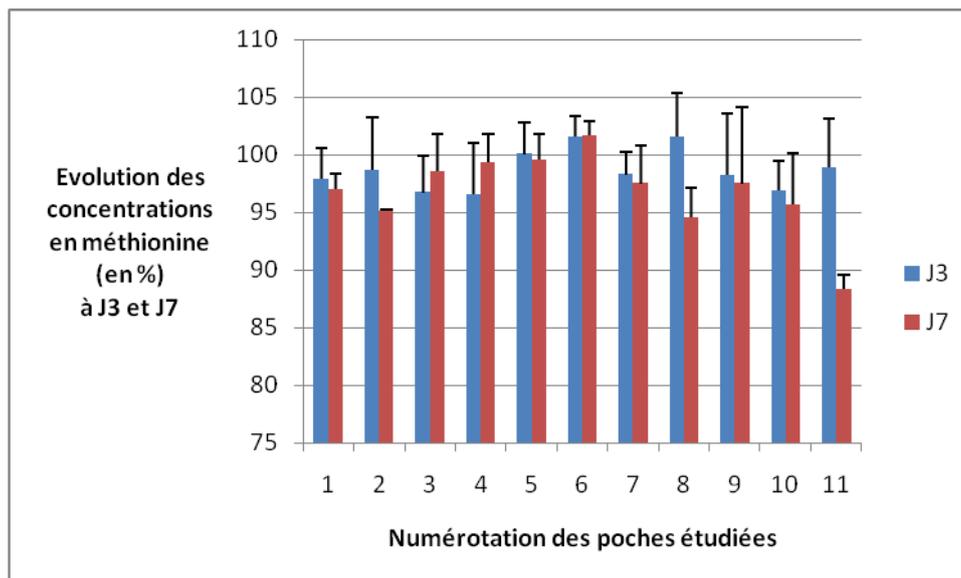
Les résultats de l'écart entre concentration obtenue à J0 et concentration théorique en méthionine des moyennes des triplicatas des 11 poches sont présentés dans le tableau XXXI.

Les résultats de l'évolution de la concentration en méthionine, à J3 et J7, des moyennes des triplicatas des 11 poches sont présentés dans le graphique XI.

Les résultats de l'évolution de la concentration en méthionine après dégradation forcée sont présentés dans le tableau XXXII.

**Tableau XXXI.** Résultats de l'écart entre concentration obtenue à J0 (noté C.) et concentration théorique en méthionine des moyennes des triplicatas des 11 poches.

| N° de poche | C. théorique (g/L) | C. à J0 (écart-type) (g/L) | Ecart (%) à la valeur théorique |
|-------------|--------------------|----------------------------|---------------------------------|
| 1           | 0,97               | 0,93 (0,03)                | -4,33                           |
| 2           | 0,97               | 0,93 (0,04)                | -4,64                           |
| 3           | 0,97               | 0,94 (0,02)                | -2,61                           |
| 4           | 0,97               | 0,93 (0,02)                | -4,02                           |
| 5           | 0,97               | 0,93 (0,01)                | -4,33                           |
| 6           | 0,97               | 0,92 (0,03)                | -4,95                           |
| 7           | 0,97               | 0,93 (0,01)                | -3,92                           |
| 8           | 1,43               | 1,34 (0,01)                | -6,27                           |
| 9           | 0,97               | 0,93 (0,05)                | -3,78                           |
| 10          | 0,97               | 0,93 (0,02)                | -3,81                           |
| 11          | 0,97               | 0,94 (0,03)                | -2,92                           |



**Graphique XI.** Résultats de l'évolution de la concentration en méthionine à J3 et J7 des moyennes des triplicatas des 11 poches et écarts-type associés.

**Tableau XXXII.** Résultats de l'évolution de la concentration en méthionine après dégradation forcée.

|                      | C. poche 1.1 avant dégradation (g/L) | C. après dégradation (g/L) | % retrouvé après dégradation |
|----------------------|--------------------------------------|----------------------------|------------------------------|
| Dégradation forcée 1 | 0,92                                 | 0,67                       | 72,91                        |
| Dégradation forcée 2 | 0,92                                 | 0,75                       | 81,84                        |
| Dégradation forcée 3 | 0,92                                 | 0,78                       | 84,06                        |
| Dégradation forcée 4 | 0,92                                 | 0,61                       | 66,07                        |

L'écart moyen constaté entre la concentration théorique et la moyenne des concentrations à J0 des 11 triplicatas de poches est de -4,1 %.

Pour les poches 1 à 10, aucune variation de la concentration supérieure à 10 % n'a été retrouvée au cours du temps, ce qui témoigne de la stabilité de cet élément. Pour la poche 11 (celle contenant une forte proportion en glucose), une diminution de la concentration en méthionine est obtenue avec un pourcentage moyen obtenu à J7 par rapport à J0 de 88,4 %.

Concernant les 4 poches de dégradation forcée, une dégradation de la méthionine comprise entre 15,94 et 33,93 % a été obtenue, sans pics de produits de dégradation visibles à 205 nm.

## Discussion

Afin d'évaluer le profil de stabilité physico-chimique de poches de nutrition parentérale pédiatrique « à la carte », différentes compositions de poches ont été définies. Ces poches ont été fabriquées et sur chacune, plusieurs paramètres ont été analysés.

Devant l'impossibilité de doser tous les constituants des poches, il a été décidé de suivre la stabilité d'un constituant dosable au sein de l'établissement, pour chaque catégorie ; c'est-à-dire un acide aminé, un oligoélément, une vitamine hydrosoluble, une vitamine liposoluble. Plusieurs ions ont été choisis d'être dosés, ainsi que le glucose représentant les glucides. Ces choix se sont appuyés sur ceux retrouvés dans la littérature, tant sur des études de stabilité de même objectif (3,15), que sur des études visant à étudier des interactions définies (17–20). L'objectif était également de tester prioritairement les méthodes de dosage disponibles au sein de l'établissement. La mise au point d'une nouvelle méthode de dosage n'était envisagée que lorsque l'établissement n'en disposait pas pour le suivi d'un paramètre choisi d'être étudié.

Les résultats de stabilité de ces constituants ont été extrapolés à l'ensemble de la catégorie à laquelle ils appartiennent et c'est là une première limite de notre méthode.

Plusieurs compositions de poche ont été analysées, ce qui ne représente pas toutes les poches de nutrition « à la carte », mais permet de cibler les prescriptions de la plus large population pédiatrique pour laquelle les poches industrielles ne peuvent être utilisées.

D'autre part, la stabilité des poches « à la carte » semble peu étudiée ; celle des poches standardisées est plus représentée dans la littérature (3,15).

La durée de l'étude a été fixée à 7 jours, période courte, justifiée par le fait que les préparations « à la carte » sont des PM.

Concernant l'inspection visuelle, celle-ci ne montre pas de changement de coloration des 11 triplicatas de poches ni de présence de particules visibles non dissoutes.

Les mesures du pH et de l'osmolalité sont réalisées par des appareils dédiés à ces mesures : pHmètre et osmomètre. Ce choix de méthode de dosage est donc justifié. Les résultats obtenus ne montrent pas de signes d'instabilité de ces 2 paramètres au cours du temps. Dans notre cas, l'osmolalité, mesurée selon le principe de l'abaissement de la tension de vapeur, s'affranchit du biais lié à la congélation. Mais une mesure de l'osmolalité à l'aide d'un osmomètre fonctionnant sur le principe de la mesure par abaissement du point cryoscopique de la solution à analyser peut également être utilisée (15), exemple pour lequel l'évolution de ce paramètre était inférieure à 10 %.

Les valeurs obtenues pour le test de limpidité sont, à J0, hors des normales présentées dans la littérature (17,18), ce qui ne nous permet pas de conclure quant à ce critère de limpidité. Cependant, l'absorbance des poches serait majoritairement due à la coloration jaune des vitamines apportées par le Cernevit<sup>®</sup>, et donc la présence de vitamines dans les poches pourrait être responsable des valeurs hors norme obtenues pour ce test. Les valeurs plus élevées des absorbances des poches 2 (à forte concentration en vitamines) vont dans ce sens. Un comptage particulière des particules non visibles (8,17) par des appareils comme le Coulter Counter<sup>®</sup> de chez Beckman pourrait être une méthode plus appropriée afin de pouvoir conclure sur ce critère. Cependant, cet appareil n'était pas disponible.

Le dosage du sodium et du potassium, par photométrie de flamme, est réalisé selon la même méthode que celle appliquée en routine en nutrition parentérale au laboratoire de contrôle du CHU de Poitiers. Ce choix de méthode est donc justifié. Tous les résultats obtenus démontrent une stabilité de ces 2 ions au cours du temps. Dans ce même objectif, la potentiométrie pourrait également être utilisée (3), exemple pour lequel une stabilité de ces 2 ions était obtenue.

Concernant les dosages du fer total, du calcium ionisé et du glucose, la méthode utilisée a été validée au laboratoire de biochimie sur une matrice plasmatique et non une matrice de nutrition parentérale. Ceci pourrait expliquer l'important écart, retrouvé pour le calcium ionisé, entre la concentration théorique et la concentration obtenue à J0. Cette méthode, non juste mais fidèle, permet de supposer la stabilité du calcium à J7, excepté pour le calcium de la poche 9.1, mais pour laquelle une erreur de manipulation lors du dosage est suspectée. Une confirmation des résultats est à envisager par une méthode plus adaptée. Les

résultats obtenus pour le fer total et le glucose suggèrent leur stabilité au cours du temps.

Comme pour le fer, le glucose et le calcium, les dosages des vitamines E et B1 se font à partir d'une méthode validée sur une matrice plasmatique. Ceci pourrait expliquer l'important écart retrouvé entre la concentration théorique et la concentration obtenue à J0.

Un important écart est également retrouvé entre les poches de concentration théorique identique. Les résultats aberrants obtenus montrent que la méthode choisie est inadaptée. De plus, ces dosages n'ont été effectués que sur une des poches de chaque triplicata, ce qui représente une limite de notre méthode. D'autres méthodes de dosage peuvent aussi être utilisées : spectroscopie par résonance magnétique nucléaire, HPLC couplé à un détecteur UV à barrette de diodes (18–20). Cependant, il est connu que les vitamines sont des éléments peu stables lorsqu'elles sont ajoutées à de tels mélanges et la vitamine C, la plus fragile, est souvent utilisée comme marqueur de stabilité (2,22). Sa stabilité serait donc pertinente à étudier par le biais d'une méthode de dosage à développer.

Concernant le G1P, les dosages ont été réalisés par l'intermédiaire d'un kit avec détection photométrique, dont la méthode préconisée dans les recommandations d'utilisation a été respectée (19). Les résultats obtenus semblent témoigner de la stabilité de cet élément dans l'ensemble des poches au cours du temps. Mais ces résultats nécessitent d'être confirmés par une seconde méthode.

Aucune interaction entre le calcium et le phosphore, apportés ici sous forme organique, ne semble mise en évidence (8,22).

Concernant la méthionine, une méthode de dosage en HPLC-UV, indicatrice de stabilité, a été développée. Celle-ci permet de démontrer la stabilité à J7 de ce composé pour les 10 premières compositions de poches. Concernant la 11<sup>ème</sup> composition de poche (avec forte concentration en glucose), un début de dégradation de la méthionine est visible à J7 et l'interaction suspectée serait la réaction de Maillard (15,32). La réalisation d'un aminogramme permettrait d'avoir des données plus complètes quant à la stabilité des acides aminés (15).

Les tests de dégradation forcée permettent d'obtenir une dégradation de certains composés. C'est le cas pour le glucose et la méthionine, dont l'interaction suspectée est la réaction de Maillard ; supposition majorée par la coloration marron qu'ont pris

les poches de dégradation 3 et 4 (15,32,33). Les valeurs obtenues pour les autres paramètres dosés ne montrent pas de dégradation sous l'action de la lumière et de la température.

Ces tests incitent donc à conserver les poches à température réfrigérée et à l'abri de la lumière, mesures devant être appliquées à la pharmacie et dans les services de soins, afin de garantir une plus grande stabilité des poches.

## Conclusion-Perspectives

Les poches de nutrition parentérale pédiatrique « à la carte » sont encore très utilisées de nos jours. De ce fait, l'objectif de cette étude était d'étudier la stabilité physico-chimique de certaines compositions définies de ces poches « à la carte » en testant prioritairement les méthodes de dosage disponibles au sein de l'établissement. Cet objectif est d'autant plus important que les BPP et BPF prévoient également le suivi des « éléments et validations ayant conduit à la détermination de la date de péremption et des conditions de conservation » ; critère auquel l'étude de stabilité répond (1). Pour cela, un certain nombre de paramètres ont été dosés et analysés durant 7 jours, sur 11 compositions de poches fabriquées en triple exemplaire.

En considérant les paramètres dosés pour lesquels des résultats exploitables ont été obtenus, il peut être conclu que l'adjonction de forte concentration en vitamines, en G1P, en NaCl 20 %, en sulfate de magnésium, en oligoéléments, en gluconate de calcium, en acides aminés, en chlorure de potassium ou en vitamine C n'induit pas de modification de stabilité physico-chimique par rapport à celle obtenue pour la poche de base. Une péremption empirique de ces poches, fixée à 3 jours, semble raisonnable. Cependant, l'adjonction de forte concentration en glucose se traduit par une diminution de la concentration en méthionine, traduisant une instabilité à J7.

Les paramètres dosés ne sont cependant pas exhaustifs et certaines méthodes utilisées, adaptées à l'équipement disponible de l'établissement, ne sont pas les plus adaptées à la nutrition parentérale. L'étude réalisée permet d'apporter des tendances de stabilité mais ne permet pas de conclure à une stabilité complète des poches étudiées. Cette affirmation nécessiterait de nombreuses investigations supplémentaires, et ne serait valable que pour la composition stricte de la poche étudiée. L'étude serait à réitérer dès lors qu'un des composants ou qu'une concentration d'un élément diffère.

Néanmoins, dans notre démarche d'étude préliminaire, des axes d'amélioration sont à envisager : la mise en place d'une méthode de dosage pour les vitamines E et C (vitamine hydrosoluble plus pertinente à étudier que la vitamine B1) sur une matrice de nutrition parentérale, l'utilisation d'une seconde méthode de dosage pour le G1P, la mise en place d'un comptage particulaire des particules non visibles et la mise en place d'un suivi des acides aminés par aminogramme par exemple.

Les connaissances les plus complètes possibles de la stabilité de ces poches sont recherchées de façon à sécuriser la prise en charge des patients, prématurés à risque, à qui elles sont administrées.

## Bibliographie

1. Instruction n° DGOS/PF2/DGS/PP2/2015/85 Gestion des risques liée à l'activité de nutrition parentérale en réanimation néonatale, en néonatalogie et en pédiatrie par la mise en place de bonnes pratiques organisationnelles – Actualisation le 20 mars 2015 [Internet]. [cité 2 août 2016]. Disponible sur: <http://circulaire.legifrance.gouv.fr/index.php?action=afficherCirculaire&hit=1&r=39383>
2. nutrition\_parenterale.pdf [Internet]. [cité 21 déc 2016]. Disponible sur: [http://www.cregg.org/site/documents/nutrition\\_parenterale.pdf](http://www.cregg.org/site/documents/nutrition_parenterale.pdf)
3. Bouchoud L. Formulation et impact clinique de nutriments parentéraux standards pour le prématuré et sécurisation du processus d'administration par des études de compatibilité physicochimique [Thèse de doctorat n°4372]. 2012.
4. Fusch C, Bauer K, Böhles HJ, Jochum F, Koletzko B, Krawinkel M, et al. Neonatology/Paediatrics – Guidelines on Parenteral Nutrition, Chapter 13. 2009 [cité 21 déc 2016]; Disponible sur: <https://doi.org/10.3205/000074>
5. Evaluation des pratiques en matière de nutrition parentérale pédiatrique [Internet]. [cité 19 déc 2016]. Disponible sur: <http://www.igas.gouv.fr/IMG/pdf/2014-168R.pdf>
6. Tapia-Rombo CA, Guerrero-Vara MI, Aguilar-Solano AMG, Mendoza-Zanella RM, Gómez-de-los-santos LS. [Associated factors with complications of the use of parenteral nutrition in premature infants]. Rev Investig Clin Organo Hosp Enfermedades Nutr. avr 2013;65(2):116- 29.
7. Ríos-González R, Anaya-Florez MS, Gutiérrez-Hernández JI, Morán-Villota S. [Parenteral nutrition in pediatric patients: indications and complications in third level]. Rev Medica Inst Mex Seguro Soc. 2015;53 Suppl 3:S262-269.
8. Guide de nutrition de l'adulte - CHU de Liège [Internet]. [cité 16 janv 2017]. Disponible sur: [http://www.chu.ulg.ac.be/upload/docs/application/pdf/2009-01/guide\\_1.pdf](http://www.chu.ulg.ac.be/upload/docs/application/pdf/2009-01/guide_1.pdf)
9. Journal International de Médecine Nutrition parentérale en pédiatrie : l'IGAS demande des réformes – Actualisation le 29 avril 2015 [Internet]. [cité 2 août 2016]. Disponible sur: [http://www.jim.fr/medecin/actualites/pro\\_societe/e-docs/nutrition\\_parenterale\\_en\\_pediatrie\\_1\\_igas\\_demande\\_des\\_reformes\\_\\_151898/document\\_actu\\_pro.phtml](http://www.jim.fr/medecin/actualites/pro_societe/e-docs/nutrition_parenterale_en_pediatrie_1_igas_demande_des_reformes__151898/document_actu_pro.phtml)
10. Société Française de Néonatalogie Bulletin d'information n°5 – Actualisation en décembre 2014 [Internet]. [cité 2 août 2016]. Disponible sur: [http://sdp.perinat-france.org/SFN/files/SFN\\_newsletter\\_005\\_decembre\\_2014.pdf](http://sdp.perinat-france.org/SFN/files/SFN_newsletter_005_decembre_2014.pdf)
11. Bonnes-pratiques-preparation-2007.pdf [Internet]. [cité 10 janv 2017]. Disponible sur: <http://www.eqo.fr/content/download/81526/889966/version/1/file/Bonnes-pratiques-preparation-2007.pdf>
12. SFPC GERPAC Guide méthodologique des études de stabilité des préparations. Avril 2013.

13. Trissel L. Handbook on injectable drugs. 13th edition. American Society of Health-System Pharmacists; 2005. 1645 p.
14. Pharmacopée Européenne 5.0 Contamination particulière : particules visibles 2.9.20. Janvier 2005 - page 271.
15. Rey J-B. Standardisation des mélanges pour nutrition parentérale pédiatrique : stabilité physico-chimique et impact médico-économique [Thèse de doctorat]. 2008.
16. Site web de la pharmacie des HUG. Administration de produits injectables par voie orale ou entérale [Internet]. [cité 2 août 2016]. Disponible sur: [http://pharmacie.hug-ge.ch/infomedic/utilismedic/admin\\_injperos.pdf](http://pharmacie.hug-ge.ch/infomedic/utilismedic/admin_injperos.pdf)
17. Bardin C, Astier A, Vulto A, Sewell G, Vigneron J, Trittler R, et al. Guidelines for the practical stability studies of anticancer drugs : a European consensus conference. *Ann Pharm Fr.* juill 2011;69(4):221- 31.
18. Pharmacopée Européenne 7.0. test 2.2.1.
19. Technical bulletin – Sigma Aldrich Product information : Glucose-1-Phosphate (G1P) Colorimetric Assay Kit.
20. Dupoirion D, Richard H, Chabert-Desnot V, Devys C, Leynia P, Boisdron-Celle M. In vitro stability of low-concentration ziconotide alone or in admixtures in intrathecal pumps. *Neuromodulation J Int Neuromodulation Soc.* juill 2014;17(5):472- 482; discussion 482.
21. Quality Guidelines : ICH [Internet]. [cité 29 août 2016]. Disponible sur: <http://www.ich.org/products/guidelines/quality/article/quality-guidelines.html>
22. Test de corrélation entre deux variables - Documentation - Wiki - STHDA [Internet]. [cité 21 nov 2016]. Disponible sur: <http://www.sthda.com/french/wiki/test-de-correlation-entre-deux-variables#cest-quoi-le-test-de-correlation>
23. Folzer E, Diepold K, Bomans K, Finkler C, Schmidt R, Bulau P, et al. Selective Oxidation of Methionine and Tryptophan Residues in a Therapeutic IgG1 Molecule. *J Pharm Sci.* sept 2015;104(9):2824- 31.
24. Pharmacopée Européenne 5.0. DL-méthionine. Janvier 2005 - page 2166.
25. Pearson Correlation Coefficient Calculator [Internet]. [cité 21 nov 2016]. Disponible sur: <http://www.socscistatistics.com/tests/pearson/>
26. GraphPad QuickCalcs: t test calculator [Internet]. [cité 21 nov 2016]. Disponible sur: <https://www.graphpad.com/quickcalcs/ttest1.cfm>
27. Ribeiro DO, Pinto DC, Lima LMTR, Volpato NM, Cabral LM, de Sousa VP. Chemical stability study of vitamins thiamine, riboflavin, pyridoxine and ascorbic acid in parenteral nutrition for neonatal use. *Nutr J.* 2011;10:47.
28. Huang D, Wu H, Wu Z. Stability of amino acids and vitamins in total nutrient admixture. *Zhonghua Wai Ke Za Zhi.* mai 1995;33(5):269- 72.

29. Uccello-Barretta G, Balzano F, Aiello F, Falugiani N, Desideri I. Stability of hydrophilic vitamins mixtures in the presence of electrolytes and trace elements for parenteral nutrition: a nuclear magnetic resonance spectroscopy investigation. *J Pharm Biomed Anal.* 25 mars 2015;107:7- 10.
30. Kearney MC, Allwood MC, Martin H, Neal T, Hardy G. The influence of amino acid source on the stability of ascorbic acid in TPN mixtures. *Nutr Burbank Los Angel Cty Calif.* févr 1998;14(2):173- 8.
31. Pharmacopée Européenne 6.0 Contamination particulière : particules non visibles 2.9.19. Page 319.
32. Newton DW. Maillard reactions in pharmaceutical formulations and human health. *Int J Pharm Compd.* févr 2011;15(1):32- 40.
33. Machiels D, Istasse L. La réaction de Maillard : importance et applications en chimie des aliments [Internet]. [cité 11 août 2016]. Disponible sur: [http://www.facmv.ulg.ac.be/amv/articles/2002\\_146\\_6\\_04.pdf](http://www.facmv.ulg.ac.be/amv/articles/2002_146_6_04.pdf)

## Annexes

**Annexe I :** Validation des méthodes de dosage du glucose, du fer, du calcium ionisé, de l'osmolalité, du sodium, du potassium, des vitamines E et B1

### Validation de la méthode de dosage du glucose

| <b>Répétabilité de la méthode</b> | <b>Automate 1</b> |       | <b>Automate 2</b> |       |
|-----------------------------------|-------------------|-------|-------------------|-------|
| Contrôle                          | CQ1               | CQ2   | CQ1               | CQ2   |
| Niveaux                           | Bas               | Moyen | Bas               | Moyen |
| Concentrations théoriques (g/L)   | 1,02              | 2,41  | 1,02              | 2,41  |
| N                                 | 30,00             | 30,00 | 30,00             | 30,00 |
| moyenne (g/L)                     | 1,00              | 2,33  | 1,04              | 2,42  |
| Ecart-type                        | 0,01              | 0,02  | 0,01              | 0,01  |
| Biais de la moyenne (%)           | -1,96             | -3,32 | 1,96              | 0,41  |
| CV %                              | 0,89              | 0,84  | 0,91              | 0,58  |
| Critères d'admissibilité SFBC*    | 2,40              | 1,80  | 2,40              | 1,80  |

SFBC : Société Française de Biologie Clinique

| <b>Reproductibilité de la méthode</b> | <b>Automate 1</b> |        | <b>Automate 2</b> |        |
|---------------------------------------|-------------------|--------|-------------------|--------|
| Contrôle                              | CQ1               | CQ2    | CQ1               | CQ2    |
| Niveaux                               | Bas               | Moyen  | Bas               | Moyen  |
| Concentrations théoriques (g/L)       | 1,02              | 2,41   | 1,02              | 2,41   |
| N                                     | 208,00            | 207,00 | 222,00            | 224,00 |
| moyenne (g/L)                         | 1,01              | 2,38   | 1,03              | 2,42   |
| Biais de la moyenne (%)               | -1,27             | -1,37  | 0,88              | 0,58   |
| CV %                                  | 1,90              | 1,80   | 1,20              | 1,10   |
| Critères d'admissibilité SFBC         | 3,20              | 2,40   | 3,20              | 2,40   |

### Validation de la méthode de dosage du fer

#### Répétabilité de la méthode

|   |       |       |
|---|-------|-------|
| Contrôle  | CQ1   | CQ2   |
| Niveaux   | Bas   | Moyen |
| Concentrations théoriques ( $\mu\text{mol/L}$ ) | 19,90 | 43,30 |
| N   | 30,00 | 30,00 |
| moyenne ( $\mu\text{mol/L}$ )                   | 19,89 | 43,16 |
| Ecart-type                                      | 0,28  | 0,36  |
| Biais de la moyenne (%)                         | -0,05 | -0,32 |
| CV %  | 1,40  | 0,83  |
| Critères d'admissibilité SFBC                   | 6,00  | 3,80  |

**Reproductibilité de la méthode**

|   |        |        |
|---|--------|--------|
| Contrôle  | CQ1    | CQ2    |
| Niveaux   | Bas    | Moyen  |
| Concentrations théoriques ( $\mu\text{mol/L}$ ) | 19,70  | 42,80  |
| N   | 400,00 | 658,00 |
| moyenne ( $\mu\text{mol/L}$ )                   | 20,10  | 43,00  |
| Biais de la moyenne (%)                         | 2,03   | 0,47   |
| CV %  | 1,30   | 1,10   |
| Critères d'admissibilité SFBC                   | 8,00   | 5,00   |

**Validation de la méthode de dosage du calcium ionisé****Répétabilité de la méthode**

|   |       |       |       |
|---|-------|-------|-------|
| Contrôle                                    | CQ1   | CQ2   | CQ3   |
| Niveaux                                     | Bas   | Moyen | Elevé |
| N   | 15,00 | 22,00 | 23,00 |
| moyenne (mmol/L)                            | 1,57  | 1,17  | 0,80  |
| Ecart-type                                  | 0,003 | 0,002 | 0,000 |
| CV %  | 0,16  | 0,18  | 0,00  |
| Critères d'admissibilité par le laboratoire | 1,20  | 1,20  | 1,20  |

**Reproductibilité de la méthode**

|   |        |        |        |
|---|--------|--------|--------|
| Contrôle                                    | CQ1    | CQ2    | CQ3    |
| Niveaux                                     | Bas    | Moyen  | Elevé  |
| N   | 551,00 | 538,00 | 545,00 |
| moyenne (mmol/L)                            | 1,61   | 1,20   | 0,79   |
| Ecart-type                                  | 0,01   | 0,01   | 0,01   |
| CV %  | 0,82   | 0,55   | 1,35   |
| Critères d'admissibilité par le laboratoire | 1,60   | 1,60   | 1,60   |

**Validation de la méthode de mesure de l'osmolalité****Répétabilité de la méthode**

|                                |        |        |         |
|--------------------------------|--------|--------|---------|
| Contrôles                      | CQ1    | CQ2    | CQ3     |
| Niveaux                        | Bas    | Moyen  | Haut    |
| Osmolalité théorique (mOsm/kg) | 100,00 | 290,00 | 1000,00 |
| N                              | 6,00   | 6,00   | 6,00    |
| Moyenne (mOsm/kg)              | 94,83  | 285,33 | 1010,00 |
| Ecart-type                     | 2,32   | 2,25   | 1,79    |
| Biais de la moyenne            | -5,17  | -1,61  | 1,00    |
| CV %                           | 2,44   | 0,79   | 0,18    |
| Critère d'admissibilité        | 5,00   | 5,00   | 5,00    |

**Reproductibilité de la méthode**

| Contrôles                      | CQ1    | CQ2    | CQ3     |
|--------------------------------|--------|--------|---------|
| Niveaux                        | Bas    | Moyen  | Haut    |
| Osmolalité théorique (mOsm/kg) | 100    | 290    | 1000    |
| N                              | 6,00   | 6,00   | 6,00    |
| Moyenne (mOsm/kg)              | 102,47 | 291,88 | 1007,17 |
| Ecart-type                     | 4,48   | 5,08   | 6,01    |
| Biais de la moyenne            | 2,47   | 0,65   | 0,72    |
| CV %                           | 4,37   | 1,74   | 0,60    |
| Critère d'admissibilité        | 5,00   | 5,00   | 5,00    |

**Validation de la méthode de dosage du sodium****Répétabilité de la méthode**

| Contrôles                          | CQ1   | CQ2   | CQ3   |
|------------------------------------|-------|-------|-------|
| Niveaux                            | Bas   | Moyen | Haut  |
| Concentrations théoriques (mmol/L) | 5,00  | 50,00 | 75,00 |
| N                                  | 6,00  | 6,00  | 6,00  |
| Moyenne (mmol/L)                   | 4,72  | 47,02 | 72,25 |
| Ecart-type                         | 0,04  | 0,40  | 0,63  |
| Biais de la moyenne                | -5,60 | -5,97 | -3,67 |
| CV %                               | 0,95  | 0,84  | 0,87  |
| Critère d'admissibilité            | 10,00 | 5,00  | 5,00  |

**Reproductibilité de la méthode**

| Contrôles                          | CQ1   | CQ2   | CQ3   |
|------------------------------------|-------|-------|-------|
| Niveaux                            | Bas   | Moyen | Haut  |
| Concentrations théoriques (mmol/L) | 5,00  | 50,00 | 75,00 |
| N                                  | 6,00  | 6,00  | 6,00  |
| Moyenne (mmol/L)                   | 5,27  | 50,40 | 75,95 |
| Ecart-type                         | 0,36  | 0,40  | 1,88  |
| Biais de la moyenne                | 5,33  | 0,80  | 1,27  |
| CV %                               | 6,76  | 0,80  | 2,47  |
| Critère d'admissibilité            | 10,00 | 5,00  | 5,00  |

## Validation de la méthode de dosage du potassium

### Répétabilité de la méthode

| Contrôles                          | CQ1   | CQ2   | CQ3   |
|------------------------------------|-------|-------|-------|
| Niveaux                            | Bas   | Moyen | Haut  |
| Concentrations théoriques (mmol/L) | 5,00  | 50,00 | 75,00 |
| N                                  | 6,00  | 6,00  | 6,00  |
| Moyenne (mmol/L)                   | 4,76  | 47,33 | 72,13 |
| Ecart-type                         | 0,05  | 0,39  | 0,46  |
| Biais de la moyenne                | -4,80 | -5,33 | -3,82 |
| CV %                               | 1,15  | 0,83  | 0,64  |
| Critère d'admissibilité            | 10,00 | 5,00  | 5,00  |

### Reproductibilité de la méthode

| Contrôles                          | CQ1   | CQ2   | CQ3   |
|------------------------------------|-------|-------|-------|
| Niveaux                            | Bas   | Moyen | Haut  |
| Concentrations théoriques (mmol/L) | 5     | 50,0  | 75,0  |
| N                                  | 6,00  | 6,00  | 6,00  |
| Moyenne (mmol/L)                   | 5,28  | 49,75 | 75,08 |
| Ecart-type                         | 0,38  | 0,65  | 1,29  |
| Biais de la moyenne                | 5,67  | -0,50 | 0,11  |
| CV %                               | 7,16  | 1,31  | 1,72  |
| Critère d'admissibilité            | 10,00 | 5,00  | 5,00  |

## Validation de la méthode de dosage de la vitamine E\*

|                                 |         |
|---------------------------------|---------|
| Linéarité (mg/L)                | 0,40-50 |
| Limite de détection (mg/L)      | 0,30    |
| Limite de quantification (mg/L) | 0,40    |
| Précision intra-essai (%)       | 1,40    |
| Précision inter-essais (%)      | 3,20    |

## Validation de la méthode de dosage de la vitamine B1\*

|                                 |       |
|---------------------------------|-------|
| Linéarité (µg/L)                | 1-200 |
| Limite de détection (µg/L)      | 0,50  |
| Limite de quantification (µg/L) | 1,00  |
| Précision intra-essai (%)       | 2,70  |
| Précision inter-essais (%)      | 4,20  |

\* Sources :

[www.recipe.de/en/products\\_acc\\_rep1.html](http://www.recipe.de/en/products_acc_rep1.html)

## SERMENT DE GALIEN

~~~~~

Je jure, en présence des maîtres de la faculté et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité, mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

## **Stabilité physico-chimique des nutritons parentérales pédiatriques : Etude préliminaire**

**Résumé** : En raison de l'absence de formulations standardisées de nutrition parentérale couvrant l'ensemble des situations cliniques de néonatalogie, l'usage de formulations « à la carte » reste prépondérante. Il est ainsi pertinent d'étendre les connaissances sur la stabilité physique et chimique de ces formulations. Une étude portant sur plusieurs paramètres de stabilité physico-chimiques a été menée sur 11 compositions de poches (sans lipides) représentatives de ces formulations. Pour cela, un relevé des prescriptions de ces poches pédiatriques au CHU de Poitiers a été fait sur une période de 6 mois. La composition d'une poche de base a été définie, ainsi que celle de 10 autres poches se distinguant chacune par la présence d'un composant variant. Ces 11 formulations ont été fabriquées en triplicata sur paillasse, en poche monocompartimentale, et conservées à température réfrigérée. Les contrôles et dosages ont été effectués sur une durée de 7 jours : inspection visuelle, test de limpidité, mesures du pH et de l'osmolalité, dosages du sodium, du potassium, du fer total, du glucose, du calcium ionisé, des vitamines E et B1, du glucose-1-phosphate et de la méthionine. Des tests de dégradation forcés utilisant le chauffage et la lumière ont été menés sur la poche de base. Les résultats obtenus ont permis de dégager des profils de stabilité et d'instabilité de ces différents mélanges. Les résultats obtenus pour les vitamines E et B1 ne permettent pas de conclure quant à leur stabilité, contrairement aux autres composants. Une instabilité retrouvée concerne les poches à forte concentration en glucose où une diminution de la concentration en méthionine est retrouvée, ce qui correspondrait à la réaction de Maillard entre glucose et acides aminés. Certaines méthodes de dosage sont critiquables, mais une adaptation des contrôles réalisés a été faite en fonction des appareils et techniques disponibles.

**Mots-clefs** : nutrition parentérale, formulations « à la carte », stabilité physico-chimique, dosage, néonatalogie.

**Abstract** : Due to the lack of standardized formulations of parenteral nutrition covering all neonatology clinical situations, the use of « specific » formulations remains predominant. Extension of knowledge of the physical and chemical stability of these formulations is therefore of relevance. A study of different physicochemical stability parameters was conducted on 11 lipid free bags compositions representative of these formulations. To this end, prescriptions of these pediatric bags were surveyed over a 6 months period at Poitiers' University Hospital. The composition of a basic bag was defined as well as those of 10 other bags, which differ by the presence of a variant component. These formulations were made in triplicate on laboratory bench, in mono compartmental bag, and stored at refrigerated temperature. Controls and assays were performed over a 7 days period: visual inspection, test of clarity, measurements of pH and osmolality, dosages of sodium, potassium, total iron, glucose, ionized calcium, vitamins E and B1, glucose 1-phosphate, and methionine. Forced degradation tests using heat and light were conducted on the basic bag. The results have revealed the stability and instability profiles of these mixtures. The results obtained for vitamins E and B1 don't allow us to conclude about their stability, contrary to the other components. An instability concerns high glucose concentration bags with a decrease of methionine concentration, corresponding to the Maillard reaction between glucose and amino acid. Some assays may be opened to criticism, but an adaptation of controls was made based on available equipment and techniques.

**Keywords** : parenteral nutrition, custom made formulations, physicochemical stability, assay, neonatology.