

Université de Poitiers  
Faculté de Médecine et de Pharmacie

ANNÉE 2017

Thèse n°

THÈSE  
POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT  
DE DOCTEUR EN PHARMACIE  
(Arrêté du 17 juillet 1987)

et

MÉMOIRE  
DU DIPLÔME D'ÉTUDES SPÉCIALISÉES  
DE PHARMACIE HOSPITALIÈRE  
(Décret 88-996 du 19 octobre 1988)

présentée et soutenue publiquement  
le 11 Octobre 2017 à POITIERS  
par Monsieur PIGEON Vivien

**SÉCURISATION DU CIRCUIT DES MÉDICAMENTS POUR  
L'ANALGÉSIE INTRATHÉCALE**

Composition du jury :

**Président :**

- Monsieur OLIVIER Jean-Christophe, Pharmacien, Professeur d'Université, UFR de Pharmacie de Poitiers

**Membres :**

- Madame CRAUSTE-MANCIET Sylvie, Pharmacien, Professeur d'Université et Praticien Hospitalier, CHU de Bordeaux

- Madame BOUSSEAU Anne, Pharmacien, Praticien Hospitalier, CHU de Poitiers

**Directeur de thèse :**

- Monsieur DUPUIS Antoine, Pharmacien, Professeur d'Université et Praticien Hospitalier, CHU de Poitiers

Université de Poitiers  
Faculté de Médecine et de Pharmacie

ANNÉE 2017

Thèse n°

THÈSE  
POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT  
DE DOCTEUR EN PHARMACIE  
(Arrêté du 17 juillet 1987)

et

MÉMOIRE  
DU DIPLÔME D'ÉTUDES SPÉCIALISÉES  
DE PHARMACIE HOSPITALIÈRE  
(Décret 88-996 du 19 octobre 1988)

présentée et soutenue publiquement  
le 11 Octobre 2017 à POITIERS  
par Monsieur PIGEON Vivien

<p><b>SÉCURISATION DU CIRCUIT DES MÉDICAMENTS POUR L'ANALGÉSIE INTRATHÉCALE</b></p>
---

Composition du jury :

**Président :**

- Monsieur OLIVIER Jean-Christophe, Pharmacien, Professeur d'Université, UFR de Pharmacie de Poitiers

**Membres :**

- Madame CRAUSTE-MANCIET Sylvie, Pharmacien, Professeur d'Université et Praticien Hospitalier, CHU de Bordeaux

- Madame BOUSSEAU Anne, Pharmacien, Praticien Hospitalier, CHU de Poitiers

**Directeur de thèse :**

- Monsieur DUPUIS Antoine, Pharmacien, Professeur d'Université et Praticien Hospitalier, 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)
- 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 Lydwyn, 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
- DAHYOT-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-GAUDEFFROY François, hématologie et transfusion (**surnombre jusqu'en 08/2017**)
- 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 t cardio-vasculaire
- KARAYAN-TAPON Lucie, cancérologie
- KEMOUN Gilles, médecine physique et de réadaptation (**en détachement**)
- KITZIS Alain, biologie cellulaire (**surnombre jusqu'en 01/2017**)
- 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 08/2018**)
- MEURICE Jean-Claude, pneumologie
- MIGEOT Virginie, santé publique
- MILLOT Frédéric, pédiatrie, oncologie pédiatrique
- MIMOZ Olivier, anesthésiologie – réanimation
- NEAU Jean-Philippe, neurologie
- ORIOT 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 (en détachement au 01/12)
- 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 Jean-Christophe OLIVIER,***

Pour m'avoir fait l'honneur de présider ce jury.

Veillez trouver dans ce travail l'expression de ma profonde reconnaissance et de mes remerciements les plus respectueux.

***A Monsieur Antoine DUPUIS,***

Pour avoir dirigé cette thèse.

Merci pour ton encadrement au cours de ce travail mais également tout au long de mon internat au Centre Hospitalo-Universitaire de Poitiers.

***A Madame Sylvie CRAUSTE-MANCIET,***

Pour avoir accepté d'être membre de ce jury.

Soyez assurée de ma reconnaissance et de mon respect.

***A Madame Anne BOUSSEAU,***

Pour avoir accepté de siéger parmi les membres de ce jury.

Je te remercie pour ton encadrement dans la réalisation de ce projet.

Reçois ma sincère et respectueuse considération.

***A Madame Christelle AIGRIN,***

Merci pour ton encadrement au cours des 2 stages d'internat où nous avons travaillé ensemble.

Je te remercie également de ta compréhension au cours de la rédaction de cette thèse.

C'est avec beaucoup de plaisir que j'ai travaillé avec toi.

***A l'ensemble des pharmaciens*** avec qui j'ai eu l'opportunité de travailler au cours des 7 semestres d'internat au Centre Hospitalo-Universitaire de Poitiers : Michèle CHABIN, Karine BEUZIT, Claire GRIGNON, Mathieu BAY, Isabelle PRINCET et Delphine BAUWENS.

***Aux pharmaciens*** qui m'ont encadré au début de mon internat au Centre Hospitalier de Romorantin-Lanthenay : Fabienne CLOÛTRE et Nicole MABS.

***A tous les préparateurs de la pharmacie,***

Merci pour votre gentillesse.

Je tiens tout particulièrement à remercier l'équipe du préparatoire (Sandrine, Alfred, Mélanie, Cédric, Virginie, Sabrina, Loïc, Laurence, Coralie, Ludovic) pour leur participation à la partie expérimentale de ma thèse.

***A toute l'équipe d'hygiène hospitalière,***

Merci pour l'encadrement et l'aide apportée dans la réalisation de mon projet.

***A tous les internes que j'ai rencontré tout au long de mon internat,***

Merci pour ces belles années partagées et vos encouragements au cours de ces derniers mois.

***A tous mes amis,***

Merci pour tous les bons moments passés ensemble.

***A ma famille et à mes proches,***

Merci pour votre soutien et vos encouragements tout au long de mes études.

Recevez ce mémoire en guise de remerciements et de témoignage d'affection.

## TABLE DES MATIERES

<b>LISTE DES FIGURES</b> .....	<b>8</b>
<b>LISTE DES TABLEAUX</b> .....	<b>10</b>
<b>LISTE DES ABREVIATIONS</b> .....	<b>11</b>
<b>INTRODUCTION</b> .....	<b>13</b>
<b>1. LA DOULEUR CANCEREUSE : DEFINITION, PRISE EN CHARGE ET PLACE DE L'ANALGESIE INTRATHECALE</b> .....	<b>14</b>
1.1. <u>LES DIFFERENTS TYPES DE DOULEUR CHEZ LE PATIENT CANCEREUX</u> .....	17
1.1.1. <i>Douleurs aiguë / chronique</i> .....	17
1.1.2. <i>Physiopathologie de la douleur</i> .....	18
1.1.3. <i>Douleur cancéreuse</i> .....	19
1.2. <u>LA PRISE EN CHARGE DE LA DOULEUR CANCEREUSE</u> .....	21
1.2.1. <i>Prise en charge de la douleur par excès de nociception</i> .....	22
1.2.2. <i>Prise en charge de la douleur neuropathique</i> .....	26
1.2.3. <i>Alternatives à la prise en charge de la douleur cancéreuse</i> .....	28
1.3. <u>L'ANALGESIE INTRATHECALE</u> .....	29
1.3.1. <i>Définition et principe</i> .....	29
1.3.2. <i>Indications</i> .....	30
1.3.3. <i>Mécanismes d'action de la voie IT</i> .....	31
1.3.4. <i>Molécules utilisées</i> .....	33
1.3.5. <i>Dispositifs d'administration</i> .....	37
1.3.6. <i>Critères de choix</i> .....	38
1.3.7. <i>Le DPI spécifiquement</i> .....	40
1.3.8. <i>Avantages / Inconvénients de la voie intrathécale</i> .....	41
<b>2. MISE EN PLACE DE L'ANALGESIE INTRATHECALE POUR LES PATIENTS CANCEREUX DOULOUREUX CHRONIQUES AU CHU DE POITIERS</b> .....	<b>43</b>
2.1. <u>ORGANISATION DE LA PRISE EN CHARGE ET ROLE DE LA PHARMACIE</u> .....	43
2.1.1. <i>Description de l'organisation</i> .....	43
2.1.2. <i>Rôle de la pharmacie</i> .....	46
2.2. <u>VALIDATION D'UNE METHODE ANALYTIQUE</u> .....	52
2.2.1. <i>Matériels et méthodes</i> .....	52
2.2.2. <i>Résultats</i> .....	61
2.2.3. <i>Discussion</i> .....	71
2.3. <u>ETUDE DE STABILITE PHYSICO-CHIMIQUE</u> .....	73
2.3.1. <i>Données existantes – Recherches bibliographiques</i> .....	73
2.3.2. <i>Matériels et méthodes</i> .....	76
2.3.3. <i>Résultats</i> .....	78
2.3.4. <i>Discussion</i> .....	81
2.4. <u>ETUDE DE STABILITE MICROBIOLOGIQUE</u> .....	83
2.4.1. <i>Matériels et méthodes</i> .....	83
2.4.2. <i>Résultats</i> .....	92
2.4.3. <i>Discussion</i> .....	96
<b>CONCLUSION</b> .....	<b>100</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b> .....	<b>101</b>
<b>LISTE DES ANNEXES</b> .....	<b>104</b>
<b>RESUME - MOTS CLES</b> .....	<b>122</b>
<b>SERMENT DE GALIEN</b> .....	<b>123</b>

## LISTE DES FIGURES

Figure 1. Représentation des paliers de l'OMS [7]	21
Figure 2. Diagramme décisionnel pour la prise en charge des douleurs neuropathiques chez le patient cancéreux [14]	27
Figure 3. Diagramme décisionnel pour la prise en charge de la douleur cancéreuse en cas d'échec aux thérapeutiques habituelles [14]	28
Figure 4. Diagrammes montrant l'évolution de la douleur sur l'EVA après prise en charge par voie intrathécale [17]	29
Figure 5. Représentation anatomique d'une vertèbre lombaire et délimitation des espaces intrathécal et péri-dural [18]	30
Figure 6. Devenir d'un antalgique par voie péri-durale [18]	32
Figure 7. Devenir d'un antalgique par voie intrathécale [18]	32
Figure 8. Topographie de l'analgésie périmédullaire par injection de 2 molécules (sufentanil et morphine) de liposolubilité différente [18]	33
Figure 9. Formule chimique de la morphine	33
Figure 10. Formule chimique de la clonidine	34
Figure 11. Formule chimique de la ropivacaïne	34
Figure 12. Formule chimique du baclofène	35
Figure 13. Formule chimique du ziconotide	35
Figure 14. Dispositif de perfusion externe [18]	37
Figure 15. Dispositif de perfusion interne [18]	38
Figure 16. Technique de remplissage transcutanée des pompes implantables [18]	38
Figure 17. Arbre décisionnel dans la prise en charge périmédullaire de la douleur cancéreuse réfractaire [29]	39
Figure 18. Pompe SYNCHROMED® II	40
Figure 19. Télécommande myPTM®	40
Figure 20. Programmeur N'Vision®	40
Figure 21. Schéma d'administration des bolus	40
Figure 22. Schéma représentant la précision et la justesse d'une méthode	60
Figure 23. Schéma expliquant l'exactitude d'une méthode	60
Figure 24. Exemple d'un chromatogramme	61
Figure 25. Chromatogramme d'un échantillon en présence de NaCl 0,9% seul (blanc)	61
Figure 26. Chromatogramme d'un échantillon contenant les 4 analgésiques (point de gamme haut)	61
Figure 27. Chromatogramme de la morphine avant dégradation par analyse au détecteur UV à barrette de diodes	62
Figure 28. Chromatogramme de la morphine après dégradation par analyse au détecteur UV à barrette de diodes	62
Figure 29. Droite d'étalonnage obtenue pour la morphine à J2	63
Figure 30. Droite d'étalonnage obtenue pour la clonidine à J3	64
Figure 31. Droite d'étalonnage obtenue pour le baclofène à J3	65
Figure 32. Droite d'étalonnage obtenue pour la ropivacaïne à J3	66
Figure 33. Profil d'évolution des taux de recouvrement pour la morphine	69
Figure 34. Profil d'évolution des taux de recouvrement pour la clonidine	70
Figure 35. Profil d'évolution des taux de recouvrement pour le baclofène	70
Figure 36. Profil d'évolution des taux de recouvrement pour la ropivacaïne	71
Figure 37. Evolution du pH en fonction du temps pour les seringues conservées à 4°C et les pompes conservées à 37°C	79
Figure 38. Evolution de l'osmolarité en fonction du temps pour les seringues conservées à 4°C et les pompes conservées à 37°C	79
Figure 39. Evolution de la concentration en morphine en fonction de la valeur mesurée à J0 (exprimée en % de J0) à l'intérieur des seringues et des pompes	80
Figure 40. Evolution de la concentration en clonidine en fonction de la valeur mesurée à J0 (exprimée en % de J0) à l'intérieur des seringues et des pompes	80

Figure 41. Evolution de la concentration en baclofène en fonction de la valeur mesurée à J0 (exprimée en % de J0) à l'intérieur des seringues et des pompes	81
Figure 42. Evolution de la concentration en ropivacaïne en fonction de la valeur mesurée à J0 (exprimée en % de J0) à l'intérieur des seringues et des pompes	81
Figure 43. Croissance de <i>S. aureus</i> en milieu TR	93
Figure 44. Croissance de <i>P. aeruginosa</i> en milieu TR	93
Figure 45. Croissance de <i>C. sporogenes</i> en milieu TR	93
Figure 46 : Croissance de <i>B. subtilis</i> en milieu TS	94
Figure 47 : Croissance de <i>C. albicans</i> en milieu TS	94
Figure 48 : Croissance d' <i>A. brasiliensis</i> en milieu TS	94
Figure 49. Repiquage de <i>S. aureus</i>	95
Figure 50. Repiquage de <i>P. aeruginosa</i>	95
Figure 51. Repiquage de <i>C. sporogenes</i>	95
Figure 52. Repiquage de <i>B. subtilis</i>	95
Figure 53. Repiquage de <i>C. albicans</i>	95
Figure 54. Repiquage d' <i>A. brasiliensis</i>	95

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Douleur Nociceptive / Neuropathique : Caractéristiques	19
Tableau 2. Algorithme décisionnel pour la prise en charge des douleurs neuropathiques [26]	36
Tableau 3. Algorithme décisionnel pour la prise en charge des douleurs nociceptives [26]	37
Tableau 4. Classe de la zone de préparation et de l'environnement en fonction des équipements	49
Tableau 5. Contamination particulière en fonction de la zone	49
Tableau 6. Contamination microbiologique en fonction de la zone	50
Tableau 7. Synthèse des concentrations minimales et maximales en analgésiques (associés ou non) avant le lancement du projet	53
Tableau 8. Concentrations minimales et maximales des 4 molécules utilisées pour la validation de la méthode	54
Tableau 9. Gammes des concentrations des 4 molécules utilisées	54
Tableau 10. Dégradation forcée par l'acide chlorhydrique 1N	56
Tableau 11. Dégradation forcée par la soude 1N	56
Tableau 12. Expression des paramètres de linéarité selon différents référentiels	57
Tableau 13. Expression de la précision selon différents référentiels	59
Tableau 14. Expression de la justesse selon différents référentiels	59
Tableau 15. Coefficients de régression, pentes et ordonnées à l'origine pour la morphine sur 5 jours	63
Tableau 16. Coefficients de régression, pentes et ordonnées à l'origine pour la clonidine sur 5 jours	64
Tableau 17. Coefficients de régression, pentes et ordonnées à l'origine pour le baclofène sur 5 jours	65
Tableau 18. Coefficients de régression, pentes et ordonnées à l'origine pour la ropivacaïne sur 5 jours	66
Tableau 19. Résultats obtenus lors de la validation de la répétabilité pour la morphine	67
Tableau 20. Résultats obtenus lors de la validation de la répétabilité pour la clonidine	67
Tableau 21. Résultats obtenus lors de la validation de la répétabilité pour le baclofène	67
Tableau 22. Résultats obtenus lors de la validation de la répétabilité pour la ropivacaïne	67
Tableau 23. Résultats obtenus lors de la validation de la fidélité intermédiaire pour la morphine	68
Tableau 24. Résultats obtenus lors de la validation de la fidélité intermédiaire pour la clonidine	68
Tableau 25. Résultats obtenus lors de la validation de la fidélité intermédiaire pour le baclofène	68
Tableau 26. Résultats obtenus lors de la validation de la fidélité intermédiaire pour la ropivacaïne	68
Tableau 27. Résultats des concentrations moyennes et écarts-types pour la morphine sur 5 jours	69
Tableau 28. Résultats des concentrations moyennes et écarts-types pour la clonidine sur 5 jours	69
Tableau 29. Résultats des concentrations moyennes et écarts-types pour le baclofène sur 5 jours	70
Tableau 30. Résultats des concentrations moyennes et écarts-types pour la ropivacaïne sur 5 jours	70
Tableau 31. Etudes de stabilité du mélange morphine-clonidine-ropivacaïne (bupivacaïne)	75
Tableau 32. Souches des microorganismes appropriées pour les essais de fertilité et d'applicabilité [42]	83
Tableau 33. Essai de stérilité des milieux de culture	86
Tableau 34. Essai de fertilité des milieux TR et TS	87
Tableau 35. Essai de fertilité des hémocultures	87
Tableau 36. Essai d'applicabilité des milieux TR et TS	89
Tableau 37. Essai d'applicabilité des hémocultures	89
Tableau 38. Essai de stérilité des préparations intrathécales	92
Tableau 39. Vérification des inoculums microbiens utilisés pour les essais de fertilité et d'applicabilité de la méthode	92
Tableau 40. Délais observés et CV calculés pour la croissance microbienne des essais de fertilité et d'applicabilité des milieux de référence de la Pharmacopée (milieux TR et TS)	93
Tableau 41. Délais observés et CV calculés pour la croissance microbienne des essais de fertilité et d'applicabilité des hémocultures	94
Tableau 42. Expression des biais calculés pour les différents essais et méthodes réalisés	96

## LISTE DES ABREVIATIONS

IASP	International Association for the Study of Pain
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
IT	Intrathécal
CHU	Centre Hospitalo-Universitaire
CRETD	Centre Régional d'Etude et de Traitement de la Douleur
NRS	Numeric Rating Scale
ANAES	Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation de la Santé
HAS	Haute Autorité de Santé
SNP	Système Nerveux Périphérique
SNC	Système Nerveux Central
ADP	Accès Dououreux Paroxystiques
SOR	Standarts, Options et Recommandations
AINS	Anti-Inflammatoire Non Stéroïdien
IV	Intraveineuse
PCA	Antalgie Contrôlée par le Patient
SC	Sous-Cutanée
DNLC	Douleur Neuropathique Liée au Cancer
TENS ou NSTC	NeuroStimulation TransCutanée
AMM	Autorisation de Mise sur le Marché
NMDA	N-méthyl-D-aspartate
EVA	Echelle Visuelle Analogique
LCR	Liquide Céphalo-Rachidien
SFAR	Société Française d'Anesthésie et de Réanimation
SFETD	Société Française d'Etude et de Traitement de la Douleur
GABA	Acide Gamma Amino-Butyrique
DPE	Dispositif de Perfusion Externe
PCEA	Analgsie Epidurale Contrôlée par la Patient
DPI	Dispositif de Perfusion Interne
HAD	Hospitalisation A Domicile
RCP	Réunion de Concertation Pluridisciplinaire
ANSM	Agence Nationale pour la Sécurité du Médicament
SSPI	Salle de Surveillance Post-Interventionnelle
USC	Unité de Soins Continus

AFVD	Association Francophone pour Vaincre la Douleur
PUI	Pharmacie à Usage Intérieur
BPP	Bonnes Pratiques de Préparation
ZAC	Zone à Atmosphère Contrôlée
HEPA	High Efficiency Particulate Air
Pa	Pascal
NaCl	Chlorure de Sodium
EPPI	Eau Pour Préparation Injectable
HCl	Acide Chlorhydrique
NaOH	Hydroxyde de Sodium
ACN	Acétonitrile
TFA	Acide tri-fluoroacétique
HPLC	Chromatographie Liquide Haute Performance
SFPC	Société Française de Pharmacie Clinique
GERPAC	Groupe d'Evaluation et de Recherche sur la Protection en Atmosphère Contrôlée
FDA	Food and Drug Administration
ICH	International Conference on Harmonisation
TRe	Taux de Recouvrement
IC	Intervalle de Confiance
PP	Polypropylène
DEHP	Di(2-EthylHexyl)Phtalate
TR	Thioglycolate Résazurine
TS	Trypticase Soja
PSM	Poste de Sécurité Microbiologique
UFC	Unité Formant Colonie
RCP	Résumé des Caractéristiques des Produits

## **INTRODUCTION**

La douleur est définie, selon l'association internationale pour l'étude de la douleur (IASP - International Association for the Study of Pain), comme « *une expérience sensorielle et émotionnelle désagréable, associée à une lésion tissulaire réelle ou potentielle, ou décrite dans des termes évoquant une telle lésion* ».

Cette définition évite de lier étroitement la douleur à son seul stimulus nociceptif et souligne aussi l'intrication étroite existant entre l'organicité d'une douleur et ses conséquences émotionnelles et affectives sur les réactions individuelles de chaque patient.

Bien que les recommandations de prise en charge de la douleur rédigées par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) en 1986 soient toujours d'actualité, certaines techniques ont été amenées à évoluer et à se développer. Parmi elles, l'analgésie par voie intrathécale (IT) occupe une place de plus en plus importante dans le traitement de la douleur chronique réfractaire aux thérapeutiques habituelles.

Au Centre Hospitalo-Universitaire (CHU) de Poitiers, cette technique est utilisée par le Centre Régional d'Etude et de Traitement de la Douleur (CRETD) mais, jusqu'à présent, n'impliquait que peu de patients douloureux cancéreux.

A la suite de l'évolution des pratiques et des données de la littérature, le corps médical a mis en place un projet d'amélioration de la prise en charge des patients douloureux cancéreux chroniques avec une augmentation progressive du nombre de patients traités par analgésie intrathécale.

Dans ce contexte, la pharmacie s'est engagée à participer au circuit de prise en charge de ces patients avec pour objectifs : la fabrication et la libération contrôlées des seringues intrathécales d'analgésiques.

L'objectif de ce travail a été de proposer une organisation à mettre en place par la pharmacie et d'étudier la stabilité physico-chimique et microbiologique des préparations réalisées dans le cadre de l'implémentation de l'analgésie intrathécale au CHU de Poitiers.

## 1. LA DOULEUR CANCEREUSE : DEFINITION, PRISE EN CHARGE ET PLACE DE L'ANALGESIE INTRATHECALE

Plusieurs études, sous forme de questionnaires, ont été publiées pour la prise en charge de la douleur. Elles permettent de mettre en lumière la difficulté de prescription par les médecins non spécialistes de la douleur et les conséquences directes sur le patient.

Dans un 1<sup>er</sup> temps, elles ont été menées chez le patient douloureux chronique et, par la suite, chez le patient douloureux cancéreux chronique, comme décrites ci-dessous.

Selon une 1<sup>ère</sup> étude de 2006 (évaluant la prévalence, la sévérité, le traitement et l'impact de la douleur chronique) réalisée dans 15 pays d'Europe (ainsi qu'en Israël) [1] sur 46 394 personnes, 19% des patients présentaient des douleurs modérées à sévères (pour une douleur d'intensité évaluée entre 5 et 10 sur l'échelle numérique de la douleur NRS (Numeric Rating Scale)) depuis plus de 6 mois associés à plusieurs événements douloureux au cours du dernier mois (au nombre minimum de 2 événements par semaine).

Selon cette même étude, sur 4 839 patients douloureux chroniques (environ 300 par pays étudiés) :

- + 66% présentaient une douleur modérée (NRS = 5-7) et 34% une douleur sévère (NRS > 7) ;
- + 46% parlaient de douleur constante et 54 % de douleur intermittente ;
- + seulement 12% souffraient de douleurs chroniques depuis plus de 2 ans, 67% entre 2 et 20 ans et 21% supérieur à 20 ans ;
- + seulement 1% de ces 4 839 patients donnaient comme cause de leur douleur, le cancer ; les douleurs d'origine rhumatologique, spinale ou traumatique (notamment chirurgicale) étant les plus représentées.

Comme précisée dans la définition de l'IASP, la douleur chronique ne s'arrêtant pas seulement à la sensation douloureuse, elle a également un impact sur la qualité de vie du patient.

- + 19% avaient perdu leur travail des suites de cette douleur chronique, 16% n'avaient plus les mêmes responsabilités et 13% avaient dû changer de travail ;
- + 21% déclaraient être en dépression ;
- + 14% déclaraient être aller voir leur médecin traitant 1 fois au cours des 6 derniers mois, 60% entre 2 et 9 fois et 11% plus de 10 fois ; 35% avaient consulté le même médecin et 54% entre 2 et 6 médecins ;

- ✚ 21% des 4 839 patients n'avaient jamais eu recours à une prescription médicale pour leur douleur, 26% en avaient déjà eu recours mais avaient arrêtés et 52 % prenaient des antalgiques. Parmi les 52% sous antalgiques, 2/3 avaient eu recours à 1 ou 2 thérapeutiques alors que 10% en avaient eu recours à minimum 4. Les analgésiques les plus représentés étaient : anti-inflammatoire non stéroïdien (44%), opioïde faible (23%) et paracétamol (18%) ; les opioïdes forts étaient prescrits dans 5% des cas.
- ✚ Sur cette étude, **40% estimaient être insuffisamment soulagés** et **15% disaient souffrir encore beaucoup**.

Selon une autre étude de 2008 [2] réalisée sur 30 155 sujets :

- ✚ 7 522 avaient déclarés être douloureux chroniques (prévalence = 31,7%) et 4 709 déclaraient avoir une douleur modérée à sévère (prévalence = 19,9%) ;
- ✚ 1 631 présentaient des caractéristiques neuropathiques responsables de leur douleur chronique (prévalence = 6,9%), modérée à sévère pour 1 209 patients (prévalence = 5,1%). Une prévalence élevée était à assigner pour les patients de 50 à 64 ans, exerçant une profession manuelle et vivant en milieu rural.

Enfin, une autre étude EPIC de 2009 (European Pain In Cancer) dédiée aux **patients atteints de cancer** [3] et réalisée dans 11 pays européens, a permis d'étudier les paramètres de la douleur chez des patients cancéreux.

Au final, 573 patients cancéreux avaient été étudiés :

- ✚ 11% ne recevaient aucun traitement antalgique ;
- ✚ 50% estimaient que leur médecin traitant ne considérait pas leur qualité de vie comme un critère important ;
- ✚ Parmi les patients traités par des médicaments, 24% utilisaient un opioïde de stade III seul, 12% de stade II seul, 7% de stade II et III ensemble ou en association avec un antalgique non opioïde et 8% de non opioïde seul.
- ✚ Parmi les patients recevant un traitement, 84% déclaraient leur traitement comme étant assez efficace ou très efficace.
- ✚ Par contre, seulement 48% déclaraient avoir une bonne qualité de vie ; 51% déclaraient avoir un problème de concentration et 69% déclaraient avoir des difficultés pour réaliser certaines activités de la vie quotidienne.
- ✚ **La douleur associée au cancer était décrite comme « pénible » pour 67% des patients, la douleur présentait un coté intolérable du cancer pour 36% d'entre eux et 32% disaient se sentir si mal qu'ils en éprouvaient l'envie de mourir.**

Ce qui ressort de cette étude, c'est une prise en charge de la douleur pour le patient globalement inefficace et difficile en Europe. Selon les patients, les médecins priorisent la prise en charge du cancer tout en délaissant la douleur.

- ✚ Parmi les patients qui avaient une douleur sévère (NRS 7 à 10), seulement 24% recevaient un opioïde fort en monothérapie. Plusieurs raisons étaient à extraire : une difficulté d'appréciation des médecins notamment généralistes, un manque de connaissance, la peur des effets secondaires des opioïdes de stade III.
- ✚ La dépression étant clairement associée à la douleur chronique, cela pouvait expliquer les 32% d'envie de mourir.

## 1.1. Les différents types de douleur chez le patient cancéreux

La plupart des douleurs cancéreuses sont directement liées à la pathologie du patient, mais s'expliquent comme l'ensemble des douleurs rencontrées. En effet, l'origine de la douleur diffère mais les mécanismes physiopathologiques en cause restent communs à toutes les douleurs.

En d'autres termes, les douleurs du patient cancéreux peuvent être identiques à celles du patient non cancéreux.

Il existe différentes classifications de la douleur :

- ✚ selon la durée
  - ❖ douleur aiguë
  - ❖ douleur chronique
- ✚ selon le mécanisme physiopathologique
  - ❖ douleur par excès de nociception
  - ❖ douleur neuropathique
  - ❖ douleur psychogène
- ✚ selon la pathologie
  - ❖ douleur du cancer
  - ❖ douleur hors cancer
- ✚ selon l'étiologie :
  - ❖ douleur mécanique
  - ❖ douleur inflammatoire

### 1.1.1. Douleurs aiguë / chronique

La **douleur aiguë**, provoquée par une lésion tissulaire intense, est une sensation désagréable au cours de laquelle le patient va chercher à organiser certains moyens pour essayer de s'y soustraire. Les réactions peuvent être de différentes natures : végétatives (par exemple, la tachycardie), musculaires et comportementales (notamment les réflexes). On parle également de douleur alarme.

Une fois la lésion tissulaire guérit, le système nociceptif revient à son état initial.

La finalité biologique des modifications induite par la douleur est de favoriser la guérison par un ajustement des réactions et des comportements.

Inversement, une stimulation nociceptive qui va se prolonger risque d'entraîner des modifications structurelles du système nerveux, liées à la plasticité neuronale. Le seuil d'intensité du stimulus

nociceptif se réduit à la suite de réactions inflammatoires et d'atteintes tissulaires à l'origine du mécanisme d'hyperalgésie. Certaines stimulations tactiles peuvent également devenir nociceptives, d'où le terme d'allodynie.

On parle de **douleur chronique** lorsque cette douleur dure plus de 3 à 6 mois, c'est à dire supérieur au temps habituel de cicatrisation.

En dehors de la sensation douloureuse chronique, s'installe une condition de vie changeant chez l'individu. Des répercussions mentales, physiques, comportementales (professionnelles et familiales) sont évoquées. La prise en charge de la douleur chronique tient compte, par conséquent, aussi bien de l'individu lui-même que de son entourage familial et socio-professionnel.

Selon l'Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation en Santé (ANAES) [4], il s'agit plutôt de « syndrome douloureux chronique » qui implique la notion de « difficulté » pour traiter la douleur. Ce concept tente de montrer la complexité du phénomène douloureux chronique, devenu une maladie à part entière, et de sa prise en charge.

Selon la Haute Autorité de Santé (HAS) [5], le syndrome douloureux chronique existe lorsque le patient présente plusieurs des conditions suivantes :

- une douleur persistante ou récurrente ;
- durant au-delà de ce qui est habituel pour la cause initiale, ou est associée à un processus pathologique intermittent ou chronique ;
- répondant mal au traitement médical et/ou invasif approprié ;
- accompagné d'une altération significative et durable du statut fonctionnel.

### 1.1.2. Physiopathologie de la douleur

La douleur par **excès de nociception** est la plus fréquente. Elle est due à une atteinte au niveau tissulaire provoquant un mécanisme d'excitation des nocicepteurs. Quelque soit l'origine du stimulus et son intensité, cela conduit à une lésion tissulaire s'accompagnant d'un mécanisme inflammatoire qui sensibilise et active les nocicepteurs. Elles concernent notamment les douleurs cancéreuses mais également toutes autres lésions tissulaires. Elles répondent bien aux thérapeutiques antalgiques usuelles.

La douleur **neuropathique** est consécutive à une atteinte anatomique du système nerveux central (SNC) et/ou périphérique (SNP) (atteinte d'un nerf, de la moelle...). Le mécanisme physiopathologique proviendrait d'un déséquilibre entre les mécanismes inhibiteurs et excitateurs au cours duquel l'excitation l'emporte sur l'inhibition (mécanismes de modulation inefficaces).

Elle répond mal aux traitements antalgiques classiques. La prise en charge repose essentiellement sur l'utilisation d'antiépileptiques (gabapentine et carbamazépine) ou d'antidépresseurs tricycliques (amitriptyline et clomipramine).

Les caractéristiques de ces 2 types de douleurs sont résumées dans le tableau ci-dessous (Tableau 1).

**Tableau 1. Douleur Nociceptive / Neuropathique : Caractéristiques**

	<b>Douleur Nociceptive</b>	<b>Douleur Neuropathique</b>
<b>Topographie</b>	Régionale, sans topographie neurologique systématisée	Compatible avec une origine neurologique périphérique ou centrale
<b>Sémiologie</b>	Rythme mécanique ou inflammatoire	Composante continue (brûlure) Composante fulgurante, intermittente (décharges électriques) Dysesthésies (Fourmillements, picotements)
<b>Examen neurologique</b>	Normal	Hyposensibilité (hypoesthésie, tactile, globale) Hypersensibilité (allodynie, hyperalgésie)

La douleur **psychogène**, également, est le résultat de l'addition à une douleur périphérique de phénomènes psychologiques d'amplification de la douleur.

La douleur dite « **sine materia** » ou idiopathique correspond à une douleur d'origine inconnue, non expliquée par des mécanismes organique ou psychogène.

A savoir que ces 3 mécanismes (nociceptif, neuropathique et psychogène) peuvent co-exister chez une même personne ; il s'agit de **douleurs mixtes**.

### 1.1.3. Douleur cancéreuse

La douleur est très souvent liée à la maladie cancéreuse, chronique et instable.

La connaissance sémiologique permettant de reconnaître le mécanisme physiopathologique de la douleur est fondamental pour la prise en charge.

Ainsi, selon son mécanisme physiopathologique, la douleur peut être :

- ✚ nociceptive, les traitements morphiniques ou non et les techniques anesthésiques sont alors utilisées en priorité dans cette situation ;
- ✚ neuropathique, résultant d'un dysfonctionnement du SNP ou SNC. Elle est souvent due à une lésion des nerfs périphériques, secondaire à une tumeur, à une intervention chirurgicale, à une chimiothérapie ou à de la radiothérapie. Ces douleurs répondent mal aux opiacés, et sont surtout sensibles aux co-antalgiques. Elles sont traitées le plus souvent par des antiépileptiques et des antidépresseurs ;
- ✚ idiopathique, d'origine inconnue. Dans ce cas, une évaluation psychologique peut être effectuée si des symptômes psychologiques et comportementaux semblent jouer un rôle important ;
- ✚ liée aux soins, aux gestes lors de diagnostic. C'est pourquoi, les ponctions lombaires, les ponctions osseuses, les ponctions artérielles pour les gaz du sang ainsi que les ponctions veineuses chez l'adulte et l'enfant font l'objet de Standards d'Options et de Recommandations ;
- ✚ paroxystique, on parle d'accès douloureux paroxystiques (ADP) existant chez 50 à 89% des patients atteints de cancer selon les études ; par exemple, l'étude de Portenoy et al. [6] de 1990 parle de 65% de patients atteints de cancer ayant des ADP. Ils se manifestent sur un fond douloureux contrôlé.

Une autre classification de la douleur cancéreuse peut être décrite selon son origine :

- ✚ la douleur induite par le cancer, les métastases osseuses, nerveuses et viscérales étant les sites les plus souvent rencontrés ;
- ✚ la douleur induite par les traitements du cancer, on retrouve notamment les neuropathies post-chimiothérapie, les complications de la radiothérapie et les douleurs post-chirurgie.

## 1.2. La prise en charge de la douleur cancéreuse

Pour des douleurs directement liées à la tumeur, les traitements spécifiques agissant sur les cellules tumorales représentent la 1<sup>ère</sup> ligne de prise en charge.

Parmi ces traitements sont retrouvés :

- ✚ la chirurgie oncologique,
- ✚ la radiothérapie,
- ✚ les traitements médicaux spécifiques (chimiothérapie, hormonothérapie et immunothérapie).

Mais comme décrit précédemment, ces thérapeutiques anticancéreuses peuvent également être à l'origine de douleurs chroniques.

La prise en charge de la douleur cancéreuse implique alors d'autres traitements, plus spécifiques.

Les recommandations sur l'utilisation des antalgiques, éditée en 1986 par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) [7], restent encore aujourd'hui d'actualité. La prise en charge nécessite une connaissance physiopathologique de la douleur et donc une approche complète des médecins.

Mais si ces antalgiques, représentés par les 3 paliers de l'OMS (Figure 1), ont une réelle efficacité sur la douleur par excès de nociception, il n'en est rien pour les douleurs d'origine neuropathique, plusieurs études [8]–[12] démontrant une insensibilité de ces douleurs aux opiacés.



**Figure 1. Représentation des paliers de l'OMS [7]**

Selon les bonnes pratiques cliniques, face à une douleur cancéreuse, il est toujours recommandé d'associer des médicaments de mode d'action différent, notamment :

- ✚ des antalgiques de paliers différents ;
- ✚ des antalgiques associés à des traitements destinés à la prise en charge d'une composante neuropathique ;
- ✚ des antalgiques associés à des traitements co-antalgiques que sont :

- ❖ les corticoïdes, pour leur action anti-oedémateuse notamment ;
- ❖ les biphosphonates, utilisés dans les douleurs osseuses. Leur effet antalgique fait suite à leur action anti-ostéoclastique ;
- ❖ les anxiolytiques, recommandés dans les cas où un syndrome anxieux persiste malgré l'introduction d'un traitement antalgique (la douleur étant génératrice d'anxiété). La relaxation, la psychothérapie de soutien sont d'autres alternatives à la prise en charge de cette anxiété ;
- ❖ les antidépresseurs, sur avis d'un spécialiste ;
- ❖ les myorelaxants, antispasmodiques ;
- ❖ les techniques co-antalgiques comme la kinésithérapie respiratoire, la contention et/ou les orthèses d'immobilisation ...

### 1.2.1. Prise en charge de la douleur par excès de nociception

Des Standards, Options et Recommandations (SOR) [13] rédigés en 2002, pour la prise en charge des douleurs cancéreuses nociceptives, insistent sur plusieurs points que sont :

- + la prescription par voie orale à privilégier,
- + la prescription à intervalle régulier,
- + la prescription en respectant l'échelle à 3 niveaux de l'OMS,
- + la prescription personnalisée selon le sujet,
- + la prescription avec un constant souci du détail.

Le projet SOR a pour objectif l'amélioration de la prise en charge des patients douloureux atteints de cancer en fournissant aux praticiens une aide à la décision. Il s'agit d'un travail coopératif national des centres régionaux de lutte contre le cancer associé à des groupes d'experts des secteurs public et privé.

Certains principes généraux ressortent de ces SOR :

- + la prescription doit anticiper les ADP et les effets secondaires, et être réévaluée régulièrement (standard, accord d'experts) ;
- + ne pas utiliser 2 molécules de même classe pharmacologique et ayant la même cinétique (standard, accord d'experts) ;
- + l'utilisation de co-antalgiques doit être envisagée peu importe l'antalgique utilisé (standard, accord d'experts) ;

- ✚ prescrire un opioïde fort d'emblée peut être une possibilité si la douleur est intense (standard, accord d'experts).

#### 1.2.1.1. Classification de l'OMS

Les antalgiques sont alors introduits en fonction du type et de l'intensité de la douleur.

##### 1.2.1.1.1. Les antalgiques de palier I

Les antalgiques non opioïdes sont utilisés pour des douleurs faibles à modérées (standard, accord d'experts).

Ils peuvent être associés aux antalgiques de niveaux II et III (option, accord d'experts).

Le paracétamol est recommandé en 1<sup>ère</sup> intention ; ensuite, en fonction du type de douleurs, sont retrouvés :

- ✚ les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) recommandés dans les douleurs inflammatoires, notamment osseuses (recommandation, accord d'experts) ;
- ✚ le néfopam et la floctafénine ne sont pas indiqués en 1<sup>ère</sup> intention dans les douleurs cancéreuses chroniques (recommandation, accord d'experts) ;
- ✚ la noramidopyrine déconseillée en raison de survenue de réactions immuno-allergiques graves (recommandation, accord d'expert).

##### 1.2.1.1.2. Les antalgiques de palier II

Ce sont les antalgiques opioïdes dits « faibles » utilisés pour des douleurs modérées (standard, accord d'experts).

Ils peuvent être utilisés seul ou en association avec un antalgique de niveau I (option, accord d'experts).

Les produits utilisés sont : la codéine, la dihydrocodéine, l'opium et le tramadol notamment (option, accord d'experts).

##### 1.2.1.1.3. Les antalgiques de palier III

Les antalgiques opioïdes dits « forts » doivent être utilisés pour des douleurs modérées à sévères (standard, accord d'experts).

Ce sont des agonistes opioïdes purs des récepteurs  $\mu$  excepté pour l'oxycodone qui est également un agoniste des récepteurs  $\kappa$  et pour la buprénorphine, agoniste partiel des récepteurs  $\mu$  et antagoniste des récepteurs  $\kappa$ .

La morphine orale est l'opioïde de niveau III prescrit en 1<sup>ère</sup> intention (standard, accord d'experts). Elle doit être débutée précocement en cas de douleur résistante aux traitements de paliers I et II (standard, accord d'experts) et peut être prescrite sous 2 formes différentes : libération immédiate ou libération prolongée.

Le recours à une forme à libération immédiate est notamment très important pour traiter les accès douloureux spontanés ou provoqués chez les malades ayant un traitement de fond par opioïdes (standard, accord d'experts).

Pour un malade traité auparavant par un autre opioïde fort, la dose de départ de morphine doit être adaptée selon les rapports d'équi-antalgie (standard, accord d'experts) (Annexe 1).

Lorsque la voie orale est impossible ou inefficace, l'administration transcutanée (fentanyl) ou intraveineuse (IV) continue (morphine) avec une antalgie contrôlée par le patient (PCA) sont à privilégier par rapport aux autres voies plus invasives (option, accord d'experts). Les autres voies d'administration doivent tenir compte de la balance bénéfique/risque (recommandation, accord d'experts).

Un traitement par opioïdes ne doit jamais être interrompu brutalement (standard, accord d'experts).

Dans le cas où la morphine orale entraîne des effets indésirables rebelles, le changement de voie d'administration ou le changement d'opioïde apparaît comme inéluctable :

- ✚ l'existence de douleurs très instables et intenses oriente plutôt vers une voie IV ou sous-cutanée (SC) avec une antalgie auto-contrôlée (option, accord d'experts) ;
- ✚ dans les autres situations (douleurs stables et/ou modérées), la rotation d'opioïde et/ou la voie IV ou SC avec une antalgie auto-contrôlée sont possibles (option, accord d'experts).

Parmi les autres opioïdes de palier III sont retrouvés :

- ✚ la buprénorphine, non recommandée dans la douleur cancéreuse (recommandation, accord d'experts) ;
- ✚ l'hydromorphone, 7,5 fois plus puissante que la morphine, indiquée dans le traitement des douleurs intenses d'origine cancéreuse en cas de résistance ou d'intolérance à la morphine (option, accord d'experts). Son activité s'explique par une meilleure biodisponibilité et une fixation aux protéines plasmatiques moins importante que la morphine. Elle est

notamment prescrite chez l'insuffisant rénal car son mécanisme d'élimination est essentiellement hépatique ;

- ✚ l'oxycodone, autre alternative à la morphine orale et 2 fois plus puissante, dans le traitement des douleurs intenses d'origine cancéreuse ou en cas de résistance ou d'intolérance à la morphine (option, accord d'experts) ;
- ✚ la péthidine, qui n'a plus d'intérêt en tant qu'opioïde de niveau III depuis la mise à disposition des autres opioïdes (option, accord d'experts), son action étant 5 à 10 fois plus faible que la morphine ;
- ✚ les patches de fentanyl, très utilisés au cours de douleurs stables c'est à dire sans ADP et sans douleurs intenses nécessitant une voie injectable, dans les situations suivantes (voie orale impossible, risque occlusif, malabsorption digestive, insuffisance rénale chronique modérée, polymédication orale gênante pour le malade) (option, accord d'experts) ;
- ✚ le fentanyl transmuqueux, uniquement utilisé pour le traitement des ADP, en complément d'un traitement opioïde de fond, chez des malades présentant des douleurs chroniques d'origine cancéreuse (option, accord d'experts).

Pour tout opioïde de niveau III, l'initiation du traitement nécessite une **titration**.

Celle-ci peut inclure soit une forme à libération prolongée associée à une forme à libération immédiate, soit une forme à libération immédiate seule, notamment chez les malades « fragiles » (option, accord d'experts).

Par contre, elle nécessite une évaluation quotidienne de la douleur dans un but de recherche d'efficacité du traitement et de détection des effets secondaires (standard, accord d'experts).

Il n'y a pas de limite supérieure aux doses d'opioïdes agonistes purs tant que les effets indésirables peuvent être contrôlés (standard, accord d'experts).

Les interdoses doivent être calculés en fonction de la dose journalière d'opioïdes (standard, accord d'experts). Il est conseillé de privilégier la sécurité à la rapidité d'action, en prenant la valeur la plus faible des coefficients de conversion d'équi-antalgie.

La **rotation** des opioïdes est défini comme le changement d'un opioïde par un autre et se justifie par la survenue d'une diminution du ratio bénéfice/risque.

L'indication principale de cette rotation est la survenue d'effets indésirables rebelles (notamment des troubles des fonctions cognitives, hallucinations, myoclonies et nausées), malgré un traitement symptomatique adéquat (standard, accord d'experts).

L'autre indication est la survenue d'un phénomène de résistance aux opioïdes, défini non seulement par une absence d'efficacité du traitement mais également par une absence d'effet

indésirable à la suite d'une augmentation importante de la dose d'opioïde (standard, accord d'experts).

Il est possible de réaliser une rotation des opioïdes entre tous les agonistes purs : morphine, fentanyl, hydromorphone, oxycodone (option, accord d'experts).

La rotation doit également tenir compte des doses équivalentes (recommandation, accord d'experts).

### 1.2.2. Prise en charge de la douleur neuropathique

A la suite d'une évolution tumorale et/ou après certains traitements entrepris, une atteinte et/ou un dysfonctionnement du système nerveux peuvent être à l'origine de douleurs neuropathiques ; il s'agit de Douleurs Neuropathiques Liées au Cancer (DNLC).

Du fait d'une efficacité moindre de la morphine pour ce type de douleurs, de nombreuses thérapies alternatives ont été proposées avec des niveaux de preuve variables [8].

En 1<sup>ère</sup> intention, les antidépresseurs et les antiépileptiques ont démontré leur intérêt pour la composante neuropathique. Mais s'il s'agit des traitements de 1<sup>ère</sup> intention, il ne faut pas oublier d'y ajouter les topiques locaux voire une prise en charge non médicamenteuse comme la Neuro-Stimulation TransCutanée (NSTC ou TENS).

La morphine reste l'objet de nombreuses controverses mais si l'on se réfère à certaines études ; par exemple, une étude de prévalence, réalisée en 1999 [9] sur une cohorte de 1 095 patients cancéreux et traités par des morphiniques pour leur douleur sévère, mentionne que des DNLC ont été répertoriées chez 40% d'entre eux. Mais parmi ces 40%, 92% présentaient des douleurs nociceptives et donc seulement 8% présentaient des douleurs neuropathiques considérées comme « pures ».

L'utilisation d'antalgiques en association aux co-analgésiques reste donc le plus souvent adaptée **(situation très courante où la douleur est mixte)**.

Face à cette notion de faible efficacité des antalgiques dans les douleurs neuropathiques « pures », les co-analgésiques prennent une place importante.

Suite aux peu d'études cliniques dans le cas de pathologies cancéreuses, ces traitements adjuvants sont alors utilisés par extrapolation des expériences en pathologies non cancéreuses.

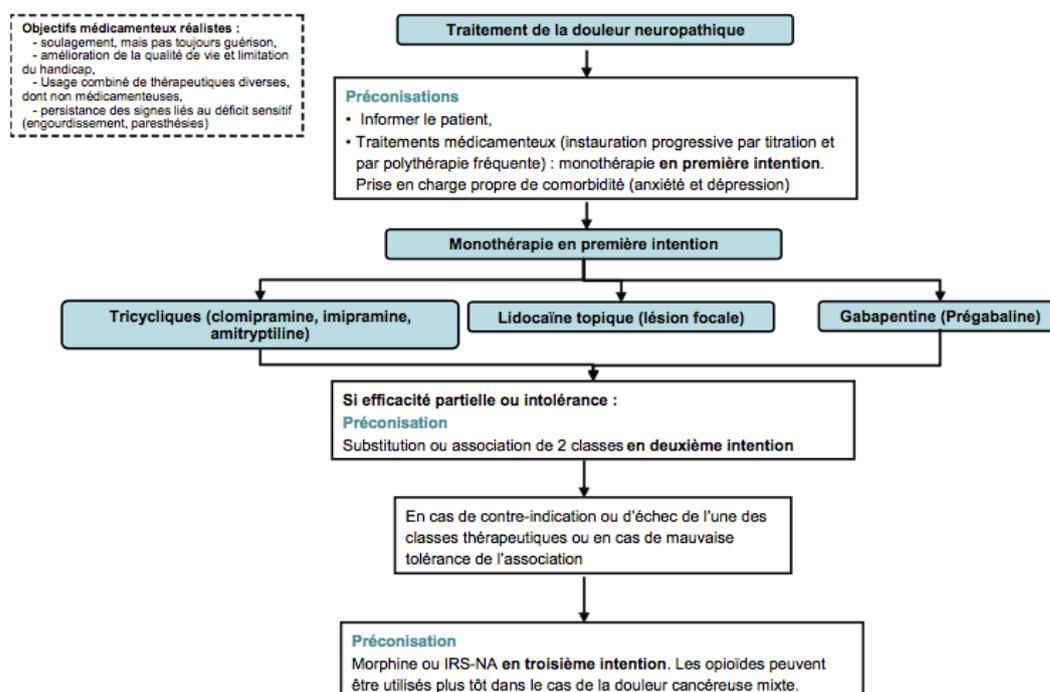
Les antidépresseurs, tout d'abord, peuvent être utilisés. Parmi eux, on retrouve les antidépresseurs tricycliques qui sont à la base de la prise en charge des douleurs neuropathiques. Des essais cliniques démontrent un soulagement de la douleur dans 60 à 70% des patients [10]. De ce fait, plusieurs molécules ont obtenu une Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) dans cette

indication : l'amitriptyline, la clomipramine et l'imipramine, d'avantage dans le traitement de fond des douleurs neuropathiques.

D'autre part, les antiépileptiques présentent également une composante antalgique dans les douleurs neuropathiques. La gabapentine semble très intéressante dans la prise en charge du patient cancéreux selon 2 études [11], [12]. La carbamazépine et la prégabaline ont également l'AMM dans la prise en charge des douleurs neuropathiques, notamment pour traiter la composante fulgurante (décharges électriques).

Les antiarythmiques, les antagonistes des récepteurs N-méthyl-D-aspartate (NMDA) avec surtout la kétamine pour référence ont également été étudiés. La kétamine est la molécule la plus à l'étude pour les douleurs neuropathiques avec un intérêt double chez le patient cancéreux car elle permettrait de lutter contre le phénomène de tolérance induit par les morphiniques.

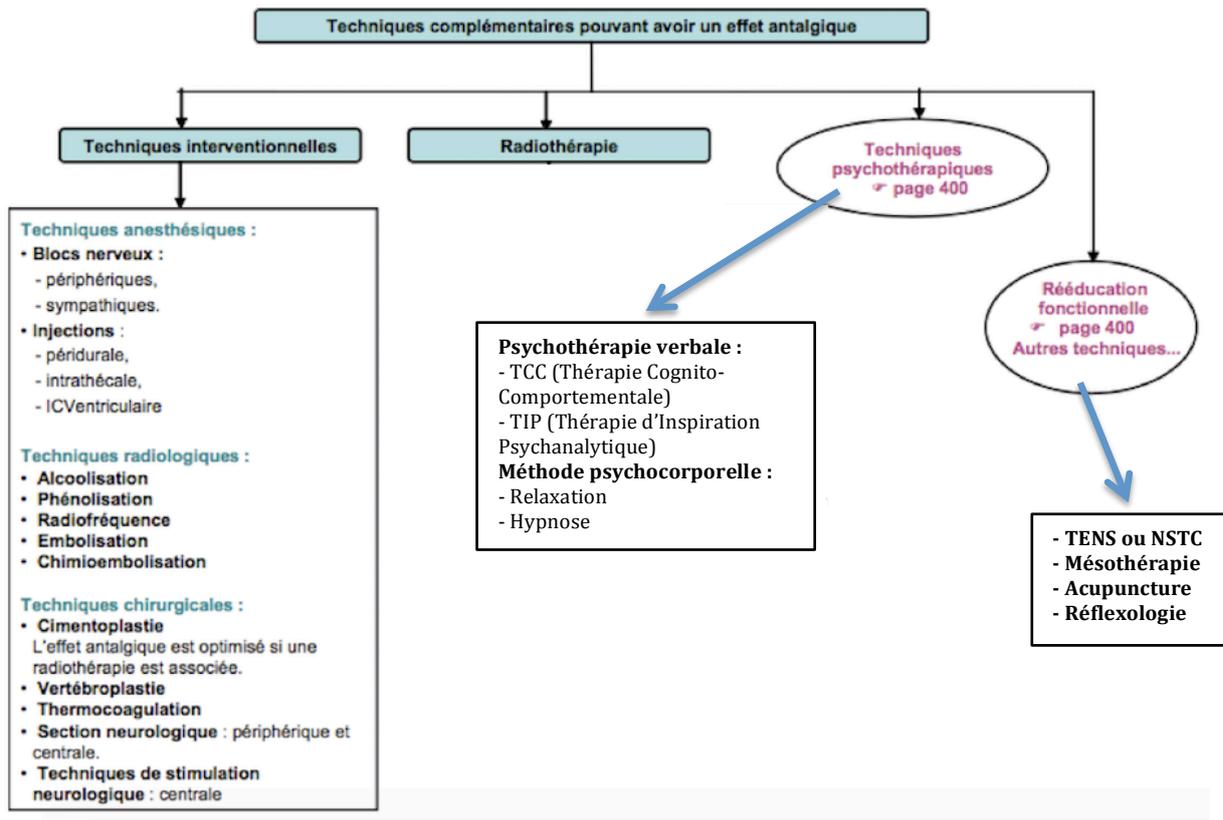
L'ensemble de ces données extraites de publications est confirmé par les référentiels inter-régionaux en Soins Oncologiques de Support [14] comme le démontre la figure 2.



**Figure 2. Diagramme décisionnel pour la prise en charge des douleurs neuropathiques chez le patient cancéreux [14]**

### 1.2.3. Alternatives à la prise en charge de la douleur cancéreuse

En cas d'échec des techniques antalgiques par voie orale, IV ou SC, d'autres techniques sont envisageables avec des indications plus rares et qui nécessitent un savoir-faire d'équipe spécialisées, comme le précise la figure 3.



**Figure 3. Diagramme décisionnel pour la prise en charge de la douleur cancéreuse en cas d'échec aux thérapeutiques habituelles [14]**

Toutes ces techniques peuvent être utilisées de manière complémentaire.

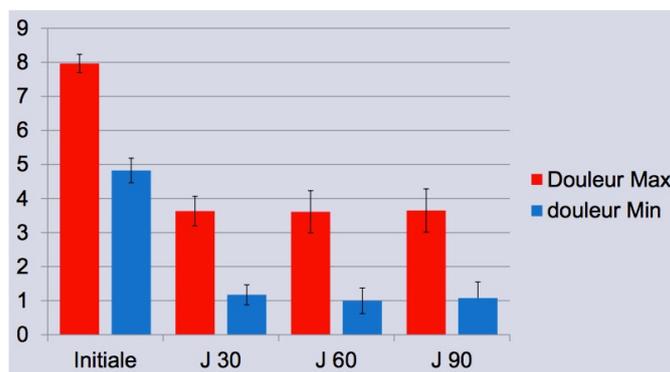
L'analgésie par voie intrathécale se développe au niveau de structures spécialisées comme les CHU et les centres de lutte contre le cancer.

Cependant, elle nécessite un encadrement et un suivi régulier du patient lors de sa prise en charge qui inclut une parfaite connaissance de cette technique.

### 1.3. L'analgésie intrathécale

La littérature évoque l'impact possible de l'analgésie intrathécale sur l'espérance de vie des patients cancéreux. En effet, selon les études de Smith et al. [15], [16] comparant la morphinothérapie intrathécale au long cours versus le traitement médical optimisé en milieu spécialisé, est retrouvée une augmentation de l'espérance de vie dans le groupe traité par voie intrathécale. Un lien a ainsi été réalisé avec l'amélioration de l'état général (par diminution des effets secondaires notamment) pour expliquer cette différence.

Selon une autre étude réalisée dans 3 centres de lutte contre le cancer [17], chez 97 patients cancéreux douloureux chroniques instables malgré un traitement oral bien conduit et avec une espérance de vie estimée supérieure à 3 mois, le traitement par voie intrathécale a permis un soulagement moyen de plus de 50 % de l'intensité douloureuse sur l'Echelle Visuelle Analogique (EVA) (3,65 +/- 0,46 à 1 mois de traitement contre 7,9 +/- 0,27 initialement,  $p < 0,001$ ), résultats présentés par la figure 4.



**Figure 4. Diagrammes montrant l'évolution de la douleur sur l'EVA après prise en charge par voie intrathécale [17]**

De plus, les complications évoquées dans la littérature se sont avérées moins fréquentes.

Cette étude observationnelle, non comparative, ne permet pas de conclure sur l'amélioration de l'espérance de vie des patients traités par analgésie intrathécale par rapport à ceux bénéficiant d'un traitement médical habituel. Par contre, la réduction de la douleur associée à une diminution des effets secondaires, soit une amélioration de la qualité de vie, serait à l'origine de cette survie.

#### 1.3.1. Définition et principe

L'analgésie intrathécale appartient au groupe des analgésies dites périmédullaires ou spinales, et se différencie de l'analgésie péridurale.

L'analgésie spinale consiste à administrer des molécules directement au niveau central, au niveau de la moelle épinière. Les antalgiques étant déposés au plus près de leur site d'action, une diminution des posologies est alors requise pour une grande efficacité et une meilleure tolérance.

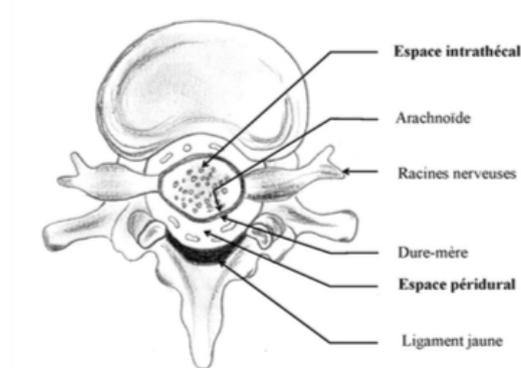
L'**intérêt** est alors de :

- + diminuer les doses d'analgésiques administrés par voie systémique ;
- + diminuer les effets secondaires liés aux traitements par voie systémique.

Le **but** est :

- + un meilleur contrôle de la douleur ;
- + et une amélioration de la qualité de vie du patient.

L'analgésie intrathécale consiste à administrer les analgésiques directement au niveau du Liquide Céphalo-Rachidien (LCR), dans l'espace sous-arachnoïdien, situé entre l'arachnoïde et la pie-mère, contrairement à l'analgésie péridurale, injectés dans l'espace entre le ligament jaune et la dure-mère (Figure 5).



**Figure 5. Représentation anatomique d'une vertèbre lombaire et délimitation des espaces intrathécal et péridural [18]**

### 1.3.2. Indications

Selon une conférence d'experts [19], les indications de l'analgésie chez le patient atteint de cancer sont :

- + les douleurs cancéreuses réfractaires à de fortes doses d'opioïdes ;
- + les douleurs neuropathiques sévères par envahissement du plexus nerveux. L'analgésie intrathécale entraîne un blocage chimique réversible des messages douloureux ;
- + l'intolérance, la dépendance ou l'addiction aux morphiniques oraux ;

- ✚ les chimiothérapies agressives ; l'antalgie intrathécale permet de diminuer le risque de potentialisation des effets indésirables par les traitements antalgiques conventionnels et améliore ainsi les scores de performance du patient et de tolérance aux traitements anticancéreux agressifs ;
- ✚ les tumeurs viscérales et dysautonomie de troubles du transit, anorexie et nausées. L'administration intrathécale d'anesthésiques locaux ou de clonidine peut être bénéfique par un effet sympatholytique chimique ;
- ✚ les syndromes douloureux régionaux complexes secondaires à une chirurgie, chimiothérapie ou radiothérapie.

Selon les recommandations de la Société Française de Réanimation et d'Anesthésie (SFAR) et de la Société Française d'Etude et de Traitement de la Douleur (SFETD) de 2013 [20], « il faut réaliser une analgésie IT dans les douleurs chroniques cancéreuses réfractaires malgré un traitement bien conduit suivant les recommandations de l'OMS et chez les patients ayant des effets indésirables graves aux traitements antalgiques ».

Lorsqu'il est envisagé d'utiliser l'analgésie périmédullaire en générale (le plus souvent l'analgésie intrathécale), une réunion de concertation pluridisciplinaire (mêlant algologues, chirurgiens) est effectuée. Elle permettra de déterminer l'éligibilité des patients pour cette technique.

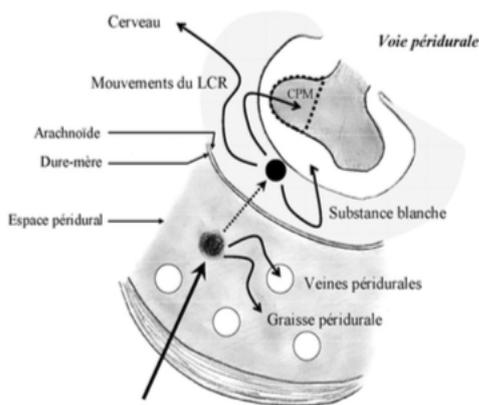
Ainsi, plusieurs critères seront vérifiés :

- ✚ le douleur : il est important d'en connaître la cause et le mécanisme physiopathologique. Evidemment, la douleur doit être sévère, intense et réfractaire aux autres thérapeutiques utilisées en amont ;
- ✚ le contexte familial, psychologique et socio-professionnel, pouvant être directement impliqués dans l'entretien de la douleur ;
- ✚ l'espérance de vie : comme décrit dans la partie 1.3.6. « Critères de choix » ;
- ✚ le projet patient-famille : c'est à dire avoir le consentement éclairé du patient et de son entourage si besoin ;
- ✚ le projet médical : la technique utilisée doit tenir compte du rapport bénéfice/risque et de la possibilité d'avoir un encadrement défini pour le patient pendant sa prise en charge.

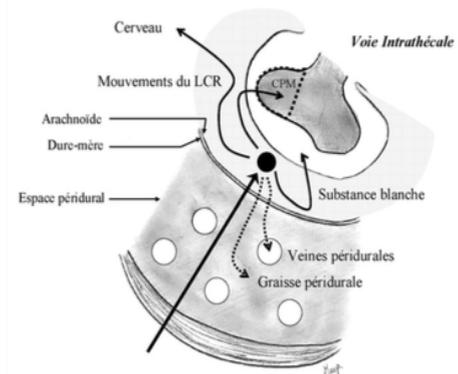
### 1.3.3. Mécanismes d'action de la voie IT

Comme pour la voie péridurale, l'administration d'une molécule au niveau de l'espace intrathécal induit une fixation au niveau de la graisse péridurale et une résorption par les veines péridurales

jusqu'à la circulation systémique par rétrodiffusion à travers les méninges. Le reste du produit diffuse au niveau du LCR. Ainsi, les molécules se fixent sur des sites non spécifiques à la surface de la moelle (substance blanche) et également vers la substance grise médullaire (corne postérieure de la moelle) où elle exerce son action antalgique. Enfin, une dernière partie des molécules est transportée par un flux passif de LCR vers le névraxe jusqu'à gagner parfois les structures supraspinales en fonction des caractéristiques physico-chimiques des molécules et de leur site d'administration (Figures 6 et 7).



**Figure 6. Devenir d'un antalgique par voie péridurale [18]**



**Figure 7. Devenir d'un antalgique par voie intrathécale [18]**

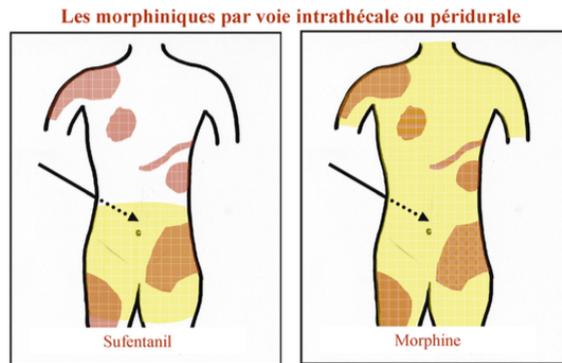
La liposolubilité des molécules utilisées est un facteur important lors de la prise en charge par voie IT car elle détermine sa biodisponibilité et sa fixation médullaire ; en effet, plus la liposolubilité du produit est importante, moins la biodisponibilité l'est car la fixation médullaire est alors limitée.

Deux mécanismes sont en jeu :

- ✚ une augmentation de la séquestration des molécules sur les sites non spécifiques (graisse péridurale + surface de la moelle épinière) ;
- ✚ une importante résorption au niveau systémique.

C'est pourquoi, une molécule fortement liposoluble agit moins bien au niveau central (corne postérieure de la moelle le plus souvent) car elle se retrouve en quantité moindre.

Inversement, une molécule fortement hydrophile, comme la morphine, a une puissance majorée par la voie intrathécale (Figure 8).



**Figure 8. Topographie de l'analgésie périmédullaire par injection de 2 molécules (sufentanil et morphine) de liposolubilité différente [18]**

Ainsi, en fonction de la localisation des douleurs, la compréhension de ces données doit guider le praticien dans son choix de molécules.

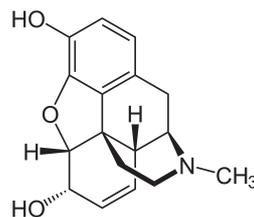
#### 1.3.4. Molécules utilisées

Le choix repose sur les mécanismes d'action des molécules. Comme il existe des effets additifs voir synergiques pour certaines molécules, plusieurs associations sont couramment utilisées et permettent d'obtenir une épargne médicamenteuse et une optimisation de l'antalgie.

Deux conférences d'experts ont ainsi déterminées les molécules à utiliser [19], [21].

#### Morphinomimétiques

L'action se fait sur les récepteurs spinaux  $\mu$ ,  $\delta$  et  $\kappa$ , notamment au niveau de la couche postérieure de la moelle à la jonction entre le 1<sup>er</sup> et le 2<sup>ème</sup> neurone. Ils vont agir sélectivement au niveau des fibres A-delta et C de la douleur.



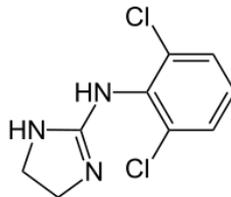
**Figure 9. Formule chimique de la morphine**

- ❖ Morphine : Cette molécule (Figure 9) a été la plus étudiée. Du fait d'une grande hydrophilie, elle possède une très bonne biodisponibilité spinale. Cependant, cette excellente diffusion peut être à l'origine d'effets secondaires centraux de type asthénie, sueurs... par diffusion aux structures supraspinales.
- ❖ Autres morphinomimétiques : en France, il s'agit du fentanyl et du sufentanil. Du fait de leur liposolubilité importante, leur diffusion au niveau médullaire est plutôt limitée

majorant une résorption systémique et limitant leur biodisponibilité spinale. Le fentanyl peut être utilisé mais reste préconisé si la morphine par voie spinale est à l'origine d'effets secondaires trop importants.

#### Clonidine

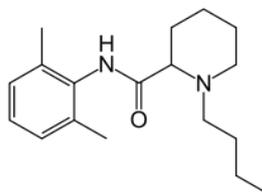
Cette molécule (Figure 10) est un agoniste des récepteurs  $\alpha$ -2 adrénergiques présents aussi bien en pré-synaptique que post-synaptique au niveau de la corne postérieure de la moelle épinière. Pour obtenir une antalgie efficace par voie systémique, il faudrait augmenter très largement les posologies mais il existe un risque élevé d'obtenir des effets indésirables de type somnolence et hypotension artérielle. Par conséquent, son utilisation par voie intrathécale est préférable et son association aux anesthésiques locaux permettrait d'augmenter leur durée d'action. De plus, il existe un mécanisme de synergie avec la morphine, observé dans une étude randomisée en double aveugle sur un panel de patients lésés médullaire présentant des douleurs neuropathiques [22].



**Figure 10. Formule chimique de la clonidine**

#### Anesthésiques locaux

Leur action est due à l'inhibition des canaux sodiques empêchant ainsi la diffusion massive intracellulaire des ions  $\text{Na}^+$  et de ce fait, la propagation du potentiel d'action. Un mécanisme de synergie existe également entre la morphine et les anesthésiques locaux [23]. C'est pourquoi, dans la douleur cancéreuse, ils peuvent être utilisés par voie intrathécale à faible dose, en perfusion continue et en association à d'autres antalgiques. La molécule utilisée en France est la Ropivacaïne (Figure 11).

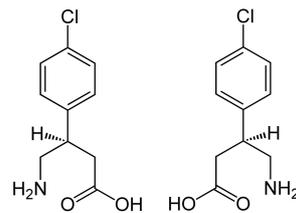


**Figure 11. Formule chimique de la ropivacaïne**

#### Baclofène

Son action antalgique s'exerce par un effet agoniste sur les récepteurs GABAergiques (Acide Gamma Amino-Butyrique) de type B au niveau pré et post-synaptique de la corne postérieure de

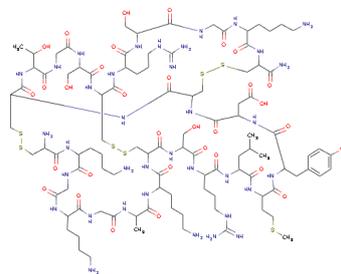
la moelle. De plus, il exerce également une action sur les interneurons inhibiteurs et sur les voies descendantes inhibitrices adrénérgiques en renforçant ces activités inhibitrices. Le baclofène (Figure 12) exerce une action antalgique propre (nociceptive et neuropathique) par action sur les voies de la sensibilité thermoalgique mais aussi des effets myorelaxants par inhibition du motoneurone d'où son activité principale dans la spasticité neuronale. Cependant, son utilisation doit prendre en compte le risque important de survenue d'effets indésirables connus notamment avec une dépression du système nerveux central et respiratoire en cas de surdosage.



**Figure 12. Formule chimique du baclofène**

#### Ziconotide

Depuis 2005, cette molécule (Figure 13) a obtenu l'AMM dans « les douleurs intenses chroniques chez les patients nécessitant une analgésie intrarachidienne ». C'est un analogue d'un  $\omega$ -conopeptide présent dans le venin d'un escargot marin appelé *Conus magus*. Son action antalgique s'exerce au niveau des canaux calciques de type N en régulant la libération des neurotransmetteurs. En se liant aux canaux, le ziconotide inhibe le courant calcique voltage dépendant d'où une diminution de la libération des neurotransmetteurs et une diminution de la douleur. Cette molécule a démontré un effet bénéfique dans la douleur chronique et cancéreuse dans certains essais randomisés mais avec des critères d'inclusion assez limités. Ajouté à cela de nombreux effets indésirables rapportés chez plus de 89% des patients dont certains graves [24], cette molécule a encore aujourd'hui une utilisation limitée. Aucun patient n'est recensé au CHU de Poitiers pour l'utilisation de cette molécule.



**Figure 13. Formule chimique du ziconotide**

## Kétamine

Son action antalgique serait due à un effet antagoniste des récepteurs NMDA. Son action intervient surtout dans la prévention de la sensibilisation à la douleur c'est à dire pour éviter le phénomène d'hyperalgésie. Cependant, face aux peu de données sur la prise en charge du patient douloureux chronique cancéreux ou non, cette molécule n'est pas de 1<sup>er</sup> choix. De plus, la iatrogénie induite par la kétamine reste un frein pour son utilisation au long cours. Certaines publications mentionnent une amélioration de la douleur par kétamine mais aussi l'apparition de graves lésions neurologiques, comme dans la publication de J. H. Vranken [25].

La conférence de consensus de 2012 sur le traitement de la douleur par voie intrathécale [26] recommande 2 algorithmes de prise en charge selon le type de douleur (Tableaux 2 et 3).

Ces indications sont confirmées par la conférence de consensus de 2017 [27].

Les associations de molécules sont recommandées car elles ont parfois un effet synergique. Ayant des mécanismes d'action très variés, elles agissent de façon complémentaire sur les mécanismes physiopathologiques et permettent très généralement de diminuer les doses d'antalgiques à l'origine d'une diminution des effets indésirables.

**Tableau 2. Algorithme décisionnel pour la prise en charge des douleurs neuropathiques [26]**

<u>1<sup>ère</sup> ligne</u>	<b>Morphine</b> <b>Ziconotide</b> <b>Morphine + Bupivacaïne</b>
<u>2<sup>ème</sup> ligne</u>	Hydromorphone Hydromorphone + Bupivacaïne/Clonidine <b>Morphine + Clonidine</b> <b>Clonidine</b>
<u>3<sup>ème</sup> ligne</u>	<b>Ziconotide + opioïde</b> Fentanyl Fentanyl + Bupivacaïne/Clonidine
<u>4<sup>ème</sup> ligne</u>	<b>Opioïde + Clonidine + Bupivacaïne</b> <b>Bupivacaïne + Clonidine</b>
<u>5<sup>ème</sup> ligne</u>	<b>Baclofène</b>

**Tableau 3. Algorithme décisionnel pour la prise en charge des douleurs nociceptives [26]**

<u>1<sup>ère</sup> ligne</u>	<b>Morphine</b> Hydromorphone <b>Ziconotide</b> Fentanyl
<u>2<sup>ème</sup> ligne</u>	<b>Morphine + Bupivacaïne</b> <b>Ziconotide + Opioïde</b> Hydromorphone + Bupivacaïne Fentanyl + Bupivacaïne
<u>3<sup>ème</sup> ligne</u>	<b>Opioïde + Clonidine</b> Sufentanyl
<u>4<sup>ème</sup> ligne</u>	<b>Opioïde + Clonidine + Bupivacaïne</b> Sufentanyl + Bupivacaïne/Clonidine
<u>5<sup>ème</sup> ligne</u>	Sufentanyl + Bupivacaïne + Clonidine

#### 1.3.5. Dispositifs d'administration

##### Les dispositifs de perfusion externe (DPE) (Figure 14)

Comme lors d'une PCEA (Patient Controlled Epidural Analgesia), les pompes sont constituées d'un cathéter tunnélisé mis en place au niveau de l'espace intrathécal relié à une chambre d'injection sous-cutanée. La connexion entre le DPE et la chambre d'injection est établie à l'aide d'une aiguille de Huber.

La zone de ponction du cathéter se situe au niveau des vertèbres, dans l'espace L2-L5, et le positionnement de la chambre au niveau de la dernière côte.

La programmation est réalisée par le médecin avec un débit continu, une dose, un volume et un nombre de bolus maximum par heure (ou jour) fonction des périodes réfractaires.

Les DPE présentent néanmoins quelques inconvénients notamment l'impossibilité de prise en charge en Hospitalisation à Domicile (HAD) si la situation géographique ne le permet pas.

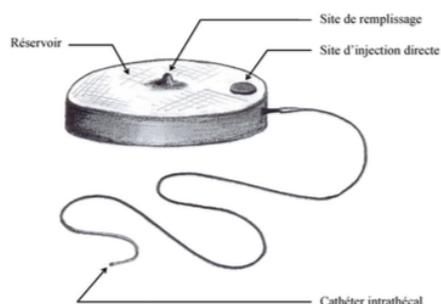


**Figure 14. Dispositif de perfusion externe [18]**

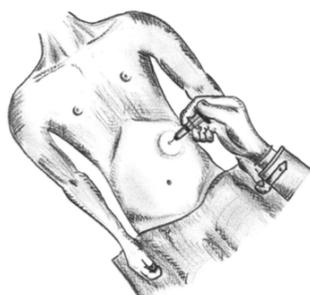
### ✚ Les dispositifs de perfusion interne (DPI) (Figure 15)

Contrairement aux DPE utilisables par voie péridurale et intrathécale, les DPI sont exclusivement réservés à une utilisation par voie intrathécale. Cela s'explique par une capacité volumétrique des pompes restreinte et non compatible avec la voie épidurale. La pompe est implantée en SC et le remplissage s'effectue par voie transcutanée (Figure 16) tous les 20 à 60 jours selon le débit et le volume de la pompe. Les DPI ont la particularité de donner une large autonomie au patient, dont la seule contrainte est de revenir périodiquement pour le remplissage aux niveaux de structures spécialisées.

Plusieurs études de coût réalisées dans des pays étrangers ont démontrées une préférence d'utilisation de DPI par rapport aux DPE [19], [28] au delà de 3 mois.



**Figure 15. Dispositif de perfusion interne [18]**



**Figure 16. Technique de remplissage transcutané des pompes implantables [18]**

#### 1.3.6. Critères de choix

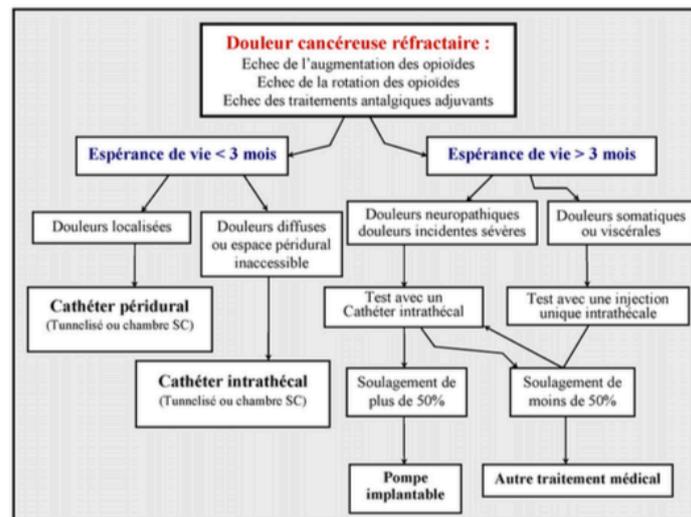
Des phénomènes de fibrose ont été décrits à l'extrémité du cathéter par voie péridurale, responsables d'une perte d'efficacité voire de douleurs iatrogènes au moment des injections.

La capacité volumétrique des DPI les rendent inutilisables par voie péridurale, mais les DPE représentent, de leur côté, une contrainte matérielle pour le patient.

Enfin, l'action par voie péridurale est réalisée par diffusion au travers de la dure-mère et de l'arachnoïde donc par une action « indirecte », cela aboutit à une action semblable à celle par voie

intrathécale. La question de l'utilité de la voie périurale peut alors se poser. L'intérêt de cette voie pour les antalgiques reste limité mais devient réel pour les anesthésiques locaux dans le traitement de douleurs violentes réfractaires, localisées et accessibles à des bolus d'anesthésiques (blocage nerveux).

L'ensemble de ces informations s'ajoute à l'arbre décisionnel (Figure 17) proposé par Burton et al. en 2004 [29].



**Figure 17. Arbre décisionnel dans la prise en charge périmédullaire de la douleur cancéreuse réfractaire [29]**

Le critère primordial pour la décision d'implantation ou non de DPI est l'espérance de vie.

- ✚ Pour une espérance de vie estimée inférieure à 3 mois :
  - ❖ Dans le cas de douleurs localisées et contiguës, la voie périurale est préférée avec un DPE à l'origine du blocage nerveux exercé par les anesthésiques locaux ;
  - ❖ Dans le cas de douleurs plus diffuses ou si l'espace périurale n'est plus accessible, la voie intrathécale devient la solution alternative. Un DPE est alors mis en place, l'utilisation d'un DPI n'étant pas autorisée pour des raisons économiques.
  
- ✚ Pour une espérance de vie estimée supérieure à 3 mois :
  - ❖ Que les douleurs soient diffuses ou localisées, la voie intrathécale est privilégiée car la voie périurale n'autorise pas l'utilisation de DPI, exposée à des risques de fibrose lors d'une utilisation au long cours et des pertes d'efficacité.

### 1.3.7. Le DPI spécifiquement

#### 1.3.7.1. Description du matériel

En plus de la pompe implantable SYNCHROMED® II (Figure 18) du laboratoire Medtronic, sont fournis :

- ✚ un programmeur N'Vision® (Figure 20) : destiné, comme son nom l'indique, à programmer le débit, la dose et le nombre de bolus ;
- ✚ et une télécommande myPTM® (Figure 19) pour le patient, destiné à l'auto-administration des bolus (Figure 21) fonction des périodes réfractaires.



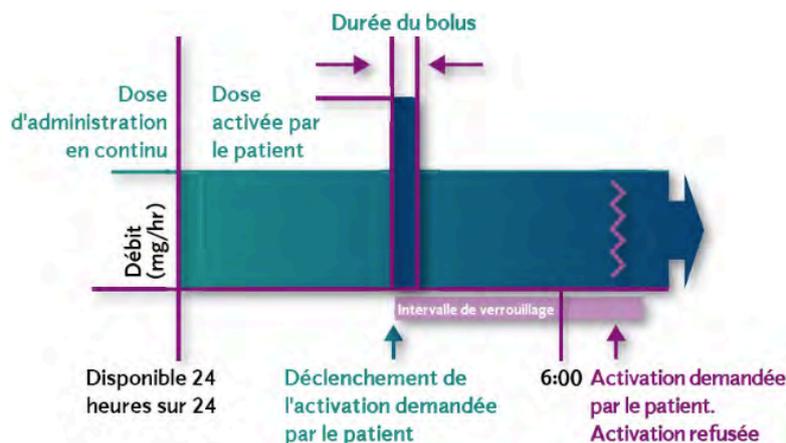
**Figure 18. Pompe SYNCHROMED® II**



**Figure 19. Télécommande myPTM®**



**Figure 20. Programmeur N'Vision®**



**Figure 21. Schéma d'administration des bolus**

### 1.3.7.2. Pose de la pompe et remplissage

L'implantation de la pompe est réalisée dans les tissus SC abdominaux, sous anesthésie générale ou locale, au bloc de neurochirurgie. Elle est toujours précédée d'une antibioprophylaxie.

La pompe est ensuite connectée au LCR par l'intermédiaire d'un cathéter intrathécal dans l'espace sous-arachnoïdien. Le reflux du LCR confirme la bonne pose du cathéter et une radiographie est réalisée pour vérifier la disposition de l'ensemble du système.

Le remplissage est réalisé par voie transcutanée tous les 1 à 2 mois en fonction du volume de la pompe et de la dose administrée.

La pompe SYNCHROMED® II a une longévité qui oscille entre 4 et 7 ans, fonction du mode de programmation et du débit.

### 1.3.7.3. Complications

Les complications rencontrées peuvent être liées aux dysfonctionnements du matériel : la pompe (moteur défectueux, fuite du contenu ...), le cathéter (mauvaise connexion...).

Les molécules utilisées, si non approuvées par l'ANSM (Agence Nationale pour la Sécurité du Médicament) et Medtronic, peuvent être à l'origine d'un endommagement de la pompe (Morphine et Baclofène seulement approuvés). Les anesthésiques locaux et la clonidine n'ont jamais fait l'objet d'études par le laboratoire Medtronic.

Etant une technique invasive, la pose de la pompe peut également être à l'origine de complications hémorragiques, de lésions nerveuses, voire de complications infectieuses se traduisant généralement par des méningites.

Ce dernier risque est minoré par la préparation en atmosphère contrôlée des solutions à administrer, d'où **l'intérêt du rôle de la pharmacie.**

### 1.3.8. Avantages / Inconvénients de la voie intrathécale

#### **Avantages :**

- ✚ Meilleur contrôle de la douleur et meilleure qualité de vie ;
- ✚ Autonomie du patient (retour à domicile, remplissage au maximum 1 fois par mois) ;
- ✚ Diminution des doses par rapport aux autres voies qui découle sur une diminution du passage systémique des antalgiques à l'origine d'une baisse des effets indésirables ;
- ✚ Asepsie (risque infectieux moindre notamment par rapport à une prise par voie IV ou pompe externe) ;

- + Programmation du débit (modification des débits si besoin,...) et des bolus (sécurisant pour le patient) ;
- + Fiabilité (pannes exceptionnelles) ;
- + Sécurité (pas de manipulation possible).

**Inconvénients :**

- + Prix (environ 7000€ la pompe) ;
- + Remplissage (formation des soignants, réservoir limité à maximum 40 mL, difficulté des déplacements en fin de vie) ;
- + Limitation des doses (pas de bupivacaïne en France ...) ;
- + Technique invasive ;
- + Maladie souvent rapidement évolutive ;
- + Limites dans la localisation (si obstacles médullaires → analgésie péridurale est une alternative...).

## **2. MISE EN PLACE DE L'ANALGESIE INTRATHECALE POUR LES PATIENTS CANCEREUX DOULOUREUX CHRONIQUES AU CHU DE POITIERS**

### **2.1. Organisation de la prise en charge et rôle de la pharmacie**

#### 2.1.1. Description de l'organisation

##### **Objectifs :**

A la suite de réunions multidisciplinaires, plusieurs objectifs ont été définis pour la prise en charge des patients cancéreux douloureux chroniques, réfractaires aux traitements opioïdes forts, quant à l'utilisation de la voie intrathécale.

Il a ainsi été demandé :

- + d'organiser le circuit des patients pouvant bénéficier d'un traitement antalgique par voie intrathécale ;
- + de préciser les indications de cette technique ainsi que les modalités de prise en charge (hospitalisation ou non) et de surveillance des patients.

##### **Domaines d'application :**

L'analgésie intrathécale nécessitant une prise en charge par une équipe spécialisée, les patients susceptibles de recevoir le traitement doivent répondre à plusieurs critères que sont :

- + les patients atteints de cancer ;
- + en situation palliative ;
- + dont l'état général est conservé (Indice de Karnovsky  $\geq 50\%$ ) ;
- + présentant des douleurs chroniques intenses, réfractaires aux traitements opiacées administrés par voie systémique ;
- + et/ou présentant des effets secondaires non contrôlés.

##### **Professionnels concernés :**

Les réunions multidisciplinaires ont regroupé un large panel de praticiens parmi lesquels étaient présents :

- + des algologues, des médecins oncologues référents des patients, des médecins de soins palliatifs, des neurochirurgiens, des anesthésistes, des réanimateurs, des urgentistes, des psychiatres ainsi que tous les internes des secteurs concernés ;

- ✚ des cadres de santé de plusieurs services que sont le Centre Régional d'Etude et de Traitement de la Douleur (CRETD), l'Oncologie médicale, les Soins Palliatifs, la Neurochirurgie, la Salle de Surveillance Post-Interventionnelle (SSPI), l'Unité de Soins Continus (USC), l'Anesthésie, le Bloc Opératoire de Neurochirurgie, les Urgences et le SAMU ;
- ✚ des infirmières des différents secteurs concernés ;
- ✚ des psychologues en Oncologie et/ou Soins palliatifs ;
- ✚ l'Association Francophone pour Vaincre toute Douleur (AFVD) ;
- ✚ et des pharmaciens de la Pharmacie à Usage Intérieur (PUI).

### **Techniques utilisées :**

Comme décrit précédemment, l'analgésie intrathécale implique 2 dispositifs implantables :

- ✚ Analgésie intrathécale sur pompe implantable (DPI) ;
- ✚ Analgésie intrathécale sur chambre implantable (DPE).

### **Organisation de la prise en charge (de la proposition thérapeutique à la pose) :**

Cette organisation diffère en fonction de la situation du patient.

Ainsi, pour le patient ambulatoire, la proposition thérapeutique est faite, au cours d'une consultation, par le médecin demandeur après avis positif obtenu en Réunion de Concertation Pluridisciplinaire (RCP).

L'infirmière en charge du patient organise alors :

- ✚ un rendez vous avec l'anesthésiste et le neurochirurgien ;
- ✚ un rendez vous avec un psychologue ou avec son propre psychologue si le patient est déjà suivi ;
- ✚ un entretien avec un des représentants de l'AFVD si nécessaire ;
- ✚ et remet au patient le formulaire d'information et de consentement à remplir.

Par contre, pour le patient hospitalisé, la proposition thérapeutique est toujours faite par le médecin demandeur après avis positif obtenu lors d'une RCP mais cette fois-ci directement au lit du patient, en présence de l'infirmière concernée.

Comme pour le patient ambulatoire, cette dernière organise par la suite, tous les rendez-vous et entretiens nécessaires avant sa prise en charge.

La pose est réalisée de la même manière que le patient soit hospitalisé ou non (dans ce 2<sup>nd</sup> cas, le patient est hospitalisé la veille de l'implantation de la pompe).

La pose du système est alors réalisée au bloc de neurochirurgie, sous anesthésie générale ou locale, par les neurochirurgiens et anesthésistes référents.

### **Suivi du patient et conduite à tenir en cas de complications :**

Une fois la pose du dispositif intrathécal effectuée, le patient séjourne 24 heures en USC après passage en SSPI. Par la suite, il sera transféré dans le service de Neurochirurgie où une évaluation de l'efficacité du traitement et de ses effets secondaires sera alors réalisée.

Une adaptation du traitement pourra ainsi être proposée et l'éducation du patient effectuée par l'équipe d'algologie pendant son séjour.

Le patient, une fois équilibré, sort du service de Neurochirurgie (généralement après 1 semaine d'hospitalisation).

Lui sont remis plusieurs documents que sont :

- ✚ les documents d'information concernant le système Medtronic ;
- ✚ les ordonnances pour ablation des fils ;
- ✚ et les coordonnées du CRETD.

- Lors du retour à domicile, le suivi du patient est assuré par le médecin demandeur en concertation avec l'équipe d'algologie. Le rythme des réévaluations est fonction de la réponse au traitement et des besoins du patient. Les 1<sup>ères</sup> consultations de suivi sont fixées à J8, J15 et J22 et les dates de remplissages, organisées par le médecin en fonction des doses d'antalgiques reçues et du nombre de bolus administrés, généralement fixées à 1 mois suite à des prescriptions comportant des débits et bolus importants de morphine.

Le remplissage est effectué par les infirmières du CRETD.

- Si le patient nécessite une hospitalisation des suites d'un état clinique inadapté à son retour à domicile, cette hospitalisation aura lieu soit dans un service d'oncologie médicale, soit en soins palliatifs. Le suivi du patient est alors toujours réalisé par le médecin référent et le remplissage des pompes effectué soit par l'équipe d'algologie dans les services d'oncologie, soit par l'équipe de soins palliatifs au sein même de leur unité.

- En ce qui concerne leur prise en charge à la suite de complications, les patients ambulatoires doivent être admis aux urgences du CHU de Poitiers en dehors des heures d'ouverture du CRETD. En fonction du type de complications, la prise en charge sera différente ; ainsi, pour des complications en rapport avec leur pathologie cancéreuse, le médecin oncologue de garde sera contacté ; mais pour des complications en relation avec un défaut d'analgésie, la prise en charge nécessitera l'appel du neurochirurgien de garde et de l'anesthésiste référent.

- Pour les patients hospitalisés, la prise en charge du patient sera adaptée au type de complications rencontrées. Ainsi, face à des complications liées au cathéter de la chambre implantable, il faut prévenir le médecin anesthésiste référent de la technique qui définira la conduite à tenir en concertation avec le médecin demandeur.

Si le patient est douloureux, quelque soit la technique utilisée, il faut prévenir le médecin du secteur afin qu'il détermine la conduite à tenir.

- ✚ Si le problème rencontré est en rapport avec la chambre implantable, il faut rechercher un problème d'occlusion c'est à dire vérifier le fonctionnement de la pompe, la perméabilité de la tubulure et le positionnement de l'aiguille de Huber ;
- ✚ Si le problème rencontré intervient sur une pompe implantable, il faut interroger le système et prendre contact avec le CRETD.

La difficulté principale pour la prise en charge des complications est celle qui a lieu la nuit.

Pour un patient hospitalisé en Unité de Soins Palliatifs, il faut prévenir le médecin d'astreinte qui définira la conduite à tenir, mais pour un patient en oncologie, il faudra prévenir le médecin oncologue d'astreinte.

Enfin, le patient peut être confronté à un problème de surdosage. Quelque soit la technique utilisée, il faut arrêter la pompe et prévenir le médecin du service concerné qui déterminera la conduite à tenir.

### 2.1.2. Rôle de la pharmacie

La pharmacie s'est donc vue confiée un rôle prépondérant dans la fabrication des seringues pour analgésie intrathécale dans un but de **sécurisation des préparations**.

Au cours de ces réunions multidisciplinaires, la pharmacie s'est engagée à :

#### ✚ **Fabriquer**

Contrairement à la préparation dans les unités de soins, l'avantage de la fabrication des seringues intrathécales par la pharmacie est le respect des conditions aseptiques de préparation des médicaments injectables, recommandées par les Bonnes Pratiques de Préparation (BPP) [30].

#### ✚ **Contrôler**

Pour cela, il est nécessaire de mettre au point une méthode analytique de dosage des analgésiques utilisés jusqu'à présent pour la libération des lots, il s'agit d'un contrôle de teneur, associé à un contrôle microbiologique permettant de valider la stérilité des préparations.

Au CHU de Poitiers, 4 molécules sont actuellement utilisées :

- |                                    |                                      |
|------------------------------------|--------------------------------------|
| <input type="checkbox"/> Morphine  | <input type="checkbox"/> Baclofène   |
| <input type="checkbox"/> Clonidine | <input type="checkbox"/> Ropivacaïne |

Parmi elles, la morphine et le baclofène ont l'AMM par voie intrathécale.

Alors que la morphine est indiquée dans la prise en charge des douleurs aiguës et chroniques notamment cancéreuses, le baclofène ne possède une AMM que pour la spasticité chronique sévère (douleur spastique).

La clonidine n'a pas d'AMM pour la voie intrathécale tout comme la ropivacaïne, qui elle par contre, a la particularité d'avoir une AMM pour la douleur aiguë notamment post-opératoire par voie péridurale (épidurale).

Cependant, d'après les conférences de consensus de 2007 [21], 2012 [26] et 2017 [27], les anesthésiques locaux (ropivacaïne) et les médicaments  $\alpha$ -adrénergiques (clonidine) ont une place importante dans l'analgésie intrathécale. En effet, l'association de ces molécules entre elles est à l'origine d'une synergie d'action et d'une diminution des effets secondaires par diminution des posologies. Le baclofène peut être utilisé dans les douleurs cancéreuses associé aux autres molécules, c'est pourquoi, il fait parti de l'étude également.

- ✚ **Etudier la stabilité** des préparations effectuées aux CHU de Poitiers ; mélanges prescrits pour lesquels aucunes données ne sont disponibles dans la littérature.

En effet, plusieurs publications sur des données de stabilité existent pour les molécules seules et/ou pour certaines associations mais encore aucune pour le mélange des 4 molécules précisées ci-dessus.

Au final, les objectifs de ce travail ont été :

- ✚ d'organiser un circuit de fabrication et de dispensation des seringues intrathécales par la pharmacie,
- ✚ de mettre au point une méthode analytique de dosage commune aux 4 analgésiques,
- ✚ et d'étudier la stabilité physico-chimique et microbiologique de l'association des 4 molécules.

Un **circuit de validation, fabrication et dispensation** des seringues intrathécales a, par conséquent, été mis en place dont les principaux points sont décrits ci-dessous.

Le but de cette organisation est de **sécuriser le circuit du médicament** ; il comprend ainsi les phases de validation des prescriptions médicales, de fabrication des seringues, de contrôle analytique de teneur et de dispensation au sein même des unités de soins. Le contrôle microbiologique est déterminant pour contrôler la préparation aseptique des seringues.

### 2.1.2.1. Validation pharmaceutique

Elle est réalisée à partir de prescriptions informatiques élaborées sur le logiciel ANATEC par le médecin et transmises au préparatoire de la pharmacie 24 à 48 heures avant le remplissage prévu des pompes.

La validation consiste à :

- ✚ analyser les volumes et doses d'antalgiques nécessaires à la préparation ;
- ✚ analyser les concentrations en analgésiques destinés au remplissage des seringues (comparaison avec les anciennes prescriptions et l'historique du patient) ;
- ✚ et également à analyser les bolus d'antalgiques et leurs périodes réfractaires.

Une fois réalisée, cette étape sera suivie de la préparation des seringues.

### 2.1.2.2. Fabrication des seringues

Comme pour tout médicament injectable, la préparation de médicaments par voie intrathécale nécessite des conditions de stérilité strictes en raison du risque majeur de survenue d'infections notamment de méningite mettant en jeu la survie du patient.

Pour cela, en concertation avec les neurochirurgiens et les anesthésistes, le préparatoire de la pharmacie a été désigné comme lieu de préparation de ces seringues ; l'objectif étant de **garantir l'asepsie et la sécurité de la préparation**.

Ces préparations sont, par conséquent, réalisées en suivant certaines recommandations, notamment les BPP comme décrit ci-dessous.

Le chapitre 6 « Préparations de médicaments stériles » de ces BPP décrit 2 principes fondamentaux [30] :

- « 6.1.1. *L'ensemble des dispositions générales relatives à la préparation, au contrôle et à la documentation est applicable aux préparations stériles, ainsi que les dispositions spécifiques prévues par le présent chapitre. »*

- « 6.1.2. *La préparation des médicaments stériles impose des exigences particulières en vue de réduire les risques de contamination microbienne, particulaire et pyrogène. Outre les moyens adaptés en locaux et matériels, la qualité dépend de la mise en place d'un système de gestion de la qualité comprenant notamment des procédures et instructions tant sur les méthodes de préparation que sur la qualification et la maintenance des appareils et des installations. La formation des personnels impliqués et son évaluation régulière sont organisées. La garantie de la stérilité et des autres aspects qualitatifs des médicaments ne dépend pas uniquement de contrôles*

*réalisés en fin de fabrication ou sur les préparations terminées, mais également de la qualité des matières premières et des articles de conditionnement, de la validation et la maîtrise des procédés de préparation et des contrôles microbiologiques et particulières de l'environnement, ainsi que de la qualification du personnel. »*

Ainsi, en suivant ces recommandations, 4 points essentiels sont mis en lumière :

- ✚ le procédé de préparation doit assurer une stérilité à chaque étape de fabrication et est assuré en fonction des équipements et locaux ;
- ✚ des procédures doivent être rédigées et une traçabilité effectuée ;
- ✚ une formation du personnel doit être réalisée et une évaluation régulière mise en place ;
- ✚ des contrôles de garantie de la stérilité intervenant à toutes les étapes de fabrication doivent être effectués.

### 1<sup>er</sup> point : Locaux et équipements

- ✚ Dans le cadre de la préparation des seringues pour analgésie intrathécale, la préparation aseptique doit être réalisé sous une hotte à flux laminaire de classe A pour conserver la stérilité dans une Zone à Atmosphère Contrôlée (ZAC) de classe C (Tableau 4).

**Tableau 4. Classe de la zone de préparation et de l'environnement en fonction des équipements**

	Zone de préparation	Environnement immédiat
Isolateur en surpression	Classe A	Classe D
Salle à atmosphère contrôlée avec hotte à flux d'air laminaire	Classe A	Classe C

- ✚ Ces zones sont constituées de locaux et/ou d'équipements dont les qualités microbiologique et particulière sont maîtrisées (Tableaux 5 et 6).

**Tableau 5. Contamination particulaire en fonction de la zone**

Classe	Au repos		En activité	
	Nombre maximal autorisé de particules par m <sup>3</sup> , de taille égale ou supérieure à			
	0,5 µm	5 µm	0,5 µm	5 µm
A	3520	20	3520	20
B	3520	29	352 000	2900
C	352 000	2900	3 520 000	29 000
D	3 520 000	29 000	Non défini	Non défini

**Tableau 6. Contamination microbiologique en fonction de la zone**

CLASSE	Limites recommandées de contamination microbiologique (a)			
	Echantillon d'air ufc/m <sup>3</sup>	Boîtes de Pétri (diamètre 90 mm) ufc/4heures (b)	Géloses de contact (diamètre 55 mm) ufc/plaque	Empreintes de gant (5 doigts) ufc/gant
A	<1	<1	<1	<1
B	10	5	5	5
C	100	50	25	-
D	200	100	50	-

- ✚ L'installation d'un système de filtration haute efficacité pour les particules de l'air (filtre HEPA) permet de répondre aux classes d'empoussièrement recommandées pour une ZAC.
- ✚ Les locaux sont placés en surpression (de 10 à 15 Pa) par rapport à l'environnement extérieur. Le gradient est régulièrement relevé et relié à un système d'alarme. La température ambiante et l'humidité sont également contrôlées tous les jours.
- ✚ Des SAS destinés aux matériels et matières premières, ainsi qu'au personnel ont été installés lors de la conception de la salle pour la conserver propre. Le nombre de personnes présentes ainsi que son accès reste limité.

### **2<sup>ème</sup> point : Procédures et traçabilité**

- ✚ Les équipements et installations sont qualifiés selon les textes et référentiels en vigueur.
- ✚ Une procédure de fabrication (Annexe 2) a été écrite, une fiche de fabrication a été élaborée (Annexe 3) et une traçabilité des dossiers de lots effectuée.
- ✚ Un nettoyage des ZAC est réalisé 2 fois par jour selon une procédure définie.

### **3<sup>ème</sup> point : Qualification du personnel**

- ✚ Une formation appropriée est destinée à l'ensemble du personnel ayant accès à la salle (cela inclut le personnel de nettoyage et de maintenance). Une évaluation est également effectuée. Cette formation comporte notamment des précautions d'hygiène et de microbiologie. Les activités sont limitées au minimum dans la ZAC et particulièrement lors des préparations aseptiques.

### **4<sup>ème</sup> point : Contrôles de garantie de la stérilité**

- ✚ Les accessoires, récipients, matériels, destinés à une préparation aseptique doivent être stériles lors de l'introduction en salle et les emballages, désinfectés.

- ✚ Les matières premières doivent être stériles et/ou répondre aux spécifications de la Pharmacopée Européenne en ce qui concerne la contamination microbienne initiale et les endotoxines bactériennes.
- ✚ Des contrôles de stérilité sont également réalisés en cours et en fin de process de fabrication, soit par les préparateurs, soit par les pharmaciens et/ou internes.

En conclusion, quelle que soit la taille du lot, la **garantie de la stérilité** est assurée par le respect d'un ensemble de conditions et paramètres couvrant en particulier la qualification des installations et équipements, la qualité des matières premières et des articles de conditionnement, la validation et la maîtrise des procédés de fabrication, les contrôles microbiologiques et particuliers de l'environnement et la formation initiale et continue du personnel.

L'essai de stérilité appliqué à la préparation terminée est considéré comme le dernier d'une série de contrôles permettant de garantir la stérilité.

#### 2.1.2.3. Libération des seringues et dispensation

Plusieurs contrôles ont été mis en place afin de libérer les seringues préparées.

On retrouve :

- ✚ un **contrôle macroscopique** (aspect) : la solution doit être limpide ;
- ✚ un **contrôle analytique de teneur** : pour cela, une méthode analytique a été mise au point ;
- ✚ un **contrôle de l'étiquetage final** ;
- ✚ un **contrôle de la fabrication globale** c'est à dire un contrôle de la fiche de fabrication, des matières premières et des conditionnements utilisés ;
- ✚ enfin, un **contrôle microbiologique**. Ce dernier n'est pas libérateur du fait du délai d'obtention des résultats.

Enfin, une fois contrôlées, les seringues sont acheminées par l'interne au niveau du service concerné, soit directement au bloc de neurochirurgie (lors de l'implantation de la pompe et du 1<sup>er</sup> remplissage), soit directement au niveau du CRETD ou des soins palliatifs.

Le transport s'effectue à température ambiante, dans un double emballage.

Une traçabilité des stupéfiants est demandée au praticien, selon la réglementation en vigueur dans l'établissement.

Les 2 objectifs restants, mise au point d'une méthode analytique et études de stabilité physico-chimique et microbiologique, font l'objet de 3 parties détaillées dans la suite de ce travail.

## 2.2. Validation d'une méthode analytique

### 2.2.1. Matériels et méthodes

#### 2.2.1.1. Matières premières utilisées

Les médicaments utilisés sont :

- + **morphine** à 100mg/5mL du laboratoire CDM Lavoisier, disponible sous forme de chlorhydrate et dont les excipients sont du chlorure de sodium (NaCl) et de l'eau pour préparation injectable (EPPI) ;
- + **ropivacaïne** à 100mg/10mL du laboratoire Fresenius Kabi, commercialisée sous forme de chlorhydrate et ayant pour excipients : NaCl, acide chlorhydrique (HCl), hydroxyde de sodium (NaOH) et EPPI ;
- + **clonidine** à 0,15mg/mL du laboratoire Boehringer Ingelheim, sous forme de chlorhydrate avec pour excipients : NaCl, HCl et EPPI ;
- + **baclofène** à 10mg/5mL du laboratoire Aguettant, dont les excipients sont NaCl et EPPI.

Les solvants utilisés sont :

- + l'eau ultrapure, osmosée par l'osmoseur Merck Millipore ;
- + l'acétonitrile (ACN) de formule  $C_2H_3N$  du laboratoire VWR Chemicals ;
- + l'acide trifluoroacétique (TFA) de formule chimique  $C_2HF_3O_2$  du laboratoire Sigma Aldrich ;
- + et NaCl 0,9% du laboratoire B. Braun.

#### 2.2.1.2. Matériels utilisés

Le dosage a été réalisé par chromatographie liquide haute performance (HPLC) et se distingue par :

- + Appareillage : HPLC (LaChrom ELITE®) de VWR constituée d'un injecteur L-2200, d'un spectrophotomètre UV L-2400 et d'une pompe HITACHI 1110. La séparation est réalisée à température ambiante à l'aide d'une colonne de 15 cm greffée par des groupements carbonés en C18 (Purospher STAR RP-18 endcapped 5 $\mu$ m, 4,6 X 150 mm) destinée à une utilisation par chromatographie en phase inverse.

- ✚ Longueur d'onde du détecteur : les spectres d'absorbances de chacune des molécules isolées ont permis d'aboutir à une longueur d'onde de 220 nm, apportant la meilleure sensibilité pour l'association des 4 molécules.
- ✚ Réactifs utilisés pour constituer la phase mobile : Phase mobile A composée d'eau avec 0,1% de TFA et Phase mobile B composée d'ACN avec 0,1% de TFA.  
Ces 2 phases mobiles ont été utilisées selon un mode gradient binaire que l'on peut détaillé par :
  - ❖ 0-7,5 min : 85% Phase mobile A / 15% Phase mobile B
  - ❖ puis 7,5-12,5 min : 75% Phase mobile A / 25% Phase mobile B
  - ❖ et 12,5-15 min : retour à l'état initial, avec 85% Phase mobile A / 15% Phase mobile B
- ✚ Le débit de la phase mobile a été fixé à 1 mL/min, pour un volume d'injection de 10 µL et un temps d'analyse de 15 minutes.
- ✚ Logiciels d'acquisition des données : EZ Chrom Elite (logiciel lié à l'appareil chromatographique) et Microsoft Excel.

### 2.2.1.3. Préparation des solutions

En se basant sur plusieurs études [31]–[38], il en ressort un certain nombre d'associations et de posologies pour les 4 molécules utilisées au CHU : morphine, ropivacaïne, baclofène et clonidine. Une étude réalisée au CHU de Poitiers a permis de répertorier l'historique des prescriptions d'analgésie intrathécale réalisées au CRETD avant le début de ce projet.

La synthèse des concentrations minimales et maximales observées lors de ce travail sont résumées dans le tableau 7.

**Tableau 7. Synthèse des concentrations minimales et maximales en analgésiques (associés ou non) avant le lancement du projet**

Spécialités	C <sub>min</sub> (mg/mL)	C <sub>max</sub> (mg/mL)
Morphine	1,9	3,9
Baclofène	0,29	0,67
Ropivacaïne	6	8,6
Clonidine	0,00333	0,01167
Morphine	2,53	14,5
Morphine	1,6	13
Ropivacaïne	2,5	7,5
Clonidine	0,002	0,0175
Morphine	1,5	9,4
Ropivacaïne	0,93	7,5

Parmi les 23 patients identifiés dans cette étude, 2 étaient des patients cancéreux. Cependant, d'après les conférences de consensus internationales, les associations et posologies définies sont semblables chez le patient cancéreux ou non ; la prise en charge par l'analgésie intrathécale reste la même et se base sur l'organicité de la douleur.

Ainsi, en croisant l'ensemble de ces données bibliographiques et institutionnelles, une gamme de concentration a pu être définie pour ces 4 analgésiques ; cette gamme vise à inclure la majeure partie des prescriptions (Tableau 8).

NB : Les données obtenues depuis le lancement du projet confirme la pertinence de ces gammes de concentration.

**Tableau 8. Concentrations minimales et maximales des 4 molécules utilisées pour la validation de la méthode**

Molécules	Morphine	Ropivacaïne	Baclofène	Clonidine
<b>C<sub>min</sub> (mg/mL)</b>	0,625	0,625	0,0625	0,00125
<b>C<sub>max</sub> (mg/mL)</b>	10	10	1	0,02

Les valeurs ci-dessus nous ont permis de construire nos gammes étalons (Tableau 9) de calibration en 6 points (incluant le point 0) pour chaque analgésique, destinées à être dosée par HPLC-UV.

**Tableau 9. Gammes des concentrations des 4 molécules utilisées**

Concentration à chaque point de gamme (mg/mL)	Morphine	Ropivacaïne	Baclofène	Clonidine
<b><u>G0</u></b>	0	0	0	0
<b><u>G1</u></b>	0,625	0,625	0,0625	0,00125
<b><u>G2</u></b>	1,25	1,25	0,125	0,0025
<b><u>G3</u></b>	2,5	2,5	0,25	0,005
<b><u>G4</u></b>	5	5	0,5	0,01
<b><u>G5</u></b>	10	10	1	0,02

Un protocole pour la préparation de la gamme et des contrôles qualité a été rédigé lors de la mise au point de la méthode de dosage (Annexe 4).

Trois points de contrôles qualité ont été utilisés : C<sub>High</sub>, C<sub>Medium</sub> et C<sub>Low</sub> fabriqués indépendamment les uns des autres.

+ C<sub>High</sub> :

C<sub>Morphine</sub> = 10 mg/mL

C<sub>Clonidine</sub> = 0,02 mg/mL

C<sub>Baclofène</sub> = 1 mg/mL

C<sub>Ropivacaïne</sub> = 10 mg/mL

+ C<sub>Medium</sub> :

C<sub>Morphine</sub> = 2,5 mg/mL

C<sub>Clonidine</sub> = 0,005 mg/mL

C<sub>Baclofène</sub> = 0,25 mg/mL

C<sub>Ropivacaïne</sub> = 2,5 mg/mL

+ C<sub>Low</sub> :

C<sub>Morphine</sub> = 0,625 mg/mL

C<sub>Clonidine</sub> = 0,00125 mg/mL

C<sub>Baclofène</sub> = 0,0625 mg/mL

C<sub>Ropivacaïne</sub> = 0,625 mg/mL

Les concentrations de clonidine étant très inférieures à celles des autres analgésiques, chaque échantillon préparé (à partir des seringues fabriquées) devra être injecté sous 2 formes : non diluée pour la clonidine et diluée au 1/100 pour les autres analgésiques (morphine, ropivacaïne, baclofène).

#### 2.2.1.4. Développement de la méthode et analyse statistique

La validation de cette méthode a été effectuée suivant les recommandations du « Guide méthodologique des études de stabilité des préparations » [39] publié sous l'égide de la Société Française de Pharmacie Clinique (SFPC) et du Groupe d'Evaluation et de Recherche sur la Protection en Atmosphère Contrôlée (GERPAC) en association aux méthodes décrites par la Food and Drug Administration (FDA) [40] et l'International Conference on Harmonisation (ICH) [41] (Tableaux 13 à 15).

La réalisation de cette méthode, développée sur plusieurs semaines, s'est scindée en plusieurs étapes :

+ 1<sup>ère</sup> étape : détermination de la phase mobile.

L'objectif a été de définir une phase mobile pour laquelle nous pourrions obtenir un seul et unique chromatogramme pour les 4 analgésiques recherchés.

Un mode gradient binaire a, par conséquent, été privilégié.

+ 2<sup>ème</sup> étape : détermination de la spécificité de notre analyse.

La spécificité (ou sélectivité) d'une méthode est caractérisée par son aptitude à mesurer la concentration du (ou des) analyte(s) sans interférence de la part des autres constituants de l'échantillon (par exemple, des constituants de la préparation tels que les excipients ...).

Plusieurs blancs (excipient seul) ont alors été comparés à des échantillons contenant les 4 analgésiques seuls et/ou associés.

Une méthode est également dite « **indicatrice de stabilité** » (« stability - indicating method ») si la procédure analytique est capable de distinguer le principe actif à analyser de ses produits de dégradation formés durant l'étude de stabilité dans des conditions de stockage définies.

La capacité indicatrice de stabilité est évaluée par une **dégradation forcée** qui peut permettre également d'établir les voies de dégradation du produit.

Cette dégradation forcée peut être de différentes natures ; ainsi, pour cette étude, a été réalisée une dégradation forcée associant la chaleur à la dégradation acido-basique sur 1 heure décrite dans les tableaux 10 et 11.

A la suite de cette dégradation, les échantillons ont été analysés au détecteur UV à barrette de diodes pour avoir une analyse en 3 dimensions (longueur d'onde, absorbance et temps de rétention), dans les mêmes conditions chromatographiques.

Chaque molécule a été analysée avant et après dégradation.

Le mode « Purity check » a ainsi permis d'établir l'homologie entre pics par analyse du spectre entre le début et la fin du pic ; l'identification de l'analyte après dégradation est alors affirmée pour une homologie supérieure ou égale à 95%.

**Tableau 10. Dégradation forcée par l'acide chlorhydrique 1N**

<b>Préparation des différentes solutions</b>				
<u>Seringues</u>	<u>Morphine</u>	<u>Clonidine</u>	<u>Baclofène</u>	<u>Ropivacaïne</u>
HCl 1N	1mL	1mL	1mL	1mL
<b>Chauffer à 80°C pendant 1h puis neutraliser par</b>				
NaOH 1N	1mL	1mL	1mL	1mL

**Tableau 11. Dégradation forcée par la soude 1N**

<b>Préparation des différentes solutions</b>				
<u>Seringues</u>	<u>Morphine</u>	<u>Clonidine</u>	<u>Baclofène</u>	<u>Ropivacaïne</u>
NaOH 1N	1mL	1mL	1mL	1mL
<b>Chauffer à 80°C pendant 1h puis neutraliser par</b>				
HCl 1N	1mL	1mL	1mL	1mL

✚ 3<sup>ème</sup> étape : la validation de cette méthode d'analyse (selon les recommandations SFPC-GERPAC associées à celles de la FDA + ICH).

La linéarité et l'exactitude (précision + justesse) de la méthode ont été étudiées (Figures 22 et 23).

❖ La linéarité (et domaine d'utilisation) :

La linéarité correspond à la capacité d'une méthode d'analyse à obtenir des résultats directement proportionnels à la quantité en analyte présent dans l'échantillon, dans un intervalle de dosage donné.

Le domaine d'utilisation est l'intervalle entre la concentration la plus faible et la plus élevée dont on a démontré qu'elles pouvaient être déterminées avec une précision, une justesse et une linéarité acceptables.

Le tableau 12 répertorie l'expression de la linéarité selon 4 sources scientifiques.

**Tableau 12. Expression des paramètres de linéarité selon différents référentiels**

ICH	NORMAN	EMA	FDA
- Minimum de 5 concentrations testées - Calcul du coefficient de corrélation, pente et ordonnée à l'origine, résidus par la méthode des moindres carrés.	- Mesure de la calibration avec standards et dans la matrice - Calcul des résidus	- 6 concentrations plus un blanc et un zéro. - 3 courbes minimum - Déviation inférieure à 15% sur les points de la gamme et 20 % à la LLOQ - Minimum de 75% des points de gamme corrects pour valider une série.	- 6 concentrations plus un blanc et un zéro. - 6 courbes minimum avec 4 concentrations dupliquées - Déviation inférieure à 15% sur les points de la gamme et 20 % à la LLOQ - Minimum de 75% des points de gamme corrects pour valider une série.

Cette linéarité a été déterminée par **l'étude des droites de régression linéaire** obtenues par le passage d'une gamme de concentration en analytes sur 5 jours consécutifs (Tableau 17).

Ce coefficient de régression doit être supérieur à 0,997.

La pente ainsi que l'ordonnée à l'origine obtenues sur 5 jours pour les 4 molécules ont été étudiées sous forme de tableaux, permettant l'expression d'une équation moyenne de régression (pour chaque analgésique).

Associée à ces données et selon les recommandations de la FDA, cette linéarité a également été exprimée en comparant la concentration de chaque point de la gamme d'étalonnage à celle calculée à partir de l'équation de régression, sur 5 jours consécutifs, caractérisée par le calcul d'un **pourcentage de déviation** à chaque point de gamme.

$$\%(déviation) = \frac{Xi' - Xi}{Xi} * 100$$

*Xi'* = Concentration calculée avec l'équation de régression à chaque point de gamme pour chaque molécule

*Xi* = Concentration théorique à chaque point de gamme pour chaque molécule

Ce pourcentage de déviation doit être inférieur à 15% selon les normes FDA et 20% pour le point de gamme le plus bas.

❖ La précision :

Elle exprime l'étroitesse de l'accord (degré de dispersion) entre une série de mesures obtenues dans des conditions prescrites à partir de prises d'essais multiples provenant d'un même échantillon homogène. Elle renseigne uniquement la distribution des erreurs aléatoires (dues au hasard) et ne donne pas d'information sur la valeur spécifiée (ou vraie).

Cette précision a été évaluée à 2 niveaux :

- La répétabilité qui concerne des résultats d'essais indépendants obtenus au sein d'un même laboratoire, avec une méthode d'analyse fixée, des échantillons d'essais identiques, préparés par un même opérateur et analysés avec un même appareillage dans un laps de temps très court.

Elle a été réalisée sur 1 jour, à 3 niveaux de concentration, répétés indépendamment 5 fois.

Elle est exprimée par le calcul d'un **coefficient de variation** pour chaque molécule et pour chaque niveau de contrôle qualité ( $C_{Low}$ ,  $C_{Medium}$  et  $C_{High}$ ) calculé selon la formule :

$$CV(\%) = \frac{S(x) \times 100}{m}$$

$S(x)$  = écart type et  $m$  = moyenne des 5 concentrations mesurées indépendamment.

- La fidélité intermédiaire qui, elle, concerne des résultats d'essais indépendants obtenus au sein d'un même laboratoire, avec une méthode d'analyse fixée et des échantillons d'essai identique. Les autres conditions opératoires peuvent être différentes : opérateurs, appareillage, délai entre les essais plus importants.

Elle a été réalisée à 3 niveaux de concentration, répétés sur 5 jours, en triplicata (préparation de 3 échantillons indépendants).

La fidélité intermédiaire a également été exprimée au travers de **coefficients de variation** calculés selon la même formule pour chaque molécule et chaque contrôle qualité mais cette fois-ci répété indépendamment 3 fois sur 5 jours consécutifs (seule différence avec la répétabilité :  $m$  = moyenne des 15 mesures et  $S(x)$  = écart type des 15 mesures).

La valeur des CV doit être inférieure à 15% selon la FDA.

Le tableau 13 ci-dessous présente l'expression de la fidélité selon ces 4 mêmes sources.

**Tableau 13. Expression de la précision selon différents référentiels**

ICH	NORMAN	EMA	FDA
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Répétabilité : 9 déterminations pour 3 niveaux de concentrations couvrant 1 intervalle de mesure.</li> <li>- Fidélité intermédiaire : variation du technicien, de l'instrument, du jour d'analyse.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 3 répétitions par niveau de concentration</li> <li>- Calcul de l'écart type, du coefficient de variation</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Répétabilité : calcul sur au minimum 5 répétitions à au moins 4 niveaux (LLOQ, 3x LLOQ, moyen, haut) pour la fidélité intra-run (déviations &lt; à 15% ou 20% à LLOQ)</li> <li>- Fidélité intermédiaire : calcul sur minimum 3 séries à au moins de 2 jours différents pour la fidélité inter-run (déviations &lt; à 15% ou 20% à LLOQ)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Répétabilité : calcul sur au minimum 5 répétitions à au moins 3 niveaux (déviations &lt; à 15% ou 20% à LLOQ)</li> <li>- Fidélité intermédiaire : variation du technicien, de l'instrument, des réactifs</li> </ul>

❖ La justesse :

Elle exprime l'étroitesse d'accord entre la valeur moyenne obtenue à partir d'une série de résultats d'essais et une valeur qui est acceptée soit comme une valeur conventionnellement vraie (étalon de référence propre à l'entreprise), soit comme une valeur de référence (étalon international, étalon de la pharmacopée, matériau de référence...).

Les essais réalisés pour évaluer la fidélité intermédiaire sont exploités afin d'estimer la justesse.

Le tableau 14 résume l'expression de la justesse en suivant plusieurs référentiels de validation, sans détailler l'exploitation des résultats.

**Tableau 14. Expression de la justesse selon différents référentiels**

ICH	NORMAN	EMA	FDA
<ul style="list-style-type: none"> <li>- 9 déterminations pour 3 niveaux de concentrations couvrant 1 intervalle de mesure.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 5 à 10 échantillons surchargés</li> <li>- Le guide NORMAN fait référence au guide ICH pour plus de détails</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Calcul sur au minimum 5 répétitions à au moins 4 niveaux (LLOQ, 3x LLOQ, moyen, haut) pour la justesse intra-run (déviations &lt; à 15% ou 20% à LLOQ)</li> <li>- Calcul sur minimum 3 séries à au moins de 2 jours différents pour la justesse inter-run (déviations &lt; à 15% ou 20% à LLOQ)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Calcul sur au minimum 5 répétitions à au moins 3 niveaux (déviations &lt; à 15% ou 20% à LLOQ)</li> </ul>

La justesse a été analysée par :

- L'étude du taux de recouvrement et de son intervalle de confiance.

Cette étude a été réalisée comme pour la fidélité intermédiaire, sur 5 jours à 3 niveaux de concentration soit 15 valeurs pour chaque contrôle qualité de chaque molécule.

- Les taux de recouvrement (TRE) ont été calculés à partir des biais selon cette formule :

$$\text{Taux de recouvrement (TRE)} = \text{Biais (B)} + 100 \text{ (résultat exprimé en \%)}$$

- Les biais ont calculés à partir de la formule :

$$B = \frac{(Xc - Xth) \times 100}{Xth}$$

$Xc$  = Concentration calculée à chaque contrôle qualité

$Xth$  = Concentration théorique à chaque contrôle qualité

- L'intervalle de confiance (IC) a été calculé au risque  $\alpha$  de 5% sur le recouvrement moyen ( $TRe_{moyen}$ ), pour chaque molécule et chaque contrôle qualité, selon la formule :

$$IC = TRe_{moyen} \pm \frac{(t(0,975; n - 1) * S(x))}{\sqrt{n}}$$

- ❑  $TRe_{moyen} = \Sigma TRe / n$
- ❑  $t$  = Valeur de Student pour  $\alpha = 2,5\%$  à  $ddl = n - 1$ , en situation unilatérale ;  
pour  $ddl = 14 \rightarrow t = 2,145$
- ❑  $S(x)$  = Ecart-type des  $TRe$  calculés
- ❑  $n$  = Nombre de  $TRe$  calculés dans l'analyse du résultat

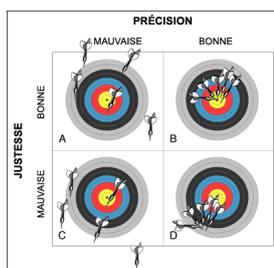
L'étude du recouvrement et de son intervalle de confiance a permis de dresser un **profil d'évolution** de la justesse en fonction des concentrations, pour les 4 molécules utilisées à 3 niveaux de contrôle  $C_{Low}$ ,  $C_{Medium}$  et  $C_{High}$ .

Ce profil permet d'exprimer la justesse de la méthode en fonction des normes (ici, +/- 10% pour l'intervalle d'acceptation) et pour un intervalle de confiance donné de 95% (cet intervalle calculé permettant d'inclure avec certitude 95% des valeurs mesurées).

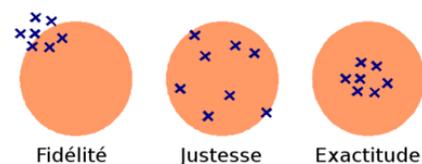
Les résultats obtenus ont alors été présentés sous 2 formes différentes :

- tableaux des concentrations réelles et moyennes retrouvées à chaque contrôle qualité et l'écart-type associé ;
- graphique, dressant le profil d'évolution des taux de recouvrement moyens et leurs intervalles de confiance, pour un intervalle d'acceptation de 90 à 110%.

Les figures 22 et 23 schématisent la précision et la justesse d'une méthode.



**Figure 22. Schéma représentant la précision et la justesse d'une méthode**

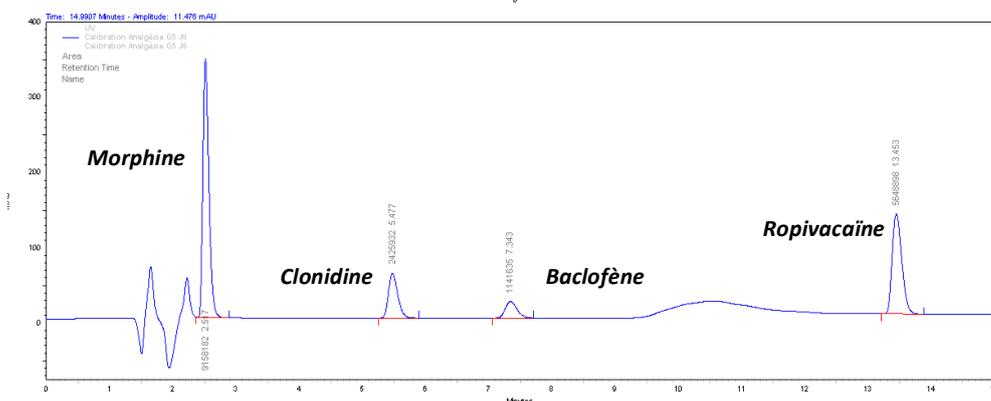


**Figure 23. Schéma expliquant l'exactitude d'une méthode**

## 2.2.2. Résultats

### 2.2.2.1. Chromatogramme

La phase mobile a été optimisée de façon à obtenir un chromatogramme où l'on distingue les pics chromatographiques des 4 analgésiques recherchés (Figure 24).



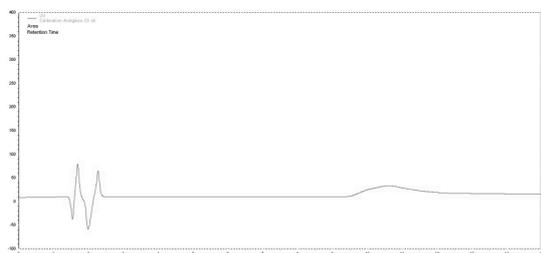
**Figure 24. Exemple d'un chromatogramme**

### 2.2.2.2. Détermination de la spécificité

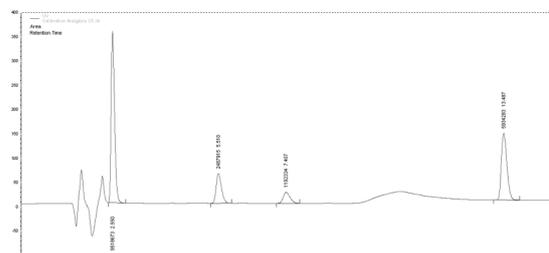
La figure 25 est un exemple de chromatogramme obtenu après passage d'un « blanc » (échantillon contenant l'excipient seul).

La figure 26 est un exemple de chromatogramme obtenu pour un échantillon contenant les 4 analgésiques étudiés.

Par comparaison, il est possible d'affirmer que l'excipient n'interfère pas avec les 4 molécules analysées.



**Figure 25. Chromatogramme d'un échantillon en présence de NaCl 0,9% seul (blanc)**



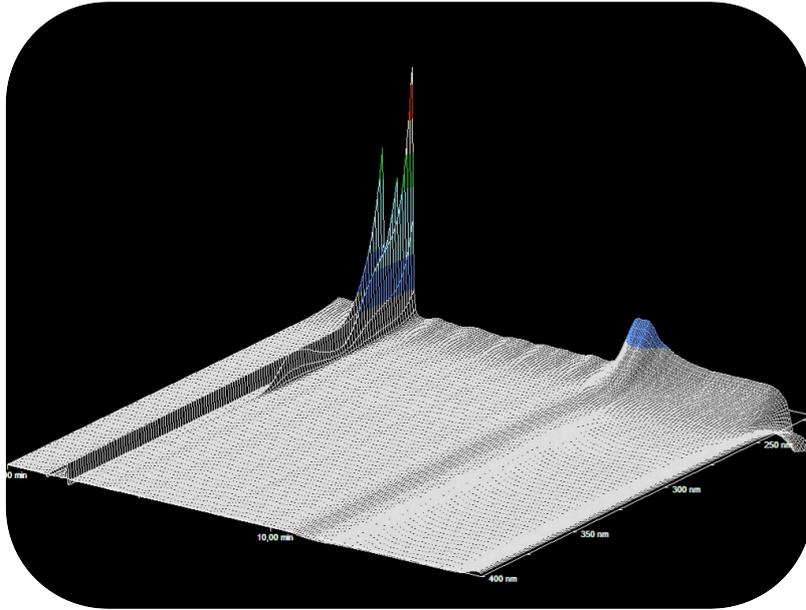
**Figure 26. Chromatogramme d'un échantillon contenant les 4 analgésiques (point de gamme haut)**

Cependant, la comparaison échantillon/blanc n'est pas suffisante pour la détermination de la spécificité d'une méthode et une étude de dégradation forcée a alors été réalisée.

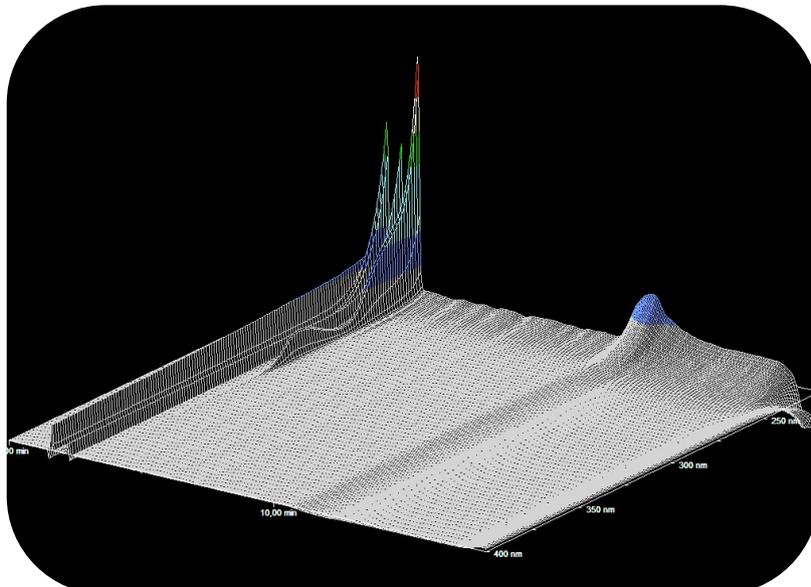
La dégradation par modification du pH (acido-basique) et thermique réalisée n'a montré qu'une faible dégradation des molécules.

Aucun produit de dégradation n'a été observé à la longueur d'onde de 220 nm dans les conditions chromatographiques définies précédemment.

Un balayage des longueurs d'onde avant et après dégradation a, par conséquent, été réalisé comme le présentent les figures 27 et 28. Un détecteur UV à barrette de diodes a été utilisé.



**Figure 27. Chromatogramme de la morphine avant dégradation par analyse au détecteur UV à barrette de diodes**



**Figure 28. Chromatogramme de la morphine après dégradation par analyse au détecteur UV à barrette de diodes**

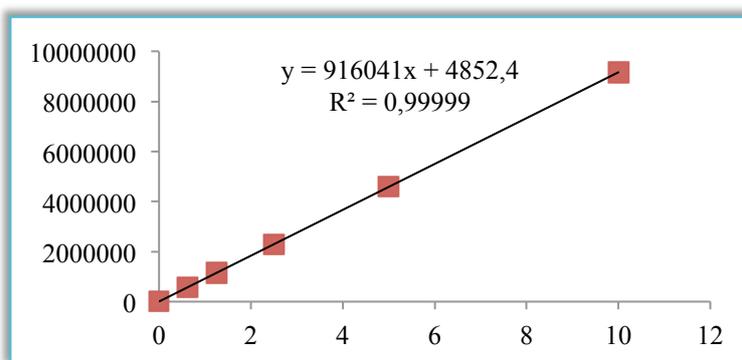
De plus, les résultats obtenus par le mode « Purity check » montrent une homologie des pics supérieure à 95% avant et après dégradation des 4 molécules.

### 2.2.2.3. Détermination de la linéarité

Les tableaux 15 à 18 présentent les données (coefficients de régression, pentes et ordonnées à l'origine) obtenus sur les 5 jours de validation ainsi que le **calcul d'un coefficient de corrélation moyen et d'une équation de régression moyenne ( $Y = AX + B$ )**.

#### Morphine

La figure 29 est un exemple de droite d'étalonnage et de son équation de régression obtenue pour la morphine à J2 lors de la validation de la méthode analytique.



**Figure 29. Droite d'étalonnage obtenue pour la morphine à J2**

Le tableau 15 répertorie tous les paramètres de validation de la linéarité (coefficients de régression, pentes, ordonnées à l'origine) sur les 5 jours de développement de la méthode.

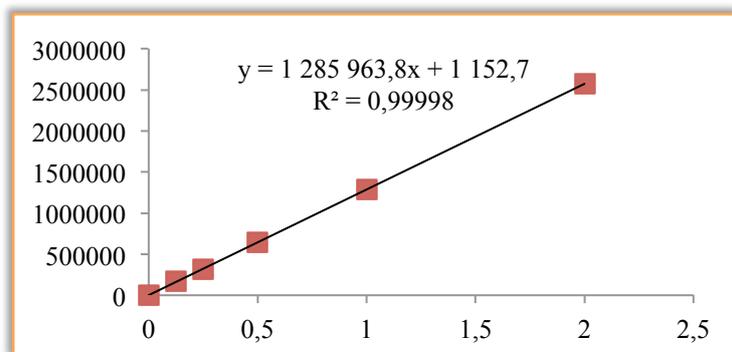
**Tableau 15. Coefficients de régression, pentes et ordonnées à l'origine pour la morphine sur 5 jours**

Jour	Coefficient de régression	Pente = A	Ordonnée à l'origine = B
Jour 1	0,99933	916817,3	12472,9
Jour 2	0,99999	916041,0	4852,4
Jour 3	0,99995	1000344,3	28345,3
Jour 4	0,99993	939325,1	24984,0
Jour 5	0,99991	927103,0	-62,0
<b>Moyenne</b>	<b>0,99982</b>	<b>939926,1</b>	<b>14118,5</b>
Ecart type	0,00028	35070,2	12350,3

- On obtient comme équation de régression moyenne :  $Y = 939926,1 X + 14118,5$ .
- Les pourcentages de déviation calculés étaient tous inférieurs à 4,16% (Annexe 5).

## Clonidine

La figure 30 est un exemple de droite d'étalonnage et de son équation de régression obtenue pour la clonidine à J3 lors de la validation de la méthode analytique.



**Figure 30. Droite d'étalonnage obtenue pour la clonidine à J3**

Le tableau 16 répertorie tous les paramètres de validation de la linéarité (coefficients de régression, pentes, ordonnées à l'origine) sur les 5 jours de développement de la méthode.

**Tableau 16. Coefficients de régression, pentes et ordonnées à l'origine pour la clonidine sur 5 jours**

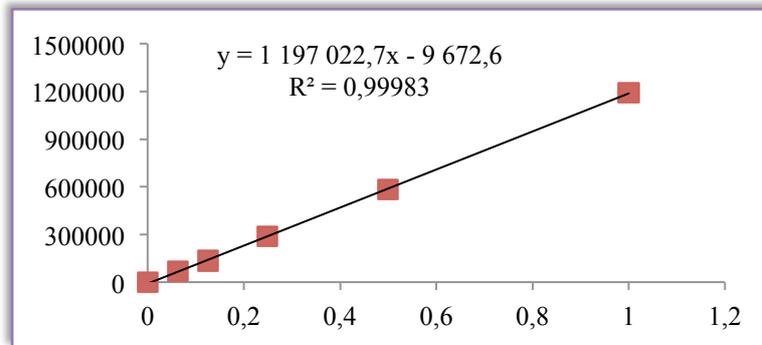
Jour	Coefficient de régression	Pente = A	Ordonnée à l'origine = B
Jour 1	0,99933	1191906,8	-606,0
Jour 2	0,99995	1211723,9	1766,2
Jour 3	0,99998	1285963,8	1152,7
Jour 4	0,99977	1236873,9	2937,4
Jour 5	0,99989	1204281,6	-571,5
<b>Moyenne</b>	<b>0,99978</b>	<b>1226150,0</b>	<b>935,8</b>
Ecart type	0,00027	37254,6	1532,3

- On obtient comme équation de régression moyenne :  $Y = 1226150,0 X + 935,8$

- Les pourcentages de déviation calculés étaient tous inférieurs à 7,20% (Annexe 5).

Baclofène

La figure 31 est un exemple de droite d'étalonnage et de son équation de régression obtenue pour le baclofène à J3 lors de la validation de la méthode analytique.



**Figure 31. Droite d'étalonnage obtenue pour le baclofène à J3**

Le tableau 17 répertorie tous les paramètres de validation de la linéarité (coefficients de régression, pentes, ordonnées à l'origine) sur les 5 jours de développement de la méthode.

**Tableau 17. Coefficients de régression, pentes et ordonnées à l'origine pour le baclofène sur 5 jours**

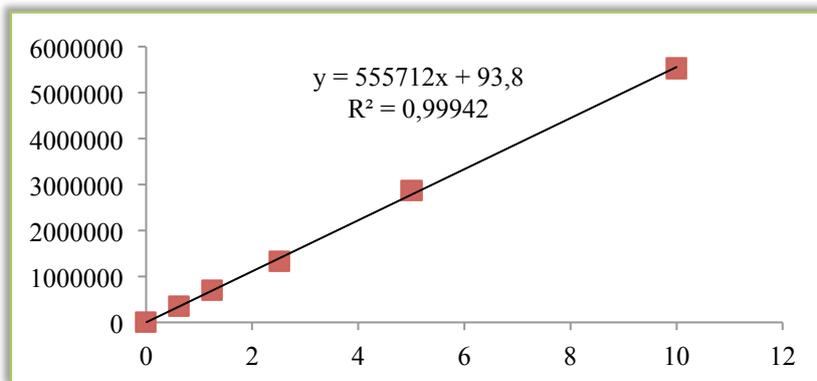
Jour	Coefficient de régression	Pente = A	Ordonnée à l'origine = B
Jour 1	0,99974	1169823,6	-3512,8
Jour 2	0,99989	1185519,0	-4240,4
Jour 3	0,99983	1197022,7	-9672,6
Jour 4	0,99900	1168688,4	-6066,5
Jour 5	0,99976	1206972,0	-2125,7
<b>Moyenne</b>	<b>0,99964</b>	<b>1185605,1</b>	<b>-5123,6</b>
Ecart type	0,00036	16749,2	2913,1

- On obtient comme équation de régression moyenne :  $Y = 1185605,1 X - 5123,6$

- Les pourcentages de déviation calculés étaient tous inférieurs à 11,04% (Annexe 5).

## Ropivacaïne

La figure 32 est un exemple de droite d'étalonnage et de son équation de régression obtenue pour la ropivacaïne à J3 lors de la validation de la méthode analytique.



**Figure 32. Droite d'étalonnage obtenue pour la ropivacaïne à J3**

Le tableau 18 répertorie tous les paramètres de validation de la linéarité (coefficients de régression, pentes, ordonnées à l'origine) sur les 5 jours de développement de la méthode.

**Tableau 18. Coefficients de régression, pentes et ordonnées à l'origine pour la ropivacaïne sur 5 jours**

Jour	Coefficient de régression	Pente = A	Ordonnée à l'origine = B
Jour 1	0,99994	564413,3	-11153,2
Jour 2	0,99942	555712,0	93,8
Jour 3	1,00000	598334,4	-453,1
Jour 4	0,99996	575054,4	11689,1
Jour 5	0,99998	564531,1	-5199,5
<b>Moyenne</b>	<b>0,99986</b>	<b>571609,0</b>	<b>-1004,6</b>
Ecart type	0,00025	16437,0	8414,7

- On obtient comme équation de régression moyenne :  $Y = 571609,0 X - 1004,6$
- Les pourcentages de déviation calculés étaient tous inférieurs à 4,24% (Annexe 5).

### 2.2.2.4. Détermination de la précision

#### 2.2.2.4.1. Répétabilité (Jour 1)

L'étude de la répétabilité a permis le calcul d'un coefficient de variation (CV) pour chaque concentration ; les tableaux 19 à 22 synthétisent les données obtenues et calculées.

**Tableau 19. Résultats obtenus lors de la validation de la répétabilité pour la morphine**

	C <sub>Low</sub> (mg/mL)	C <sub>Medium</sub> (mg/mL)	C <sub>High</sub> (mg/mL)
Concentration théorique	0,625	2,5	10
Nombre d'échantillons testés	5	5	5
Moyenne	0,627	2,410	9,813
Ecart-type	0,0164	0,0305	0,312
<b>*CV (%) (arrondi à 2 décimales)</b>	<b><u>2,62</u></b>	<b><u>1,27</u></b>	<b><u>3,18</u></b>

\*CV : Coefficient de variation

**Tableau 20. Résultats obtenus lors de la validation de la répétabilité pour la clonidine**

	C <sub>Low</sub> (mg/mL)	C <sub>Medium</sub> (mg/mL)	C <sub>High</sub> (mg/mL)
Concentration théorique	0,00125	0,005	0,02
Nombre d'échantillons testés	5	5	5
Moyenne	0,00123	0,00489	0,0202
Ecart-type	0,0000409	0,0000305	0,000559
<b>*CV (%) (arrondi à 2 décimales)</b>	<b><u>3,33</u></b>	<b><u>0,62</u></b>	<b><u>2,77</u></b>

\*CV : Coefficient de variation

**Tableau 21. Résultats obtenus lors de la validation de la répétabilité pour le baclofène**

	C <sub>Low</sub> (mg/mL)	C <sub>Medium</sub> (mg/mL)	C <sub>High</sub> (mg/mL)
Concentration théorique	0,0625	0,25	1
Nombre d'échantillons testés	5	5	5
Moyenne	0,0619	0,241	0,993
Ecart-type	0,00268	0,00329	0,0191
<b>*CV (%) (arrondi à 2 décimales)</b>	<b><u>4,33</u></b>	<b><u>1,36</u></b>	<b><u>1,92</u></b>

\*CV : Coefficient de variation

**Tableau 22. Résultats obtenus lors de la validation de la répétabilité pour la ropivacaïne**

	C <sub>Low</sub> (mg/mL)	C <sub>Medium</sub> (mg/mL)	C <sub>High</sub> (mg/mL)
Concentration théorique	0,625	2,5	10
Nombre d'échantillons testés	5	5	5
Moyenne	0,622	2,443	9,966
Ecart-type	0,0239	0,0405	0,162
<b>*CV (%) (arrondi à 2 décimales)</b>	<b><u>3,84</u></b>	<b><u>1,66</u></b>	<b><u>1,63</u></b>

\*CV : Coefficient de variation

Les CV obtenus sont tous inférieurs à 4,33%.

#### 2.2.2.4.2. Fidélité intermédiaire (Jours 1 à 5)

L'étude de la fidélité intermédiaire a également permis le calcul d'un CV pour chaque concentration, résultats résumés dans les tableaux 23 à 26.

**Tableau 23. Résultats obtenus lors de la validation de la fidélité intermédiaire pour la morphine**

	C <sub>Low</sub> (mg/mL)	C <sub>Medium</sub> (mg/mL)	C <sub>High</sub> (mg/mL)
Concentration théorique	0,625	2,5	10
Nombre d'échantillons testés	15	15	15
Moyenne	0,617	2,494	9,888
Ecart-type	0,0171	0,0717	0,263
<b>*CV (%) (arrondi à 2 décimales)</b>	<b><u>2,77</u></b>	<b><u>2,87</u></b>	<b><u>2,66</u></b>

\*CV : Coefficient de variation

**Tableau 24. Résultats obtenus lors de la validation de la fidélité intermédiaire pour la clonidine**

	C <sub>Low</sub> (mg/mL)	C <sub>Medium</sub> (mg/mL)	C <sub>High</sub> (mg/mL)
Concentration théorique	0,00125	0,005	0,02
Nombre d'échantillons testés	15	15	15
Moyenne	0,00126	0,00496	0,0200
Ecart-type	0,0000274	0,0000925	0,000398
<b>*CV (%) (arrondi à 2 décimales)</b>	<b><u>2,17</u></b>	<b><u>1,86</u></b>	<b><u>1,99</u></b>

\*CV : Coefficient de variation

**Tableau 25. Résultats obtenus lors de la validation de la fidélité intermédiaire pour le baclofène**

	C <sub>Low</sub> (mg/mL)	C <sub>Medium</sub> (mg/mL)	C <sub>High</sub> (mg/mL)
Concentration théorique	0,0625	0,25	1
Nombre d'échantillons testés	15	15	15
Moyenne	0,0615	0,244	0,994
Ecart-type	0,00164	0,00768	0,0247
<b>*CV (%) (arrondi à 2 décimales)</b>	<b><u>2,67</u></b>	<b><u>3,15</u></b>	<b><u>2,49</u></b>

\*CV : Coefficient de variation

**Tableau 26. Résultats obtenus lors de la validation de la fidélité intermédiaire pour la ropivacaïne**

	C <sub>Low</sub> (mg/mL)	C <sub>Medium</sub> (mg/mL)	C <sub>High</sub> (mg/mL)
Concentration théorique	0,625	2,5	10
Nombre d'échantillons testés	15	15	15
Moyenne	0,626	2,483	9,942
Ecart-type	0,0108	0,0777	0,275
<b>*CV (%) (arrondi à 2 décimales)</b>	<b><u>1,72</u></b>	<b><u>3,13</u></b>	<b><u>2,77</u></b>

\*CV : Coefficient de variation

Les CV obtenus sont tous inférieur à 3,15%.

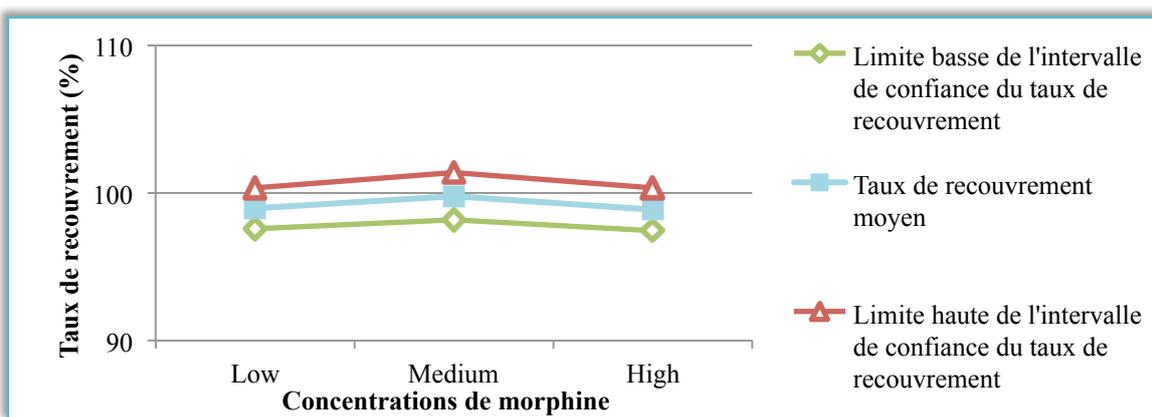
### 2.2.2.5. Détermination de la justesse

Les tableaux 27 à 30 présentent les concentrations moyennes obtenues pour chaque contrôle qualité et leurs écarts-types associés, obtenus sur 5 jours.

Les figures 33 à 36 présentent, elles, les profils d'évolution des taux de recouvrement moyen, les intervalles de confiance associés, pour un **intervalle d'acceptation déterminé (90-110%)**.

**Tableau 27. Résultats des concentrations moyennes et écarts-types pour la morphine sur 5 jours**

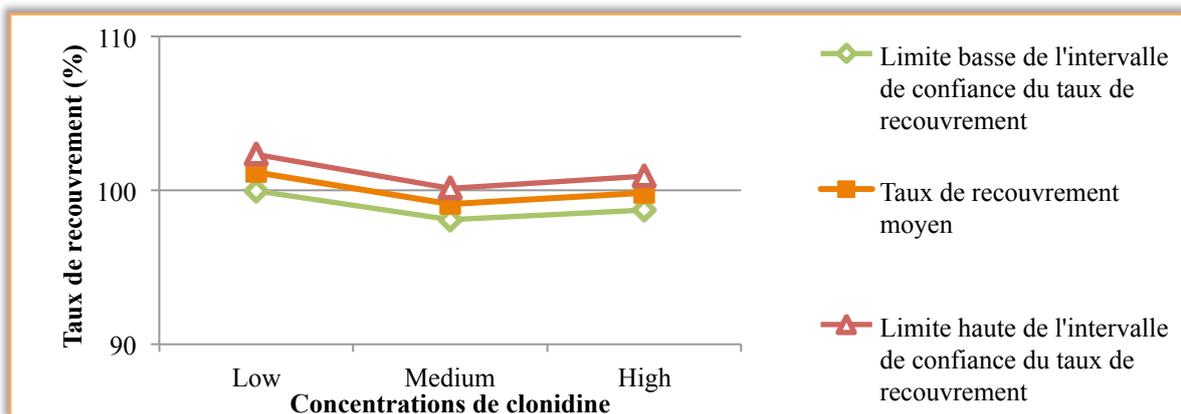
Concentrations réelles (mg/mL)	Concentrations moyennes retrouvées (mg/mL)	Écarts-types
<b>0,625</b>	0,617	0,0171
<b>2,500</b>	2,494	0,0717
<b>10,000</b>	9,888	0,263



**Figure 33. Profil d'évolution des taux de recouvrement pour la morphine**

**Tableau 28. Résultats des concentrations moyennes et écarts-types pour la clonidine sur 5 jours**

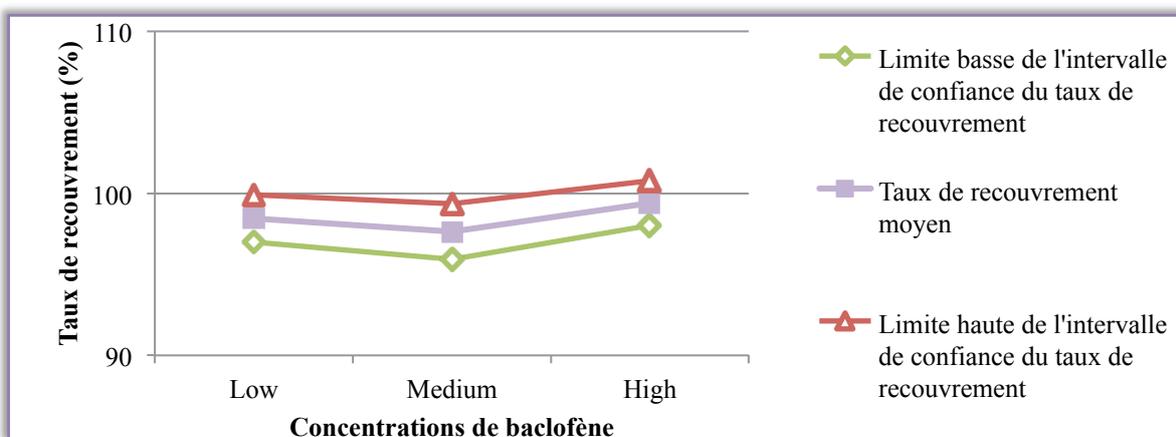
Concentrations réelles (mg/mL)	Concentrations moyennes retrouvées (mg/mL)	Écarts-types
<b>0,00125</b>	0,00126	0,0000274
<b>0,00500</b>	0,00496	0,0000925
<b>0,0200</b>	0,0200	0,000398



**Figure 34. Profil d'évolution des taux de recouvrement pour la clonidine**

**Tableau 29. Résultats des concentrations moyennes et écarts-types pour le baclofène sur 5 jours**

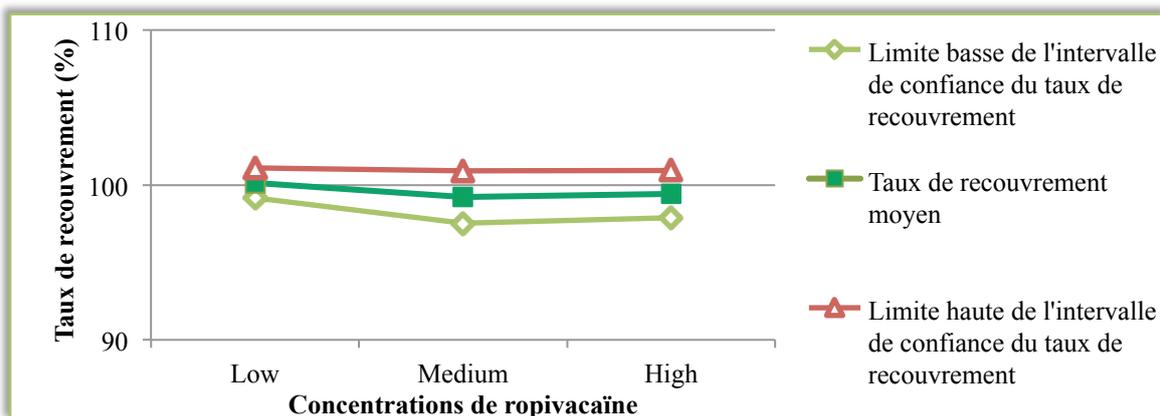
Concentrations réelles (mg/mL)	Concentrations moyennes retrouvées (mg/mL)	Écarts-types
0,0625	0,0615	0,00164
0,250	0,244	0,00768
1,000	0,994	0,0247



**Figure 35. Profil d'évolution des taux de recouvrement pour le baclofène**

**Tableau 30. Résultats des concentrations moyennes et écarts-types pour la ropivacaïne sur 5 jours**

Concentrations réelles (mg/mL)	Concentrations moyennes retrouvées (mg/mL)	Écarts-types
0,625	0,626	0,0108
2,500	2,483	0,0777
10,000	9,942	0,275



**Figure 36. Profil d'évolution des taux de recouvrement pour la ropivacaïne**

### 2.2.3. Discussion

- ✚ Il n'existe aucune interférence de l'excipient avec les molécules analysées. Lors de la dégradation forcée, les produits de dégradation obtenus n'interfèrent pas non plus avec les produits initiaux (molécules avant dégradation). L'homologie déterminée par le mode « Purity check » supérieure à 95% confirme l'absence de métabolites au même temps de rétention et à la même longueur d'onde que la molécule initiale. En conclusion de ces résultats, la méthode est dite **spécifique** et « **indicateur de stabilité** » (« stability-indicating method »).
- ✚ La méthode analytique peut ensuite être qualifiée de **linéaire** pour les intervalles de concentration choisis des 4 molécules. La fonction de réponse est une droite, ce qui est déterminant pour la suite de la validation de la méthode. La **linéarité** a été démontrée au vu des droites d'étalonnage et des coefficients de régression obtenus, tous supérieurs à 0,997 ainsi qu'aux pourcentages de déviation calculés, tous inférieurs à 15%, entre les valeurs (concentrations) de la gamme d'étalonnage et celles obtenues sur la droite de régression, effectués pour 5 points de gamme sur 5 jours.
- ✚ Au vu des **coefficients de variation**, tous inférieurs à 15%, la méthode est considérée comme étant **précise**.
- ✚ La **justesse** de la méthode a été analysée selon :
  - ❖ L'expression du recouvrement : les taux de recouvrement moyens obtenus sont tous compris dans l'intervalle +/- 10%.
  - ❖ Le profil d'évolution des taux de recouvrement, basé sur l'établissement d'un intervalle de confiance calculé selon une probabilité  $\beta$  et d'un « intervalle d'acceptation » à +/- 10% a permis de conclure sur la justesse de la méthode. En

effet pour chaque molécule et chaque contrôle qualité, l'IC calculé est toujours inclus dans les limites fixées entre 90 et 110%.

- ❖ La méthode est donc considérée comme juste.

La méthode développée est la 1<sup>ère</sup> proposant le dosage commun des 4 analgésiques. Il existe, dans la littérature scientifique, plusieurs méthodes permettant de doser ces 4 molécules seules ou dans certaines associations (maximum 3 molécules par association) mais aucune sur le mélange des 4. Elle présente un réel intérêt dans la **libération rapide** des lots fabriqués, notamment dans la situation où plusieurs préparations sont effectuées le jour même, n'obligeant pas à changer de méthode en fonction des associations préparées.

Pour conclure, la méthode est donc **spécifique, linéaire, précise, juste donc exacte.**

Elle permet la **libération des lots de fabrication** par réalisation d'un contrôle de teneur.

Elle permet également de **valider le processus de fabrication** des seringues d'analgésie intrathécale ainsi **qu'étudier leurs stabilités.**

## 2.3. Etude de stabilité physico-chimique

### 2.3.1. Données existantes – Recherches bibliographiques

Il existe plusieurs données dans la littérature scientifique étudiant la stabilité des molécules seules et/ou associées mais aucune, aujourd'hui, sur l'association morphine, ropivacaïne et baclofène et par conséquent, aucune sur l'association des 4 analgésiques étudiés.

Parmi les données existantes, sont résumées ci-dessous :

- ✓ Une étude menée par Medtronic [31] qui démontre une stabilité de la morphine pendant 180 jours à l'intérieur des pompes SYNCHROMED® II et 90 jours à l'intérieur des pompes SYNCHROMED® EL ; cependant, le sel de morphine utilisé est le sulfate alors que notre étude et les pratiques réalisées au CHU de Poitiers le sont avec du chlorhydrate. Cette étude démontre également une stabilité du baclofène pendant 180 jours à l'intérieur des pompes SYNCHROMED® II et 90 jours à l'intérieur des pompes SYNCHROMED® EL aux concentrations 0,5 et 2 mg/mL. Aucune précision n'est apportée sur les conditions de conservation (température).
- ✓ D'autres études ont été menées.

Parmi elles, sont retrouvées les associations :

- ❖ **morphine - clonidine** [32] : stabilité démontrée, sur 90 jours à 37°C, à 2 concentrations différentes pour chaque molécule, à l'intérieur des pompes SYNCHROMED® EL ;
- ❖ **baclofène - clonidine** [33] : stabilité physico-chimique démontrée pour 1 seule concentration en molécules, pendant 14 semaines à 37°C, à l'intérieur des pompes SYNCHROMED®. Les concentrations en baclofène et clonidine obtenues au bout de 16 semaines sont par contre inférieures à 90% de celles initiales. Deux autres concentrations ont été testées mais en fioles, non en pompes et à 37°C.
- ❖ **baclofène** (- Ziconotide) [34] : stabilité démontrée pour 2 concentrations en baclofène, sur 30 jours, à 37°C, dans les pompes SYNCHROMED® II et également sur 30 jours, dans des fioles conservés à 5 et 37°C.
- ❖ **morphine - baclofène** [35] : stabilité démontrée à l'intérieur de pompes INFUSAID® Model 4000, à 37°C et sur 30 jours ;
- ❖ **morphine - ropivacaïne** (- Ziconotide) [36] : stabilité démontrée sur 30 jours pour ces 2 molécules pour des concentrations oscillant entre 1 et 10 mg/mL conservées en seringues Plastipak® à 4 et 20°C et en pompes SYNCHROMED® II à 37°C.

Une autre étude associant morphine - ropivacaïne - clonidine (- Ziconotide) [37] est la seule démontrant la stabilité sur 40 jours de ces 3 molécules en association à 37°C, pour une seule concentration en morphine, ropivacaïne et clonidine, à l'intérieur de pompes SYNCHROMED® II. La différence avec notre étude est l'utilisation d'un sel différent : sulfate versus chlorhydrate pour notre étude.

Une autre étude [38] porte sur cette même association mais la ropivacaïne est remplacée par la bupivacaïne. Elle démontre la stabilité de cette tri-association sur 90 jours à 37°C mais pour des concentrations en morphine plus importante que celles vues au CHU de Poitiers. Cette étude concerne également des fioles conservées à 4°C pendant 90 jours.

Ces 2 dernières études sont résumées dans le tableau 31.

**Tableau 31. Etudes de stabilité du mélange morphine-clonidine-ropivacaïne (bupivacaïne)**

Etude	Produits Concentration	Durée et T°C	Matériel utilisé	Résultats
[37]- In vitro stability of low- concentration ziconotide alone or in admixtures in intrathecal pumps.	[M] = 7,5 mg/mL [R] = 7,5 mg/mL [C] = 15 µg/mL Excipient : NaCl [Z] = 0,1 - 0,25 - 0,5 - 0,75 µg/mL	37°C 40 jours	SynchroMed II® 20 mL non rincées	[M] = <b>101,6%</b> de [M] initiale en moyenne [R] = <b>101,8%</b> de [R] initiale en moyenne [C] = <b>100,2%</b> de [C] initiale en moyenne  Contrôles dans des flacons à 4°C et à 37°C à l'abri de la lumière. Echantillons prélevés à partir du réservoir de la pompe et du cathéter.  [M] à 4°C finale = <b>100,7%</b> de [M] initiale [C] à 4°C finale = <b>98,0%</b> de [C] initiale [Bu] à 4°C finale = <b>100,7%</b> de [Bu] initiale
[38]- Stability of admixture containing morphine sulfate, bupivacaine hydrochloride and clonidine hydrochloride in an implantable infusion system.	[M] = 50 mg/mL [C] = 2 mg/mL [Bu] = 25 mg/mL Excipient : eau stérile	4°C et 37°C 90 jours	Pompe SynchroMed EL® 18 mL rincée avec 10 mL du mélange + cathéter en silicone Medtronic model 8709 + flacons	[M] à 37°C finale = <b>100%</b> de [M] initiale [C] à 37°C finale = <b>99%</b> de [C] initiale [Bu] à 37°C finale = <b>104,2%</b> de [Bu] initiale [M] finale à 37°C prélèvement au niveau réservoir et cathéter = <b>99,1%</b> et <b>98,6%</b> de [M] initiale [C] finale à 37°C prélèvement au niveau réservoir et cathéter = <b>91,5%</b> et <b>93%</b> de [C] initiale [Bu] finale à 37°C prélèvement au niveau réservoir et cathéter = <b>101,6%</b> et <b>102,7%</b> de [Bu] initiale Pas de modification significative du pH ni de l'osmolarité, pas de particules retrouvées La solution reste limpide avec une légère coloration jaune

## 2.3.2. Matériels et méthodes

### 2.3.2.1. Matières premières utilisées

Les matières premières sont identiques à celles utilisées lors de la validation de la méthode analytique ; il s'agit des 4 molécules et des mêmes solvants destinés à la fabrication et au contrôle des mélanges.

### 2.3.2.2. Matériels utilisés

Deux conditions de conservation ont été testées :

- ✚ La conservation au réfrigérateur (2-8°C), après fabrication en atmosphère contrôlée et avant le remplissage de la pompe (*réfrigérateur sous clef car pouvant conserver des stupéfiants*) ;
- ✚ La conservation au bain-marie (37°C) pour mimer les conditions à l'intérieur des pompes.

Les conditionnements primaires utilisés étaient de 2 types :

- ✚ Des seringues en Polypropylène (PP) de différents volumes certifiées sans DEHP, sans latex et sans phtalates, utilisées pour la fabrication et la conservation au réfrigérateur ;
- ✚ 1 pompe SYNCHROMED® II de volume 40 mL, identique à celle implantée au CHU de Poitiers.

Les appareils de mesures utilisés étaient :

- ✚ une HPLC-UV et son logiciel d'acquisition identiques à la validation de la méthode ;
- ✚ un osmomètre à tension de vapeur Vapro® du laboratoire WESCOR permettant la mesure de l'osmolarité des mélanges ;
- ✚ et un pH-mètre EcoScan® du laboratoire EUTECH Instruments pour mesurer le pH des seringues préparées.

### 2.3.2.3. Préparation des solutions

La gamme a été préparée en suivant le protocole rédigé lors de l'étape de validation de la méthode (cf. 2.2.1.3. « Préparation des solutions »).

Un contrôle qualité a également été utilisé lors de chaque mesure ( $C_{\text{Medium}}$ ) dans le but de valider la gamme d'étalonnage.

Les seringues testées contenant les 4 analgésiques ont été préparées en ZAC pour mimer les conditions exactes de fabrication.

#### 2.3.2.4. Description de l'étude et analyse

L'étude de stabilité a été réalisée sur l'association des 4 molécules : morphine, clonidine, baclofène et ropivacaïne.

L'objectif lors de cette étude a été de vérifier la stabilité physico-chimique des préparations à la fois pour la conservation avant dispensation à 4°C et pour la conservation, après remplissage, à l'intérieur des pompes (37°C).

Pour cela, l'étude a été scindée en 2 étapes :

- ✚ Une étude sur 48 heures à partir de 5 seringues de 60 mL conservées au réfrigérateur (entre 2 et 8°C) → *température relevée tous les jours* ;
- ✚ Puis, une étude sur 28 jours, à l'intérieur de la pompe SYNCHROMED® II, conservée à 37°C (dans les conditions mimant celles rencontrées à l'intérieur du patient) → *température relevée également tous les jours*.

Plusieurs points sont à préciser :

- ✚ L'étude a été réalisée 2 fois (car une seule pompe était disponible). La 1<sup>ère</sup> fois, elle a été réalisée sur 3 seringues suivi du remplissage de la pompe, puis une 2<sup>nde</sup> fois à partir de 2 seringues (*perte d'une seringue au cours de la 2<sup>ème</sup> expérimentation*) suivi du 2<sup>ème</sup> remplissage de la pompe de 40 mL.
- ✚ La pompe a alors été remplie 2 mois consécutivement à partir de 2 des 5 seringues utilisées pour la 1<sup>ère</sup> étape, cela signifie que la 2<sup>ème</sup> étape prend en considération la conservation des seringues au réfrigérateur avant remplissage des pompes. Il est important d'insister sur la notion **d'étapes successives**.
- ✚ Devant l'impossibilité de tester toutes les concentrations, une concentration moyenne des 4 analgésiques a été choisie. Les concentrations testées étaient de :
  - C<sub>Morphine</sub> = 2,5 mg/mL
  - C<sub>Clonidine</sub> = 0,005 mg/mL
  - C<sub>Ropivacaïne</sub> = 2,5 mg/mL
  - C<sub>Baclofène</sub> = 0,25mg/mL

Pour l'étude de la stabilité physico-chimique des 4 analgésiques, plusieurs critères ont été observés et mesurés :

- |                    |   |                    |
|--------------------|---|--------------------|
| ✚ La limpidité     | } | Stabilité physique |
| ✚ La couleur       |   |                    |
| ✚ Le pH            |   |                    |
| ✚ L'osmolarité     |   |                    |
| ✚ La concentration |   | Stabilité chimique |

Dans ce but, des prélèvements ont été réalisés à J0, J1 et J2 (pour la conservation des seringues à 4°C) puis tous les 7 jours à J9, J16, J23 et J30 à l'intérieur de la pompe (conservation à 37°C).

Les valeurs obtenues de pH, d'osmolarité et de concentration ont été regroupées sous forme de tableaux pour chaque seringue et pompe utilisées (Annexe 6). Elles ont également été exprimées sous forme de graphes (Figures 37 à 42) représentant l'évolution de ces paramètres en fonction du temps mais également du contenant et de la température.

Pour ces graphes, la moyenne de chaque paramètre a été calculé à chaque prélèvement :

- moyenne des 5 mesures de J0 à J2 ;
- suivi de la moyenne des 2 mesures de J9 à J30.

Il a été ajouté l'écart-type calculé à chaque prélèvement, écart-type exprimant la variation plus ou moins importante entre les différentes mesures obtenues et traduisant la précision de l'étude.

Un biais moyen (Annexe 6) a été calculé pour chaque prélèvement (de J1 à J30) par rapport aux valeurs initiales (J0) de pH et d'osmolarité. Ce biais ne doit pas excéder les limites fixées, ici, à +/- 10% pour conclure à la stabilité de l'étude.

La formule utilisée pour le calcul du biais moyen pour le pH est :

$$\text{Biais (pH)} = \frac{(\text{pHmoyen } J_i - \text{pHmoyen } J_0) \times 100}{\text{pHmoyen } J_0}$$

$\text{pHmoyen } J_i = \text{pH moyen à un jour } i$

Le calcul des biais moyen a également été effectué pour l'étude de l'osmolarité selon la formule :

$$\text{Biais (Osm)} = \frac{(\text{Osm moyen } J_i - \text{Osm moyen } J_0) \times 100}{\text{Osm moyen } J_0}$$

$\text{Osm moyen } J_i = \text{Osmolarité moyenne à un jour } i$

Pour l'expression des concentrations, un tableau par molécule a également été présenté, exprimé en % de la concentration initiale (Concentration<sub>(J0)</sub> = 100%) (Annexe 6).

Selon la FDA, un médicament est considéré comme stable si sa dégradation est inférieure à 10%.

### 2.3.3. Résultats

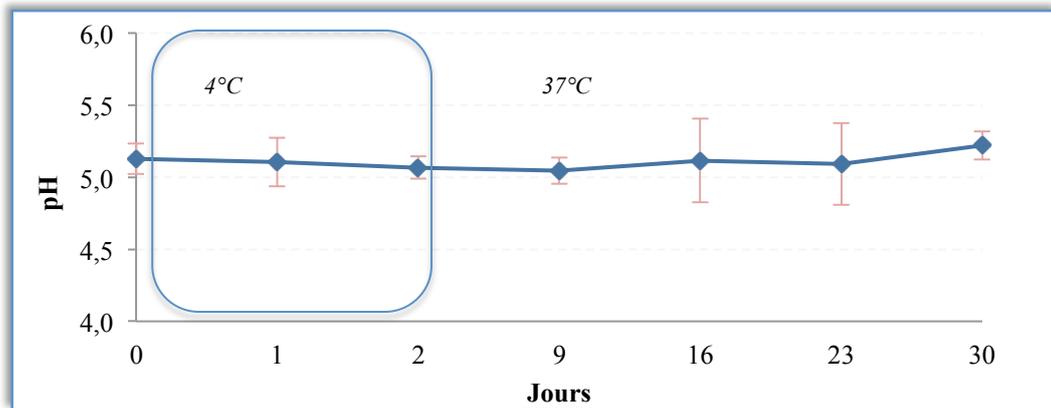
#### 2.3.3.1. Limpidité des préparations

Les solutions des 5 seringues testées ainsi que des 2 pompes présentent un aspect limpide. Aucun trouble n'apparaît, que ce soit après 48 heures de conservation au réfrigérateur, ou après les 28 jours suivants *in vitro*, à l'intérieur des pompes.

### 2.3.3.2. Coloration des préparations

Les solutions à l'intérieur des 5 seringues et des 2 pompes ne présentent aucune coloration après 30 jours de conservation.

### 2.3.3.3. Evolution du pH



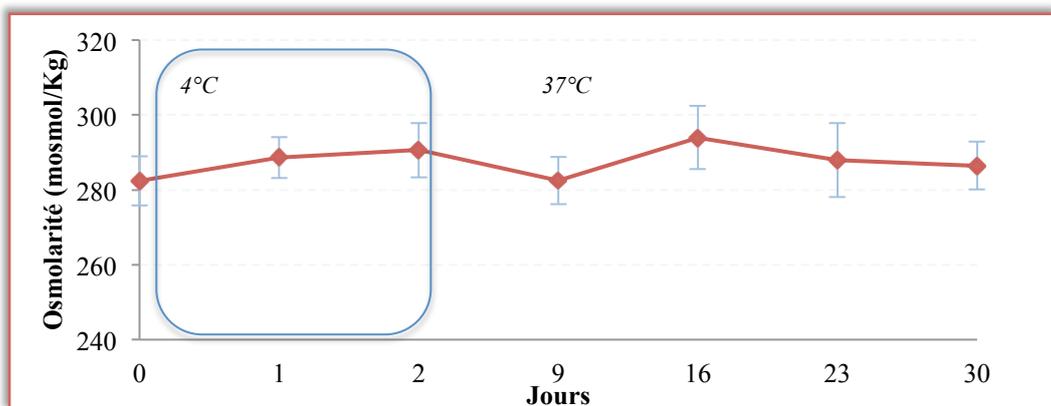
**Figure 37. Evolution du pH en fonction du temps pour les seringues conservées à 4°C et les pompes conservées à 37°C**

Il existe une faible variation de pH au cours du temps.

La moyenne à J0 donne une valeur de pH égale à 5,13 +/- 0,106 alors que le  $pH_{\text{moyen}}$  obtenu à J30 est égale à 5,22 +/- 0,099 soit un biais calculé de **1,75%**.

Le biais maximum observé est également de **1,75%**, au bout de 30 jours (Annexe 6).

### 2.3.3.4. Evolution de l'osmolarité



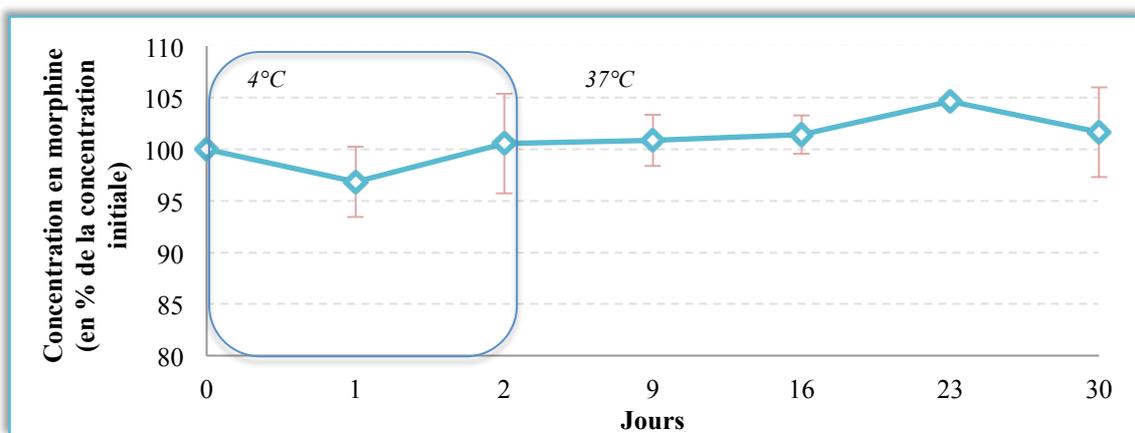
**Figure 38. Evolution de l'osmolarité en fonction du temps pour les seringues conservées à 4°C et les pompes conservées à 37°C**

Il existe une faible variation de l'osmolarité au bout de 30 jours, après conservation en seringues pendant 48 heures, au réfrigérateur, puis 28 jours à 37°C, à l'intérieur des pompes SYNCHROMED® II.

Il est observé une légère augmentation entre l'osmolarité moyenne mesurée à J0 (282,4 +/- 6,542 mosm/Kg) et celle observée au bout de 30 jours (286,5 +/- 6,364 mosm/Kg) soit un biais de 1,45%.

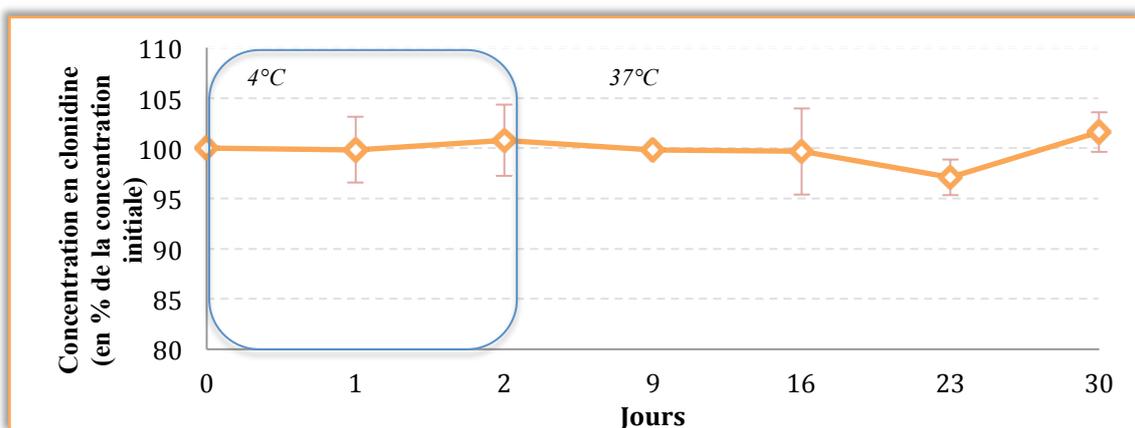
Le biais maximum calculé est de 4,11% observé lors du prélèvement à J16 (Annexe 6).

### 2.3.3.5. Evolution des concentrations



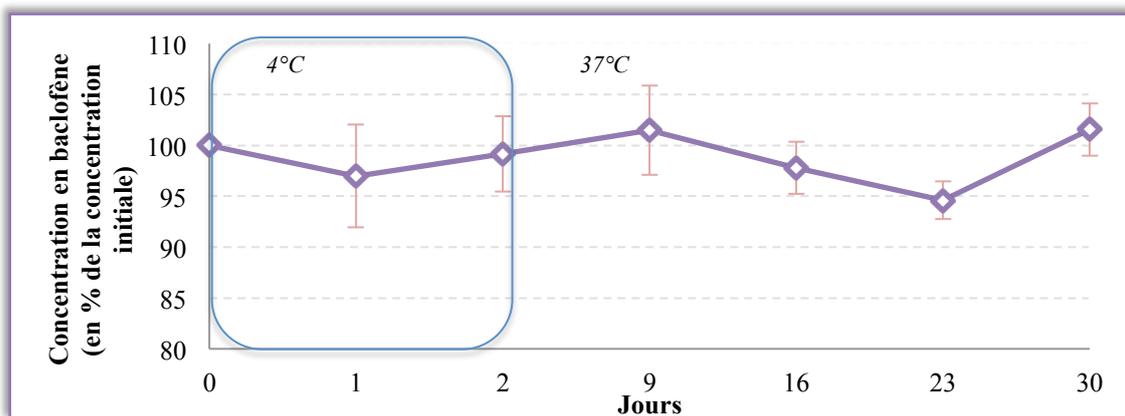
**Figure 39. Evolution de la concentration en morphine en fonction de la valeur mesurée à J0 (exprimée en % de J0) à l'intérieur des seringues et des pompes**

Le biais maximum calculé est de 4,63% observé à J23 (Annexe 6).



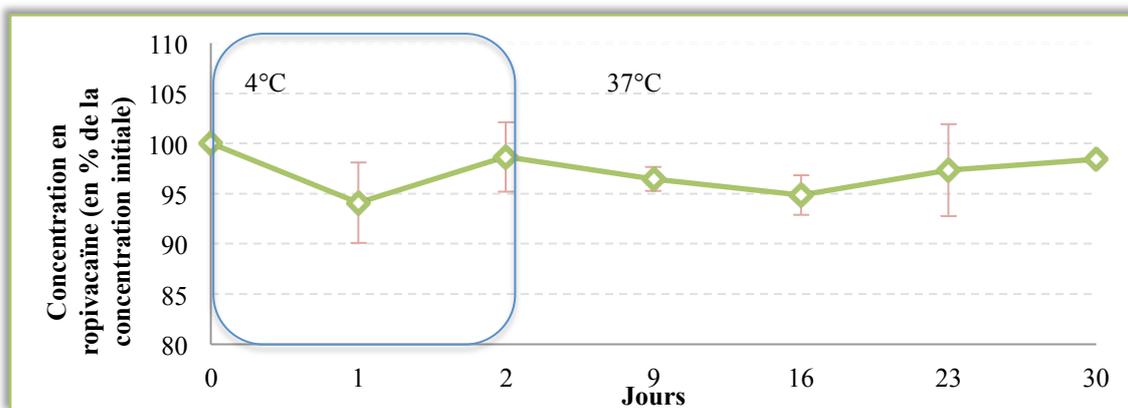
**Figure 40. Evolution de la concentration en clonidine en fonction de la valeur mesurée à J0 (exprimée en % de J0) à l'intérieur des seringues et des pompes**

Le biais maximum calculé est de -2,90% observé à J16 (Annexe 6).



**Figure 41. Evolution de la concentration en baclofène en fonction de la valeur mesurée à J0 (exprimée en % de J0) à l'intérieur des seringues et des pompes**

Le biais maximum calculé est de **-5,40%** observé à J23 (Annexe 6).



**Figure 42. Evolution de la concentration en ropivacaïne en fonction de la valeur mesurée à J0 (exprimée en % de J0)**

Le biais maximum calculé est de **-5,92%** observé à J1 (Annexe 6).

En conclusion, les concentrations moyennes calculées entre J0 et J30 ne varient jamais au delà de 10% de la concentration initiale de chaque molécule.

#### 2.3.4. Discussion

Les résultats obtenus au bout d'un mois d'étude physico-chimique confirment la stabilité des mélanges d'analgésiques utilisés.

L'aspect macroscopique (limpidité et couleur) n'évolue pas au cours du temps. La coloration jaunâtre décrite dans la publication [32] n'apparaît pas au cours des 30 jours et confirme la non dégradation (ou très faible) de la morphine.

Le pH et l'osmolarité des solutions varient au cours de ces 30 jours mais pas significativement pour conclure à une dégradation des produits initiaux en produits de dégradation influençant ces 2 paramètres (biais calculés < 10%).

Les concentrations en analytes ne varient pas en fonction du temps, de la température et du contenant ; aucune valeur ne sort de l'intervalle 90-110%.

L'association utilisée lors de cette étude est donc stable dans les 2 conditions de conservation testées, 48 heures à 4°C puis 28 jours à 37°C à l'intérieur des pompes SYNCHROMED® II.

#### Limites de l'étude :

- Les posologies dans l'analgésie intrathécale sont adaptées à chaque patient et chaque douleur ; c'est pourquoi, les préparations destinées à ce type d'analgésie peuvent contenir des concentrations très différentes en molécules antalgiques. Dans ces conditions, il est impossible de vérifier la stabilité de chaque composition pour analgésie intrathécale. Nous avons donc choisi de tester une seule concentration, la concentration moyenne retrouvée afin d'établir la stabilité du mélange des 4 antalgiques.
- L'expérimentation n'a été réalisée que 2 fois, ce qui peut constituer une limite dans la variabilité des résultats, mais du fait de la disponibilité d'une seule pompe et de la durée de l'étude, nous n'avons pu réaliser une 3<sup>ème</sup> expérience qui sera menée ultérieurement.

#### Perspectives :

- L'étude a été réalisée à l'intérieur de pompes à 37°C, il serait intéressant de vérifier la stabilité des mélanges analgésiques à l'intérieur des cassettes (dispositif non implantable) conservées à température ambiante (20°C).
- Il serait également intéressant d'étudier les phénomènes de sorption (absorption et adsorption) par étude des faibles concentrations.
- Dans la mesure où, chez certains patients, le remplissage peut se faire sur des délais plus espacés, il pourrait être intéressant d'étudier la stabilité sur une durée plus importante (60 voire 90 jours).

## 2.4. Etude de stabilité microbiologique

### 2.4.1. Matériels et méthodes

#### 2.4.1.1. Matières premières utilisées

Les matières premières sont identiques à celles utilisées lors de la validation de la méthode analytique et l'étude de stabilité physico-chimique auxquelles sont ajoutés des milieux de culture et des souches microbiennes détaillés ci-dessous :

#### + Milieux de culture destinés aux essais

- ❖ Thioglycolate Résazurine (TR) principalement destiné à la culture des germes anaérobies mais également la détection des aérobies ;
- ❖ Trypticase Soja (TS) pour la recherche des levures et moisissures ainsi que les bactéries aérobies ;

Ces 2 milieux, du laboratoire Merck Millipore, se présentent sous forme de milieux liquides de 9 mL, conformes à la Pharmacopée Européenne.

- ❖ Hémoculture Aérobie BacT/ALERT® FA (volume 30 mL) et Anaérobie BacT/ALERT® FN (volume 40 mL) du laboratoire Biomérieux

#### + Milieux de culture destinés au repiquage des souches microbiennes

- ❖ Gélose COS (Columbia + 5% de sang de mouton) du laboratoire Biomérieux
- ❖ Gélose CAN2 (chromID™ Candida) de chez Biomérieux,
- ❖ Gélose CZAPEK-Dox modifiée fabriquée au laboratoire de Parasitologie du CHU de Poitiers,
- ❖ Et gélose Sabouraud-Chloramphénicol du laboratoire Bio-Rad.

+ **Souches microbiennes** recommandées par la Pharmacopée Européenne 9.0 [42] et présentées dans le tableau 32.

**Tableau 32. Souches des microorganismes appropriées pour les essais de fertilité et d'applicabilité [42]**

<u>Bactéries aérobies</u>	
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 9027
<u>Bactérie anaérobie</u>	
<i>Clostridium sporogenes</i>	ATCC 19404
<u>Moisissures et levures</u>	
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	ATCC 16404

#### 2.4.1.2. Matériels utilisés

Au matériel utilisé pour la fabrication des seringues lors de l'étude de stabilité physico-chimique (présenté dans la partie 2.3.1.2. « Matériels utilisés ») s'ajoute l'ensemble du matériel disponible au laboratoire d'hygiène :

- ✚ Bec bunsen,
- ✚ Jarre pour conservation en anaérobie,
- ✚ Etuve à 22, 30 et 36°C,
- ✚ Automate BacT/ALERT®.

Deux conditions de conservation ont été testées :

- ✚ La conservation sur 48 heures au réfrigérateur (2-8°C), après fabrication en atmosphère contrôlée ;
- ✚ La conservation sur 28 jours à l'étuve (36 ± 2°C) dans le but de mimer les conditions à l'intérieur des pompes.

#### 2.4.1.3. Préparation des solutions et manipulation des souches microbiennes

La préparation des seringues intrathécales a été effectuée au préparatoire de la pharmacie sous hotte à flux laminaire, en ZAC.

Suite à l'impossibilité de tester tous les mélanges en analgésiques (même cas de figure que la stabilité physico-chimique), un mélange a été testé pour ces concentrations :

- |   |  |
|---|--|
| <input type="checkbox"/> C <sub>Morphine</sub> = 4,7 mg/mL    | <input type="checkbox"/> C <sub>Clonidine</sub> = 0,0094 mg/mL |
| <input type="checkbox"/> C <sub>Ropivacaïne</sub> = 4,7 mg/mL | <input type="checkbox"/> C <sub>Baclofène</sub> = 0,47mg/mL    |

- Pour cette étude de stabilité microbiologique, 13 seringues ont été préparées parmi lesquelles, 7 seringues ont été utilisées pour l'essai d'applicabilité (permettant de détecter si le mélange d'analgésiques altère la croissance microbienne) et 6 autres pour l'essai de stérilité des préparations.

- Pour l'essai d'applicabilité de la méthode, les tubes TR et TS ont été remplis, au préparatoire de la pharmacie, avec 2 mL de préparation analgésique, les flacons d'hémocultures aérobies avec 7 mL et anaérobies avec 9 mL dans le but de conserver la même proportion milieu de culture / préparation intrathécale.

- Les étapes spécifiques à la microbiologie ont été effectuées, soit sous un poste de sécurité microbiologique (PSM) de type II pour inoculer les flacons par les souches microbiennes, soit sur paillasse pour les étapes de repiquage et/ou d'identification sur gélose (au laboratoire d'hygiène).
- La calibration des inoculums pour les germes utilisés a été réalisée dans un 1<sup>er</sup> temps au densitomètre, puis par dilution successive de  $10^{-1}$  à  $10^{-7}$ . Les suspensions ont ensuite été repiquées sur gélose dans le but de sélectionner la dilution qui nous permettra d'obtenir moins de 100 UFC/mL.

#### 2.4.1.4. Description, développement de l'étude et analyse

Les objectifs de cette étude ont été de :

- ✚ Valider une méthode permettant de vérifier la stérilité des préparations d'analgésiques intrathécales et ainsi contrôler le **process de préparation** ;
- ✚ Valider la possibilité de conserver les préparations pendant 48 heures au réfrigérateur sans risque de contamination microbiologique ;
- ✚ Valider l'absence de risque de contamination microbiologique à 36°C (milieu favorisant la pousse microbienne) après remplissage des pompes ;
  - en d'autres termes, **étudier la stabilité du mélange des 4 analgésiques.**

Le document de référence pour la réalisation de notre essai de stabilité microbiologique est la pharmacopée Européenne 9<sup>ème</sup> édition, chapitre 2.6.1. [42].

Les milieux de culture de référence sont des milieux liquides en tube prêts à l'emploi : TR et TS. En parallèle des milieux recommandés par la Pharmacopée, ont été testés des hémocultures aérobies et anaérobies.

Conformément à la Pharmacopée Européenne, 4 tests et/ou essais ont été réalisés :

- ✚ un essai de **stérilité des milieux de culture** ;
- ✚ un essai de **fertilité des milieux de culture** ;
- ✚ un essai de **fertilité des préparations d'analgésiques** ou essai d'**applicabilité** ;
- ✚ et un essai de **stérilité des préparations d'analgésiques.**

Les 3 premiers essais doivent impérativement être réalisés préalablement à l'essai de stérilité des préparations. Ils permettent d'évaluer que les conditions de réalisation des essais sont correctes et ainsi de valider la méthode.

- ✚ **L'essai de stérilité** des milieux permet de s'assurer que la croissance d'un microorganisme est due à sa présence dans l'échantillon testé et non pas à une contamination préalable des lots de milieu, il est également appelé **témoin négatif**.
- ✚ **L'essai de fertilité des milieux** permet de confirmer que les milieux utilisés sont aptes à la croissance des microorganismes utilisés, également appelé **témoin positif**.
- ✚ **L'essai d'applicabilité** permet de vérifier que les molécules testées n'inhibent pas la croissance d'éventuels microorganismes provenant d'une contamination des échantillons testés.

L'ensemble de ces essais sont présentés et décrits ci-dessous dans les tableaux 33 à 38.

✓ Essai de stérilité des milieux de culture

**Tableau 33. Essai de stérilité des milieux de culture**

Milieux de culture			
*TR -	**TS -	Aérobie -	Anaérobie -

\* Thioglycolate Résazurine

\*\* Trypticase Soja

- : sans inoculum microbien (Témoin négatif)

L'objectif de l'essai de stérilité des milieux (Tableau 33) est de démontrer que les milieux fournis par le fabricant sont stériles. Il s'agit d'une mise en étuve des milieux seuls, sans ajout de microorganismes ou de molécules analgésiques, pendant 14 jours, afin de confirmer l'absence de contamination par des microorganismes.

Le milieu TR est mis à incuber à 30°C, celui TS à 22°C comme préconisé par la Pharmacopée et les hémocultures à 36°C comme préconisé par le fabricant en technique de biologie médicale.

Ces essais sont satisfaisants à partir du moment où aucun signe de croissance microbienne n'est observé au bout de 14 jours d'incubation.

La croissance microbienne est caractérisé par apparition d'un trouble macroscopique dans les tubes TR et TS, il s'agit d'une technique manuelle par mirage, et confirmés par repiquage sur gélose COS (pour l'ensemble des germes) et gélose Sabouraud-Chloramphénicol pour *Aspergillus brasiliensis*. L'observation est bi-quotidienne.

Pour les hémocultures, la croissance microbienne, à l'origine d'un dégagement de CO<sub>2</sub>, induit un virage colorimétrique détecté par l'automate. La lecture est réalisée toutes les 10 minutes et l'automate déclenche une alerte en cas de positivité.

✓ Essai de fertilité des milieux de culture

L'objectif de cet essai (Tableaux 34 et 35) est de contrôler que les milieux permettent la croissance de microorganismes par ensemencement de petites quantités des espèces décrites dans la Pharmacopée.

Les espèces étudiées sont présentées dans le tableau 34 selon les recommandations de la Pharmacopée Européenne 9.0.

Ces 2 tableaux 34 et 35 représentent les associations milieux + germes, réalisées en triplicata.

**Tableau 34. Essai de fertilité des milieux TR et TS**

<u>Milieux de cultures</u>	<u>Germes</u>					
	Cs	Pa	Sa	Bs	Ca	Ab
<b>*TR1</b>	TR1 x Cs	TR1 x Pa	TR1 x Sa	X		
<b>*TR2</b>	TR2 x Cs	TR2 x Pa	TR2 x Sa			
<b>*TR3</b>	TR3 x Cs	TR3 x Pa	TR3 x Sa			
<b>**TS1</b>	X			TS1 x Bs	TS1 x Ca	TS1 x Ab
<b>**TS2</b>				TS2 x Bs	TS2 x Ca	TS2 x Ab
<b>**TS3</b>				TS3 x Bs	TS3 x Ca	TS3 x Ab

\* Thioglycolate Résazurine  
 Cs : *Clostridium sporogenes*  
 Pa : *Pseudomonas aeruginosa*  
 Sa : *Staphylococcus aureus*

\*\* Trypticase Soja  
 Bs : *Bacillus subtilis*  
 Ca : *Candida albicans*  
 Ab : *Aspergillus brasiliensis*

**Tableau 35. Essai de fertilité des hémocultures**

<u>Milieux de culture</u>	<u>Germes</u>					
	Cs	Pa	Sa	Bs	Ca	Ab
<b>Aérobic1</b>	X	Aér1 x Pa	Aér1 x Sa	Aér1 x Bs	Aér1 x Ca	Aér1 x Ab
<b>Aérobic2</b>		Aér2 x Pa	Aér2 x Sa	Aér2 x Bs	Aér2 x Ca	Aér2 x Ab
<b>Aérobic3</b>		Aér3 x Pa	Aér3 x Sa	Aér3 x Bs	Aér3 x Ca	Aér3 x Ab
<b>Anaérobic1</b>	Anaér1 x Cs	X	Anaér1 x Sa	Anaér1 x Bs	X	
<b>Anaérobic2</b>	Anaér2 x Cs		Anaér2 x Sa	Anaér2 x Bs		
<b>Anaérobic3</b>	Anaér3 x Cs		Anaér3 x Sa	Anaér3 x Bs		

Cs : *Clostridium sporogenes*  
 Pa : *Pseudomonas aeruginosa*  
 Sa : *Staphylococcus aureus*

Bs : *Bacillus subtilis*  
 Ca : *Candida albicans*  
 Ab : *Aspergillus brasiliensis*

- Selon la Pharmacopée, moins de 100 UFC ont été inoculés dans chaque milieu (tube et hémoculture), sous PSM II, en l'absence de substances analgésiques.

Pour chaque souche, 3 milieux de culture ont été incubés (**réalisation en triplicata** → évaluation de la précision de la méthode).

Les milieux TR ont été incubés et observés 5 jours à 30°C et ceux TS, 5 jours à 22°C, au laboratoire d'hygiène.

Les flacons d'hémocultures ont été incubés 5 jours à 36°C.

En parallèle de ces ensemencements, ont été réalisés des repiquages des solutions microbiennes préparées pour chaque souche sur 3 géloses (1/3 mL pour chaque gélose) dans le but de vérifier que le nombre de germes inoculés est strictement < 100 UFC.

Ce repiquage a été effectué sur gélose COS pour tous les germes excepté *Candida albicans* (gélose CAN2) et *Aspergillus brasiliensis* (gélose Sabouraud-Chloramphénicol).

- La détection de la positivité des milieux de référence a été évaluée par mirage bi-quotidiennement. Contrairement à ces milieux, les hémocultures positives étaient détectées par l'automate et traitées immédiatement par les techniciens. La multiplication des germes est à l'origine d'une libération de CO<sub>2</sub>, qui fait varier le pH et induit un changement de couleur de l'indicateur à l'intérieur des hémocultures. Ce virage colorimétrique est alors détecté par l'automate BacT/ALERT®.

Pour considérer l'essai comme satisfaisant, chaque tube ou flacon d'hémoculture positif a ensuite été repiqué sur gélose COS (excepté pour *Aspergillus* sur Sabouraud-Chloramphénicol) afin de contrôler l'espèce du germe présent.

A partir des délais de croissance microbienne des tubes de référence et des hémocultures, ont été calculés des coefficients de variation (CV) pour chaque milieu et chaque germe (triplicata).

La formule du CV utilisé est :

$$CV = \frac{S(x) \times 100}{m}$$

$S(x)$  = écart type des 3 échantillons et  $m$  = moyenne des 3 échantillons

La limite de conformité a été fixée à 15%, en suivant les mêmes recommandations que lors du développement de la méthode analytique de dosage.

✓ Essai de fertilité des préparations d'analgésiques = essai d'applicabilité

L'objectif de cet essai, présenté dans les tableaux 36 et 37, est de contrôler que les molécules testées ne présentent aucun effet inhibiteur sur la croissance bactérienne.

Si tel était le cas, une absence de croissance bactérienne durant l'essai de stérilité ne pourrait pas être interprétée.

Ces 2 tableaux représentent les associations milieux + germes + seringues d'analgésique (S) réalisées en triplicata.

**Tableau 36. Essai d'applicabilité des milieux TR et TS**

<u>Milieux de culture</u>	<u>Germes</u>					
	Cs	Pa	Sa	Bs	Ca	Ab
<b>*TR1</b>	TR1 x Cs x S	TR1 x Pa x S	TR1 x Sa x S	X		
<b>*TR2</b>	TR2 x Cs x S	TR2 x Pa x S	TR2 x Sa x S			
<b>*TR3</b>	TR3 x Cs x S	TR3 x Pa x S	TR3 x Sa x S			
<b>**TS1</b>	X			TS1 x Bs x S	TS1 x Ca x S	TS1 x Ab x S
<b>**TS2</b>				TS2 x Bs x S	TS2 x Ca x S	TS2 x Ab x S
<b>**TS3</b>				TS3 x Bs x S	TS3 x Ca x S	TS3 x Ab x S

\* Thioglycolate Résazurine

\*\* Trypticase Soja

S : Seringue d'analgésiques

Bs : *Bacillus subtilis*

Cs : *Clostridium sporogenes*

Ca : *Candida albicans*

Pa : *Pseudomonas aeruginosa*

Ab : *Aspergillus brasiliensis*

Sa : *Staphylococcus aureus*

**Tableau 37. Essai d'applicabilité des hémocultures**

<u>Milieux de culture</u>	<u>Germes</u>					
	Cs	Pa	Sa	Bs	Ca	Ab
<b>Aérobic1</b>	X	Aér1 x Pa x S	Aér1 x Sa x S	Aér1 x Bs x S	Aér1 x Ca x S	Aér1 x Ab x S
<b>Aérobic2</b>		Aér2 x Pa x S	Aér2 x Sa x S	Aér2 x Bs x S	Aér2 x Ca x S	Aér2 x Ab x S
<b>Aérobic3</b>		Aér3 x Pa x S	Aér3 x Sa x S	Aér3 x Bs x S	Aér3 x Ca x S	Aér3 x Ab x S
<b>Anaérobic1</b>	Anaér1 x Cs x S	X	Anaér1 x Sa x S	Anaér1 x Bs x S	X	
<b>Anaérobic2</b>	Anaér2 x Cs x S		Anaér2 x Sa x S	Anaér2 x Bs x S		
<b>Anaérobic3</b>	Anaér3 x Cs x S		Anaér3 x Sa x S	Anaér3 x Bs x S		

S : Seringue d'analgésiques

Bs : *Bacillus subtilis*

Cs : *Clostridium sporogenes*

Ca : *Candida albicans*

Pa : *Pseudomonas aeruginosa*

Ab : *Aspergillus brasiliensis*

Sa : *Staphylococcus aureus*

- Les seringues d'analgésiques ont été préparées au préparatoire de la pharmacie en ZAC (conformément aux BPP).

Par la suite, 2 mL de préparation analgésique ont été introduits dans les tubes TR et TS, 7 mL dans les flacons aérobies et 9 mL dans les flacons anaérobies de façon à conserver la même proportion milieu de culture / préparation.

La technique utilisée était celle par ensemencement direct avec mise en culture des milieux TR, TS et hémocultures après ajout d'1 mL de souches de microorganismes (< 100 UFC/mL).

L'essai a été réalisé sur les 6 germes et en **triplicata** pour en contrôler la précision (répétabilité pour un même germe).

Les milieux TR ont été incubés et observés 5 jours à 30°C et ceux TS, 5 jours à 22°C, au laboratoire d'hygiène, selon les recommandations de la Pharmacopée

Les flacons d'hémocultures ont été incubés 5 jours à 36°C, selon les recommandations du fabricant en technique de biologie médicale.

- Les tubes TR et TS étaient observés tous les jours au laboratoire d'hygiène pour détecter une croissance microbienne (trouble macroscopique). Les hémocultures positives étaient détectées par l'automate et immédiatement traités par les techniciens.

Pour considérer l'essai comme satisfaisant, chaque tube ou flacon d'hémoculture positif a ensuite été ensemencé sur gélose COS (excepté pour *Aspergillus* sur Sabouraud-Chloramphénicol) afin de contrôler l'espèce du germe présent.

L'essai de fertilité des milieux de culture, réalisé en même temps, nous servait de témoin positif.

Comme pour l'essai de fertilité des milieux, les résultats étaient exprimés sous forme d'un délai de positivité des tubes et des hémocultures.

A partir de ces résultats, ont été calculés des coefficients de variation (CV) pour chaque germe et chaque milieu (car réalisé en triplicata).

La formule du CV utilisé est :

$$CV = \frac{S(x) \times 100}{m}$$

*S(x) = écart type des 3 échantillons et m = moyenne des 3 échantillons*

La limite de conformité a été fixée à 15%, en suivant les mêmes recommandations que lors du développement de la méthode analytique de dosage

- Pour les tubes, si une croissance microbienne est comparable au témoin positif (dans le même délai) alors le produit n'inhibe pas la croissance microbienne et satisfait à l'essai de fertilité.

En cas d'absence de croissance ou elle se fait dans un délai plus long que celui du témoin positif alors le mélange peut avoir une activité antimicrobienne.

Ainsi, dans le but de détecter un possible effet anti-microbien des préparations pour analgésie intrathécale, les résultats obtenus pour les hémocultures avec et sans mélange analgésique et ceux obtenus pour les tubes de référence de la Pharmacopée ont été comparés.

Un biais a alors été calculé entre les 2 tests (fertilité et applicabilité) dont la formule est :

$$\text{Biais} = \frac{(T_{\text{moy}}(F) - T_{\text{moy}}(A)) \times 100}{T_{\text{moy}}(F)}$$

*T<sub>moy</sub>(F) = Temps moyen de positivité pour l'essai de fertilité du milieu*

*T<sub>moy</sub>(A) = Temps moyen de positivité pour l'essai d'applicabilité*

N'existant aucune norme Pharmacopée, la valeur limite utilisée pour détecter un effet anti-microbien a été **fixée à 50% d'inhibition**, comme le définit la norme NF EN 13727 sur les produits désinfectants.

- Enfin, 2 autres biais ont également été calculés pour comparer les 2 méthodes utilisées (milieux de référence de la Pharmacopée et hémocultures).

Le 1<sup>er</sup> biais vise à comparer l'essai de fertilité des milieux de culture des 2 méthodes selon la formule :

$$\text{Biais} = \frac{(T_{\text{moy}}(F1) - T_{\text{moy}}(F2)) \times 100}{T_{\text{moy}}(F1)}$$

*T<sub>moy</sub>(F1) = Temps moyen de positivité des milieux de référence pour l'essai de fertilité du milieu*

*T<sub>moy</sub>(F2) = Temps moyen de positivité des hémocultures pour l'essai de fertilité du milieu*

Le 2<sup>nd</sup> vise à comparer l'essai d'applicabilité des 2 méthodes selon la formule :

$$\text{Biais} = \frac{(T_{\text{moy}}(A1) - T_{\text{moy}}(A2)) \times 100}{T_{\text{moy}}(A1)}$$

*T<sub>moy</sub>(A1) = Temps moyen de positivité des milieux de référence pour l'essai d'applicabilité*

*T<sub>moy</sub>(A2) = Temps moyen de positivité des hémocultures pour l'essai d'applicabilité*

#### ✓ Essai de stérilité des préparations

L'objectif de cet essai (présenté dans le tableau 38) est de démontrer que les préparations pour administration intrathécale fabriquées à la pharmacie sont stables 48 heures au réfrigérateur et 28 jours supplémentaires à 37°C dans les pompes.

**Tableau 38. Essai de stérilité des préparations intrathécales**

Milieux de culture	Seringue IT		
	J0	J15	J30
*TR1	TR1 x J0	TR1 x J15	TR1 x J30
*TR2	TR2 x J0	TR2 x J15	TR2 x J30
*TR3	TR3 x J0	TR3 x J15	TR3 x J30
**TS1	TS1 x J0	TS1 x J15	TS1 x J30
**TS2	TS2 x J0	TS2 x J15	TS2 x J30
**TS3	TS3 x J0	TS3 x J15	TS3 x J30
Aérobic1	Aér1 x J0	Aér1 x J15	Aér1 x J30
Aérobic2	Aér2 x J0	Aér2 x J15	Aér2 x J30
Aérobic3	Aér3 x J0	Aér3 x J15	Aér3 x J30
Anaérobic1	Anaér1 x J0	Anaér1 x J15	Anaér1 x J30
Anaérobic2	Anaér2 x J0	Anaér2 x J15	Anaér2 x J30
Anaérobic3	Anaér3 x J0	Anaér3 x J15	Anaér3 x J30

\* Thioglycolate Résazurine

\*\* Trypticase Soja

Pour réaliser cette étude, les préparations réalisées en ZAC et sous hotte à flux laminaire ont étéensemencées à J0, J15 et J30 en flacons hémocultures et tubes TR-TS. Les conditions d'incubation sur 14 jours des tubes et flacons étaient les mêmes que celles mentionnées ci-dessus et la lecture des résultats effectuée de manière identique aux autres essais.

#### 2.4.2. Résultats

Le tableau 39 présente les résultats obtenus lors de la vérification des inoculums microbiens pour les essais de fertilité et d'applicabilité, condition nécessaire à la validation de la méthode.

**Tableau 39. Vérification des inoculums microbiens utilisés pour les essais de fertilité et d'applicabilité de la méthode**

	<i>C. sporogenes</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>C. albicans</i>	<i>A. brasiliensis</i>
Nombre d'UFC/mL	140*	12	60	34	6	32

\* Suite au résultat rendu pour *C. sporogenes* (> 100UFC/mL), les essais ont été recommencés pour ce germe avec une suspension calibrée à 26 colonies.

Les essais de stérilité des lots des milieux de culture n'ont montré aucune croissance microbienne au cours des 14 jours.

Les essais de fertilité et d'applicabilité ont montré une croissance microbienne aussi bien pour les milieux de référence de la Pharmacopée que pour les hémocultures, comme présentés dans les tableaux 40 et 41.

**Tableau 40. Délais observés et CV calculés pour la croissance microbienne des essais de fertilité et d'applicabilité des milieux de référence de la Pharmacopée (milieux TR et TS)**

	Fertilité Milieux seuls			Applicabilité		
	Jour de positivité	Temps moyen en heure	*CV	Jour de positivité	Temps moyen en heure	*CV
<i>S. aureus</i>	2 <sup>ème</sup>	36	**NQ	2 <sup>ème</sup>	36	**NQ
<i>C. sporogenes</i>	2 <sup>ème</sup>	36	**NQ	2 <sup>ème</sup>	48	**NQ
<i>P. aeruginosa</i>	2 <sup>ème</sup>	36	**NQ	2 <sup>ème</sup>	36	**NQ
<i>B. subtilis</i>	3 <sup>ème</sup>	60	**NQ	3 <sup>ème</sup>	60	**NQ
<i>C. albicans</i>	3 <sup>ème</sup>	60	**NQ	3 <sup>ème</sup>	60	**NQ
<i>A. brasiliensis</i>	3 <sup>ème</sup>	60	**NQ	3 <sup>ème</sup>	72	**NQ

\*CV : Coefficient de variation

\*\*NQ : Non quantifiable

En ce qui concerne les tubes TR et TS, l'apparition d'un trouble intervient au bout de 36 heures pour la plupart des bactéries alors qu'il intervient plus tard pour les levures et moisissures (minimum 60 heures).

Les CV sont non quantifiables car l'analyse des tubes est bi-quotidienne et les délais de positivité sont les mêmes pour les 3 répétitions de chaque germe.

La croissance microbienne des tubes TR et TS est détectée visuellement et en fonction du germe l'aspect du trouble est variable (Figures 43 à 48) ci-dessous :



**Figure 43. Croissance de *S. aureus* en milieu TR**



**Figure 44. Croissance de *P. aeruginosa* en milieu TR**



**Figure 45. Croissance de *C. sporogenes* en milieu TR**



**Figure 46 : Croissance de *B. subtilis* en milieu TS**



**Figure 47 : Croissance de *C. albicans* en milieu TS**



**Figure 48 : Croissance d'*A. brasiliensis* en milieu TS**

**Tableau 41. Délais observés et CV calculés pour la croissance microbienne des essais de fertilité et d'applicabilité des hémocultures**

	Fertilité Milieux seuls			Applicabilité		
	Jour de positivité	Temps moyen en heure	*CV	Jour de positivité	Temps moyen en heure	*CV
<i>S. aureus</i> (aérobie)	1 <sup>er</sup>	17,47	4,02%	1 <sup>er</sup>	17,90	6,77%
<i>S. aureus</i> (anaérobie)	1 <sup>er</sup>	21,43	5,14%	1 <sup>er</sup>	18,80	7,04%
<i>C. sporogenes</i>	1 <sup>er</sup>	20,37	5,06%	2 <sup>ème</sup>	29,73	8,68%
<i>P. aeruginosa</i>	1 <sup>er</sup>	20,85	8,48%	1 <sup>er</sup>	19,70	4,51%
<i>B. subtilis</i> (aérobie)	1 <sup>er</sup>	12,03	4,87%	1 <sup>er</sup>	12,23	2,34%
<i>B. subtilis</i> (anaérobie)	2 <sup>ème</sup>	30,70	6,03%	1 <sup>er</sup>	21,07	9,42%
<i>C. albicans</i>	2 <sup>ème</sup>	50,30	22,59%	2 <sup>ème</sup>	32,13	7,00%
<i>A. brasiliensis</i>	3 <sup>ème</sup>	63,03	10,69%	3 <sup>ème</sup>	61,55	8,39%

\*CV : Coefficient de variation

En ce qui concerne les hémocultures, la croissance des germes est plus rapide. La croissance des bactéries s'effectue en moins de 24 heures, les levures en 48 heures et les moisissures en moins de 72 heures.

Les CV calculés sont tous inférieurs à 15%, excepté celui du test de fertilité de *C. albicans*.

Pour chaque tube et hémoculture positif, le repiquage a confirmé l'identification de chaque germe et la non contamination par d'autres germes cutanés ou autres, comme le démontrent les figures 49 à 54.



**Figure 49. Repiquage de**  
**S. aureus**



**Figure 50. Repiquage de**  
**P. aeruginosa**



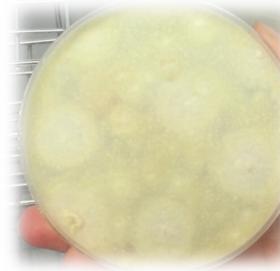
**Figure 51. Repiquage de**  
**C. sporogenes**



**Figure 52. Repiquage de**  
**B. subtilis**



**Figure 53. Repiquage de**  
**C. albicans**



**Figure 54. Repiquage d'**  
**A. brasiliensis**

Le tableau 42 regroupe les différents biais calculés, les 2 biais calculés entre les essais de fertilité et d'applicabilité des 2 méthodes visant à mettre en évidence un possible effet anti-microbien des molécules analgésiques utilisées.

Les 2 autres biais calculés visent à comparer les 2 méthodes utilisées pour cet essai de stabilité microbiologique (entre les milieux de référence et les hémocultures).

**Tableau 42. Expression des biais calculés pour les différents essais et méthodes réalisés**

<b>Détermination des biais</b>				
	<b>Fertilité et Applicabilité (tubes TR-TS)</b>	<b>Fertilité et Applicabilité (hémocultures)</b>	<b>Fertilité des 2 méthodes</b>	<b>Applicabilité de 2 méthodes</b>
<i>S. aureus (aérobie)</i>	*NQ	-2,46%	51,47%	50,28%
<i>S. aureus (anaérobie)</i>	*NQ	12,27%	40,47%	47,78%
<i>C. sporogenes</i>	-33,33%	<b>-47,40%</b>	43,42%	38,06%
<i>P. aeruginosa</i>	*NQ	5,52%	42,08%	45,28%
<i>B. subtilis (aérobie)</i>	*NQ	-1,66%	<b>79,95%</b>	79,62%
<i>B. subtilis (anaérobie)</i>	*NQ	31,37%	48,83%	64,88%
<i>C. albicans</i>	*NQ	36,12%	16,17%	46,45%
<i>A. brasiliensis</i>	-20,00%	2,35%	<b>-5,05%</b>	14,51%

\*NQ : Non quantifiable

Les biais calculés sont très différents les uns des autres.

Certains sont non quantifiables car le délai de croissance microbienne est identique entre les 2 essais de fertilité et d'applicabilité.

### 2.4.3. Discussion

Les inoculums microbiens utilisés respectent les recommandations de la monographie sur l'essai de stérilité (< 100 UFC).

Les 2 méthodes (milieux de référence et hémocultures) répondent alors aux critères de la Pharmacopée.

Ensuite, concernant les 3 essais nécessaires à la validation de la méthode.

☑ **Essai de stérilité des milieux de culture**

Après 14 jours d'incubation, aucun trouble macroscopique n'a été observé pour les milieux en tube. Aucune hémoculture n'a également été positive sur cette durée.

Les milieux TR et TS ainsi que les hémocultures satisfont à l'essai de stérilité des milieux.

☑ **Essai de fertilité des milieux de culture**

Tous les germes ensemencés ont présenté une croissance microbienne au cours des 5 jours excepté un des 3 flacons d'hémocultures aérobies du *P. aeruginosa* (probablement non inoculé) car un trouble macroscopique a été observé sur les 3 tubes TR. De plus, ce type de germe croit parfaitement bien dans les hémocultures.

Les CV des milieux de référence sont non quantifiables ; cela s'explique par un délai de croissance microbienne identique entre les 3 échantillons (triplicata) pour chaque germe. En effet, la technique d'observation des tubes TR et TS par mirage présente une limite : une lecture bi-quotidienne des résultats et par conséquent un délai entre chaque lecture d'environ 12 heures.

Le CV maximum obtenu pour les hémocultures est de 10,69% donc ils sont tous inférieurs à 15%, excepté celui du *C. albicans* (22,59%). Si on exclue la 3<sup>ème</sup> valeur pour ce germe (Annexe 7), le CV passe à 8,05% ; ce qui est tout à fait comparable au CV obtenu lors de l'essai d'applicabilité de la méthode pour ce germe de 7%.

Cela irait dans le sens d'une valeur « aberrante ». Les microorganismes étant des êtres vivants, la limite des 15% choisie est probablement trop stricte car contrairement à un dosage physico-chimique, travailler sur des êtres vivants rend les résultats plus aléatoires.

On peut donc considérer la méthode comme étant précise pour les essais de fertilité.

☑ **Essai d'applicabilité**

Tous les germes ont poussé au cours des 5 jours (excepté un des 3 flacons aérobies pour l'*Aspergillus* qui a poussé au bout de 9 jours). La croissance des spores semblent s'être faite au sein de la partie creuse du bouchon du flacon. Le contact des spores avec le milieu de culture a donc été intermittent (du fait de l'agitation) à l'origine de cette croissance plus lente.

Cependant, les 3 tubes TS ont également poussé en 3 jours confirmant ainsi les résultats obtenus avec les hémocultures pour ce germe.

Les CV des milieux de référence sont non quantifiables comme expliqué précédemment.

Les CV obtenus pour les hémocultures sont tous inférieurs à 15% (la valeur maximale étant de 9,42% si on exclue le flacon d'*A. brasiliensis* qui a poussé au bout de 9 jours) ; la méthode pour l'essai d'applicabilité est également considérée comme précise.

☑ Essai de fertilité des milieux de culture VS essai d'applicabilité

Les biais calculés entre les 2 essais sont très variables.

- Les biais calculés pour les milieux de référence entre les essais de fertilité et d'applicabilité sont non quantifiables et s'expliquent par un délai de croissance identique, excepté pour 2 germes : *C. sporogenes* et *A. brasiliensis*. Leurs valeurs n'étant pas supérieures à 50%, on ne peut pas conclure à un effet anti-microbien des préparations.

- Les biais calculés pour les hémocultures entre ces 2 mêmes essais n'excèdent pas la limite fixée à 50% (la valeur la plus importante étant de 47,40%), on ne peut également conclure sur un possible effet anti-microbien des préparations réalisées à la pharmacie.

Si l'on recherche dans la littérature, il n'existe aucune donnée sur la stabilité microbiologique de ces 4 analgésiques seuls ou associés en administration intrathécale, dans les conditions requises pour l'étude de stabilité physico-chimique.

De plus, dans les RCP de chacune de ces molécules, aucun effet antimicrobien n'est mentionné. Cependant, dans certaines publications, il est mentionné que la ropivacaïne pourrait présenter un effet antimicrobien mais cet effet est non quantifié et comparativement à la bupivacaïne, il serait négligeable [43]–[45].

Ces résultats, associés aux données de la littérature, confirmeraient l'absence d'effet anti-microbien pour les 4 analgésiques utilisés pour la préparation des seringues intrathécales.

- Les biais calculés entre les essais de fertilité et d'applicabilité des 2 méthodes sont très variés, ils s'étendent de -5,05 à 79,95%.

La seule situation rencontrée, où le délai de croissance microbienne est le même pour les techniques, est l'essai de fertilité d'*A. brasiliensis* (biais = -5,05%).

Dans les autres cas, la croissance microbienne est plus rapide dans les hémocultures que dans les milieux de référence de la Pharmacopée. Par exemple, le délai de croissance est 5 fois plus court avec les hémocultures aérobies que les tubes pour *B. subtilis* (biais = 79,95%).

Cela peut s'expliquer par une **agitation constante** dans l'automate des hémocultures et une **température d'incubation** des milieux de référence inférieure aux hémocultures (conservation des tubes TR à 30°C et des tubes TS à 22°C). Le délai de lecture est également un paramètre qui peut influencer ces biais. La lecture toutes les 12 heures des milieux de référence est plus aléatoire que la lecture toutes les 10 minutes des hémocultures par l'automate.

En conclusion, les 3 essais réalisés sur les milieux de référence et les hémocultures sont conformes à la Pharmacopée Européenne et permettent de valider la méthode mise en place à la pharmacie.

Contrairement aux hémocultures, la détection de positivité des milieux de référence présente plusieurs limites : une lecture bi-quotidienne seulement et une détection par mirage aléatoire (l'aspect visuel est un critère moins précis que la technique colorimétrique des automates).

Par exemple, un trouble très faible du milieu pourrait être difficilement détectable et n'être observable que 12 à 24 heures plus tard. La lecture est également technicien-dépendant.

Les délais de positivité des milieux de référence étant plus importants que ceux des hémocultures, ces dernières seront donc privilégiées pour les essais de stérilité réalisés en routine.

#### ☑ Essai de stérilité des préparations

Aucun trouble macroscopique n'a été observé sur les tubes TR-TS pour les prélèvements effectués à J0, J15 et J30.

Les hémocultures sont également restées négatives pour les prélèvements de J0, J15 et J30.

La stabilité des seringues intrathécales, préparées à la pharmacie et conservées à 4°C sur 2 jours puis 36 ± 2°C sur 28 jours, a donc été démontrée.

En conclusion, la réussite de ces 4 essais (fertilité et stérilité) **valide à la fois le process de fabrication** des seringues pour analgésie intrathécale ainsi que la **stabilité du mélange testé**.

Par contre, l'essai de stérilité utilisée en routine n'est, pour le moment, pas un contrôle libérateur bien que les résultats des hémocultures puissent être obtenus en moins de 72 heures.

Il est actuellement difficilement envisageable d'avoir les prescriptions et de fabriquer 72 heures avant le remplissage des pompes.

Il existe, cependant, des limites à ces essais:

- une seule concentration a été testée ; il serait intéressant de tester des concentrations plus importantes.
- la conservation à 37°C a été réalisée à l'intérieur d'étuves ; en d'autres termes, l'essai de stérilité a été réalisé *in vitro* donc sans aucune manipulation, après fabrication. Il est intéressant de s'interroger sur les potentielles sources de contamination qui ne sont probablement pas celles rencontrées en ZAC mais plutôt celles liées au remplissage des pompes (risque de contamination par la flore cutanée).

## CONCLUSION

Au cours de ce travail a été mis en place un circuit dans la prise en charge des patients cancéreux douloureux chroniques, organisation dans laquelle la pharmacie s'est engagée à fabriquer et libérer les seringues intrathécales.

Ainsi, une méthode analytique de dosage des 4 analgésiques utilisés a été mise au point avec pour objectifs : la **validation du processus de fabrication, la libération des lots par contrôle de teneur et l'étude de la stabilité physico-chimique** des préparations.

Par ailleurs, une étude microbiologique a également été développée dans les buts de valider le **process de fabrication** en conditions aseptiques des seringues d'analgésiques et **d'étudier la stabilité microbiologique** des préparations.

En conclusion des 2 études réalisées au CHU de Poitiers, les préparations d'analgésiques pour administration intrathécale sont donc considérées comme stables.

Ce travail permet, aujourd'hui, la fabrication et la libération des préparations pour analgésie intrathécale selon le respect des BPP et dans un but de sécurisation du circuit pharmaceutique.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] H. Breivik, B. Collett, V. Ventafridda, R. Cohen, and D. Gallacher, "Survey of chronic pain in Europe: Prevalence, impact on daily life, and treatment," *Eur. J. Pain*, vol. 10, no. 4, pp. 287–333, 2006.
- [2] D. Bouhassira, M. Lantéri-Minet, N. Attal, B. Laurent, and C. Touboul, "Prevalence of chronic pain with neuropathic characteristics in the general population," *Pain*, vol. 136, no. 3, pp. 380–387, 2008.
- [3] H. Breivik *et al.*, "Cancer-related pain: a pan-European survey of prevalence, treatment, and patient attitudes.," *Ann. Oncol.*, vol. 20, no. 8, pp. 1420–1433, 2009.
- [4] Agence Nationale d'Accréditation et d'Évaluation en Santé - Service des Recommandations et Références Professionnelles, "Évaluation et Suivi De La Douleur Chronique chez l'Adulte en Médecine," 1999.
- [5] Haute Autorité de Santé, "Douleur chronique : reconnaître le syndrome douloureux chronique, l'évaluer et orienter le patient - Consensus formalisé," 2009.
- [6] R. K. Portenoy, D. Payne, and P. Jacobsen, "Breakthrough pain: characteristics and impact in patients with cancer pain.," *Pain*, vol. 81, no. 1–2, pp. 129–134, 1999.
- [7] World Health Organization, "Cancer pain relief," 1996.
- [8] F. Clère, "Stratégie actuelle de prise en charge des douleurs neuropathiques liées au cancer," *Med. Palliat.*, vol. 4, no. 4, pp. 175–189, 2005.
- [9] A. Caraceni and R. K. Portenoy, "An international survey of cancer pain characteristics and syndromes. IASP Task Force on Cancer Pain. International Association for the Study of Pain," *Pain*, vol. 82, no. 3, pp. 263–274, 1999.
- [10] S. H. Sindrup, M. Otto, N. B. Finnerup, and T. S. Jensen, "Antidepressants in the Treatment of Neuropathic Pain," *Clin. Pharmacol. Toxicol.*, vol. 96, no. 6, pp. 399–409, 2005.
- [11] A. Caraceni, E. Zecca, C. Martini, and F. De Conno, "Gabapentin as an adjuvant to opioid analgesia for neuropathic cancer pain," *J. Pain Symptom Manage.*, vol. 17, no. 6, pp. 441–445, 1999.
- [12] L. V. Bosnjak, S. Jelic, S. Susnjar, "Gabapentin for relief of neuropathic pain related to anticancer treatment: a preliminary study," *J. Chemother*, vol. 14, no. 2, pp. 214–219, 2002.
- [13] I. Krakowski, C. A. Vautrin, E. Collin, H. Salpêtrière, F. Chast, and H. H. Dieu, "Standards, Options et Recommandations 2002 sur les traitements antalgiques médicamenteux des douleurs cancéreuses par excès de nociception chez l'adulte, mise à jour Membres du groupe de travail Contributeurs," pp. 1–127, 2002.
- [14] E. Arbiol, H. Nahapetian, N. Vuillemin, and H. Krakowski, "Référentiels inter-régionaux en Soins Oncologiques de Support: Prise en charge de la douleur chez l'adulte," 2011.
- [15] T. J. Smith *et al.*, "Randomized clinical trial of an implantable drug delivery system compared with comprehensive medical management for refractory cancer pain: Impact on pain, drug-related toxicity, and survival," *J. Clin. Oncol.*, vol. 20, no. 19, pp. 4040–4049, 2002.
- [16] T. J. Smith *et al.*, "An implantable drug delivery system (IDDS) for refractory cancer pain provides sustained pain control, less drug-related toxicity, and possibly better survival compared with comprehensive medical management (CMM)," *Ann. Oncol.*, vol. 16, no. 5, pp. 825–833, 2005.
- [17] D. Dupouiron *et al.*, "Douleur chronique cancéreuse et analgésie intrathécale: expérience de trois centres de lutte contre le cancer," *Douleurs*, vol. 12, no. 3, pp. 140–146, 2011.

- [18] J.-M. Pellat, J.-P. Alibeu, N. Béziaud, C. Jacquot, and J.-F. Payen, “Analgésie périmédullaire dans la douleur cancéreuse,” *Douleurs Eval. - Diagnostic - Trait.*, vol. 10, no. 1, pp. 26–37, 2009.
- [19] L. J. Stearns *et al.*, “Intrathecal drug delivery for the management of cancer pain: A multidisciplinary consensus of best clinical practices,” *J. Support Onco.*, vol. 3, no. 6, pp. 399–408, 2005.
- [20] H. Beloeil, E. Viel, M.-L. Navez, D. Fletcher, and D. Peronnet, “Recommandations formalisées d’expert SFAR-SFETD. Techniques analgésiques loco-régionales et douleur chronique,” *Douleur Analg.*, vol. 26, pp. 110–120, 2013.
- [21] T. R. Deer *et al.*, “Polyanalgesic Consensus Conference 2007: Recommendations for the Management of Pain by intrathecal (Intraspinal) Drug Delivery: Report of an Interdisciplinary Expert Panel,” *Neuromodulation*, vol. 10, no. 4, pp. 300–328, 2007.
- [22] P. J. Siddall, A. R. Molloy, S. Walker, L. E. Mather, S. B. Rutkowski, and M. J. Cousins, “The efficacy of intrathecal morphine and clonidine in the treatment of pain after spinal cord injury,” vol. 91, no. 6, pp. 1493–1498, 2000.
- [23] R. T. van Dongen, B. J. Crul, and J. van Egmond, “Intrathecal coadministration of bupivacaine diminishes morphine dose progression during long-term intrathecal infusion in cancer,” *Clin. J. pain*, vol. 15, pp. 166–172, 1999.
- [24] E. E. Prommer, “Ziconotide: can we use it in palliative care?,” *Am. J. Hosp. Palliat. Care*, vol. 22, no. 5, pp. 369–374, 2005.
- [25] J. H. Vranken, D. Troost, J. T. Wegener, M. R. Kruis, and M. H. Van Der Vegt, “Neuropathological findings after continuous intrathecal administration of S(+)-ketamine for the management of neuropathic cancer pain,” *Pain*, vol. 117, no. 1–2, pp. 231–235, 2005.
- [26] T. R. Deer *et al.*, “Polyanalgesic consensus conference 2012: Recommendations on trialing for intrathecal (intraspinal) drug delivery: Report of an interdisciplinary expert panel,” *Neuromodulation*, vol. 15, no. 5, pp. 420–435, 2012.
- [27] T. R. Deer *et al.*, “The Polyanalgesic Consensus Conference (PACC): Recommendations for Intrathecal Drug Delivery: Guidance for Improving Safety and Mitigating Risks,” *Neuromodulation*, vol. 20, no. 2, pp. 155–176, 2017.
- [28] A. Larson, M. D. Bedder, and K. Burchiel, “Cost analysis of two implantable narcotic delivery systems,” *J. Pain Symptom Manage.*, vol. 6, pp. 368–373, 1991.
- [29] A. W. Burton *et al.*, “Epidural and intrathecal analgesia is effective in treating refractory cancer pain,” *Pain Med.*, vol. 5, no. 3, pp. 239–247, 2004.
- [30] Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (Afssaps), “Bonnes pratiques de préparation,” *Bull. Off.*, vol. 2007/7 bis, pp. 1–80, 2017.
- [31] Medtronic, “SynchroMed ® EL Pump Motor Stall Due To Gear Shaft Wear: Important Patient Management Information,” 2007.
- [32] K. R. Hildebrand, D. D. Elsberry, and S. J. Hassenbusch, “Stability and compatibility of morphine-clonidine admixtures in an implantable infusion system,” *J. Pain Symptom Manage.*, vol. 25, no. 5, pp. 464–471, 2003.
- [33] J. C. Alvarez, P. De Mazancourt, E. Chartier-Kastler, and P. Denys, “Drug stability testing to support clinical feasibility investigations for intrathecal baclofen-clonidine admixture,” *J. Pain Symptom Manage.*, vol. 28, no. 3, pp. 268–272, 2004.
- [34] D. Shields, R. Montenegro, and J. Aclan, “Chemical stability of admixtures combining ziconotide with baclofen during simulated intrathecal administration,” *Neuromodulation*, vol. 10, no. 1, pp. 12–17, 2007.
- [35] B. R. Sitaram *et al.*, “Stability and compatibility of baclofen and morphine admixtures for use in an implantable infusion system,” *Int. J. Pharm.*, vol. 118, no. 2, pp. 181–189, 1995.

- [36] C. Bazin, A. L. Poirier, and D. Dupouiron, "Influence of pH and temperature on ziconotide stability in intrathecal analgesic admixtures in implantable pumps and syringes," *Int. J. Pharm.*, vol. 487, no. 1–2, pp. 285–291, 2015.
- [37] D. Dupouiron, H. Richard, V. Chabert-Desnot, C. Devys, P. Leynia, and M. Boisdron-Celle, "In vitro stability of low-concentration ziconotide alone or in admixtures in intrathecal pumps," *Neuromodulation*, vol. 17, no. 5, pp. 472–482, 2014.
- [38] A. M. Classen, G. H. Wimbish, and T. C. Kupiec, "Stability of admixture containing morphine sulfate, bupivacaine hydrochloride, and clonidine hydrochloride in an implantable infusion system," *J. Pain Symptom Manage.*, vol. 28, no. 6, pp. 603–611, 2004.
- [39] V. Sautou *et al.*, *Guide méthodologique des études de stabilité des préparations*. 2013.
- [40] FDA, "Guidance for Industry Bioanalytical Method Validation," 2001.
- [41] ICH, "Validation of analytical procedures : text and methodology Q2(R1)," 1994.
- [42] "2.6.1. Stérilité," *Pharmacopée Européenne 9.0*, pp. 197–200, 2017.
- [43] O. N. Aydin, M. Eyigor, and N. Aydin, "Antimicrobial activity of ropivacaine and other local anaesthetics," *Eur. J. Anaesthesiol.*, vol. 18, no. 10, pp. 687–694, 2001.
- [44] P. Pere, L. Lindgren, and M. Vaara, "Poor Antibacterial Effect of Ropivacaine," *Anesthesiology*, vol. 91, no. 3, pp. 884–886, 1999.
- [45] A. A. Rodrigues, C. Pina-Vaz, P. A. Mardh, J. Martinez-de-Oliveira, and A. Freitas-da-Fonseca, "Inhibition of germ tube formation by *Candida albicans* by local anesthetics: an effect related to ionic channel blockade," *Curr. Microbiol.*, vol. 40, pp. 145–148, 2000.

## LISTE DES ANNEXES

Annexe 1. Tableau d'équi-analgésie _____	105
Annexe 2. Protocole de fabrication d'analgésie intrathécale _____	106
Annexe 3. Fiche de fabrication pour analgésie intrathécale _____	109
Annexe 4. Protocole pour le dosage des préparations intrathécales _____	110
Annexe 5. Résultats des pourcentages de déviation calculés pour l'étude de la linéarité _____	114
Annexe 6. Evolution du pH, de l'osmolarité et des concentrations en analgésiques au cours de la stabilité physico-chimique _____	118
Annexe 7. Délais de croissance microbienne des hémocultures pour les essais de fertilité et d'applicabilité _____	121

Annexe 1. Tableau d'équi-analgésie

Tableau pratique d'équianalgésie des opioïdes forts dans la douleur cancéreuse par excès de nociception (ratio calculé à partir du passage par la morphine orale)															
Morphine en mg						Oxycodone en mg						Hydromorphone en mg		Fentanyl en µg	
	PO	SC	IV			PO	SC - IV			PO	Transdermique	Transmuqueux			
Dose / 24h	Dose du bolus**	Dose du bolus**	Dose du bolus**	Dose / 24h	Dose du bolus**	Dose du bolus**	Dose du bolus**	Dose / 24h	Dose / 72h	Dose du bolus					
Moscorlin cp LP	Actiscléran gel LI 5 - 10 - 20 - 30 mg	Morphine sol inj amp 1 - 10 - 20 50 - 100 - 200 400 - 500 mg	Morphine sol inj amp 1 - 10 - 20 50 - 100 - 200 400 - 500 mg	Oxycotin cp LP 5 - 10 - 15 - 20 30 - 40 - 60 - 80 120 mg	Oxycotin cp LP 5 - 10 - 15 - 20 30 - 40 - 60 - 80 120 mg	Oxycotin cp LP 5 - 10 - 15 - 20 30 - 40 - 60 - 80 120 mg	Oxycotin cp LP 5 - 10 - 15 - 20 30 - 40 - 60 - 80 120 mg	Sophidone gel LP 4 - 8 - 16 - 24 mg	Duragesic Fentanyl Hactiparm Fentanyl Sandoz Fentanyl Winthrop Malftran patch 12 - 25 - 50 75 - 100 µg/h	Abstral cp sublingual 100 - 200 - 300 - 400 - 600 - 800 - 1200 µg	Actia appl. buccale 200 - 400 - 600 - 800 - 1200 - 1600 µg	Breackyl film orodispersible 200 - 400 - 600 800 - 1200 µg			
Skéran gel LP 10 - 30 - 60 100 - 200 mg	Sévaldol cp LI 10 - 20 mg Dermorphi sol buvisondose LI 10 - 30 - 100 mg/5ml														
20	2	3,5	10	1	1,5	6,5	0,5	1							
30	3	5	15	1,5	2,5	10	1	1,5							
60	6	10	30	3	5	20	2	3	8	25					
90	9	15	45	4,5	7,5	30	3	5	16	37					
120	12	20	60	6	10	40	4	7	50	50					
160	16	27	80	8	13	53	5	9	75						
180	18	30	90	9	15	60	6	10							
200	20	33	100	10	17	67	7	11							
240	24	40	120	12	20	80	8	13	100						
260	26	47	140	14	23	93	9	16							
300	30	50	150	15	25	100	10	17	125						
360	36	60	180	18	30	120	12	20	150						
400	40	67	200	20	33	133	13	22							
480	48	80	240	24	40	160	16	27	200						
540	54	90	270	27	45	180	18	30	225						
600	60	100	300	30	50	200	20	33	250						
720	72	120	360	36	60	240	24	40	300						
900	90	150	450	45	75	300	30	50	375						
1000	100	167	500	50	83	333	33	56	412						

\*\* Dose du supplément = 1/6 à 1/10 de la dose totale par 24 heures par le même voie. LP = Libération prolongée = durée d'action 12 h. U = Libération immédiate = durée d'action 4 à 6h.

Version 8, Octobre 2016  
 Fédération suisse des oncologues et des pneumologues  
 coordination: support@onco.ch, info@onco.ch - contact@onco.ch

## Annexe 2. Protocole de fabrication d'analgésie intrathécale

 XXX-XXX-XXX	Pôle Biologie, Pharmacie, Santé Publique Pharmacie	Page : 1/4
		Date : 01/06/2017
Version n° 02	<b>Analgésie intrathécale</b>	
Historique		
Numéro de version	Date	Nature des éventuelles modifications
01	21/12/2015	
02	01/06/2017	

<u>Sommaire</u>	
1. Objectifs.....	1
2. Domaine d'application et personnes concernées.....	1
3. Définition .....	1
4. Description.....	2
5. Annexes.....	3

### 1. OBJECTIFS

L'objectif est de fabriquer des seringues d'analgésiques destinées à la voie intrathécale pour la prise en charge de la douleur chronique chez des patients cancéreux, réfractaires aux traitements opioïdes systémiques.

### 2. DOMAINE D'APPLICATION ET PERSONNES CONCERNÉES

La prise en charge de ces patients cancéreux chroniques implique la fabrication par la pharmacie et, par conséquent, nécessite un travail impliquant les préparateurs en pharmacie, le(s) interne(s) et le pharmacien responsable du secteur de la pharmacotechnie.

### 3. DEFINITIONS

- Analgésie intrathécale : « Technique de traitement de la douleur par l'administration de médicaments directement dans le Liquide-Céphalo-Rachidien, au niveau de la moelle épinière ».
- Analgésiques : « Médicaments destinés au traitement de la douleur ».

Rédaction	Vérification	Approbation
Nom : PIGEON Vivien Date 01/06/2017 Signature :	Nom : DUPUIS Antoine Date : Signature :	Nom : Date : Signature :



XXX-XXX-XXX

Pôle Biologie, Pharmacie, Santé  
Publique  
Pharmacie

Page : 2/4

Date : 01/06/2017

Version n° 02

Analgésie intrathécale

#### 4. DESCRIPTION

##### INDICATIONS THERAPEUTIQUES

- ✦ Remplissage des pompes pour analgésie intrathécale dans la prise en charge de patients cancéreux chroniques, réfractaires aux traitements opioïdes utilisés par voie systémique.

##### SERVICES DEMANDEURS

- ✦ Centre de la douleur, Soins palliatifs, Bloc de Neurochirurgie

##### MATIERES PREMIERES UTILISEES

- ✦ Morphine 100mg/5ml
- ✦ Ropivacaïne 100mg/10mL
- ✦ Clonidine 0.15mg/mL
- ✦ Baclofène 10mg/5mL
- ✦ NaCl 0.9%

##### MATERIELS NECESSAIRES

- |   |  |
|---|--|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>✦ Seringues de 1, 5 et 10mL selon le volume à prélever</li> <li>✦ Seringues de 20 et 40mL selon le volume de la pompe à remplir</li> <li>✦ Vials</li> <li>✦ Vacutainers</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>✦ Bouchon rouge</li> <li>✦ Aiguilles roses</li> <li>✦ Raccord Luer-Lock Femelle/Femelle</li> <li>✦ Champ stérile</li> <li>✦ Poubelle jaune</li> </ul> |
|---|--|

##### METHODE

- ✦ **Avant d'entrer en ZAC**
  - Récupérer la quantité nécessaire de Morphine auprès du préparateur de la salle des stupéfiants : situation identique à la délivrance d'une ordonnance nominative
    - ✦ Reporter le numéro d'ordonnancier sur l'ordonnance avec le nombre de flacons, la nature et le dosage en stupéfiant utilisé (morphine seulement actuellement)
    - ✦ Remplir un accusé de réception où sont reportés les initiales du patient, le numéro d'ordonnancier et « seringue pour pompe intrathécale avec xxxx mg de morphine ».
    - ✦ Remplir un relevé d'administration jaune
  - Récupérer les autres matières premières (sur la plateforme si non en stock au préparatoire)
  - Enregistrer informatiquement les matières premières dans le registre destiné à cet usage
  - Rédiger la fiche de fabrication (Annexe 1.)
- ✦ **Dans la ZAC**
  - Prélever les volumes nécessaires de matières premières et les transférer dans la seringue de conditionnement final (40 ou 20mL selon la préparation).
  - Fermer la seringue avec l'obturateur (ou bouchon rouge)
  - Homogénéiser la préparation
  - Mettre la préparation sous double emballage
  - Étiqueter et nominatifier la seringue, nominatifier le double emballage
- ✦ **Après sortie de la ZAC**
  - Faire les contrôles nécessaires (limpidité, teneur et microbiologique)
  - Prendre un numéro d'ordonnancier (ordonnancier préparatoire) et le reporter sur l'ordonnance en notant la composition précise de la seringue fabriquée
  - Faire une copie de l'ordonnance, à donner aux stupéfiants + copie du relevé d'administration jaune
  - Apporter au service concerné : la préparation avec une copie de l'ordonnance, l'accusé de réception, le relevé d'administration jaune ainsi qu'une enveloppe « courrier interne » au nom du pharmacien responsable de la pharmacotechnie, enveloppe par laquelle le service nous renvoie les documents remplis



XXX-XXX-XXX

Pôle Biologie, Pharmacie, Santé  
Publique  
Pharmacie

Page : 3/4

Date : 01/06/2017

Version n° 02

Analgésie intrathécale

## FICHE DE FABRICATION

- ✚ Définir le numéro de la préparation
- ✚ Remplir la fiche de préparation intitulée « Analgésie intrathécale »

## ETIQUETAGE

<ul style="list-style-type: none"> <li>✚ Etiquette blanche</li> <li>✚ Contre-étiquette rouge portant les mentions :  « Respecter les doses prescrites » « Ne pas avaler »</li> </ul>	<p>Solution de Morphine X mg/mL et Ropivacaine, X mg/mL pour remplissage de pompe pour intrathécale Voie intrathécale</p> <p>Morphine : ..... X mg Ropivacaine : ..... X mg NaCl 0.9% : ..... qsp 40 mL</p> <p>Conserver au frigo (+4°C)</p> <p><b>Ne pas avaler</b> <b>Respecter les doses prescrites</b> Uniquement sur ordonnance</p>	<p>Lot n° : Date de fabrication : Date de péremption : N° de contrôle : N° de validation : N° de révision : N° de version : N° de révision : N° de validation : N° de révision :</p>
--	--	--

## CONSERVATION

- ✚ A conserver au frigo (+4°C) pendant maximum 48h
- ✚ Stabilité : **30 jours** à compter de la date de fabrication (2 jours au frigo) puis 28 jours à 37°C

## 5. ANNEXES

Annexe 1. Fiche de fabrication d'une seringue pour analgésie intrathécale

HISTORIQUE DES MODIFICATIONS		
Numéro de version	Date d'application	Nature des modifications
Version 1	02/03/2016	
Version 2	01/06/2017	Autre molécule ajoutée + modification conservation

Annexe 3. Fiche de fabrication pour analgésie intrathécale

	SERVICE PHARMACIE – PREPARATOIRE	EN-PREP-XXX
	FICHE DE FABRICATION DOCUMENT D'ENREGISTREMENT	
<b>PREPARATION MAGISTRALE : ANALGESIE INTRATHECALE</b>		

<b>DENOMINATION DE LA PREPARATION</b> Solution de Morphine, de Ropivacaïne, de Clonidine Pour remplissage de pompe intrathécale	<b>DOSAGE</b> mg/mL mg/mL mg/mL	N° DE LOT DE FABRICATION : P _____
		DATE DE FABRICATION : ____ / ____ / ____

MATIERES PREMIERES UTILISEES				
DCI & Dosage	Quantité	Numéro d'identification	Date péremption	Numéro d'échantillon
Morphine 100mg/5mL				
Ropivacaïne 100mg/10mL				
Clonidine 0,15mg/1mL				
NaCl 0,9 %				

FABRICATION	
Quantité préparée : 1 seringue de ..... mL Date de péremption : ____ / ____ / ____  Conditions de conservation : <i>A conserver au réfrigérateur maximum 48h</i>  Remarques particulières : <i>Prélever 1 vial pour le contrôle de teneur + 2 vacutainers pour échantillon et bactério</i>  Nom et signature du préparateur :	<b>ETIQUETTE &amp; CONTRE-ETIQUETTE(S)</b>

ECHANTILLONNAGE DE LA PREPARATION	CONTROLES DE LA PREPARATION	
N° D'ECHANTILLON :  _____ <i>(conserver au réfrigérateur)</i>	Technique :	Résultat :
	<i>Contrôle matières premières + excipients</i>	
	<i>Contrôle limpidité</i>	
	<i>Contrôle de teneur HPLC +/- 10%</i>	
	<i>Contrôle étiquetage</i>	
	<i>Contrôle de stérilité</i>	

VALIDATION PHARMACEUTIQUE	
Préparation acceptée :    Oui <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/>  Si « Non », motif :	Nom et signature du pharmacien :

#### Annexe 4. Protocole pour le dosage des préparations intrathécales

 PHARM-LABO-MO-XX Version n° 01	<b>Pôle Pharmacie et Santé Publique</b> <b>Service Pharmacie</b>	Page : 1/4
		Date : Janvier 2017
<b>Dosage des seringues d'analgésie IT par HPLC</b>		

Historique		
Numéro de version	Date version	Date de modification
01	Janvier 2017	

#### **OBJET :**

Ce mode opératoire décrit les différentes étapes du dosage par HPLC de la morphine, de la ropivacaïne, de la clonidine et du baclofène dans les seringues d'analgésie intrathécale préparées par la pharmacie.

#### **PRINCIPE DU DOSAGE :**

L'échantillon est dans un « vial » pour HPLC, conservé à +4°C (identifié par la mention « pour dosage »)

#### **REACTIFS :**

- + Morphine 100 mg/5mL - CDM Lavoisier
- + Ropivacaïne 10 mg/mL - Fresenius Kabi
- + Clonidine 0.15 mg/mL - Boehringer Ingelheim
- + Baclofène 2 mg/mL - Aguetant
- + Acétonitrile HPLC grade - VWR Chemicals
- + Eau ultrapure - Osmoseur Millipore
- + Acide trifluoroacétique - Sigma Aldrich

#### **CONDITIONS CHROMATOGRAPHIQUES :**

- + Détecteur : UV fixe  $\lambda = 220$  nm
- + Colonne : Purospher® 5  $\mu$ m RP-18 endcapped MERCK (150 x 4.6 cm)
- + Phase mobile :
  - ✓ Phase A: Eau ultrapure + 0.1% d'acide trifluoroacétique
  - ✓ Phase B : Acétonitrile + 0.1% d'acide trifluoroacétique
  - ✓ Gradient :
    - 0 – 7.5 minutes : 85% Phase A / 15% Phase B
    - 7.5 – 12.5 minutes : 75% Phase A / 25% Phase B
    - 12.5 - 15 minutes : 85% Phase A / 15% Phase B
- + Débit : 1 mL/min
- + Volume d'injection : 10  $\mu$ L
- + Run time : 15 min

Rédaction	Vérification	Approbation
Vivien PIGEON Date et signature :	Guillaume BINSON Date et signature :	Antoine DUPUIS AHU responsable secteur pharmacotechnie Date et signature :
	1	

 PHARM-LABO-MO-XX Version n° 01	Pôle Pharmacie et Santé Publique Service Pharmacie	Page : 2/4 Date : Janvier 2017
	Dosage des seringues d'analgésie IT par HPLC	

### SOLUTION ETALON :

**Préparation extemporanée de la Solution Mère (G5) à 0.1mg/mL de morphine, 0.1mg/mL de ropivacaïne, 0.02mg/mL de clonidine et 0.01mg/mL de baclofène.**

- ✦ Dans un tube à essai, diluer 2mL de clonidine à 0.15mg/mL avec 1mL de NaCl 0,9% ;
- ✦ Prélever 2mL de ce mélange dans une fiole jaugée de 10mL ;
- ✦ Ajouter 50µL de morphine à 100mg/5mL (20mg/mL), 100µL de ropivacaïne à 10mg/mL et 50µL de baclofène à 2mg/mL dans cette même fiole jaugée ;
- ✦ Puis compléter au trait de jauge avec du NaCl 0,9%.

### GAMME ETALON :

✦ Dans des tubes Eppendorf 1.5 ml, diluer géométriquement la SM avec du NaCl 0,9% (600 µL + 600 µL).

	G5	G4	G3	G2	G1	G0
SM	600µL SM	600µL G5	600µL G4	600µL G3	600µL G2	/
NaCl 0,9%	/	600µL	600µL	600µL	600 µL	600 µL

- ✦ Vortexer tous les Eppendorf 30 secondes à chaque étape de la dilution.
- ✦ Effectuer d'abord la dilution et transférer 600µL de chaque Eppendorf dans les vials.
- ✦ Injecter 10 µL.

### CONTROLE DE QUALITE :

3 contrôles internes sont réalisés au laboratoire par une personne autre que la personne réalisant le dosage :  $C_{low}$ ,  $C_{medium}$  et  $C_{high}$ .

**1. Préparation extemporanée du contrôle qualité ( $C_{high}$ ) à 0.1mg/mL de morphine, 0.1mg/mL de ropivacaïne, 0.02mg/mL de clonidine et 0.01mg/mL de baclofène.**

- ✦ Dans un tube à essai, diluer 2mL de clonidine à 0.15mg/mL avec 1mL de NaCl 0,9% ;
- ✦ Prélever 2mL de ce mélange dans une fiole jaugée de 10mL ;
- ✦ Ajouter 50µL de morphine à 100mg/5mL (20mg/mL), 100µL de ropivacaïne à 10mg/mL et 50µL de baclofène à 2mg/mL dans cette même fiole jaugée ;
- ✦ Puis compléter au trait de jauge avec du NaCl 0,9%.

**2. Préparation extemporanée du contrôle qualité ( $C_{medium}$ ) à 0.025mg/mL de morphine, 0.025mg/mL de ropivacaïne, 0.005mg/mL de clonidine et 0.0025mg/mL de baclofène**

- ✦ Dans un tube à essai, diluer 2mL de clonidine à 0,15mg/mL avec 1mL de NaCl 0,9% ;

Rédaction	Vérification	Approbation
Vivien PIGEON Date et signature :	Guillaume BINSON Date et signature :	Antoine DUPUIS AHU responsable secteur pharmacotechnie Date et signature :
	2	

 PHARM-LABO-MO-XX	Pôle Pharmacie et Santé Publique	Page : 3/4
	Service Pharmacie	Date : Janvier 2017
Version n° 01	Dosage des seringues d'analgésie IT par HPLC	

- ✚ Prélever 1mL de ce mélange dans une fiole jaugée de 20mL ;
- ✚ Ajouter 25µL de morphine à 100mg/5mL (20mg/mL), 50µL de ropivacaïne à 10mg/mL et 25µL de baclofène à 2mg/mL dans cette même fiole jaugée ;
- ✚ Puis compléter au trait de jauge avec du NaCl 0,9%.

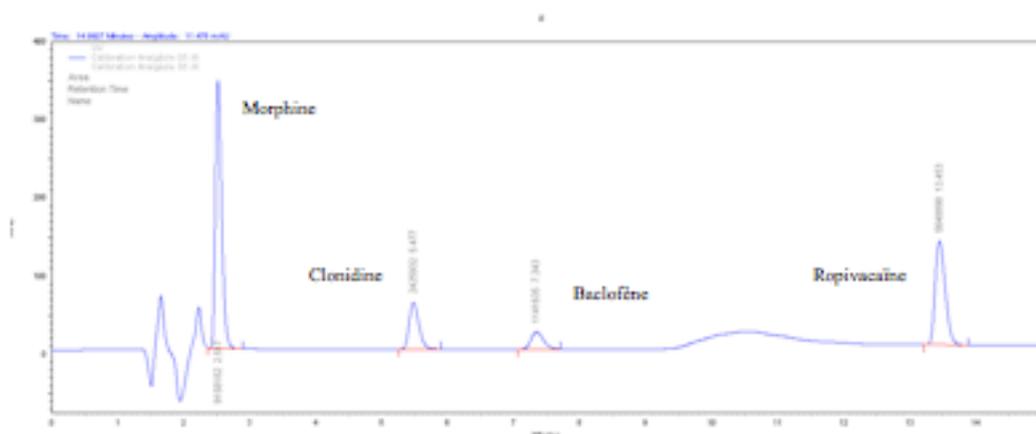
**3. Préparation extemporanée du contrôle qualité ( $C_{low}$ ) à 0,00625mg/mL de morphine, 0,00625mg/mL de ropivacaïne, 0,00125mg/mL de clonidine et 0,000625mg/mL (soit 0.625µg/mL) de baclofène**

- ✚ Reprendre les mêmes étapes que le contrôle  $C_{medium}$  ;
- ✚ Puis diluer au  $\frac{1}{4}$  → prendre 2,5mL du mélange  $C_{medium}$  avec du NaCl 0,9% dans une fiole jaugée de 10mL.

**PREPARATION DE L'ECHANTILLON :**

- ✚ Prélever 1 vial pour le dosage par HPLC ;
- ✚ Au vu des concentrations prescrites et des gammes définies pour la calibration de la méthode, il est important de noter que l'échantillon pourra être injecté sous 2 formes différentes :
  - ✓ Diluée au 1/100<sup>ème</sup> si l'échantillon contient de la morphine, de la ropivacaïne et/ou du baclofène ;
  - ✓ Non diluée si l'échantillon contient de la clonidine (car faiblement concentrée dans les seringues).

**EXEMPLE DE TRACE CHROMATOGRAPHIQUE :**



Rédaction	Vérification	Approbation
Vivien PIGEON Date et signature :	Guillaume BINSON Date et signature :	Antoine DUPUIS AHU responsable secteur pharmacotechnie Date et signature :
	3	



**RESULTAT / FICHE DE CONTRÔLE :**

✚ Exemple de résultat pour la morphine :



✚ Exemple de résultat pour clonidine :



**REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE :**

✚ Thèse de Vivien PIGEON

Rédaction	Vérification	Approbation
Vivien PIGEON Date et signature :	Guillaume BINSON Date et signature :	Antoine DUPUIS AHU responsable secteur pharmacotechnie Date et signature :
4		

Annexe 5. Résultats des pourcentages de déviation calculés pour l'étude de la linéarité

<u>Morphine</u>				
Concentration (mg/mL)	Jour	Xi' = Valeur obtenue par régression	Xi = Valeur théorique	% de déviation = (Xi'-Xi)/Xi*100
0,625	1	0,618	0,625	-1,12
	2	0,619	0,625	-0,96
	3	0,611	0,625	-2,24
	4	0,615	0,625	-1,60
	5	0,623	0,625	-0,32
1,25	1	1,259	1,250	0,72
	2	1,264	1,250	1,12
	3	1,251	1,250	0,08
	4	1,247	1,250	-0,24
	5	1,261	1,250	0,88
2,5	1	2,396	2,500	-4,16
	2	2,486	2,500	-0,56
	3	2,552	2,500	2,08
	4	2,513	2,500	0,52
	5	2,449	2,500	-2,04
5	1	5,180	5,000	3,60
	2	5,020	5,000	0,40
	3	5,003	5,000	0,06
	4	5,058	5,000	1,16
	5	5,060	5,000	1,20
10	1	9,935	10,000	-0,65
	2	9,992	10,000	-0,08
	3	9,986	10,000	-0,14
	4	9,969	10,000	-0,31
	5	9,981	10,000	-0,19

Exemple de calcul pour la valeur obtenue par régression à la concentration 10mg/mL et à J2 :

$$Y_i' = 916041 X_i' + 4852,4$$

$$\Leftrightarrow X_i' = (Y_i' - 4852,4) / 916041$$

$$\Leftrightarrow X_i' = (9158182 - 4852,4) / 916041$$

$$\Leftrightarrow X_i' = 9,992 \text{ mg/mL}$$

Clonidine

Concentration (mg/mL)	Jour	Xi' = Valeur obtenue par régression	Xi = Valeur théorique	% de déviation = (Xi'-Xi)/Xi*100
<b>0,125</b>	1	0,123	0,125	<b>-1,60</b>
	2	0,120	0,125	<b>-4,00</b>
	3	0,131	0,125	<b>4,80</b>
	4	0,116	0,125	<b>-7,20</b>
	5	0,128	0,125	<b>2,40</b>
<b>0,25</b>	1	0,253	0,250	<b>1,20</b>
	2	0,254	0,250	<b>1,60</b>
	3	0,247	0,250	<b>-1,20</b>
	4	0,251	0,250	<b>0,40</b>
	5	0,256	0,250	<b>2,40</b>
<b>0,5</b>	1	0,475	0,500	<b>-5,00</b>
	2	0,508	0,500	<b>1,60</b>
	3	0,497	0,500	<b>-0,60</b>
	4	0,499	0,500	<b>-0,20</b>
	5	0,499	0,500	<b>-0,20</b>
<b>1</b>	1	1,034	1,000	<b>3,40</b>
	2	0,995	1,000	<b>-0,50</b>
	3	1,001	1,000	<b>0,10</b>
	4	1,021	1,000	<b>2,10</b>
	5	0,985	1,000	<b>-1,50</b>
<b>2</b>	1	1,989	2,000	<b>-0,55</b>
	2	2,000	2,000	<b>0,00</b>
	3	2,000	2,000	<b>0,00</b>
	4	1,990	2,000	<b>-0,50</b>
	5	2,007	2,000	<b>0,35</b>

Baclofène

Concentration (mg/mL)	Jour	Xi' = Valeur obtenue par régression	Xi = Valeur théorique	% de déviation = (Xi'-Xi)/Xi*100
<b>0,0625</b>	1	0,0597	0,0625	-4,48
	2	0,0615	0,0625	-1,60
	3	0,0629	0,0625	0,64
	4	0,0578	0,0625	-7,52
	5	0,0556	0,0625	-11,04
<b>0,125</b>	1	0,1180	0,1250	-5,60
	2	0,1160	0,1250	-7,20
	3	0,1190	0,1250	-4,80
	4	0,1310	0,1250	4,80
	5	0,1340	0,1250	7,20
<b>0,25</b>	1	0,2340	0,2500	-6,40
	2	0,2430	0,2500	-2,80
	3	0,2470	0,2500	-1,20
	4	0,2310	0,2500	-7,60
	5	0,2450	0,2500	-2,00
<b>0,5</b>	1	0,5170	0,5000	3,40
	2	0,4770	0,5000	-4,60
	3	0,4970	0,5000	-0,60
	4	0,5160	0,5000	3,20
	5	X	0,5000	NC
<b>1</b>	1	0,9760	1,0000	-2,40
	2	0,9670	1,0000	-3,30
	3	1,0030	1,0000	0,30
	4	0,9960	1,0000	-0,40
	5	1,0000	1,0000	0,00

Ropivacaine

Concentration (mg/mL)	Jour	Xi' = Valeur obtenue par régression	Xi = Valeur théorique	% de déviation = (Xi'-Xi)/Xi*100
0,625	1	0,639	0,625	2,24
	2	0,618	0,625	-1,12
	3	0,624	0,625	-0,16
	4	0,628	0,625	0,48
	5	0,621	0,625	-0,64
1,25	1	1,255	1,250	0,40
	2	1,255	1,250	0,40
	3	1,246	1,250	-0,32
	4	1,256	1,250	0,48
	5	1,254	1,250	0,32
2,5	1	2,486	2,500	-0,56
	2	2,394	2,500	-4,24
	3	2,496	2,500	-0,16
	4	2,487	2,500	-0,52
	5	2,473	2,500	-1,08
5	1	4,948	5,000	-1,04
	2	5,163	5,000	3,26
	3	5,013	5,000	0,26
	4	5,044	5,000	0,88
	5	5,024	5,000	0,48
10	1	10,028	10,000	0,28
	2	9,945	10,000	-0,55
	3	9,995	10,000	-0,05
	4	9,980	10,000	-0,20
	5	9,995	10,000	-0,05

Annexe 6. Evolution du pH, de l'osmolarité et des concentrations en analgésiques au cours de la stabilité physico-chimique

Evolution du pH des préparations intrathécales

	Se 1	Se 2	Se 3	Se 4	Se 5	Moy	Ecart-type	Biais (%)
<b>J0</b>	5,15	5,21	5,22	5,10	4,96	5,13	0,106	NC
<b>J1</b>	5,19	5,29	5,19	4,91	4,94	5,10	0,169	<b>-0,58%</b>
<b>J2</b>	5,01	5,16	5,13	5,05	4,98	5,07	0,077	<b>-1,17%</b>
				<b>*Pompe 40mL</b>	<b>**Pompe 40mL</b>			
<b>J9</b>	X	X	X	5,11	4,98	5,05	0,092	<b>-1,56%</b>
<b>J16</b>	X	X	X	5,32	4,91	5,12	0,290	<b>-0,19%</b>
<b>J23</b>	X	X	X	5,29	4,89	5,09	0,283	<b>-0,78%</b>
<b>J30</b>	X	X	X	5,29	5,15	5,22	0,099	<b>1,75%</b>

Se = Seringue

Moy = Moyenne

\*Pompe 40 mL = 1<sup>er</sup> remplissage

\*\*Pompe 40 mL = 2<sup>ème</sup> remplissage

Evolution de l'osmolarité des préparations intrathécales

	Se 1	Se 2	Se 3	Se 4	Se 5	Moy	Ecart-type	Biais (%)
<b>J0</b>	282	291	281	285	273	282,4	6,542	NC
<b>J1</b>	288	286	284	298	287	288,6	5,459	<b>2,20%</b>
<b>J2</b>	302	289	293	285	284	290,6	7,301	<b>2,90%</b>
				<b>*Pompe 40mL</b>	<b>**Pompe 40mL</b>			
<b>J9</b>	X	X	X	287	278	282,5	6,364	<b>0,04%</b>
<b>J16</b>	X	X	X	288	300	294	8,485	<b>4,11%</b>
<b>J23</b>	X	X	X	281	295	288	9,900	<b>1,98%</b>
<b>J30</b>	X	X	X	282	291	286,5	6,364	<b>1,45%</b>

Se = Seringue

Moy = Moyenne

\*Pompe 40 mL = 1<sup>er</sup> remplissage

\*\*Pompe 40 mL = 2<sup>ème</sup> remplissage

Résultats des concentrations obtenues pour la morphine (exprimés en % de la valeur à J0)

<u>Morphine</u>	Se 1	Se 2	Se 3	Se 4	Se 5	Moy	Ecart-type
<b>J0</b>	100%	100%	100%	100%	100%	100%	
<b>J1</b>	94,01%	97,37%	93,53%	97,24%	102,01%	96,83%	3,396
<b>J2</b>	94,39%	96,70%	104,95%	101,70%	104,94%	100,54%	4,815
				<b>*Pompe 40mL</b>	<b>**Pompe 40mL</b>		
<b>J9</b>	X	X	X	99,11%	102,61%	100,86%	2,475
<b>J16</b>	X	X	X	100,09%	102,73%	101,41%	1,867
<b>J23</b>	X	X	X	104,68%	104,58%	104,63%	0,0707
<b>J30</b>	X	X	X	98,57%	104,72%	101,65%	4,349

Se = Seringue

Moy = Moyenne

\*Pompe 40 mL = 1<sup>er</sup> remplissage

\*\*Pompe 40 mL = 2<sup>ème</sup> remplissage

Résultats des concentrations obtenues pour la clonidine (exprimés en % de la valeur à J0)

<u>Clonidine</u>	Se 1	Se 2	Se 3	Se 4	Se 5	Moy	Ecart-type
<b>J0</b>	100%	100%	100%	100%	100%	100%	
<b>J1</b>	95,85%	100,44%	100,34%	97,14%	102,43%	99,84%	3,261
<b>J2</b>	99,89%	102,24%	105,78%	96,10%	100%	100,80%	3,551
				<b>*Pompe 40mL</b>	<b>**Pompe 40mL</b>		
<b>J9</b>	X	X	X	100,08%	99,62%	99,85%	0,325
<b>J16</b>	X	X	X	96,64%	102,71%	99,68%	4,292
<b>J23</b>	X	X	X	95,85%	98,35%	97,10%	1,768
<b>J30</b>	X	X	X	100,20%	103,01%	101,61%	1,987

Se = Seringue

Moy = Moyenne

\*Pompe 40 mL = 1<sup>er</sup> remplissage

\*\*Pompe 40 mL = 2<sup>ème</sup> remplissage

Résultats des concentrations obtenues pour le baclofène (exprimés en % de la valeur à J0)

<u>Baclofène</u>	<u>Se 1</u>	<u>Se 2</u>	<u>Se 3</u>	<u>Se 4</u>	<u>Se 5</u>	<u>Moy</u>	<u>Ecart-type</u>
<b>J0</b>	100%	100%	100%	100%	100%	100%	
<b>J1</b>	95,05%	96,06%	<b>90,36%</b>	99,71%	103,77%	96,99%	5,049
<b>J2</b>	93,64%	97,47%	100,62%	100,66%	103,35%	99,15%	3,717
				<b>*Pompe 40mL</b>	<b>**Pompe 40mL</b>		
<b>J9</b>	X	X	X	98,38%	104,57%	101,48%	4,377
<b>J16</b>	X	X	X	95,98%	99,61%	97,80%	2,567
<b>J23</b>	X	X	X	93,29%	95,90%	94,60%	1,846
<b>J30</b>	X	X	X	99,73%	103,35%	101,54%	2,560

Se = Seringue

Moy = Moyenne

\*Pompe 40 mL = 1<sup>er</sup> remplissage

\*\*Pompe 40 mL = 2<sup>ème</sup> remplissage

Résultats des concentrations obtenues pour le baclofène (exprimés en % de la valeur à J0)

<u>Ropivacaïne</u>	<u>Se 1</u>	<u>Se 2</u>	<u>Se 3</u>	<u>Se 4</u>	<u>Se 5</u>	<u>Moy</u>	<u>Ecart-type</u>
<b>J0</b>	100%	100%	100%	100%	100%	100%	
<b>J1</b>	94,24%	96,08%	<b>87,10%</b>	96,56%	96,40%	94,08%	4,009
<b>J2</b>	94,70%	95,31%	102,39%	101,12%	99,82%	98,67%	3,472
				<b>*Pompe 40mL</b>	<b>**Pompe 40mL</b>		
<b>J9</b>	X	X	X	97,31%	95,62%	96,47%	1,195
<b>J16</b>	X	X	X	96,25%	93,44%	94,85%	1,987
<b>J23</b>	X	X	X	100,56%	94,09%	97,33%	4,575
<b>J30</b>	X	X	X	98,57%	98,26%	98,42%	0,219

Se = Seringue

Moy = Moyenne

\*Pompe 40 mL = 1<sup>er</sup> remplissage

\*\*Pompe 40 mL = 2<sup>ème</sup> remplissage

Annexe 7. Délais de croissance microbienne des hémocultures pour les essais de fertilité et d'applicabilité

Germe	Echantillon	Temps de croissance microbienne (heures) rendus informatiquement + CV(%)			
		Fertilité Milieux seuls		Applicabilité	
<i>S. aureus</i>	Aérobie 1	16,8	4,02%	18,6	6,77%
	Aérobie 2	17,4		18,6	
	Aérobie 3	18,2		16,5	
	Anaérobie 1	20,9	5,14%	17,3	7,04%
	Anaérobie 2	20,7		19,8	
	Anaérobie 3	22,7		19,3	
<i>C. sporogenes</i>	Anaérobie 1	20,9	5,06%	32,7	8,68%
	Anaérobie 2	20,6		28,5	
	Anaérobie 3	19		28	
<i>P. aeruginosa</i>	Aérobie 1	22,1	8,48%	18,7	4,51%
	Aérobie 2	19,6		20,4	
	Aérobie 3	X		20	
<i>B. subtilis</i>	Aérobie 1	12,7	4,87%	12,4	2,34%
	Aérobie 2	11,8		12,4	
	Aérobie 3	11,6		11,9	
	Anaérobie 1	32,6	6,03%	21,5	9,42%
	Anaérobie 2	28,9		18,9	
	Anaérobie 3	30,6		22,8	
<i>C. albicans</i>	Aérobie 1	46,4	22,59% (8,05%)*	33,9	7,00%
	Aérobie 2	41,4		29,6	
	Aérobie 3	63,1		32,9	
<i>A. brasiliensis</i>	Aérobie 1	57	10,69%	65,2	81,65% (8,39%)**
	Aérobie 2	70,3		57,9	
	Aérobie 3	61,8		226	

\* Coefficient de variation obtenu si on exclue la 3<sup>ème</sup> valeur de *C. albicans* de 63,1 heures

\*\* Coefficient de variation obtenu si on exclue la 3<sup>ème</sup> valeur d'*A. brasiliensis* de 226 heures

## RESUME - MOTS CLES

### **INTRODUCTION**

L'analgésie intrathécale appartient aux nouvelles techniques de prise en charge de la douleur chronique, notamment chez le patient cancéreux réfractaire aux traitements habituels. Un circuit de prise en charge de ces patients au CHU de Poitiers a été mis en place, dans lequel la pharmacie s'est engagée à fabriquer les seringues, les contrôler et étudier leurs stabilités.

### **OBJECTIFS**

Les objectifs de ce travail ont été de mettre au point une méthode de dosage des 4 analgésiques utilisés au CHU de Poitiers, de valider la stérilité du process de fabrication et d'étudier la stabilité physico-chimique et microbiologique des préparations.

### **MATERIELS ET METHODES**

Le dosage est réalisée par HPLC-UV et la validation de la méthode a été effectuée par l'expression de plusieurs paramètres : coefficients de corrélation ( $r^2$ ) et pourcentages de déviation, coefficients de variation (CV) et taux de recouvrement moyens (TRe).

La stérilité a été étudiée selon la Pharmacopée en réalisant : la stérilité des milieux de culture (essai de stérilité), la fertilité de ces milieux (essai de fertilité) et la fertilité des milieux dans lesquels ont été ajoutées les préparations (essai d'applicabilité). Deux techniques ont été utilisées : milieux de référence et hémocultures. Les résultats ont été exprimés sous forme de CV et de biais pour comparer les essais et techniques. Deux études de stabilité, physico-chimique et microbiologique, ont été réalisées sur 48 heures en seringues conservées à 4°C puis 28 jours à l'intérieur des pompes SYNCHROMED® II à 37°C, ces 2 étapes étant successives.

### **RESULTATS**

Les  $r^2$  sont tous supérieurs à 0,997 et les pourcentages de déviation calculés pour la linéarité sont inférieurs à 15%. Aucun pic de dégradation n'est observé sur le chromatogramme. Les CV obtenus pour l'étude de la répétabilité et de la fidélité intermédiaire sont tous inférieurs à 15%, les intervalles de confiance calculés autour des TRe sont compris dans l'intervalle d'acceptation 90-110%. Lors de l'étude de stabilité physico-chimique, les biais exprimés pour le pH, l'osmolarité et les concentrations au cours des 30 jours, n'excèdent jamais 10% des valeurs initiales.

Lors des essais de fertilité et d'applicabilité, les milieux présentent une croissance microbienne qui varie en fonction du germe, de la technique utilisée et de l'essai effectué. Les CV sont inférieurs à 15%, excepté pour l'essai de fertilité des milieux du *C. albicans*.

Les biais calculés entre les 2 essais sont très variables mais n'excèdent pas 47,40%. De plus, les biais calculés entre les 2 techniques sont également très variables (de -5,05 à 79,95%).

Le test de stérilité des préparations rend un résultat négatif sur 30 jours.

### **DISCUSSION**

Au vu des résultats, la méthode est dite linéaire, spécifique et indicatrice de stabilité, précise, juste donc exacte. Elle valide le processus de fabrication réalisé par la pharmacie.

Les essais réalisés pour l'étude microbiologique valident le process de fabrication stérile.

En comparant les essais de fertilité et d'applicabilité, il est possible de conclure sur l'absence activité anti-microbienne des préparations en se référant à la norme NF EN 13727. De plus, la technique par hémocultures s'est avérée plus rapide que celle de référence, elle sera donc privilégiée pour les contrôles de routine. Les stabilités, physico-chimique et microbiologique, ont été démontrées, sur 48 heures à 4°C puis sur 28 jours à 37°C.

**Mots-clés** : Méthode de dosage, stérilité, stabilité physico-chimique, stabilité microbiologique

## 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.

## **RESUME - MOTS CLES**

### **INTRODUCTION**

L'analgésie intrathécale appartient aux nouvelles techniques de prise en charge de la douleur chronique, notamment chez le patient cancéreux réfractaire aux traitements habituels. Un circuit de prise en charge de ces patients au CHU de Poitiers a été mis en place, dans lequel la pharmacie s'est engagée à fabriquer les seringues, les contrôler et étudier leurs stabilités.

### **OBJECTIFS**

Les objectifs de ce travail ont été de mettre au point une méthode de dosage des 4 analgésiques utilisés au CHU de Poitiers, de valider la stérilité du process de fabrication et d'étudier la stabilité physico-chimique et microbiologique des préparations.

### **MATERIELS ET METHODES**

Le dosage est réalisée par HPLC-UV et la validation de la méthode a été effectuée par l'expression de plusieurs paramètres : coefficients de corrélation ( $r^2$ ) et pourcentages de déviation, coefficients de variation (CV) et taux de recouvrement moyens (TRe).

La stérilité a été étudiée selon la Pharmacopée en réalisant : la stérilité des milieux de culture (essai de stérilité), la fertilité de ces milieux (essai de fertilité) et la fertilité des milieux dans lesquels ont été ajoutées les préparations (essai d'applicabilité). Deux techniques ont été utilisées : milieux de référence et hémocultures. Les résultats ont été exprimés sous forme de CV et de biais pour comparer les essais et techniques. Deux études de stabilité, physico-chimique et microbiologique, ont été réalisées sur 48 heures en seringues conservées à 4°C puis 28 jours à l'intérieur des pompes SYNCHROMED® II à 37°C, ces 2 étapes étant successives.

### **RESULTATS**

Les  $r^2$  sont tous supérieurs à 0,997 et les pourcentages de déviation calculés pour la linéarité sont inférieurs à 15%. Aucun pic de dégradation n'est observé sur le chromatogramme. Les CV obtenus pour l'étude de la répétabilité et de la fidélité intermédiaire sont tous inférieurs à 15%, les intervalles de confiance calculés autour des TRe sont compris dans l'intervalle d'acceptation 90-110%. Lors de l'étude de stabilité physico-chimique, les biais exprimés pour le pH, l'osmolarité et les concentrations au cours des 30 jours, n'excèdent jamais 10% des valeurs initiales.

Lors des essais de fertilité et d'applicabilité, les milieux présentent une croissance microbienne qui varie en fonction du germe, de la technique utilisée et de l'essai effectué. Les CV sont inférieurs à 15%, excepté pour l'essai de fertilité des milieux du *C. albicans*.

Les biais calculés entre les 2 essais sont très variables mais n'excèdent pas 47,40%. De plus, les biais calculés entre les 2 techniques sont également très variables (de -5,05 à 79,95%).

Le test de stérilité des préparations rend un résultat négatif sur 30 jours.

### **DISCUSSION**

Au vu des résultats, la méthode est dite linéaire, spécifique et indicatrice de stabilité, précise, juste donc exacte. Elle valide le processus de fabrication réalisé par la pharmacie.

Les essais réalisés pour l'étude microbiologique valident le process de fabrication stérile.

En comparant les essais de fertilité et d'applicabilité, il est possible de conclure sur l'absence activité anti-microbienne des préparations en se référant à la norme NF EN 13727. De plus, la technique par hémocultures s'est avérée plus rapide que celle de référence, elle sera donc privilégiée pour les contrôles de routine. Les stabilités, physico-chimique et microbiologique, ont été démontrées, sur 48 heures à 4°C puis sur 28 jours à 37°C.

**Mots-clés** : Méthode de dosage, stérilité, stabilité physico-chimique, stabilité microbiologique