



**UNIVERSITÉ
DE GENÈVE**
FACULTÉ DES SCIENCES
Section des sciences
pharmaceutiques

Ecole de Pharmacie
EPGL
Genève – Lausanne

Unil
UNIL | Université de Lausanne

Laboratoire de la pharmacie
centrale du CHUV

Stabilité et compatibilité de l'amiodarone intraveineuse avec quelques médicaments couramment administrés simultanément aux soins intensifs

Travail de diplôme

présenté à la

Faculté des sciences de
l'Université de Genève

par

Gwendoline Imesch

Responsable

Prof. André Pannatier

Superviseurs

Dr. Lina Berger
Valia Humbert-Delaloye

Genève
2007

TABLE DES MATIÈRES

TABLE DES MATIERES.....	2
LISTE DES ABREVIATIONS.....	3
1. INTRODUCTION	ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.
1.1. OBJECTIFS.....	ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.
2. ETUDE DE COMPATIBILITE PHYSIQUE	8
2.1. MATERIEL ET METHODE	8
2.1.1. Produits	8
2.1.2. Matériel	8
2.1.3. Méthode	8
3. DEVELOPPEMENT D'UNE (OU PLUSIEURS) METHODE(S) DE DOSAGE POUR DES MELANGES COMPRENANT CORDARONE, DOPAMINE, DOBUTAMINE, NIPRUSS ET/OU NOREPINEPHRINE.....	14
3.1. MATERIEL ET METHODE	14
3.1.1. Produits pour les produits chimiques, ajouter les numéros d'article	14
3.1.2. Matériel mettre les numéros d'article	15
3.1.3. Méthode	15
3.1.3.1. Mise au point de la méthode de dosage	15
3.1.3.2. Etude de spécificité pour la forme médicamenteuse	16
3.1.3.2. Etude de dégradation accélérée	18
3.1.3.3. Validation de la méthode de dosage	18
3.1.3.4. Etude de stabilité	19
3.2. RESULTATS ET DISCUSSION	19
3.2.1. Mise au point de la méthode de dosage	19
3.2.2. Etude de spécificité	22
3.2.2. Etude de dégradation accélérée	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
3.2.3. Validation de la méthode de dosage	23
3.2.4 Etude de stabilité	2
3.3. CONCLUSION	ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.
4. CONCLUSION	4
5. BIBLIOGRAPHIE.....	ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.

LISTE DES ABRÉVIATIONS

α : facteur de sélectivité
ac. : acide
ACN : acétonitrile
ad : jusqu'à
alc. benzyl. : alcool benzylique
AM : amiodarone HCl
As : facteur d'asymétrie
C : concentration
C_i : concentration initiale
C_f : concentration finale
CVr : coefficient de variation de répétabilité
CVR : coefficient de variation de répétabilité de fidélité intermédiaire
DA : dopamine HCl
DU : dobutamine HCl
exp. : date d'expiration
G5% : glucose 5%
i.v. : intraveineux
k : facteur de rétention
MeOH : méthanol
MP : masse pesée
N : nombre de plateaux théoriques
N° art : numéro d'article
NE : norépinephrine tartrate
Nip : nipruss
PA : principes actifs
per os : par oral
PO : phase organique
q.s. : quantité suffisante
q.s.p. : quantité suffisante pour
RDF : formulation reconstituée avec la matrice (reconstituted dosage formulation)
Rs : résolution
SF : solution fille
SM : solution mère
sol : solution
STD : formulation sans matrice (standard)
T : tampon
t° : température
thios : thiosulfate de sodium
V_i : volume initial
V_f : volume final

1. INTRODUCTION

En milieu hospitalier, aux soins intensifs, l'altération de l'état de santé des patients ne permet souvent pas d'utiliser la voie orale ; la seule alternative possible reste donc la voie intraveineuse (i.v.). On peut distinguer la voie veineuse périphérique (veines superficielles des bras surtout) et la voie centrale (veine jugulaire, sous-clavière ou parfois fémorale). La voie centrale permet notamment l'administration de produits à forte osmolarité (y compris l'alimentation parentérale) et/ou de médicaments fortement concentrés qui pourraient endommager les vaisseaux périphériques. Cette voie est généralement privilégiée aux soins intensifs.

Les médicaments sont administrés en i.v. par l'intermédiaire de cathéters. Les cathéters veineux centraux peuvent avoir plusieurs lumières, le plus souvent 2 ou 3. La voie la plus longue est la voie distale, la moyenne, la médiane et la voie la plus courte, la proximale. Cette dernière est généralement réservée, au CHUV, pour l'administration des amines.ⁱ

Certains des médicaments utilisés aux soins intensifs nécessitent une administration en perfusion continue sur 24 heures, car leur temps de demi-vie est très court. Ainsi, il est fréquent que plusieurs principes actifs soient administrés simultanément. Cependant, le nombre de cathéters étant limité, il arrive que ces médicaments doivent couler sur la même voie (rallonges ou rampes multivoies). Une grande prudence est alors requise pour éviter des incompatibilités médicamenteuses, qui peuvent s'avérer préjudiciables pour le patient, voire potentiellement mortelle. En effet, quand deux médicaments incompatibles forment un précipité, il s'ensuit une diminution de l'effet thérapeutique (proportionnelle à la diminution du composé actif). Le précipité lui-même peut obstruer les cathéters (également au niveau des rallonges, rampes et/ou tubulures) et empêcher ainsi le passage des solutions médicamenteuses. De plus, si ces particules pénètrent dans le système circulatoire du patient, elles peuvent y provoquer des phlébités, se déposer dans la microcirculation des poumons et y provoquer des granulomes, des infarctissements tissulaires locaux ou des dysfonctions sévères.ⁱⁱ⁻ⁱⁱⁱ



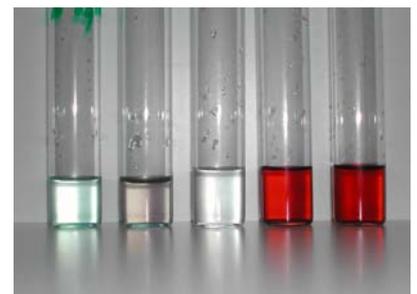
Les incompatibilités sont souvent classées en « physiques » et « chimiques », même si toutes les incompatibilités ont une base chimique. Quand elles résultent en changements visibles tels que précipitation, turbidité, trouble, changement de coloration ou de viscosité, effervescence ou formation de couches liquides non miscibles, le terme « incompatibilité physique » est utilisé. Le phénomène le plus courant, la précipitation, dépend de :

- la solubilité du principe actif
- le caractère acide ou basique du principe actif, dont la solubilité est directement fonction du pH de la solution
- la formation de sels relativement insolubles
- la présence de larges anions organiques et de cations dans les mélanges



D'autres phénomènes physiques peuvent se produire :

- sorption : adsorption du principe actif sur les surfaces du contenant ou du matériel d'administration
- relargage : diminution de la solubilité de nonélectrolytes et d'ions organiques faiblement hydratés en présence d'électrolytes forts



- formation de complexes insolubles
- changement de coloration : résultat d'un changement de configuration moléculaire
- dégagement de gaz : résultat d'une réaction chimique, souvent entre des carbonates et des médicaments acides

Les incompatibilités chimiques sont le résultat de réactions chimiques (changement moléculaire, réarrangement en différentes entités chimiques) qui ne sont pas observables visuellement. Ces réactions peuvent être :

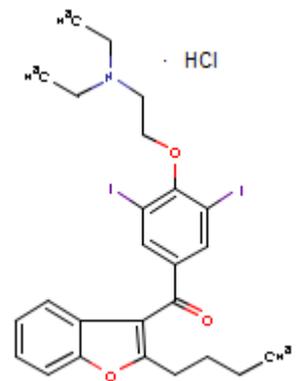
- hydrolyse : attaque des liaisons labiles par l'eau
- oxydation et réduction : réactions impliquant l'échange d'électrons à l'intérieur de la molécule (les composés phénoliques tels que les amines sympathomimétiques subissent des oxydations à un pH neutre ou alcalin ; la réaction est ralentie en-dessous de pH 4^{iv})
- photolyse ou photodégradation : oxydation ou hydrolyse de certains principes actifs par la lumière (ex : nitroprussiate de sodium^v)
- racémisation et épimérisation : conversion partielle d'un énantiomère en l'autre pour les principes actifs possédant un centre chiral

Les facteurs influençant le degré de décomposition des principes actifs sont :

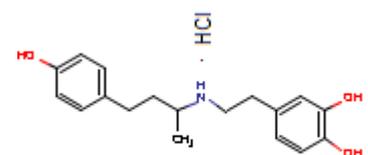
- le pH de la solution : la dégradation de beaucoup de molécules est catalysée par des pH extrêmes, les réactions étant affectées par la présence d'ions hydrogène ou hydroxyde
- la température : chaque élévation de température de 10°C peut augmenter de 2 à 5 fois la vitesse de dégradation^{vi}
- la concentration en principe actif : en général, l'augmentation de la concentration en principe actif est proportionnelle au degré de dégradation (cependant, il existe des exceptions, comme pour les catécholamines où l'auto-oxydation est diminuée en milieu concentré)^{vii}
- l'exposition à la lumière : la lumière intensifie les réactions de photodégradation^{viii}

Dans ce travail, l'objectif était d'étudier les compatibilités/incompatibilités entre médicaments administrés sur la voie des amines. Les médicaments concernés sont :

- Cordarone® : Cette spécialité est fournie en ampoules injectables de 50 mg/ml de chlorhydrate d'amiodarone, dont le pH se situe aux environs de 4.0. L'amiodarone est un antiarythmique de classe III qui allonge le potentiel d'action de la fibre cardiaque (sans modification de sa hauteur ni de sa vitesse d'ascension) par ralentissement du courant potassique (sans modification des courants sodiques et calciques). Ce principe actif s'est avéré efficace aussi bien dans les troubles du rythme auriculaires que ventriculaires. La Cordarone® a également montré des propriétés antiangineuses par l'intermédiaire d'un de ses solvants : le polysorbate 80. En effet, un effet vasodilatateur puissant (diminution de la postcharge), accompagné habituellement d'une élévation de la fréquence cardiaque et d'une diminution de la pression artérielle systolique, a été démontré durant les 5 minutes qui suivent son injection i.v. L'amiodarone doit être stockée à température ambiante et protégée de la lumière et d'une chaleur excessive.^{8-ix}

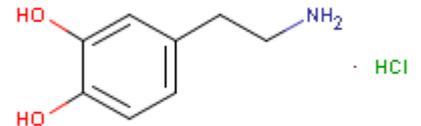


- Dobutamin Liquid Fresenius® : Cette spécialité est fournie en fioles de solution pour perfusion de 50 ml contenant 250 mg de dobutamine (= 280 mg de chlorhydrate de dobutamine), dont le pH se situe entre 3.5-4. La dobutamine est une amine synthétique à action sympathomimétique. L'inotropie positive s'explique par son effet agoniste sur les récepteurs cardiaques β_1 et α_1 qui entraîne une élévation de la contractilité du cœur et une augmentation du

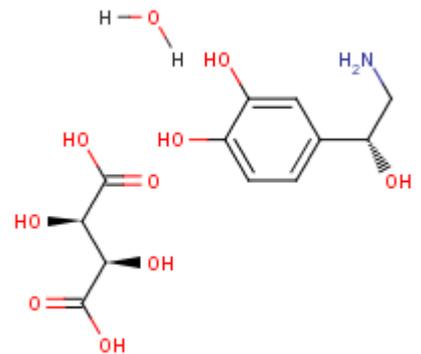


volume cardiaque éjecté. Elle possède également un effet agoniste sur les récepteurs périphériques β_2 et, dans une plus faible mesure, α_2 , entraînant une vasodilatation périphérique, cependant moins marquée qu'avec les autres catécholamines. La dobutamine convient au traitement lors de baisse de perfusion due à des performances cardiaques insuffisantes sur le plan circulatoire (insuffisances cardiaques, infarctus du myocarde, ...). La spécialité ne doit pas être stockée à plus de 25°C et est instable dans les solutions alcalines⁹.

- Dopamin Fresenius® : Cette spécialité est fournie en fioles de solution prête à l'emploi contenant 250 mg/50 ml de chlorhydrate de dobutamine, dont le pH se situe entre 2.5-5.0. La dopamine est le précurseur de la norépinephrine et stimule les récepteurs adrénergiques du système nerveux sympathique ainsi que les récepteurs dopaminergiques des vaisseaux rénaux, mésentériques, coronariens et intracérébraux. Son effet est dose-dépendant. Ses indications sont : choc cardiovasculaire dû à un infarctus du myocarde, traumatisme, septicémie à endotoxines, intervention chirurgicale à cœur ouvert, insuffisance rénale, hypotension aiguë grave. La préparation pharmaceutique est sensible à la chaleur, à la congélation, à la lumière et aux solutions alcalines.⁸⁻⁹



- Noradrénaline Sintetica® : Cette spécialité est fournie en solution injectable et contient 2 mg/ml de noradrénaline tartrate (équivalent à 1 mg/ml de noradrénaline-base ou norépinephrine), dont le pH se situe entre 3.0-4.2. La noradrénaline est un vasoconstricteur puissant. Elle est identique à une catécholamine endogène et stimule les récepteurs alpha-adrénergiques. La vasoconstriction ainsi déclenchée provoque une augmentation de la pression sanguine systolique et diastolique. La perfusion rénale, hépatique, cutanée et de la musculature squelettique est simultanément diminuée. Les effets bêta-stimulants agissent comme stimulateur inotrope cardiaque. La noradrénaline n'a aucun effet sur le SNC.



C'est un médicament d'urgence utilisé pour augmenter la pression sanguine en cas d'hypotension aiguë lors de choc, après un arrêt cardiaque ou lors d'une réanimation. Elle est utilisée en combinaison avec le remplissage vasculaire et en complément de soutien aux autres dispositions. Les ampoules doivent être conservées à l'abri de la lumière et à température ambiante. La noradrénaline est sensible aux substances alcalines et aux agents oxydants⁸⁻⁹.

- Nipruss® : Cette spécialité est fournie en ampoule de substance sèche contenant 52.75 mg de pentacyanonitrosylferrate (II) disodique anhydre lyophilisé (correspondant à 60 mg de nitroprussiate de sodium), dont la solution reconstituée dans G5%, possède un pH entre 3.0-6.0. Le nitroprussiate de sodium est doué d'un effet vasodilatateur direct sur la musculature lisse des vaisseaux sanguins par libération d'oxyde nitrique. Par l'intermédiaire d'une vasodilatation veineuse, il conduit à une réduction du retour veineux au cœur, accompagnée d'une diminution des pressions de remplissage (abaissement de la précharge). La dilatation des artères et artérioles réduit la résistance artérielle périphérique, diminue la postcharge du cœur, facilite la vidange du ventricule et abaisse la tension artérielle. Indépendante du système



nerveux central et périphérique, l'action du nitroprussiate n'a aucune influence sur les récepteurs alpha et bêta. C'est au niveau des artérioles précapillaires que l'effet de ce médicament est le plus prononcé. Cependant une molécule de nitroprussate de sodium ne libère pas seulement du NO mais aussi 5 ions cyanure ; ainsi, lors d'administration à hautes doses ou prolongées (>1.5 mg/kg sur une durée >3-4 heures), une intoxication au cyanure peut survenir^x. Afin d'éviter une intoxication au cyanure, chaque perfusion de Nipruss® devrait s'accompagner d'une administration simultanée de thiosulfate de sodium. Ce médicament est indiqué contre les poussées hypertensives de toute étiologie, dans l'hypertension maligne et résistante au traitement, dans les formes hypertensives de l'infarctus du myocarde ou pour l'induction d'une hypotension contrôlée au cours d'interventions chirurgicales^{xi}. Le Nipruss doit être protégé de la lumière.

NB Les 3 catécholamines citées précédemment, ainsi que le Nipruss® ont un temps de demi-vie court ; il est donc nécessaire de les perfuser en continu pour conserver un effet constant.

1.1. OBJECTIFS

Il s'agissait de simuler une perfusion en « Y » entre plusieurs médicaments passant sur la même voie veineuse (celle des amines) et étudier leur compatibilité, notamment celle de la Cordarone®.

Dans un premier temps, une étude de compatibilité physique des médicaments pris 2 à 2 puis 3 à 3 a été effectuée, aux différentes concentrations utilisées en routine aux soins intensifs du CHUV. Cette compatibilité physique a été évaluée par l'observation visuelle des mélanges sur 24 heures.

Dans un deuxième temps, il s'agissait de développer une ou plusieurs méthodes de dosage par chromatographie liquide à haute performance afin de pouvoir évaluer, par dosage des différentes substances, la compatibilité chimique de la Cordarone® avec différents autres principes actifs couramment administrés sur la même voie.

2. ETUDE DE COMPATIBILITE PHYSIQUE

2.1. MATÉRIEL ET MÉTHODE

2.1.1. Produits

- Dobutamin Liquid Fresenius®, 250 mg/50 ml, lots UA 35, UG 21
- Dopamin Fresenius® 250 mg/50 ml, lots T/1628, UG 1590
- Thiosulfate de sodium 25%, ampoule de 20 ml ; lot 0670057, Streuli
- Thiosulfate de sodium 25%, ampoule de 20 ml ; lot : AO7O37, Bichsel,
- Cordarone® 150 mg/3ml, lot 1201, Sanofi Aventis
- Nipruss®, ampoule contenant 60 mg de poudre de nitroprussiate de sodium 2 H₂O, lots 4826505, 5033303, Schwarz Pharma
- Noradrenaline Sintetica 0.1%, ampoule de 10 ml ; lot 06062,
- Glucose 5%, 100 ml, lot 6433A231, B. Braun

2.1.2. Matériel

- Seringues Omnifix® 5 ml, B. Braun
- Seringues BD 10 ml Syringe Luer-Lok™ Tip, BD
- Seringues Omnifix® 20 ml, B. Braun
- Seringues opaques BD Perfusion™ 50 ml, BD
- Seringues BD Plastipak™ Perfusion syringe 50 ml, BD
- Aiguilles Terumo®, 0.9 x 40 mm, Neolus
- Tubes à essais en verre avec bouchon en plastique
- Agitateur Mini Vortexer VM-3000, VWR
- pH-mètre 713 pH Meter, Metrohm
- Boîte noire avec source de lumière blanche
- Statif comprenant un panneau noir mat et un panneau blanc anti-éblouissant

2.1.3. Méthode

Par ce test, nous souhaitons vérifier si des médicaments, administrés en Y sur une même voie veineuse, sont visuellement compatibles.

Les différents médicaments à tester ont été préparés en seringues de 50 ml selon le tableau n°1 ci-dessous. Les dilutions réalisées correspondent à celles utilisées en routine dans le service des soins intensifs du CHUV. Chaque solution a été refaite quotidiennement. Après reconstitution des solutions, le pH de ces dernières a été mesuré à l'aide d'un pH-mètre aux temps 0 et 24 h. La solution contenant le Nipruss et le thios a été protégée de la lumière par du papier d'aluminium jusqu'à temps 24 h.

Tableau 1 : Préparation des médicaments à tester

Spécialité	PA	Quantité de produit à prélever [ml]	Quantité de G5% à ajouter [ml]	V _f dans la seringue [ml]	Quantité de PA dans les seringues	C des PA [mg/ml]
Cordarone®	amiodarone	12	36	48	600	12.5
Noradrénaline Sintetica®	noradrénaline	15	35	50	15	0.3
Dopamin Fresenius®	dopamine	50	/	50	250	5
Dobutamin Liquid Fresenius®	dobutamine	50	/	50	250	5
Nipruss®	nitroprussiate de sodium	1/4 ampoule de 60 mg de poudre reconstituée dans 3 ml de G5%	49.25	50	15	0.3
Nipruss®	nitroprussiate de sodium	1/2 ampoule de 60 mg de poudre reconstituée dans 3 ml de G5%	48.5	50	30	0.6
Nipruss®	nitroprussiate de sodium	1 ampoule de 60 mg de poudre reconstituée dans 3 ml de G5%	47	50	60	1.2
Nipruss® + sodium thiosulfate Bichsel 25% [Gwendy1]	nitroprussiate de sodium + thiosulfate de sodium	1 ampoule de 60 mg de poudre reconstituée dans 3 ml de G5% + 2 ml de thiosulfate de sodium	45	50	60	1.2

Les tests de compatibilité ont été réalisés dans des tubes en verre propres et secs dans lesquels ont été ajoutés des volumes variables des solutions à tester. Ces tubes ont été fermés à l'aide d'un bouchon et conservés pendant 24 heures à température et lumière ambiantes.

Les compatibilités entre médicaments ont d'abord été testées deux par deux, en variant les proportions relatives des deux substances : 1-1, 1-1 sans agitation, 1-4, 4-1, afin de mimer les situations où les médicaments sont administrés à des débits différents. Le mélange réalisé sans agitation, quant à lui, permet de simuler le comportement des solutions médicamenteuses lors d'une administration en Y, où le mélange n'est pas forcément immédiatement homogène. Les différents mélanges ont été effectués en duplicat, en changeant l'ordre d'adjonction des produits entre deux.

Les mélanges testés étaient les suivants :

- Cordarone-Dobutamine
- Cordarone-Dopamine
- Cordarone-Nipruss (0.3 mg/ml)
- Cordarone-Nipruss (0.6 mg/ml)
- Cordarone-Nipruss (1.2 mg/ml)
- Cordarone-(Nipruss + sodium thiosulfate)
- Cordarone-Noradrénaline
- Dobutamine-Dopamine
- Dobutamine-Nipruss
- Dobutamine-(Nipruss + sodium thiosulfate)
- Dobutamine-Noradrénaline
- Dopamine-Nipruss
- Dopamine-(Nipruss + sodium thiosulfate)
- Dopamine-Noradrénaline
- Noradrénaline-Nipruss
- Noradrénaline-(Nipruss + sodium thiosulfate)

Des tests avec trois médicaments ont été réalisés sur le même principe, dans les proportions suivantes : 1-1-1 ; 1-1-4 ; 1-4-1 ; 4-1-1 ; 1-4-4 ; 4-1-4 ; 4-4-1 ; 1-1-1 sans agitation.

Les mélanges testés étaient :

- Cordarone-Dobutamine-Dopamine
- Cordarone-Dobutamine-Nipruss
- Cordarone-Dobutamine-Noradrénaline
- Cordarone-Dopamine-Nipruss
- Cordarone-Dopamine-Noradrénaline
- Cordarone-Noradrénaline-Nipruss

Les solutions ont été contrôlées visuellement sur fond blanc (détection d'un changement de coloration) et sur fond noir (détection d'une opacité) aux temps : 0, 15, 30 et 60 min et 2, 4 (pour les mélanges effectués le matin) et 24 h. L'observation sur fond noir a été faite en plongeant les tubes dans un béccher rempli d'eau placé dans une boîte noire avec une source de lumière blanche ; cette méthode permet l'agrandissement du tube et ainsi une meilleure observation de précipités.

2.1.4. Résultats et discussion

Les mesures du pH des solutions reconstituées sont présentées dans le tableau 2 ci-dessous.

Tableau 2 : Mesures du pH des solutions reconstituées

Solutions	pH à t 0	pH à t 24 h
Nipruss® 1.2 mg/ml	4.31	4.25
Nipruss® (1.2 mg/ml) + thios	5.56	6.51
Cordarone® 12.5 mg/ml	3.79	3.81
Dopamine 5 mg/ml	3.42	3.46
Dobutamine 5 mg/ml	3.03	3.04
Norépinephrine 0.6 mg/ml	3.63	3.65

En 24 heures, le pH des solutions reconstituées reste constant, sauf pour le mélange Nipruss®-thiosulfate (même à l'abri de la lumière).

Les résultats des tests d'incompatibilité physique des mélanges à 2 et 3 composés sont présentés dans les tableaux 3 et 4. Le détail des descriptions visuelles se trouve en annexe n°1.

Tableau 3 : Résultats des tests d'incompatibilité physique des médicaments 2 à 2

		Dobutamine		Dopamine		Noradrénaline		Nipruss®						Nipruss®-thios		
		5.0 mg/ml		5.0 mg/ml		0.6 mg/ml		0.3 mg/ml		0.6 mg/ml		1.2 mg/ml		1.2 mg/ml		
		1	4	1	4	1	4	1	4	1	4	1	4	1	4	
Cordarone®	12.5 mg/ml	1	C	C	C	C	C	C	I	I	I	I	I	I	I	
		4	C		C		C		C		C		C		C	
Dobutamine	5.0 mg/ml	1			C	C	C	C					I	I	I	I
		4			C		C						C		I	
Dopamine	5.0 mg/ml	1					C	C					I	I	I	I
		4					C						C		I	
Noradrénaline	0.6 mg/ml	1											C	C	I	I
		4											C		I	

C = compatible

I = incompatible

Tableau 4 : Résultats des tests d'incompatibilité physique des mélanges pris 3 à 3

		Dobutamine		Dopamine		Noradrénaline							
		5.0 mg/ml		5.0 mg/ml		0.3 mg/ml							
		1	4	1	4	1	4						
Cordarone®	12.5 mg/ml	1	C	C					1	5.0 mg/ml	Dopamine		
			C	C					4				
		4	C	C					1				
			C						4				
		0.3 mg/ml	1	C	C	C	C					1	Noradrénaline
				C	C	C	C					4	
	4		C	C	C	C			1				
			C		C				4				
	1.2 mg/ml	1	I	I	C	C	C	C	1	Nipruss®			
			I	I	I	I	I	I	4				
		4	C	C	C	C	C	C	1				
			I		C		C		4				

C = compatible

I = incompatible

Pour considérer un mélange compatible, il faut que ce mélange ne présente aucune incompatibilité à toutes les proportions relatives testées. En effet dans la pratique médicale, les changements de débit sont courants et peuvent engendrer des concentrations relatives variables des différents produits en contact. Les mélanges compatibles pour les tests 2 à 2 et 3 à 3 sont donc :

- Cordarone®-Dobutamine
- Cordarone®-Dopamine
- Cordarone®-Noradrénaline
- Dobutamine-Dopamine
- Dobutamine-Noradrénaline
- Dopamine-Noradrénaline
- Noradrénaline-Nipruss® (1.2 mg/ml)
- Cordarone®-Dobutamine-Dopamine
- Cordarone®-Dobutamine-Noradrénaline
- Cordarone®-Dopamine-Noradrénaline

Les mélanges incompatibles sont :

- Cordarone[®]-Nipruss[®] (0.3-1.2 mg/ml)
- Cordarone[®]-(Nipruss[®]-thios)
- Dobutamine-Nipruss[®] (1.2 mg/ml)
- Dobutamine-(Nipruss[®]-thios)
- Dopamine-Nipruss[®] (1.2 mg/ml)
- Dopamine-(Nipruss[®]-thios)
- Noradrénaline-(Nipruss[®]-thios)
- Cordarone[®]-Dobutamine-Nipruss[®] (1.2 mg/ml)
- Cordarone[®]-Dopamine- Nipruss[®] (1.2 mg/ml)
- Cordarone[®]-Noradrénaline-Nipruss[®] (1.2 mg/ml)

Il faut noter que, dans la pratique des soins intensifs, la Noradrénaline et le Nipruss[®] ne sont pas administrés en même temps, mais il est tout à fait possible que, lors du passage d'un traitement à l'autre, les deux produits entrent en contact l'un avec l'autre dans les tubulures.

On peut voir que tous les mélanges contenant du Nipruss[®] présentent une incompatibilité, sauf Noradrénaline-Nipruss[®] (1.2 mg/ml). Donc en pratique, il ne faudrait plus mettre le Nipruss[®] sur la même voie que celle des amines. Par ailleurs, le mélange du Nipruss[®] et du thiosulfate de sodium dans la même seringue devrait également être évité, car le thiosulfate oxyde le Nipruss[®] ; ceci est visible par un changement de coloration de la solution après 15 minutes déjà sans protection de la lumière.

Le temps de contact entre deux produits sur une même voie veineuse varie en fonction du matériel utilisé (longueur et diamètre des tubulures et des rampes), de l'emplacement des tubulures sur la rampe, du débit des solutions, du cathéter, ... La réalisation d'un montage cathéter-rampe-tubulure tel qu'utilisé aux soins intensifs du CHUV et la mesure du volume de liquide qu'il peut contenir a permis d'estimer un temps de contact maximum de 1.5 heure pour des petits débits de solution médicamenteuse. Un test de compatibilité visuelle sur deux heures pourrait alors suffire. Le choix d'une durée d'observation de 24 heures permet cependant de s'assurer qu'une réaction d'incompatibilité ne s'est pas amorcée durant les premières heures de contact, en n'étant décelable à l'œil que plus tard.

Les tests de compatibilité visuelle ont l'avantage de demander peu de matériel pour être effectués mais il s'avère parfois difficile de détecter à l'œil nu un changement minime de coloration ou un trouble léger. Donc la solution la plus « sûre » serait de doser ces mélanges par colorimétrie ou turbidimétrie, mais cela nécessite du matériel un peu plus pointu et plus cher.

3. DÉVELOPPEMENT D'UNE (OU PLUSIEURS) MÉTHODE(S) DE DOSAGE POUR DES MÉLANGES COMPRENANT CORDARONE, DOPAMINE, DOBUTAMINE, NIPRUSS ET/OU NORÉPINEPHRINE

3.1. MATÉRIEL ET MÉTHODE

3.1.1. Produits

- PIC® B-8 low UV Reagent : lot : 9783153251, N°art. : WATO84283 Waters
- Eau pour chromatographie: LiChrosolv®, lots : HC 730762 et HC 727231, N°art. : 1.15333.2500, Merck
- Acétonitrile pour chromatographie, LiChrosolv®, lots : 1338330 702 et 1331630 648, N°art. 1.00030.2500, Merck
- Méthanol pour chromatographie, LiChrosolv®, lot : K36875818 704, N°art. : 1.06018.2500, Merck
- Octane sulfonate de sodium pour chromatographie : LiChropur®, lot : K35060107 546, N°art. : 1.18307.0025, Merck
- Triéthylamine, pureté supérieure à 99.5%, lot : 1188136, N°art. : 90337, Fluka BioChemika
- Acide orthophosphorique, Suprapur®, lot : K100405252 439, N°art. : 1.00552.0250, Merck
- PIC® A Low UV Reagent, lot : 8075805018, N°art. : WAT084189, Waters
- Eau pour injectable, ampoules de 20 ml, lot : 6383C11, B. Braun
- Acide chlorhydrique 0.1 mol/l, lot : OC555914, N°art. : 1.09063.1000, Merck
- Acide chlorhydrique 2 mol/l, lot : HC606641, N°art. : 1.09060.1000, Merck
- Sodium hydroxyde en solution 0.1 mol/l, lot : OC337874, N°art. : 1.09141.1000, Merck
- Sodium hydroxyde en solution 2 mol/l, lot : OC510705, N°art. : 1.09136.1000, Merck
- Glucose 5%, 50 ml, lots : 7043A231 et 6433A231, B. Braun
- NaCl 0.9%, 50 ml, lot : 6352A232, B. Braun
- NaCl, lot : K32232604 329, N°art. : 1.06404.0500, Merck
- Tween 80 (= polysorbate 80), lot : 2006.02.0256, N°art. : 26-7380-3, Hänseler AG
- Thiosulfate de sodium 25%, ampoule de 20 ml, lot : AO7037, Bichsel
- Nitroprussiate de sodium dihydraté, lot : K23982641 736, N°art. : 1.06541.0025, Merck
- Métabisulfite de sodium, lot : K36046228, N°art. : 106528.0100, Merck
- Titriplex III (= EDTA sodique 2 H₂O), lot : K23670929 720, N°art. : 1.12029.0100, Merck
- Acide L (+) ascorbique, lot : 31280, N°art. : 200-066-2, Riedel-de-Haën
- Amiodarone hydrochloride, lots : 061K1807, 12K1745, N°art. : A8423-1G, Sigma-Aldrich
- N-acétyl-L-cystéine, lot: 046K0095, N°art. : A7250-5G, Sigma-Aldrich
- Alcool benzylique, lot : 2006.09.0580, N°art. : 15-1400-2, Hänseler AG
- (±)-Norépinephrine(+)-tartrate, lot : 096K1695, N°art. : A0937-1G, Sigma-Aldrich
- Chlorhydrate de dobutamine, lot : 9602210, Schweizerhall
- Chlorhydrate de dopamine, lot : 09262, N°art. : 09262, Senn Chemicals

3.1.2. Matériel

- Précolonne, Chromolith® Guard CartridgeKit, RP 18e, 10-4.6 mm, lot : HX 619711, N°art. : 1.51471.0001, Merck
- Colonne, Chromolith Performance, RP-8e, 100-4.6 mm, lot : UM1107/075, N°art. : 1.02129.0001, Merck
- Micropipette, 100-1000 µl, Vaudaux-Eppendorf
- Filtres, MF™, 0.45 µm HA, lot : R3NN74991, Millipore
- Balance analytique Mettler AT250
- Agitateur Mini Vortexer VM-3000, VWR
- pH-mètre 713 pH Meter, Metrohm
- Lampe UV, Universal UV Lampe, 254 nm, type TL-900/U, 220 V, ~ 50/60 HZ, Camag
- Injecteur, ProStar 410, Varian
- Détecteur à barrettes de diode, ProStar 335, Varian
- Pompe, Varian 9012, Varian
- Logiciel, Varian Star Workstation version 6.41, Varian

3.1.3. Méthode

3.1.3.1. MISE AU POINT DE LA METHODE DE DOSAGE

Dans un premier temps, une revue de littérature a été effectuée afin de répertorier différentes méthodes de dosage concernant les produits à tester (amiodarone HCl, dopamine HCl, dobutamine HCl, nitroprussiate de sodium dihydraté et norépinephrine tartrate).

Dans un deuxième temps, plusieurs méthodes de dosage ont été testées afin d'obtenir une (ou plusieurs) méthode(s) permettant le dosage des différents principes actifs en présence de leurs excipients et de leurs éventuels produits de dégradation. Pour évaluer la qualité de la séparation des différents constituants du mélange, les paramètres chromatographiques k , A_s , R_s , α et N ont été calculés manuellement à partir des chromatogrammes, à l'aide des équations présentées en annexe n°2.

Les méthodes finalement retenues (paramètres chromatographiques satisfaisants) étaient les suivantes :

3.1.3.1.1. Méthode retenue pour le dosage de l'amiodarone, la dobutamine, la dopamine et la noradrénaline

Tampon : 2,6 g octanosulfonate de sodium dans 1000,0 ml d'eau, additionné de 3.0 ml de triéthylamine et ajusté à pH = 2.5 avec de l'acide phosphorique (tampon 0.012 M), puis filtration sur Büchner (filtre de 0.45 µm).

Phase organique : ACN-MeOH (18-82)

Solution de dilution des échantillons : tampon

Phase stationnaire : précolonne : Chromolith® Guard CartridgeKit, RP 18e, 10-4.6 mm, colonne : Chromolith Performance, RP-8e, 100-4.6 mm

Phase mobile : gradient de solvants présenté dans le tableau suivant :

Temps [min]	Débit de la phase mobile [ml/min]	% T	% PO	Longueur d'onde [nm]
0.00	1.0	80	20	280
12.00	1.0	28	72	240
12.50	2.0	27	73	
15.00	2.0	20	80	
20.00	2.0	20	80	
21.00	2.0	80	20	
21.50	3.0	80	20	
26.00	3.0	80	20	
26.50	1.0	80	20	

Temps d'équilibration entre les analyses : 3 minutes

Volume d'injection : 20 µl

Pression : 24 bars

Durée de l'analyse : 30 minutes

Température : t° ambiante

Cette méthode a ensuite été validée.

3.1.3.1.2. Méthode retenue pour le dosage du Nipruss®

Cette méthode n'a pas été validée, par manque de temps.

Tampon : PIC® A Low UV Reagent, solution à 0.005 M de tetrabutylammonium hydrogen sulfate dans l'eau, ajusté à pH = 7.1 avec de l'acide phosphorique

Phase organique : ACN

Solution de dilution des échantillons : Tampon pH 7.1-ACN (70-30)

Phase stationnaire : précolonne : Chromolith® Guard CartridgeKit, RP 18e, 10-4.6 mm, colonne : Chromolith Performance, RP-8e, 100-4.6 mm

Phase mobile : gradient de solvants présenté dans le tableau suivant :

Temps [min]	Débit de la phase mobile [ml/min]	Eau	% T	% PO	Longueur d'onde [nm]
0.00	1.0	0	70	30	280
5.00	1.0	0	70	30	210 (à t 2.75)
6.00	3.0	100	0	0	258 (à t 5.00)
10.00	3.0	100	0	0	
11.00	3.0	60	0	40	

Temps d'équilibration entre les analyses : 10 min

Volume d'injection : 20 µl

Pression : 22 bars

Durée de l'analyse : 21 min

Température : t° ambiante

3.1.3.2. ETUDE DE SPECIFICITE POUR LA FORME MEDICAMENTEUSE

Cette étude permet de démontrer qu'aucun des excipients des formulations pharmaceutiques n'interfère avec les 4 pics principaux.

Les solutions injectées sont présentées dans le tableau n°5. Les solutions des PA ont été injectées en dupliqua, celles des excipients une seule fois.

Tableau 5 : Solutions injectées

Solutions injectées	Concentration [mg/ml]	Phase de dilution
Phase de dilution [T – PO (65 : 35, % v/v)]	/	/
G5%	50	/
NaCl 0.9%	9	/
AM ¹	0.100	T – PO (65 : 35, % v/v)
Cordarone®	0.100	T – PO (65 : 35, % v/v)
Tween 80	0.200	T – PO (65 : 35, % v/v)
AM + Tween 80	0.100 (AM) + 0.200 (Tween 80)	T – PO (65 : 35, % v/v)
Alcool benzylique	0.040	T – PO (65 : 35, % v/v)
NE	0.100	T – PO (65 : 35, % v/v)
Noradrenaline Sintetica	0.100	T – PO (65 : 35, % v/v)
Métabisulfite de sodium	0.050	T – PO (65 : 35, % v/v)
NE + Métabisulfite de sodium	0.100 (NE) 0.050 (Métabisulfite de sodium)	T – PO (65 : 35, % v/v)
DU	0.100	T – PO (65 : 35, % v/v)
Dobutamin Liquid Fresenius®	0.100	T – PO (65 : 35, % v/v)
Ac. ascorbique	0.018	T – PO (65 : 35, % v/v)
DA	0.100	T
Dopamin Fresenius	0.100	T – PO (65 : 35, % v/v)
N-acétyl-L-cystéine	0.002	T – PO (65 : 35, % v/v)
Titriplex III ²	0.002	T – PO (65 : 35, % v/v)
Nipruss®	0.100	T – PO (65 : 35, % v/v)
Thiosulfate de sodium	1.000	T – PO (65 : 35, % v/v)
Nipruss® + Thiosulfate de sodium	0.100 (nip) 0.835 (thios)	T – PO (65 : 35, % v/v)
Mélange des excipients (ad 10 ml) 1 ml G5% 1 ml NaCl 09% Tween 80 Alcool benzylique Métabisulfite de sodium N-acétyl-L-cystéine Titriplex III Ac. ascorbique nip-thios ³	0.200 (Tween 80) 0.040 (Alcool benzylique) 0.050 (Métabisulfite) 0.002 (N-acétyl-L-cystéine) 0.002 (Titriplex III) 0.018 (Ac. ascorbique) 0.100 (nip) 0.835 (thios)	T – PO (65 : 35, % v/v)
Mélange des PA : DA AM + Tween DU NE	0.100 (AM, DA, DU, NE) 0.200 (Tween 80)	T
Mélange des préparations pharmaceutiques : Cordarone® + Dopamin Fresenius + Dobutamin Liquid Fresenius® + Noradrenaline Sintetica	0.100 (pour toutes les substances)	T

1 : la solution mère de tween a été diluée dans 50% de phase organique puis complétée à 50 ml avec la phase de dilution normale

2 : le Titriplex III correspond à l'EDTA se trouvant dans la spécialité Dopamin Fresenius®

3 : le Nipruss® est considéré ici comme un excipient car avec cette méthode il n'est pas dosé

3.1.3.2. ETUDE DE DEGRADATION ACCELEREE

Une étude de dégradation accélérée a été effectuée afin de s'assurer que les produits de dégradation des principes actifs ainsi que ceux de la matrice n'interfèrent ni avec la séparation, ni avec la pureté des pics principaux.

L'étude de dégradation a été effectuée sur un mélange a+b+c+d+e constitué de :

- a. 2 ml de Cordarone® à 1.0 mg/ml d'AM (diluée avec le tampon octane sulfonate de sodium, à partir de la forme pharmaceutique à 50.0 mg/ml)
- b. 1 ml de Noradrenaline Sintetica à 1.0 mg/ml de NE (forme pharmaceutique)
- c. 0.5 ml de Dobutamine Liquid Fresenius à 5.0 mg/ml de DU (forme pharmaceutique)
- d. 0.5 ml de Dopamin Fresenius à 5.0 mg/ml de DA (forme pharmaceutique)
- e. 2 ml de Nipruss-thios à 1.2 mg/ml de sodium nitroprussiate et 10 mg/ml de sodium thiosulfate (60 mg (= 1 ampoule) de nitroprussiate de sodium dihydraté+ 2 ml de thiosulfate de sodium prélevés de la formulation pharmaceutique à 25% ad 50 ml de G5%).

NB : Le pH de ce mélange vaut 2.55.

Six conditions ont été testées :

- 6 ml de mélange + 14 ml de tampon (pH = 2.77)
- 6 ml de mélange + 6 ml de HCl 2 M ; laisser reposer pendant 30 min, à température ambiante et à l'abri de la lumière, puis ajuster le pH à 2.55 avec du NaOH 1 M, compléter avec du tampon ad 20 ml puis filtrer
- 6 ml de mélange + 6 ml de NaOH 2 M ; le tout est laissé de côté pendant 15 min, protégé de la lumière par du papier d'aluminium, ajusté au pH de 2.55 avec du HCl 2 M et 0.1 M, complété avec du tampon ad 20 ml puis filtré à changer idem ci-dessus
- 6 ml de mélange + 6 ml de H₂O₂ 30% : le tout est laissé de côté pendant 15 min, protégé de la lumière par du papier d'aluminium, ajusté au pH de 2.55 avec du NaOH 0.1 M, complété avec du tampon ad 20 ml puis filtré à changer idem ci-dessus
- 6 ml de mélange + 14 ml de tampon : mettre sous UV à 254 nm pendant 4 h (le pH de référence est 2.77)
- 6 ml de mélange + 14 ml de tampon : mettre à reflux pendant 30 min, à l'abri de la lumière, laisser refroidir à température ambiante, ajuster le pH à 2.77 avec du NaOH 0.1 M puis filtrer

Toutes ces solutions sont injectées en dupliqua.

Finalement les chromatogrammes sont analysés à l'aide du logiciel Varian Star Workstation afin de vérifier la pureté des pics. Les statistiques des paramètres de pureté des 4 pics principaux sont présentées en annexe n°.

3.1.3.3. VALIDATION DE LA METHODE DE DOSAGE

Le but de valider une méthode est de démontrer que celle-ci est adaptée à l'usage pour lequel elle est prévue. Son objectif est de prouver que les résultats qu'elle permet d'obtenir sont fiables. Dans une phase de validation, il est vérifié la linéarité (capacité d'obtenir des résultats directement proportionnels à la concentration), l'exactitude (accord entre la valeur théorique exacte et la valeur obtenue) et la fidélité. Cette dernière est évaluée par la répétabilité et la fidélité intermédiaire.^{xii}

La validation s'effectue sur 3 jours. Les solutions suivantes sont refaites chaque jour à partir de nouvelles solution mères (sauf les SM des PA) et sont injectées en dupliqua :

- a. Pour les STD, 3 solutions de 0.08, 0.1 et 0.12 mg/ml contenant les 4 PA
- b. Pour les RDF, 3 solutions de 0.08, 0.1 et 0.12 mg/ml plus 5 autres de 0.1 mg/ml contenant les 4 PA

La concentration cible est 0.1 mg/ml.

La préparation des solutions est présentée en annexe 4.

3.1.3.4. ETUDE DE STABILITE

Une étude de stabilité a été effectuée sur les solutions STD (0.08, 0.10 et 0.12 mg/ml) et RDF (0.08, 0.10 et 0.12 mg/ml) préparées lors du premier jour de la validation, afin de s'assurer qu'elles ne se dégradent pas pendant toute la durée de l'analyse. Pour ce faire, les solutions ont été conservées à température et lumière ambiantes puis redosées après 24 heures. Ensuite le pourcentage relatif des 4 PA dans le mélange a été calculé, à partir des AUC des chromatogrammes, à t_0 et t_{24h} , afin de s'assurer que les proportions restent semblables, donc le mélange stable. Le pourcentage absolu entre les deux jours a également été calculé.

3.2. RÉSULTATS ET DISCUSSION

3.2.2. *Mise au point de la méthode de dosage pour les catécholamines et l'amiodarone*

La référence pour le développement de cette méthode a été la monographie du chlorhydrate de dobutamine de la Pharmacopées Européenne 4. Ensuite cette dernière a été optimisée.

Cependant, même en optimisant la méthode, elle ne convenait pas pour le dosage du nitroprussiate de sodium, substance très polaire qui n'est pas du tout retenue par la colonne et sort au temps mort (t_{mort} : 0.79 min). A pH=2.5 (pH de la solution tampon), les 4 autres composés sont sous forme ionisée à 100% (cations) car ce sont des bases faibles et leur pKa respectifs sont au moins supérieurs de 2 unités au pH de la solution tampon (pKa : AM : 6.56^{xiii} ; DA : 8.8, 10.6 ; DU : 9.5 ; NE : 8.6, 9.8, 12.0^{xiv}). Les trois catécholamines sont des composés polaires et ont donc plus d'affinité pour la phase mobile polaire. Avec cette méthode, la substance la plus polaire, la NE (logP = -1.2) est la moins retenue ; la DA (logP = -1.0) et la DU (logP = 3.49) sont éluées ensuite. Quant à l'AM, très lipophile (logP = 7.57^{xv}), elle est retenue plus longtemps par la phase stationnaire apolaire et sort en dernier.

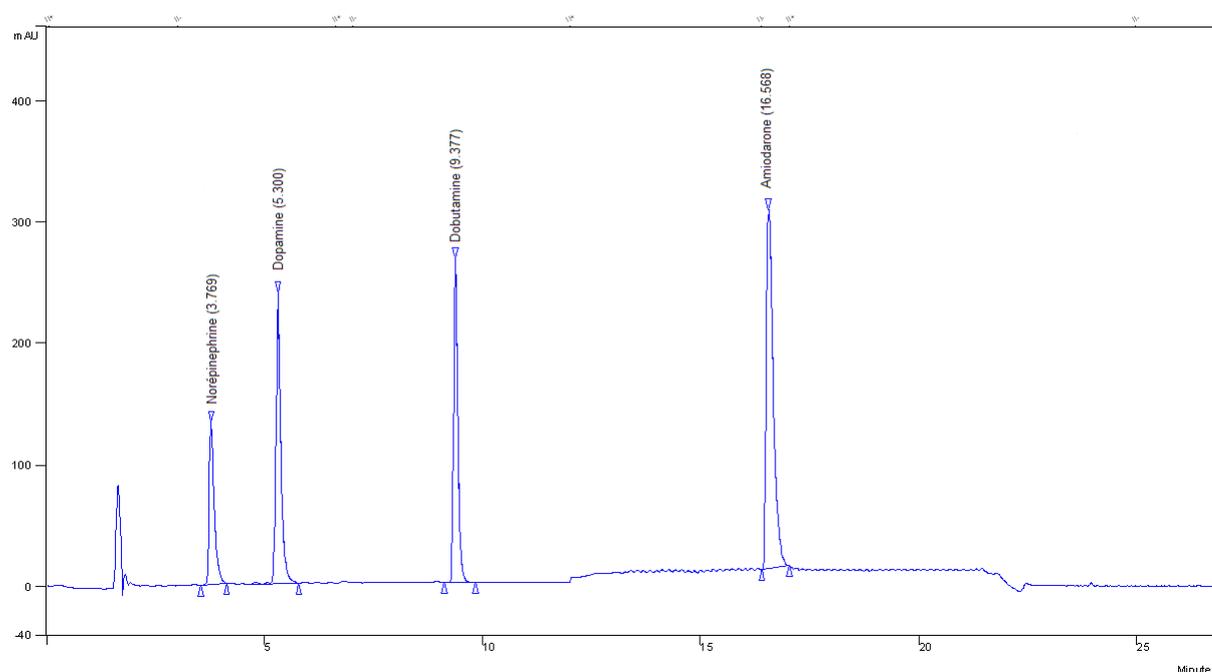


Figure 1 : Chromatogramme obtenu avec la méthode développée pour l'AM, DA, DU, NE

Les paramètres chromatographiques du chromatogramme de la figure 1, calculés selon la Pharmacopée Européenne 4 (cf. annexe 1) sont présentés dans le tableau n°6 suivant :

Tableau 6 : Paramètres chromatographiques du chromatogramme de la figure 1

Paramètres chromatographiques	NE	DA	DU	AM
k	3.77	5.71	10.87	19.97
As	1.00	1.00	1.00	1.00
N	6786.50	13301.54	40973.84	31579.39
Rs	/	8.26	21.83	25.57
α	/	1.51	1.90	1.84

Les facteurs de rétention k sont tous supérieurs à 1. Ce paramètre indique si un composé est bien retenu ou non par la colonne. Idéalement, il doit se trouver entre 1 et 10. Ici, les k de la NE et de la DA se trouvent dans ces marges, mais ceux de la DU et de l'AM y sont supérieurs ; ces deux derniers PA sont donc « trop retenus » par la colonne. Durant l'optimisation de la méthode, le temps de rétention des composés a pu être diminué, mais la conséquence en a été une augmentation du signal au niveau de la ligne de base car le gradient effectué était trop rapide, rendant l'intégration des pics difficile. C'est pourquoi nous avons finalement conservé ces paramètres.

Une valeur d'asymétrie de 1.0 indique une symétrie totale (As doit être compris entre 0.8 et 1.5). Ce facteur permet de déterminer si un pic est asymétrique. Avec notre méthode, tous les pics obtenus sont symétriques.

Les nombres de plateaux théoriques sont tous acceptables (un N de 10'000 est considéré comme bon). Le paramètre N indique l'efficacité de la colonne, plus N est haut, plus la colonne est efficace.

La résolution est supérieure à 1.5 pour tous les couples (une résolution supérieure à 1.5 correspond à une séparation entre 2 pics jusqu'à la ligne de base).

La sélectivité est également correcte car supérieure à 1^{xvi}. Ce paramètre caractérise la distance séparant les sommets de 2 pics consécutifs^{xvii}. On peut donc dire qu'une séparation complète est obtenue pour les 4 pics chromatographiques.

3.2.2. *Mise au point de la méthode de dosage pour le nitroprussiate de sodium*

Cette méthode a été développée selon la monographie du nitroprussiate de sodium pour injection, proposée dans la Pharmacopée Américaine (USP 26).

Cette méthode de dosage nécessite encore d'être optimisée, mais selon la figure n°2, il est déjà possible de constater que ce PA possède un temps de rétention supérieur au temps mort de la colonne et qu'au premier abord, il est bien séparé des autres PA.

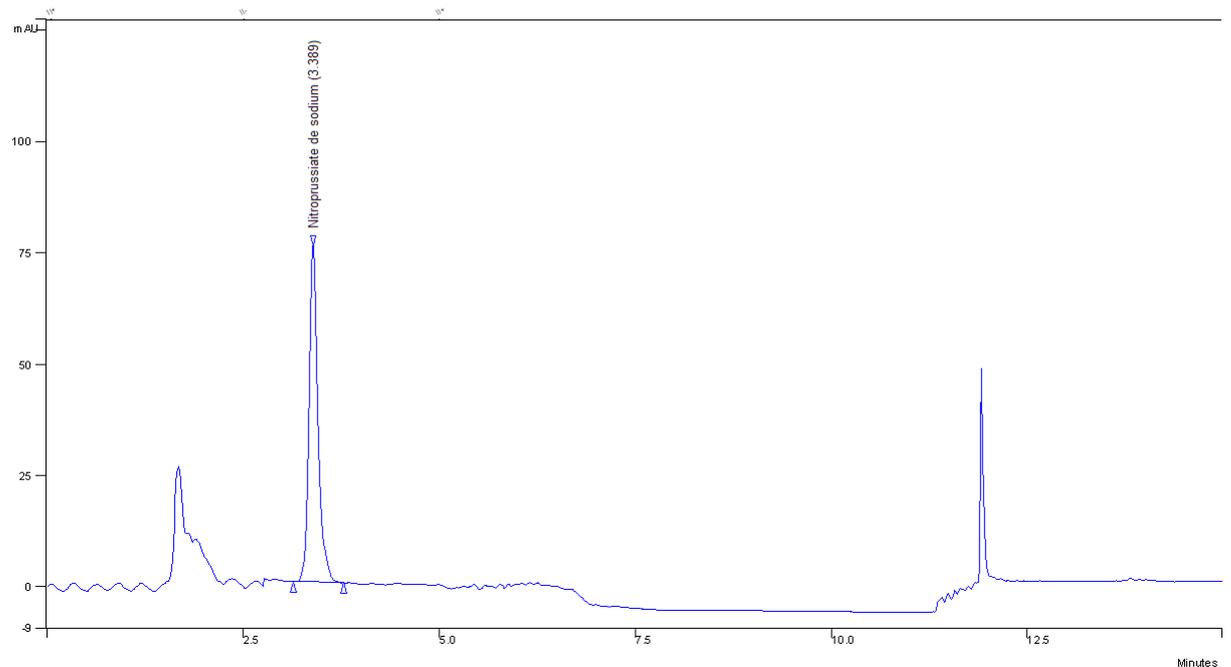


Figure 2 : Chromatogramme de la méthode développée pour le Nipruss®

Les méthodes de dosages par chromatographie liquide issues de la Pharmacopée (Européenne ou USP) sont donc relativement bien adaptées au but de notre étude.

3.2.3. Etude de spécificité

Le chromatogramme comprenant la superposition des mélanges STD, RDF et des excipients est présenté dans la figure 3 ci-dessous.

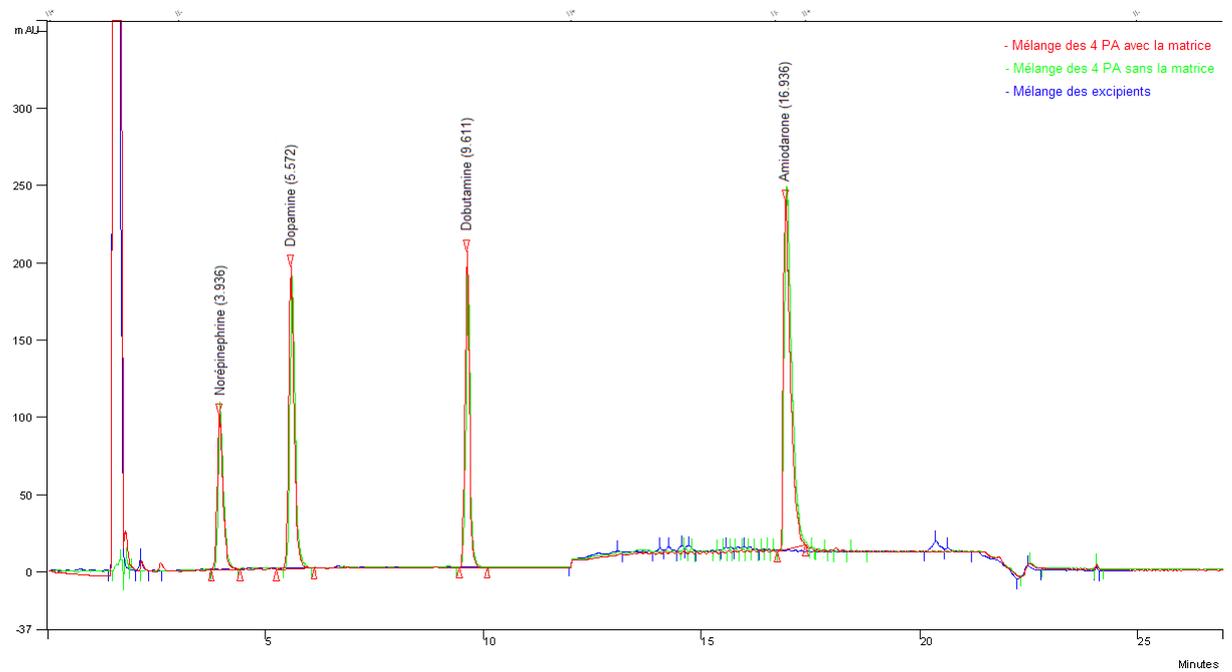


Figure 3 : Superposition des chromatogrammes des mélanges STD, RDF et des excipients

L'inspection visuelle des chromatogrammes de chaque injection, pris séparément puis superposés, a démontré qu'aucun excipient n'interfère avec les 4 pics principaux.

3.2.5. Validation de la méthode de dosage

Le chromatogramme d'un mélange RDF superposé à celui d'un STD, pour le même jour de validation et à la même concentration (0.12 mg/ml), est présenté dans la figure n°5. Le tableau n°7 indique la concentration maximale d'excipients rencontrée dans la matrice.

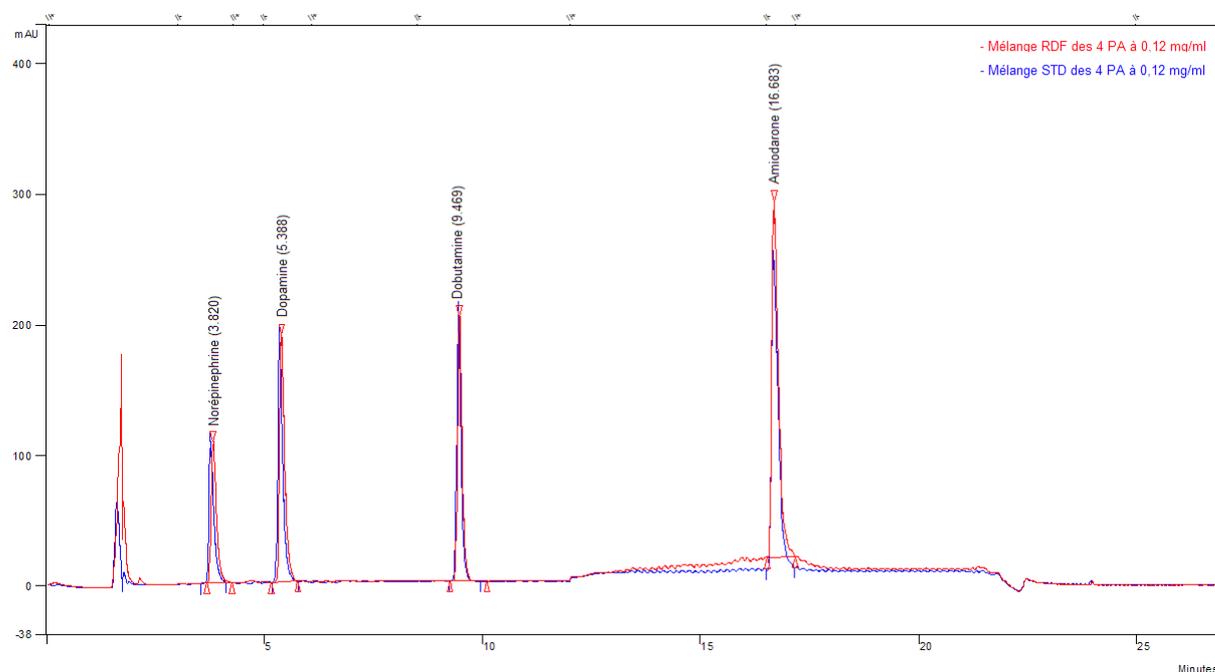


Figure 5 : Chromatogramme d'un mélange RDF et STD

L'observation visuelle de la figure 5 montre que les pics ont les mêmes temps de rétention, que le mélange soit effectué avec ou sans matrice.

Le détail des tests statistiques se trouve en annexe 6.

Le récapitulatif des tests statistiques pour la validation de la méthode pour la NE permet de constater que tous les tests statistiques sont positifs (linéarité, comparaison des droites, fidélité et exactitude). Le recouvrement est également correct car proche de 100%, qui est la valeur cible (0.1 mg/ml). Par contre, une anomalie au niveau du tableau « comparaison des variances de fidélité et d'exactitude » est remarquée. Cette anomalie signifie que le domaine entre 80 et 120% n'est pas totalement valide. En effet, en se référant au tableau « précision », il est constaté que le coefficient de variation de répétabilité (1.132%) correspond à la variabilité du 80 et du 120% et le coefficient de variation de répétabilité de fidélité intermédiaire (6.427%) à celle du 100%. Donc pratiquement, plus on s'éloigne de la valeur cible, plus l'erreur relative diminuera. Suivant les limites d'acceptation de la méthode qui sont fixées, le dosage des PA pourrait être effectué avec cette anomalie. Cependant, pour une étude de compatibilité, un mélange est considéré comme stable s'il subit une perte de moins de 10% en 24 h^{xviii}. Ainsi, une erreur de 6.427% est beaucoup trop grande pour pouvoir obtenir des résultats précis. Il y a un effet jour significatif. Cet effet jour peut venir de la méthode, d'une des solutions d'un des jours qui est aberrante, d'une erreur de manipulation, etc... Les CVr et CVR maximum tolérés pour cette méthode sont fixés respectivement à 2 et 5%. Le CVr de la NE est acceptable car il ne dépasse pas les 2%.

Récapitulatif des tests statistiques pour la validation de la méthode pour la NE

Linéarité

	RDF	STD	Théorie au risque de 5%
Pentes des droites d'ajustement	908415.237	902414.188	
Ordonnées à l'origine des droites d'ajustement	93006.056	53726.050	
Coefficients de corrélation cr	0.959	0.992	
Comparaison des ordonnées à l'origine avec 0 (test t)	0.090 Test +	0.121 Test +	t (0.05;7) = 2.365
Homogénéité des variances (Cochran)	0.305 Test +	0.659 Test +	C (0.05;5;2) = 0.683
Existence des pentes (test de Fisher, F1)	79.320 Test +	428.597 Test +	F (0.05;1;13) = 4.67
Validité des ajustements (test de Fisher, F2)	0.095 Test +	0.000 Test +	F (0.05;3;10) = 3.71

Fidélité

Test de Cochran démontrant que S₂ est équivalent pour les 3 jours

	t calculé	Théorie au risque 5%
Homogénéité des variances (Cochran)	0.506 Test +	C (0.05;3;4) = 0.746

Comparaison des variances de fidélité et d'exactitude

Test de Fisher démontrant que S_{2R} et S_{2E} sont cohérentes

	DDL	Variance	F3
Fidélité (S _{2R})	12	44.463	7.120
Exactitude (S _{2E})	6	6.245	
F (0.05;12;6)	4.000		Anomalie
F (0.95;12;6)	0.250		OK

Comparaison des droites

Test de t pour démontrer l'égalité entre les régressions linéaires RDF et STD

	t calculé	Théorie au risque 5%
Comparaison des ordonnées à l'origine	0.035 Test +	t (0.05;14) = 2.145
Comparaison des pentes	0.054 Test +	t (0.05;14) = 2.145

Exactitude

Test de Cochran démontrant que S₂ est équivalent pour les 3 C

Test de Fisher (F3) comparant les erreurs intra- et inter-groupes

	Etalon à 100%	Régression	Théorie au risque 5%
Homogénéité des variances (Cochran)	0.454 Test +	0.628 Test +	C (0.05;3;2) = 0.871
Validité des moyennes (test Fisher, F3)	0.258 Test +	0.263 Test +	F (0.05;2;6) = 5.143

Recouvrement

Exactitude de recouvrement

Etalon 100%	101.089%
Régression	100.447%
Point Central	102.979%

Précision

	CV
Coefficient de variation de répétabilité	1.132%
Coefficient de variation de répétabilité de fidélité intermédiaire	6.427%

Effet jour significatif

Récapitulatif des tests statistiques pour la validation de la méthode pour la DA

Linéarité

	RDF	STD	Théorie au risque de 5%
Pentes des droites d'ajustement	1611603.302	1656017.274	
Ordonnées à l'origine des droites d'ajustement	118119.001	-143321.711	
Coefficients de corrélation cr	0.997	0.993	
Comparaison des ordonnées à l'origine avec 0 (test t)	0.256 Test +	0.197 Test +	t (0.05;7) = 2.365
Homogénéité des variances (Cochran)	0.377 Test +	0.402 Test +	C (0.05;5;2) = 0.683
Existence des pentes (test de Fisher, F1)	1259.094 Test +	530.881 Test +	F (0.05;1;13) = 4.67
Validité des ajustements (test de Fisher, F2)	1.726 Test +	0.072 Test +	F (0.05;3;10) = 3.71

Fidélité

Test de Cochran démontrant que S₂ est équivalent pour les 3 jours

	t calculé	Théorie au risque 5%
Homogénéité des variances (Cochran)	0.506 Test +	C (0.05;3;4) = 0.746

Comparaison des variances de fidélité et d'exactitude

Test de Fisher démontrant que S_{2R} et S_{2E} sont cohérentes

	DDL	Variance	F3
Fidélité (S _{2R})	12	44.463	2.651
Exactitude (S _{2E})	6	6.245	
F (0.05;12;6)	4.000		OK
F (0.95;12;6)	0.250		OK

Comparaison des droites

Test de t pour démontrer l'égalité entre les régressions linéaires RDF et STD

	t calculé	Théorie au risque 5%
Comparaison des ordonnées à l'origine	0.303 Test +	t (0.05;14) = 2.145
Comparaison des pentes	0.522 Test +	t (0.05;14) = 2.145

Exactitude

Test de Cochran démontrant que S₂ est équivalent pour les 3 C
Test de Fisher (F₃) comparant les erreurs intra- et inter-groupes

	Etalon à 100%	Régression	Théorie au risque 5%
Homogénéité des variances (Cochran)	0.498 Test +	0.419 Test +	C (0.05;3;2) = 0.871
Validité des moyennes (test Fisher, F ₃)	0.598 Test +	1.169 Test +	F (0.05;2;6) = 5.143

Recouvrement

Exactitude de recouvrement

Etalon 100%	99.207%
Régression	99.124%
Point Central	100.787%

Précision

	CV
Coefficient de variation de répétabilité	1.279%
Coefficient de variation de répétabilité de fidélité intermédiaire	2.477%

Effet jour non significatif

Récapitulatif des tests statistiques pour la validation de la méthode pour la DU

Linéarité

	RDF	STD	Théorie au risque de 5%
Pentes des droites d'ajustement	1401294.346	1434219.221	
Ordonnées à l'origine des droites d'ajustement	31779.712	-179457.313	
Coefficients de corrélation cr	0.994	0.995	
Comparaison des ordonnées à l'origine avec 0 (test t)	0.052 Test +	0.336 Test +	t (0.05;7) = 2.365
Homogénéité des variances (Cochran)	0.217 Test +	0.408 Test +	C (0.05;5;2) = 0.683
Existence des pentes (test de Fisher, F1)	534.520 Test +	743.752 Test +	F (0.05;1;13) = 4.67
Validité des ajustements (test de Fisher, F2)	0.372 Test +	0.022 Test +	F (0.05;3;10) = 3.71

Fidélité

Test de Cochran démontrant que S₂ est équivalent pour les 3 jours

	t calculé	Théorie au risque 5%
Homogénéité des variances (Cochran)	0.508 Test +	C (0.05;3;4) = 0.746

Comparaison des variances de fidélité et d'exactitude

Test de Fisher démontrant que S_{2R} et S_{2E} sont cohérentes

	DDL	Variance	F3
Fidélité (S _{2R})	12	7.887	9.4688
Exactitude (S _{2E})	6	0.833	
F (0.05;12;6)	4.000		Anomalie
F (0.95;12;6)	0.250		OK

Comparaison des droites

Test de t pour démontrer l'égalité entre les régressions linéaires RDF et STD

	t calculé	Théorie au risque 5%
Comparaison des ordonnées à l'origine	0.259 Test +	t (0.05;14) = 2.145
Comparaison des pentes	0.410 Test +	t (0.05;14) = 2.145

Exactitude

Test de Cochran démontrant que S₂ est équivalent pour les 3 C

Test de Fisher (F₃) comparant les erreurs intra- et inter-groupes

	Etalon à 100%	Régression	Théorie au risque 5%
Homogénéité des variances (Cochran)	0.590 Test +	0.400 Test +	C (0.05;3;2) = 0.871
Validité des moyennes (test Fisher, F ₃)	1.095 Test +	0.432 Test +	F (0.05;2;6) = 5.143

Recouvrement

Exactitude de recouvrement

Etalon 100%	99.300%
Régression	99.044%
Point Central	100.356%

Précision

	CV
Coefficient de variation de répétabilité	1.256%
Coefficient de variation de répétabilité de fidélité intermédiaire	2.789%

Effet jour non significatif

Récapitulatif des tests statistiques pour la validation de la méthode pour l'AM

Linéarité

	RDF	STD	Théorie au risque de 5%
Pentes des droites d'ajustement	3003370.536	2761078.982	
Ordonnées à l'origine des droites d'ajustement	-1633647.30	-1609701.723	
Coefficients de corrélation cr	0.980	0.996	
Comparaison des ordonnées à l'origine avec 0 (test t)	0.693 Test +	1.731 Test +	t (0.05;7) = 2.365
Homogénéité des variances (Cochran)	0.321 Test +	0.746 Test +	C (0.05;5;2) = 0.683
Existence des pentes (test de Fisher, F1)	166.999 Test +	906.631 Test +	F (0.05;1;13) = 4.67
Validité des ajustements (test de Fisher, F2)	0.009 Test +	0.301 Test +	F (0.05;3;10) = 3.71

Fidélité

Test de Cochran démontrant que S₂ est équivalent pour les 3 jours

	t calculé	Théorie au risque 5%
Homogénéité des variances (Cochran)	0.601 Test +	C (0.05;3;4) = 0.746

Comparaison des variances de fidélité et d'exactitude

Test de Fisher démontrant que S_{2R} et S_{2E} sont cohérentes

	DDL	Variance	F3
Fidélité (S _{2R})	12	1.870	0.084
Exactitude (S _{2E})	6	22.330	
F (0.05;12;6)	4.000		OK
F (0.95;12;6)	0.250		Anomalie

Comparaison des droites

Test de t pour démontrer l'égalité entre les régressions linéaires RDF et STD

	t calculé	Théorie au risque 5%
Comparaison des ordonnées à l'origine	0.009 Test +	t (0.05;14) = 2.145
Comparaison des pentes	0.970 Test +	t (0.05;14) = 2.145

Exactitude

Test de Cochran démontrant que S₂ est équivalent pour les 3 C
Test de Fisher (F3) comparant les erreurs intra- et inter-groupes

	Etalon à 100%	Régression	Théorie au risque 5%
Homogénéité des variances(Cochran)	0.413 Test +	0.491 Test +	C (0.05;3;2) = 0.871
Validité des moyennes (test Fisher, F3)	0.255 Test +	0.051 Test +	F (0.05;2;6) = 5.143

Recouvrement

Exactitude de recouvrement

Etalon 100%	108.562%
Régression	108.281%
Point Central	108.656%

Précision

	CV
Coefficient de variation de répétabilité	1.035%
Coefficient de variation de répétabilité de fidélité intermédiaire	1.257%

Effet jour non significatif

Les résultats des tests statistiques pour la validation de la méthode pour la DA montrent que tous les tests statistiques sont positifs (linéarité, comparaison des droites, fidélité, exactitude, recouvrement et comparaison des variances de fidélité et d'exactitude).

Pour la DU, tous les tests statistiques sont positifs, sauf la même anomalie constatée avec la NE. Cependant, le CVR est nettement moins élevé (2.789).

Pour l'AM, tous les tests sont aussi positifs sauf pour l'anomalie du tableau « comparaison des variances de fidélité et d'exactitude » où, cette fois-ci, l'anomalie signifie le domaine entre 80 à 120% n'est pas totalement valide. Il y a plus de variation à 80 et 120% qu'à 100%.

Pratiquement, plus on s'éloignera de la valeur cible, plus il y aura d'erreur. Donc il n'est pas conseillé de poursuivre le dosage de l'AM avec cette méthode. Le recouvrement de la méthode indique une valeur bien supérieure à 100% (108.562%) ; cette valeur est la seule qui nous permette d'affirmer que la méthode est influencée par un effet de matrice. Cet effet est tellement important que tous les tests statistiques sont devenus positifs. Il est à remarquer encore que tous les recouvrements des autres PA sont dans les normes donc sans l'AM, il n'aurait pas été possible de le détecter.

Tableau 7 : Concentration des excipients retrouvée dans les solutions injectées

Excipients	C réelle d'excipients dans le mélange. de PA à 0.08 mg/ml	C réelle d'excipients dans le mélange. de PA à 0.10 mg/ml	C réelle d'excipients dans le mélange. de PA à 0.12 mg/ml	C théorique d'excipients dans la solution à 0.1 mg/ml [mg/ml]1
N-acétyl-L-cystéine	0.001	0.02	0.02	0.02
Titriplex III	0.01	0.02	0.03	0.02
NaCl	0.69	1.47	2.16	1.33
Ac ascorbique	0.09	0.18	0.27	0.17
Tween 80	2.17	4.59	6.76	4.17
Alcool benzylique	0.43	0.92	1.35	0.83
Métabisulfite de sodium	0.03	0.06	0.08	0.05

Selon ce tableau, on peut remarquer que le fait d'avoir mis les excipients directement dans la solution mère des catécholamines et de l'amiodarone entraîne une grande variation de leur concentration au niveau des solutions à injecter. Par cette validation de méthode, il n'est pas possible de déterminer si cette différence de concentration influence aussi les résultats de validation.

Cette méthode devra donc être revalidée en diluant les standards de calibration dans la matrice et en s'assurant que les solutions à 80, 100 et 120% aient la même concentration en excipients.

Un des problèmes de cette méthode est qu'il faut réintégrer manuellement tous les pics de l'AM car la ligne de base des chromatogrammes forme des « vaguelettes ». L'autre désavantage de cette méthode de dosage est la durée de l'analyse (30 min), qui est particulièrement longue. Il faut encore noter que l'étude de la robustesse de la méthode n'a pas pu être réalisée par manque de temps.

3.2.6 Etude de stabilité

Un exemple de la superposition de deux chromatogrammes, obtenus à partir de la même solution à t0 et t24h, est présenté dans la figure n°6. Le pourcentage relatif et absolu des RDF et des STD figure dans les tableaux n° et . respectivement.

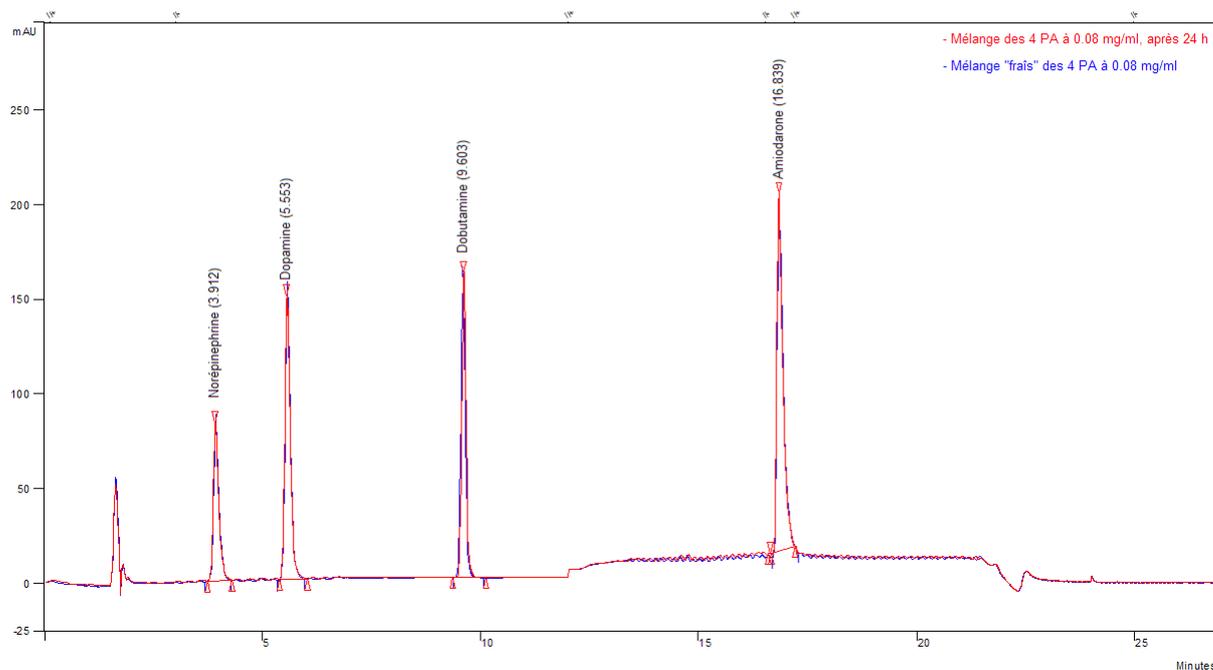


Figure 6 : Superposition de deux chromatogrammes obtenus à partir de la même solution à t0 et t24h

Sur la figure 6, aucun produit de dégradation n'est constaté après 24 heures ; ceci s'est avéré vérifié également pour toutes les autres solutions STD et RDF à toutes les concentrations injectées (0.08, 0.10 et 0.12 mg/ml).

Tableau : Pourcentage relatif et absolu des RDF

PA	C théoriques des SF "fraîches" à partir de la masse pesée [mg/ml]	Pourcentage relatif de chaque PA pour les sol. "fraîches"	Pourcentage relatif pour les sol. après 24 heures à t° ambiante par rapport aux sol. "fraîches"	Pourcentage absolu pour les sol. à t° ambiante après 24 heures par rapport aux sol. "fraîches"
NE	0.08	13.74	13.60	98.95
DA	0.08	24.76	24.92	100.66
DU	0.08	21.24	21.33	100.40
AM	0.08	40.25	43.10	107.08
Somme		100.00	102.95	/
NE	0.10	13.49	13.58	100.70
DA	0.10	24.60	24.46	99.41
DU	0.10	21.05	21.16	100.55
AM	0.10	40.86	42.89	104.96
Somme		100.00	102.09	/
NE	0.12	13.45	13.40	99.61
DA	0.12	24.30	24.09	99.13
DU	0.12	20.84	20.85	100.02
AM	0.12	41.40	43.11	104.12
Somme		100.00	101.45	/

Les résultats obtenus montrent que la somme des pourcentages relatifs dépasse les 100% après 24 heures, ce qui est contradictoire vu qu'une solution a plutôt tendance à se dégrader avec le temps. L'explication la plus probable est que l'effet matrice de la Cordarone®, constaté lors de la validation, fausse là aussi les résultats. On constate que les trois amines ont un pourcentage absolu proche des 100%, signifiant que ces produits restent stables durant 24 heures. Quant à celui de l'AM, il est proche des 104 à 107%. On peut constater la même anomalie rencontrée lors de la validation de l'AM.

Nous avons considéré une solution comme stable si la variation de son pourcentage absolu ne dépasse pas 2%.

Tableau : Pourcentage relatif et absolu des STD

PA	C théoriques des SF "fraîches" à partir de la masse pesée [mg/ml]	Pourcentage relatif de chaque PA pour les sol. "fraîches"	Pourcentage relatif pour les sol. après 24 heures à t° ambiante par rapport aux sol. "fraîches"	Pourcentage absolu pour les sol. à t° ambiante après 24 heures par rapport aux sol. "fraîches"
NE	0.08	13.78	13.91	100.99
DA	0.08	25.09	24.95	99.43
DU	0.08	21.45	21.43	99.92
AM	0.08	39.68	38.16	96.16
Somme	/	100.00	98.45	/
NE	0.10	13.88	13.79	99.39
DA	0.10	25.08	25.15	100.25
DU	0.10	21.50	21.45	99.76
AM	0.10	39.54	38.13	96.43
Somme	/	100.00	98.52	/
NE	0.12	13.79	13.83	100.30
DA	0.12	24.95	25.10	100.60
DU	0.12	21.43	21.52	100.41
AM	0.12	39.82	39.58	99.39
Somme	/	100.00	100.03	/

Pour les STD, les trois catécholamines montrent une variation inférieure à 2% en 24 heures ; le métabisulfite de sodium semble donc suffisant pour les protéger de la dégradation pendant toute la durée de l'analyse, pour les trois concentrations injectées (0.08, 0.10 et 0.12 mg/ml). En ce qui concerne l'AM, la variation dépasse les 2% pour les solutions à 0.08 et 0.10 mg/ml mais pas pour celle de 0.12 mg/ml. L'amiodarone n'est donc pas complètement stable pour toute la durée de l'analyse, surtout aux concentrations les plus faibles. Il faudrait alors rechercher s'il y a moyen de la stabiliser plus longtemps (protection de la lumière, ...).

4. CONCLUSION

La première partie de ce travail a été d'étudier la compatibilité physique de différents mélanges administrés en routine aux soins intensifs du CHUV. Les spécialités testées étaient la Cordarone®, la Dopamin Fresenius, la Dobutamin Liquid Fresenius®, la Noradrénaline Sintetica et le Nipruss® (avec et sans thiosulfate de sodium). L'étude de compatibilité portait sur des mélanges à 2 et à 3 médicaments. Les résultats des tests visuels ont montré que tous les mélanges à 2 et 3 médicaments contenant du Nipruss® étaient incompatibles (sauf la combinaison NE-Nipruss®). Donc le Nipruss® ne devrait plus être administré sur la voie des amines. De plus, la solution reconstituée du Nipruss® ne devrait pas être préparée en présence de thiosulfate de sodium dans la même seringue car ce dernier réagit déjà avec le Nipruss® en 15 minutes.

Ces tests visuels sont utiles pour obtenir une première approximation de la compatibilité de deux ou plusieurs médicaments administrés sur la même voie veineuse. Cependant, l'inspection visuelle n'est pas toujours aisée car les changements de coloration ou les troubles sont parfois tellement minimes qu'il serait plus facile de doser ces mélanges par colorimétrie ou turbidimétrie.

La seconde partie a consisté au développement de deux méthodes de dosage, l'une pour le nitroprussiate de sodium, l'autre pour la NA, DA, DU et AM. La première n'a pas été validée par manque de temps. La validation de la seconde méthode a passé par plusieurs étapes :

étude de spécificité pour les quatre formes médicamenteuses, étude de dégradation accélérée, validation à proprement parler et étude de stabilité sur 24 heures pour les mélanges injectés. Les résultats des études de spécificité et de dégradation accélérée ont montré que ni les excipients, ni les produits de dégradation des PA n'interfèrent avec les quatre pics principaux. L'étude de stabilité a indiqué que les catécholamines sont stables durant toute la période de l'analyse contrairement à l'amiodarone. Durant la validation de la méthode, un effet de matrice dû au solvant de la Cordarone® a été constaté, ainsi cette méthode devra être revalidée en diluant les standards de calibration dans une matrice semblable à celle de la Cordarone® et non dans le tampon.

Lorsque ces méthodes seront complètement développées et validées, il sera possible, ultérieurement, de doser chacune de ces substances dans des mélanges. Cela permettra de vérifier l'absence d'une incompatibilité chimique imperceptible dans les mélanges visuellement et physiquement compatibles et d'affiner ainsi les résultats des tests de compatibilité physique obtenus dans la première partie de ce travail. On pourra ainsi déterminer si l'administration simultanée de ces produits est possible ou non dans la pratique courante des soins intensifs.

5. REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier M. André Pannatier pour m'avoir permis d'effectuer ce travail de diplôme au sein de la pharmacie du CHUV, Mme Lina Berger et Mme Valia Humbert-Delaloye de m'avoir guidée et soutenue tout le long de ce travail. Je remercie également Mme Yasmina Hannachi et M. Christophe Ferrari pour leur aide technique au sein du laboratoire, M. Serge Rudaz pour tous mes problèmes de statistique et Messieurs Pierre Voirol, Ermindo Di Paolo, Jean-Christophe Devaud avec Mme Catherine Suard qui m'ont soutenue et qui ont également répondu à mes questions. En somme, je remercie toutes ces personnes de m'avoir consacré du temps.

6. BIBLIOGRAPHIE

7. TABLE DES ANNEXES

7. TABLE DES ANNEXES	6
ANNEXE 1 :RESULTATS DES TESTS D'INCOMPATIBILITE PHYSIQUE	7
1. <i>Tests d'incompatibilité 2 à 2</i>	7
2. <i>Tests d'incompatibilités 3 à 3</i>	9
ANNEXE 2 : EQUATIONS DES PARAMETRES CHROMATOGRAPHIQUES K, α , AS, RS, N	11
ANNEXE 3 : COMPOSITION DES FORMES PHARMACEUTIQUES	12
1. <i>Cordarone®</i>	12
2. <i>Dopamin Fresenius®</i>	12
3. <i>Dobutamin Liquid Fresenius®</i>	12
4. <i>Noradrénaline Sintetica®</i>	12
4. <i>Nipruss®</i>	12
ANNEXE 4 : PREPARATION DES SOLUTIONS POUR LA VALIDATION DE LA METHODE DE DOSAGE	13
1. <i>Solutions pour les STD</i>	13
2. <i>Solutions pour les RDF</i>	13
ANNEXE 5 : STATISTIQUES DES PARAMETRES DE PURETE	16
1. <i>Amiodarone</i>	16
2. <i>Dopamine</i>	16
3. <i>Dobutamine</i>	16
4. <i>Norépinéphrine</i>	16
ANNEXE 6 : STATISTIQUES	2
1. <i>NE</i>	2
2. <i>DA</i>	3
3. <i>DU</i>	3
4. <i>AM</i>	3

ANNEXE 1 : RÉSULTATS DES TESTS D'INCOMPATIBILITÉ PHYSIQUE

1. Tests d'incompatibilité 2 à 2

Tableau 1 : Tests 2 à 2 incompatibles

Incompatibilités	Concentration	Temps	Description	Description après 24 h
Dopamine-Nipruss	1 :1	24 h	Coloration orange clair	/
Dopamine-Nipruss	1 :4	24 h	Coloration orange foncé	/
Dopamine-Nipruss	1 :1 (sans agiter)	24 h	Coloration orange clair	/
Dobutamine-Nipruss	1 :1	24-25 h	Coloration bleu-vert Remarque : après 41 h, coloration violette Remarque : dans le sens Nipruss-Dopamine, il n'y a aucune coloration suspecte dans les 24 h, mais apparaît bleue dans les 41 h	/
Dobutamine-Nipruss	1 :4	24 h	Coloration rose/orange foncé	/
Dobutamine-Nipruss	1 :1 (sans agiter)	24 h	Coloration bleu-vert Remarque : après 41 h, coloration violet Remarque : dans le sens Nipruss-Dopamine, il n'y a aucune coloration suspecte dans les 24 h, mais apparaît bleue dans les 41 h	/
Noradrénaline-Nipruss sodium thiosulfate +	1 :1	4 h	Coloration légèrement bleu-vert Remarque : difficile à dire si jaune ou bleu-jaune	Coloration bleu clair
Noradrénaline-Nipruss sodium thiosulfate +	4 :1	24 h	Coloration bleue	/
Noradrénaline-Nipruss sodium thiosulfate +	1 :4	4 h	Coloration légèrement bleu-vert Remarque : difficile à dire si jaune ou bleu-jaune	Coloration bleu foncé
Noradrénaline-Nipruss sodium thiosulfate +	1 :1 (sans agiter)	4 h	Coloration légèrement bleu-vert Remarque : difficile à dire si jaune ou bleu-jaune	Coloration bleu clair
Cordarone-Nipruss sodium thiosulfate +	1:1	0 min	Légèrement opaque	Idem
Cordarone-Nipruss sodium thiosulfate +	1:4	0 min	Opaque	Opaque bleu avec précipité ; cependant, pour le Nipruss + sodium thiosulfate-Cordarone (1 :4), il a fallu attendre environ 27 h pour qu'il passe du jaune opaque avec précipité blanc au bleu opaque.
Cordarone-Nipruss sodium thiosulfate +	1:1 (sans agiter)	0 min	Légèrement opaque	Idem
Dobutamine-Nipruss sodium thiosulfate +	1 :1	0-15 min	Légèrement opaque	Idem + précipités blancs
Dobutamine-Nipruss sodium thiosulfate +	4 :1	60 min	Légèrement opaque	Idem + précipités blancs
Dobutamine-Nipruss sodium thiosulfate +	1 :4	0-15 min	Légèrement opaque	Idem + précipités blancs
Dobutamine-	1 :1 (sans	0-15	Légèrement opaque	Idem + précipités blancs

Nipruss sodium thiosulfate	+	agiter)	min		
Dopamine-Nipruss sodium thiosulfate	+	1 :1	30 min	Légèrement opaque Remarque : difficile à dire si légèrement opaque ou non	Légèrement opaque Remarque : pour Nipruss + sodium thiosulfate-Dopamine, coloration rose clair Remarque : après 43 h, coloration rose
Dopamine-Nipruss sodium thiosulfate	+	4 :1	60 min	Légèrement opaque Remarque : difficile à dire si légèrement opaque ou non	Légèrement opaque Remarque : difficile à dire si légèrement opaque ou non
Dopamine-Nipruss sodium thiosulfate	+	1 :4	30 min	Légèrement opaque Remarque : difficile à dire si légèrement opaque ou non	Coloration rose
Dopamine-Nipruss sodium thiosulfate	+	1 :1 (sans agiter)	30 min	Légèrement opaque Remarque : difficile à dire si légèrement opaque ou non	Coloration rose dessus et normal en dessous Remarque : pour Nipruss + sodium thiosulfate-Dopamine, coloration rose clair et après 26 h, il y a la même « ségrégation » Remarque : après 43 h, coloration rose
Nipruss (0.3 mg/ml)-Cordarone		4:1	17 h	Légèrement opaque	Opaque
Nipruss (0.6 mg/ml)-Cordarone		1 :1	24 h	Légèrement jaune	/
Nipruss (0.6 mg/ml)-Cordarone		4:1	0 min	Trouble	Opaque
Nipruss (1.2 mg/ml)-Cordarone		1:1	6 h	Légèrement opaque	Opaque
Nipruss (1.2 mg/ml)-Cordarone		4:1	0 min	Opalescent	Blanc

Tableau 2 : Résultats des mélanges compatibles 2 à 2

Mélanges compatibles	Concentration
Dopamine-Noradrénaline	1:1
Dopamine-Noradrénaline	4 :1
Dopamine-Noradrénaline	1 :4
Dopamine-Noradrénaline	1 :1 (sans agiter)
Cordarone-Dopamine	1:1
Cordarone-Dopamine	4 :1
Cordarone-Dopamine	1 :4
Cordarone-Dopamine	1 :1 (sans agiter)
Dobutamine-Noradrénaline	1:1
Dobutamine-Noradrénaline	4 :1
Dobutamine-Noradrénaline	1 :4
Dobutamine-Noradrénaline	1 :1 (sans agiter)
Dobutamine-Cordarone	1:1
Dobutamine-Cordarone	4 :1
Dobutamine-Cordarone	1 :4
Dobutamine-Cordarone	1 :1 (sans agiter)
Noradrénaline-Cordarone	1:1
Noradrénaline-Cordarone	4 :1
Noradrénaline-Cordarone	1 :4
Noradrénaline-Cordarone	1 :1 (sans agiter)
Noradrénaline-Nipruss	1:1
Noradrénaline-Nipruss	4 :1
Noradrénaline-Nipruss	1 :4
Noradrénaline-Nipruss	1 :1 (sans agiter)
Dopamine-Nipruss	4:1
Dobutamine-Nipruss	4 :1
Dobutamine-dopamine	1:1

Dobutamine-dopamine	4 :1
Dobutamine-dopamine	1 :4
Dobutamine-dopamine	1 :1 (sans agiter)
Nipruss (0.3 mg/ml)-Cordarone	1:1
Nipruss (0.3 mg/ml)-Cordarone	1:4
Nipruss (0.3 mg/ml)-Cordarone	1:1 sans agiter
Nipruss (0.6 mg/ml)-Cordarone	1:4
Nipruss (0.6 mg/ml)-Cordarone	1:1 sans agiter
Nipruss (1.2 mg/ml)-Cordarone	1:4

2. Tests d'incompatibilités 3 à 3

Tableau 1 : Tests incompatibles 3 à 3

Incompatibilités	Concentration	Au temps	Description	Description après 24 heures
Cordarone-Dopamine-Nipruss	1 :1 :4	0 min	Opaque	Brun opaque + précipité
Cordarone-Dopamine-Nipruss	1 :4 :4	0-15 min	Légèrement opaque	Opaque
Cordarone-Noradrénaline-Nipruss	1 :1 :4	0 min	Opaque	Opaque
Cordarone-Noradrénaline-Nipruss	1 :4 :4	0 min	Légèrement opaque/opaque	Opaque
Cordarone-Dobutamine-Nipruss	1 :1 :1	24 h	Légèrement opaque	/
Cordarone-Dobutamine-Nipruss	1 :1 :4	0 min	Opaque	Opaque + un précipité blanc-vert + coloration rose en surface
Cordarone-Dobutamine-Nipruss	1 :4 :1	24 h	Légèrement opaque	/
Cordarone-Dobutamine-Nipruss	1 :4 :4	0 min	Opaque	Opaque +précipité blanc-vert
Cordarone-Dobutamine-Nipruss	4 :1 :4	24 h	Légèrement opaque	/
Cordarone-Dobutamine-Nipruss	1 :1 :1 (sans agiter)	24 h	Légèrement opaque	/

Tableau 2 : Tests compatibles

Mélanges compatibles	Concentration
Cordarone-Dopamine-Dobutamine	1 : 1 : 1
Cordarone-Dopamine-Dobutamine	1 : 1 : 4
Cordarone-Dopamine-Dobutamine	1 : 4 : 1
Cordarone-Dopamine-Dobutamine	4 : 1 : 1
Cordarone-Dopamine-Dobutamine	1 : 4 : 4
Cordarone-Dopamine-Dobutamine	4 : 1 : 4
Cordarone-Dopamine-Dobutamine	4 : 4 : 1
Cordarone-Dopamine-Dobutamine	1 : 1 : 1 (sans agiter)
Cordarone-Dobutamine-Noradrénaline	1 : 1 : 1
Cordarone-Dobutamine-Noradrénaline	1 : 1 : 4
Cordarone-Dobutamine-Noradrénaline	1 : 4 : 1
Cordarone-Dobutamine-Noradrénaline	4 : 1 : 1
Cordarone-Dobutamine-Noradrénaline	1 : 4 : 4
Cordarone-Dobutamine-Noradrénaline	4 : 1 : 4
Cordarone-Dobutamine-Noradrénaline	4 : 4 : 1
Cordarone-Dobutamine-Noradrénaline	1 : 1 : 1 (sans agiter)
Cordarone-Dopamine-Noradrénaline	1 : 1 : 1
Cordarone-Dopamine-Noradrénaline	1 : 1 : 4
Cordarone-Dopamine-Noradrénaline	1 : 4 : 1
Cordarone-Dopamine-Noradrénaline	4 : 1 : 1
Cordarone-Dopamine-Noradrénaline	1 : 4 : 4
Cordarone-Dopamine-Noradrénaline	4 : 1 : 4
Cordarone-Dopamine-Noradrénaline	4 : 4 : 1
Cordarone-Dopamine-Noradrénaline	1 : 1 : 1 (sans agiter)
Cordarone-Dopamine-Nipruss	1 : 1 : 1
Cordarone-Dopamine-Nipruss	1 : 4 : 1
Cordarone-Dopamine-Nipruss	4 : 1 : 1
Cordarone-Dopamine-Nipruss	4 : 1 : 4
Cordarone-Dopamine-Nipruss	4 : 4 : 1
Cordarone-Dopamine-Nipruss	1 : 1 : 1 (sans agiter)
Cordarone-Noradrénaline-Nipruss	1 : 1 : 1
Cordarone-Noradrénaline-Nipruss	1 : 4 : 1
Cordarone-Noradrénaline-Nipruss	4 : 1 : 1
Cordarone-Noradrénaline-Nipruss	4 : 1 : 4
Cordarone-Noradrénaline-Nipruss	4 : 4 : 1
Cordarone-Noradrénaline-Nipruss	1 : 1 : 1 (sans agiter)
Cordarone-Dobutamine-Nipruss	4 : 1 : 1
Cordarone-Dobutamine-Nipruss	4 : 4 : 1

ANNEXE 2 : EQUATIONS DES PARAMÈTRES CHROMATOGRAPHIQUES k , α , As , Rs , N

$$k = \frac{t_r - t_m}{t_m} \quad \text{Equation 1}$$

- où k : facteur de rétention (-)
 t_r : temps (ou volume) de rétention ou distance sur la ligne de base entre le point d'injection et la perpendiculaire abaissée du maximum du pic correspondant au composant considéré (cm)
 t_m : temps (ou volume) de rétention ou distance sur la ligne de base entre le point d'injection et la perpendiculaire abaissée du maximum du pic correspondant à un composant non retenu (cm)

$$\alpha = \frac{k_2}{k_1} [2] \quad \text{Equation 2}$$

- où α : sélectivité (-)
 k_1 : facteur de rétention du composé le plus retenu (-)
 k_2 : facteur de rétention du composé le plus rapidement élué (-)

$$As = \frac{\omega_{0.05}}{2 \cdot d} \quad \text{Equation 3}$$

- où As : facteur d'asymétrie (-)
 $\omega_{0.05}$: largeur du pic au vingtième de sa hauteur (cm)
 d : distance entre la perpendiculaire abaissée du maximum du pic et le bord d'entrée du pic au vingtième de sa hauteur

$$Rs = 1.18 \cdot \frac{(t_{r2} - t_{r1})}{\omega h_1 + \omega h_2} [2] \quad \text{Equation 4}$$

- où $t_{r2} > t_{r1}$
 Rs : résolution (-)
 t_{r1} et t_{r2} : temps de rétention ou distances sur la ligne de base entre le point d'injection et les perpendiculaires abaissées des maximums de deux pics adjacents (cm)
 ωh_1 et ωh_2 : largeur des pics à mi-hauteur (cm)

$$N = 5.54 \left(\frac{t_r}{\omega h} \right)^2 \quad \text{Equation 5}$$

- où N : nombre de plateaux théorique (-)
 t_r : temps (ou volume) de rétention ou distance sur la ligne de base entre le point d'injection et la perpendiculaire abaissée du maximum du pic correspondant au composant considéré (cm)
 ωh : largeur du pic à mi-hauteur (cm)

ANNEXE 3 : COMPOSITION DES FORMES PHARMACEUTIQUES

1. Cordarone®

	Composition	Concentration
Ampoule 3 ml	150 mg amiodarone chlorhydrate	50 mg/ml
	300 mg polysorbate 80	100 mg/ml
	60 mg alcool benzylique	20 mg/ml
	eau pour préparation injectable q.s.p. 3.0 ml	
Seringue 48 ml	600 mg amiodarone chlorhydrate	12.5 mg/ml
	1200 mg polysorbate 80	25 mg/ml
	240 mg alcool benzylique	5 mg/ml
	G5% q.s.p. 48 ml	

2. Dopamin Fresenius®

	Composition	Concentration
Fiole 50 ml	250 mg dopamine chlorhydrate	5 mg/ml
	375 mg chlorure de sodium	7.5 mg/ml
	5 mg N-acétyl-L-cystéine	0.1 mg/ml
	5 mg EDTA sodique 2 H ₂ O	0.1 mg/ml
	eau pour préparation injectable q.s.p. 50 ml	

3. Dobutamin Liquid Fresenius®

	Composition	Concentration
Fiole 50 ml	280 mg dobutamine chlorhydrate (250 mg DU)	5 mg/ml
	399.5 mg chlorure de sodium	7.99 mg/ml
	50.0 mg acide ascorbique (E300)	1 mg/ml
	eau pour préparation injectable q.s.p. 50 ml	

4. Noradrénaline Sintetica®

	Composition	Concentration
Ampoule 10 ml	20 mg noradrénaline tartrate (10 mg NA base)	1 mg/ml
	10 mg de métabisulfite de sodium (E223)	1 mg/ml
	80 mg de chlorure de sodium	8 mg/ml
	eau pour préparation injectable q.s.p. 10.0 ml	
Seringue 50 ml	30 mg noradrénaline tartrate (15 mg NA base)	0.6 mg/ml
	15 mg de métabisulfite de sodium (E223)	0.3 mg/ml
	120 mg de chlorure de sodium	2.4 mg/ml
	G5% q.s.p. 50 ml	

4. Nipruss®

	Composition	Concentration
Seringue 50 ml	60 mg nitroprussiate de sodium 2 H ₂ O	1.2 mg/ml
	(2 ml de thiosulfate de sodium 25%)	10 mg/ml

	G5% q.s.p. 50 ml	
--	------------------	--

ANNEXE 4 : PRÉPARATION DES SOLUTIONS POUR LA VALIDATION DE LA MÉTHODE DE DOSAGE

1. Solutions pour les STD

Tableau 1 : Préparation des excipients

Excipients	MP [mg]	Vi [ml]	Ci [mg/ml]	Vi à prélever [ml]	Cf dans les SM des catécholamines et de l'AM (pour un Vf de 50 ml) [mg/ml]
Métabisulfite de sodium	1013.39	20.00	50.67	1.00	1.01
Tween 80	1050.36	50.00	21.01	6.00	2.52

Tableau 2 : Préparation des solutions de PA

	PA	Masse pesée	C dans 50 ml [mg/ml]	C réelle dans la solution à 80 µg/ml [µg/ml]	C réelle dans la solution à 100 µg/ml [µg/ml]	C réelle dans la solution à 120 µg/ml [µg/ml]
Validation J1	NE	50.10	1.00	80.2	100.2	120.2
	DA	50.05	1.00	80.1	100.1	120.1
	DU	50.11	1.00	80.2	100.2	120.3
	AM	50.01	1.00	80.0	100.0	120.0
Validation J2	NE	50.06	1.00	80.1	100.1	120.1
	DA	50.09	1.00	80.1	100.2	120.2
	DU	50.09	1.00	80.1	100.2	120.2
	AM	50.07	1.00	80.1	100.1	120.2
Validation J3	NE	50.07	1.00	80.1	100.1	120.2
	DA	50.08	1.00	80.1	100.2	120.2
	DU	50.05	1.00	80.1	100.1	120.1
	AM	50.07	1.00	80.1	100.1	120.2

Pour chaque jour, une SM contenant les 3 catécholamines à une concentration respective de 50 mg/ml, additionnée de 1 ml de métabisulfite de sodium à 50 mg/ml, est préparée dans un volume final de 50 ml de tampon. Le métabisulfite de sodium sert à éviter une oxydation pendant toute la durée de l'analyse. Une autre SM à 50 mg/ml d'AM, additionnée de 6 ml de polysorbate 80 à 20 mg/ml (pour permettre la dissolution de l'AM) est préparée par dilution dans 50 ml de tampon. Les dilutions (80, 100 et 120 µg/ml) sont effectuées dans des ballons de 10 ml. Tous les PA y sont réunis.

2. Solutions pour les RDF

Tableau 3 : C attendue de PA dans une solution de 3 médicaments mélangés dans un rapport 1-1-1

	AM	DA	DU	NE
C utilisée dans la pratique du CHUV [mg/ml]	12.50	5.00	5.00	0.60
C dans un mélange de rapport 1-1-1 [mg/ml]	4,17	1.67	1.87	0.20

Tableau 4 : Concentrations maximales des excipients pouvant être rencontrées dans les dosages

	Excipients	C des excipients dans les solutions utilisées au CHUV [mg/ml]	C maximale des excipients dans un mélange 1-1-1 de trois des PA [mg/ml]	C théorique des excipients dans les solutions à 100 µg/ml [mg/ml]*
Dopamin Fresenius	N-acétyl-L-cystéine	0.10	0.03	0.02
	Titriplex III	0.10	0.03	0.02
	NaCl	7.99	2.66	1.33
Dobutamin Liquid Fresenius	Ac. ascorbique	1.00	0.33	0.17
Cordarone®	Tween 80	25.00	8.33	4.17
	Alcool benzylique	5.00	1.67	0.83
Noradrénaline Sintetica	Métabisulfite de sodium	0.30	0.10	0.05

*ces solutions ont été diluées par deux par rapport à un mélange 1-1-1 pour des raisons analytiques

Tableau 5 : Préparation du mélange d'excipients

Excipients	MP réelle [mg]	C dans 1 L [mg/ml]
N-acétyl-L-cystéine	417.16	0.417
Titriplex III	417.10	0.417
NaCl	33304.20	33.304
Ac ascorbique	4168.70	4.169
Tween 80	104246.00	104.246
Alcool benzylique	20833.00	20.833
Métabisulfite de sodium	1252.50	1.253

La N-acétyl-L-cystéine, le Titriplex III, l'ac. ascorbique et le métabisulfite de sodium sont dilués préalablement dans un ballon de 500 ml avec de l'eau pour préparations injectables. L'alcool benzylique et le Tween 80 sont mélangés ensemble dans un ballon de 1 L. Ensuite le contenu du ballon de 500 ml est ajouté et mélangé à celui de 1 L. Le tout est complété ad .1 L avec de l'eau pour préparations injectables.

Tableau 6 : Préparation des solutions des PA

	PA	Masse pesée [mg]	C dans 50 ml [mg/ml]	C réelle dans la solution à 80 µg/ml [µg/ml]	C réelle dans la solution à 100 µg/ml [µg/ml]	C réelle dans la solution à 120 µg/ml [µg/ml]
Validation J1	NE	50.05	1.00	80.1	100.1	120.1
	DA	50.11	1.00	80.2	100.2	120.3
	DU	50.04	1.00	80.1	100.1	120.1
	AM	50.11	1.00	80.2	100.2	120.3
Validation J2	NE	50.01	1.00	80.0	100.0	120.0
	DA	50.08	1.00	80.1	100.2	120.2
	DU	50.06	1.00	80.1	100.1	120.1
	AM	50.08	1.00	80.1	100.2	120.2
Validation J3	NE	50.07	1.00	80.1	100.1	120.2
	DA	50.00	1.00	80.0	100.0	120.0
	DU	50.04	1.00	80.1	100.1	120.1
	AM	50.04	1.00	80.1	100.1	120.1

Pour chaque jour, une SM contenant les 3 catécholamines à une concentration respective de 50 mg/ml, additionnée de 10 ml de solution d'excipients, est préparée dans un volume final de 50 ml de tampon. Une autre SM à 50 mg/ml d'AM, additionnée de 12 ml de polysorbate 80 à 20 mg/ml est préparée par dilution dans 50 ml de tampon. Les dilutions (80, 100 et 120 µg/ml) sont effectuées dans des ballons de 10 ml. Tous les PA y sont réunis.

ANNEXE 5 : STATISTIQUES DES PARAMÈTRES DE PURETÉ

1. Amiodarone

	Nombres	Corrélation la plus mauvaise		Paramètre de pureté	
		Similarité	Dissimilarité	Moyenne	Déviati on standard
sans dégradation	5	0.99533	0.096535	244.081 nm	1.120 nm
avec H ₂ O ₂	3	0.986105	0.166122	246.510 nm	1.424 nm
avec HCl	5	0.986082	0.166261	244.451	1.288
avec NaOH	5	0.996423	0.084501	244.091	0.858
au reflux	5	0.996012	0.089215	244.026	1.149
aux UV	5	0.993633	0.112665	242.453	1.064

2. Dopamine

	Nombres	Corrélation la plus mauvaise		Paramètre de pureté	
		Similarité	Dissimilarité	Moyenne	Déviati on standard
sans dégradation	5	0.991044	0.133535	240.632 nm	1.217 nm
avec H₂O₂	5	0.992875	0.119162	206.589 nm	0.363 nm
avec HCl	5	0.998735	0.050292	240.806	0.874
avec NaOH	5	0.992876	0.119153	206.783	0.767
au reflux	5	0.999259	0.038502	240.252	0.598
aux UV	5	0.999861	0.016662	240.147	0.211

3. Dobutamine

	Nombres	Corrélation la plus mauvaise		Paramètre de pureté	
		Similarité	Dissimilarité	Moyenne	Déviati on standard
sans dégradation	5	0.995429	0.095501	235.081nm	1.488 nm
avec H₂O₂	5	0.996517	0.083396	235.037 nm	1.436 nm
avec HCl	5	0.995174	0.098126	235.075	1.529
avec NaOH	5	0.989891	0.141832	209.992	0.776
au reflux	5	0.995631	0.093379	235.216	1.601
aux UV	5	0.997144	0.997144	234.667	0.075523

4. Norépinéphrine

	Nombres	Corrélation la plus mauvaise		Paramètre de pureté	
		Similarité	Dissimilarité	Moyenne	Déviati on standard
sans dégradation	5	0.996744	0.080632	237.888m	0.485 nm
avec H₂O₂	5	0.993754	0.111593	206.610 nm	0.331 nm

avec HCl	5	0.991855	0.127360	240.504	1.659
avec NaOH	5	0.998778	0.049432	206.088	0.302
au reflux	5	0.996349	0.085369	206.217	0.526
aux UV	5	0.996417	0.084575	206.321	0.539

ANNEXE 6 : STATISTIQUES

1. NE

Tableau I: Linéarité: données brutes (RDF = formes pharmaceutiques reconstituées)

Essais (i/j)	C cible théorique [ug/ml]	C [ug/ml]	Teneur en PA (% réels)	Surfaces
1/1		80.8	80.8%	7172363.0
2/1		80.2	80.2%	7158429.0
3/1		80.1	80.1%	7726903.5
1/2	100.0	100.1	100.1%	9015911.5
2/2	100.0	100.2	100.2%	8935713.0
3/2	100.0	100.1	100.1%	9853817.0
1/3		120.1	120.1%	10669634.0
2/3		120.3	120.3%	10492559.5
3/3		120.2	120.2%	11759862.5

Pente	908415.2367	93006.0557	Intrec (a)
Se_b	101998.2387	1035724.0984	Se_a
r ²	0.918906527	497490.4720	S
F	79.32014048	7.0000	DDL (N-2)
ssreg	1.96315E+13	1732477387771.89	ssresid
Variance b	1.04E+10	1.07E+12	Variance a

Tableau II: Linéarité: données brutes (STD = principes actifs seuls)

Essais (i/j)	C cible théorique [ug/ml]	C [ug/ml]	Teneur en PA (% réels)	Surfaces
1/1		80.2	80.2%	7065797.0
2/1		80.1	80.1%	7297549.5
3/1		80.1	80.1%	7490849.0
1/2	100.0	100.2	100.2%	9045814.0
2/2	100.0	100.1	100.1%	8789380.0
3/2	100.0	100.1	100.1%	9435384.0
1/3		120.2	120.2%	10802451.0
2/3		120.1	120.1%	10928520.0
3/3		120.2	120.2%	10969600.0

Pente	902414.1876	53726.0505	Intrec (a)
Se_b	43589.43957	442345.3329	Se_a
r ²	0.9839	213871.6783	S
F	428.59713	7.0000	DDL (N-2)
ssreg	1.96045E+13	320187663531.4650	ssresid
Variance b	1.90E+09	1.96E+11	Variance a

Tableau III: Linéarité: étude statistique (RDF et STD)

	RDF	STD	tthéor. (5%)
Pente b	908415.2367	902414.1876	
Ordonnée a	101998.2387	43589.43957	
Coeff. corr. r	0.91890	0.9839	
Inter = 0	79.3201	428.5971	t (0.05;7)
Test t	Test +	Test +	2.365

Forme pharmaceutique reconstituée (RDF)

Tableau IV: Linéarité: changement de variables (RDF)

Groupe	C [µg/ml]	Surfaces	Moy. C [µg/ml]	Surfaces	Variances
1	80.8	7172363.0	80.4	7132635.0	1.19E+11
	80.2	7158429.0		7175386.1	
	80.1	7726903.5		7749674.4	
2	100.1	9015911.5	100.2	9020756.4	2.60E+11
	100.2	8935713.0		8929656.9	
	100.1	9853817.0		9855028.2	
3	120.1	10669634.0	120.2	10675447.9	4.74E+11
	120.3	10492559.5		10485292.2	
	120.2	11759862.5		11761316.0	
N = 9		Nombre de jours = 3		Groupes, k = 3	

Solutions standards (STD)

Tableau V: Linéarité: changement de variables (STD)

Groupe	C [µg/ml]	Surfaces	Moy. C [µg/ml]	Surfaces	Variances
1	80.2	7065797.0	80.1	7062428.0	4.63E+10
	80.1	7297549.5		7299955.9	
	80.1	7490849.0		7491811.6	
2	100.2	9045814.0	100.2	9041602.7	1.06E+11
	100.1	8789380.0		8792388.0	
	100.1	9435384.0		9436587.2	
3	120.2	10802451.0	120.2	10797397.5	8.30E+09
	120.1	10928520.0		10932129.7	
	120.2	10969600.0		10971043.9	
N = 9		Nombre de jours = 3		Groupes, k = 3	

Forme pharmaceutique reconstituée (RDF)

Tableau VI: Test d'homogénéité des variances intra-groupes (RDF)

Test de Cochran démontrant que S² (variance) est équivalent pour les 3 C

Groupes	1	2	3
N _j	3	3	3
S ² _j	1.19E+11	2.60E+11	4.74E+11
S ² _{max}	2.60E+11	C calculé =	3.05E-01
Somme S ²	8.53E+11	C (0.05;3;2)=	0.8709

Test +

Solutions standards (STD)

Tableau VII: Test d'homogénéité des variances intra-groupes (STD)

Test de Cochran démontrant que S² (variance) est équivalent pour les 3 C

Groupes (niveaux)	1	2	3
N _j	3	3	3
S ² _j	4.63E+10	1.06E+11	8.30E+09
S ² _{max}	1.06E+11	C calculé =	6.59E-01
Somme S ²	1.60E+11	C (0.05;3;2)=	0.8709

Test +

Tableau VIII: Linéarité: test d'existence d'une pente significative (RDF)

Test de Fisher (F1) démontrant l'existence d'une relation linéaire entre x et y

Variations	DDL	Somme des carrés	Variances	F1 calc.
Variation totale	8	2.1364E+13	2.6705E+12	79.320
Variation due à la régression	1	1.96315E+13	1.96315E+13	
Variation résiduelle	7	1.7325E+12	2.47497E+11	

F (0.05; 1; 7) = 5.591

Test +

Tableau IX: Linéarité: test d'existence d'une pente significative (STD)

Test de Fisher (F1) démontrant l'existence d'une relation linéaire entre x et y

Variations	DDL	Somme des carrés	Variances	F1 calc.
Variation totale	8	19924689611693	2.49059E+12	428.597
Variation due à la régression	1	1.96045E+13	1.96045E+13	
Variation résiduelle	7	3.20188E+11	45741094790	

F (0.05; 1; 7) = 5.591

Test +

Tableau X: Linéarité: test de validité de la droite de régression (RDF)

Test de Fisher (F2) comparant les erreurs d'ajustement et expérimentales

	DDL	Somme des carrés	Variances	F2 calc.
Erreur de la régression	1	26977850403	26977850403	0.09
Erreur expérimentale	6	1.7055E+12	2.8425E+11	

F (0.05; 1; 6) = 5.987

Test +**Tableau XI: Linéarité: test de validité de la droite de régression (STD)**

Test de Fisher (F2) comparant les erreurs d'ajustement et expérimentales

	DDL	Somme des carrés	Variances	F2 calc.
Erreur de la régression	1	1.04E+07	1.04E+07	0.00
Erreur expérimentale	6	3.20E+11	5.34E+10	

F (0.05; 1; 6) = 5.987

Test +**Comparaison des droites RDF et STD****Tableau XII : Comparaison des variances RDF et STD**

Test de Fisher (F3) comparant les variances de régression linéaires RDF et STD

	Variances	F3
RDF	2.6705E+12	
STD	2.49059E+12	9.3263E-01
F (0.05;8;8)=	3.44	Test +

Tableau XIII : Comparaison des pentes et ordonnées RDF et STD

Test de t pour démontrer l'égalité entre les régressions linéaires RDF et STD

Test de comparaison des ordonnées (test t)	0.0349	t (0.05;14)
	Test +	2.1448
Test comparaison des pentes (test t)	0.0541	t (0.05;14)
	Test +	2.1448

Tableau XV: Exactitude avec l'étalon 100%

Résultats (RDF, référence: l'étalon STD à 100%)

Recouvrement : quantité calculée au moyen du STD 100% quotidien/quantité introduite

% théorique	Essais (i/j)	C introduites [µg/ml]	C retrouvées [mg/ml]	Recouvr. (%)	Variances, S ² _j
80% (Groupe 1)	1/1	80.8	79.4	98.3	4.7
	2/1	80.2	81.5	101.7	
	3/1	80.1	82.0	102.4	
100% (Groupe 2)	1/2	100.1	99.9	99.8	5.5
	2/2	100.2	101.8	101.6	
	3/2	100.1	104.6	104.4	
120% (Groupe 3)	1/3	120.1	118.2	98.4	8.5
	2/3	120.3	119.5	99.4	
	3/3	120.2	124.8	103.9	
		Jour 1	Jour 2	Jour 3	
	b2 _{pen} 100%	902775.8	877884.5	942219.3	

Tableau XV bis: Exactitude avec l'étalon 100%

Résultats (STD, référence: droite de régression du principe actif seul)

Recouvrement : quantité calculée au moyen du STD 100% quotidien/quantité introduite

% théorique	Essais (i/j)	C introduites [µg/ml]	C retrouvées [mg/ml]	Recouvr. (%)	Variances, S ² _j
80% (Groupe 1)	1/1	80.2	80.9	100.1	2.4
	2/1	80.1	79.8	99.5	
	3/1	80.1	82.0	102.4	
100% (Groupe 2)	1/2	100.2	100.7	100.6	14.7
	2/2	100.1	99.4	99.1	
	3/2	100.1	106.5	106.4	
120% (Groupe 3)	1/3	120.2	118.4	98.6	28.8
	2/3	120.1	116.5	96.9	
	3/3	120.2	128.2	106.9	
		Jour 1	Jour 2	Jour 3	
	Ordon. regr.a2	-370281.0	-72276.4	601733.5	
	Pente regr.b2	932298.9	906654.6	868471.9	

Tableau XVI: Homogénéité des variances intragroupes

Test de Cochran démontrant que S2 est équivalent pour les 3 C

Groupes	80%	100%	120%
n _j	3	3	3
S ² _j	4.693	5.539	8.502
S ² _{max}	8.502	C calculé=	0.454
Somme S ²	18.734	C (0.05;3;2)	0.871

Test +

Tableau XVI bis: Homogénéité des variances intragroupes

Test de Cochran démontrant que S2 est équivalent pour les 3 C

Groupes	80%	100%	120%
n _j	3	3	3
S ² _j	2.380	14.721	28.808
S ² _{max}	28.808	C calculé=	0.628
Somme S ²	45.909	C (0.05;3;2)	0.871

Test +

Tableau XVII: Test de validité des moyennes

Test de Fisher (F3) comparant les erreurs intra-groupes et inter-groupes

Variations	DDL	Somme des carrés	Variances	F3 calc
Totale	8	40.690		0.258
Inter-groupes	2	3.223	1.612	
Intra-groupes	6	37.467	6.245	

F (0.05;2;6) =

5.143s

Test +

Tableau XVII bis: Test de validité des moyennes

Test de Fisher (F3) comparant les erreurs intra-groupes et inter-groupes

Variations	DDL	Somme des carrés	Variances	F3 calc
Totale	8	99.870		0.263
Inter-groupes	2	8.052	4.026	
Intra-groupes	6	91.818	15.303	

F (0.05;2;6) =

5.143

Test +

Tableau XVIII: Estimation de l'intervalle de confiance

Exactitude de recouvrement et de l'intervalle de confiance

Moyenne des recouvr(%) =	Moy =	101.09	
Intervalle de confiance =		$Y_{moy} \pm t*ST\sqrt{N}$	
$t*ST\sqrt{N}$	1.73	Recouvr.min =	99.36
$t (0.05; 8) =$	2.31	Recouvr.max =	102.82
N =	9		
ST = écart type	2.26		

Tableau XIX: Fidélité: résultats (5 RDF à 100% par jour; réf.: étalon 100%)

Résultats recalculé au moyen de l'étalon std 100% du jour correspondant

J	Essais	C introduites [µg/ml]	Surfaces	C retrouvées [µg/ml]	Recouvr. (%)	Moy. recouvr.
1	1/1	100.1	8885046.0	98.4	98.3	98.4
	2/1	100.1	8896394.0	98.5	98.4	
	3/1	100.1	9018612.0	99.9	99.8	
	4/1	100.1	8978916.0	99.5	99.4	
	5/1	100.1	8680548.0	96.2	96.1	
2	1/2	100.0	8649010.0	98.5	98.5	99.4
	2/2	100.0	8770552.0	99.9	99.9	
	3/2	100.0	8643249.0	98.5	98.4	
	4/2	100.0	8881896.0	101.2	101.2	
	5/2	100.0	8710557.0	99.2	99.2	
3	1/3	100.1	9682039.0	110.3	110.1	111.1
	2/3	100.1	9801050.0	111.6	111.5	
	3/3	100.1	9859026.0	112.3	112.1	
	4/3	100.1	9691050.0	110.4	110.2	
	5/3	100.1	9804175.0	111.7	111.5	
Moy. générale						102.98
		Jour 1	Jour 2	Jour 3		
b2 (pente 100%)		902775.8	877884.5	942219.3		

Tableau XVIII bis: Estimation de l'intervalle de confiance

Exactitude de recouvrement et de l'intervalle de confiance

Moyenne des recouvr(%) =	Moy =	100.45	
Intervalle de confiance =		$Y_{moy} \pm t*ST\sqrt{N}$	
$t*ST\sqrt{N}$	1.91	Recouvr.min =	98.54
$t (0.05; 8) =$	2.31	Recouvr.max =	102.36
N =	9		
ST = écart type	3.45		

Tableau XIX bis : Fidélité: tests statistiques (RDF, référence: étalon 100%)

Nb groupes	k	3
Nb mesures/groupe	n	5
Nb total de mesures	N	15
Somme des moy.	$T1 = \sum m_j$	311.26
Somme des moy. au carré	$T2 = \sum m_j^2$	32381.99
Somme des variances	$T3 = \sum SS_j^2$	4.14
Variance de répétabilité (Variance =intragroupe intra-jour)	$S^2_r = T3/k$	1.38
Variance inter-groupe (inter-jour)	$S^2_g = (1)$	43.08
Variance de reproductibilité =Variance de fidélité interméd.	$S^2_R = S^2_r + S^2_g$	44.46
Moyenne générale	$m = T1/k$	103.75

(1) $((k*T2) - T1^2 / (k(k-1))) - S^2_r / n$

Tableau XX: Fidélité: test d'homogénéité des variances intra-groupes (intra-jour)

Test de Cochran démontrant que S^2 est équivalent pour chacun des 3 jours ; référence étalon 100%

	j 1	j 2	j 3
n_j	5	5	5
S^2_j	2.0929	1.2703	0.7762
m_j	98.3967	101.7623	111.1059
DDL	4	4	4
S^2_{max}	2.0929	Ccalculé	0.5056
Somme S^2_j	4.1394	$C(0.05;3;4)=$	0.7460

Test +

Tableau XXII : Comparaison des variances de fidélité et d'exactitude

Test de Fisher démontrant que S^2_R et S^2_E sont cohérentes			
	DDL	Variance	F3
Fidélité (S^2_R)	12	44.4625	7.1202
Exactitude (S^2_E)	6	6.2446	

$F(0.05;12;6)$ 4.0000

$1/F(0.05;6;12)$ 0.2500

Anomalie

OK

Tableau XXI : Analyse de la variance inter-jours (A)

Test sur la significativité de la variance inter-jours comparée à la variance intra-jour

Source de variation	Somme des carrés Q	DDL	Quantité estimée q	
Facteur A (inter-jours)	-315.0169	2	-157.5084	qA
Répétabilité (intra-jour)	829.5646	12	69.1304	qr
Totale	514.5477	14	36.7534	

$F3 = -2.2784$ A non significatif $s^2 = (qA-qr)/n -45.3278$

$F(0.05;2;12)$ 3.8900

Tableau XXIII : Paramètres de fidélité

Coefficient de variation de répétabilité	CVr	100*Sr/m	1.1321%
Coefficient de variation de répétabilité de fidélité intermédiaire	CVR	100*SR/m	6.4267%

Effet jour significatif

2. DA

Tableau I: Linéarité: données brutes (RDF = formes pharmaceutiques reconstituées)

Essais (i/j)	C cible théorique en ug/ml	C [ug/ml]	Teneur en PA (% réels)	Surfaces
1/1		80.2	80.2%	12922988.0
2/1		80.1	80.1%	12907002.0
3/1		80.0	80.0%	13051906.0
1/2	100.0	100.2	100.2%	16446151.5
2/2	100.0	100.2	100.2%	16146443.0
3/2	100.0	100.0	100.0%	16565075.5
1/3		120.3	120.3%	19271294.0
2/3		120.2	120.2%	19270752.0
3/3		120.0	120.0%	19709479.0

Pente	1611603.3024	118119.0009	Intrec (a)
Se_b	45418.1179	460780.2004	Se_a
r ²	0.9945	222787.9527	S
F	1259.0936	7.0000	DDL (N-2)
ssreg	6.24944E+13	347441302985.520	ssresid
Variance b	2.06E+09	2.12E+11	Variance a

Tableau II: Linéarité: données brutes (STD = principes actifs seuls)

Essais (i/j)	C cible théorique en ug/ml	C [ug/ml]	Teneur en PA (% réels)	Surfaces
1/1		80.1	80.1%	12866497.5
2/1		80.1	80.1%	13135573.5
3/1		80.1	80.1%	13442895
1/2	100.0	100.1	100.1%	16353625
2/2	100.0	100.2	100.2%	15999964.5
3/2	100.0	100.2	100.2%	16826245
1/3		120.1	120.1%	19542517
2/3		120.2	120.2%	19533949
3/3		120.2	120.2%	20268987

Pente	1656017.2735	-143321.7107	Intrec (a)
Se_b	71873.0967	729319.1412	Se_a
r ²	0.9870	352622.0290	S
F	530.8808	7.0000	DDL (N-2)
ssreg	6.60109E+13	870396067476.0190	ssresid
Variance b	5.17E+09	5.32E+11	Variance a

Tableau III: Linéarité: étude statistique (RDF et STD)

	RDF	STD	tthéor. (5%)
Pente b	1611603.3024	1656017.2735	
Ordonée a	118119.0009	-143321.7107	
Coeff. corr. r	0.9972	0.9935	
Inter = 0	0.2563	0.1965	t (0.05;7)
Test t	Test +	Test +	2.365

Forme pharmaceutique reconstituée (RDF)

Tableau IV: Linéarité: changement de variables (RDF)

Groupe	C [µg/ml]	Surfaces	Moy. C [µg/ml]	Surfaces	Variance
1	80.2	12922988.0	8.01	12910954.7	8.70E+09
	80.1	12907002.0		12902704.4	
	80.0	13051906.0		13068236.9	
2	100.2	16446151.5	10.01	16431109.9	5.09E+10
	100.2	16146443.0		16141071.0	
	100.0	16565075.5		16585489.1	
3	120.3	19271294.0	12.02	19253244.0	7.53E+10
	120.2	19270752.0		19264305.6	
	120.0	19709479.0		19733975.4	
N = 9		Nombre de jours = 3		Groupes, k = 3	

Solutions standards (STD)

Tableau V: Linéarité: changement de variables (STD)

Groupe	C [µg/ml]	Surfaces	Moy. C [µg/ml]	Surfaces	Variance
1	80.1	12866497.5	8.01	12872680.0	8.10E+10
	80.1	13135573.5		13131157.5	
	80.1	13442895.0		13441128.6	
2	100.1	16353625.0	10.01	16361353.1	1.73E+11
	100.2	15999964.5		15994444.4	
	100.2	16826245.0		16824037.0	
3	120.1	19542517.0	12.02	19551790.7	1.76E+11
	120.2	19533949.0		19527324.9	
	120.2	20268987.0		20266337.4	
N = 9		Nombre de jours = 3		Groupes, k = 3	

Forme pharmaceutique reconstituée (RDF)

Tableau VI: Test d'homogénéité des variances intra-groupes (RDF)

Test de Cochran démontrant que S² (variance) est équivalent pour les 3 C

Groupes	1	2	3
N _j	3	3	3
S ² _j	8.70E+09	5.09E+10	7.53E+10
S ² _{max}	5.09E+10	C calculé =	3.77E-01
Somme S ²	1.35E+11	C (0.05;3;2)=	0.8709

Test +

Solutions standards (STD)

Tableau VII: Test d'homogénéité des variances intra-groupes (STD)

Test de Cochran démontrant que S² (variance) est équivalent pour les 3 C

Groupes	1	2	3
N _j	3	3	3
S ² _j	8.10E+10	1.73E+11	1.76E+11
S ² _{max}	1.73E+11	C calculé =	4.02E-01
Somme S ²	4.30E+11	C (0.05;3;2)=	0.8709

Test +

Tableau VIII: Linéarité: test d'existence d'une pente significative (RDF)

Test de Fisher (F1) démontrant l'existence d'une relation linéaire entre x et y

Variations	DDL	Somme des carrés	Variances	F1 calc.
Variation totale	8	6.2842E+13	7.8552E+12	1259.094
Variation due à la régression	1	6.24944E+13	6.24944E+13	
Variation résiduelle	7	3.4744E+11	49634471855	

F (0.05; 1; 7) = 5.591

Test +

Tableau IX: Linéarité: test d'existence d'une pente significative (STD)

Test de Fisher (F1) démontrant l'existence d'une relation linéaire entre x et y

Variations	DDL	Somme des carrés	Variances	F1 calc.
Variation totale	8	66881331988818	8.36017E+12	530.881
Variation due à la régression	1	6.60109E+13	6.60109E+13	
Variation résiduelle	7	8.70396E+11	1.24342E+11	

F (0.05; 1; 7) = 5.591

Test +

Tableau X: Linéarité: test de validité de la droite de régression (RDF)

Test de Fisher (F2) comparant les erreurs d'ajustement et expérimentales

	DDL	Somme des carrés	Variances	F2 calc.
Erreur de la régression	1	77613150275	77613150275	1.7258
Erreur expérimentale	6	2.69828E+11	44971358785	

F (0.05; 1; 6) = 5.987

Test +**Tableau XI: Linéarité: test de validité de la droite de régression (STD)**

Test de Fisher (F2) comparant les erreurs d'ajustement et expérimentales

	DDL	Somme des carrés	Variances	F2 calc.
Erreur de la régression	1	1.03E+10	1.03E+10	0.0719
Erreur expérimentale	6	8.60E+11	1.43E+11	

F (0.05; 1; 6) = 5.987

Test +**Comparaison des droites RDF et STD****Tableau XII : Comparaison des variances RDF et STD**

Test de Fisher (F3) comparant les variances de régression linéaires RDF et STD

	Variances	F3
RDF	7.8552E+12	
STD	8.36017E+12	1.0643E+00
F (0.05;8;8)=	3.44	Test +

Tableau XIII : Comparaison des pentes et ordonnées RDF et STD

Test de t pour démontrer l'égalité entre les régressions linéaires RDF et STD

Test de comparaison des ordonnées (test t)	0.3031	t (0.05;14)
	Test +	2.1448
Test comparaison des pentes (test t)	0.5224	t (0.05;14)
	Test +	2.1448

Tableau XV: Exactitude avec l'étalon 100%

Résultats (RDF, référence: l'étalon STD à 100%)

Recouvrement : quantité calculée au moyen du STD 100% quotidien/quantité introduite

% théorique	Essais (i/j)	C introduites [µg/ml]	C retrouvées [mg/ml]	Recouvr. (%)	Variances, S ² _j
80% (Groupe 1)	1/1	80.2	79.1	98.7	3.5
	2/1	80.1	80.8	100.9	
	3/1	80.0	77.7	97.1	
100% (Groupe 2)	1/2	100.2	100.7	100.4	1.5
	2/2	100.2	101.1	100.9	
	3/2	100.0	98.6	98.6	
120% (Groupe 3)	1/3	120.3	118.0	98.1	2.0
	2/3	120.2	120.7	100.4	
	3/3	120.0	117.3	97.8	
		Jour 1	Jour 2	Jour 3	
	b2 _{pen} 100%	1633728.8	1597121.6	1679936.6	

Tableau XV bis: Exactitude avec l'étalon 100%

Résultats (STD, référence: droite de régression du principe actif seul)

Recouvrement : quantité calculée au moyen du STD 100% quotidien/quantité introduite

% théorique	Essais (i/j)	C introduites [µg/ml]	C retrouvées [mg/ml]	Recouvr. (%)	Variances, S ² _j
80% (Groupe 1)	1/1	80.2	80.1	99.9	1.7
	2/1	80.1	79.4	99.1	
	3/1	80.0	77.9	97.4	
100% (Groupe 2)	1/2	100.2	101.3	101.0	1.6
	2/2	100.2	99.7	99.5	
	3/2	100.0	98.5	98.5	
120% (Groupe 3)	1/3	120.3	118.2	98.3	0.8
	2/3	120.2	119.3	99.2	
	3/3	120.0	117.0	97.5	
		Jour 1	Jour 2	Jour 3	
	Ordon. regr.a2	-435835.6	227223.6	-219187.7	
	Pente regr.b2	1667337.5	1596719.8	1703796.9	

Tableau XVI: Homogénéité des variances intragroupes

Test de Cochran démontrant que S2 est équivalent pour les 3 concentrations

Groupes	80%	100%	120%
n _j	3	3	3
S ² _j	3.533	1.509	2.046
S ² _{max}	3.533	C calculé=	0.498
Somme S ²	7.089	C (0.05;3;2)	0.871

Test +

Tableau XVI bis: Homogénéité des variances intragroupes

Test de Cochran démontrant que S2 est équivalent pour les 3 concentrations

Groupes	80%	100%	120%
n _j	3	3	3
S ² _j	1.717	1.603	0.775
S ² _{max}	1.717	C calculé=	0.419
Somme S ²	4.094	C (0.05;3;2)	0.871

Test +

Tableau XVII: Test de validité des moyennes

Test de Fisher (F3) comparant les erreurs intra-groupes et inter-groupes

Variations	DDL	Somme des carrés	Variances	F3 calc
Totale	8	17.003		0.598
Inter-groupes	2	2.826	1.413	
Intra-groupes	6	14.177	2.363	

F (0.05;2;6) =

5.1430

Test +

Tableau XVII bis: Test de validité des moyennes

Test de Fisher (F3) comparant les erreurs intra-groupes et inter-groupes

Variations	DDL	Somme des carrés	Variances	F3 calc
Totale	8	11.380		1.169
Inter-groupes	2	3.191	1.595	
Intra-groupes	6	8.189	1.365	

F (0.05;2;6) =

5.1430

Test +

Tableau XVIII: Estimation de l'intervalle de confiance

Exactitude de recouvrement et de l'intervalle de confiance

Moyenne des recouvr (%) =	Moy =	99.21	
Intervalle de confiance =		$Y_{moy} \pm t^*ST\sqrt{N}$	
$t^*ST\sqrt{N}$	1.12	Recouvr.min =	98.09
$t(0.05; 8) =$	2.31	Recouvr.max =	100.33
N =	9		
ST = écart type	1.46		

Tableau XIX: Fidélité: résultats (5 RDF à 100% par jour; réf.: étalon 100%)

Résultats recalculé au moyen de l'étalon std 100% du jour correspondant

J	Essais	C introduites [µg/ml]	Surface	C retrouvées [µg/ml]	Recouvr. (%)	Moy. recouvr.
1	1/1	100.2	16190272.0	99.1	98.9	99.0
	2/1	100.2	16234270.0	99.4	99.2	
	3/1	100.2	16363658.0	100.2	99.9	
	4/1	100.2	16449272.0	100.7	100.5	
	5/1	100.2	15844031.0	97.0	96.8	
3	1/3	100.2	15828875.0	99.1	99.0	99.9
	2/3	100.2	16097153.0	100.8	100.6	
	3/3	100.2	15781598.0	98.8	98.7	
	4/3	100.2	16270993.0	101.9	101.7	
	5/3	100.2	15909076.0	99.6	99.5	
5	1/5	100.0	16467180.0	103.1	103.1	103.4
	2/5	100.0	16839666.0	105.4	105.4	
	3/5	100.0	16522251.0	103.5	103.5	
	4/5	100.0	16366143.0	102.5	102.5	
	5/5	100.0	16407054.0	102.7	102.7	
Moy. générale						100.8
		Jour 1		Jour 2		Jour 3
b2 (pente 100%)		1633728.8		1597121.6		1679936.6

Tableau XVIII bis: Estimation de l'intervalle de confiance

Exactitude de recouvrement et de l'intervalle de confiance

Moyenne des recouvr (%) =	Moy =	99.12	
Intervalle de confiance =		$Y_{moy} \pm t^*ST\sqrt{N}$	
$t^*ST\sqrt{N}$	0.65	Recouvr.min =	98.47
$t(0.05; 8) =$	2.31	Recouvr.max =	99.78
N =	9		
ST = écart type	1.18		

Tableau XXI - Fidélité: tests statistiques (RDF, référence: étalon 100%)

Nb groupes	k	3
Nb mesures/groupe	n	5
Nb total de mesures	N	15
Somme des moy.	$T1 = \sum m_j$	303.19
Somme des moy. au carré	$T2 = \sum m_j^2$	30651.50
Somme des variances	$T3 = \sum SS_j$	5.01
Variance de répétabilité (Variance =intragroupe intra-jour)	$S^2_r = T3/k$	1.67
Variance inter-groupe (inter-jour)	$S^2_g = (1)$	4.59
Variance de reproductibilité =Variance de fidélité interméd.	$S^2_R = S^2_r + S^2_g$	6.26
Moyenne générale	$m = T1/k$	101.06

(1) $((k*T2)-T1^2)/(k(k-1))-S^2_r/n$

Tableau XX: Fidélité: test d'homogénéité des variances intra-groupes (intra-jour)

Test de Cochran démontrant que S^2 est équivalent pour chacun des 3 jours ; référence étalon 100%

	J 1	J 2	J 3
n_j	5	5	5
S^2_j	2.0103	1.6179	1.3859
m_j	99.0416	100.7108	103.4390
DDL	4	4	4
S^2_{max}	2.0103	C calculé	0.401
Somme S^2_j	5.0141	C (0.05;3;4)=	0.7460

Test +

Tableau XXII : Comparaison des variances de fidélité et d'exactitude

Test de Fisher démontrant que S^2_R et S^2_E sont cohérentes			
	DDL	Variance	F3
Fidélité (S^2_R)	12	6.2648	2.6514
Exactitude (S^2_E)	6	2.3628	

F (0.05;12;6) 4.0000

OK

1/F (0.05;6;12) 0.2500

OK

Tableau XXI : Analyse de la variance inter-jours (A)

Test sur la significativité de la variance inter-jours comparée à la variance intra-jour

Source de variation	Somme des carrés Q	DDL	Quantité estimée q	
Facteur A (inter-jours)	-45.6864	2	-22.8432	qA
Répétabilité (intra-jour)	120.2554	12	10.0213	qr
Totale	74.5691	14	5.3264	

F3 = -2.2795 A non significatif $s^2 = (qA - qr)/n$ -6.5729

F (0.05;2;12) 3.8900

Tableau XXIII : Paramètres de fidélité

Coefficient de variation de répétabilité	CVr	100*Sr/m	1.279%
Coefficient de variation de répétabilité de fidélité intermédiaire	CVR	100*SR/m	2.477%

Effet jour non significatif

3. DU

Tableau I: Linéarité: données brutes (RDF = formes pharmaceutiques reconstituées)

Essais (i/j)	C cible théorique en ug/ml	C [ug/ml]	Teneur en PA (% réels)	Surfaces
1/1		80.1	80.1%	11087506.0
2/1		80.1	80.1%	11227980.0
3/1		80.1	80.1%	11306946.0
1/2	100.0	100.1	100.1%	14067951.5
2/2	100.0	100.1	100.1%	13947862.0
3/2	100.0	100.1	100.1%	14426544.0
1/3		120.1	120.1%	16526827.0
2/3		120.1	120.1%	16583559.0
3/3		120.1	120.1%	17351768.0

Pente	1401294.3461	31779.7125	Intrec (a)
Se_b	60610.4394	614744.1031	Se_a
r ²	0.9871	297325.4159	S
F	534.5199	7.0000	DDL (N-2)
ssreg	4.72528E+13	618816820676.0240	ssresid
Variance b	3.67E+09	3.78E+11	Variance a

Tableau II: Linéarité: données brutes (STD = principes actifs seuls)

Essais (i/j)	C cible théorique en ug/ml	C [ug/ml]	Teneur en PA (% réels)	Surfaces
1/1		80.2	80.2%	10999238.5
2/1		80.1	80.1%	11373346.0
3/1		80.1	80.1%	11594837.5
1/2	100.0	100.2	100.2%	14017069.5
2/2	100.0	100.2	100.2%	14020278.0
3/2	100.0	100.1	100.1%	14463666.5
1/3		120.3	120.3%	16784144.0
2/3		120.2	120.2%	17178750.0
3/3		120.1	120.1%	17248417.0

Pente	1434219.2215	-179457.3130	Intrec (a)
Se_b	52589.7975	533751.9869	Se_a
r ²	0.9907	258066.9652	S
F	743.7519	7.0000	DDL (N-2)
ssreg	4.95328E+13	466189909713.8840	ssresid
Variance b	2.77E+09	2.85E+11	Variance a

Tableau III: Linéarité: étude statistique (RDF et STD)

	RDF	STD	tthéor. (5%)
Pente b	1401294.3461	1434219.2215	
Ordonée a	31779.7125	-179457.3130	
Coeff. corr. r	0.9935	0.9953	
Inter = 0	0.0517	0.3362	t (0.05;7)
Test t	Test +	Test +	2.365

Forme pharmaceutique reconstituée (RDF)

Tableau IV: Linéarité: changement de variables (RDF)

J	C [µg/ml]	Surfaces	Moy. C [mg/ml]	Surfaces	Variances
1	80.1	11087506.0	80.1	11089000.7	1.23E+10
	80.1	11227980.0	80.1	11224990.6	
	80.1	11306946.0	80.1	11308440.7	
2	100.1	14067951.5	100.1	14069819.9	6.32E+10
	100.1	13947862.0	100.1	13944125.2	
	100.1	14426544.0	100.1	14428412.4	
3	120.1	16526827.0	120.1	16524584.9	2.16E+11
	120.1	16583559.0	120.1	16581316.9	
	120.1	17351768.0	120.1	17356252.1	
N = 9		Nombre des jours = 3		Groupes (niveaux), k = 3	

Solutions standards (STD)

Tableau V: Linéarité: changement de variables (STD)

J	C [µg/ml]	Surfaces	Moy. C [mg/ml]	Surfaces	Variances
1	80.2	10999238.5	80.1	10993119.2	9.47E+10
	80.1	11373346.0	80.1	11371816.2	
	80.1	11594837.5	80.1	11602486.7	
2	100.2	14017069.5	100.2	14009420.3	7.03E+10
	100.2	14020278.0	100.2	14018365.7	
	100.1	14463666.5	100.2	14473228.0	
3	120.3	16784144.0	120.2	16774965.0	6.72E+10
	120.2	17178750.0	120.2	17176455.2	
	120.1	17248417.0	120.2	17259890.8	
N = 9		Nombre des jours = 3		Groupes (niveaux), k = 3	

Forme pharmaceutique reconstituée (RDF)

Tableau VI: Test d'homogénéité des variances intra-groupes (RDF)

Test de Cochran démontrant que S² (variance) est équivalent pour les 5 C

Groupes	1	2	3
N _j	3	3	3
S ² _j	1.23E+10	6.32E+10	2.16E+11
S ² _{max}	6.32E+10	C calculé =	2.17E-01
Somme S ²	2.91E+11	C (0.05;3;2)=	0.8709

Test +

Solutions standards (STD)

Tableau VII: Test d'homogénéité des variances intra-groupes (STD)

Test de Cochran démontrant que S² (variance) est équivalent pour les 5 C

Groupes	1	2	3
N _j	3	3	3
S ² _j	9.47E+10	7.03E+10	6.72E+10
S ² _{max}	9.47E+10	C calculé =	4.08E-01
Somme S ²	2.32E+11	C (0.05;3;2)=	0.8709

Test +

Tableau VIII: Linéarité: test d'existence d'une pente significative (RDF)

Test de Fisher (F1) démontrant l'existence d'une relation linéaire entre x et y

Variations	DDL	Somme des carrés	Variances	F1 calc.
Variation totale	8	4.7872E+13	5.9840E+12	534.520
Variation due à la régression	1	4.72528E+13	4.72528E+13	
Variation résiduelle	7	6.1882E+11	88402402954	

F (0.05; 1; 7) = 5.591

Test +

Tableau IX: Linéarité: test d'existence d'une pente significative (STD)

Test de Fisher (F1) démontrant l'existence d'une relation linéaire entre x et y

Variations	DDL	Somme des carrés	Variances	F1 calc.
Variation totale	8	49998993482687	6.24987E+12	743.752
Variation due à la régression	1	4.95328E+13	4.95328E+13	
Variation résiduelle	7	4.6619E+11	66598558531	

F (0.05; 1; 7) = 5.591

Test +

Tableau X: Linéarité: test de validité de la droite de régression (RDF)

Test de Fisher (F2) comparant les erreurs d'ajustement et expérimentales

	DDL	Somme des carrés	Variances	F2 calc.
Erreur de la régression	1	36168040226	36168040226	0.372
Erreur expérimentale	6	5.82649E+11	97108130075	

F (0.05; 1; 6) = 5.987

Test +**Tableau XI: Linéarité: test de validité de la droite de régression (STD)**

Test de Fisher (F2) comparant les erreurs d'ajustement et expérimentales

	DDL	Somme des carrés	Variances	F2 calc.
Erreur de la régression	1	1.74E+09	1.74E+09	0.022
Erreur expérimentale	6	4.64E+11	7.74E+10	

F (0.05; 1; 6) = 5.987

Test +**Comparaison des droites RDF et STD****Tableau XII : Comparaison des variances RDF et STD**

Test de Fisher (F3) comparant les variances de régression linéaires RDF et STD

	Variances	F3
RDF	5.9840E+12	
STD	6.24987E+12	1.0444E+00
F (0.05;8;8)=	3.44	Test +

Tableau XIII : Comparaison des pentes et ordonnées RDF et STD

Test de t pour démontrer l'égalité entre les régressions linéaires RDF et STD

Test de comparaison des ordonnées (test t)	0.2595	t (0.05;14)
	Test +	2.1448
Test comparaison des pentes (test t)	0.4103	t (0.05;14)
	Test +	2.1448

Tableau XV: Exactitude avec l'étalon 100%

Résultats (RDF, référence: l'étalon STD à 100%)

Recouvrement : quantité calculée au moyen du STD 100% quotidien/quantité introduite

% théorique	Essais (i/j)	C introduites [µg/ml]	C retrouvées [µg/ml]	Recouvr. (%)	Variances, S ² _j
80% (Groupe 1)	1/1	80.1	79.3	99.0	1.5
	2/1	80.1	80.2	100.2	
	3/1	80.1	78.3	97.7	
100% (Groupe 2)	1/2	100.1	100.6	100.5	0.3
	2/2	100.1	99.7	99.5	
	3/2	100.1	99.8	99.8	
120% (Groupe 3)	1/3	120.1	118.2	98.4	0.8
	2/3	120.1	118.5	98.6	
	3/3	120.1	120.1	100.0	
		Jour 1	Jour 2	Jour 3	
	b2 _{pen} 100%	1398630.0	1399508.7	1444921.7	

Tableau XV bis: Exactitude avec l'étalon 100%

Résultats (STD, référence: droite de régression du principe actif seul)

Recouvrement : quantité calculée au moyen du STD 100% quotidien/quantité introduite

% théorique	Essais (i/j)	C introduites [µg/ml]	C retrouvées [µg/ml]	Recouvr. (%)	Variances, S ² _j
80% (Groupe 1)	1/1	80.1	80.5	100.5	2.7
	2/1	80.1	79.7	99.5	
	3/1	80.1	77.9	97.3	
100% (Groupe 2)	1/2	100.1	101.2	101.1	1.8
	2/2	100.1	98.5	98.4	
	3/2	100.1	100.0	100.0	
120% (Groupe 3)	1/3	120.1	118.2	98.4	3.0
	2/3	120.1	116.7	97.1	
	3/3	120.1	120.8	100.5	
		Jour 1	Jour 2	Jour 3	
	Ordon. regr.a2	-528779.7	-322718.7	301691.6	
	Pente regr.b2	1443051.7	1448743.3	1411982.9	

Tableau XVI: Homogénéité des variances intragroupes

Test de Cochran démontrant que S2 est équivalent pour les 5 concentrations

Groupes	80%	100%	120%
n _j	3	3	3
S ² _j	1.4736	0.2531	0.7722
S ² _{max}	1.4736	C calculé=	0.5897
Somme S ²	2.4988	C (0.05;3;2)	0.8709

Test +

Tableau XVI bis: Homogénéité des variances intragroupes

Test de Cochran démontrant que S2 est équivalent pour les 5 concentrations

Groupes	80%	100%	120%
n _j	3	3	3
S ² _j	2.6668	1.8207	2.9900
S ² _{max}	2.9900	C calculé=	0.3999
Somme S ²	7.4775	C (0.05;3;2)	0.8709

Test +

Tableau XVII: Test de validité des moyennes

Test de Fisher (F3) comparant les erreurs intra-groupes et inter-groupes

Variations	DDL	Somme des carrés	Variances	F3 calc
Totale	8	6.822		1.095
Inter-groupes	2	1.824	0.912	
Intra-groupes	6	4.998	0.833	

F (0.05;2;6) =

5.1430

Test +

Tableau XVII bis: Test de validité des moyennes

Test de Fisher (F3) comparant les erreurs intra-groupes et inter-groupes

Variations	DDL	Somme des carrés	Variances	F3 calc
Totale	8	17.107		0.432
Inter-groupes	2	2.152	1.076	
Intra-groupes	6	14.955	2.493	

F (0.05;2;6) =

5.1430

Test +

Tableau XVIII: Estimation de l'intervalle de confiance

Exactitude de recouvrement et de l'intervalle de confiance

Moyenne des recouvr (%) =	Moy =	99.30	
Intervalle de confiance =	I=	Ymoy± t*ST√N	
t*ST√N	0.71	Recouvr.min =	98.59
t (0.05; 8) =	2.31	Recouvr.max =	100.01
N =	9		
ST = écart type	0.92		

Tableau XVIII bis: Estimation de l'intervalle de confiance

Exactitude de recouvrement et de l'intervalle de confiance

Moyenne des recouvr (%) =	Moy =	99.04	
Intervalle de confiance =	I=	Ymoy± t*ST√N	
t*ST√N	0.80	Recouvr.min =	98.24
t (0.05; 8) =	2.31	Recouvr.max =	99.85
N =	9		
ST = écart type	1.45		

Tableau XIX: Fidélité: résultats (5 RDF à 100% par jour; réf.: étalon 100%)

Résultats recalculé au moyen de l'étalon std 100% du jour correspondant

J	Essais	C introduites [µg/ml]	Surface	C retrouvées [µg/ml]	Recouvr. (%)	Moy. recouvr.
1	1/1	100.1	13930880	99.6	99.5	99.3
	2/1	100.1	13870960	99.2	99.1	
	3/1	100.1	14118359	100.9	100.9	
	4/1	100.1	14005117	100.1	100.1	
	5/1	100.1	13538457	96.8	96.7	
2	1/2	100.1	13740443	98.2	98.1	98.1
	2/2	100.1	13835948	98.9	98.7	
	3/2	100.1	13644627	97.5	97.4	
	4/2	100.1	13892621	99.3	99.1	
	5/2	100.1	13647497	97.5	97.4	
3	1/3	100.1	14459521	103.3	103.2	103.7
	2/3	100.1	14799942	105.8	105.7	
	3/3	100.1	14594433	104.3	104.2	
	4/3	100.1	14425594	103.1	103.0	
	5/3	100.1	14320794	102.3	102.2	
Moy. générale						100.4
		Jour 1	Jour 2	Jour 3		
b2 (pente 100%)		1398630.0	1399508.7	1444921.7		

Tableau XXI - Fidélité: tests statistiques (RDF, référence: étalon 100%)

Nb groupes	k	3
Nb mesures/groupe	n	5
Nb total de mesures	N	15
Somme des moy.	T1 = Smj	302.10
Somme des moy. au carré	T2 = Sm ² j	30434.98
Somme des variances	T3 = SS ² j	4.80
Variance de répétabilité (Variance =intragroupe intra-jour)	S ² r =T3/k	1.60
Variance inter-groupe (inter-jour)	S ² g = (1)	6.29
Variance de reproductibilité =Variance de fidélité interméd.	S ² R=S ² r+S ² g	7.89
Moyenne générale	m = T1/k	100.70

(1) $((k*T2)-T1^2)/(k(k-1))-S^2r/n$

Tableau XX: Fidélité: test d'homogénéité des variances intra-groupes (intra-jour)

Test de Cochran démontrant que S^2 est équivalent pour chacun des 3 jours ; référence étalon 100%

	J 1	J 2	J 3
n_j	5	5	5
S^2_j	2.4368	0.6291	1.7352
m_j	99.2518	99.1815	103.6682
DDL	4	4	4
S^2_{max}	2.4368	C calculé	0.5076
Somme S^2_j	4.8011	C (0.05;3;4)=	0.7460

Test +

Tableau XXII : Comparaison des variances de fidélité et d'exactitude

Test de Fisher démontrant que S^2_R et S^2_E sont cohérentes			
	DDL	Variance	F3
Fidélité (S^2_R)	12	7.8869	9.4688
Exactitude (S^2_E)	6	0.8329	

F (0.05;12;6) 4.0000

1/F (0.05;6;12) 0.2500

Anomalie

OK

Tableau XXI : Analyse de la variance inter-jours (A)

Test sur la significativité de la variance inter-jours comparée à la variance intra-jour

Source de variation	Somme des carrés Q	DDL	Quantité estimée q	
Facteur A (inter-jours)	-18.2772	2	-9.1386	qA
Répétabilité (intra-jour)	122.8310	12	10.2359	qr
Totale	104.5539	14	7.4681	

F3 = -0.8928 A non significatif $s^2 = (qA - qr)/n$ -3.8749

F (0.05;2;12) 3.8900

Tableau XXIII : Paramètres de fidélité

Coefficient de variation de répétabilité	CVr	100*Sr/m	1.2563%
Coefficient de variation de répétabilité de fidélité intermédiaire	CVR	100*SR/m	2.7888%

Effet jour significatif

4. AM

Tableau I: Linéarité: données brutes (RDF = formes pharmaceutiques reconstituées)

Essais (i/j)	C cible théorique [µg/ml]	C [µg/ml]	Teneur en PA (% réels)	Surfaces
1/1		80.1	80.1%	21009698.0
2/1		80.1	80.1%	23116976.0
3/1		80.1	80.1%	23064286.0
1/2	100.0	100.2	100.2%	27313784.0
2/2	100.0	100.2	100.2%	28793703.0
3/2	100.0	100.1	100.1%	29373531.0
1/3		120.2	120.2%	32832735.0
2/3		120.2	120.2%	35266324.0
3/3		120.1	120.1%	35189890.0

Pente	3003370.5364	-1633647.3044	Intrec (a)
Se_b	232408.4267	2358008.1725	Se_a
r ²	0.9598	1140085.3130	S
F	166.9991	7.0000	DDL (N-2)
ssreg	2.17064E+14	9098561646398.240	ssresid
Variance b	5.40E+10	5.56E+12	Variance a

Tableau II: Linéarité: données brutes (STD = principes actifs seuls)

Essais (i/j)	C cible théorique [µg/ml]	C [µg/ml]	Teneur en PA (% réels)	Surfaces
1/1		80.0	80.0%	20349691.0
2/1		80.1	80.1%	20164344.0
3/1		80.1	80.1%	20807475.0
1/2	100.0	100.0	100.0%	25776953.0
2/2	100.0	100.1	100.1%	26978562.0
3/2	100.0	100.1	100.1%	25698128.0
1/3		120.0	120.0%	31190918.0
2/3		120.2	120.2%	31724431.0
3/3		120.2	120.2%	31567788.0

Pente	2761078.9822	-1609701.7234	Intrec (a)
Se_b	91698.7801	930063.1459	Se_a
r ²	0.9923	449682.4373	S
F	906.6310	7.0000	DDL (N-2)
ssreg	1.83334E+14	1415500060610.4600	ssresid
Variance b	8.41E+09	8.65E+11	Variance a

Tableau III: Linéarité: étude statistique (RDF et STD)

	RDF	STD	tthéor. (5%)
Pente b	3003370.5364	2761078.9822	
Ordonée a	-1633647.3044	-1609701.7234	
Coeff. corr. r	0.9797	0.9962	
Inter = 0	0.6928	1.7307	t (0.05;7)
Test t	Test +	Test +	2.365

Forme pharmaceutique reconstituée (RDF)

Tableau IV: Linéarité: changement de variables (RDF)

J	C [µg/ml]	Surfaces	Moy. C [µg/ml]	Surfaces	Variances
1	80.1	21009698.0	80.1	21003290.8	1.46E+12
	80.1	23116976.0		23110568.8	
	80.1	23064286.0		23077100.4	
2	100.2	27313784.0	100.1	27305775.0	1.15E+12
	100.2	28793703.0		28785694.0	
	100.1	29373531.0		29389549.0	
3	120.2	32832735.0	120.2	32823124.2	1.94E+12
	120.2	35266324.0		35256713.2	
	120.1	35189890.0		35209111.6	
N = 9		Nombre de jours = 3		Groupes, k = 3	

Solutions standards (STD)

Tableau V: Linéarité: changement de variables (STD)

J	C [µg/ml]	Surfaces	Moy. C [µg/ml]	Surfaces	Variances
1	80.0	20349691.0	80.1	20367361.9	1.07E+11
	80.1	20164344.0		20155508.5	
	80.1	20807475.0		20798639.5	
2	100.0	25776953.0	100.1	25799041.6	5.03E+11
	100.1	26978562.0		26967517.7	
	100.1	25698128.0		25687083.7	
3	120.0	31190918.0	120.1	31217424.4	6.37E+10
	120.2	31724431.0		31711177.8	
	120.2	31567788.0		31554534.8	
N = 9		Nombre de jours = 3		Groupes, k = 3	

Forme pharmaceutique reconstituée (RDF)

Tableau VI: Test d'homogénéité des variances intra-groupes (RDF)

Test de Cochran démontrant que S² (variance) est équivalent pour les 3 C

Groupes (niveaux)	1	2	3
N _j	3	3	3
S ² _j	1.46E+12	1.15E+12	1.94E+12
S ² _{max}	1.46E+12	C calculé =	3.21E-01
Somme S ²	4.54E+12	C (0.05;3;2)=	0.8709

Test +

Solutions standards (STD)

Tableau VII: Test d'homogénéité des variances intra-groupes (STD)

Test de Cochran démontrant que S² (variance) est équivalent pour les 3 C

Groupes (niveaux)	1	2	3
N _j	3	3	3
S ² _j	1.07E+11	5.03E+11	6.37E+10
S ² _{max}	5.03E+11	C calculé =	7.46E-01
Somme S ²	6.74E+11	C (0.05;3;2)=	0.8709

Test +

Tableau VIII: Linéarité: test d'existence d'une pente significative (RDF)

Test de Fisher (F1) démontrant l'existence d'une relation linéaire entre x et y

Variations	DDL	Somme des carrés	Variances	F1 calc.
Variation totale	8	2.2616E+14	2.8270E+13	166.999
Variation due à la régression	1	2.17064E+14	2.17064E+14	
Variation résiduelle	7	9.0986E+12	1.29979E+12	

F (0.05; 1; 7) = 5.591

Test +

Tableau IX: Linéarité: test d'existence d'une pente significative (STD)

Test de Fisher (F1) démontrant l'existence d'une relation linéaire entre x et y

Variations	DDL	Somme des carrés	Variances	F1 calc.
Variation totale	8	184749239411297	2.30937E+13	906.631
Variation due à la régression	1	1.83334E+14	1.83334E+14	
Variation résiduelle	7	1.4155E+12	2.02214E+11	

F (0.05; 1; 7) = 5.591

Test +

Tableau X: Linéarité: test de validité de la droite de régression (RDF)

Test de Fisher (F2) comparant les erreurs d'ajustement et expérimentales

	DDL	Somme des carrés	Variances	F2 calc.
Erreur de la régression	1	12928697039	12928697039	0.009
Erreur expérimentale	6	9.08563E+12	1.51427E+12	

F (0.05; 1; 6) = 5.987

Test +**Tableau XI: Linéarité: test de validité de la droite de régression (STD)**

Test de Fisher (F2) comparant les erreurs d'ajustement et expérimentales

	DDL	Somme des carrés	Variances	F2 calc.
Erreur de la régression	1	6.75E+10	6.75E+10	0.301
Erreur expérimentale	6	1.35E+12	2.25E+11	

F (0.05; 1; 6) = 5.987

Test +**Comparaison des droites RDF et STD****Tableau XII : Comparaison des variances RDF et STD**

Test de Fisher (F3) comparant les variances de régression linéaires RDF et STD

	Variances	F3
RDF	2.8270E+13	8.1689E-01
STD	2.30937E+13	
F (0.05;8;8)=	3.44	Test +

Tableau XIII : Comparaison des pentes et ordonnées RDF et STD

Test de t pour démontrer l'égalité entre les régressions linéaires RDF et STD

Test de comparaison des ordonnées (test t)	0.0094	t (0.05;14)
	Test +	2.1448
Test comparaison des pentes (test t)	0.9698	t (0.05;14)
	Test +	2.1448

Tableau XV: Exactitude avec l'étalon 100%

Résultats (RDF, référence: l'étalon STD à 100%)

Recouvrement : quantité calculée au moyen du STD 100% quotidien/quantité introduite

% théorique	Essais (i/j)	C introduites [µg/ml]	C retrouvées [µg/ml]	Recouvr. (%)	Variances, S ² _j
80% (Groupe 1)	1/1	80.1	81.5	101.7	27.6
	2/1	80.1	85.8	107.1	
	3/1	80.1	89.9	112.3	
100% (Groupe 2)	1/2	100.2	106.0	105.8	22.1
	2/2	100.2	106.9	106.7	
	3/2	100.1	114.5	114.4	
120% (Groupe 3)	1/3	120.2	127.4	106.0	17.2
	2/3	120.2	130.9	108.9	
	3/3	120.1	137.1	114.2	
		Jour 1	Jour 2	Jour 3	
	b2 _{pen} 100%	2577179.9	2694084.5	2566220.1	

Tableau XV bis: Exactitude avec l'étalon 100%

Résultats (STD, référence: droite de régression du principe actif seul)

Recouvrement : quantité calculée au moyen du STD 100% quotidien/quantité introduite

% théorique	Essais (i/j)	C introduites [µg/ml]	C retrouvées [µg/ml]	Recouvr. (%)	Variances, S ² _j
80% (Groupe 1)	1/1	80.1	82.4	102.9	23.5
	2/1	80.1	89.1	111.3	
	3/1	80.1	89.1	111.3	
100% (Groupe 2)	1/2	100.2	105.7	105.5	12.2
	2/2	100.2	108.8	108.6	
	3/2	100.1	112.6	112.5	
120% (Groupe 3)	1/3	120.2	126.1	104.9	12.1
	2/3	120.2	131.2	109.2	
	3/3	120.1	134.3	111.8	
		Jour 1	Jour 2	Jour 3	
	Ordon. regr.a2	-1330546.8	-2611105.2	-876318.8	
	Pente regr.b2	2709764.8	2885981.4	2686317.4	

Tableau XVI: Homogénéité des variances intragroupes

Test de Cochran démontrant que S2 est équivalent pour les 3 concentrations

Groupes	80%	100%	120%
n _j	3	3	3
S ² _j	27.649	22.125	17.215
S ² _{max}	27.649	C calculé =	0.413
Somme S ²	66.990	C (0.05;3;2)	0.871

Test +

Tableau XVI bis: Homogénéité des variances intragroupes

Test de Cochran démontrant que S2 est équivalent pour les 3 concentrations

Groupes	80%	100%	120%
n _j	3	3	3
S ² _j	23.492	12.223	12.140
S ² _{max}	23.492	C calculé =	0.491
Somme S ²	47.855	C (0.05;3;2)	0.871

Test +

Tableau XVII: Test de validité des moyennes

Test de Fisher (F3) comparant les erreurs intra-groupes et inter-groupes

Variations	DDL	Somme des carrés	Variances	F3 calc
Totale	8	145.387		0.255
Inter-groupes	2	11.407	5.704	
Intra-groupes	6	133.979	22.330	

F (0.05;2;6) =

5.1430

Test +

Tableau XVII bis: Test de validité des moyennes

Test de Fisher (F3) comparant les erreurs intra-groupes et inter-groupes

Variations	DDL	Somme des carrés	Variances	F3 calc
Totale	8	97.346		0.051
Inter-groupes	2	1.636	0.818	
Intra-groupes	6	95.710	15.952	

F (0.05;2;6) =

5.1430

Test +

Tableau XVIII: Estimation de l'intervalle de confiance

Exactitude de recouvrement et de l'intervalle de confiance

Moyenne des recouvr(%) =	Moy =	108.56	
Intervalle de confiance =		Ymoy± t*ST√N	
t*ST√N	3.28	Recouvr.min =	105.29
t (0.05; 8) =	2.31	Recouvr.max =	111.84
N =	9		
ST = écart type	4.26		

Tableau XIX: Fidélité: résultats (5 RDF à 100% par jour; réf.: étalon 100%)

Résultats recalculé au moyen de l'étalon std 100% du jour correspondant

J	Essais	C introduites [µg/ml]	Surfaces	C retrouvées [µg/ml]	Recouvr. (%)	Moy. recouvr.
1	1/1	10.0	28667008	11.1	111.0	108.5
	2/1	10.0	27655224	10.7	107.1	
	3/1	10.0	27849658	10.8	107.8	
	4/1	10.0	28052042	10.9	108.6	
	5/1	10.0	27850966	10.8	107.8	
2	1/3	10.0	28758306	10.7	106.6	107.6
	2/3	10.0	28993606	10.8	107.4	
	3/3	10.0	29337480	10.9	108.7	
	4/3	10.0	28893328	10.7	107.1	
	5/3	10.0	29239166	10.9	108.4	
3	1/5	10.0	29388988	10.9	109.0	109.9
	2/5	10.0	29901532	11.1	110.9	
	3/5	10.0	29676596	11.0	110.1	
	4/5	10.0	29761806	11.0	110.4	
	5/5	10.0	29384500	10.9	109.0	
Moy. générale						108.7
			Jour 1	Jour 2	Jour 3	
b2 (pente 100%)			2577179.9	2694084.5	2566220.1	

Tableau XVIII bis: Estimation de l'intervalle de confiance

Exactitude de recouvrement et de l'intervalle de confiance

Moyenne des recouvr(%) =	Moy =	100.45	
Intervalle de confiance =		Ymoy± t*ST√N	
t*ST√N	1.92	Recouvr.min =	106.36
t (0.05; 8) =	2.31	Recouvr.max =	110.20
N =	9		
ST = écart type	3.46		

Tableau XXI - Fidélité: tests statistiques (RDF, référence: étalon 100%)

Nb groupes	k	3
Nb mesures/groupe	n	5
Nb total de mesures	N	15
Somme des moy.	T1 = Smj	326.45
Somme des moy. au carré	T2 = Sm ² j	35525.49
Somme des variances	T3 = SS ² j	3.81
Variance de répétabilité (Variance =intragroupe intra-jour)	S ² r =T3/k	1.27
Variance inter-groupe (inter-jour)	S ² g = (1)	0.60
Variance de reproductibilité =Variance de fidélité interméd.	S ² R=S ² r+S ² g	1.87
Moyenne générale	m = T1/k	108.82

(1) ((k*T2)-T1²/(k(k-1)))-S²r/n

Tableau XX: Fidélité: test d'homogénéité des variances intra-groupes (intra-jour)

Test de Cochran démontrant que S^2 est équivalent pour chacun des 3 jours ; référence étalon 100%

	J 1	J 2	J 3
n_j	5	5	5
S^2_j	2.2866	0.7934	0.7269
m_j	108.4654	108.1206	109.8667
DDL	4	4	4
$S^2_{j,max}$	2.2866	C calculé	0.6007
Somme S^2_j	3.8069	C (0.05;3;4)=	0.7460

Test +

Tableau XXII : Comparaison des variances de fidélité et d'exactitude

Test de Fisher démontrant que S^2_R et S^2_E sont cohérentes			
	DDL	Variance	F3
Fidélité (S^2_R)	12	1.8703	0.0838
Exactitude (S^2_E)	6	22.3299	

F (0.05;12;6) 4.0000

1/F (0.05;6;12) 0.2500

OK

Anomalie

Tableau XXI : Analyse de la variance inter-jours (A)

Test sur la significativité de la variance inter-jours comparée à la variance intra-jour

Source de variation	Somme des carrés Q	DDL	Quantité estimée q	
Facteur A (inter-jours)	-0.5446	2	-0.2723	qA
Répétabilité (intra-jour)	28.4868	12	2.3739	qr
Totale	27.9422	14	1.9959	

F3 = -0.1147 A non significatif $s^2 = (qA - qr)/n$ -0.5292

F (0.05;2;12) 3.8900

Tableau XXIII : Paramètres de fidélité

Coefficient de variation de répétabilité	CVr	100*Sr/m	1.0352%
Coefficient de variation de répétabilité de fidélité intermédiaire	CVR	100*SR/m	1.2568%

Effet jour non significatif

-
- ⁱ Delaloye V. Administration des médicaments par voie parentérale aux soins intensifs, évaluation et validation des pratiques infirmières. Travail de diplôme de DESS, Pharmacie du CHUV, Lausanne, 2006
- ⁱⁱ Backhouse CM, Ball P, Booth S, Kelshaw MA, Potter SR, Mc Collum CN. Particulate contaminants of intravenous medications and infusions. *J Pharm Pharmacol* 1987 ; 39 (4) : 241-245.
- ⁱⁱⁱ Lehr HA, Brunner J, Rangoonwala R, Kirkpatrick CJ. Particulate matter contamination of intravenous antibiotics aggravates loss of functional capillary density in postischemic striated muscle. *AM J Respir Crit Care Med* 2002 ; 165(4) : 514-520.
- ^{iv} Stella VJ. Chemical and physical bases determining the instability and incompatibility of formulated injectable drugs. *J Parenter Sci Technol* 1986 ; 40 : 142-163.
- ^v Trissel LA. Handbook on injectable Drugs. 5th ed. Bethesda : 1988
- ^{vi} Newton DW. Physicochemical determinants of incompatibility and instability of drugs for injections and infusions. *Am J Hosp Pharm* 1978 ; 35 : 1213-1222
- ^{vii} Newton DW, Fung EYY, Williams DA. Stability of five catecholamines and terbutaline sulfate in 5% dextrose injection in the absence and presence of aminophylline. *Am J Hosp Pharm* 1981 ; 38 : 1314-1319.
- ^{viii} Trissel LA. Handbook on Injectable Drugs. 13th ed. Bethesda: 2005.
- ^{ix} Compendium Suisse des Médicaments. 27^{ème} ed. Bâle : 2006
- ^x Fonzo-Christe C. Administration prophylactique de thiosulfate de sodium lors de traitement par nitroprussiate de sodium (Nipruss[®]). *GSASA NEWS* 2002; 16 (4) : 100-102
- ^{xi} Notice d'emballage du fournisseur du Nipruss
- ^{xii} Marcoz N. Etude de stabilité des solutions injectables d'amiodarone. Université de Genève. 2003
- ^{xiii} The Merck Index 12th ed. Budavari S. 1996. USA. 500-1
- ^{xiv} Clark's Isolation and Identification of Drugs 2^{ed}. Moffat A C. 1986. London. 345-6, 568-9, 571, 819-820
- ^{xv} www.medicinescomplete.com/mc/. 15.06.07
- ^{xvi} Skoog, West et Holler. Chimie analytique. De Boeck Université 1997. Italie. 665 p. 17
- ^{xvii} Rosser R, Caude M, Jardy A. Chromatographie en phases liquide et supercritique. Masson 1991. Paris. 17
- ^{xviii} Zeller FP, Anders RJ. Compatibility of intravenous drugs in a coronary intensive care unit. *Drug Intell Clin Pharm* 1986 ; 20(5) : 349-352