

Master en Pharmacie

Travail Personnel de Recherche

Evaluation de trois pompes employées pour la perfusion continue de ceftazidime chez les enfants avec mucoviscidose

présenté à la

Faculté des sciences de
L'Université de Genève

par

Christelle Rossire

Service de Pharmacie du CHUV

Prof. André Pannatier

Autres responsables

Dr. Ermindo Di Paolo
Dr. Lina Berger
Dr. Gaudenz Hafen
Mme. Stéphanie Lamon

Genève
2012

Remerciements

En premier lieu, je tiens à remercier tout particulièrement le Docteur Ermindo Di Paolo, Pharmacien responsable de l'Assistance Pharmaceutique de Pédiatrie, d'avoir supervisé cette étude. Je le remercie également pour son soutien ainsi que pour la confiance qu'il m'a témoignée tout au long de ce travail.

Un immense merci à la Doctoresse Lina Berger, Pharmacienne responsable du Laboratoire de Contrôle Qualité du Service de Pharmacie du CHUV, pour ses explications concernant toute la partie analytique de cette étude. Je tiens à la remercier pour son aide précieuse, sa patience, sa confiance ainsi que pour ses conseils avisés.

Je tiens à faire part de ma gratitude au Professeur André Pannatier, Pharmacien-Chef du Service de Pharmacie du CHUV, pour m'avoir offert l'opportunité de découvrir le milieu hospitalier ainsi que pour la confiance qu'il m'a accordée.

Un grand merci au Docteur Gaudenz Hafen, Médecin associé dans l'Unité de Pneumologie Pédiatrique, pour le temps qu'il m'a consacré, ses conseils et l'intérêt porté à mon travail.

Je remercie Madame Lorena Rizzo, Infirmière Cheffe d'Unité de Soin en Hospitalisation Pédiatrique, pour sa collaboration et l'aide apportée lors de mes passages répétés à l'étage de la pédiatrie.

Merci aussi à Madame Stéphanie Lamon, Pharmacienne responsable des fabrications ad hoc non cytotoxiques, de m'avoir permis d'assister à la préparation des cassettes de ceftazidime en zone aseptique. Merci à Monsieur Jean-Christophe Devaud, Pharmacien responsable des fabrications par lots, et au docteur Grégory Podilsky, Pharmacien responsable de l'Unité de Production et des fabrications ad hoc cytotoxiques, pour leur aide lors des problèmes informatiques rencontrés.

Mes remerciements vont également à Madame Béatrice Pellet, Pharmacienne coordinatrice des essais clinique, pour avoir pris le temps de m'aider à récolter les résultats des différentes mesures de température.

Je remercie chaleureusement l'ensemble de l'équipe du Laboratoire de Contrôle Qualité du Service de Pharmacie du CHUV pour leur accueil sympathique et leurs précieux conseils.

Merci aux firmes BBraun Medical, Smiths Medical et Acemedical pour leur disponibilité et leurs réponses à mes nombreuses questions.

Un grand merci à Anne, David et Laurent pour leur accueil, leur aide et leurs conseils judicieux. Merci encore pour leur bonne humeur contagieuse pendant toute la durée de mon travail.

Mes remerciements vont également à Séverine pour ses remarques constructives et le temps consacré à la relecture attentive de cet écrit.

Merci à Elodie pour son amitié précieuse, son soutien sans faille et sa joie de vivre pendant ces quatre années d'études. Merci à Odile pour son humour distractif et son amitié sincère. Merci également à Sabrina pour son aide, sa présence et ses encouragements durant ces 14 semaines.

Pour finir, un grand merci à Thomas et à ma famille pour leur présence et leur soutien sans limite. Merci encore pour leur très grande patience tout au long de mes études.

Résumé

La mucoviscidose est la maladie génétique autosomale récessive la plus répandue dans la communauté blanche, touchant, en Europe du Nord, 1 naissance sur 3200. Un des principaux problèmes de cette maladie est les infections pulmonaires, dues en grande partie à *Pseudomonas aeruginosa*. Pour combattre ces infections, les enfants mucoviscidosiques doivent effectuer, en plus des nombreux autres traitements nécessaires, des cures antibiotiques sur 14 jours et cela, plusieurs fois par année. Ce traitement est souvent composé d'une bêta-lactame, généralement la ceftazidime, et d'un aminoglycoside. Grâce aux pompes à perfusion électriques portables, la ceftazidime est, de nos jours, majoritairement administrée sous forme de perfusion continue sur 24h. Ces dispositifs présentent plusieurs désavantages, tels que leur poids ou leurs fausses alarmes, ce qui rend leur substitution par des diffuseurs élastomériques tentante. Lors de l'administration de l'antibiotique sur 24h par un dispositif de perfusion portable, ce dernier est exposé à des températures supérieures à 25°C. Il s'agit de la température à partir de laquelle la ceftazidime se dégrade de manière significative, libérant un produit potentiellement toxique, la pyridine.

Le premier objectif de ce travail était de comparer les performances des diffuseurs élastomériques *AutoSelector®* et *Easypump®1* (Acemedical et BBraun Medical), du point de vue de leur débit, à celles de la pompe électrique *CADD-Legacy®1* (Smiths Medical) lors de la perfusion d'une solution de ceftazidime. Dans un deuxième temps, la stabilité de cet antibiotique a été investiguée.

Afin de mesurer les débits des différents systèmes de perfusion, une méthode gravimétrique a été utilisée. Pour étudier l'effet de la concentration de la solution médicamenteuse, des solutions de ceftazidime de 30 et 60 mg/ml ont été employées alors que l'effet de la température a été investigué à 13 et 25°C. La stabilité de la ceftazidime a été, quant à elle, analysée par Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC) dans des conditions normales de conservation et d'utilisation.

A 25°C, le débit de *l'AutoSelector®*, lors de la perfusion de la solution à 30 mg/ml, est inférieur de plus de 10% à son débit nominal (4 ml/h) et n'est donc pas conforme aux normes du fabricant. Au contraire, les perfuseurs *Easypump®1* et *CADD-Legacy®1* présentent des débits moyens (4.94 et 4.11 mg/ml) similaires à leur débit nominal (5 et 4.2 ml/h). Les deux dispositifs élastomériques présentent une diminution de débit de plus de 10% lors de l'augmentation de la concentration et de plus de 30% lors de la baisse de la température, avec pour conséquence une dose incomplètement administrée. La température influence les comportements du régulateur de débit et de l'élastomère. Par contre, le débit de la pompe électrique n'est pas influencé par ces deux paramètres. L'étude de stabilité *in vitro* démontre que la ceftazidime reste stable pendant 18h à température ambiante et pendant 7j au frigo. L'antibiotique ne se dégrade également pas à plus de 10% en 24h tant que la température n'excède pas les 30°C. Néanmoins, la quantité de pyridine produite est supérieure à la norme autorisée (0.4%) dès que la température dépasse les 25°C. La dégradation de l'antibiotique est réduite lorsque le diffuseur est placé à 13°C, tout comme la libération de pyridine. L'analyse d'échantillons provenant de patients a démontré que même après 6j au frigo suivi de 24h d'administration, la dégradation de l'antibiotique n'excède pas les 10%. Cependant, même lorsque l'administration suit la préparation de la solution, la quantité de pyridine libérée excède les 0.4%.

En conclusion, il ressort de ce travail que le dispositif d'administration de la ceftazidime sur 24h doit être maintenu à une température inférieure à 25°C (isolant ou *cold pack*) afin de diminuer la libération de pyridine. Sur la base des mesures effectuées, seule la pompe électrique *CADD-Legacy®1* supporte une baisse de la température. Toutefois, les diffuseurs élastomériques pourraient être utilisés à condition de pouvoir augmenter leur débit manuellement de façon à ce que la dose d'antibiotique soit complètement administrée. Cette manipulation est possible avec le diffuseur *AutoSelector®*.

Liste des abréviations

CFTR	Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator
Cl ⁻	Ion chlorure
Na ⁺	Ion sodium
PBPs	Penicillin-Binding Proteins
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
ABS	Acrylonitrile Butadiène Styrene
DEHP	Phtalate de bis(2-EthylHexyle)
PVC	Polychlorure de Vinyle
NaCl	Chlorure de Sodium
HPLC	High-Performance Liquid Chromatography
DAD	Diode Array Detection
SFSTP	Société française des Sciences et Techniques Pharmaceutiques
CV	Coefficient de Variation
R ²	Coefficient de détermination

Table des matières

1	INTRODUCTION	1
1.1	LA MUCOVISCIDOSE	1
1.2	LA CEFTAZIDIME.....	2
1.3	LES POMPES À PERfusion PORTABLES	3
1.4	CONTEXTE DE L'ÉTUDE	4
1.5	REVUE DE LA LITTÉRATURE	4
1.6	OBJECTIFS DU TRAVAIL	5
2	MATÉRIEL ET MÉTHODE	6
2.1	MESURES DU DÉBIT	6
2.1.1	<i>Présentation des perfuseurs</i>	6
2.1.2	<i>Description générale de la méthode.....</i>	6
2.1.3	<i>Influence de la concentration de la solution médicamenteuse</i>	8
2.1.4	<i>Influence de la température du système de perfusion.....</i>	8
2.2	ETUDE DE STABILITÉ DE LA CEFTAZIDIME	9
2.2.1	<i>Validation de la méthode de dosage par HPLC</i>	9
2.2.2	<i>Température du perfuseur</i>	10
2.2.3	<i>Etude de stabilité in vitro</i>	10
2.2.4	<i>Etude de stabilité en clinique</i>	12
3	RÉSULTATS	13
3.1	MESURES DU DÉBIT	13
3.1.1	<i>Influence de la concentration</i>	13
3.1.2	<i>Influence de la température.....</i>	16
3.2	ETUDE DE STABILITÉ DE LA CEFTAZIDIME	22
3.2.1	<i>Validation de la méthode de dosage par HPLC</i>	22
3.2.2	<i>Température du perfuseur.....</i>	22
3.2.3	<i>Etude de stabilité in vitro</i>	23
3.2.4	<i>Etude de stabilité en clinique</i>	24
4	DISCUSSION DES RESULTATS	26
4.1	MESURES DU DÉBIT	26
4.1.1	<i>Influence de la concentration de la solution médicamenteuse</i>	26
4.1.2	<i>Influence de la température du système de perfusion.....</i>	28
4.2	ETUDE DE STABILITÉ DE LA CEFTAZIDIME	29
4.2.1	<i>Validation de la méthode de dosage par HPLC</i>	29
4.2.2	<i>Température de perfuseur</i>	29
4.2.3	<i>Etude de stabilité in vitro</i>	29
4.2.4	<i>Etude de stabilité en clinique</i>	30
5	CONCLUSION	32
6	PERSPECTIVES.....	33
7	BIBLIOGRAPHIE	34
8	ANNEXES	36

1 INTRODUCTION

1.1 La mucoviscidose

La mucoviscidose, ou fibrose kystique, est la maladie héréditaire à transmission autosomale récessive la plus fréquente dans la communauté blanche (1, 2). Sa prévalence en Europe du Nord est d'une naissance sur 3200 (1). Cette maladie génétique est la conséquence d'une mutation du gène CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator) codant pour un canal ionique responsable, en particulier, du transport de l'anion chlorure (Cl^-). Dans la population blanche, 1 personne sur 20 est porteuse d'un gène défectueux (2). La dysfonction du produit de ce gène, à savoir la protéine transmembranaire CFTR, engendre un échange perturbé de chlorure, de sodium et d'eau entre la cellule et le milieu extracellulaire conduisant à la production de sécrétions anormalement épaisse et visqueuses (1, 2). En effet, la rétention du chlorure à l'intérieur des cellules empêche la sortie passive de l'eau, provoquant ainsi la déshydratation du mucus (3). Seules les personnes homozygotes présentent des manifestations cliniques (1).

La mucoviscidose est une maladie multisystémique qui affecte en particulier les poumons, le système digestif, y compris le pancréas, et les glandes sudoripares (4). Au niveau du pancréas, les cellules sont remplacées par du tissu fibreux et les canaux pancréatiques sont obstrués par le mucus. Ces événements ont pour conséquence d'empêcher le déversement dans l'intestin des enzymes digestives produites par le pancréas, ce qui provoque une malabsorption et donc des carences nutritives considérables (5). En ce qui concerne les glandes sudoripares, l'orientation du flux ionique étant inversé (3), la sueur qu'elles sécrètent contient une concentration anormalement élevée de chlorure (Cl^-) et de sodium (Na^+) (5). Ce phénomène est utilisé pour le dépistage de la maladie qui est effectué par dosage du chlorure contenu dans la sueur après stimulation des glandes sudoripares (5, 6). Un test génétique peut également être effectué pour mettre en évidence la mutation du gène CFTR (2, 7).

Les conséquences les plus graves de la maladie proviennent de l'atteinte pulmonaire qui conditionne le pronostic vital et qui est responsable de plus de 90% de la mortalité (1, 8). En temps normal, la muqueuse bronchique sécrète une fine couche de mucus qui est éliminée en direction des voies respiratoires supérieures grâce aux cils des cellules ciliées de l'épithélium. Ce processus permet le renouvellement continu de la couche de mucus ainsi que l'élimination des particules inhalées, y compris les micro-organismes (2). Chez un patient mucoviscidosique, la dysfonction du canal chlore de l'épithélium pulmonaire engendre un assèchement du mucus. Ce dernier est ainsi plus épais et provoque une diminution de la fonction mucociliaire. La couche de mucus n'est que partiellement éliminée, ce qui mène à une obstruction des bronches et bronchioles, diminuant les échanges gazeux et provoquant des problèmes respiratoires d'ordre inflammatoire ainsi que des infections pulmonaires chroniques (1, 2). La colonisation bactérienne du système respiratoire, favorisée par la diminution de leur élimination, accélère le déclin pulmonaire et diminue ainsi l'espérance de vie des patients (2). Alors qu'en 1985, cette dernière ne dépassait pas les 25 ans, elle s'élève aujourd'hui à plus de 37 ans (9). Cette augmentation de l'espérance de vie est due aux progrès réalisés au niveau des traitements, notamment grâce à l'utilisation d'antibiotiques dès le stade précoce des infections pulmonaires (10-12).

Les germes responsables de ces infections pulmonaires chroniques varient en fonction de l'âge des patients. Les deux bactéries problématiques chez les patients mucoviscidosiques sont *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*. Dans les stades avancés de la maladie, la majorité de ces infections sont dues à la bactérie gram-négatif *Pseudomonas aeruginosa* (1, 12-14). Pour contrer ces infections, les patients atteints de mucoviscidose doivent effectuer des cures intraveineuses d'antibiotiques durant 14 jours et cela plusieurs fois par année (1, 2). Trois familles d'antibiotiques

sont actives contre ce germe, il s'agit des bêta-lactamines, des aminoglycosides et des fluoroquinolones (15). En général, le traitement consiste en une association d'une bêta-lactame de la famille de céphalosporines, la ceftazidime, et d'un aminoglycoside, la tobramycine (1, 16).

1.2 La ceftazidime

Les céphalosporines sont une des classes d'antibiotiques les plus prescrites dans le monde. Ceci peut s'expliquer par leur large spectre d'action ainsi que leur faible toxicité (17, 18). Elles font partie de la grande famille des bêta-lactamines et leur structure se compose d'un noyau formé par un cycle bêta-lactame et un cycle latéral dihydrothiazine (13, 18). Il s'agit d'antibiotiques semi-synthétiques dérivés du composé naturel, la céphalosporine C, produit par *Cephalosporium acremonium* (17). Ces molécules ont une activité bactéricide. Elles agissent en empêchant la formation de la paroi cellulaire lors de la division bactérienne par blocage de la synthèse des peptidoglycans conduisant ainsi à la lyse cellulaire (19). Pour ce faire, l'antibiotique se lie aux enzymes Penicillin-Binding Proteins (PBPs) (13). Ces antibiotiques sont généralement bien tolérés. Néanmoins, avec l'usage de plus en plus répandu des céphalosporines, il en ressort une augmentation du nombre d'allergies (17). Les céphalosporines peuvent provoquer des réactions immunologiques (14, 17, 18, 20, 21) allant des simples réactions cutanées au choc anaphylactique (17, 20). Ces réactions allergiques sont plus marquées avec les troisième et quatrième générations. En effet, il semblerait que ces céphalosporines stimulent d'une manière plus prononcée la production d'IgE spécifiques (18).

Chez les enfants mucoviscidosiques, la ceftazidime est l'antibiotique le plus couramment utilisé dans le cadre d'infections pulmonaires chroniques à *Pseudomonas aeruginosa* (16). Cette molécule fait partie de la troisième génération des céphalosporines et son activité se concentre surtout sur les Grams négatifs. Il s'agit de la première céphalosporine active contre les *Pseudomonas* (13). La ceftazidime est bien tolérée chez l'enfant et son efficacité a été démontrée à maintes reprises (22-24). En ce qui concerne la pharmacocinétique, le temps de demi-vie de la ceftazidime est de 2h et son élimination a lieu en majorité par filtration glomérulaire (25). Cet antibiotique était généralement administré sous forme de trois courtes perfusions par jour. Cependant, la perfusion en continu sur 24h pour traiter les exacerbations pulmonaires aiguës est de plus en plus répandue (16). Il a été démontré que la perfusion continue de l'antibiotique sur 24h est au moins aussi sûre et efficace que l'administration intermittente (19, 26, 27) et qu'elle présente plusieurs avantages par rapport aux perfusions tri-quotidiennes. En effet, la ceftazidime, en tant que bêta-lactamine, est un antibiotique « temps-dépendant ». Cela signifie que le succès du traitement dépend du temps pendant lequel la concentration de l'antibiotique au site d'action est supérieure à la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) du germe causant l'infection que l'on cherche à traiter (19, 28-30). Lors d'une perfusion en continu, ce temps est optimisé, ce qui augmente les chances de succès du traitement antibiotique (19, 26, 29). De plus, l'administration continue de ceftazidime permet l'instauration d'un traitement en ambulatoire grâce à l'utilisation des pompes à perfusion portables. Cette pratique n'était guère possible lors des perfusions tri-quotidiennes étant donné le nombre de manipulations nécessaires (19). Ceci représente un avantage majeur permettant d'améliorer la qualité de vie des enfants mucoviscidosiques dont le quotidien est déjà bouleversé par le nombre de traitements nécessaires.

1.3 Les pompes à perfusion portables

De nos jours, la fréquence d'utilisation des pompes à perfusion portables pour les traitements en ambulatoire est en augmentation. En effet, leur usage permet une meilleure mobilité du patient et augmente ainsi son autonomie. Les pompes à perfusion portables sont surtout utilisées dans les domaines de l'anesthésie, de l'analgésie, de la chimiothérapie et de l'antibiothérapie (31). Ces dispositifs pour le traitement en ambulatoire possèdent le même système d'avancement du liquide, à savoir une force mécanique (32), et se divisent en deux grandes catégories : les pompes électriques (ou volumétriques) et les non électriques (ou diffuseurs portables).

Les pompes mécaniques électriques (*ex. : CADD-Legacy® 1, Smiths Medical (USA)*) sont programmables et fonctionnent grâce à un moteur qui assure une pression positive tout au long de la perfusion du médicament. Le système de poussée se compose soit d'une cassette soit d'une tubulure (32). Un des modes de fonctionnement de ces pompes électriques est le péristaltisme linéaire consistant en une série de contractions/relaxations de la tubulure permettant de faire avancer le liquide à travers cette dernière afin de garantir une perfusion en continu.

En ce qui concerne les pompes mécaniques non électriques, il en existe trois types, à savoir les diffuseurs mécaniques élastomériques (*ex. : AutoSelector® Acemedical (Corée) et Easypump® 1, BBraun Medical (Allemagne)*), de poussées (*Springfusor®, Go Medical Industries (Australie)*) et à détente du vide (*ex. : OutBound®, CME McKineley (Royaume-Uni)*) (31, 33). Les pompes élastomériques se composent d'un ballon en membrane élastomérique à haute élasticité contenu dans une pochette protectrice souple ou rigide (31). Lorsque le médicament est introduit à l'intérieur du ballon, la membrane élastomérique se trouve étirée, ce qui augmente sa pression. Une pression positive est donc appliquée sur le liquide, permettant ainsi la perfusion continue de ce dernier (31). L'élastomère utilisé est d'origine naturelle ou synthétique et la membrane peut être composée d'une ou plusieurs couches d'élastomère. Une membrane multicouche peut être utile lors d'une augmentation de la résistance à l'écoulement (31) comme dans le cas de la perfusion d'une solution à viscosité élevée. Les diffuseurs mécaniques de poussées se composent, quant à eux, d'un ressort et d'un compartiment dans lequel le médicament est introduit. Lors du remplissage du dispositif avec le liquide médicamenteux, le ressort se trouve compressé. Ce dernier se détend petit à petit afin de libérer l'énergie stockée lors de sa compression. Cette détente applique une pression positive sur le compartiment contenant le médicament, ce qui permet la perfusion de ce dernier (31). Le troisième type de diffuseur est le dispositif de détente à vide. Il se compose d'une chambre à pression atmosphérique et d'une chambre à basse pression séparée du réservoir médicamenteux à l'aide d'une plaque de poussée. Lors du remplissage du dispositif avec la solution médicamenteuse, l'air du compartiment à basse pression est comprimé. La perfusion de médicament est possible grâce à la pression positive appliquée par la plaque poussée par l'air comprimé lors du remplissage (31, 33). Il existe également des dispositifs permettant, en plus de la perfusion continue sur un certain laps de temps, l'administration de bolus (31). Dans tous les cas, un régulateur de débit est nécessaire afin d'obtenir un débit fixe tout au long de la perfusion. Le régulateur se trouve sur la tubulure en aval de la pompe et est constitué d'un capillaire en verre ou en plastique suivant le débit désiré (31).

Les diffuseurs portables non électriques sont apparus un peu plus tard sur le marché, à la fin des années 80. En règle générale, les patients ont une préférence pour ce type de dispositif (34) et leur utilisation ne cesse de croître notamment grâce à leurs nombreux avantages par rapport aux dispositifs portables électriques (31). Tout d'abord, leur petite taille et leur légèreté permettent au patient une meilleure mobilité. Ensuite, leur coût est inférieur à celui des pompes électriques (33). Pour finir, l'absence de fausses alertes rend la maladie moins visible et diminue l'anxiété du patient et de son entourage (31). Cependant, l'absence d'alertes peut également être considérée comme un désavantage.

En effet, en cas de problème lors de la perfusion avec une pompe non électrique, le patient et les soignants ne sont pas avertis (31). De plus, le débit est moins précis que celui des perfuseurs électriques (31, 35).

1.4 Contexte de l'étude

Au CHUV, les enfants souffrant de mucoviscidose sont hospitalisés plusieurs fois par année afin de traiter les infections pulmonaires chroniques à l'aide de cures antibiotiques intraveineuses sur 14 jours. Ils reçoivent généralement de la ceftazidime sur 23h30 à l'aide d'un perfuseur mécanique électrique portable, la *CADD-Legacy®1*, fonctionnant avec un système de cassette, ainsi qu'un aminoglycoside sur 30 minutes grâce à une pompe fixe. La *CADD-Legacy®1* présente plusieurs inconvénients tels son poids et ses fausses alertes. Il est donc tentant de la remplacer par un dispositif élastomérique. Tous ces systèmes de perfusion sont portés près du corps grâce à un petit sac, ce qui signifie qu'ils peuvent être exposés à des températures supérieures à 25°C. De ce fait, la stabilité de la ceftazidime sur 24h pourrait être remise en cause.

1.5 Revue de la littérature

Dans l'optique d'une éventuelle substitution d'une pompe électrique portable par un diffuseur élastomérique, une étude préalable de la littérature a été réalisée.

Beaucoup d'études ont été effectuées dans le but d'évaluer ces perfuseurs élastomériques (35-45). Il en ressort que les patients préfèrent ces diffuseurs, qui permettent de rendre la maladie moins visible à l'inverse des dispositifs électriques (34). Cependant, il est aussi nécessaire de prendre en compte les performances de ces diffuseurs élastomériques en ce qui concerne leur débit. En effet, lorsque ce dernier diffère du débit prescrit, les concentrations sanguines obtenues peuvent se trouver en-dehors de la zone thérapeutique. Ces dispositifs présentent un profil cinétique bien particulier se caractérisant par un débit légèrement plus élevé au début et à la fin de la perfusion (35, 38, 39, 44). Il a été démontré que les pompes à perfusion élastomérique présentent plus de variations dans leur débit que les pompes mécaniques électriques (35). De plus, les conditions dans lesquelles les débits des perfuseurs non électriques sont calibrés par les différents fabricants ne sont pas standardisées (31). Il ressort également de certaines études que le temps, pendant lequel les valeurs de débit de ces diffuseurs se trouvent à l'intérieur des marges définies par le fabricant (généralement ±15%), dépend du modèle de la pompe (34, 35, 39). Dans les diverses études s'intéressant aux débits des dispositifs de perfusion, ces derniers sont en général mesurés à l'aide d'une méthode gravimétrique (35, 37, 39, 43-46). Quelques études ont analysé l'influence de certains facteurs sur le débit des pompes élastomériques. Il s'avère que la température (35, 37-39, 42), la viscosité des solutions médicamenteuses (37, 42), la pression atmosphérique (47, 48), la position de la pompe par rapport au point d'injection dans le corps du patient (37) ainsi que la pression à l'intérieur de la pompe (44) jouent un rôle sur la précision du débit de ces perfuseurs. La relation entre le débit et la viscosité d'une solution est donnée par la Loi de Poiseuille (37) (Annexe 1). La concentration influence le débit d'un perfuseur car elle conditionne la viscosité de la solution médicamenteuse. En ce qui concerne l'influence de la température, cette dernière modifie le débit de deux manières. Premièrement, un changement de température modifie la viscosité de la solution à perfuser et donc, selon la Loi de Poiseuille, le débit du perfuseur. Deuxièmement, les régulateurs de débits sont sensibles à la température et leur diamètre varie en fonction de celle-ci, ce qui engendre une modification du débit (35, 38) (Annexe 1). Seule l'attitude des régulateurs de débit face à des changements de température a été investiguée et quelques articles suggèrent l'étude de son influence sur l'ensemble du système de perfusion (35, 39).

Etant donné que la ceftazidime est de plus en plus administrée sous forme de perfusion continue sur 24h, il est également nécessaire de s'intéresser à sa stabilité. Cette dernière a déjà été bien étudiée (28-30, 49-55). Il ressort de différentes études que la dégradation de la ceftazidime peut être problématique lors d'une perfusion continue sur 24h. En effet, il semblerait que la conservation de cet antibiotique n'atteigne pas ce délai lorsque la température dépasse les 25°C (54, 55). Au-delà de cette température, la dégradation devient significative. Parmi ses produits de dégradation se trouve la pyridine (30, 50, 51, 53-55), composé particulièrement toxique pour les systèmes digestif et nerveux central ainsi que pour le foie (53). L'effet sur ce dernier est inquiétant, en particulier pour les patients mucoviscidosiques dont la maladie engendre déjà une dégradation de cet organe (2). Le fait que la solution médicamenteuse soit contenue dans une pompe à perfusion ne permet pas d'empêcher la production de pyridine (30, 52-55). Une solution pour diminuer la dégradation de la ceftazidime serait d'utiliser un *cold pack* permettant de diminuer la température des perfuseurs pendant l'administration de la ceftazidime (24).

En ce qui concerne l'utilisation de la ceftazidime, la dose généralement utilisée chez un enfant atteint de mucoviscidose pour traiter une infection pulmonaire à *Pseudomonas aeruginosa* est de 150 mg/kg/j. Selon le fabricant, cet antibiotique peut être stocké, soit 18h à température ambiante, soit jusqu'à 7j au frigo (51, 56). Cependant, la littérature précise également que la ceftazidime reste stable pendant 24h à température ambiante (57).

1.6 Objectifs du travail

Cette étude visait deux objectifs principaux. En premier lieu, il s'agissait de comparer les débits de deux pompes élastomériques, à savoir *l'AutoSelector®* et *l'Easypump®1*, à celui de la pompe électrique *CADD-Legacy®1*, lorsqu'elles perfusent une solution de ceftazidime. Dans ce cadre, l'influence de la concentration de l'antibiotique a été étudiée, ainsi que l'effet d'un abaissement de la température du système de perfusion dans le but de savoir si l'utilisation d'un *cold pack* pouvait être envisageable. Le deuxième objectif de ce travail était d'analyser, par Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC), la stabilité de la ceftazidime à l'intérieur d'un perfuseur élastomérique en reproduisant les conditions de conservation et d'utilisation de cet antibiotique.

2 MATÉRIEL ET MÉTHODE

2.1 Mesures du débit

Les débits des trois dispositifs de perfusion, *AutoSelector®*, *Easypump®1* et *CADD-Legacy®1* ont été mesurés en faisant varier la température des perfuseurs ainsi que la concentration de la solution médicamenteuse perfusée.

2.1.1 Présentation des perfuseurs

Les trois dispositifs de perfusion étudiés sont présentés ci-dessous. Des photos des perfuseurs ainsi que des informations supplémentaires sont regroupées dans l'Annexe 2.

A) *AutoSelector®*, *Acemedical (Corée)*, lot n°A1101-0110100225.

Il s'agit d'un diffuseur portable élastomérique. Le réservoir élastomérique possède une capacité de 100 ml et est composé d'un ruban en silicium. Il est protégé par une coque rigide en Polycarbonate et ABS. Le régulateur de débit est en verre et la tubulure en PVC. Le dispositif est équipé d'une valve anti-reflux et possède un filtre à air 1,2 µm. Le débit (0, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 ml/h) est choisi manuellement. Dans le cadre de ce travail, le débit était réglé à 4 ml/h. La précision de débit donnée par le fabricant est de ± 10%.

B) *Easypump®1*, *BBraun Medical (Allemagne)*, lot n°172997.

Il s'agit également d'une pompe mécanique élastomérique dont le réservoir est composé d'une membrane élastique à double paroi. La paroi interne est constituée d'un élastomère polymère tandis que du latex compose la paroi externe. Le réservoir élastomérique est protégé par une poche souple en PVC. Le régulateur de débit est en verre et la tubulure en PVC. Le dispositif est équipé d'une valve anti-reflux et possède un filtre à air 0.02 µm et à particules 1.2 µm. La capacité du réservoir est de 125 ml et le débit est fixe à 5 ml/h. La précision de débit donnée par le fabricant est de ± 15%. Lors de ce travail, ce dispositif a été utilisé avec une extension de tubulure, *l'Injectomat® Line 1.3ml*, *Fresenius Kabi (Allemagne)*, lot n°84073121.

C) *CADD-Legacy®1*, *Smiths Medical (USA)*, série n°34726.

Il s'agit d'une pompe mécanique électrique dont le système de poussée se compose d'une *Cassette réservoir de médicament CADD®*, *Smiths Medical (Allemagne)*, lot n°11X318. L'avancée du liquide se fait grâce à un système de péristaltisme linéaire. Cette cassette est faite de PVC et la tubulure de PVC, ABS et polypropylène. Dans le cadre de ce travail, le débit choisi était de 100 ml/24h. La précision du débit donnée par le fabricant est de ± 6%. Lors de cette étude, cette pompe à perfusion a été utilisée avec une extension de tubulure, *l'Extension Set CADD®*, *Smiths Medical (USA)*, lots n°51X100/51X106/51X126.

2.1.2 Description générale de la méthode

Méthode gravimétrique

Le débit d'un perfuseur a été mesuré chaque minute pendant 24h à l'aide d'une méthode gravimétrique. Cette dernière consiste en une balance analytique *Excellence XS 60025*, *Mettler Toledo (Suisse)*, série n°B144422605, reliée à un ordinateur. Le perfuseur se vide petit à petit dans un erlenmeyer déposé sur la balance. A l'aide du logiciel démo *BalanceLink® 4.0.2*, *Mettler Toledo (Suisse)*, dont le mode d'emploi se trouve dans l'Annexe 3, le poids affiché sur la balance est reporté dans un document *Excel 2007*, *Microsoft (USA)* et transformé en une valeur de débit. La sortie de la tubulure dans l'erlenmeyer se situe 19 cm en-dessus du corps du perfuseur. Pour chaque expérience, une fiche de mesure était remplie. Cette dernière est présentée dans l'Annexe 4. La Figure 1 ci-après représente schématiquement l'installation utilisée.

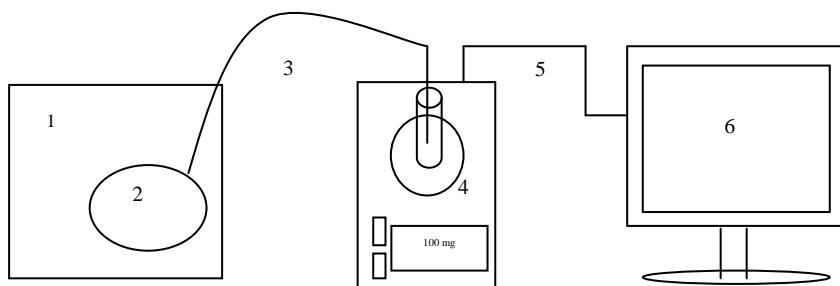


Figure 1: Schéma du système de mesure du débit ; 1) Enceinte thermostatisée 2) Pompe à perfusion 3) Tubulure 4) Balance avec Erlenmeyer 5) Câble série RS232 6) Ordinateur avec logiciel BalanceLink 4.0.2

Remarque : Même si le temps nominal de perfusion des pompes AutoSelector® et Easypump® 1 est de 25h, les mesures ont toutes été stoppées après 24h.

Solution médicamenteuse

Dans le cadre de cette étude, la solution perfusée était composée de *ceftazidime 1 ou 2g i.v., Actavis (Suisse), lots n°126A002B ou 127B002B* (Fiche produit de la ceftazidime en Annexe 5) dans du *NaCl 0.9%, BBraun Medical (Suisse), lots n°1037A231/120518132/120748131*. Les solutions de ceftazidime dans du NaCl 0.9% ont été préparées selon le mode opératoire figurant à l'Annexe 6. Les perfuseurs étaient remplis au volume nominal selon les modes d'emploi fournis par les fabricants (Annexe 7).

Choix des concentrations

Deux concentrations ont été testées afin de mettre en évidence une potentielle influence sur le débit de la pompe à perfusion. La première concentration était fixée à 60 mg/ml. Cette valeur correspond à une dose de 6 g/j pour un enfant de 40 kg (150 mg/kg/j). La seconde concentration choisie était à 30 mg/ml, correspondant au traitement d'un enfant de 20 kg.

Choix des températures

Deux températures différentes ont été testées afin de démontrer une éventuelle variation lors de l'utilisation d'un *cold pack*. La première température était fixée à $25 \pm 1^\circ\text{C}$. Ce choix s'explique par le fait que le diffuseur *AutoSelector®* a été conditionné à cette température. De plus, la ceftazidime se dégrade à des températures supérieures à 25°C (54, 55). En théorie, l'administration de ceftazidime à des températures plus élevées devrait être évitée. Dans le cadre de ce travail, il n'y avait donc pas d'utilité à tester le débit des perfuseurs à des températures supérieures. La seconde température était fixée à $13 \pm 1^\circ\text{C}$ afin de reproduire en partie l'utilisation d'un *cold pack* permettant de ralentir la dégradation de la ceftazidime lors de l'administration continue de cette dernière.

Traitements des résultats

Les données obtenues ont été traitées à l'aide du logiciel *Excel 2007, Microsoft (USA)*. Chaque 5 minutes, une moyenne des débits était calculée. A partir de ces résultats, les paramètres statistiques (moyenne, écart type, CV) étaient déterminés et les graphiques du débit en fonction du temps élaborés. Le temps de perfusion pendant lequel le débit du perfuseur se trouve entre des marges fournies par le fabricant a été calculé à partir du nombre de points du graphique se trouvant à l'intérieur de ces dernières. Un graphique représentant le poids cumulé de la solution de ceftazidime perfusée en fonction du temps a également été construit et une régression linéaire appliquée à la droite obtenue.

2.1.3 Influence de la concentration de la solution médicamenteuse

La viscosité des deux solutions (30 et 60 mg/ml) a été mesurée ($n=3$ pour les deux concentrations) à l'aide d'un rhéomètre *RheoStress 1, Haake (Allemagne), série n°120001747001*. La mesure s'est faite à une vitesse de cisaillement de 500 s^{-1} . Un test statistique de Student a été effectué sur les deux résultats observés et la différence entre ces deux derniers a été considérée comme significative si la valeur de p obtenue était inférieure à 0.005. Pour la mesure du débit, les deux concentrations ont été testées chacune en triplicata ($n=3$) pour chaque modèle de perfuseurs (*AutoSelector[®], Easypump[®] 1 et CADD-Legacy[®] 1*). Les mesures étaient effectuées à température constante ($25 \pm 1^\circ\text{C}$). Pour ce faire, le perfuseur était placé en entier dans un bain-marie *Fisherbrand[®] fb 11006, Fisher Scientific (USA), série n°000204096*. Un thermomètre à mercure était placé contre le dispositif de perfusion pour avoir un deuxième contrôle de la température. Les différents montages sont présentés dans l'Annexe 8.

2.1.4 Influence de la température du système de perfusion

Pour les mesures de débit à $13 \pm 1^\circ\text{C}$, les perfuseurs étaient placés en entier dans un *Frigo box CHW2424, Qonix (Suisse)*, afin de maintenir la température constante. Un thermomètre à mercure était également positionné contre le dispositif à perfusion. Par manque de temps, seule la concentration à 30 mg/ml a été étudiée pour chaque modèle de perfuseurs (*AutoSelector[®], Easypump[®] 1 et CADD-Legacy[®] 1*). Les mesures ont été effectuées en triplicata ($n=3$ pour chaque modèle).

Concernant le débit des trois perfuseurs à $25 \pm 1^\circ\text{C}$, les valeurs obtenues lors de l'étude de l'influence de la concentration de la solution médicamenteuse ont été reprises afin de les comparer aux débits obtenus à 13°C . Un exemple de montage pour chaque température est présenté pour le diffuseur *AutoSelector[®]* par les Figures 2 et 3 ci-après. Les montages détaillés pour chaque diffuseur sont regroupés dans l'Annexe 8.



Figure 2 : Montage lors de la mesure du débit de la pompe à perfusion AutoSelector[®] à 25°C



Figure 3 : Montage général des mesures de débits à 13°C

Expériences supplémentaires

A titre indicatif, trois autres conditions ont été investiguées pour les perfuseurs *Easypump[®] 1* et *AutoSelector[®]*. Tout d'abord, afin de différencier l'effet de la température sur l'élastomère et le régulateur de débit, le corps du perfuseur a été placé dans le *Frigo box* ($13 \pm 1^\circ\text{C}$) alors que le régulateur de débit demeurait à l'extérieur de ce dernier, à température ambiante ($22 \pm 1^\circ\text{C}$). Puis, afin de se rapprocher des conditions d'utilisation en clinique, le régulateur de débit a été thermostatisé à $31 \pm 1^\circ\text{C}$ à l'aide d'un bain-marie *Fisherbrand[®]* alors que le corps du perfuseur demeurait à température ambiante ($22 \pm 1^\circ\text{C}$). Pour terminer, le perfuseur a été positionné dans le *Frigo box* ($13 \pm 1^\circ\text{C}$) et le régulateur de débit thermostatisé à $31 \pm 1^\circ\text{C}$ à l'aide du même bain-marie. Par manque de temps, seule la concentration de 30 mg/ml a été testée ($n=1$ pour chaque modèle). Le montage du diffuseur *AutoSelector[®]* avec le corps à 13°C et le régulateur de débit à 31°C est présenté dans la

Figure 4 ci-après. Les photos des montages pour les différents perfuseurs sont présentées dans l'Annexe 8.



Figure 4 : Montage lors de la mesure du débit du perfuseur AutoSelector® à 13°C avec le régulateur de débit à 31°C

Remarque : Pour les tests des deux dernières conditions (corps du perfuseur à 22°C/régulateur de débit à 31°C et corps du perfuseur à 13°C/régulateur de débit à 31°C) un lot différent du diffuseur AutoSelector® a été utilisé (lot n°A1106-0110100215).

2.2 Etude de stabilité de la ceftazidime

2.2.1 Validation de la méthode de dosage par HPLC

La méthode de dosage de la ceftazidime par HPLC utilisée lors de cette étude avait été développée précédemment par le Laboratoire de Contrôle Qualité du Service de Pharmacie du CHUV. Elle a par contre été optimisée et validée dans le cadre de ce travail. Pour pouvoir utiliser une méthode de dosage d'un produit pharmaceutique, il est nécessaire de la valider conformément aux consignes de la Société Française des Sciences et Techniques Pharmaceutiques (SFSTP). Le protocole/rapport de validation contient tous les détails du déroulement de la validation, y compris la préparation des solutions standards d'étalonnage et de validation (Annexe 9).

Les solutions de ceftazidime utilisées dans le processus de validation étaient composées de *Ceftazidime 1g i.v./i.m., Actavis (Suisse), lot n°126A002B* et de *NaCl 0.9%, Bichsel (Suisse), lot n°1041011/10381211*. Toutes les pesées ont été effectuées sur une *balance analytique, modèle AX26 Delta Range, Mettler Toledo (Suisse), série n°1121222596*.

L'appareil HPLC est un équipement *Varian Prostar, Varian Medical Systems (USA)* se composant d'une pompe *Prostar 230 SDM, Varian Medical Systems (USA)*, série n°00196, d'un injecteur *Prostar 410 Autosampler, Varian Medical Systems (USA)*, série n°8015, et d'un détecteur *DAD Prostar 335 PDA Detector, Varian Medical Systems (USA)*, série n°EL05049046. L'ensemble de l'appareillage HPLC est piloté par informatique grâce au logiciel *Star Chromatography Workstation 6.41, série n°003070-2488-FAA-20F0*.

La phase mobile se composait d'un mélange 90/10 tampon phosphate pH 7.8/Acetonitrile, *Merck (Allemagne), lots n°I612030144/I616830150/I627430209*. Le tampon est obtenu en diluant le réactif *Law UV PIC A, Waters (USA), lots n°1975111391/3076112351* avec de l'Eau qualité HPLC, *Merck (Allemagne), lots n°Z260633201/Z260633207/Z262433210*. Le tampon phosphate obtenu était filtré sur des filtres *GH polypro (0.45 µm, 47mm), PALL corporation (Suisse), lot n° T84199* à l'aide d'un appareil de filtration en verre, *Sartorius (Allemagne)*. Son pH était mesuré grâce au pH-mètre

SevenMulti, Mettler Toledo (Suisse), série n°1232035453. Le Tableau 1 ci-après regroupe les principales conditions chromatographiques de la méthode de dosage de la ceftazidime.

Tableau 1 : Conditions chromatographiques de la méthode de dosage de la ceftazidime

Précolonne	Chromolith® RP-18 ^e (10x4.6mm), Merck (Allemagne), lot n° HX084555	Volume d'injection	20 µl
Colonne	Chromolith® RP-18 ^e (100x4.6 mm), Merck (Allemagne), lot n° 0B465476	Débit	1 ml/min
Phase aqueuse	Tampon Phosphate à pH 7.8 (90% V/V)	Temps d'analyse	6 min
Phase organique	Acétonitrile (10% V/V)	Longueur d'onde d'excitation	254 nm

Les résultats de la validation ont été calculés avec le logiciel *E-noval 3.0a, Arlenda (USA), série n°2012107281109*.

2.2.2 Température du perfuseur

Avant de tester la stabilité de la ceftazidime à différentes températures, il était nécessaire de s'assurer que la température de la solution à l'intérieur de la pompe soit la même que celle à la surface de cette dernière. Pour ce faire, un thermomètre avec sonde aiguille *Testo, Testo AG (Suisse), série n° 01151205/511* était introduit à l'intérieur de la pompe *AutoSelector®* et un thermomètre *LogTag Temperature Recorder®, LogTag (Nouvelle-Zélande), série n°7400004940* enregistrait la température à la surface de cette dernière toutes les 30 minutes. Les données ont été traitées à l'aide du logiciel *LogTag Analyzer®, LogTag (Nouvelle-Zélande)*. Un test statistique de Student a été effectué sur les deux températures observées (intérieure et extérieure) et la différence entre ces deux dernières a été considérée comme significative si la valeur de p obtenue était inférieure à 0.005.

La température à laquelle le perfuseur est réellement exposé lorsque ce dernier est porté près du corps pendant 24h a également été mesurée dans le but de connaître la température à laquelle les expériences d'administration simulées devaient être effectuées lors de l'étude de stabilité. Pour cette expérience, un thermomètre *LogTag Temperature Recorder®* était fixé à la surface du perfuseur *AutoSelector®*. Le tout était porté dans une petite sacoche autour de la taille pendant 24h lors d'une journée normale de travail en hiver. Le thermomètre enregistrait la température toutes les 30 minutes et les données ont été traitées à l'aide du logiciel *LogTag Analyzer®*. L'expérience a été effectuée en triplicata (n=3).

2.2.3 Etude de stabilité *in vitro*

Expériences

La stabilité de solutions à 60 mg/ml de *ceftazidime 2g i.v., Actavis (Suisse), lot n°27B002B*, dans du *NaCl 0.9%, BBraun Medical (Allemagne), lot n°120518132*, contenues dans des perfuseurs *AutoSelector®* a été étudiée dans différentes conditions. 6 g de ceftazidime étaient dissous dans 100 ml de NaCl. A chaque fois, le perfuseur était rempli avec 30 ml de cette solution médicamenteuse. Les échantillons prélevés étaient stockés dans des tubes en polypropylène et congelés dans un congélateur *Mediline, Fors (Suisse), série n°255569758* monitoré (-15 à -25°C) en attendant l'analyse par HPLC. Toutes les expériences ont été effectuées en triplicata (n=3 pour chaque condition).

A) A $25 \pm 1^\circ\text{C}$

Le choix de 25°C s'explique par le fait il s'agit de la température à partir de laquelle la ceftazidime se dégrade de manière significative. De plus, une partie des études de débit a été effectuée à cette température. Le perfuseur était placé pendant 24h dans un bain-marie *Fisherbrand[®], modèle fb 11006, Fisher Scientific (USA), série n°000204096*, afin d'assurer une température constante. Un thermomètre à mercure était placé contre le dispositif pour un second contrôle de la température. Un échantillon était prélevé à t_0 (avant le remplissage du perfuseur) et à $t_{24\text{h}}$.

B) A $13 \pm 1^\circ\text{C}$

Cette température a également été choisie en fonction de la température à laquelle le débit des perfuseurs a été testé. Cette expérience était destinée à reproduire, en partie, l'administration de l'antibiotique lorsque le perfuseur est contenu dans un *cold pack*. Pour ce faire, le perfuseur était positionné dans un *Frigo box, modèle CHW2424, Qonix (Suisse)*, pendant 24h et un thermomètre à mercure placé contre le dispositif à des fins de contrôle de la température. Un prélèvement était effectué à t_0 (avant le remplissage du perfuseur) et à $t_{24\text{h}}$.

C) En condition de simulation d'utilisation

Le perfuseur était placé dans une sacoche près du corps pendant 24h lors d'une journée normale de travail (le sac n'a pas quitté la personne pendant toute la durée de l'expérience). Afin de contrôler la température, un thermomètre *LogTag Temperature Recorder[®]* était fixé au dispositif et enregistrait la température chaque 30 minutes pendant toute la durée de l'expérience. Les données de températures étaient ensuite traitées à l'aide du logiciel *LogTag Analyzer[®]*. Un prélèvement était effectué à t_0 (avant le remplissage du perfuseur) et à $t_{24\text{h}}$.

D) En conditions ordinaires de stockage et d'administration simulée

Le fabricant précise que la ceftazidime peut être stockée soit 18h à température ambiante soit 7j au frigo (56). Ces deux conditions ont donc été étudiées.

Un perfuseur était placé pendant 18h à température ambiante dans un local monitoré (15 à 25°C). Des prélèvements étaient effectués à t_0 (avant le remplissage du perfuseur) et à $t_{18\text{h}}$. Un autre dispositif a été, quant à lui, conservé pendant 7j dans un frigo *Mediline, Fors (Suisse), série n°791618972*. Des prélèvements étaient effectués à t_0 , $t_{24\text{h}}$, $t_{48\text{h}}$ et $t_{7\text{j}}$.

Lors de l'expérience de 7j au frigo, deux échantillons étaient prélevés à chaque fois. Un des prélèvements était directement mis au congélateur tandis que le second était placé dans un *bain-marie Fisherbrand[®]* à 35°C pendant 24h afin de simuler une administration. L'échantillon était ensuite placé au congélateur.

Analyses HPLC

La méthode chromatographique présentée dans le chapitre 2.2.1 a été utilisée. Le seul changement apporté à la méthode était le temps d'analyse par échantillon qui a été augmenté à 10 minutes. Un standard externe a été utilisé pour le dosage. Pour ce faire, un témoin de concentration 0.1 mg/ml était préparé. La pyridine a également été dosée pour chaque échantillon à l'aide d'un standard externe d'une concentration de 1.15 mg/ml. Ce dosage a été effectué à titre indicatif étant donné que la méthode n'a pas été validée.

Tous les échantillons ont été décongelés à température ambiante pendant 1h. Ils étaient ensuite dilués d'un facteur 1000 à l'aide de la phase mobile, avant d'être analysés par HPLC. Chaque échantillon était injecté 2 fois de manière à obtenir une moyenne de la concentration de ceftazidime ainsi que de la quantité de pyridine. La concentration de ceftazidime est exprimée en mg/ml ainsi qu'en pourcent par rapport à la solution de départ. La quantité de pyridine est, quant à elle, exprimée en pourcent par rapport à la quantité de ceftazidime contenue dans la solution de départ.

2.2.4 *Etude de stabilité en clinique*

Expériences

La stabilité de la ceftazidime lors de l'administration chez deux enfants mucoviscidosiques hospitalisés et traités pour une infection pulmonaire à *Pseudomonas aeruginosa* a également pu être étudiée.

Les solutions de ceftazidime ont été préparées par l'Unité de fabrication de la Pharmacie du CHUV. Pour le premier patient (A), une solution de ceftazidime 90 mg/ml (lot n°P0P5X), a été préparée puis répartie dans 3 *cassettes réservoir de médicament CADD®* de façon à assurer 3 jours d'administration de l'antibiotique. Pour le second patient (B), une solution de ceftazidime 56 mg/ml (lot n°P0P5Q) a été préparée puis répartie dans 7 *cassettes réservoir de médicament CADD®* (pour 7j d'administration). Les cassettes étaient conservées au frigo jusqu'à leur utilisation. Après l'administration, elles étaient placées avec leur contenu résiduel au congélateur jusqu'au jour de l'analyse par HPLC.

Chez le patient A, des échantillons ont été récoltés à t_0 , avant le remplissage des cassettes, puis à t_{24h} , t_{48h} et t_{72h} (résidu contenu dans la cassette après administration). Pour le patient B, la récolte d'échantillons s'est faite selon le même schéma, mais sur 7 jours (t_0 , t_{24h} , t_{48h} , t_{72h} , t_{4j} , t_{5j} , t_{6j} et t_{7j}).

Pour les deux patients, un thermomètre *LogTag Temperature Recorder®* a été placé contre la première cassette (t_{24h}) afin d'avoir une idée des températures auxquelles la ceftazidime est exposée lors d'une administration chez un patient hospitalisé. Les données étaient ensuite traitées à l'aide du logiciel *LogTag Analyzer®*.

Analyses HPLC

Les cassettes ont été décongelées pendant 1h à température ambiante et les résidus des solutions contenues dans ces dernières récoltés dans des tubes en polypropylène. Les échantillons étaient ensuite dilués d'un facteur 1000 avec la phase mobile. Le dosage de la ceftazidime et de la pyridine s'effectuaient de la même manière que pour les échantillons de l'étude de stabilité *in vitro*.

3 RÉSULTATS

3.1 Mesures du débit

3.1.1 Influence de la concentration

Viscosité de la solution médicamenteuse

Les résultats obtenus lors de la mesure de la viscosité des solutions de ceftazidime à 30 et 60 mg/ml sont présentés en détail dans le Tableau A de l'Annexe 10. Le Tableau 2 ci-dessous présente la moyenne, l'écart type et le coefficient de variation obtenus à partir des trois mesures effectuée pour chacune des concentrations.

Tableau 2: Viscosité des solutions de ceftazidime 30 et 60mg/ml

	30 mg/ml	60 mg/ml
Moyenne [mPa*s]	1.21	1.34
Ecart type [mPa*s]	0.02	0.01
CV [%]	1.43	0.43

Selon le test statistique de Student, les moyennes des valeurs de viscosité des deux concentrations sont significativement différentes ($p < 0.005$).

Débits des perfuseurs

Les résultats détaillés obtenus lors de la perfusion des solutions de ceftazidime à 30 et 60 mg/ml avec les perfuseurs *AutoSelector®*, *Easypump®1* et *CADD-Legacy®1* sont présentés dans les Tableaux B et C de l'Annexe 10. Les Figures 5, 6 et 7 qui suivent regroupent les graphiques du débit obtenu en fonction du temps pour la perfusion des deux différentes concentrations (30 et 60 mg/ml). Il ressort de ces graphiques, que les courbes des trois mesures ($n=3$) se superposent pour chaque perfuseur et chaque concentration.

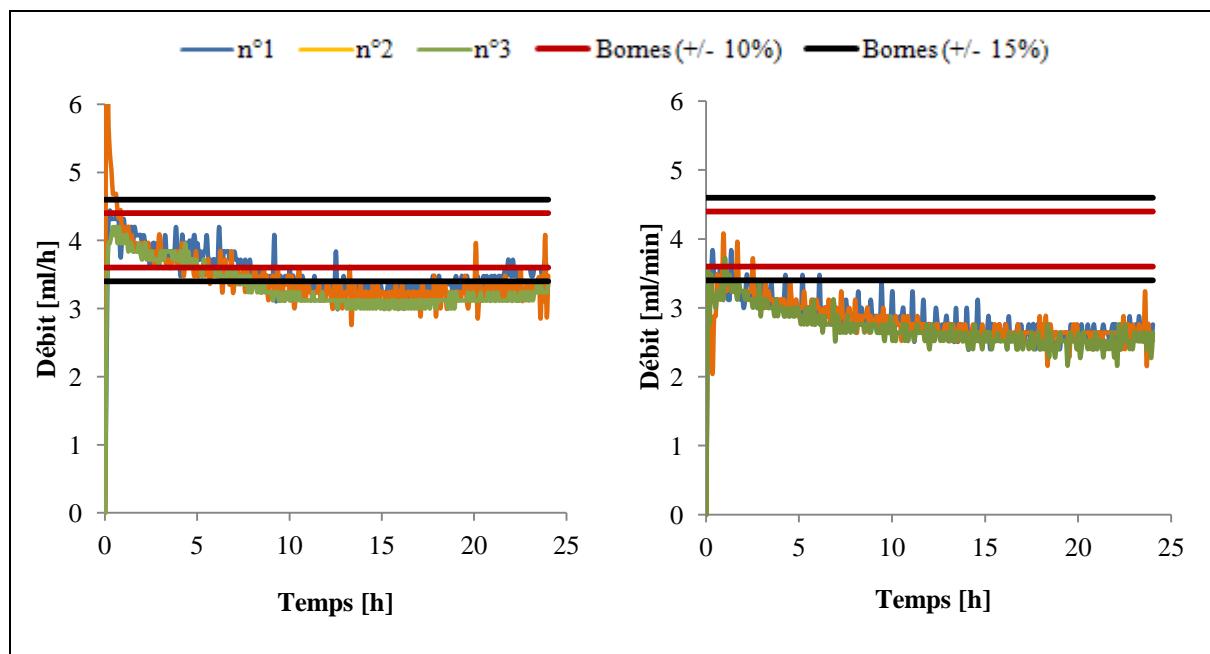


Figure 5 : Graphiques des débits en fonction du temps pour le perfuseur *AutoSelector®* lors de la perfusion de solutions de ceftazidime à 30 (à gauche) et 60 mg/ml (à droite)

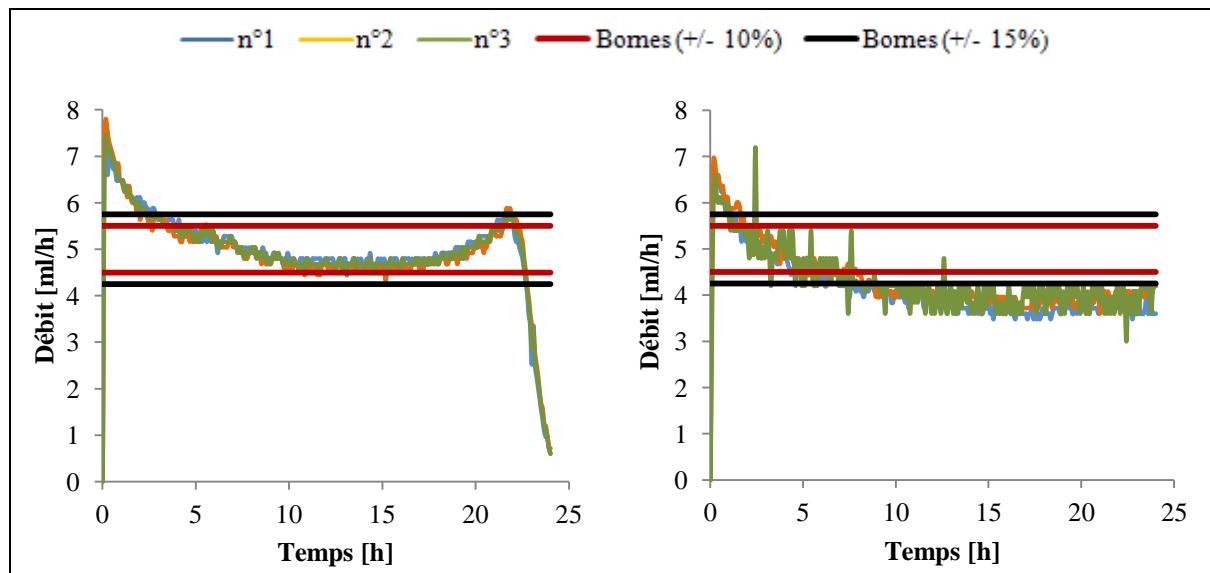


Figure 6 : Graphiques des débits en fonction du temps pour le perfuseur Easypump®1 lors de la perfusion de solutions de ceftazidime à 30 (à gauche) et 60 mg/ml (à droite)

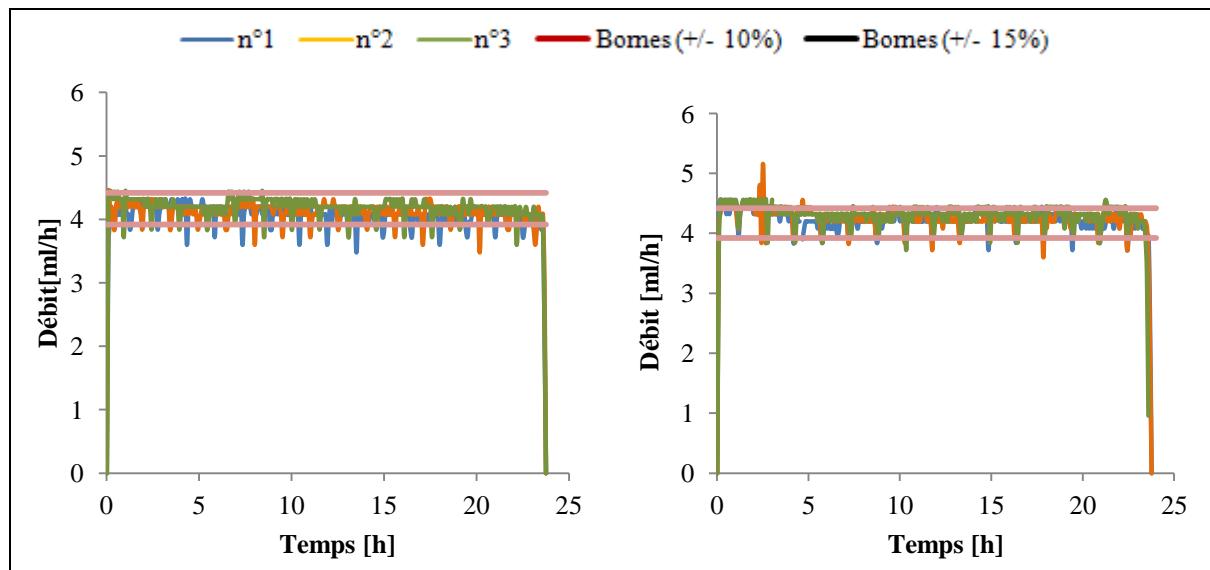


Figure 7 : Graphiques des débits en fonction du temps pour le perfuseur CADD-Legacy®1 lors de la perfusion de solutions de ceftazidime à 30 (à gauche) et 60 mg/ml (à droite)

Le Tableau 3 qui suit regroupe les paramètres statistiques moyens obtenus à partir des résultats de la mesure du débit des perfuseurs aux deux concentrations (30 et 60 mg/ml).

Tableau 3 : Paramètres statistiques moyens de l'étude de l'influence de la concentration sur le débit des perfuseurs AutoSelector®, Easypump®1 et CADD-Legacy®1 (à 25°C)

	AutoSelector®		Easypump®1		CADD-Legacy®1	
	30 mg/ml	60 mg/ml	30 mg/ml	60 mg/ml	30 mg/ml	60 mg/ml
Moyenne [ml/h]	3.44	2.89	4.94	4.25	4.11	4.26
Ecart type [ml/h]	0.11	0.26	0.03	0.10	0.05	0.06
CV [%]	3.11	8.90	0.61	2.32	1.23	1.44

Les moyennes obtenues montrent que le débit des diffuseurs élastomériques (AutoSelector® et Easypump®1) diminue lorsque la concentration de l'antibiotique augmente. Ce phénomène n'est pas observé avec la pompe électrique (CADD-Legacy®1). Les valeurs de CV sont plus élevées à la concentration de 60 mg/ml, synonyme d'une diminution de la reproductibilité des perfusions.

Cette tendance est confirmée par les graphiques présentés dans la Figure 8 ci-après. De plus, il ressort de cette figure, que le débit de la pompe électrique se trouve à l'intérieur des limites fournies par le fabricant ($\pm 6\%$ pour la *CADD-Legacy® 1*, $\pm 10\%$ pour *l'AutoSelector®* et $\pm 15\%$ pour *l'Easypump® 1*) pendant un plus grand laps de temps que les diffuseurs non électriques. Même pour la faible concentration (30 mg/ml), le débit du diffuseur *AutoSelector®* se situe en grande partie hors de ces marges. Avec *l'Easypump® 1*, le débit est à l'intérieur des limites seulement pour la perfusion de la solution la moins concentrée (30 mg/ml). Toutes les mesures de débit ont été stoppées au bout de 24h. Avec les deux pompes élastomériques, la perfusion de la solution n'était pas terminée. Ceci n'est pas étonnant étant donné que leur temps nominal de perfusion est de 25h. Cependant, d'après la Figure 8 ci-dessous, il semblerait que le diffuseur *AutoSelector®* dépasse son temps nominal d'administration même lors de la perfusion de la solution la moins concentrée, au contraire du perfuseur *Easypump® 1*. Concernant la pompe électrique *CADD-Legacy® 1*, la solution médicamenteuse était entièrement perfusée après 23h40, alors que son temps nominal de perfusion est de 24h.

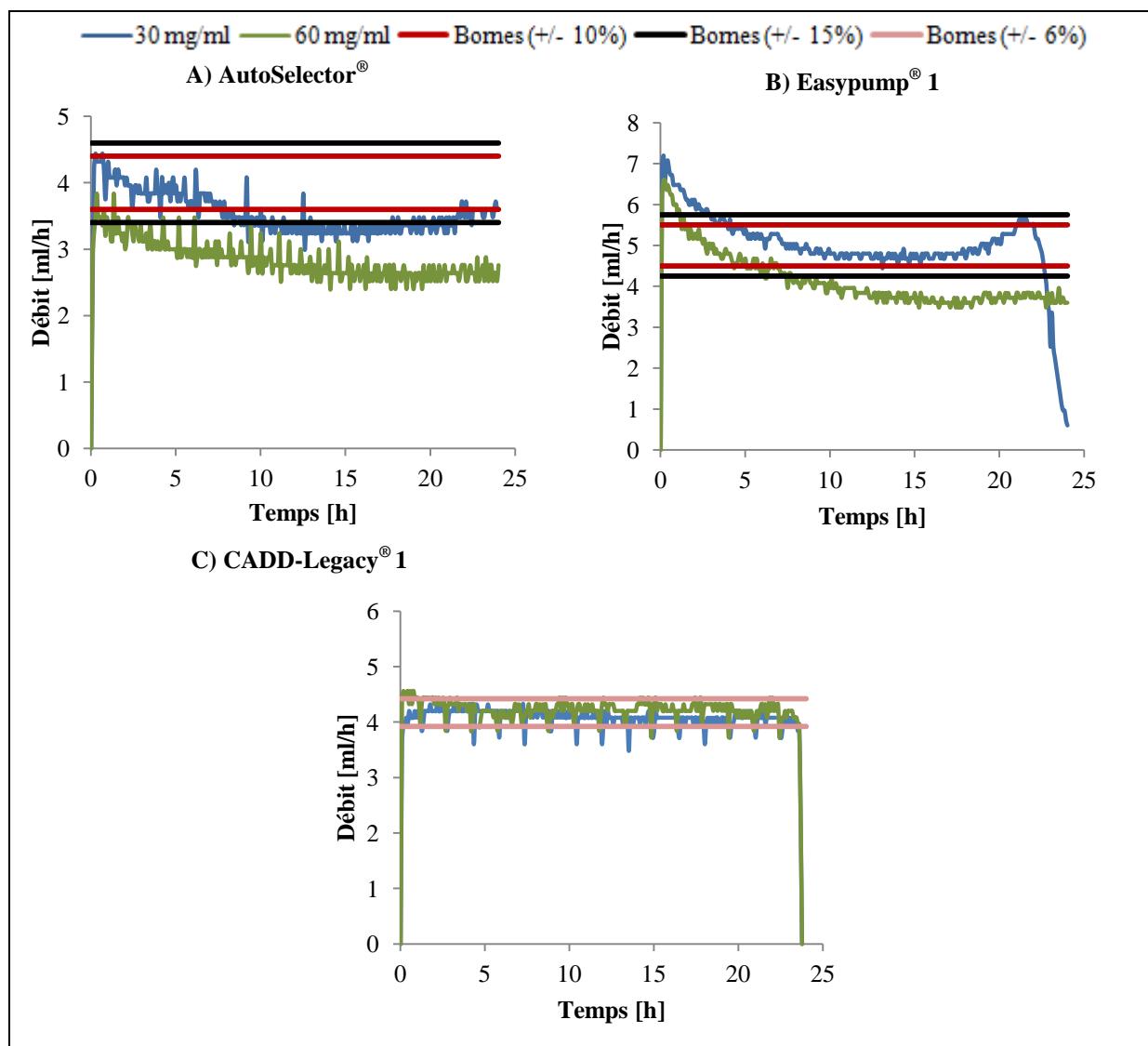


Figure 8 : Graphiques des débits en fonction du temps de perfusion pour les trois perfuseurs lors de la perfusion n°1 de solutions de ceftazidime à 30 (en bleu) et 60 mg/ml (en vert)

Le Tableau 4 présente la durée moyenne pendant laquelle le débit des perfuseurs se situe à l'intérieur des limites fournies par les fabricants ($\pm 6\%$ pour la *CADD-Legacy® 1*, $\pm 10\%$ pour *l'AutoSelector®* et $\pm 15\%$ pour *l'Easypump® 1*). Les résultats détaillés sont regroupés dans les Tableaux D et E de l'Annexe 10. Même en élargissant les marges à $\pm 15\%$, le diffuseur *AutoSelector®* reste le perfuseur dont le débit se trouve le plus longtemps à l'extérieur des limites.

Tableau 4 : Temps moyen pendant lequel le débit des perfuseurs se trouve à l'intérieur des marges définies par le fabricant pour les concentrations de ceftazidime de 30 et 60 mg/ml (à 25°C)

	AutoSelector®		Easypump® 1		CADD-Legacy® 1	
	30 mg/ml	60 mg/ml	30 mg/ml	60 mg/ml	30 mg/ml	60 mg/ml
Temps à $\pm 6\%$	-	-	-	-	22h	22h10
Temps à $\pm 10\%$	7h15	15 min	18h55	4h55	23H20	23h20
Temps à $\pm 15\%$	13h10	1h15	20h25	6h05	23H35	23h25

Un exemple de graphique de la quantité de solution perfusée en fonction du temps pour les trois perfuseurs est présenté dans la Figures A de l'Annexe 10. Les paramètres moyens des régressions linéaires appliquées ainsi que les quantités moyennes des solutions médicamenteuses perfusées en 24h sont regroupés dans le Tableau 5 qui suit. La pente des droites obtenues démontre également la diminution de la quantité d'antibiotique perfusé. Les détails de ces résultats sont présentés dans le Tableau F de l'Annexe 10.

Tableau 5 : Paramètres moyens de la droite représentant le poids cumulé en fonction du temps de perfusion des perfuseurs AutoSelector®, Easypump® 1 et CADD-Legacy® 1 pour des solutions de ceftazidime de 30 et 60 mg/ml (25°C)

	AutoSelector®		Easypump® 1		CADD-Legacy® 1	
	30 mg/ml	60 mg/ml	30 mg/ml	60 mg/ml	30 mg/ml	60 mg/ml
Pente	3.35	2.65	3.72	3.19	4.02	4.08
Ordonnée à l'origine	2.89	1.86	3.35	4.00	0.14	0.23
R²	0.9988	0.9987	0.999	0.9971	1	1
Quantité perfusée en 24h	78%	64.5%	92.6%	79.4%	94.9%	96.5%

Le diffuseur *AutoSelector®* n'atteint pas les 90% de quantité perfusée en 24h même lors de l'administration de la faible concentration (30 mg/ml). Il en va de même pour le perfuseur *Easypump® 1* lors de la perfusion de la solution la plus concentrée (60 mg/ml). Pour ces deux diffuseurs, l'augmentation de la concentration engendre une perte de quantité d'antibiotique perfusé de plus de 10 %.

3.1.2 Influence de la température

Les résultats pour les mesures du débit à 25°C sont repris de la section précédente. Le Tableau A de l'Annexe 11 présente les résultats détaillés obtenus lors de l'étude du débit des trois perfuseurs à 13°C.

La Figure 9 qui suit regroupe les graphiques du débit obtenu en fonction du temps à partir des mesures effectuées à 13°C. Pour le même modèle de pompe à perfusion, les courbes des trois mesures se superposent à nouveau. Il ressort également de ces graphiques que les débits des pompes élastomériques sont passablement influencés par un abaissement de la température. En effet, celui-ci diminue avec la baisse de cette dernière. Encore une fois, ce phénomène n'est pas observé avec la pompe électrique.

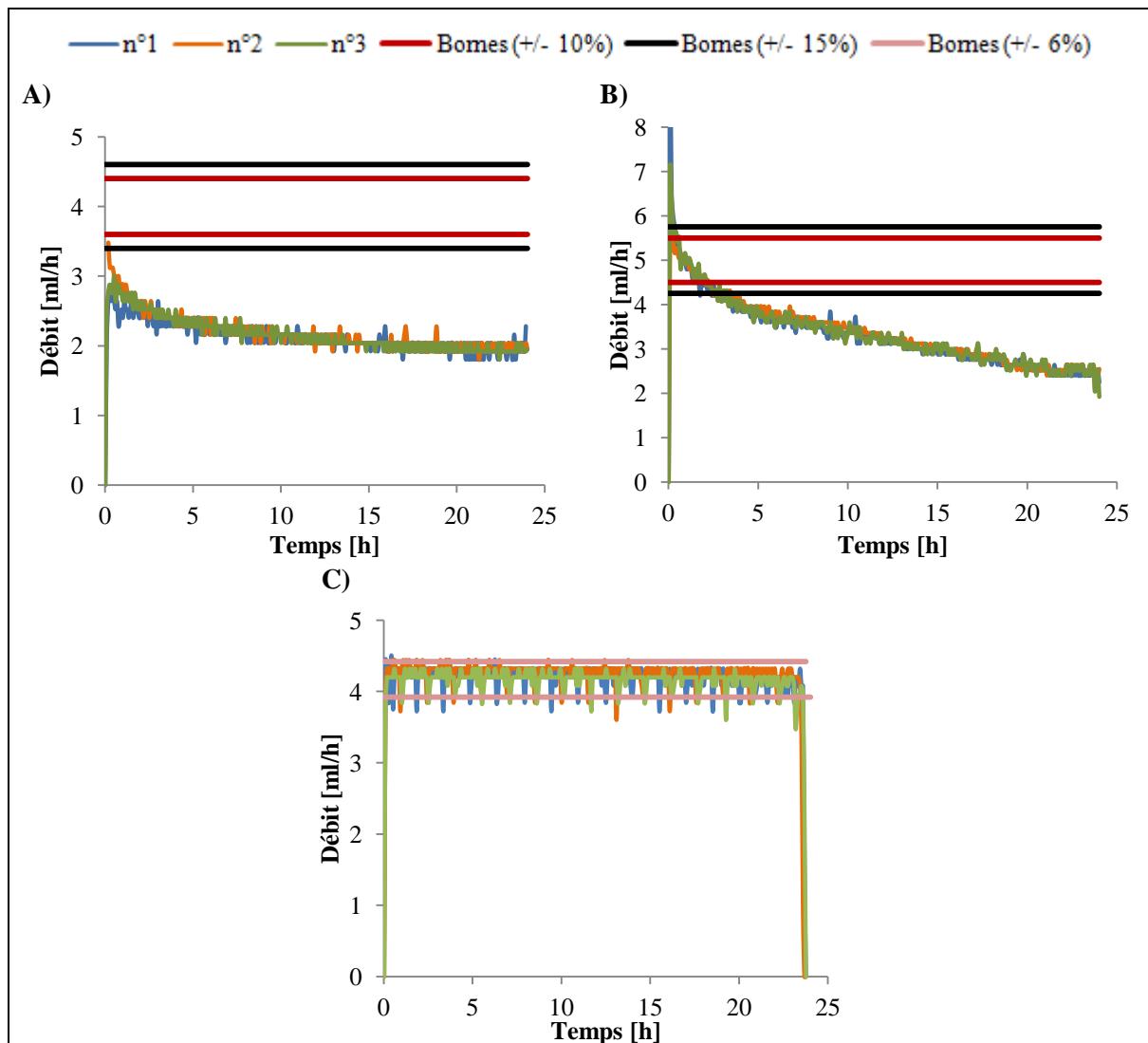


Figure 9 : Graphiques des débits en fonction du temps de perfusion pour les perfuseurs A) AutoSelector® B) Easypump® 1 et C) CADD-Legacy® 1 à 13°C (solution de ceftazidime à 30 mg/ml)

Les paramètres statistiques moyens obtenus sont regroupés dans le Tableau 6 ci-après. Les valeurs confirment l'effet négatif d'une baisse de température sur le débit des perfuseurs élastomériques. Le diffuseur *AutoSelector®* est le dispositif le plus touché par le changement de température.

Tableau 6 : Paramètres statistiques moyens de l'étude de l'influence de la température sur le débit des perfuseurs AutoSelector®, Easypump® 1 et CADD-Legacy® 1 (solution de ceftazidime à 30 mg/ml)

	AutoSelector®		Easypump® 1		CADD-Legacy® 1	
	13°C	25°C	13°C	25°C	13°C	25°C
Moyenne [ml/h]	2.16	3.44	3.34	4.94	4.17	4.11
Ecart type [ml/h]	0.03	0.11	0.03	0.03	0.05	0.05
CV [%]	1.27	3.11	0.92	0.61	1.10	1.23

Les graphiques de la Figure 10 ci-après illustrent bien l'influence de la température sur le débit des perfuseurs. A 13°C, le débit des diffuseurs élastomériques se situe largement hors des limites fournies par le fabricant, au contraire de la pompe électrique *CADD-Legacy® 1* dont le débit n'est pas influencé par la baisse de température.

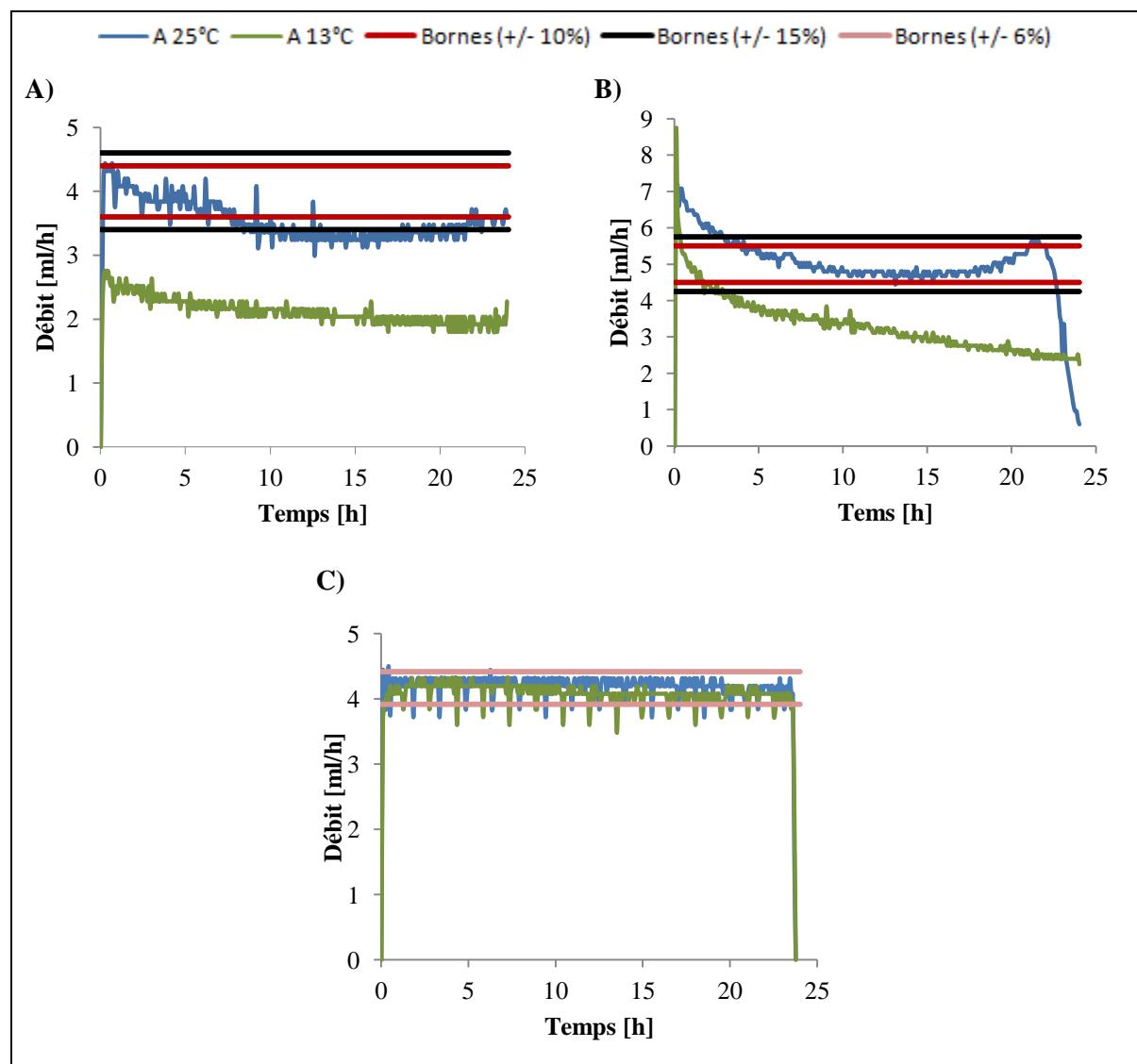


Figure 10 : Débits en fonction du temps de perfusion des perfuseurs A) AutoSelector® B) Easypump® 1 et C) CADD-Legacy® 1 à 13 (en vert) et 25°C (en bleu) (solution de ceftazidime à 30 mg/ml)

Le Tableau 7 ci-après présente le temps moyen pendant lequel les débits des perfuseurs se situent à l'intérieur des limites dictées par le fabricant. Les résultats détaillés pour les mesures à 13°C sont regroupés dans le Tableau B de l'Annexe 11.

Tableau 7 : Temps moyen pendant lequel le débit des perfuseurs se trouve à l'intérieur des limites définies par le fabricant pour les températures de 13 et 25°C (solution de ceftazidime 30 mg/ml)

	AutoSelector®		Easypump® 1		CADD-Legacy® 1	
	13°C	25°C	13°C	25°C	13°C	25°C
Temps à $\pm 6\%$					22h15	22h
Temps à $\pm 10\%$	0	7h15	1h40	18H55	23h25	23H20
Temps à $\pm 15\%$	0	13h10	2h30	20H25	23h30	23H35

Des exemples de graphique de la quantité de solution perfusée en fonction du temps pour les trois perfuseurs à 13°C sont présentés dans la Figure A de l'Annexe 11. Les paramètres des régressions linéaires appliquées ainsi que les quantités moyennes des solutions médicamenteuses perfusées en 24h sont regroupés dans le tableau 8 qui suit. Les détails de ces résultats sont présentés dans le Tableau C de l'Annexe 11.

Tableau 8 : Paramètres de la droite représentant le poids cumulé en fonction du temps de perfusion des perfuseurs AutoSelector® , Easypump®1 et CADD-Legacy®1 à 13 et 25°C (solution de ceftazidime à 30 mg/ml)

	AutoSelector®		Easypump® 1		CADD-Legacy® 1	
	13°C	25°C	13°C	25°C	13°C	25°C
Pente	2.06	3.35	2.55	3.72	4.09	4.02
Ordonnée à l'origine	1.74	2.89	4.57	3.35	0.05	0.14
R²	0.9984	0.9988	0.9929	0.999	1	1
Quantité perfusée en 24h	50.3 %	78%	62.8%	92.6%	96.3%	94.9%

La quantité de solution médicamenteuse perfusée à 13°C par les diffuseurs *AutoSelector®* et *Easypump®1* est diminuée d'environ 30%. En ce qui concerne la pompe électrique, il n'y a pas de différence significative.

Expériences supplémentaires

A titre indicatif, le graphique de la Figure 11 qui suit présente les courbes de débits obtenus en fonction du temps pour le diffuseur *AutoSelector®* lorsque ce dernier est placé dans différentes conditions de température.

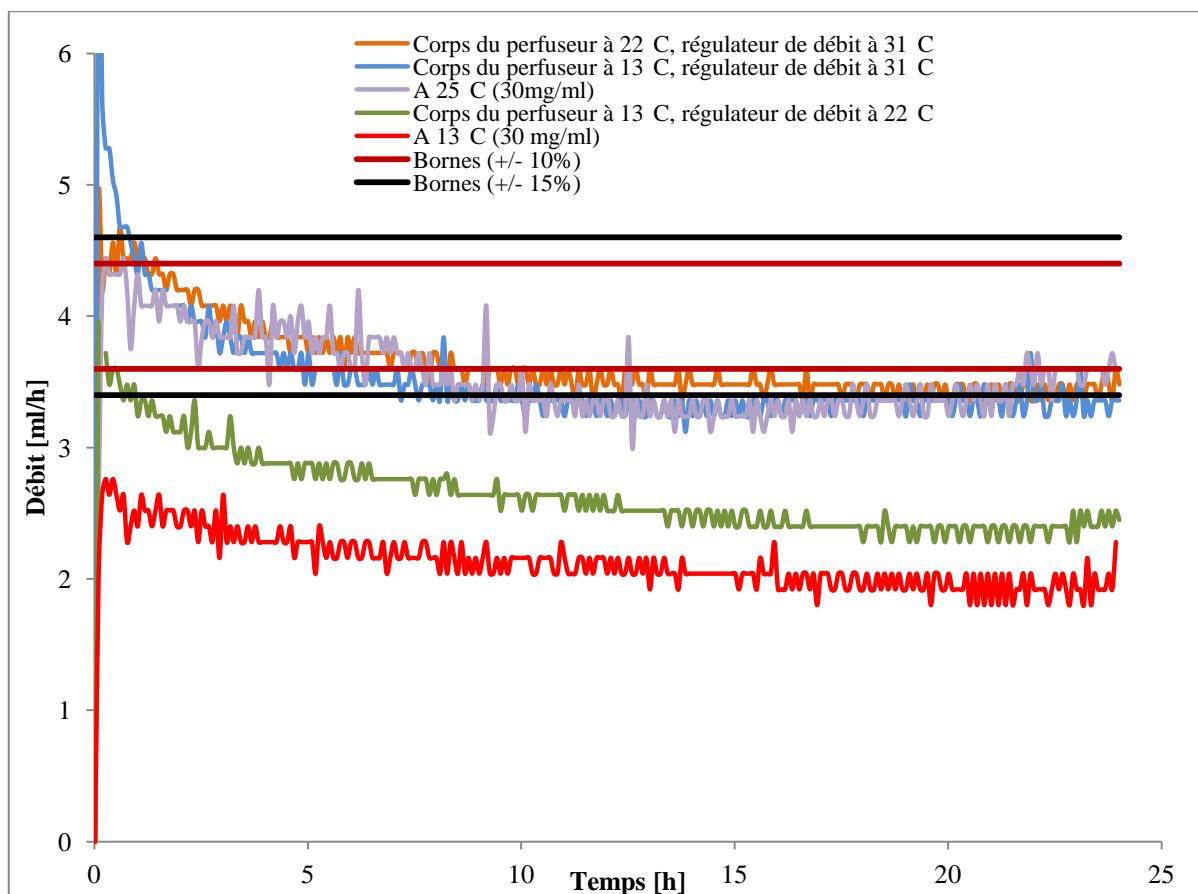


Figure 11 : Débits en fonction du temps de perfusion de la pompe AutoSelector® pour une solution à 30 mg/ml dans différentes conditions de température

Il ressort de ce graphique que les courbes du débit du diffuseur pour les conditions de température « Corps du perfuseur à 13°C/Régulateur de débit à 31°C » et « Corps du perfuseur à 22°C/Régulateur de débit à 31°C » sont similaires à celles obtenues à 25°C. Par contre, lorsque le corps du perfuseur est placé dans le *Frigo Box* et que le régulateur de débit est thermostatisé à 22°C, le débit est nettement inférieur. Cependant, ce dernier reste supérieur à celui obtenu à 13°C. Le Tableau 9 ci-après, qui regroupe les paramètres statistiques obtenus lors de ces différentes expériences, confirment ces tendances.

Tableau 9 : Paramètres statistiques de l'étude de l'influence de la température sur le diffuseur AutoSelector® (solution de ceftazidime à 30 mg/ml et n=1)

	13°C	Corps du perfuseur à 13°C et régulateur de débit à 22°C	25°C	Corps du perfuseur à 13°C et régulateur de débit à 31°C	Corps du perfuseur à 22°C et régulateur de débit à 31°C
Moyenne [ml/h]	2.16	2.64	3.46	3.52	3.63
Ecart type [ml/h]	0.27	0.35	0.64	0.48	0.37
CV [%]	12.54	13.14	18.54	13.76	10.09
Temps à +/- 10%	0	20 min	5h55	5h30	11h
Temps à +/- 15%	0	1h10	12h20	19h50	23h45

Le graphique de la quantité perfusée en fonction du temps pour les trois nouvelles conditions testées sur le diffuseur *AutoSelector®* est présenté dans la Figure B de l'Annexe 11. Les paramètres des régressions linéaires appliquées ainsi que les quantités des solutions médicamenteuses perfusées en 24h sont regroupés dans le Tableau 10 ci-après.

Tableau 10 : Paramètres de la droite représentant le poids cumulé en fonction du temps de perfusion du perfuseur AutoSelector® lors de l'étude de l'influence de la température (solution de ceftazidime à 30 mg/ml et n=1)

	13°C	Corps du perfuseur à 13°C et régulateur de débit à 22°C	25°C	Corps du perfuseur à 13°C et régulateur de débit à 31°C	Corps du perfuseur à 22°C et régulateur de débit à 31°C
Pente	2.06	2.51	3.25	3.30	3.47
Ordonnée à l'origine	1.77	2.37	2.53	3.01	2.32
R²	0.9982	0.9981	0.9985	0.9992	0.9992
Quantité perfusée en 24h	50.3 %	61.7 %	78.0 %	81.7 %	87.6 %

Toujours à titre indicatif, les mêmes expériences ont été effectuées pour le diffuseur *Easypump® 1*. Le graphique de la Figure 12 ci-après présente les courbes du débit en fonction du temps obtenues lorsque le diffuseur est placé dans les différentes conditions de température. Tout comme le diffuseur *AutoSelector®*, les courbes de débit pour les conditions de température « Corps du perfuseur à 13°C/Régulateur de débit à 31°C » et « Corps du perfuseur à 22°C/Régulateur de débit à 31°C », sont similaires à celles obtenues à 25°C. Cependant, lorsque le perfuseur est à 13°C et le régulateur de débit à 31°C, la hausse du débit juste avant la fin de la perfusion n'est pas observée. De nouveau, lorsque le corps du perfuseur est placé dans le *Frigo Box* et que le régulateur de débit est thermostatisé à 22°C, le débit est nettement inférieur. Cependant, ce dernier reste supérieur à celui obtenu à 13°C.

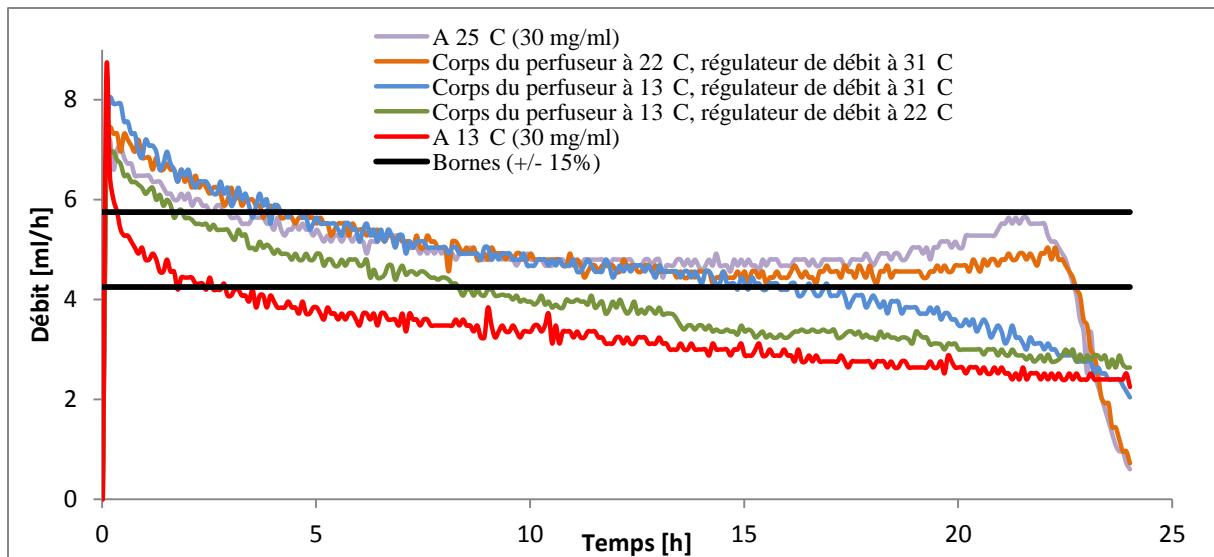


Figure 12 : Débits en fonction du temps de perfusion de la pompe Easypump® 1 pour une solution à 30 mg/ml dans différentes conditions de température

Les tendances observées dans la Figure 12 sont confirmées par le Tableau 11 ci-dessous, qui regroupe les paramètres statistiques obtenus lors de ces différentes expériences.

Tableau 11 : Paramètres statistiques de l'étude de l'influence de la température sur le diffuseur Easypump®1 (solution de ceftazidime à 30 mg/ml et n=1)

	13°C	Corps du perfuseur à 13°C et régulateur de débit à 22°C	Corps du perfuseur à 13°C et régulateur de débit à 31°C	Corps du perfuseur à 22°C et régulateur de débit à 31°C	25°C
Moyenne [ml/h]	3.33	4.00	4.69	4.93	4.94
Ecart type [ml/h]	0.79	1.06	1.22	1.04	0.95
CV [%]	23.66	25.78	26.05	21.10	19.29
Temps à +/- 10%	1h45	4h55	8h55	15h	19h
Temps à +/- 15%	2h40	6h35	11h50	18h50	20h25

Le graphique de la quantité de solution perfusée en fonction du temps pour les trois nouvelles conditions testées sur le diffuseur *Easypump®1* est présenté dans la Figure C de l'Annexe 11. Les paramètres des régressions linéaires appliquées ainsi que la quantité des solutions médicamenteuses perfusées en 24h sont regroupés dans le tableau 12 ci-dessous.

Tableau 12 : Paramètres de la droite représentant le poids cumulé en fonction du temps de perfusion du perfuseur Easypump®1 lors de l'étude de l'influence de la température (solution de ceftazidime à 30 mg/ml et n=1)

	13°C	Corps du perfuseur à 13°C et régulateur de débit à 22°C	Corps du perfuseur à 13°C et régulateur de débit à 31°C	Corps du perfuseur à 22°C et régulateur de débit à 31°C	25°C
Pente	2.54	3.05	3.66	3.84	3.82
Ordonnée à l'origine	4.66	6.24	6.56	4.95	3.35
R²	0.993	0.9985	0.9914	0.9969	0.9989
Quantité perfusée en 24h	62.7%	75.4%	88.6%	93.5%	92.6%

3.2 Etude de stabilité de la ceftazidime

3.2.1 Validation de la méthode de dosage par HPLC

Les résultats des critères de validation sont présentés dans le résumé du rapport de validation E-noval qui se trouve en Annexe 12. Le modèle sélectionné pour le dosage de la ceftazidime est la régression linéaire passant par zéro, en utilisant uniquement la concentration la plus haute qui est de 0.1 mg/ml.

3.2.2 Température du perfuseur

Le Tableau 13 qui suit présente les paramètres statistiques calculés à partir des résultats obtenus pour les mesures des températures à l'intérieur et à la surface du perfuseur *AutoSelector*[®]. Selon le test de Student, la différence entre les deux moyennes est significative ($p < 0.005$).

Tableau 13: Moyenne, écart type et CV de la température à l'intérieur et à l'extérieur du perfuseur n°1

	Intérieur	Surface
Moyenne [°C]	22.3	22.5
Ecartype [°C]	0.04	0.04
CV [%]	0.2	0.17

Les graphiques de la température intérieure et extérieure du diffuseur *AutoSelector*[®] en fonction du temps sont regroupés dans les Figures A, B et C de l'Annexe 13, tout comme les résultats des deux autres mesures.

Le Tableau 14 ci-dessous regroupe les paramètres statistiques obtenus pour les mesures de la température de l'*AutoSelector*[®] lorsque ce dernier est porté à l'aide d'un petit sac près du corps pendant 24h lors d'une journée ordinaire de travail à la Pharmacie du CHUV.

Tableau 14 : Paramètres statistiques des trois mesures de température du perfuseur *AutoSelector*[®] portés près du corps par trois personnes différentes pendant 24h (le même jour)

	Pompe 1	Pompe 2	Pompe 3
Moyenne [°C]	30.3	31.9	30.4
Ecartype [°C]	2.4	1.3	2.3
CV [%]	7.9	4.1	7.7
Minimum [°C]	25.8	28.6	25.9
Maximum [°C]	34.3	33.9	34

Les courbes de la température du perfuseur en fonction du temps sont présentées, pour les trois mesures, dans le graphique de la Figure 13 qui suit.

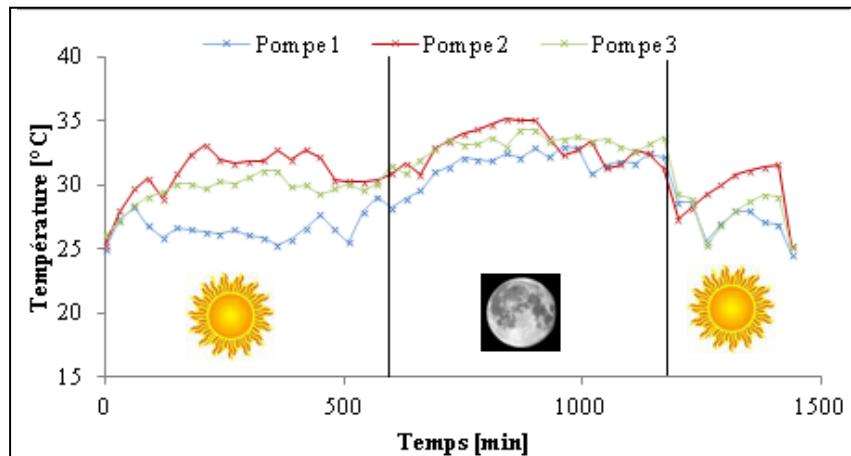


Figure 13 : Température des trois perfuseurs *AutoSelector*[®] portés près du corps par trois personnes différentes pendant 24h (le même jour)

3.2.3 Etude de stabilité *in vitro*

Les Tableaux 15, 16, 17, 18 et 19 ci-dessous présentent les résultats du dosage de la ceftazidime et de la pyridine lors des tests de stabilité simulant les conditions d'utilisation et de stockage de l'antibiotique. Les résultats détaillés de chaque expérience sont regroupés dans l'Annexe 14. Des chromatogrammes de la solution témoin de pyridine et de l'échantillon t_0 au frigo + 24h à 35°C de l'essai «7j dans le diffuseur AutoSelector® au frigo» sont présentés dans les Figures A et B de l'Annexe 14.

**Tableau 15 : Résultats du dosage de la ceftazidime et de la pyridine lors de l'expérience A
« 24h dans le diffuseur AutoSelector® placé dans un bain-marie à 25°C »,**

		t_0	t_{24h}
Concentration Ceftazidime	Moyenne [mg/ml]	59.35	55.08
	Ecart type [mg/ml]	-	2.62
	CV [%]	-	4.75
Rapport à la Valeur initiale de Ceftazidime	Moyenne [%]	100	92.90
	Ecart type [%]	-	4.41
	CV [%]	-	4.75
Pyridine dosage	Moyenne [%]	0.08	0.38
	Ecart type [%]	-	0.003
	CV [%]	-	0.83

**Tableau 16 : Résultats du dosage de la ceftazidime et de la pyridine lors de l'expérience B
« 24h dans le diffuseur AutoSelector® placé dans une glacière à 13°C »**

		t_0	t_{24h}
Concentration Ceftazidime	Moyenne [mg/ml]	57.79	54.67
	Ecart type [mg/ml]	-	0.70
	CV [%]	-	0.01
Rapport à la Valeur initiale de Ceftazidime	Moyenne [%]	100	94.59
	Ecart type [%]	-	1.21
	CV [%]	-	0.01
Pyridine dosage	Moyenne [%]	0.04	0.14
	Ecart type [%]	-	0.01
	CV [%]	-	6.85

**Tableau 17 : Résultats du dosage de la ceftazidime et de la pyridine lors de l'expérience C
« 24h dans le diffuseur AutoSelector® en condition simulée d'utilisation (porté près du corps) »**

		t_0	t_{24h}
Concentration Ceftazidime	Moyenne [mg/ml]	60.97	55.09
	Ecart type [mg/ml]	-	1.18
	CV [%]	-	2.15
Rapport à la Valeur initiale de Ceftazidime	Moyenne [%]	100	90.35
	Ecart type [%]	-	1.94
	CV [%]	-	2.15
Pyridine dosage	Moyenne [%]	0.07	0.55
	Ecart type [%]	-	0.01
	CV [%]	-	1.04

Remarque : Lors de cette expérience (24h dans le diffuseur AutoSelector® en condition simulée d'utilisation), la température du perfuseur a été enregistrée toute les 30 minutes. Les résultats et les courbes de la température en fonction du temps son présentés, respectivement, dans le Tableau F et la Figure C de l'Annexe 14. En moyenne, les diffuseurs ont été exposés à une température de 30°C.

**Tableau 18 : Résultats du dosage de la ceftazidime et de la pyridine lors de l'expérience D
« 18h dans le diffuseur AutoSelector® placé à température ambiante »**

		t₀	t_{18h}
Concentration Ceftazidime	Moyenne [mg/ml]	60.40	56.18
	Ecart type [mg/ml]	-	2.43
	CV [%]	-	4.33
Rapport à la Valeur initiale de Ceftazidime	Moyenne [%]	100	93.02
	Ecart type [%]	-	4.03
	CV [%]	-	4.33
Pyridine dosage	Moyenne [%]	0.08	0.23
	Ecart type [%]	-	0.02
	CV [%]	-	6.66

**Tableau 19 : Résultats du dosage de la ceftazidime et de la pyridine lors de l'expérience D
« 7j dans le diffuseur AutoSelector® au frigo »**

		t₀	t_{24h}	t_{48h}	t_{7j}
Concentration Ceftazidime	Moyenne [mg/ml]	61.78	57.00	58.69	55.61
	Ecart type [mg/ml]	-	1.02	1.02	0.93
	CV [%]	-	1.79	1.74	1.67
Rapport à la Valeur initiale de Ceftazidime	Moyenne [%]	100	92.26	94.99	90.01
	Ecart type [%]	-	1.65	1.65	1.50
	CV [%]	-	1.79	1.74	1.67
Pyridine dosage	Moyenne [%]	0.03	0.08	0.14	0.25
	Ecart type [%]	-	0.02	0.01	0.01
	CV [%]	-	18.89	6.62	3.30
		t₀ + 24h à 35°C	t_{24h} au frigo + 24h à 35°C	t_{48h} au frigo + 24h à 35°C	t_{7j} au frigo + 24h à 35°C
Concentration Ceftazidime	Moyenne [mg/ml]	50.33	41.36	48.07	43.81
	Ecart type [mg/ml]	-	2.17	1.82	1.22
	CV [%]	-	5.24	3.79	2.78
Rapport à la Valeur initiale de Ceftazidime	Moyenne [%]	81.46	66.94	77.81	70.90
	Ecart type [%]	-	3.51	2.95	1.97
	CV [%]	-	5.24	3.79	2.78
Pyridine dosage	Moyenne [%]	1.01	0.93	1.25	1.19
	Ecart type [%]	-	0.07	0.05	0.03
	CV [%]	-	7.42	3.95	2.54

3.2.4 Etude de stabilité en clinique

Lors de cette étude, la température du perfuseur a été mesurée toute les 30 minutes lors de la première administration (t_0 au frigo+ 24h d'administration) pour les deux patients (A et B). Ces résultats sont présentés dans le Tableau 19 ci-dessous. Les graphiques de la température en fonction du temps sont regroupés dans l'Annexe 15 (Figures A et B).

Tableau 20 : Résultats des mesures de température lors de l'étude de stabilité clinique

	Patient A	Patient B
Moyenne [°C]	25.6	24.4
Ecart type [°C]	2.4	2.2
CV [%]	9.3	8.9
Minimum [°C]	19.9	19.7
Maximum [°C]	32.7	31.1

Les Tableaux 21 et 22 présentent les résultats de l'étude de stabilité après utilisation clinique de la ceftazidime pour les patients A et B. Lors de l'analyse par HPLC de ces échantillons, un pic de dégradation significatif a été mis en évidence à 5,5 minutes. Ce dernier avait déjà été observé dans certains échantillons de l'étude de stabilité *in vitro*, cependant, sa proportion était très faible (de 0 à 0.2% après 24h). Pour les résultats de l'étude de stabilité en clinique, le pourcentage de l'aire de ce pic par rapport à l'aire du pic principal du témoin de ceftazidime a également été calculé et figure dans les Tableaux 21 et 22. Les chromatogrammes de la solution A à t_0 et $t_0 + 24h$ d'administration figurent comme exemple dans les Figure C et D de l'Annexe 15.

**Tableau 21 : Résultats du dosage de la ceftazidime et de la pyridine pour le patient A
(avant chaque administration, les cassettes de médicament ont été conservées au frigo)**

	Concentration Ceftazidime [mg/ml]	% de la valeur de départ de Ceftazidime	Pyridine [%]	Nouveau Pic [%]
t_0	100.33	100	0.12	3.88
$t_0 + 24h$ d'administration *	101.48	101.14	0.49	1.54
t_{24h} au frigo + 24h d'administration	108.11	107.75	0.60	2.15
t_{48h} au frigo 24h d'administration	105.55	105.20	0.59	2.15

**Tableau 22 : Résultats du dosage de la ceftazidime et de la pyridine pour le patient B
(avant chaque administration, les cassettes de médicament ont été conservées au frigo)**

	Concentration Ceftazidime [mg/ml]	% de la valeur de départ de Ceftazidime	Pyridine [%]	Nouveau Pic [%]
t_0	62.65	100	0.12	1.84
$t_0 + 24h$ d'administration	67.71	108.08	0.41	0.94
t_{24h} au frigo + 24h d'administration *	62.50	99.76	0.40	0.95
t_{48h} au frigo + 24h d'administration	65.41	104.41	0.52	0.77
t_{3j} au frigo + 24h d'administration	60.75	96.98	0.58	0.39
t_{4j} au frigo + 24h d'administration	61.61	98.34	0.52	0.52
t_{5j} au frigo + 24h d'administration	55.47	88.54	0.56	0.30
t_{6j} au frigo + 24h d'administration	61.40	98.01	0.70	0.17

*Tous les échantillons des patients A et B ont été dosés une seconde fois. Les tendances sont confirmées à part pour ces trois prélèvements qui présentent alors un taux de ceftazidime de 105% pour l'échantillon du patient A et entre 95 et 99% pour les deux échantillons du patient B. Ces nouvelles valeurs démontrent un problème lors de la préparation première de ces échantillons. Cependant, une évolution dans la proportion des produits de dégradation (suite aux cycles répétés de congélations/décongélations) empêche de remplacer les premiers résultats par ceux obtenus lors de la deuxième analyse.

L'unité de fabrication de la Pharmacie du CHUV reconstitue la ceftazidime à l'aide d'une seringue avec de l'eau pour préparation parentérale avant d'ajuster le volume avec du NaCl 0.9%. Quatre solutions de ceftazidime à 60 mg/ml ont été préparées dans le but de savoir si les reconstitutions dans l'eau ou à l'aide d'une seringue pouvaient engendrer l'apparition de ce pic. Deux des solutions ont été reconstituées grâce à l'utilisation d'une seringue alors que les deux dernières ont été préparées en sortant l'antibiotique du flacon avant de le dissoudre dans un ballon jaugé. Dans les deux cas, une des solutions a été reconstituée dans de l'eau stérile (*Aqua ad injectabilia, Bichsel (Suisse), lot n°1030312*) puis diluée avec du NaCl 0.9% alors que la seconde a été entièrement préparée avec du NaCl 0.9%. L'analyse HPLC a eu lieu directement après la préparation des solutions, tout comme la mesure de pH. Il s'avère que le nouveau pic apparaît seulement lors de la reconstitution de l'antibiotique à l'aide d'une seringue. Le pH des solutions ainsi obtenues est d'ailleurs supérieur d'une unité. Les résultats détaillés sont présentés dans le Tableau A de l'Annexe 15. Les chromatogrammes obtenus sont exposés dans la Figure E de la même annexe. Une analyse de pureté du pic de ceftazidime et de ce nouveau pic a également été effectuée afin de les comparer. Le rapport de l'analyse est présenté dans la Figure F de l'Annexe 15. Il en ressort qu'il s'agit de composés très semblables.

4 DISCUSSION DES RESULTATS

4.1 Mesures du débit

Lors de l'observation des graphiques du débit en fonction du temps (Figure 5-7 et 9), il ressort que les courbes de chaque unité de chaque modèle de diffuseur se superposent. Cela signifie qu'il ne devrait pas y avoir de différence cliniquement significative entre les débits des unités de chaque modèle. Cependant, aucun test statistique n'a été effectué sur les débits obtenus entre chaque unité des perfuseurs. En effet, les mesures n'étant pas indépendantes les unes des autres, les résultats du test seraient difficilement interprétables.

Il ressort également de ces graphiques, que les courbes obtenues ne sont pas lisses mais qu'elles présentent, au contraire, plusieurs pics tout au long de la perfusion. Ces différences de débits proviennent de la taille des gouttelettes perfusées, qui n'est pas uniforme.

La courbe du diffuseur *Easypump®1* se compose de trois phases : tout d'abord un débit élevé, au-dessus de la marge des 15% du débit nominal, suivi d'une période de stabilisation, puis d'une augmentation du débit juste avant la fin de la perfusion. Cette cinétique est typique des diffuseurs élastomériques (31, 35, 38-39, 44). Des variations de pression à l'intérieur de la membrane élastomérique étirée ont pour conséquence ces différences de débit au cours du temps. En effet, lors du remplissage du perfuseur avec la solution médicamenteuse, la résistance de l'élastomère est augmentée suite à l'accroissement rapide de son volume, ce qui engendre une hausse de la pression interne du diffuseur, augmentant ainsi son débit. Lorsque le diffuseur se vide, l'élasticité de l'élastomère revient à son niveau nominal ce qui conduit à une stabilisation du débit. L'augmentation de ce dernier juste avant la fin de la perfusion est la conséquence d'une augmentation de l'épaisseur de l'élastomère. En effet, lorsque le volume du perfuseur diminue, la surface de la membrane se réduit, engendrant une augmentation de son épaisseur (44). Cette cinétique de débit est également dévinée chez le perfuseur *AutoSelector®*.

Une dernière observation globale des résultats obtenus porte sur la quantité d'antibiotique perfusé au cours du temps. D'après les pentes des droites obtenues suite à l'application d'une régression linéaire aux courbes de la quantité d'antibiotique administrée, il semblerait que cette dernière soit constante tout au long de la perfusion. En effet, les r^2 obtenus se situent tous entre 0.99 et 1 (Tableaux 5, 8, 10 et 12).

4.1.1 Influence de la concentration de la solution médicamenteuse

Lors de la perfusion de la solution la moins concentrée (30 mg/ml), seuls le diffuseur *Easypump®1* et la pompe électrique *CADD-Legacy®1* présentent un débit moyen conforme aux limites fournies par leur fabricant. Par contre le diffuseur *AutoSelector®* possède un débit inférieur à son débit nominal de plus de 10%. Il faut noter que les expériences ont pourtant été réalisées à la même température (25°C) que celle à laquelle la qualification de la pompe a été effectuée. Par contre la solution perfusée était différente. Une potentielle différence de viscosité entre les deux solutions pourrait expliquer l'écart entre le débit moyen obtenu et le débit nominal du diffuseur. Cependant, le diffuseur *Easypump®1* a également été qualifié à l'aide d'une solution différente et le débit obtenu lors de ce travail ne diffère pas du débit nominal. La seconde cause pouvant être à l'origine de la baisse du débit de *l'AutoSelector®* est le fait d'avoir positionné le régulateur de débit 19 cm en-dessus du corps du perfuseur (situation correspondant mieux à la réalité) au lieu de l'avoir positionné au même niveau. Cette diminution du débit de *l'AutoSelector®* a pour conséquence un allongement du temps de perfusion (30h au lieu de 25h). Il faut tout de même souligner que si les limites fixées par BBraun

Medical pour l'*Easypump®1* étaient appliquées au diffuseur *AutoSelector®*, celui-ci présenterait un débit tout juste conforme.

Lorsque la solution perfusée est deux fois plus concentrée (60 mg/ml), le débit moyen des diffuseurs élastomériques chute. Le perfuseur *Easypump®1* est cependant conforme aux limites fixées par BBraun Medical. Ce fabricant prévoit d'ailleurs une diminution du débit lors d'une hausse de la concentration, ayant pour conséquence un allongement du temps de perfusion de 8 à 10%. La diminution du débit moyen des dispositifs élastomériques est expliquée par la loi de Poiseuille exposée dans l'Equation 1 ci-dessous.

$$Q = \pi r^4 \frac{\Delta P}{8\eta l}$$

Équation 1 (58)

Q	=	Débit [m ³ s ⁻¹]
R	=	Rayon du tube [m]
η	=	Viscosité [Pa*s]
L	=	Longueur du tube [m]
ΔP	=	Perte de charge [Pa]

Le rayon du régulateur de débit, sa longueur ainsi que la perte de charge sont des paramètres constants tout au long des expériences effectuées. La seule variable est la viscosité de la solution médicamenteuse qui est proportionnelle à la concentration de cette dernière. La mesure de la viscosité des solutions a permis de démontrer une différence significative entre les deux concentrations. Cette expérience confirme le fait que la viscosité de la solution médicamenteuse est à l'origine de la différence de débit entre les deux solutions différemment concentrées. Cette influence de la viscosité sur le débit des diffuseurs élastomériques avait déjà été démontrée auparavant (37, 42). Contrairement aux diffuseurs élastomériques, le comportement de la pompe électrique *CADD-Legacy®1* n'est pas influencé par l'augmentation de la viscosité.

La conséquence de la baisse de débit est une diminution de la quantité de ceftazidime perfusée en 24h. En effet, lorsque le débit moyen d'un diffuseur diminue, le temps, pour que la totalité de la solution médicamenteuse soit perfusée, s'allonge passablement. La conséquence en est que le patient ne reçoit pas la dose d'antibiotique requise dans la période donnée. La Pharmacopée Européenne précise qu'un médicament n'est plus administrable si sa concentration est inférieure à 90% de son titre initial. Par analogie, cette exigence peut être appliquée à la quantité de solution médicamenteuse qu'un patient doit recevoir afin d'obtenir l'effet thérapeutique désiré dans un laps de temps donné. Pour les deux dispositifs élastomériques, la quantité perfusée en 24h est diminuée de plus de 10% lors de l'augmentation de la concentration de la solution médicamenteuse et passe largement en-dessous de la limite des 90% de solution administrée. D'ailleurs, ce seuil n'est également pas atteint lors de la perfusion de la solution à 30 mg/ml par le diffuseur *AutoSelector®*. Néanmoins, la seule manière de savoir si l'effet thérapeutique est réellement remis en question par cette baisse de la quantité d'antibiotique perfusé serait d'effectuer un dosage sanguin de la ceftazidime chez un patient afin de situer sa concentration plasmatique par rapport à la CMI pour le *Pseudomonas aeruginosa*. Pour la ceftazidime, le temps pendant lequel la concentration plasmatique se situe en-dessus de la CMI est très important pour la réussite thérapeutique étant donné qu'il s'agit d'un antibiotique « temps-dépendant » (19, 28).

Lors du traitement d'une exacerbation pulmonaire à *Pseudomonas aeruginosa* chez un patient mucoviscidosique, la concentration de ceftazidime dépasse très fréquemment les 60 mg/ml. Seule la pompe électrique *CADD-Legacy®1* a permis de perfuser l'ensemble de la solution concentrée en moins de 24h. L'administration de l'antibiotique à l'aide d'un diffuseur élastomérique semble donc peu adéquate. Une solution possible serait d'augmenter manuellement le débit du diffuseur *AutoSelector®* afin d'assurer l'administration totale de l'antibiotique. Le diffuseur *Easypump®1* possédant un débit fixe, cette manipulation ne serait par contre pas possible. Il existe, néanmoins, un diffuseur *Easypump® C-block™* de BBraun Medical qui permet le réglage du débit de manière manuelle. Il

s'agit cependant d'un perfuseur possédant un volume nominal de 400 ml, ce qui est trop élevé pour une perfusion d'antibiotique chez un enfant sur 24h.

4.1.2 Influence de la température du système de perfusion

La baisse de la température du système de perfusion de 25 à 13°C, tout comme l'augmentation de la concentration de la solution médicamenteuse, engendre une diminution du débit moyen des deux pompes élastomériques. Ces observations correspondent à celles des différentes études publiées (35, 37-39, 42). Il faut relever qu'avec le diffuseur *AutoSelector*[®], le débit ne se situe à aucun moment à l'intérieur du domaine défini par Acemedical et qu'il subit une diminution de 3.1% par degré. Il en va de même pour le diffuseur *Easypump*[®]1. Contrairement à Acemedical, BBraun Medical avertit l'utilisateur qu'un abaissement du débit de l'*Easypump*[®]1 survient lors d'une baisse de température, allant jusqu'à 2.2% par degré. Lors de ce travail, la diminution observée du débit était légèrement supérieure, à savoir de 2.8% par degré. Une nouvelle fois, la pompe électrique *CADD-Legacy*[®]1 se distingue par le fait que son comportement n'est pas influencé par la baisse de la température.

L'effet de la température sur le débit d'un diffuseur s'explique de deux manières. Tout d'abord, une diminution de cette dernière engendre une augmentation de la viscosité et donc, selon la loi de Poiseuille, une diminution du débit. Deuxièmement, le diamètre du régulateur de débit est directement sensible à la température, comme le démontre l'équation de la dilatation thermique présentée ci-dessous.

$$\Delta L = \alpha \cdot L_0 \cdot \Delta T$$

Équation 2 (58)

ΔL	=	Variation de longueur [m]
α	=	Coefficient de dilatation linéaire [K^{-1}]
L_0	=	Longueur initiale [m]
ΔT	=	Variation de la température

Selon l'Equation 2, plus la diminution de la température est grande, plus la contraction du diamètre du régulateur de débit est importante. Cette contraction du régulateur de débit engendre, toujours selon la loi de Poiseuille, une baisse du débit du perfuseur.

Pour les deux dispositifs élastomériques, la quantité de solution médicamenteuse perfusée en 24h est diminuée d'environ 30% par rapport aux valeurs obtenues à 25°C. Le seuil des 90% de solution administrée est donc à nouveau loin d'être atteint. Encore une fois, la problématique de l'efficacité thérapeutique se pose.

L'expérience à 13°C reproduisait la potentielle utilisation d'un *cold pack* (ou d'un sac isolant), dispositif qui permettrait de diminuer la dégradation de la ceftazidime lors son administration continue. Cette simulation n'est que partielle étant donné que la température d'un *cold pack* n'est pas fixe mais subit des variations au cours du temps. Cependant, elle permet de se faire une idée du comportement du diffuseur face à un abaissement de la température. Sur la base des résultats obtenus, seule la pompe électrique *CADD-Legacy*[®]1 est compatible avec l'utilisation d'un tel dispositif.

Comme l'entier du système de perfusion a été thermostatisé à la même température, il est difficile de savoir si la température n'a d'effet que sur le régulateur de débit ou si l'élasticité de l'élastomère est également influencée. Les expériences supplémentaires effectuées à titre indicatif sur les perfuseurs *AutoSelector*[®] et *Easypump*[®]1 ont montré que les deux composants sont influencés par la température. En effet, lorsque le corps du perfuseur est placé à 13°C alors que le régulateur de débit reste à température ambiante, le débit moyen est légèrement supérieur à celui obtenu lors des expériences à 13°C tout en demeurant bien inférieur au débit mesuré à 25°C. Avec le diffuseur *AutoSelector*[®], la température semble avoir plus d'effet sur le régulateur de débit. En effet, lorsque le corps du perfuseur est thermostatisé à 13°C et que la température du régulateur de débit augmente à 31°C, la valeur du débit moyen est légèrement supérieure à celle observée à 25°C. Il en va de même pour la quantité

d'antibiotique perfusé. Le débit obtenu avec le corps du perfuseur à 22°C et le régulateur de débit à 31°C est quelque peu supérieur et la quantité perfusée en 24h atteint les 87.6%. Le seuil des 90% n'est, cependant, toujours pas atteint. Avec le perfuseur *Easypump® 1*, l'effet de la température sur le régulateur de débit semble atténué par comparativement à *l'AutoSelector®*. En effet, le débit obtenu avec le corps du perfuseur à 13°C et le régulateur de débit à 31°C, est inférieur (tout en restant conforme) à celui observé à 25°C. Il en va de même pour la quantité perfusée qui n'atteint juste pas la limite des 90%. Lorsque le corps du perfuseur est placé à température ambiante et le régulateur de débit à 31°C, le débit et la quantité de solution médicamenteuse perfusée sont quasiment identiques à ceux obtenus lorsque tout le système de perfusion est thermostatisé à 25°C.

Il semblerait donc que la condition de température 13/31°C soit tout juste acceptable du point de vue des performances des diffuseurs élastomériques. L'utilisation d'un *cold pack* (ou d'un sac isolant) pour diminuer la dégradation de l'antibiotique pourrait donc être envisagée lors de l'emploi d'un dispositif élastomérique, à condition de placer le régulateur de débit en contact direct avec la peau (BBraun Medical précise d'ailleurs qu'il doit être en contact direct avec cette dernière de manière à obtenir un débit optimal). Cependant, les résultats obtenus concernent la perfusion d'une solution antibiotique peu concentrée. Le réglage manuel du débit des diffuseurs élastomériques semble donc être une condition sine qua non pour assurer l'entièvre administration d'une dose supérieure à 30 mg/ml.

4.2 Etude de stabilité de la ceftazidime

4.2.1 Validation de la méthode de dosage par HPLC

Le procédé de validation est entièrement présenté dans l'Annexe 12. Comme la méthode de dosage a été validée, la ceftazidime peut maintenant être dosée en routine avec une justesse et une exactitude acceptables.

4.2.2 Température de perfuseur

Lors de la mesure des températures extérieures et intérieures du diffuseur *AutoSelector®*, la différence observée est statistiquement significative. Néanmoins, un écart de 0.2°C n'a que peu d'importance du point de vue clinique. Lors de ce travail, les deux températures sont donc considérées comme égales.

Les expériences consistant à enregistrer la température du diffuseur sur 24h lorsque ce dernier est porté près du corps ont démontré que la limite des 25°C à partir de laquelle la ceftazidime se dégrade est largement dépassée. Il apparaît également que la température du perfuseur est totalement tributaire du climat environnant. En effet, lorsque la personne portant le perfuseur se trouve à l'extérieur, une chute de la température apparaît. Au contraire, pendant la nuit, lorsque le diffuseur est sous le duvet, des pics de températures sont observés (Figure 12). Ces résultats ont permis de choisir une température pour l'étude de stabilité *in vitro* de l'antibiotique, à savoir 35°C. Cette température est un peu plus élevée que les valeurs observées lors de l'étude. Cependant, cette dernière a été réalisée en hiver (Mars) et il ne serait pas étonnant qu'en été, la température du perfuseur atteigne des valeurs plus élevées. Certaines études de stabilité ont d'ailleurs été effectuées à 37°C (30, 54).

4.2.3 Etude de stabilité *in vitro*

Pour être conforme aux exigences de la Pharmacopée, la concentration de ceftazidime ne doit pas être inférieure à 90% (ni supérieure à 110%) de valeur déclarée dans des conditions normales de stockage et d'administration. Le grand problème avec cet antibiotique est sa dégradation en pyridine, produit hépatotoxique. La Pharmacopée Américaine fixe d'ailleurs un pourcentage maximum à 0.4% pour ce produit par rapport à la quantité de ceftazidime.

Les conditions de conservation fournies par le fabricant (56) sont confirmées lors des expériences de 18h à température ambiante et de 7j au frigo. En effet, la concentration de ceftazidime et la quantité de pyridine mesurées sont conformes aux normes des Pharmacopées. Néanmoins, après 24h d'administration simulée à 35°C, la dégradation de l'antibiotique dépasse largement les 10% et la quantité de pyridine produite est trop grande. Cette température est certes élevée, mais pourrait facilement être atteinte en plein été lors d'un traitement ambulatoire ou dans un pays chaud.

Lors des deux expériences de 24h à 25°C et en conditions réelles d'utilisation (~30°C en moyenne), la dégradation de la ceftazidime ne dépasse pas les 10%. Cependant, lorsque le diffuseur a été porté près du corps, la concentration de l'antibiotique atteint tout juste le seuil des 90% du titre initial. Cela laisse à penser que, lors d'un traitement ambulatoire en été, la concentration de l'antibiotique chutera en-dessous de cette limite. Concernant la quantité de pyridine, la limite est dépassée lors du port du perfuseur près du corps alors qu'à 25°C, elle est à la limite de la conformité selon les exigences de la Pharmacopée Américaine.

Les résultats obtenus lors de ce travail démontrent que l'utilisation de la ceftazidime à plus de 25°C pendant plusieurs heures est à éviter car la quantité de pyridine est plus élevée que celle autorisée par la Pharmacopée Américaine. Ces résultats sont en accord avec les différentes études analysant la stabilité de la ceftazidime dans des perfuseurs portables à différentes conditions de température (30, 53-54). En toute logique aucune étude n'a été effectuée chez l'être humain dans le but de démontrer les effets toxiques de la pyridine à ce niveau de concentration (53). Néanmoins, il semblerait qu'avec la forte toxicité de ce produit, des répercussions cliniques soient à craindre (30). Il faut relever d'ailleurs que beaucoup d'enfants atteints de mucoviscidose développent, au bout d'un certain temps, une cirrhose du foie. Bien entendu, la maladie elle-même engendre une dégénérescence de cet organe. Cependant, rien ne permet d'exclure que les cures répétées de ceftazidime, ajoutées aux très nombreux médicaments nécessaires au traitement de la maladie, ne précipitent l'apparition de cette maladie secondaire.

Une solution à cette problématique de la pyridine serait l'utilisation d'un *cold pack* lors de l'administration continue de l'antibiotique sur 24h. En effet, les résultats obtenus lorsque le perfuseur est placé 24h à 13°C, montrent une quantité de pyridine largement inférieure à la limite autorisée. Cela signifie que l'utilisation d'un *cold pack*, ou de tout autre dispositif maintenant une température inférieure à 25°C, pourrait contribuer à diminuer la production de cette substance toxique.

4.2.4 Etude de stabilité en clinique

Les résultats obtenus lors de cette partie du travail sont à titre indicatif. En effet, le nombre de patients n'est pas suffisant pour obtenir des résultats significatifs.

Tout d'abord, il ressort du contrôle de la température du perfuseur que les valeurs moyennes (~25°C avec un maximum de 32.7°C) obtenues sont inférieures à celles observées lors des expériences d'administration simulée. Cette différence peut être expliquée par le fait que, dans le cas présent, les patients sont hospitalisés et qu'ils sont donc exposés à une température ambiante relativement stable tout au long de l'année. Au contraire, lors des expériences d'administration simulée, la personne mimait plutôt une situation de traitement ambulatoire pendant lequel la température varie passablement. Les valeurs obtenues sont tout de même à la limite de la température à partir de laquelle la dégradation de l'antibiotique devient significative.

Sur la base de l'analyse HPLC, il faut remarquer que la quantité de pyridine mesurée à la fin de chacun des jours d'administration chez les deux patients, dépasse la limite de la Pharmacopée Américaine. Au fil des jours, la quantité de pyridine contenue augmente. Ces données confirment les résultats obtenus lors de l'étude de stabilité *in vitro* et amènent à se méfier des possibles conséquences cliniques de la pyridine. Ces résultats poussent également à considérer l'utilisation future d'un *cold pack* (ou d'un sac isolant) en clinique dans le but de diminuer la libération de ce produit toxique et éviter ainsi ses potentiels effets toxiques.

La concentration de ceftazidime à la fin des différents jours d'administration chez le patient A dépasse les 100% par rapport à la concentration de départ, sans toutefois dépasser la limite des 110%. En temps normal, une diminution de ce taux est attendue. L'augmentation de la concentration de ceftazidime pourrait s'expliquer de deux manières. Tout d'abord, une partie de la différence par rapport à la valeur de départ pourrait être due à l'erreur analytique. En effet, les dilutions successives effectuées lors de la préparation d'échantillons diminuent la précision des résultats. Néanmoins, cet unique facteur ne peut tout expliquer vu qu'aucune grande anomalie n'est décelée lors du dosage de la pyridine et qu'un second dosage confirme les résultats obtenus. Deuxièmement, lors de l'examen des chromatogrammes, un nouveau pic bien visible a pu être détecté, déjà à t_0 . Ce dernier est présent à près de 4% dans la solution de départ. Les standards des produits de dégradation de la ceftazidime n'étant pas disponibles, il est difficile d'identifier de manière certaine ce composé. Cependant, l'analyse de pureté permet de dire qu'il s'agit d'une substance dont la structure est très proche de celle de la ceftazidime. Parmi les produits de dégradation de l'antibiotique, le Δ_2 -isomère (A) et l'anti-isomère (B) sont ceux possédant les structures les plus proches (Figures B et C de l'Annexe 16). En effet, ce sont deux formes isomères de la structure active. Il se pourrait donc qu'il s'agisse d'un de ces deux composés. Malheureusement, aucune donnée n'a pu être trouvée concernant l'activité ou la toxicité de ces deux produits. Une étude (55) a déjà démontré la présence du Δ_2 -isomère comme étant un des principaux produits de dégradation, mais seulement à partir de 30°C. Dans le cas présent, la solution de départ n'a pas été exposée à des températures supérieures à 25°C. De plus, ce pic n'a été que peu observé lors des études de stabilité *in vitro*. Des expériences supplémentaires ont démontré que ce composé apparaît sur les chromatogrammes lors de la reconstitution de l'antibiotique à l'aide d'une seringue, directement dans son flacon d'origine. Le pH de la solution obtenue est d'ailleurs plus élevé. Par manque de temps, il n'a pas été possible de déterminer si ces composés sont déjà présents dans la matière première avant la reconstitution où s'ils sont formés lors de la reconstitution de l'antibiotique directement dans son contenant primaire. Néanmoins, il semblerait que sa proportion augmente dans les heures qui suivent la reconstitution avant de diminuer à nouveau. L'hypothèse serait, qu'au fil du temps, la ceftazidime se dégrade et que l'équilibre pousserait alors la réaction entre l'isomère et la ceftazidime vers la production de cette dernière. Ce phénomène pourrait, en partie, expliquer l'augmentation de la concentration de ceftazidime par rapport à la solution de départ.

Les résultats obtenus avec le patient B corroborent les observations précédentes. À la fin de chaque jour d'administration, la concentration de ceftazidime se situe à l'intérieur des limites dictées par la Pharmacopée Européenne (90-110%). Une augmentation suivie d'une diminution de la concentration de l'antibiotique sont observés. En ce qui concerne le composé « isomère », sa quantité est plus ou moins élevée à t_0 puis diminue au fil des 7j. L'hypothèse selon laquelle un équilibre existerait entre ce dernier et la ceftazidime s'applique tout à fait aux résultats obtenus chez le patient B.

La Pharmacopée Européenne donne une quantité relative limite en ce qui concerne les composés A et B. En effet, ils ne devraient pas excéder les 0.2%. S'il s'agit d'un de ces deux composés, ce pourcentage est largement dépassé dans chacun des échantillons cliniques analysés.

5 CONCLUSION

Les résultats obtenus lors de ce travail ont permis de répondre aux deux problématiques exposées, à savoir la performance des trois pompes à perfusion portables (*AutoSelector*[®], *Easypump*[®]1, *CADD-Legacy*[®]1) et la stabilité de la ceftazidime lors sa perfusion continue sur 24h.

Au regard des données récoltées lors des mesures de débit des trois dispositifs, seul le comportement de la pompe électrique *CADD-Legacy*[®]1 n'est pas modifié par un changement de la température ou de la concentration de la solution médicamenteuse. En effet, lors d'une augmentation de la concentration de l'antibiotique ou d'une diminution de la température, le débit des diffuseurs élastomériques (*AutoSelector*[®], *Easypump*[®]1) chute. Ce phénomène a pour conséquence une administration incomplète du médicament sur la période donnée pouvant engendrer un risque d'échec thérapeutique. La condition à l'utilisation de ces dispositifs serait l'augmentation manuelle du débit afin d'assurer l'entièvre administration de la dose. Notons qu'à la différence du perfuseur *Easypump*[®]1, la pompe *AutoSelector*[®] est munie d'un dispositif permettant une telle manipulation.

Les études de stabilité de la ceftazidime ont confirmé le fait que cet antibiotique se dégrade à des températures supérieures à 25°C, libérant une quantité de pyridine supérieure à la limite fixée par la Pharmacopée Américaine. Les directives d'utilisation clinique de la ceftazidime devraient prendre en compte la production de ce produit toxique, en plus de la dégradation propre de cet antibiotique.

Au vu des résultats de l'étude de stabilité de l'antibiotique, l'utilisation d'un système isolant ou d'un *cold pack* lors de la perfusion continue de la ceftazidime chez les enfants mucoviscidosiques est nécessaire pour maintenir le perfuseur à une température inférieure à 25°C, diminuant ainsi la libération de pyridine. La pompe électrique *CADD-Legacy*[®]1 est tout à fait adaptée à un abaissement de la température tout au long de la perfusion et peut donc, sans autre, être utilisée avec un tel dispositif. L'emploi des diffuseurs élastomériques n'est cependant pas à proscrire à condition, toutefois, d'avoir la possibilité de régler manuellement le débit du perfuseur.

6 PERSPECTIVES

Au terme de cette étude, plusieurs investigations supplémentaires seraient à suggérer autant au niveau des mesures de débits des perfuseurs que de l'étude de stabilité de la ceftazidime.

En premier lieu, la récolte d'un plus grand nombre de cassettes de ceftazidime après administration chez des patients, serait nécessaire afin d'obtenir des données significatives de stabilité *in vivo* du médicament. Pour mener à bien cette expérience, il faudrait enregistrer la température de chacune de ces cassettes tout au long de l'administration continue sur 24h. Ces données permettraient ensuite de mieux interpréter les résultats d'analyse obtenus par HPLC quant à la dégradation de l'antibiotique. Certaines de ces expériences devraient être accomplies en plein été afin de savoir jusqu'à quelle température le diffuseur peut réellement être exposé ainsi que l'impact direct de cette dernière sur la stabilité *in vivo* du médicament.

En second lieu, il s'agirait de développer une sacoche isolante (ou un *cold pack*) adapté à un usage en clinique et permettant d'abaisser la température du système de perfusion. Par la suite, la température intérieure de ces dispositifs devrait être enregistrée sur 24h afin de s'assurer que la température du diffuseur n'atteigne pas des valeurs supérieures à 25°C.

Il serait également nécessaire d'effectuer un plus grand nombre de mesures de débit en faisant varier la température du perfuseur et du régulateur de débit dans le but d'obtenir des résultats significatifs. Cette expérience permettrait de tirer des conclusions solides quant à la nécessité de placer le régulateur de débit en contact direct avec la peau.

Des mesures de débit du diffuseur *AutoSelector®* devraient aussi être effectuées en augmentant manuellement le débit en fonction de la concentration. Cette expérience permettrait d'établir un débit optimal du perfuseur pour chaque concentration de ceftazidime à administrer, permettant ainsi l'utilisation de ce diffuseur chez les enfants mucoviscidosiques traités pour une infection pulmonaire chronique à *Pseudomonas aeruginosa*.

Il serait également intéressant de mesurer le débit du nouveau diffuseur *Easypump®2* (BBraun Medical) afin de comparer ses performances à celles du perfuseur *Easypump®1* étudié lors de ce travail.

Pour terminer, de plus amples investigations pourraient être menées concernant le composé observé lors de la reconstitution de la ceftazidime directement dans son emballage primaire à l'aide d'une seringue. En effet, par manque de temps, il n'a pas été possible d'identifier ce composé de manière certaine ni de déterminer s'il s'agit d'une impureté présente dans le produit de départ ou d'un produit de dégradation formé lors de la reconstitution de l'antibiotique. Il serait également intéressant de savoir s'il s'agit vraiment d'une forme isomère et si un réel équilibre existe entre ce composé et la forme active de la ceftazidime.

7 BIBLIOGRAPHIE

1. Orenstein DM. Cystic fibrosis. In : Rudolph CD et al. *Rudolph's Pediatrics*. 22nd. New York: McGrawHill; 2011. p. 1977-1986.
2. Société Suisse pour la mucoviscidose (CFCH). *Caractéristiques cliniques de la mucoviscidose*; 2010.
3. Girodon-Boulandet E, Costa C. *Génétique de la mucoviscidose*. Mt Pédiatrie. 2005;**8**(3):126-34.
4. Harris A, Super M. *Cystic Fibrosis : The Facts*. 2nd. New York: Oxford University Press; 1991.
5. Rowe S, et al. *Mechanisms of disease : Cystic fibrosis*. N Engl J Med. 2005;**352**(11):1992-2001.
6. Hafen G, et al. *Vade-mecum mucoviscidose en pédiatrie*. 7nd. CHUV/HUG; 2010.
7. Cystic Fibrosis Foundation. [cited 2012 March 3]; Available from: <http://www.cff.org/>.
8. Lahzami S, Nicod LP. *Thérapies inhalées dans la mucoviscidose*. Rev Med Suisse. 2011;**7**:2285-8.
9. Montgomery GS, Howenstine M. *Cystic fibrosis*. Pediatr Rev. 2009;**30**(8):302-9.
10. Baumgart KW, Baldo BA. *Cephalosporin allergy*. N Engl J Med. 2002;**346**(5):380-1.
11. Kernen Y, et al. *Détection et prise en charge précoce de la primo-infection à Pseudomonas aeruginosa chez les patients avec mucoviscidose*. Rev Med Suisse. 2005;**1**(9):637-40.
12. Van Westreenen M, Tiddens HA. *New antimicrobial strategies in cystic fibrosis*. Pediatr Drugs. 2010;**12**(6):343-52.
13. Harrison CJ, Bratcher D. *Cephalosporins : a review*. Pediatr Rev. 2008;**29**(8):264-7.
14. Parmar JS, Nasser S. *Antibiotic allergy in cystic fibrosis*. Thorax. 2005;**60**(6):517-20.
15. Chabanon G, et al. *Aspects microbiologiques des infections pulmonaires au cours de la mucoviscidose*. Mt Pédiatrie. 1998;**1**(3):235-40.
16. Zobell JT, et al. *A survey of the utilization of anti-pseudomonal beta-lactam therapy in cystic fibrosis patients*. Pediatr Pulmonol. 2011;**46**(10):987-90.
17. Moreno E, et al. *Hypersensitivity reactions to cephalosporins*. Expert Opin Drug Saf. 2008;**7**(3):295-304.
18. Perez-Inestrosa E, et al. *Cephalosporin chemical reactivity and its immunological implications*. Curr Opin Allergy Clin Immunol. 2005;**5**(4):323-30.
19. Rappaz I, et al. *Continuous infusion of ceftazidime with a portable pump is as effective as thrice-a-day bolus in cystic fibrosis children*. Eur J Pediatr. 2000;**159**(12):919-25.
20. Madaan A, Li JTC. *Cephalosporin allergy*. Immunol Allergy Clin N Am. 2004;**24**(3):463-76.
21. Pegler S, Healy B. *In patients allergic to penicillin, consider second and third generation cephalosporins for life threatening infections*. BMJ. 2007;**335**(7627):991.
22. De Boeck K, Breysem L. *Treatment of Pseudomonas aeruginosa lung infection in cystic fibrosis with high or conventional doses of ceftazidime*. J Antimicrob Chemother. 1998;**41**(3):407-9.
23. Vinks AA, et al. *Continuous infusion of ceftazidime in cystic fibrosis patients during home treatment: clinical outcome, microbiology and pharmacokinetics*. J Antimicrob Chemother. 1997;**40**(1):125-33.
24. Couldry R, et al. *Continuous infusion of ceftazidime with an elastomeric infusion device*. Am J Health Syst Pharm. 1998;**55**(2):145-9.
25. Osselton MD, et al. *Clarke's analysis of drugs and poisons*. 4th. London: Pharmaceutical Press; 2011. p. 1060-1
26. Prescott WA, et al. *Continuous-infusion antipseudomonal beta-lactam therapy in patients with cystic fibrosis*. P&T. 2011;**36**(11):723-40.
27. Hubert D, et al. *Continuous versus intermittent infusions of ceftazidime for treating exacerbation of cystic fibrosis*. Antimicrob Agents Chemother. 2009;**53**(9):3650-6.
28. Baririan N, et al. *Stability and compatibility study of cefepime in comparison with ceftazidime for potential administration by continuous infusion under conditions pertinent to ambulatory treatment of cystic fibrosis patients and to administration in intensive care units*. J Antimicrob Chemother. 2003;**51**(3):651-8.
29. Jaruratanasirikul S, Sriwiriyajan S. *Stability of ceftazidime in normal saline solution after exposure to light*. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 2001;**32**(1):216-8.
30. Favetta P, et al. *Fortum® stability in different disposable infusion devices by pyridine assay*. J Pharm Biomed Anal. 2002;**27**(6):873-9.
31. Skryabina EA, Dunn TS. *Disposable infusion pumps*. Am J Health-Syst Pharm. 2006;**63**(13):1260-8.
32. Cazalaà JB, et al. *Les appareils électriques de perfusion*. Ann Fr Anesth Réanim. 1994;**13**(3):350-9.

33. Maynial V, et al. *Diffuseurs portables utilisables en chimiothérapie anticancéreuse.* Pharm Hosp. 2001;**36**(146):23-8.
34. Zahnd D, et al. *A randomized crossover trial assessing patient preference for two different types of portable unfusion-pump devices.* Ann Oncol. 1999;**10**(6):727-9.
35. Ilfeld BM, et al. *Portable infusion pumps used for continuous regional analgesia: delivery rate accuracy and consistency.* Reg Anesth Pain Med. 2003;**28**(5):424-32.
36. Valente M, Aldrete JA. *Comparison of accuracy and cost of disposable, nonmechanical pumps used for epidural infusions.* Reg Anesth. 1997;**22**(3):260-6.
37. Ackermann M, et al. *Evaluation of the design and reliability of three elastomeric and one mechanical infusers.* J Oncol Pharm Pract. 2007;**13**(2):77-84.
38. Ilfeld BM, et al. *New portable infusion pumps: real advantages or just more of the same in a different package?* Reg Anesth Pain Med. 2004;**29**(4):371-6.
39. Ilfeld BM, et al. *The delivery rate accuracy of portable infusion pumps used for continuous regional analgesia.* Anesth Analg. 2002;**95**(5):1331-6.
40. Capdevila X, et al. *Patient-controlled perineural analgesia after ambulatory orthopedic surgery: a comparison of electronic versus elastomeric pumps.* Anesth Analg. 2003;**96**(2):414-7.
41. Choi SW, et al. *Development and in vitro evaluation of a flow-adjustable elastic drug infusion pump.* Proc Inst Mech Eng H. 2011;**225**(11):1070-7.
42. Kawabata Y. *Effect of coefficient of viscosity and ambient temperature on the flow rate of drug solutions in infusion pumps.* Pharm Dev Technol [online]. 2011.
43. Remerand F, et al. *Elastomeric pump reliability in postoperative regional anesthesia: a survey of 430 consecutive devices.* Anesth Analg. 2008;**107**(6):2079-84.
44. Chung IS, et al. *The flow rate of the elastomeric balloon infusor is influenced by the internal pressure of the infusor.* J Korean Med Sci. 2001;**16**(6):702-6.
45. Coley SC, et al. *The performance of three portable infusion-pump devices set to deliver 2 mL/hr.* Am J Health Syst Pharm. 1997;**54**(11):1277-80.
46. Guiffant G, et al. *Mechanical performances of elastomers used in diffusers.* Med Dev Evid Res. 2011;**4**:71-6.
47. Mizuuchi M, et al. *The infusion rate of most disposable, non-electric infusion pumps decreases under hypobaric conditions.* Can J Anaesth. 2003;**50**(7):657-62.
48. Wang J, et al. *Effects of atmospheric pressure conditions on flow rate of an elastomeric infusion pump.* Am J Health-Syst Pharm. 2012;**69**(7):587-91.
49. Zajac M, et al. *The mechanism of ceftazidime degradation in aqueous solutions.* Acta Pol Pharm. 1998;**55**(4):275-8.
50. Arsène M, et al. *Comparison of ceftazidime degradation in glass bottles and plastic bags under various conditions.* J Clin Pharm Ther. 2002;**27**(3):205-9.
51. Farina A, et al. *Stability of reconstituted solutions of ceftazidime for injections: an HPLC and CE approach.* J Pharm Biomed Anal. 1999;**20**(3):521-30.
52. Walker SE, et al. *Stability of commonly used antibiotic solutions in an elastomeric infusion device.* Can J Hosp Pharm. 2010;**63**(3):212-24.
53. Stendal TL, et al. *Drug stability and pyridine generation in ceftazidime injection stored in an elastomeric infusion device.* Am J Health Syst Pharm. 1998;**55**(7):683-5.
54. Viaene E, et al. *Comparative stability studies of antipseudomonal beta-lactams for potential administration through portable elastomeric pumps (home therapy for cystic fibrosis patients) and motor-operated syringes (intensive care units).* Antimicrob Agents Chemother. 2002;**46**(8):2327-32.
55. Servais H, Tulkens PM. *Stability and compatibility of ceftazidime administered by continuous infusion to intensive care patients.* Antimicrob Agents Chemother. 2001;**45**(9):2643-7.
56. Compendium Suisse de Médicaments. [cited 2012 March 15]; Available from: <http://www.kompendium.ch>.
57. Trissel LA. *Handbook on Injectable Drugs.* 16th. Bethesda: American Society of Health-System Pharmacists; 2011. p. 304-17.
58. Kane J. Sternheim M. *Physique.* 3th. Paris : Dunod ; 2004. p. 314, 369-70.
59. Pharmacopée Européenne. [cited 2012 Mai 22]; Available from : <http://online6.edqm.eu/ep705/>.

8 ANNEXES

ANNEXE 1	Notions théoriques
ANNEXE 2	Perfuseurs
ANNEXE 3	Mode d'emploi du logiciel BalanceLink 4.0.2, Mettler Toledo (Suisse)
ANNEXE 4	Fiche de mesure du débit d'un perfuseur
ANNEXE 5	Fiche de produit pour la Ceftazidime pentahydratée
ANNEXE 6	Préparation des solutions de ceftazidime
ANNEXE 7	Mode d'emploi des perfuseurs
ANNEXE 8	Montage des expériences de mesure des débits
ANNEXE 9	Rapport/Protocole de validation
ANNEXE 10	Influence de la concentration
ANNEXE 11	Influence de la température
ANNEXE 12	Rapport de validation E-noval
ANNEXE 13	Température du perfuseur AutoSelector®
ANNEXE 14	Etude de la stabilité de la ceftazidime <i>in vitro</i>
ANNEXE 15	Etude de la stabilité de la ceftazidime en clinique
ANNEXE 16	Ceftazidime et produits de dégradation

ANNEXE 1 : Notions théoriques**Loi de Poiseuille (57)**

La loi de Poiseuille décrit l'écoulement laminaire d'un fluide à travers un tube cylindrique. Lorsque le fluide qui s'écoule dans le cylindre est visqueux, une chute de pression est observée entre l'entrée et la sortie du cylindre de rayon r et de longueur l . La loi de Poiseuille permet de relier le débit Q du fluide avec sa viscosité η , la chute de pression ΔP et les dimensions du tube r et l . Elle est décrite par la formule suivante :

$$Q = \pi r^4 \frac{\Delta P}{8\eta l}$$

Équation A

Q	=	Débit [$m^3 s^{-1}$]
R	=	Rayon du tube [m]
η	=	Viscosité [Pa^*s]
L	=	Longueur du tube [m]
ΔP	=	Perte de charge [Pa]

Il en ressort que le débit est proportionnel au diamètre du tube dans lequel s'écoule le fluide ainsi qu'à la différence de pression à l'entrée et à la sortie du tube. Cependant, il est inversement proportionnel à la longueur du tube ainsi qu'à la viscosité du liquide.

Par exemple, l'augmentation de la concentration d'une solution ou une diminution de la température engendrent une augmentation de la viscosité et donc une baisse du débit.

Effet de la température sur le débit (57)

La température influence le débit d'un perfuseur de deux manières.

En premier lieu, la température modifie la viscosité d'une solution et donc, selon la loi de Poiseuille, son débit.

En second lieu, la température influence le comportement du régulateur de débit. En effet, ce dernier est en verre et subit des phénomènes de dilatation/contraction en fonction de la température. La relation entre la température et le diamètre d'un tube en verre est donnée par l'équation de la dilatation thermique pour un cas isotrope. Cette dernière est présentée ci-dessous.

$$\Delta L = \alpha \cdot L_0 \cdot \Delta T$$

Équation B

ΔL	=	Variation de longueur [m]
α	=	Coefficient de dilatation linéaire [K^{-1}]
L_0	=	Longueur initiale [m]
ΔT	=	Variation de la température

Dans le cas présent, L_0 correspond au diamètre du tube en verre du régulateur de débit.

ANNEXE 2 : Perfuseurs

AutoSelector®, Acemedical (Corée)

Le réservoir élastomérique du perfuseur *AutoSelector®* est composé de silicone. Ce dispositif contient du PVC mais pas de latex ni de DEHP.

Le débit est calibré par le fabricant à l'aide d'une solution de NaCl 0.9%, à température ambiante (environ 25°C) sans différence de hauteur entre le corps du perfuseur et la fin de la tubulure. Dans ces conditions, la précision du débit du perfuseur *AutoSelector®* (100 ml) est de $\pm 10\%$. Aucune recommandation n'est donnée quant aux précautions à prendre pour minimiser l'effet de la température sur le débit.

Le perfuseur *AutoSelector®* utilisé lors de cette étude possède un volume de remplissage nominale de 100 ml et un débit réglable de 0, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 ml/h. Si le perfuseur est utilisé correctement, le volume résiduel est inférieur à 5ml. Ci-dessous figure une photo du perfuseur *AutoSelector®*.

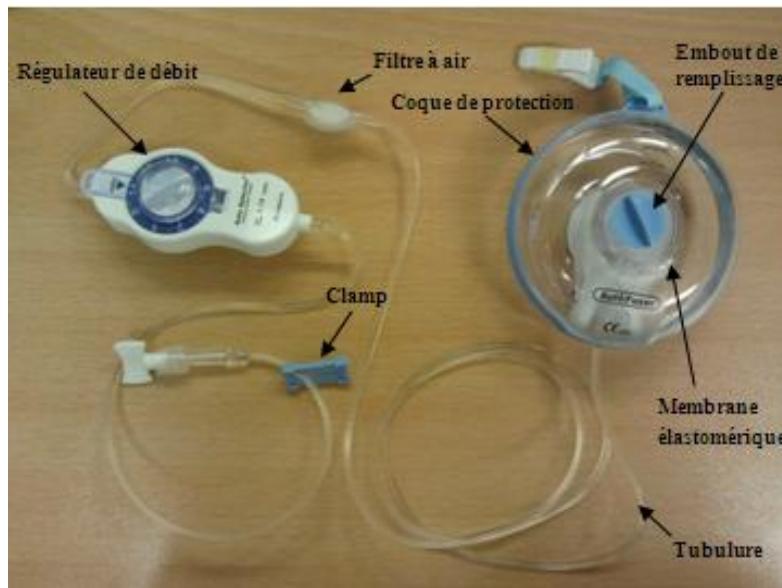


Figure A : Perfuseur AutoSelector®

Easypump® 1, BBraun Medical (Allemagne)

Le réservoir médicamenteux de ce perfuseur se compose d'une membrane à double paroi. La paroi interne est composée d'un polymère synthétique alors que l'externe est en latex. Il n'y a cependant aucun risque pour les personnes allergiques au latex car la solution médicamenteuse n'est jamais en contact avec celui-ci. Ce dispositif contient du DEHP et du PVC.

Le débit est calibré par le fabricant à l'aide d'une solution NaCl 0.9%. Le corps du perfuseur est placé à 20°C et le régulateur de débit en verre à 31°C. Dans ces conditions, la précision du débit est de $\pm 15\%$. Le fabricant stipule que pour chaque degré en-dessous ou en-dessus de ces températures, le débit est respectivement diminué ou augmenté de 2.2%. Dans le cas d'une perfusion d'une solution de glucose 5% ou d'une autre solution médicamenteuse plus visqueuse que du NaCl 0.9%, cela peut augmenter le temps d'administration de 8 à 10%. Afin de minimiser l'effet de la température, il est conseillé de maintenir, autant que possible, le corps du perfuseur à 20°C et de garder le régulateur de débit en contact direct avec la peau (31°C). Le fabricant dit également qu'il faut éviter toute source de chaleur comme une cheminée, un chauffage ou le fait de dormir avec le perfuseur sous le duvet. Il est dit également que la taille du ballon qui contient le médicament se réduit durant la perfusion et que c'est au patient de contrôler que la taille et le poids de ce dernier diminuent.

Le perfuseur *Easypump® 1* utilisé lors de cette étude possède un volume de remplissage nominal de 125 ml. Le débit nominal est de 5 ml/h et la durée de perfusion approximative est de 25h. Si le perfuseur est utilisé correctement, le volume résiduel doit être inférieur à 3 ml. Ci-dessous figure un schéma de ce perfuseur.

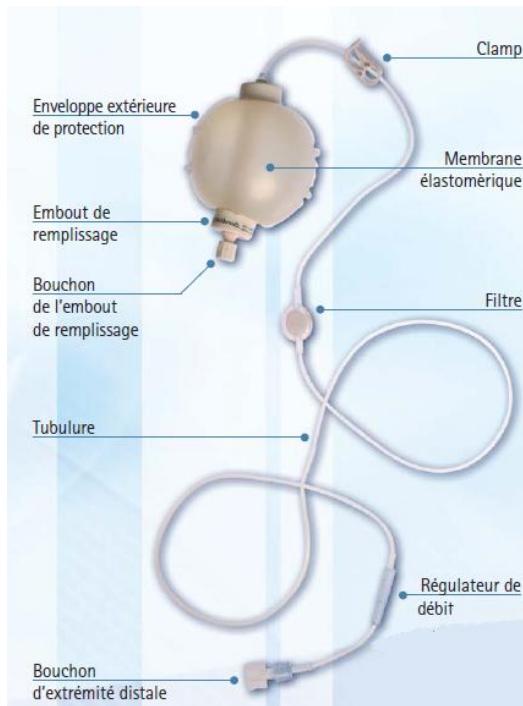


Figure B : Schéma d'un perfuseur Easypump® 1 fourni par le fabricant

CADD-Legacy®1, Smiths Medical (USA)

La cassette réservoir de médicament utilisé est faite de PVC et la tubulure de cette dernière est constituée de PVC, ABS et polypropylène. Cette tubulure contient du DEHP. Le perfuseur *CADD-Legacy®1* étant électrique, son débit est moins variable que les dispositifs élastomériques. En effet, la précision de ce dernier est de $\pm 6\%$.

Le système fonctionne avec la même précision si le diffuseur est utilisé à une température comprise entre 2 et 40°C, s'il est stocké entre -20 et 60°C et s'il n'est pas exposé à une humidité relative inférieure à 20% ou supérieur à 90%. La pression maximum de perfusion est de 2068 mmHG. Le perfuseur a été utilisé avec le détecteur d'air inactif et le capteur d'occlusion en amont actif. La pompe possède plusieurs alarmes qui sont citées ci-dessous. La Figure C présente une photo du perfuseur.

- Pile faibles
- Piles déchargées
- Piles délogées
- Pompe arrêtée
- Défaillance de la pompe
- Volume résiduel bas
- Haute pression de perfusion
- Pas de cassette lors de la mise en marche
- Moteur verrouillé
- Occlusion en amont
- Volume résiduel vide
- Touche bloquée
- Cassette détachée



Figure C : Perfuseur CADD-Legacy®1, photo fournie par le fabricant.

La Figure D ci-dessous présente le mécanisme de fonctionnement du perfuseur.

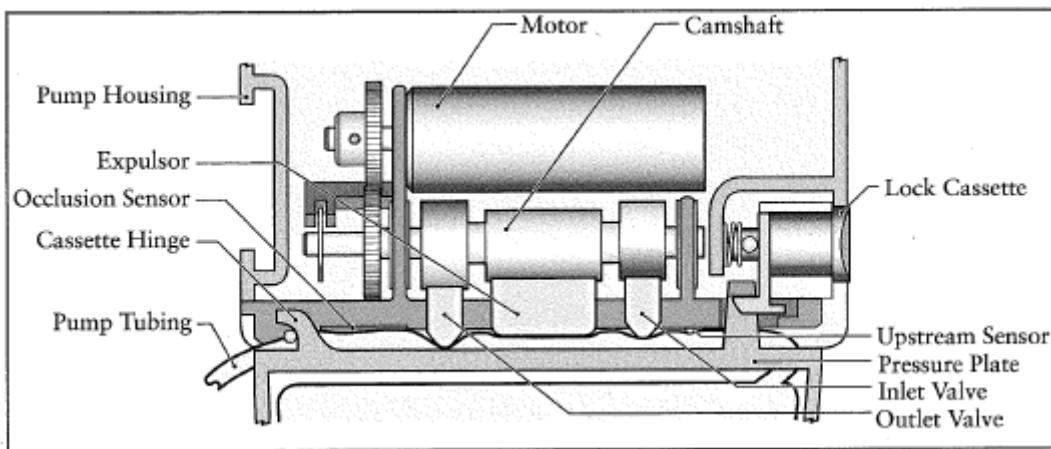


Figure D : Mécanisme de pompage de la CADD-Legacy®1 fourni par le fabricant.

Cette pompe électrique fonctionne grâce à un mécanisme de péristaltisme linéaire se composant de deux valves actives et d'un expulseur. Le pompage a lieu lorsque la valve d'entrée s'abaisse et appuie sur la tubulure, suivit de près par l'expulseur. La valve de sortie est quant à elle rétractée. Au repos, la valve d'entrée et l'expulseur sont rétractés alors que la valve de sortie est abaissée et appuie sur la tubulure.

ANNEXE 3 : Mode d'emploi du logiciel BalanceLink 4.0.2, Mettler Toledo (Suisse)

Programme : BalanceLink, version 4.0.2, Mettler Toledo (Suisse)

1. Connecter la balance Mettler XS60025 à l'ordinateur portable.
2. Lancer le programme BalanceLink 4.0.2 et cliquer sur l'icône **Interface**  de la barre d'outils afin d'ouvrir la fenêtre «Configuration Interface». Vérifier que les éléments sélectionnés correspondent à ceux de la Figure A ci-dessous. Cliquer ensuite sur OK.

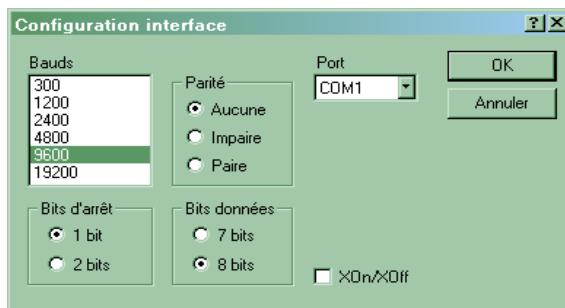


Figure A : Configuration Interface

3. Sélectionner la balance utilisée en cliquant sur l'icône **Afficher Transmitter**  de la barre d'outils. La fenêtre « BalanceLink Transmitter » s'ouvre.
- A) Sous l'onglet *Transmitter* sélectionner **Balance** et **XS,XP,AX/MX/UMX** (cf.: Figure B)

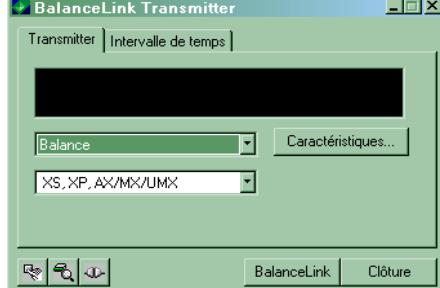


Figure B : BalanceLink Transmitter, sélection de la balance

- B) Cliquer ensuite sur l'icône **Vérifier connexion**  (cf.: Figure C) afin de vérifier la connexion entre l'ordinateur et la balance. Puis cliquer sur Clôture.

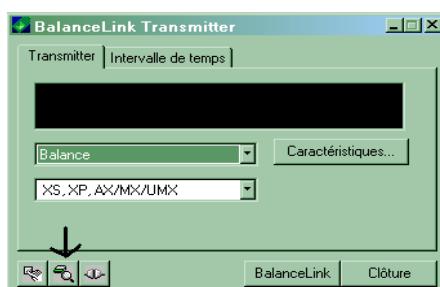


Figure C : BalanceLink Transmitter, connexion à la balance

4. Sous l'onglet *Intervalle de temps*, sélectionner l'intervalle de mesure désiré (Ex. de la Figure D ci-dessous: 1 minute → 00 :01 :00). Il est également possible de déterminer un nombre de mesures à effectuer, l'heure de commencement et de fin des mesures ainsi qu'un délai avant la première mesure. Cliquer ensuite sur Clôture.

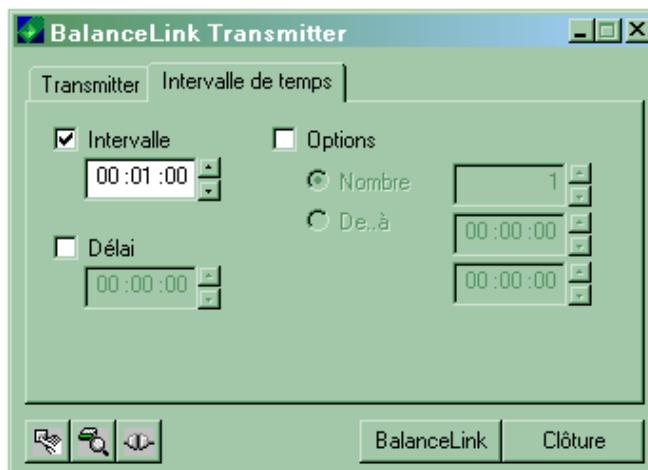


Figure D : BalanceLink Transmitter, sélection de l'intervalle de temps

5. Cliquer sur l'icône **Caractéristique**  de la barre d'outils pour que la fenêtre «Caractéristiques AX/MX/UX, XS/XP » s'ouvre.

- A) Sous l'onglet *Format*, cocher **Modifié** ainsi que **Macro1**, **Valeur**, **Macro2**, **Unité** et **Macro3**. Cocher également **Affichage dans la fenêtre** et **Résultat dans le fichier**, conformément à la Figure E ci-dessous.

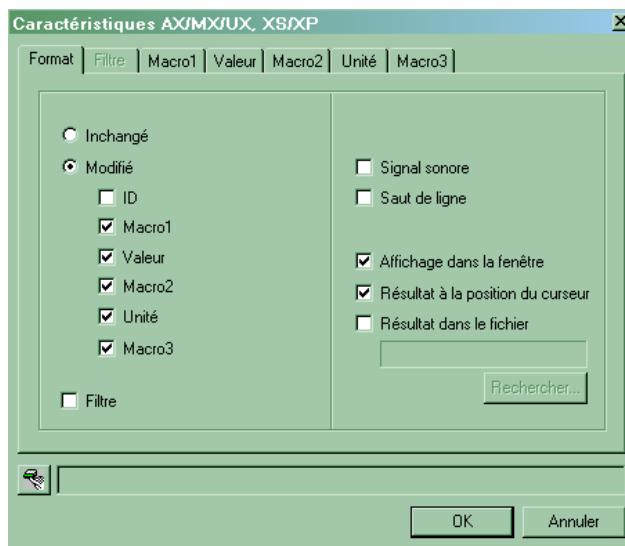


Figure E : Caractéristiques AX/MX/UX XS/XP, Format

- B) Sous l'onglet *Macro1*, taper la formule suivante : **%d/%m/%y[Tab]%H:%M:%S[Tab]**, conformément à la Figure F ci-après. La première partie de la formule (%d/%m/%y) correspond à la date (jour/mois/année) et la deuxième (%H:%M:%S) à l'heure (heure:minute:seconde).

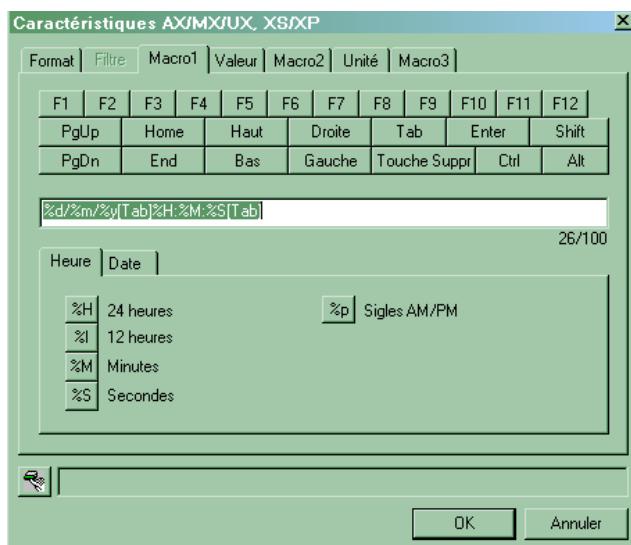


Figure F : Caractéristiques AX/MX/UX XS/XP, Macro1

- C) Sous l'onglet *Valeur*, cocher **Modifier** et sélectionner les **décimales**, l'**arrondi**, les **caractères** et la **justification** désirés. Il faut également cocher **Point** et **Multiplier** et s'assurer que la constante soit de **0** et le facteur de **1**, comme le montre la figure G ci-dessous.

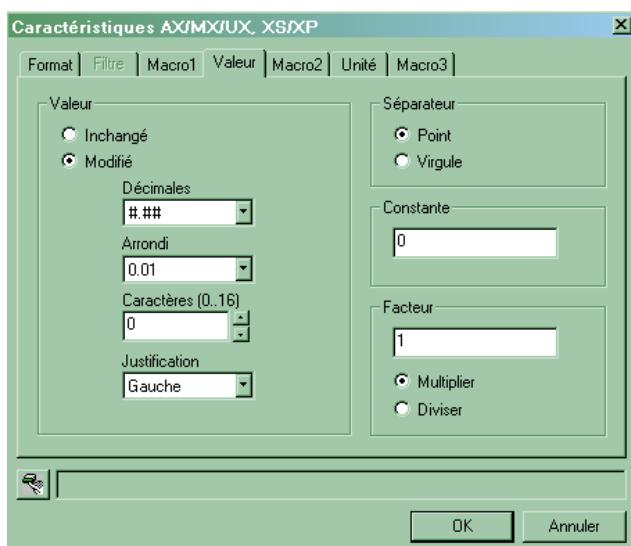


Figure G : Caractéristiques AX/MX/UX XS/XP, Valeur

- D) Sous l'onglet *Macro2*, taper [Tab] (cf.: Figure H).

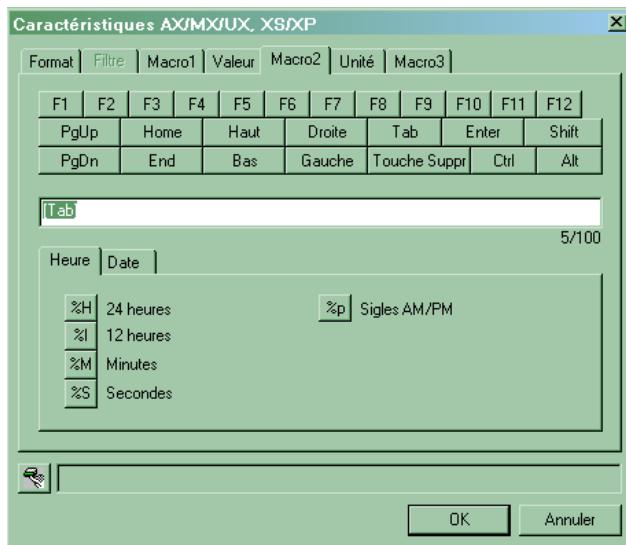


Figure H : Caractéristiques AX/MX/UX XS/XP, Macro2

- E) Sous l'onglet *Unité*, cocher **Unité Balance** et **Inchangé**, conformément à l'Image I ci-dessous.

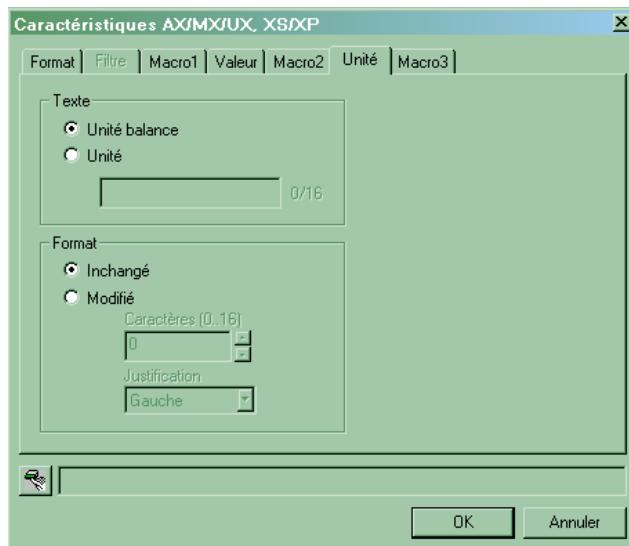


Figure I : Caractéristiques AX/MX/UX XS/XP, Unité

- F) Sous l'onglet Macro3, taper la formule suivante : **[Down][Left][Left][Left]** (cf.: Figure J). Pour finir, cliquer sur OK.

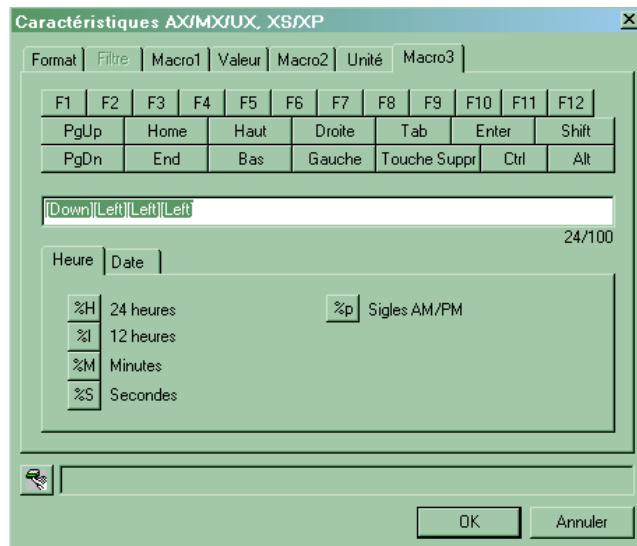


Figure J : Caractéristiques AX/MX/UX XS/XP, Macro3

Ce code permet d'ordonner les paramètres des futures données dans Excel afin de les avoir sur 4 colonnes côté à côté (Date, Heure, Poids et Unité) comme le montre la Figure K ci-dessous.

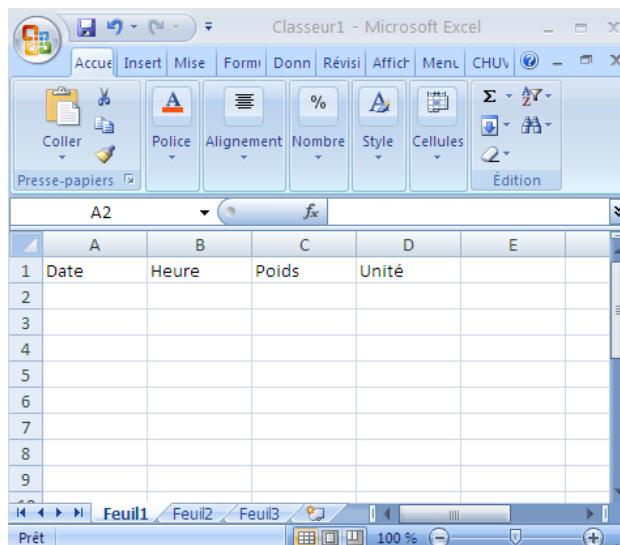


Figure K : Fenêtre Excel

- G) Dans la fenêtre principale du programme, nommée « METTLER TOLEDO BalanceLink », cocher **F2** et **SI** (Sous : Instruction → PM/AT → SI), conformément à la Figure L ci-après. Ainsi, il suffit de taper la touche **F2** sur le clavier pour déclencher la première mesure. **SI** signifie qu'il s'agit d'une mesure dynamique.

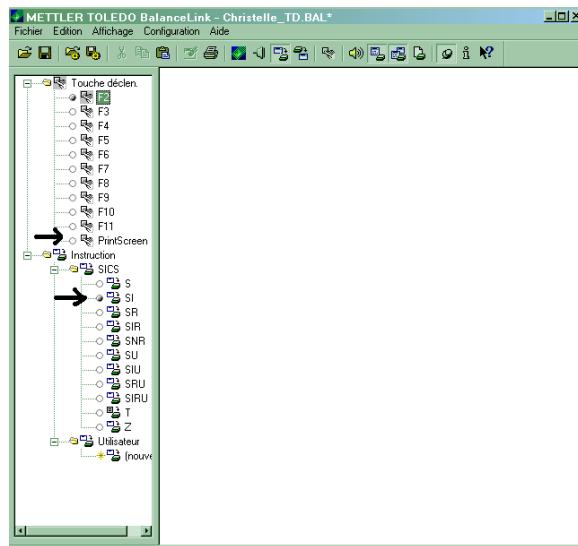


Figure L : METTLER TOLEDO BalanceLink

- H) Le programme est prêt. Pour lancer la première mesure, aller dans la fenêtre principale du programme, nommée « METTLER TOLEDO BalanceLink », appuyer sur la Touche **F2** du clavier puis retourner dans la fenêtre Excel et sélectionner la cellule où l'apparition du premier résultat est désiré.

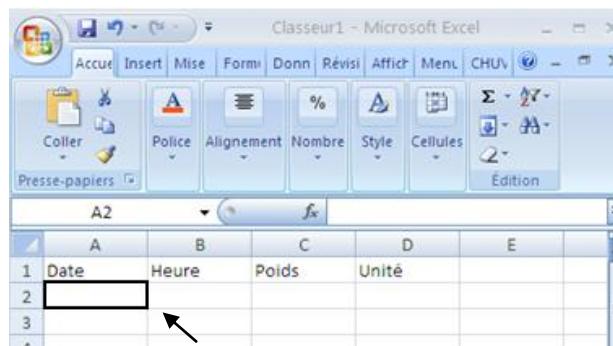


Figure M : Fenêtre Excel

6. Ne pas toucher l'ordinateur pendant le processus de mesure afin d'éviter le non enregistrement des données dans Excel. En effet, pour que le transfert entre le programme BalanceLink 4.0.2 et Excel s'effectue, il faut toujours qu'une cellule soit sélectionnée dans Excel.
7. Plus d'informations sont données sous l'onglet Aide de la barre d'affichage.

ANNEXE 4 : Fiche de mesure du débit d'un perfuseur

Mesure n°	
------------------	--

Concentration ceftazidime	
----------------------------------	--

Pompe	
Modèle	
N° de lot	

Ceftazidime 1g	
N° de lot	
Ceftazidime 2g	
N° de lot	

Chlorure de sodium	
N° de lot	
Volume	

m Ballon vide	
m Ballon avec sol. ceftazidime	
m Solution ceftazidime	

Heure de début des mesures	
Heure de fin des mesures	

Contrôle de la Température	Heure	Température [°C]
1.		
2.		
3.		
4.		
5.		
6.		
7.		

ANNEXE 5 : Fiche de produit pour la Ceftazidime pentahydratée**Tableau A : Fiche produit de la ceftazidime pentahydratée**

Nom	Ceftazidime pentahydratée		
Formule brute (59)	$C_{22}H_{22}N_6O_7S_2 \cdot 5H_2O$	Masse mol. (59)	636.7 g/mol
Formule développée (59)	$, \quad 5 H_2O$		
Activité (25)	Antibactérien		
Posologie/ concentration d'utilisation (59)	Adultes : 500 mg à 2 g toutes les 8 à 12h Enfant (>2 mois) : 50 à 150 mg/kg/j, maximum 6 g/j Nourrisson (<2 mois) : 25 à 60 mg/kg/j		
Toxicité (25)	En surdosage : Effets neurologiques (encéphalopathies, excitabilité neuromusculaire, convulsions, coma)		
Fournisseur	Actavis		
Caractères organoleptiques (59)			
- Aspect	Poudre cristalline blanche ou sensiblement blanche		
Caractères physico-chimiques			
- pKa (25)	1.9, 2.7, 4.1		
- Solubilité (59)	Peu soluble dans l'eau et dans le méthanol, Pratiquement insoluble dans l'acétone et dans l'éthanol à 96 %, Se dissout dans les solutions acides et alcalines		
- Stabilité (55)	En solution, se dégrade à plus de 25°C		
- Incompatibilité (56)	Peu stable dans des solutions de bicarbonate de sodium Ne pas mélanger, en solution, la ceftazidime avec un aminoside ou la vancomycine		
Caractères pharmacocinétiques (25)			
- 1/2 vie	2h		
- Vd	0.2 à 0.3 l/kg		
- Liaison aux protéines	< 10%		
- Elimination	Principalement rénale, clairance du plasma : 115 ml/min		

ANNEXE 6 : Préparation des solutions de ceftazidime

Perfuseur AutoSelector® et CADD-Legacy®1

Concentration à 30mg/ml :

- Ajouter 5 ml de NaCl 0.9% dans le flacon de ceftazidime 1 g à l'aide d'une seringue, secouer et laisser dégazer
- Ajouter 10 ml de NaCl 0.9% dans le flacon de ceftazidime 2 g à l'aide d'une seringue, secouer et laisser dégazer
- Avec une seringue, récupérer les solutions et les transférer dans un ballon jaugé de 100 ml et compléter avec du NaCl 0.9%
- Ajouter 2 ml de NaCl 0.9% afin de prévenir les pertes lors du remplissage du perfuseur

Concentration à 60mg/ml :

- Ajouter 10 ml de NaCl 0.9% dans chacun des trois flacons de ceftazidime 2 g à l'aide d'une seringue, secouer et laisser dégazer
- Avec une seringue, récupérer les solutions et les transférer dans un ballon jaugé de 100 ml et compléter avec du NaCl 0.9%
- Ajouter 2 ml de NaCl 0.9% afin de prévenir les pertes lors du remplissage du perfuseur

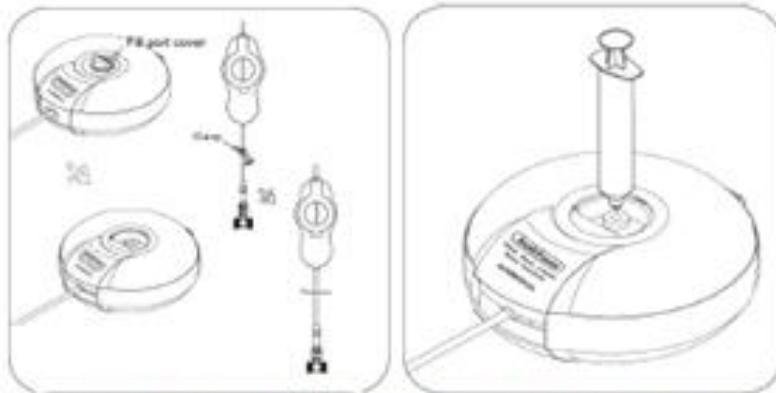
Easypump®1

Concentration à 30mg/ml :

- Ajouter 10 ml de NaCl 0.9% dans deux flacons de ceftazidime 2 g à l'aide d'une seringue, secouer et laisser dégazer
- Avec une seringue, récupérer toute la solution d'un des flacons. Pour le second, n'en retirer seulement que 8.8 ml. Transférer les solutions dans un récipient de 125 ml et compléter avec du NaCl 0.9%
- Ajouter 2 ml de NaCl 0.9% afin de prévenir les pertes lors du remplissage du perfuseur

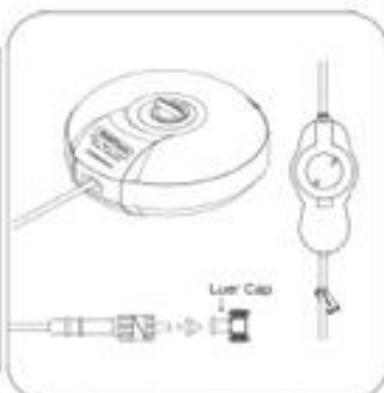
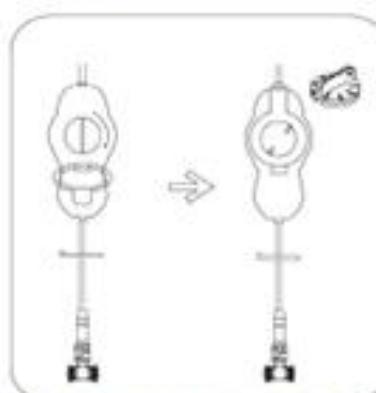
Concentration à 60mg/ml :

- Ajouter 10 ml de NaCl 0.9% dans chacun des quatre flacons de ceftazidime 2 g à l'aide d'une seringue, secouer et laisser dégazer
- Avec une seringue, récupérer toute la solution de trois des flacons. Pour le quatrième, n'en retirer seulement que 7.5 ml. Transférer les solutions dans un récipient de 125 ml et compléter avec du NaCl 0.9%
- Ajouter 2 ml de NaCl 0.9% afin de prévenir les pertes lors du remplissage du perfuseur

ANNEXE 7 : Mode d'emploi des perfuseurs**AutoSelector®****Directions For Use**

1. Check the basal rate, bolus and volume of device before use.
2. Close the tubing clamp and open the fill port cover at the center of the AutoFuser.

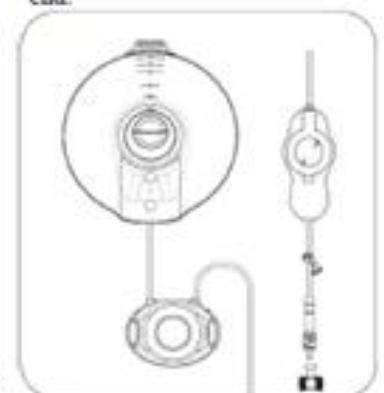
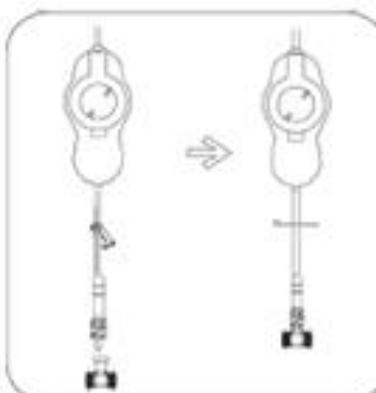
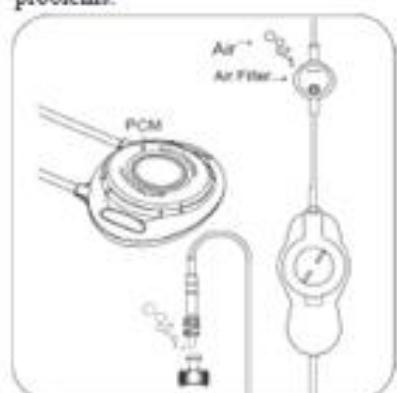
3. Using a syringe, fill the reservoir bag with desired medication.



4. Close the fill port cover and inspect the pump for any leaks or other problems.

5. Set the desired basal rate and remove the lock key.

6. Open the tubing clamp and remove the luer cap from the tubing end.



7. Remove all air from the PCM device by pressing PCM button 2-3 times.

8. Pinch the tubing shut with the clamp, re-attach luer cap.

9. Connect the patient after opening the clamp and removing the luer cap from tubing end.

Easypump® 1**Mode opératoire Instructions de remplissage***Remplissage manuel (cf. schémas page 12 et 13) :*

Utiliser pour le remplissage manuel une seringue d'un volume maximum de 60 ml munie d'un embout luer-lock.

L'utilisation d'une seringue plus petite peut rendre le remplissage manuel plus facile. Afin de diminuer le nombre d'aspirations, de connections et de déconnexions lors du remplissage manuel, il est conseillé d'utiliser un set de transfert ou un prolongateur avec un robinet 3 voies.

Etapes :

- Sortir Easypump® de son emballage quand tout est prêt pour l'opération de remplissage.
- Tous les composants dans leur présentation d'origine sont stériles et apyrrogènes.
- Pour le remplissage, il est recommandé de suivre les précautions de sécurité habituelles et une technique aseptique. Pour obtenir la concentration et le volume désirés, utiliser une solution de dilution appropriée.
- Suivre les recommandations du fabricant pour la reconstitution du médicament.
- Aspirer la solution de perfusion à l'aide d'une seringue munie d'un embout luer-lock.
- Retirer le bouchon de l'embout de remplissage en tournant dans le sens inverse des aiguilles d'une montre.

- Conserver précieusement le bouchon et le poser sur une surface stérile.
- Connecter la seringue pré-remplie (tourner dans le sens des aiguilles d'une montre). Eviter de forcer la rotation pour ne pas risquer d'endommager l'embout de remplissage.
- Fermer le clamp de la tubulure.
- Injecter le contenu de la seringue. Retirer la seringue de l'embout de remplissage (tourner dans le sens inverse des aiguilles d'une montre). Répéter l'opération jusqu'à obtention du volume souhaité. Il est recommandé de purger la turbulure avec une solution saline (NACL 0,9 %) avant l'administration du médicament.
- Quand le remplissage est achevé, remettre le bouchon sur l'embout

- Indiquer autour de la tubulure l'identification du médicament.

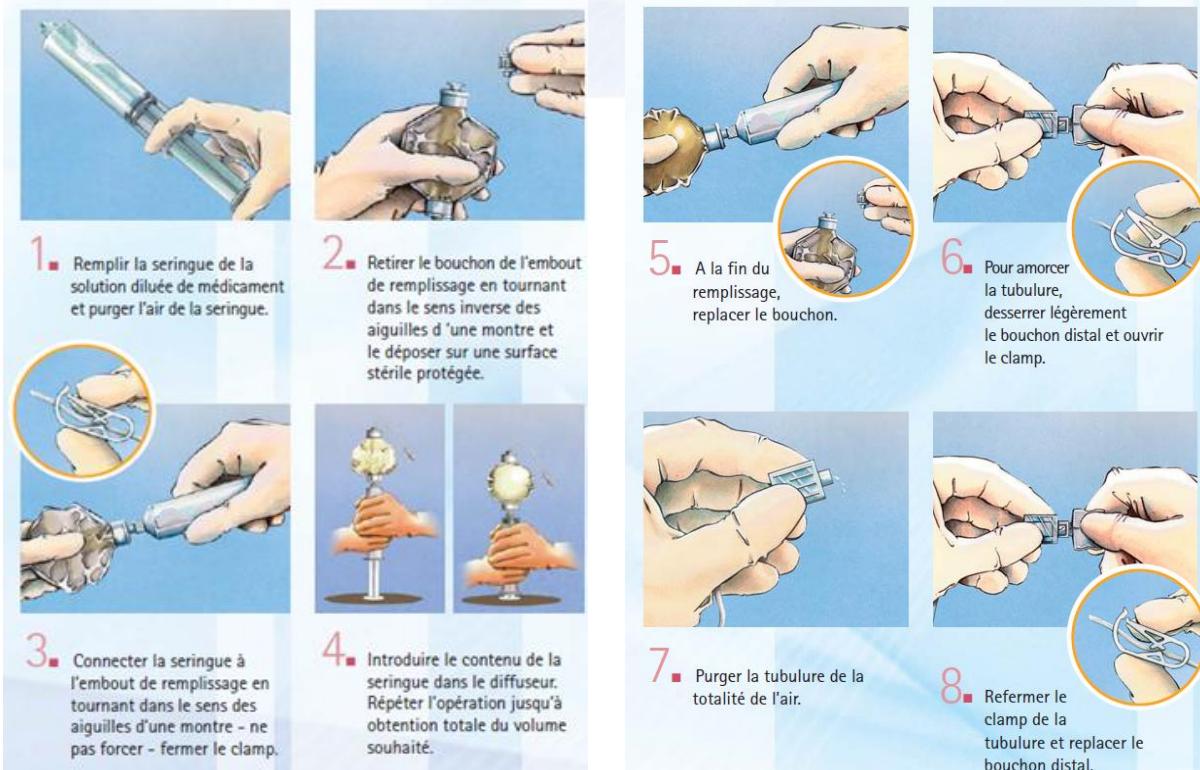
- Pour amorcer la perfusion, desserrer légèrement le bouchon de l'extrémité distale et ouvrir le clamp. Purger la tubulure en desserrant et resserrant le bouchon de l'extrémité distale. Répéter l'opération autant de fois que nécessaire. A la fin de cette opération, fermer le clamp et resserrer le bouchon de l'extrémité distale.
- Le produit est prêt à être connecté sur l'accès vasculaire du patient.
- Easypump® LT devrait être connectée immédiatement après son remplissage.
- Une utilisation retardée d'Easypump® LT après remplissage peut entraîner un allongement du temps d'administration.
- Easypump® ST doit être remplie 4 heures avant son utilisation. Une utilisation immédiate aura

- comme effet une diminution du temps de perfusion.

- Fixer le régulateur de débit (pas le filtre) sur la peau du patient à l'aide d'un ruban adhésif.
- Instructions de remplissage pour les médicaments à risque de précipitation (ex : 5-FU)

1. En suivant les instructions de remplissage énoncées précédemment, remplir tout d'abord Easypump® avec environ 10 ml de diluant (ex NACL 0,9%).
2. Suivre ensuite les recommandations du fabricant pour la reconstitution du médicament, et remplir Easypump® en suivant les instructions de remplissage énoncées précédemment.
3. Compléter le remplissage jusqu'au volume souhaité. Cette technique permet de réduire les risques de précipitation dans la tubulure, en conservant le médicament dans le réservoir.

Note : ne jamais remplir les seringues de 50-60 ml à plus de 50 ml. Un remplissage au-delà de 50 ml pourrait provoquer une fuite de la solution



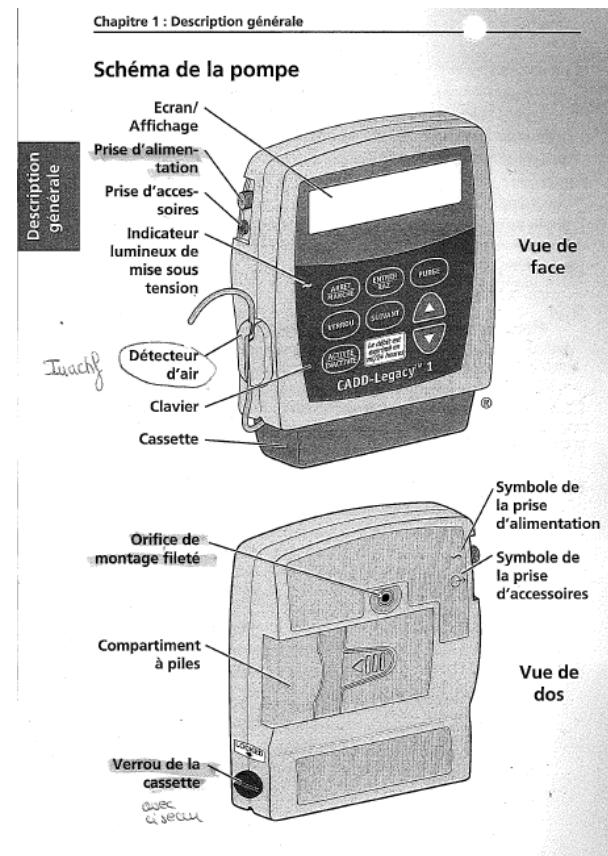
CADD-Legacy® 1*Remplissage de la cassette***Mode d'emploi**

Recourir à une technique aseptique. Modifier conformément aux directives du Centre de contrôle des maladies, ou aux pratiques de l'établissement concerné.

1. Remplir une seringue du volume souhaité de médicament et de diluant.
2. Retirer le bouchon de protection de la tubulure, et le jeter.
3. Fixer la seringue remplie au raccord Luer ① et remplir environ à moitié la poche de médicament (à l'intérieur de la cassette ②).
4. Incliner la cassette et la faire pivoter pour rassembler toutes les bulles d'air en une grande bulle unique. Aspirer l'air.
5. Tenir la seringue l'extrémité vers le bas et injecter le fluide restant dans la Cassette-réservoir à médicament. Clamer la tubulure. S'assurer que le médicament et le diluant sont bien mélangés dans la poche de médicament et dans la tubulure.
6. Débrancher la seringue du raccord Luer. Boucher le raccord Luer au moyen du bouchon sans évent rouge fourni, ou fixer le set d'extension.
7. Pour fixer la cassette à la pompe, se conformer aux directives du Manuel d'utilisation (livré avec la pompe).

Fixer au raccord Luer un set d'extension CADD® approprié et remplir la tubulure conformément aux indications livrées avec le produit utilisé.

CADD, CADD-TPN, CADD-MS 3, la conception de la CADD et la conception de la Smiths Medical sont des marques déposées de la famille de sociétés Smiths Medical. Le symbole ® indique que cette marque est enregistrée auprès du Bureau des brevets et marques de commerce des États-Unis ainsi que dans certains autres pays. © 2009 Famille de sociétés Smiths Medical. Tous droits réservés.

Programmation de la pompe

Chapitre 2 : Configuration et programmation de la pompe**Etat du capteur en amont**

Cet écran indique si le capteur d'occlusion en amont est activé ou désactivé. L'état du Capteur en amont ne pourra être modifié sans l'entrée préalable du code des Fonctions Biomed. (Pour modifier le paramètre, reportez-vous au chapitre 4, Fonctions Biomed.)

Programmation pour le mode de perfusion continue

Pour programmer la pompe, entrez les valeurs prescrites.

REMARQUE : La pompe se programme en mL/24 h.

1. Commencez à partir de l'écran principal.
 - Assurez-vous que la pompe est sur LL0.
 - Assurez-vous que le message ARRET est affiché sur l'écran principal.
 - Appuyez sur pour commencer.
2. Entrez le Volume résiduel.
 - Appuyez sur ou sur pour sélectionner le volume d'un réservoir rempli. Si vous ne souhaitez pas utiliser la fonction Volume résiduel, faites défiler l'écran jusqu'à « Non utilisable » (situé avant 1).
 - Appuyez sur .
 - Appuyez sur .
3. Entrez le Débit continu en mL/24 heures.
 - Appuyez sur ou sur pour sélectionner le débit souhaité.
 - Appuyez sur .
 - Appuyez sur .

Configuration et programmation de la pompe

Chapitre 2 : Configuration et programmation de la pompe**4. Remise à zéro des millilitres « Reçus ».**

- Appuyez sur si vous souhaitez effacer la quantité « Reçus ».
- Appuyez sur .

5. Vérifiez l'état du Détecteur d'air.

- S'assurer que le réglage souhaité est affiché. Cet écran indique si le détecteur d'air est allumé (haut ou bas) ou éteint.

AVERTISSEMENT : Lorsque le Détecteur d'air est désactivé, la pompe n'est pas en mesure de déceler la présence d'air dans le circuit des fluides. Inspecter périodiquement ce circuit et en purger l'air pour éviter une embolie gazeuse. Une embolie gazeuse risque de causer de sérieuses complications pour le patient, voire son décès.

- Si le réglage du détecteur d'air doit être changé, consulter la section 4, Fonctions Biomed.
- Appuyez sur .

6. Vérifiez l'état du Capteur d'occlusion en amont.

- S'assurer que le réglage souhaité est affiché. Cet écran indique si le Capteur d'occlusion en amont est allumé ou éteint.

AVERTISSEMENT : Lorsque le Capteur d'occlusion en amont est désactivé, la pompe n'est pas en mesure de détecter une occlusion en amont (entre la pompe et le réservoir). Vérifier périodiquement le niveau de volume résiduel dans le réservoir, inspecter régulièrement le circuit des fluides pour détecter toute obstruction due à une plicature, un clamp fermé ou toute autre occlusion en amont. Une occlusion en amont peut causer l'interruption de la perfusion ou une réduction du débit de solution médicamenteuse. Non détectées, ces occlusions en amont risquent de causer de sérieuses complications pour le patient, voire son décès.

Configuration et programmation de la pompe

Chapitre 2 : Configuration et programmation de la pompe

- Si le réglage du Capteur d'occlusion en amont doit être changé, consulter la section 4, Fonctions Biomed.
- Appuyez sur .

7. Consultez la programmation.

Appuyez sur plusieurs fois pour passer en revue les écrans de programmation. Si vous devez reprogrammer un paramètre, appuyez sur jusqu'à l'affichage de l'écran désiré et modifiez le paramètre en suivant la procédure décrite dans ce chapitre.

Retrait d'un réservoir usagé ou d'un réservoir de transfert

AVERTISSEMENT : Fermer la tubulure du circuit des fluides avec un clamp avant de retirer le réservoir ou le réservoir de transfert de la pompe, afin d'éviter tout risque de perfusion par gravité incontrôlée qui pourrait causer de sérieuses complications pour le patient, voire son décès.

1. Arrêtez la pompe.
2. Fermez le clamp de la tubulure.
3. Insérez une pièce de monnaie dans le bouton de blocage et tournez-la dans le sens des aiguilles d'une montre. Le bouton de blocage se déboîtera une fois que la cassette sera débloquée.
4. Une alarme continue retentira et la pompe affichera le message : « Pas de cassette, Clampez tubulure ». L'alarme peut être éteinte en appuyant sur ou sur .
5. Retirez les crochets de la cassette des charnières de la pompe.

Chapitre 2 : Configuration et programmation de la pompe**Mise en place d'un nouveau réservoir ou d'un réservoir de transfert**

Procurez-vous une nouvelle cassette remplie ou un réservoir de transfert raccordé à une poche I.V. souple, non dégazé. Reportez-vous au mode d'emploi fourni avec la cassette ou le réservoir de transfert pour y trouver des informations relatives au remplissage, au raccordement d'une tubulure d'extension CADD® avec valve anti-siphonage intégrée ou fournie en complément, et à la préparation du produit à l'emploi.

Une fois la cassette attachée, rétablissez la valeur du volume sur l'écran Volume résiduel, puis purgez la tubulure.

AVERTISSEMENT : Une solution médicamenteuse congelée doit être dégelée à température ambiante seulement. Ne pas faire chauffer le réservoir Medication Cassette™ dans un four à micro-ondes au risque d'endommager le réservoir ou la solution médicamenteuse, ou de compromettre son étanchéité.

Pour fixer la cassette sur la pompe

1. Clampez la tubulure.
2. Insérez les crochets de la cassette sur les charnières de la pompe.
3. Placez la pompe à la verticale, sur une surface solide et plane. Appuyez, pour que la cassette soit bien calée contre la pompe.



Configuration et programmation de la pompe

Chapitre 2 : Configuration et programmation de la pompe

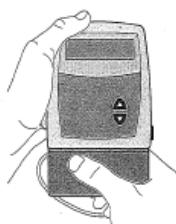
4. Insérez une pièce de monnaie dans le bouton de blocage, enfoncez et tournez dans le sens inverse des aiguilles d'une montre, jusqu'à ce que le repère du bouton soit aligné avec la flèche sur le côté de la pompe, et que vous sentiez le bouton se mettre en place avec un déclic.



AVERTISSEMENT : Fixer la cassette correctement. Une cassette mal fixée ou détachée risque de provoquer une perfusion par gravité incontrôlée de la solution médicamenteuse ou un reflux sanguin, pouvant entraîner de sérieuses complications pour le patient, voire son décès.

Il est impératif d'utiliser une tubulure d'extension CADD® avec valve anti-siphonage ou un réservoir de transfert CADD® avec valve anti-siphonage intégrée ou fournie en complément, pour éviter une perfusion par gravité incontrôlée résultant d'un réservoir mal attaché.

5. Tournez délicatement, poussez et tirez sur la cassette pour vous assurer qu'elle est bien fixée. Si la cassette n'est pas attachée fermement, recommencez depuis l'étape 1.

**Chapitre 2 : Configuration et programmation de la pompe**

REMARQUE : Chaque fois que vous appuyez sans relâcher sur , vous pompez au maximum 1,0 mL de fluide dans la tubulure. Une fois cette quantité administrée, la pompe s'arrête automatiquement. En cas de purge incomplete de l'air du circuit des fluides, répétez la procédure de purge ci-dessus.

6. Si un détecteur d'air est utilisé, reportez-vous au chapitre suivant. Sinon, branchez la tubulure au réservoir de transfert du patient ou à un cathéter implanté ; passez ensuite à la Définition du niveau de verrouillage pour le patient.

AVERTISSEMENT : S'assurer que le circuit des fluides est entièrement débarrassé de bulles d'air avant de le brancher au patient pour éviter le risque d'une embolie gazeuse. Une embolie gazeuse risque de causer de sérieuses complications pour le patient, voire son décès.

REMARQUE : Si le circuit des fluides contient un filtre d'élimination d'air, la présence de bulles d'air dans l'orifice latéral du filtre est acceptable.

Insertion de la tubulure dans le détecteur d'air

AVERTISSEMENT : Lorsque le détecteur d'air est désactivé, la pompe n'est pas en mesure de déceler la présence d'air dans le circuit des fluides. Inspecter périodiquement ce circuit et en purger l'air pour éviter une embolie gazeuse. Une embolie gazeuse risque de causer de sérieuses complications pour le patient, voire son décès.

(Reportez-vous au chapitre 4, Fonctions Biomed, pour les instructions relatives à la mise en marche et à l'arrêt du détecteur d'air.)

1. Si vous utilisez un détecteur d'air, formez une petite boucle avec la tubulure sous le détecteur et maintenez-la avec votre pouce.

Configuration et programmation de la pompe

Chapitre 2 : Configuration et programmation de la pompe**Purge de la tubulure et raccordement au patient**

Afin de purger le circuit des fluides, veillez à ce qu'elle soit arrêtée et sur LL0 ou LL1. Si la pompe est sur LL2, vous ne pourrez pas purger le circuit des fluides.

REMARQUE : Si vous ne changez pas de cassette mais que vous désirez purger le circuit des fluides, vous pouvez purger la pompe en suivant la procédure ci-dessous.

AVERTISSEMENT : Ne pas purger le circuit des fluides si la tubulure est raccordée au patient car cela entraînerait une perfusion excessive de solution médicamenteuse ou un risque d'embolie gazeuse et causer de sérieuses complications pour le patient, voire son décès.

- Assurez-vous que la tubulure est déconnectée du patient et que le clamp de la tubulure est ouvert.
- Appuyez sans relâcher sur . Vous entendrez un seul bip sonore et le message « Purger » s'affichera sur l'écran.
- Lorsque le mot « Purger » suivi de trois séries de tirets apparaît sur l'écran et que vous entendez trois bips sonores, relâchez la touche .
- A nouveau, appuyez sans relâcher sur pour remplir le circuit des fluides et éliminer les bulles d'air. L'écran affiche « Purge en cours » et la pompe émettra un bref bip sonore à la fin de chaque cycle de perfusion.

REMARQUE :

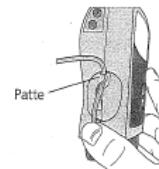
- L'alarme de détecteur d'air est automatiquement désactivée lors de l'amorçage.
- La quantité de fluide administrée pendant la purge est soustraite du Volume résiduel mais n'est pas ajoutée à l'écran « Reçus » car ce fluide n'a pas été administré au patient.

- Si la tubulure n'est pas encore complètement purgée, appuyez sans relâcher sur de nouveau. Si la tubulure est purgée, appuyez sur pour vous rendre sur l'écran principal.

Dès la pompe

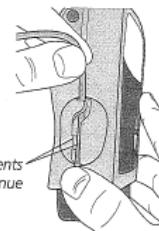
Chapitre 2 : Configuration et programmation de la pompe

- Placez la tubulure par-dessus l'encoche du détecteur d'air et passez-la sous la patte.



Dès la programmation

- Pour bien installer la tubulure dans l'encoche, tirez légèrement vers le haut jusqu'à ce qu'elle se trouve sous les renflements de retenue et bien à plat dans l'encoche.



- Branchez la tubulure au réservoir de transfert du patient ou à un cathéter implanté.

AVERTISSEMENT : S'assurer que le circuit des fluides est entièrement débarrassé de bulles d'air avant de le brancher au patient pour éviter le risque d'une embolie gazeuse. Une embolie gazeuse risque de causer de sérieuses complications pour le patient, voire son décès.

Chapitre 3 : Fonctionnement de la pompe**3.0 Fonctionnement de la pompe****Démarrage de la pompe**

Au démarrage de la pompe, les valeurs programmées sont automatiquement passées en revue. L'administration des fluides commence comme programmé et le message « MARCHE » s'affiche sur l'écran principal. Si la pompe ne démarre pas, un message apparaît sur l'écran. Reportez-vous au tableau Messages et alarmes, dans le chapitre 5.

Pour mettre la pompe en marche

- 1. Appuyez sans relâcher sur .

Trois séries de tirets s'affichent sur l'écran, puis disparaissent une par une, accompagnée chacune d'un simple bip.

- 2. Relâchez  dès que la dernière série de tirets disparaît et que la pompe émet un bip sonore. Tous les écrans de programmation s'affichent l'un après l'autre pour la consultation.

Arrêt de la pompe

L'arrêt de la pompe interrompt l'administration de solution médicamenteuse. Lorsque la pompe est arrêtée, le message « ARRET » s'affiche sur l'écran principal et trois bips sonores retentissent toutes les 5 minutes.

Pour arrêter la pompe

- 1. Appuyez sans relâcher sur .

Trois séries de tirets s'affichent une par une sur l'écran de la pompe, chacune accompagnée d'un bip sonore.

- 2. Relâchez  dès que la troisième série de tirets s'affiche et que la pompe émet un bip sonore.

Fonctionnement de la pompe

Chapitre 3 : Fonctionnement de la pompe**Mise sous tension ou hors tension de la pompe**

Lorsque la pompe est à l'arrêt, vous pouvez la mettre en position de faible rendement en la mettant hors tension. Vous pouvez suivre cette procédure lorsque la pompe est débranchée du patient en vue du stockage pour une courte période de temps.

ATTENTION : Ne pas stocker la pompe pendant des périodes prolongées sans retirer les piles. Une fuite des piles risquerait d'endommager la pompe.

Pour mettre la pompe hors tension

- Appuyez sans relâcher sur .

Trois séries de petits points s'affichent une par une sur l'écran de la pompe, accompagnée chacune d'un simple bip.

Pour mettre la pompe sous tension

- Appuyez sans relâcher sur .

La pompe se met sous tension et les écrans sont passés en revue automatiquement.

mettre la pompe

Rétablissement du volume résiduel au volume de départ

Le rétablissement du Volume résiduel à la valeur programmée en LL0, peut être effectué à n'importe quel niveau de verrouillage.

1. Arrêtez la pompe.
2. Appuyez sur  pour afficher l'écran Volume résiduel.
3. Appuyez sur  pour rétablir le volume résiduel à la valeur programmée.

ANNEXE 8 : Montage des expériences de mesure des débits

AutoSelector®



Figure A : Montage lors de la mesure du débit de la pompe à perfusion AutoSelector® à 25°C



Figure B : Emplacement du perfuseur AutoSelector® dans le Frigo Box pour la mesure de débit à 13°C



Figure C : Montage lors de la mesure du débit du perfuseur AutoSelector® à 13°C

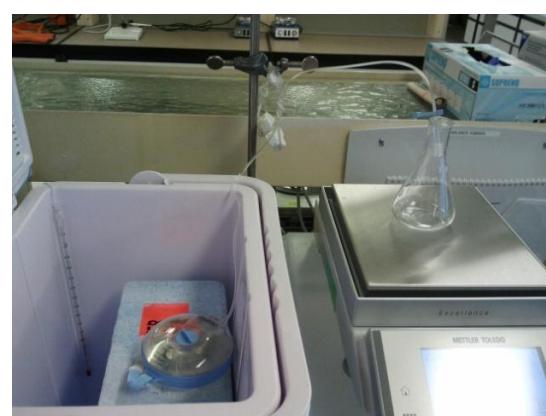


Figure D : Montage lors de la mesure du débit du perfuseur AutoSelector® à 13°C avec le régulateur de débit à 22°C

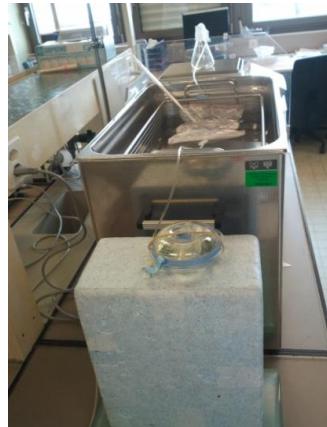


Figure E : Montage lors de la mesure du débit du perfuseur AutoSelector® à 22°C avec le régulateur de débit à 31°C



Figure F : Montage lors de la mesure du débit du perfuseur AutoSelector® à 13°C avec le régulateur de débit à 31°C

Easypump® 1 à 25 et 13°C

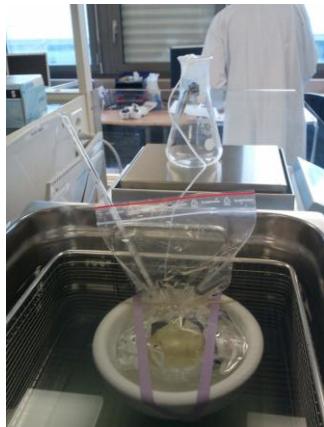


Figure G : Montage lors de la mesure du débit du perfuseur Easypump®1 à 25°C

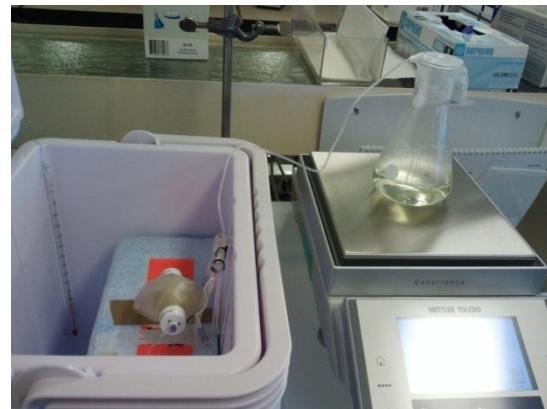


Figure H : Montage lors de la mesure du débit du perfuseur Easypump®1 à 13°C

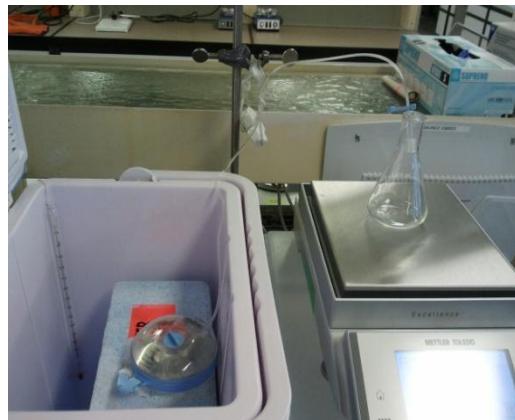


Figure I : Montage lors de la mesure du débit du perfuseur Easypump®1 à 13°C

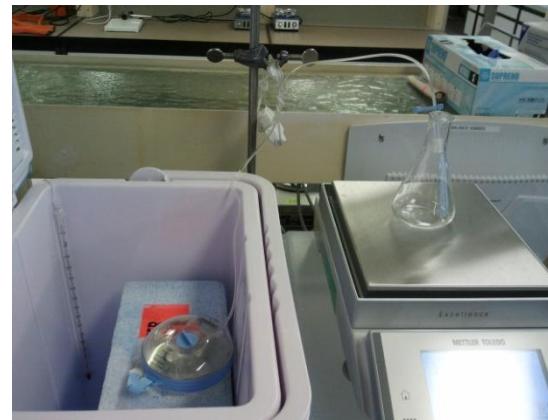


Figure J : Montage lors de la mesure du débit du perfuseur Easypump®1 à 13°C avec le régulateur de débit à 22°C



Figure K : Montage lors de la mesure du débit du perfuseur Easypump®1 à 22°C avec le régulateur de débit à 31°C



Figure L : Montage lors de la mesure du débit du perfuseur Easypump®1 à 13°C avec le régulateur de débit à 31°C

CADD-Legacy® 1 à 25 et 13°C



Figure M : Montage lors de la mesure du débit du perfuseur CADD-Legacy®1 à 25°



Figure N : Montage lors de la mesure du débit du perfuseur CADD-Legacy®1 à 13°

ANNEXE 9 : Rapport/Protocole de validation

CENTRE HOSPITALIER UNIVERSITAIRE VAUDOIS
Centres interdisciplinaires et logistique médicale
Service de Pharmacie

**Validation de la méthode de dosage de la Ceftazidime par HPLC****1. OBJET**

L'objectif de ce travail est de mettre au point et de valider une « Stability Indicating Method » pour le dosage de la ceftazidime dans du NaCl 0.9% par Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC).

2. DOMAINE D'APPLICATION

Ce protocole s'applique à la validation de la méthode de dosage de la ceftazidime par HPLC.

3. DEFINITION/ABREVIATIONS**Abréviations**

HPLC	Chromatographie liquide à haute performance
PHA8	Laboratoire Contrôle Qualité
RAQ	Responsable Assurance Qualité
SFSTP	Société française des Sciences et Techniques Pharmaceutiques
NaCl	Chlorure de Sodium
CAS	Chemical Abstracts Service
H ₂ O	Eau
Mw	Poids moléculaire
pKa	Constante d'acidité
UV	UltraViolet
IR	InfraRouge
KBr	Bromure de Potassium
NS	Numéro de série
Réf	Référence
N°	Numéro
RP	Reverse Phase
ACN	Acétonitrile
T	Température
h	Heures
C	Concentration
SM	Solution mère
SF	Solution fille
PP	Polypropylène
Std(s)	Standard(s)
CV	Coefficient de variation
Tps	Temps
Rs	Résolution

4. RESPONSABILITES

PHA8

- Rédiger et valider le protocole
- Préparer les solutions de ceftazidime

RAQ

- Autoriser le protocole et le rapport de validation

5. DOCUMENTS ET TEXTES DE REFERENCES

Cf. Références à la fin du document

6. DOCUMENTS ASSOCIES

PHA_IT_0101 : Modèle pour rédiger le Protocole et Rapport de Validation d'une méthode analytique

PHA_IT_0100 : Critères de validation et limites d'acceptation

PHA_PRO_0041 : Validation des méthodes analytiques

7. DEROULEMENT

Table des matières

1. Résumé
2. Présentation du produit
3. Responsabilité et sécurité
4. Histoire du développement de la méthode
5. Parties expérimentales
 - 5.1 Matériel et produits
 - 5.2 Conditions chromatographiques
 - 5.3 Robustesse
 - 5.4 Sélectivité et spécificité
 - 5.5 Validation
6. Résultats et discussion
7. Conclusion
8. Références

1. Résumé

Le développement et la validation d'une « Stability Indicating Method » pour le dosage de la ceftazidime ont été réalisés par HPLC. La méthode a été validée conformément aux recommandations de la SFSTP (A) selon la méthode du profil d'exactitude basé sur l'erreur totale. Les paramètres statistiques ont été calculés à l'aide du logiciel E-noval, dont le résumé du rapport se trouve en Annexe 12.

Ce document de validation présente les conditions chromatographiques sélectionnées pour la méthode de dosage, les tests de dégradation et les résultats obtenus pour la validation proprement dite.

2. Présentation du produit

La ceftazidime (Fortam[®]) est un antibactérien de type bêta-lactame appartenant à la troisième génération des céphalosporines. Les céphalosporines sont des antibiotiques semi-synthétiques dérivés de la céphalosporine C, qui est un composé naturel produit par *Cephalosporium acremonium* (B). Ces molécules sont bactéricides par la provocation de la lyse cellulaire et agissent en inhibant la synthèse des peptidoglycans de la paroi bactérienne (C). Le spectre d'action de la troisième génération comprend en particulier les Grams négatifs (D). La ceftazidime est un antibiotique couramment utilisé.

Composition de la préparation de ceftazidime

Ceftazidime Actavis

NaCl 0.9%

Nom chimique et structure (E)

Ceftazidime

- (6*R*,7*R*)-7-[[2*Z*]-2-(2-Aminothiazol-4-yl)-2-[(1-carboxy-1-méthyléthoxy)imino]acétyl]amino]-8-oxo-3-[(1-pyridinio)méthyl]-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-ène-2-carboxylate
- Teneur : 95,0 pour cent à 102,0 pour cent (substance anhydre).
- CAS—72558-82-8
- C₂₂H₂₂N₆O₇S₂ : Mw = 546.6

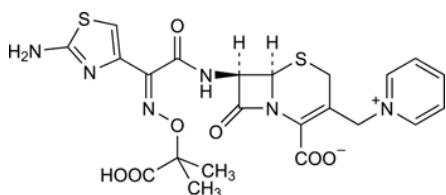


Figure A : Structure de la ceftazidime

Ceftazidime pentahydraté

- CAS—78439-06-2
- C₂₂H₂₂N₆O₇S₂.5H₂O : Mw = 636.7

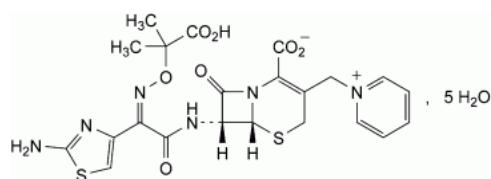


Figure B : Structure de la ceftazidime pentahydratée

Propriétés physicochimiques

Ceftazidime pentahydratée (F)

Aspect : Poudre cristalline, blanche ou sensiblement blanche.

Solubilité : La ceftazidime se dissout dans les solutions acides et alcalines. Elle est peu soluble dans l'eau et dans le méthanol, pratiquement insoluble dans l'acétone et dans l'éthanol à 96 %.

Constantes de dissociation (E, G)

- pKa :
- 1.9 → acide carboxylique sur le noyau céphalosporine
 - 2.7 → deuxième acide carboxylique
 - 4.1 → amine

Spectre ultraviolet (E)

Solution aqueuse acide (0.2 mol/L NH₂SO₄)—259 nm; (méthanol)—257 nm; (0.1 mol/L acide sulfurique) 260 nm (A=2.514); basique—257 nm.

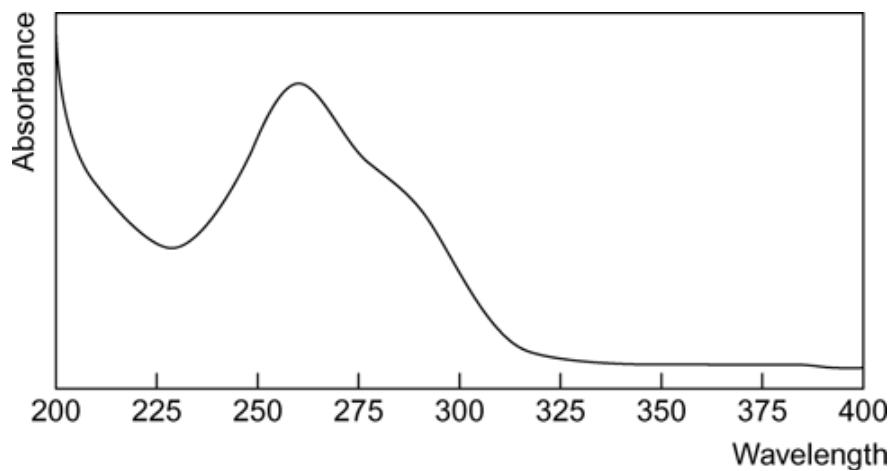


Figure C : Spectre UV de la ceftazidime (E)

Spectre Infra rouge (E)

Principal peaks at wavenumbers 1621, 1757, 1537, 1157, 3000–3600 cm⁻¹ (pentahydrate salt) (KBr pellet).

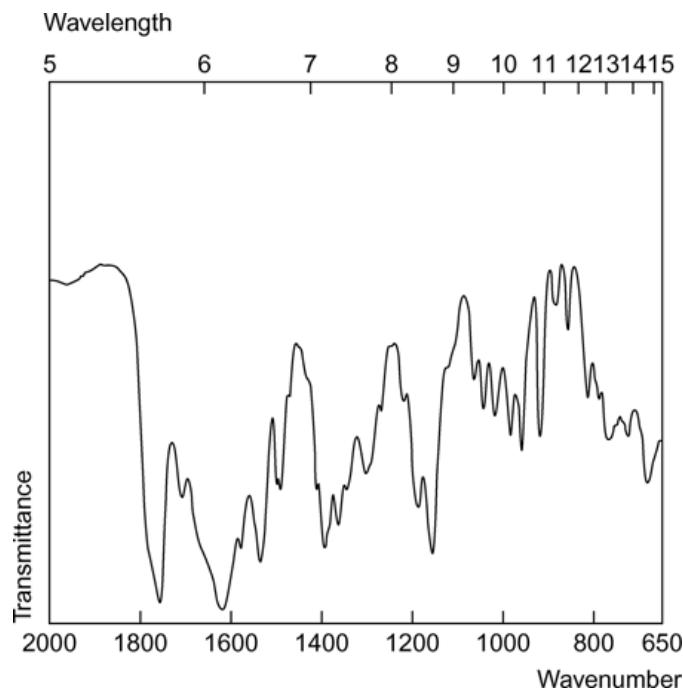


Figure D : Spectre IR de la ceftazidime (E)

3. Responsabilité et sécurité

Ce document est placé sous la responsabilité du responsable du laboratoire contrôle qualité.

Ce document s'adresse au personnel du laboratoire contrôle qualité.

L'interprétation et l'évaluation des résultats, ainsi que la bonne application de ce document sont sous la responsabilité du responsable du laboratoire contrôle qualité.

Les règles de sécurité générales du laboratoire doivent être suivies ainsi que les procédures pour l'élimination des déchets selon l'instruction en vigueur.

4. Histoire du développement de la méthode

La méthode analytique utilisée lors de ce travail a été développée par le Laboratoire de Contrôle Qualité du Service de Pharmacie du CHUV. Ils se sont basés sur les données de la littérature (H) ainsi que sur l'équipement disponible au laboratoire pour déterminer les conditions chromatographiques puis pour les adapter en fonction des résultats obtenus. Lors du processus de validation effectué dans ce travail, la robustesse de la méthode a été testée, ce qui a mené à une optimisation de cette méthode au niveau de la composition de la phase mobile. Cette étape est détaillée dans les chapitres *Robustesse* (5.3 et 6.1). Les conditions définitives de la méthode sont décrites dans le chapitre *Conditions chromatographiques* (5.2).

5. Parties expérimentales

5.1 Matériel et produits

Appareillage

- HPLC Varian Prostar équipé :
 - Pompe Prostar 230 SDM, NS : 00196,
 - un DAD Prostar 335 Detector, NS : EL05049046,
 - un logiciel Star Chromatography Workstation 6.41, NS : 00370-2488-FAA-20F0,
 - Injecteur Prostar 410 Autosampler, NS : 8015,
- Colonne : Chromolith® RP-18e 100 x 4.6 mm, Réf. : 1.02129.0001, No 0B465476
- Précolonne : Chromolith® RP-18e 10 x 4.6 mm, Réf. : 1.51471.0001, No HX084555
- Balance analytique Mettler Toledo AX202 Delta Range, NS : 1121222596
- pH-mètre : SevenMulti® Mettler Toledo, NS : 1232035453
- Ultra-sons : Branson 5200, NS : B5200E-4

Logiciel

- Star Chromatography Workstation 6.41, NS : 00370-2488-FAA-20F0,
- Excel 2003

Matériel

- Appareil à filtration en verre Sartorius
- Ballons jaugés (10, 20, 100, 1000, 2000 ml)
- Micropipettes (100-1000 µl)
- Pipette Jaugée (2 ml)
- Cylindres gradués (10 – 500ml)
- Vials HPLC et bouchons
- Filtres GH Polypro 0.45 µm, diam. 47 mm de PALL Corporation, lot n°: T84199

Réactifs

- Acétonitrile qualité HPLC, Merck, lot n° I612030144/I616830150/I627430209
- Eau qualité HPLC, Merck, lot n°Z260633201/Z260633207
- Law UV PIC A, Waters, lot n°1975111391

Produits

- Ceftazidime 1g, Actavis, lot n°126A008B
- NaCl 0.9%, Bichsel, lot n°1041011/10381211

Remarque : Les tests de robustesse et de sélectivité-spécificité ont été effectués avec un autre appareil HPLC Varian Prostar. Ce dernier est équipé d'une pompe Prostar 230 SDM, NS : 00925, d'un détecteur DAD Prostar 235 Detector, NS : EL05029016, d'un injecteur Prostar 410 Autosampler, NS : 00127 et d'un logiciel Star Chromatography Workstation 6.41, NS : 00370-2488-FAA-20F0.

5.2 Conditions chromatographiques

Les conditions chromatographiques figurent dans le Tableau A ci-dessous. La phase mobile a été modifiée par rapport à la méthode de base. La composition est la même mais les proportions sont différentes. Ceci est expliqué dans les chapitres Robustesse (5.3 et 6.1).

Tableau A : Conditions chromatographiques

Phase mobile	Tampon PIC A à pH 7.8/ACN 90/10 (V/V)
Diluant	Phase mobile
Débit	1ml/min
Température de la colonne	T° ambiante
Température de l'Autosampler	6°C
Volume d'injection	20 µl
Longueur d'onde de détection	254 nm
pH phase mobile	Tampon PIC A à pH 7.8
Temps d'analyse	6 minutes

Préparation du tampon

Le réactif Law UV PIC A est dilué ad 11 avec de l'eau qualité HPLC puis filtrer à l'aide de l'appareil de filtration et un filtre GHP. Le tampon est conservé au frigo, tout comme la phase mobile.

5.3 Robustesse

La robustesse est un critère dont l'étude est facultative lors d'un processus de validation. La méthode reprise pour ce travail se composait d'une phase mobile Tampon PIC A/ACN pH 7.8, 89/11 (V/V). Afin de tester la robustesse de la méthode deux autres proportions sont testées, à savoir 88/12 et 90/10. Les coefficients de variation du temps de rétention sont calculés dans Excel.

5.4 Spécificité et Sélectivité

La première étape obligatoire de la validation consiste à déterminer la sélectivité et la spécificité de la méthode HPLC pour la ceftazidime et ses produits de dégradation.

Tests de dégradation

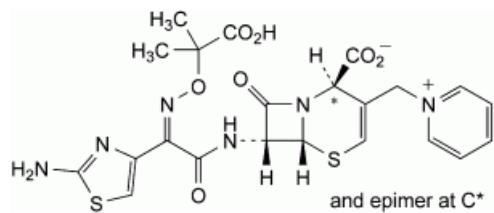
Pour pouvoir doser une solution de ceftazidime de façon correcte et précise ainsi que pour déterminer son état de dégradation, il est nécessaire d'avoir une méthode analytique suffisamment sensible et spécifique pour la ceftazidime mais également pour ses produits de dégradation. Les principaux produits de dégradation de la ceftazidime sont (F) :

- Pyridine

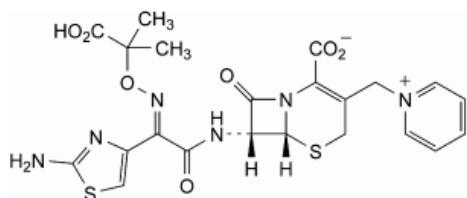


Figure E : Impureté F (E)

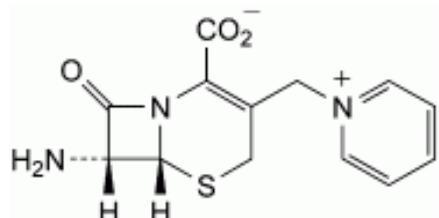
- (2R,6R,7R)-7-[(2Z)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-[(1-carboxy-1-méthyléthoxy)imino]acétyl]amino]-8-oxo-3-[(1-pyridinio)méthyl]-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-3-ène-2-carboxylate

**Figure F : impureté A (E)**

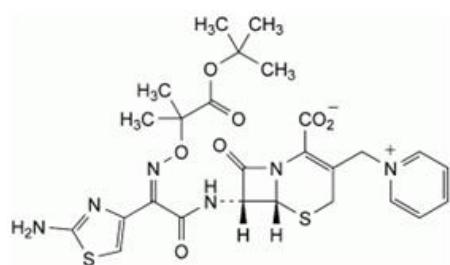
- (6R,7R)-7-[(2E-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-[(1-carboxy-1-méthyléthoxy)imino]acétyl]amino]-8-oxo-3-[(1-pyridinio)méthyl]-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-ène-2-carboxylate

**Figure G : Impureté B (E)**

- (6R,7R)-7-amino-8-oxo-3-[(1-pyridinio)méthyl]-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-ène-2-carboxylate

**Figure H : Impureté C (E)**

- (6R,7R)-7-[(2Z)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-[[2-(1,1-diméthyléthoxy)-1,1-diméthyl-2-oxoéthoxy]imino]acétyl]amino]-8-oxo-3-[(1-pyridinio)méthyl]-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-ène-2carboxylate

**Figure I : Impureté E (E)**

- Acide 2-[[[φ1Z]-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-[(oxoéthyl)amino]-2-oxoéthylidène]amino]oxy]-2-méthylpropanoïque

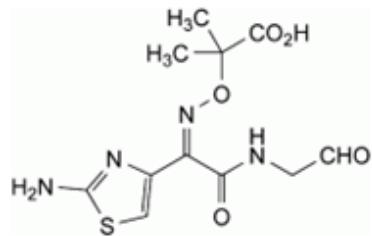


Figure J : Impureté G (E)

- (6R,7R)-7-[[[(2Z)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-[(2-méthoxy-1,1-diméthyl-2-oxoéthoxy)imino]acétyl]amino]-8-oxo-3-[(1-pyridinio)méthyl]-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-ène-2-carboxylate

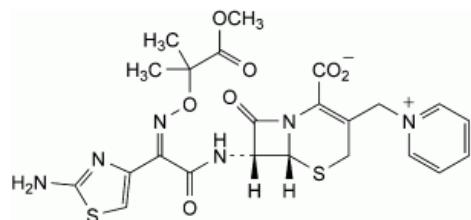


Figure K : Impureté H (E)

Des tests de dégradation sont donc mis en place dans la phase de développement pour obtenir ces produits de dégradation et pour observer leurs influences sur les résultats du dosage.

Méthode

10 ml d'une solution de ceftazidime 1 mg/ml dans du NaCl 0.9% sont soumis à cinq stress différents pendant 4h30 (4h pour la cinquième condition) :

- 1) Au frigo
- 2) A la lumière du jour
- 3) A la lumière du laboratoire
- 4) A l'abri de la lumière (aluminium)
- 5) Chauffé à reflux

Les échantillons sont ensuite dilués puis injectés dans l'HPLC.

Préparation des solutions

100.0 mg de ceftazidime sont dissous dans 10 ml puis complétées à 100 ml avec du NaCl 0.9% afin d'obtenir une solution à 1 mg/ml. A partir de cette solution mère, 5 ballons jaugés de 10 ml sont préparés afin d'effectuer les tests de dégradation.

Avant d'injecter les échantillons dans l'HPLC, il est nécessaire de les diluer à l'aide de la phase mobile pour obtenir une solution de concentration 0.1 mg/ml. Pour ce faire, 100 µl de solution sont dilués dans 900 µl de phase mobile.

5.5 Validation

Selon les données de la littérature et de l'équipement disponible au laboratoire, les conditions chromatographiques ont été déterminées, puis adaptées selon les résultats obtenus. Cela a été effectué durant la phase de développement de la méthode analytique. Une fois que les paramètres analytiques ont été établis et que la qualité des pics chromatographiques est vérifiée, les autres critères de validation de la méthode analytique sont étudiés.

5.5.1 Méthode

La linéarité de la méthode est vérifiée grâce à la réalisation d'une courbe de calibration effectuée à l'aide de standards de calibration. La validité de la méthode est quant à elle contrôlée grâce à des standards de validation préparés à cinq concentrations différentes. Les données sont traitées à l'aide du logiciel E-noval.

Courbe de calibration

Les courbes de calibration sont réalisées avec 5 concentrations différentes, à savoir, 0.04–0.06–0.07–0.08 et 0.1 mg/ml. La préparation de la solution mère (**SM₁**) et de la solution fille (**SF_{1.1}**) est décrite ci-dessous. Les dilutions sont présentées dans le Tableau B. Chaque standard est préparé en duplicita à partir de la solution fille et est injecté deux fois. Au final, 4 points sont donc obtenus pour chaque concentration.

Tout ce procédé est répété 3 fois de façon à obtenir 3 séries de données indépendantes.

Préparations des solutions standards de calibration

- Solution mère (**SM₁**) : Dissoudre exactement **100.0 mg** de ceftazidime dans 10 ml de NaCl 0.9% et compléter à **100.0 ml** avec le même solvant (**C=1 mg/ml**).
 Solution fille (**SF_{1.1}**) : Prélever **2.0 ml** et compléter à **20.0 ml** avec la phase mobile de façon à obtenir 1 solution fille (**SF_{1.1}**) de concentration **0.1 mg/ml**.

Les dilutions présentées dans le Tableau B ci-dessous s'effectuent avec la phase mobile.

Tableau B : Concentrations et dilutions des standards de calibration

Standards de calibration	Concentration du standard de calibration [mg/ml]	Volume de la SF (μl)	Volume du diluant [μl]	Volume total [ml]	Répétition injection
Std1	0.04	400	600	1	2
Std2	0.06	600	400	1	2
Std3	0.07	700	300	1	2
Std4	0.08	800	200	1	2
Std5	0.1	1000	0	1	2
<hr/>					
Blanc à injecter	0.1 ml NaCl 0.9%		900	1	2

Standards de validation

Afin de vérifier la validité de notre méthode analytique, il est nécessaire de doser des échantillons de ceftazidime à des concentrations données. Ces échantillons sont appelés standards de validation.

Les concentrations des standards de validation sont les mêmes que celles des standards de calibration (0.04 – 0.06 – 0.07 – 0.08 - 0.1 mg/ml). Les préparations des solutions mère (**SM₂**) et fille (**SF_{2.1}**) sont

décrivées ci-dessous. Les dilutions sont présentées dans le Tableau C. Chaque standard est préparé en triplicata à partir de la solution fille et est injecté deux fois.

Tout le procédé est répété 3 fois de façon à obtenir 3 séries de données indépendantes.

Préparations des solutions standards de validation

Solution mère (**SM₂**) : Dissoudre exactement **100.0 mg** de ceftazidime dans 10 ml de NaCl 0.9% et compléter à **100.0 ml** avec le même solvant (**C=1 mg/ml**).

Solution fille (**SF_{2.1}**) : Prélever **2.0 ml** et compléter à **20.0 ml** avec la phase mobile de façon à obtenir 1 solution fille (**SF_{2.1}**) de concentration 0.1 mg/ml.

Les dilutions présentées dans le Tableau C ci-dessous s'effectuent avec la phase mobile.

Tableau C : Concentrations et dilutions des standards de validation

Standards de validation	Concentration du standard de validation [mg/ml]	Volume de la SF (μl)	Volume du diluant [μl]	Volume total [ml]	Répétition injection
Std1	0.04	400	600	1	2
Std2	0.06	600	400	1	2
Std3	0.07	700	300	1	2
Std4	0.08	800	200	1	2
Std5	0.1	1000	0	1	2
<hr/>					
Blanc à injecter	0.1 ml NaCl 0.9%		900	1	2

5.5.2 Critères de validation

Les différents critères de validation vérifiés pour la méthode sont :

- La spécificité et la sélectivité
- La fonction de réponse (courbe d'étalonnage)
- La linéarité
- La fidélité
- La répétabilité
- La fidélité intermédiaire
- La justesse
- L'exactitude (profil d'exactitude)
- Les intervalles de mesure

6. Résultats et discussion

6.1 Robustesse

Le Tableau D ci-dessous présente les coefficients de variation, les moyennes et écarts types du temps de rétention des phases mobiles Tampon PIC A pH 7.8/ACN 88/12, 89/11 et 90/10.

Tableau D : Paramètres statistiques du test de robustesse

	88/12	89/11	90/10	
Moyenne (30)	2.653	2.941	3.227	
Ecart-type	0.016	0.014	0.017	Total
CV [%]	0.55	0.54	0.51	8.14

Le coefficient de variation du temps de rétention pour les trois phases mobiles est de 8.14%. Cela signifie que la méthode n'est que peu robuste.

La proportion de phase mobile présentant la plus petite variation concernant le temps de rétention est la phase 90/10. De plus, elle présente une meilleure résolution comme le montre le Tableau E ci-dessous.

Tableau E : Résolution du pic de la ceftazidime pour les trois proportions de phase mobile

	88/12	89/11	90/10
Résolution	1.29	1.77	2.09

C'est donc cette phase mobile qui est utilisée pour la suite du processus de validation. De plus, afin de minimiser la variation du temps de rétention, un essai a été effectué en mélangeant la phase aqueuse et la phase organique à l'avance. Le coefficient de variation des temps de rétention obtenu est alors de 0.38 %. La variation des temps de rétention est diminuée et c'est pour cette raison qu'il a été décidé de mélanger les phases organique et aqueuse dès le départ. De plus la résolution est meilleure ($Rs = 2.1$).

6.2 Spécificité et Sélectivité

Le chromatogramme de la ceftazidime est présenté dans la Figure L ci-dessous.

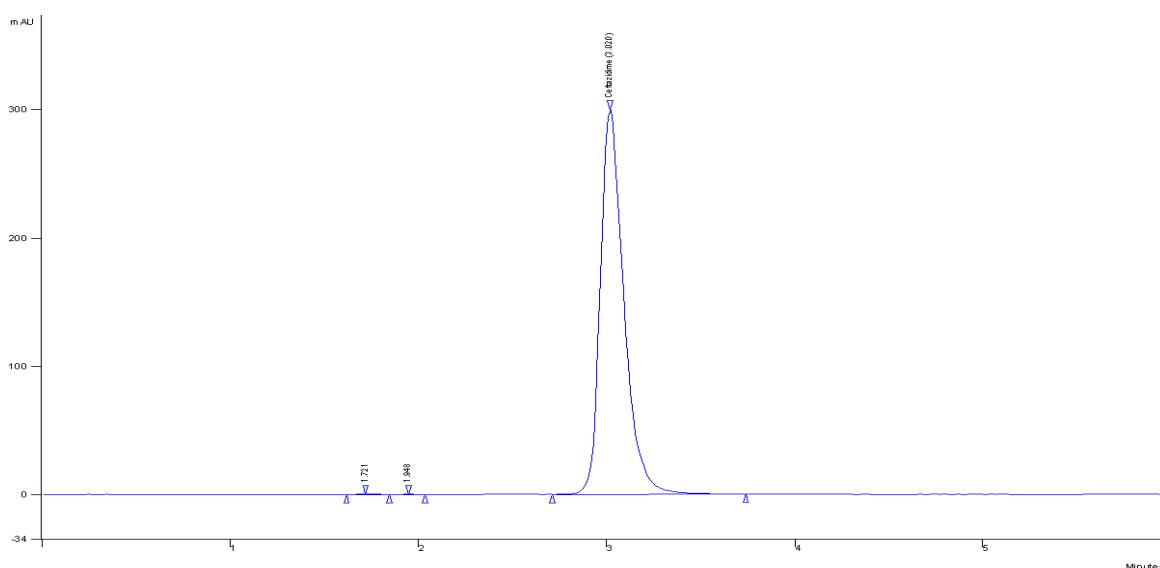


Figure L : Exemple de chromatogramme de la ceftazidime

Le pic correspondant à la ceftazidime est présent dans chacune des solutions de dégradation. Le stress pour lequel la dégradation de la ceftazidime est la plus importante est le chauffage à reflux pendant 4h. La Figure M présente le chromatogramme obtenu lors de cette situation. La Figure N regroupe les chromatogrammes de chaque condition testée.

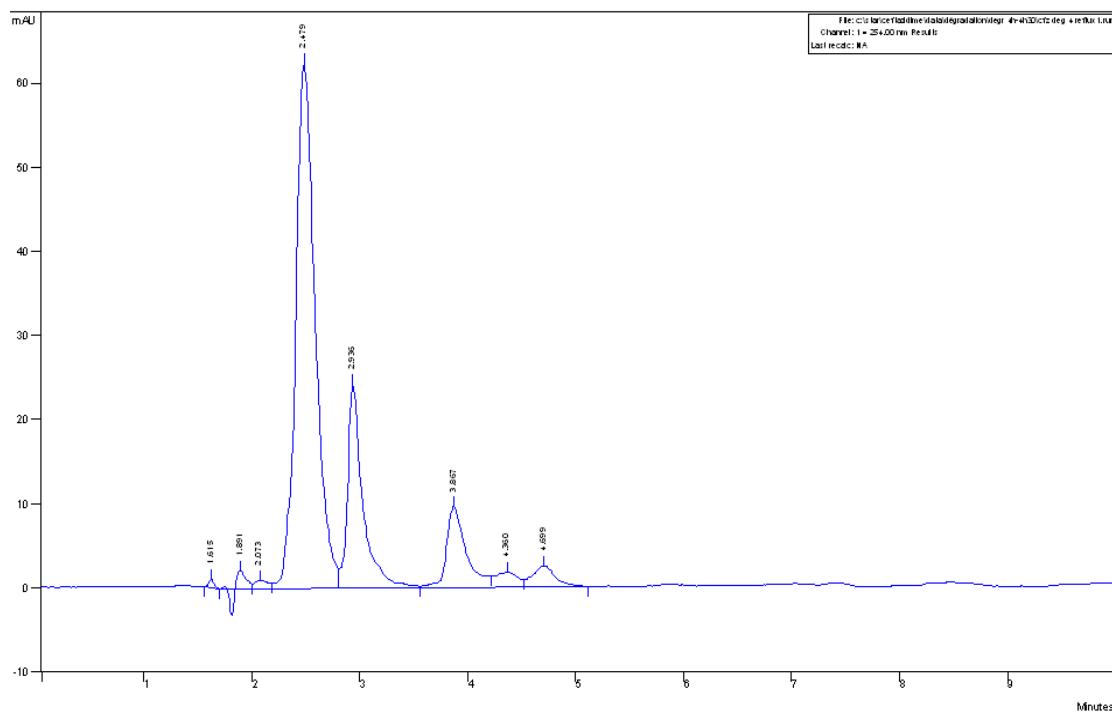


Figure M : Exemple de chromatogramme de la ceftazidime chauffée à reflux pendant 4h30

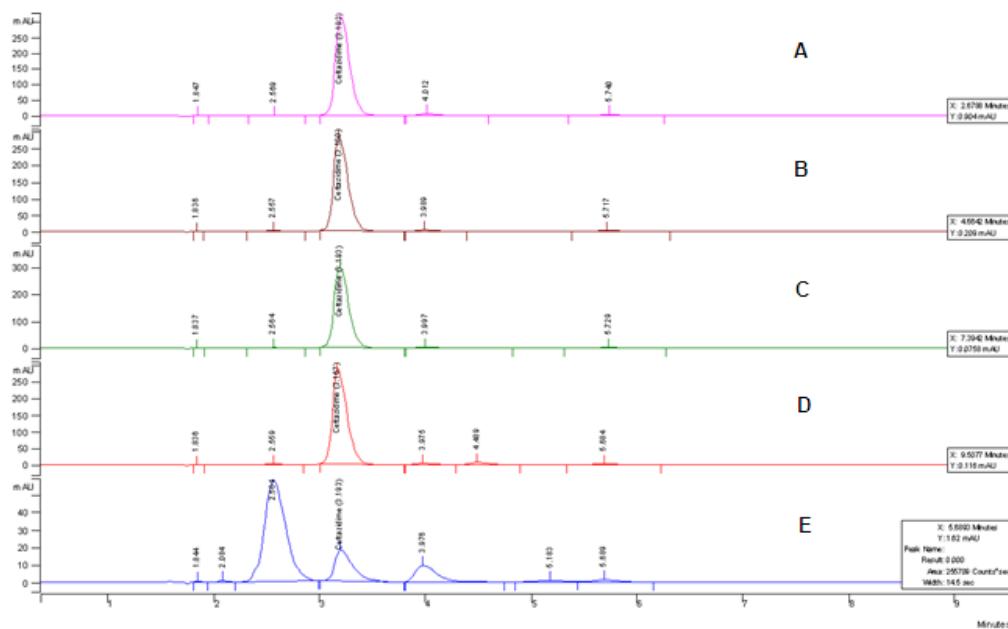


Figure N : Chromatogrammes obtenus lors des essais de dégradation. A) au frigo B) A l'abri de la lumière C) A la lumière du labo D) A la lumière du jour E) Chauffé à reflux

La Pharmacopée Européenne précise que pour qu'une méthode de dosage soit validée, la séparation entre les pics (résolution) doit être supérieure à 1.5. Dans le cas de la solution chauffée à reflux pendant 4h, qui est celle qui contient le plus de produit de dégradation, une résolution de 2.1 est obtenue entre le pic de la ceftazidime et celui du produit de dégradation sur sa gauche. Cela signifie que les produits de dégradation de l'antibiotique n'interfèrent pas avec le pic de la ceftazidime. Cependant, afin de démontrer une séparation totale des produits, d'autres paramètres chromatographiques doivent être évalués. Ces derniers sont présentés dans le Tableau F ci-après.

Tableau F : Paramètres chromatographiques obtenus pour la ceftazidime

Paramètres chromatographiques	Critères d'acceptabilité	Valeurs Ceftazidime	Evaluation Ceftazidime
Largeur à mi-hauteur w_h (sec)	-	9.04	
Tps de rétention t_r (min)	-	3.247	
Tps de rétention nulle t_M (min)	-	1.867	
Facteur de rétention k	De 1 à 10^1	1.02	Conforme
Facteur de symétrie As	De 0.8 à 2^1	1.37	Conforme
Nombre de plateaux par mètre de colonne (N/m)	> 20'000 ²	25730	Conforme
Résolution R_s	>1.5 ³	2.1	Conforme
Facteur de similarité	>0.98 ⁴	⁵ 0.998963	Conforme
Facteur de dissimilarité	<0.2 ⁴	⁵ 0.045528	Conforme
Déviation standard de la valeur moyenne PuP	<2 ⁴	⁵ 0.573	Conforme

1 : Données internes
 2 : Reviewer validation chromatographic methods, November 1994, Center for Drug Evaluation and research (CDER)
 3 : Pharmacopée Européenne
 4 : Limites données par Varian (Fournisseur du logiciel)
 5 : PuP (Purity Pic) worst correlation de 200nm à 40 nm

Comme le montre le Tableau F, la méthode de dosage de la ceftazidime est conforme au critère de validation Spécificité-Sélectivité.

6.3 Validation

Les résultats des autres critères de validation sont présentés dans le résumé du rapport de validation E-noval (Annexe 12).

7. Conclusion

Selon le résumé du rapport E-noval (Annexe 12), le domaine de linéarité de la méthode analytique déterminé lors du processus de validation se trouve entre les concentrations de 40 à 100 µg/ml. Le modèle sélectionné pour le dosage de la ceftazidime est la régression linéaire passant par zéro, en utilisant uniquement la concentration la plus haute qui est de 0.1 mg/ml. En effet, il s'agit du modèle ayant obtenu le meilleur index de précision. Le dosage de routine de la ceftazidime peut donc être effectué avec une exactitude et une justesse acceptable pour les préparations de niveau pharmaceutique.

8. Références

- A. Boulanger B, et al. *Validation des procédures analytiques quantitatives et Harmonisation des démarches*. STP Pharma Pratiques. 2003; **13**(3):101-38.
- B. Moreno E, et al. *Hypersensitivity reactions to cephalosporins*. Expet Opin Drug Sa. 2008; **7**(3):295-304.
- C. Rappaz I, et al. *Continuous infusion of ceftazidime with a portable pump is as effective as thrice-a-day bolus in cystic fibrosis children*. Eur J Pediatr. 2000; **159**(12):919-25.
- D. Harrison CJ, Bratcher D. *Cephalosporins : a review*. Pediatr Rev. 2008; **29**(8):264-7 (2008)
- E. Osselton MD, et al. *Clarke's analysis of drugs and poisons*. 4th. London: Pharmaceutical Press; 2011. p. 1060-1
- F. Pharmacopée Européenne. [cited 2012 Mai 22]; Available from : <http://online6.edqm.eu/ep705/>.
- G. Sanli S, et al. *Simultaneous Estimation of Ceftazidime and ceftizoxime in Pharmaceutical formulations by HPLC Method*. Chromatographia. 2011; **74**(7-8):549-58.
- H. Trissel LA. *Handbook on Injectable Drugs*. 16th. Bethesda: American Society of Health-Sytem Pharmacists; 2011. p. 304-17

ANNEXE 10 : Influence de la concentration**Mesure de la viscosité des solutions de ceftazidime 30 et 60 mg/ml****Tableau A : Mesure de la viscosité des solutions de ceftazidime**

	30 mg/ml			60 mg/ml		
	1	2	3	1	2	3
Viscosité [mPa*s]	1.23	1.20	1.20	1.34	1.35	1.34
Moyenne [mPa*s]		1.21			1.34	
Ecartype [mPa*s]		0.02			0.01	
CV [%]		1.43			0.43	

Débits des perfuseurs**Tableau B : Paramètres statistiques des mesures de débit des trois perfuseurs (AutoSelector®, Easypump®1 et CADD-Legacy®1) effectuées avec une solution de ceftazidime à 30 mg/ml (à 25°C)**

	AutoSelector®			Easypump®1			CADD-Legacy®1		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Moyenne [ml/h]	3.53	3.46	3.31	4.97	4.91	4.94	4.06	4.09	4.16
Ecart type [ml/h]	0.37	0.64	0.36	0.96	0.96	0.95	0.34	0.37	0.15
CV [%]	10.48	18.54	10.95	19.39	19.62	19.29	8.35	9.15	9.38

Tableau C : Paramètres statistiques des mesures de débit des trois perfuseurs (AutoSelector®, Easypump®1 et CADD-Legacy®1) effectuées avec une solution de ceftazidime à 60 mg/ml (à 25°C)

	AutoSelector®			Easypump®1			CADD-Legacy®1		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Moyenne [ml/h]	3.18	2.80	2.69	4.14	4.33	4.28	4.19	4.31	4.27
Ecart type [ml/h]	0.47	0.32	0.31	0.71	0.70	0.67	0.40	0.61	0.44
CV [%]	14.75	11.39	11.50	17.18	16.28	15.72	9.50	14.09	10.33

Tableau D : Temps pendant lequel le débit des perfuseurs se trouvent à l'intérieur des marges définies par le fabricant pour une concentration de ceftazidime de 30 mg/ml (à 25°C)

	AutoSelector®			Easypump®1			CADD-Legacy®1		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Temps à +/- 6%	-	-	-	-	-	-	21h40	21h55	22h30
Temps à +/- 10%	9h45	5h55	6h05	18h40	18h55	19h	22h55	23h15	23h30
Temps à +/- 15%	18h40	12h20	8h20	20h05	20h40	20h25	23h30	23h35	23h35

Tableau E : Temps pendant lequel le débit des perfuseurs se trouvent à l'intérieur des marges définies par le fabricant pour une concentration de ceftazidime de 60 mg/ml (à 25°C)

	AutoSelector®			Easypump®1			CADD-Legacy®1		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Temps à +/- 6%	-	-	-	-	-	-	22h50	22h15	21h20
Temps à +/- 10%	15 min	15 min	20 min	4h20	5h25	4h50	23h25	23h10	23h20
Temps à +/- 15%	1h50	1h05	50min	6h20	6h45	6h10	23h25	23h25	23h20

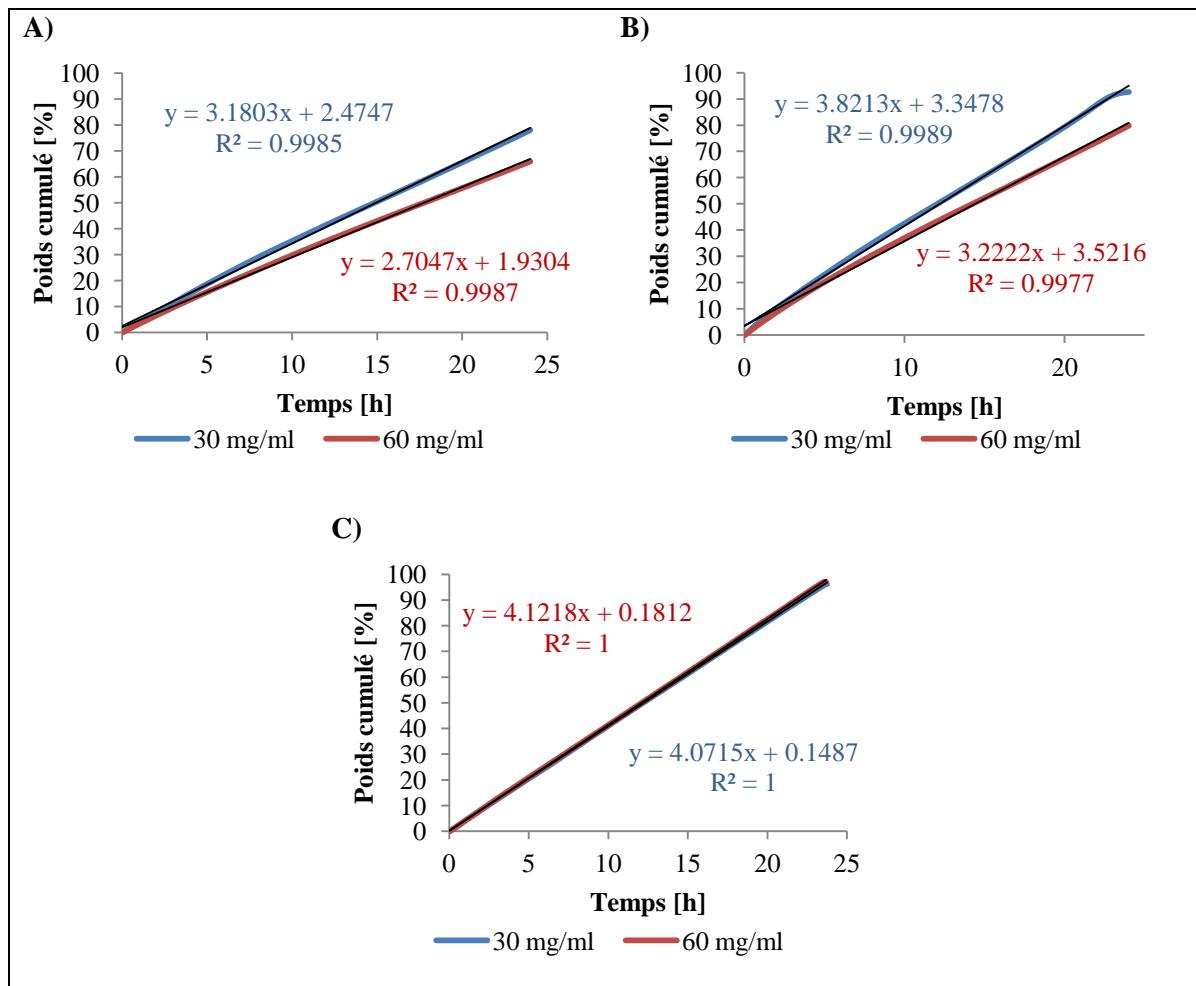


Figure A : Graphiques du poids cumulé en fonction du temps de perfusion pour les perfuseurs A) AutoSelector® B) Easypump®1 et C) CADD-Legacy®1 pour des solutions de ceftazidime de 30 (en bleu) et 60 mg/ml (en rouge)

Tableau F : Paramètres de la droite représentant le poids cumulé en fonction du temps de perfusion des perfuseurs AutoSelector® , Easypump® 1 et CADD-Legacy® 1 pour des solutions de ceftazidime de 30 et 60 mg/ml à 25°C

	AutoSelector®			Easypump® 1			CADD-Legacy® 1		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
30 mg/ml									
Pente	3.47	3.34	3.25	3.56	3.79	3.82	3.97	4.01	4.07
Ordonnée à l'origine	2.32	3.65	2.53	3.24	3.46	3.35	0.18	0.08	0.15
R²	0.9989	0.999	0.9985	0.999	0.9989	0.9989	0.9999	1	1
Quantité perfusée [%]	-	-	78.0	93.1	92.1	92.6	93.7	94.7	96.2
60 mg/ml									
Pente	2.71	2.68	2.57	3.12	3.24	3.22	4.05	4.08	4.12
Ordonnée à l'origine	1.93	1.72	1.92	4.29	4.21	3.52	0.20	0.32	0.18
R²	0.9987	0.9987	0.9986	0.9966	0.9971	0.9977	1	1	1
Quantité perfusée [%]	65.9	65.0	62.7	77.5	80.7	79.8	95.8	96.7	97.1

ANNEXE 11 : Influence de la température**Débits des perfuseurs**

Tableau A : Paramètres statistiques des mesures de débit des trois perfuseurs (AutoSelector®, Easypump® 1 et CADD-Legacy® 1) effectuées à 13°C (solution de ceftazidime à 30 mg/ml)

	AutoSelector®			Easypump® 1			CADD-Legacy® 1		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Moyenne [ml/h]	2.13	2.18	2.16	3.31	3.37	3.33	4.16	4.22	4.13
Ecart type [ml/h]	0.35	0.29	0.27	0.81	0.74	0.79	0.41	0.43	0.39
CV [%]	14.75	13.48	12.54	24.40	21.87	23.66	9.77	10.17	9.32

Tableau B : Temps pendant lequel le débit des perfuseurs se trouvent à l'intérieur des marges définies par le fabricant pour une température de 13°C (solution de ceftazidime à 30 mg/ml)

	AutoSelector®			Easypump® 1			CADD-Legacy® 1		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Temps à +/- 6%	-	-	-	-	-	-	22h05	22h25	22h20
Temps à +/- 10%	0	0	0	1h20	2h	1h45	23h35	23h15	23h25
Temps à +/- 15%	0	0	0	2h10	2h40	2h40	23h35	23h20	23h35

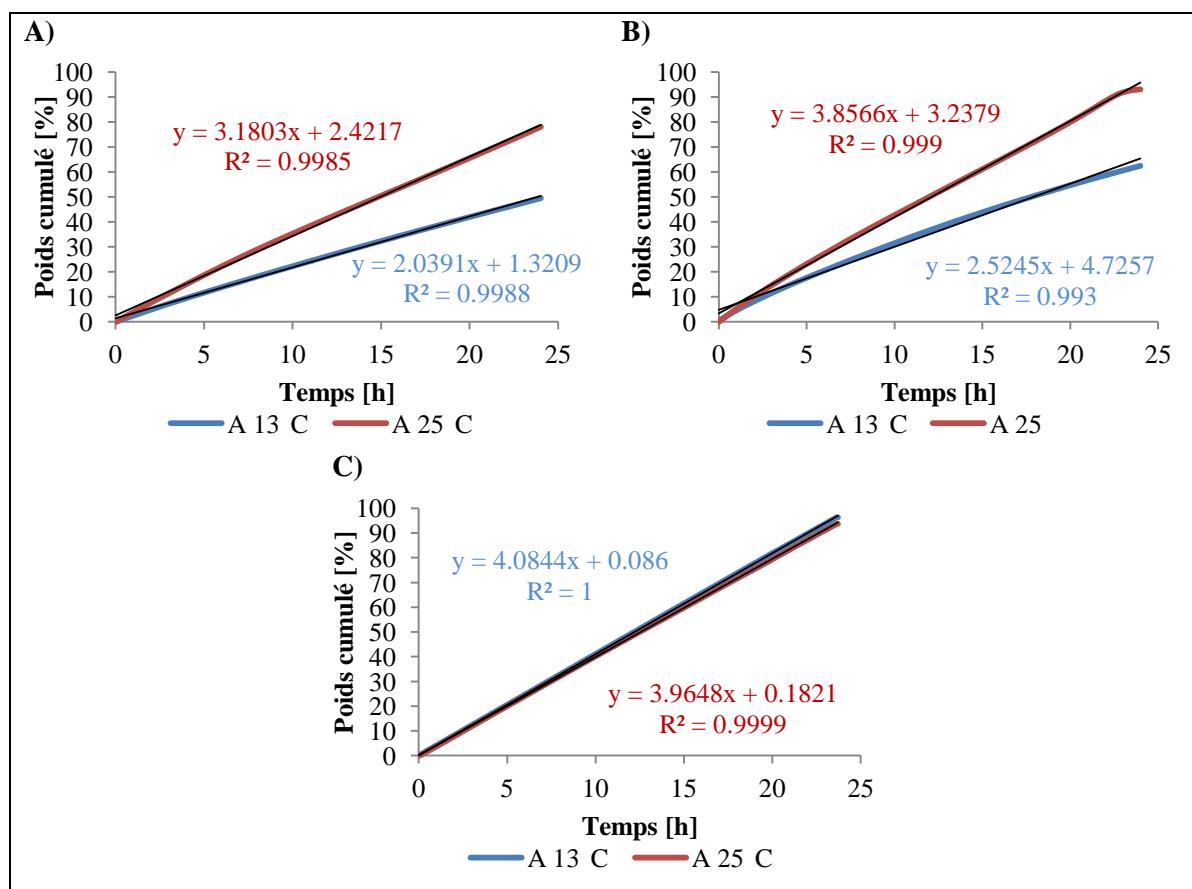


Figure A : Graphiques du poids cumulé en fonction du temps de perfusion pour les perfuseurs A) AutoSelector® B) Easypump® 1 et C) CADD-Legacy® 1 à 13 (en bleu) et 25°C (en rouge) (solution de ceftazidime à 30 mg/ml)

Tableau C : Paramètres de la droite représentant le poids cumulé en fonction du temps de perfusion des perfuseurs AutoSelector®, Easypump®1 et CADD-Legacy®1 à 13°C (solution de ceftazidime à 30 mg/ml)

	AutoSelector®			Easypump®1			CADD-Legacy®1		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Pente	2.04	2.08	2.06	2.53	2.59	2.54	4.09	4.14	4.05
Ordonnée à l'origine	1.32	2.13	1.77	4.73	4.31	4.66	0.08	0.02	0.04
R ²	0.9988	0.9983	0.9982	0.993	0.9926	0.993	1	0.9996	1
Quantité perfusée	49.5 %	51.1 %	50.3 %	62.4 %	63.3 %	62.7 %	96.3%	97.1 %	95.5 %

Expériences supplémentaires

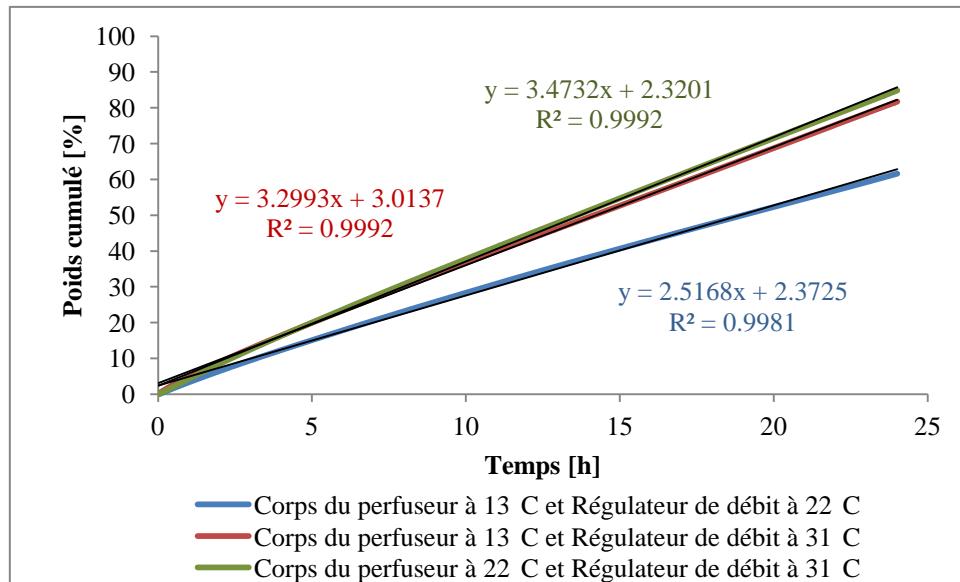


Figure B : Graphique du poids cumulé en fonction du temps de perfusion pour le perfuseur AutoSelector® pour les nouvelles conditions de température testées (solution de ceftazidime à 30 mg/ml)

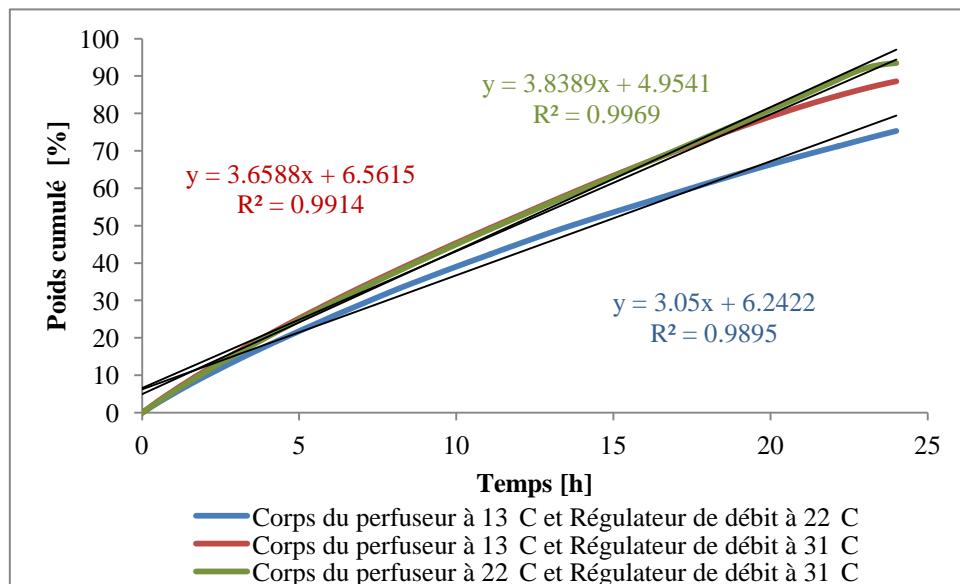


Figure C : Graphique du poids cumulé en fonction du temps de perfusion pour le perfuseur Easypump®1 pour les nouvelles conditions de température testées (solution de ceftazidime à 30 mg/ml)

ANNEXE 12 : Rapport de validation E-noval



Nom: Lina Berger
Société: HOSPICES CANTONNAUX
Département: -
Phase: Validation
Numéro de Référence: CFZ_1

**Validation de la méthode de dosage de la Ceftazidime par
HPLC**

Nom: Lina Berger
Société: HOSPICES CANTONNAUX
Département: -
Phase: Validation
Numéro de référence: CFZ_1
Méthode : HPLC DAD
Protocole : CFZ_1
Produit: Fortam
Composé: Ceftazidime
Matrice: NaCl 0.9%/Phase mobile

Résumé

Modèle sélectionné : Régression linéaire passant par 0 ajustée en utilisant uniquement le niveau 5.

1. Plan d'expérience

Standards d'étalonnage

Series	Concentration levels (ug/ml)	No. of repetitions
1	1.0	2
1	2.0	2
1	3.0	2
1	4.0	2
1	5.0	2
2	1.0	2
2	2.0	2
2	3.0	2
2	4.0	2
2	5.0	2
3	1.0	2
3	2.0	2
3	3.0	2
3	4.0	2
3	5.0	2

Standards de validation

Series	Concentration levels (ug/ml)	No. of independent repetitions
1	1.0	3
1	2.0	3
1	3.0	3
1	4.0	3
1	5.0	3
2	1.0	3
2	2.0	3
2	3.0	3
2	4.0	3
2	5.0	3
3	1.0	3
3	2.0	3
3	3.0	3
3	4.0	3
3	5.0	3

2. Fonction réponse

Model Selected	Accuracy Index	Lower and upper limits of quantitation (LOQ) (ug/ml)	Dosing Range Index	Precision Index	Trueness Index
Linear Regression Through 0 fitted with the level 5 only	0.8913	[40.00 , 100.0]	1.000	0.7134	0.9927

Series	Slope	r ²	Residual d.f.	RSS
1	3.2900E+05	ND	1	1.5736E+09
2	3.2480E+05	ND	1	1.2481E+10
3	3.2245E+05	ND	1	2.2020E+09

3. Justesse

Concentration level (ug/ml)	Mean introduced concentration (ug/ml)	Mean back-calculated concentration (ug/ml)	Absolute bias (ug/ml)	Relative bias (%)	Recovery (%)	95% Confidence Interval of Recovery (%)
1.0	40.00	40.02	0.01897	0.04741	100.0	(41)
2.0	60.00	59.76	-0.2370	-0.3950	99.61	[99.30 , 99.91]
3.0	70.00	69.67	-0.3289	-0.4699	99.53	[99.18 , 99.88]
4.0	80.00	79.68	-0.3227	-0.4033	99.60	[99.33 , 99.86]
5.0	100.0	99.39	-0.6134	-0.6134	99.39	[99.26 , 99.51]

4. Fidélité

Concentration level (ug/ml)	Mean introduced concentration (ug/ml)	Repeatability (RSD%)	Intermediate precision (RSD%)
1.0	40.00	0.4605	0.4605
2.0	60.00	0.2012	0.4373
3.0	70.00	0.1809	0.5097
4.0	80.00	0.1634	0.3874
5.0	100.0	0.1476	0.1717

Concentration level (ug/ml)	Mean introduced concentration (ug/ml)	Repeatability (SD - ug/ml)	Between-series (SD - ug/ml)	Ratio of Variance components (between / within)	Intermediate precision (SD - ug/ml)
1.0	40.00	0.1842	0	0	0.1842
2.0	60.00	0.1207	0.2329	3.724	0.2624
3.0	70.00	0.1266	0.3336	6.938	0.3568
4.0	80.00	0.1307	0.2810	4.620	0.3099
5.0	100.0	0.1476	0.08770	0.3532	0.1717

Concentration level (ug/ml)	Mean introduced concentration (ug/ml)	95% Upper Confidence Limit Repeatability (SD - ug/ml)	95% Upper Confidence Limit Intermediate Precision (SD - ug/ml)
1.0	40.00	0.3152	0.3152
2.0	60.00	0.2312	1.078
3.0	70.00	0.2426	1.511
4.0	80.00	0.2504	1.289
5.0	100.0	0.2827	0.5556

Concentration level (ug/ml)	Series	Mean introduced concentration (ug/ml)	Back-calculated concentration (ug/ml)	Recovery (%)
1.0	1	40.00	40.06	100.1
1.0	2	40.00	40.04	100.1
1.0	3	40.00	39.96	99.90
1.0	Mean of all series	40.00	40.02	100.0
2.0	1	60.00	59.82	99.70
2.0	2	60.00	59.97	99.96
2.0	3	60.00	59.50	99.16
2.0	Mean of all series	60.00	59.76	99.61
3.0	1	70.00	69.62	99.46
3.0	2	70.00	70.03	100.0
3.0	3	70.00	69.35	99.08
3.0	Mean of all series	70.00	69.67	99.53
4.0	1	80.00	79.68	99.60
4.0	2	80.00	79.97	99.96
4.0	3	80.00	79.39	99.23
4.0	Mean of all series	80.00	79.68	99.60
5.0	1	100.0	99.27	99.27
5.0	2	100.0	99.51	99.51
5.0	3	100.0	99.37	99.37
5.0	Mean of all series	100.0	99.39	99.39

4. Incertitude de mesure

Concentration level (ug/ml)	Mean introduced concentration (ug/ml)	Uncertainty of the bias (ug/ml)	Uncertainty (ug/ml)	Expanded Uncertainty (ug/ml)	Relative Expanded Uncertainty (%)
1.0	40.00	0.06140	0.1942	0.3883	0.9708
2.0	60.00	0.1404	0.2976	0.5951	0.9919
3.0	70.00	0.1972	0.4077	0.8153	1.165
4.0	80.00	0.1680	0.3526	0.7051	0.8814
5.0	100.0	0.07060	0.1856	0.3712	0.3712

5. Exactitude

Concentration Level (ug/ml)	Mean introduced concentration (ug/ml)	beta-expectation tolerance limit (ug/ml)	Relative Beta-expectation tolerance limit (%)	Risk (%)
1.0	40.00	[39.57 , 40.47]	[-1.079 , 1.174]	0.0008884
2.0	60.00	[58.75 , 60.78]	[-2.083 , 1.293]	0.3378
3.0	70.00	[68.16 , 71.18]	[-2.631 , 1.691]	0.7919
4.0	80.00	[78.44 , 80.92]	[-1.953 , 1.146]	0.3041
5.0	100.0	(41)	[-1.069 , -0.1575]	0.00002740

6. Linéarité des résultats

Intercept	Slope	r²	RSS
0.3974	0.9901	0.9999	2.418

7. Limites de détection (LOD) et limites de quantification (LOQ)

LOD (ug/ml)	Lower LOQ (ug/ml)	Upper LOQ (ug/ml)
0.6101	40.00	100.0

ANNEXE 13 : Température du perfuseur AutoSelector®

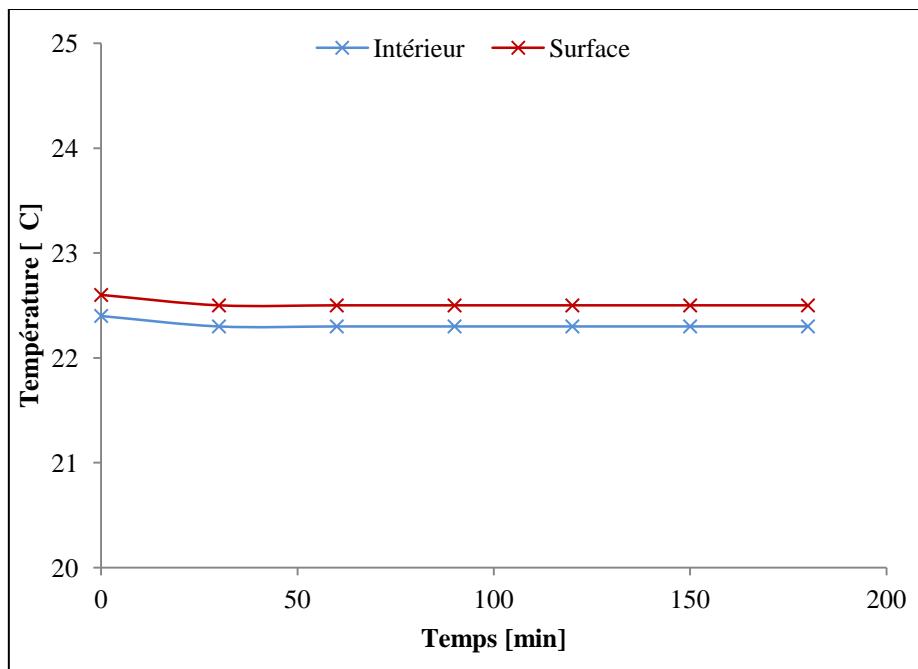


Figure A : Graphique de la température à l'intérieur et à l'extérieur du perfuseur en fonction du temps (mesure n°1)

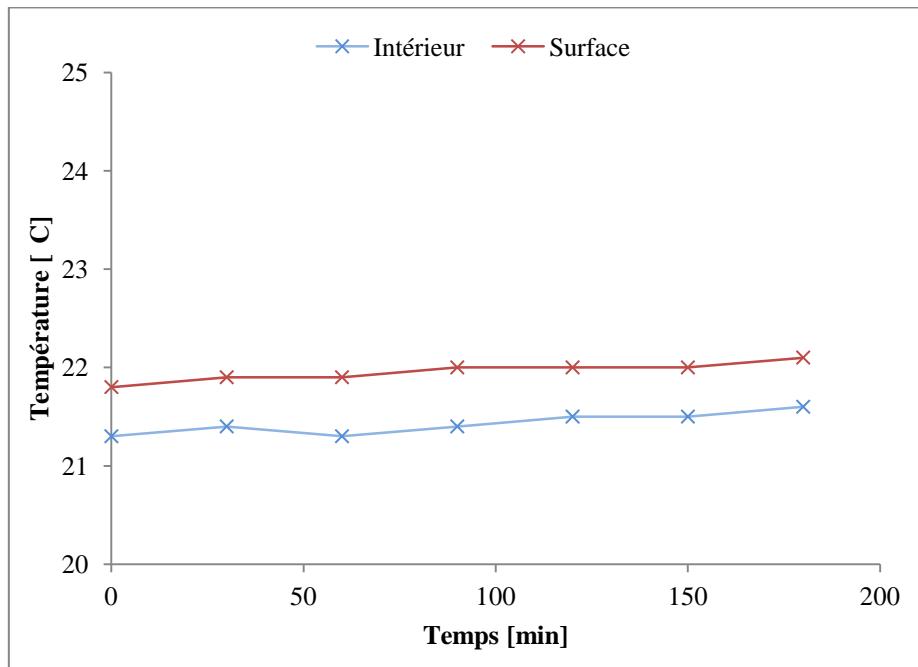
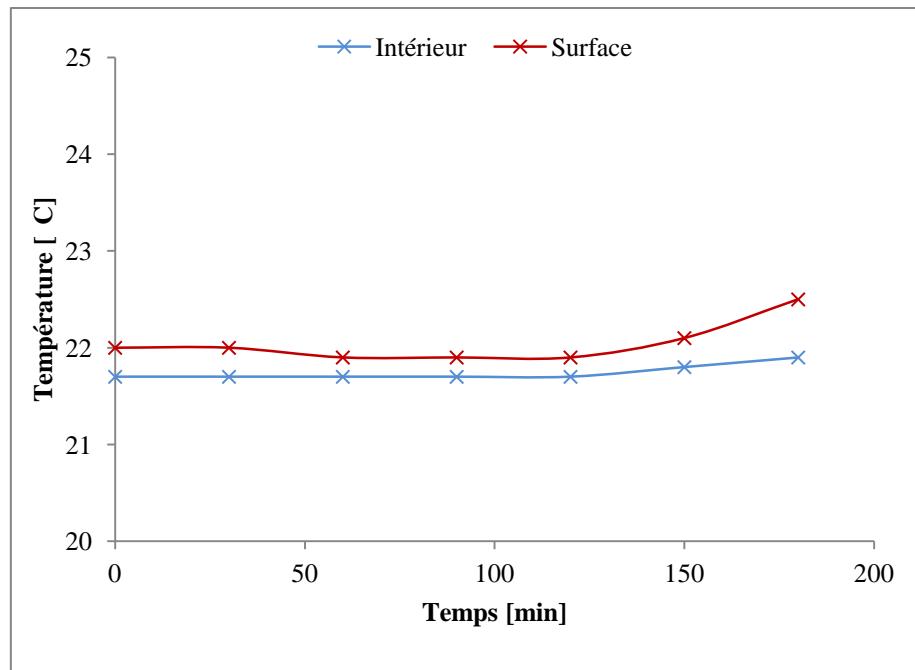


Figure B : Graphique de la température à l'intérieur et à l'extérieur du perfuseur en fonction du temps (mesure n°2)

Tableau A : Moyenne, écart type et CV de la température à l'intérieur et à l'extérieur du perfuseur n°2

	Intérieur	Surface
Moyenne [°C]	21.4	22.0
Ecart type [°C]	0.1	0.1
CV [%]	0.5	0.4

**Figure C : Graphique de la température à l'intérieur et à l'extérieur du perfuseur en fonction du temps (mesure n°3)****Tableau B : Moyenne, écart type et CV de la température à l'intérieur et à l'extérieur du perfuseur n°3**

	Intérieur	Surface
Moyenne [°C]	21.7	22.0
Ecartype [°C]	0.1	0.2
CV [%]	0.4	1.0

ANNEXE 14 : Etude de la stabilité de la ceftazidime *in vitro*

Tableau A : Résultats de l'analyse HPLC pour l'expérience A
 « 24h dans le diffuseur AutoSelector® placé dans un bain-marie à 25°C »

	N°1	N°2	N°3	Moyennes
t₀				
Concentration Ceftazidime [mg/ml]	59.35			
% de la valeur de départ de Ceftazidime	100			
Pyridine [%]	0.08			
t_{24h}				
Concentration Ceftazidime [mg/ml]	52.97	54.27	58.01	55.08
% de la valeur de départ de Ceftazidime	89.34	91.53	97.84	92.90
Pyridine [%]	0.38	0.38	0.38	0.38

Tableau B : Résultats de l'analyse HPLC pour l'expérience B
 « 24h dans le diffuseur AutoSelector® placé dans une glacière à 13°C »

	N°1	N°2	N°3	Moyennes
t₀				
Concentration Ceftazidime [mg/ml]	57.79			
% de la valeur de départ de Ceftazidime	100			
Pyridine [%]	0.04			
t_{24h}				
Concentration Ceftazidime [mg/ml]	55.25	53.90	54.85	54.67
% de la valeur de départ de Ceftazidime	95.61	93.26	94.91	94.59
Pyridine [%]	0.14	0.15	0.13	0.14

Tableau C : Résultats de l'analyse HPLC pour l'expérience C
 « 24h dans le diffuseur AutoSelector® en condition simulée d'utilisation (porté près du corps) »

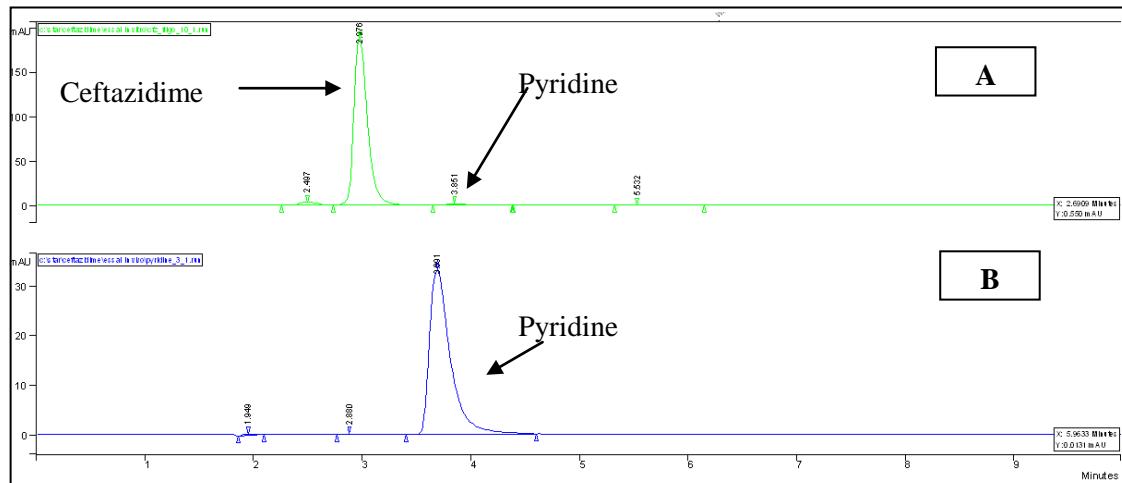
	N°1	N°2	N°3	Moyennes
t₀				
Concentration Ceftazidime [mg/ml]	60.97			
% de la valeur de départ de Ceftazidime	100			
Pyridine [%]	0.09			
t_{24h}				
Concentration Ceftazidime [mg/ml]	53.83	55.24	56.19	55.09
% de la valeur de départ de Ceftazidime	88.29	90.60	92.15	90.35
Pyridine [%]	0.55	0.55	0.54	0.55

Tableau D : Résultats de l'analyse HPLC pour l'expérience D
 « 18h dans le diffuseur AutoSelector® placé à température ambiante »

	N°1	N°2	N°3	Moyennes
t₀				
Concentration Ceftazidime [mg/ml]	60.40			
% de la valeur de départ de Ceftazidime	100			
Pyridine [%]	0.08			
t_{18h}				
Concentration Ceftazidime [mg/ml]	56.26	58.57	53.71	56.18
% de la valeur de départ de ceftazidime	93.14	96.98	88.91	93.02
Pyridine [%]	0.21	0.24	0.29	0.23

Tableau E : Résultats pour l'analyse HPLC de l'expérience D «7j dans le diffuseur AutoSelector® au frigo»

	N°1	N°2	N°3	Moyennes
t₀				
Concentration Ceftazidime [mg/ml]	61.78			
% de la valeur de départ de Ceftazidime	100			
Pyridine [%]	0.03			
t₀ + 24h à 35°C				
Concentration Ceftazidime [mg/ml]	50.33			
% de la valeur de départ de Ceftazidime	81.46			
Pyridine [%]	1.01			
t_{24h}				
Concentration Ceftazidime [mg/ml]	57.56	57.62	55.83	57.00
% de la valeur de départ de ceftazidime	93.17	93.27	90.36	92.26
Pyridine [%]	0.07	0.09	0.10	0.08
t_{24h} au frigo + 24h à 35°C				
Concentration Ceftazidime [mg/ml]	42.95	42.24	42.24	41.36
% de la valeur de départ de ceftazidime	69.52	68.37	62.95	66.94
Pyridine [%]	0.98	0.96	0.85	0.93
t_{48h}				
Concentration Ceftazidime [mg/ml]	59.50	57.55	59.03	58.69
% de la valeur de départ de ceftazidime	96.31	93.14	95.54	94.99
Pyridine [%]	0.14	0.12	0.14	0.14
t_{48h} au frigo + 24h à 35°C				
Concentration Ceftazidime [mg/ml]	50.11	46.61	47.50	48.07
% de la valeur de départ de ceftazidime	81.11	75.44	76.88	77.81
Pyridine [%]	1.30	1.20	1.25	1.25
t_{7j}				
Concentration Ceftazidime [mg/ml] (moyenne sur deux injections)	56.62	54.79	55.42	55.61
% de la valeur de départ de ceftazidime	91.65	88.68	89.71	90.01
Pyridine [%]	0.26	0.25	0.25	0.25
t_{7j} au frigo + 24h à 35°C				
Concentration Ceftazidime [mg/ml]	45.14	43.40	42.84	43.81
% de la valeur de départ de ceftazidime	73.12	70.25	69.34	70.90
Pyridine [%]	1.22	1.17	1.17	1.19

Figure A : Chromatogrammes des essais de stabilité *in vitro* de la ceftazidime
A) t₀ au frigo + 24h à 35°C (60 mg/ml) B) témoin de pyridine (1.15 mg/ml)

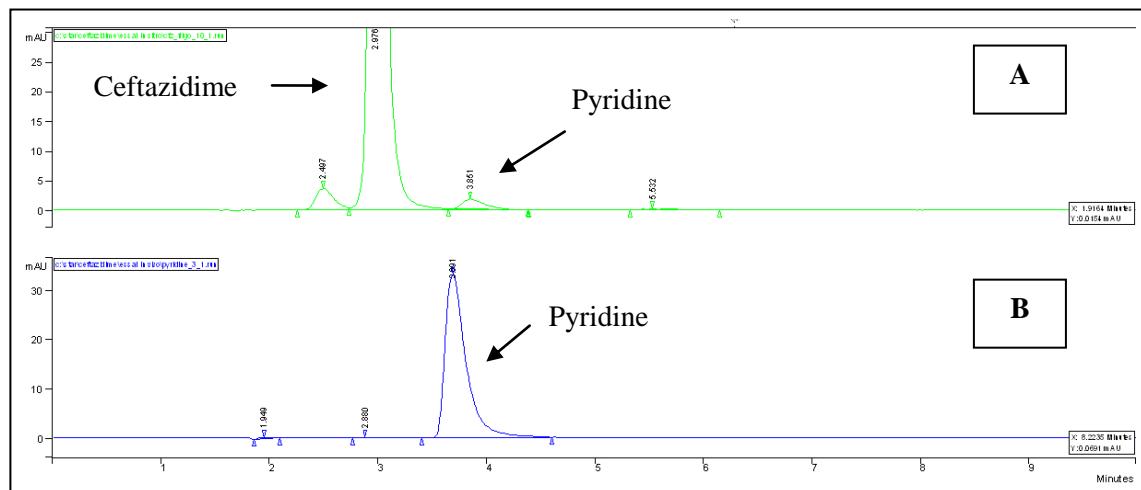


Figure B : Chromatogrammes des essais de stabilité *in vitro* de la ceftazidime avec un zoom sur les produits de dégradation A) t₀ au frigo + 24h à 35°C (60 mg/ml) B) témoin de pyridine (1.15 mg/ml)

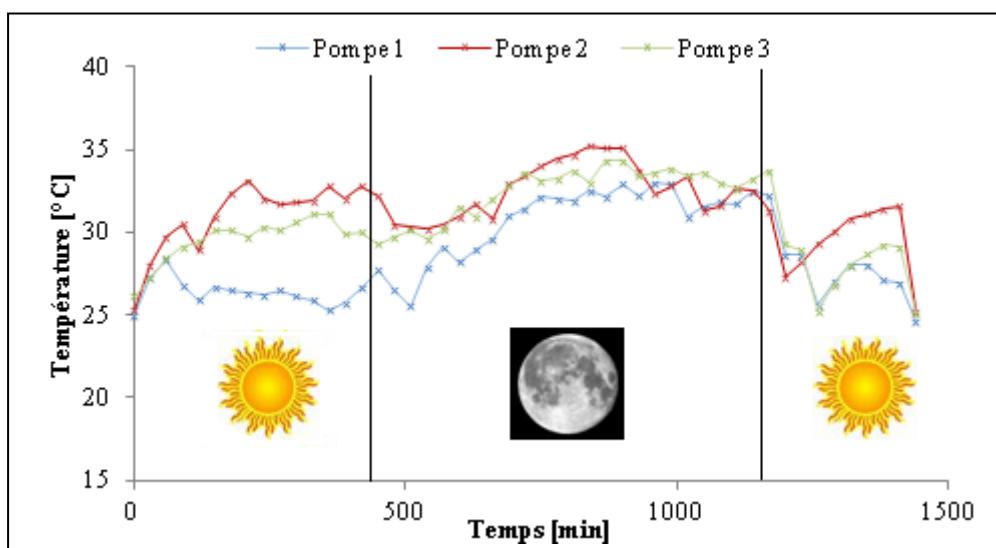


Figure C : Température des trois perfuseurs AutoSelector® porté près du corps le même jour par trois personnes différentes lors de l'expérience « 24h dans le diffuseur AutoSelector® en condition simulée d'utilisation (porté près du corps) »

Tableau F : Résultats des trois mesures de température du perfuseur AutoSelector® porté près du corps le même jour par trois personnes différentes lors de l'expérience « 24h dans le diffuseur AutoSelector® en condition simulée d'utilisation (porté près du corps) »

	Pompe 1	Pompe 2	Pompe 3
Moyenne [°C]	28.7	31.5	30.7
Ecartype [°C]	2.7	2.2	2.4
CV [%]	9.3	7.0	7.9
Minimum [°C]	24.6	25.2	25.1
Maximum [°C]	33.0	35.2	34.3

ANNEXE 15 : Etude de la stabilité de la ceftazidime en clinique

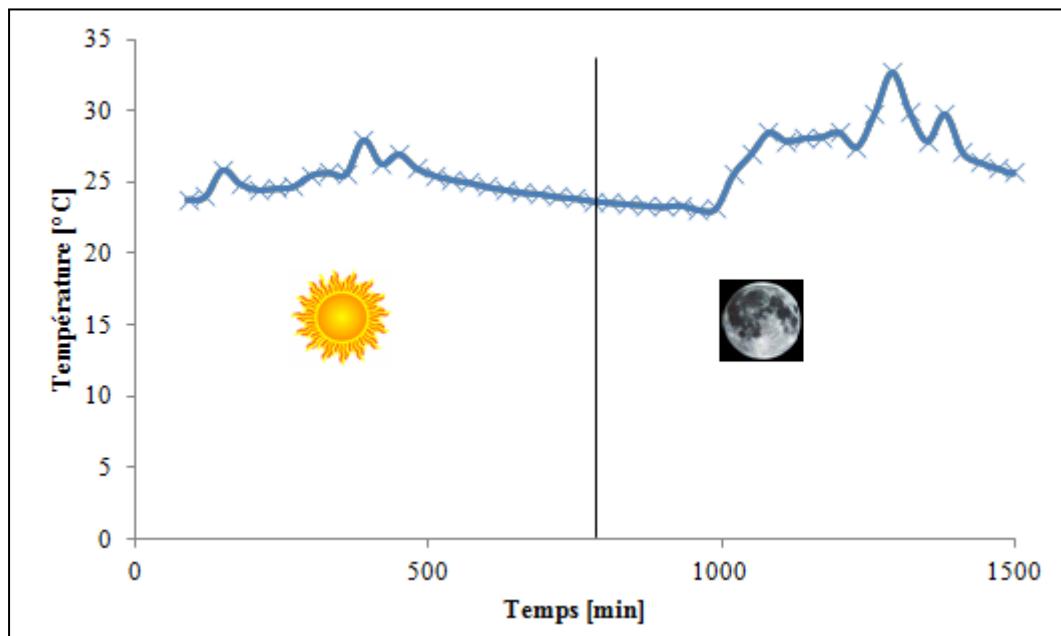


Figure A : Graphique de la température de la cassette en fonction du temps pour le patient A

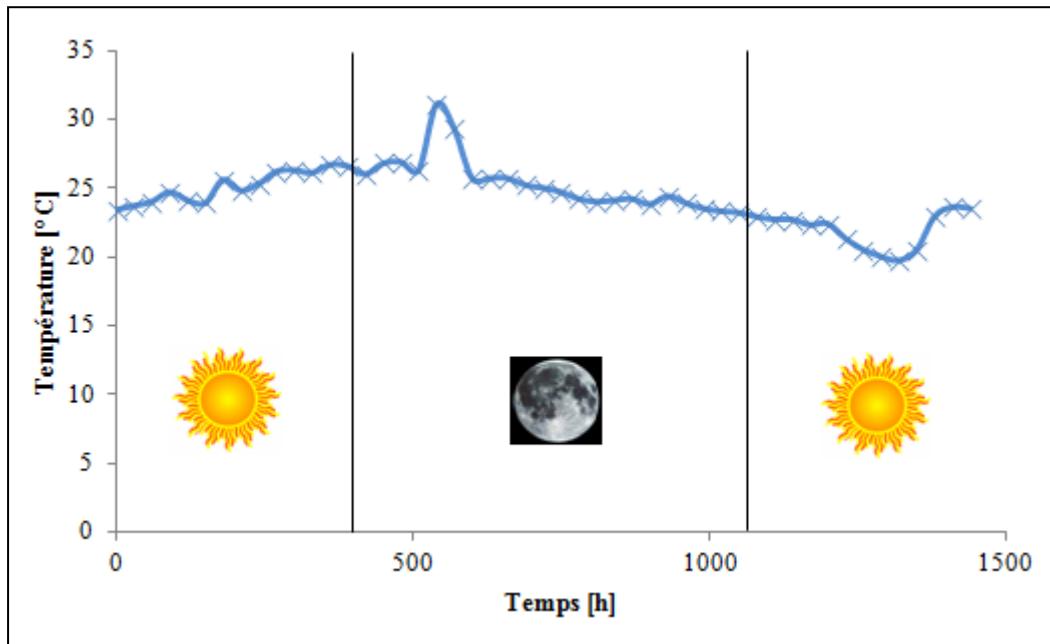


Figure B : Graphique de la température de la cassette en fonction du temps pour le patient B

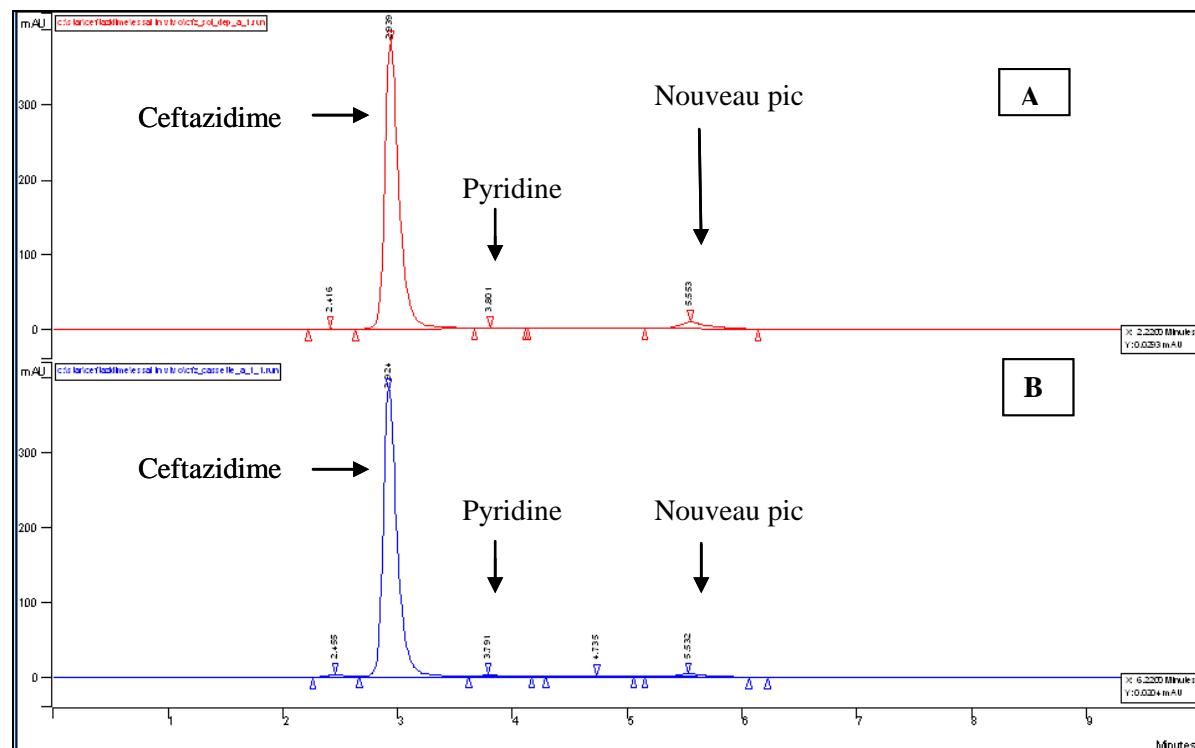


Figure C : Chromatogrammes des essais de stabilité en clinique de la solution A (90 mg/ml).
A) t_0 B) $t_0 + 24\text{h}$ d'administration

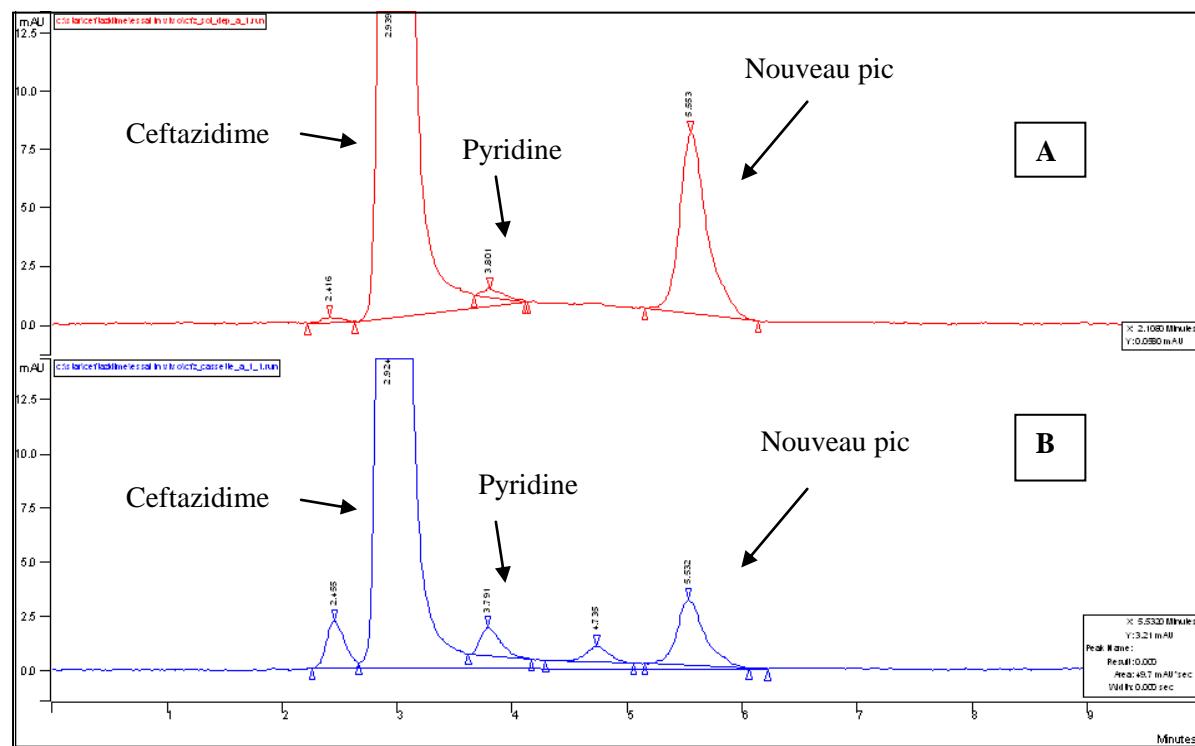


Figure D : Chromatogrammes des essais de stabilité en clinique de la solution A (90 mg/ml) avec un zoom sur les pics de dégradation. A) t_0 B) $t_0 + 24\text{h}$ d'administration

Tableau A : Résultats de l'analyse HPLC et de la mesure du pH des solutions utilisées pour l'investigation du nouveau pic

	Nouveau Pic [%]	pH
Reconstitution Seringue + Eau/NaCl*	-	5.8
Reconstitution Seringue + NaCl	-	5.7
Reconstitution sans Seringue + Eau/NaCl	0.52	6.6
Reconstitution sans Seringue + NaCl	0.36	6.7

*Une solution de même composition a été placée 3h à température ambiante puis placée au congélateur afin de mimer le stockage de l'échantillon t_0 du patient A. Le nouveau pic était présent à 1.99%.

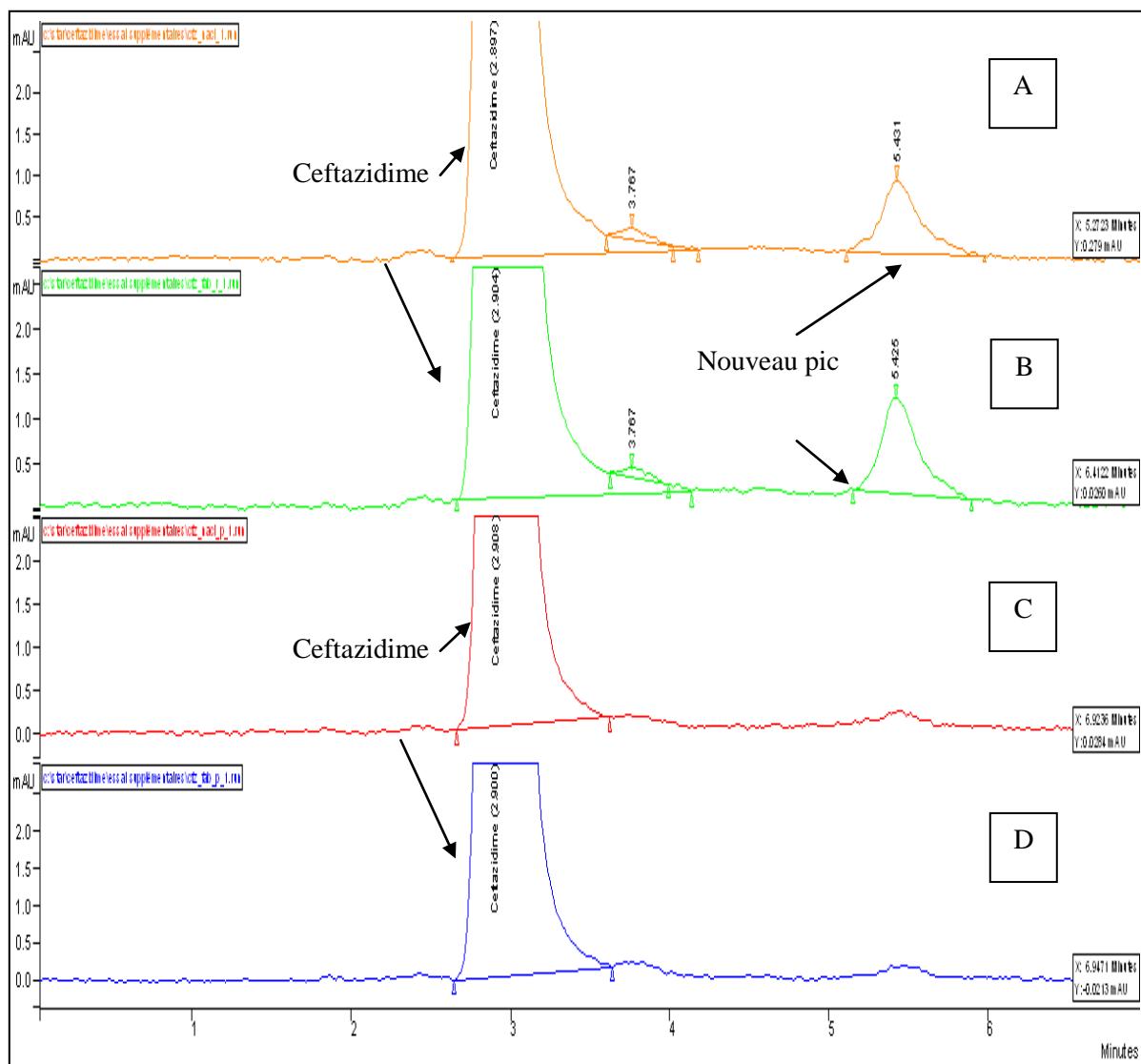


Figure E : Chromatogrammes de solutions de ceftazidime (60 mg/ml).
A) Reconstitution avec une seringue et de l'eau stérile, dilution avec du NaCl 0.9%
B) Reconstitution avec une seringue et du NaCl 0.9%
C) Reconstitution sans seringue et de l'eau stérile, dilution avec du NaCl 0.9%
D) Reconstitution sans seringue et du NaCl 0.9%

Remarque : Le pic de la pyridine est aussi légèrement plus important lors de la reconstitution de l'antibiotique à l'aide d'une seringue directement dans le flacon d'origine.

```

PuP Statistics Report

Target: Ceftazidime
PuP: 240.798 nm Standard Deviation: 0.291 nm
No Filename tR (min) Spectrum Type Correction PuP (200.00->400.00 nm)
-- -----
1 cfz_sol_dep_a_1.run 2.840 Within Baseline 241.118(+1.10 SD)
2 cfz_sol_dep_a_1.run 3.027 Within Baseline 240.266(-1.03 SD)
3 cfz_sol_dep_a_1.run 2.920 Within Baseline 240.598(-0.69 SD)
4 cfz_sol_dep_a_1.run 5.547 PeakApex Baseline 240.988(+0.65 SD)
5 cfz_sol_dep_a_1.run 5.440 Within Baseline 241.016(+0.75 SD)
6 cfz_sol_dep_a_1.run 5.640 DownSlope Baseline 240.800(+0.01 SD)
Best Correlation: 4 and 6 Sim: 0.999975 Dissim: 0.007093
Worst Correlation: 1 and 5 Sim: 0.997037 Dissim: 0.076917
Average PuP = 240.798 nm Standard Deviation = 0.291 nm

```

Figure F : Rapport de l'analyse de pureté du pic de ceftazidime et du nouveau pic (effectué avec le logiciel *Polyview 2000, Varian Medical Systems (USA)*)

Tableau B : Résultats de l'analyse de pureté permettant d'affirmer qu'il s'agit bien de deux composés extrêmement semblables

Critères		
Facteur de similarité	0.997037	>0.98
Facteur de dissimilarité	0.076917	<0.2

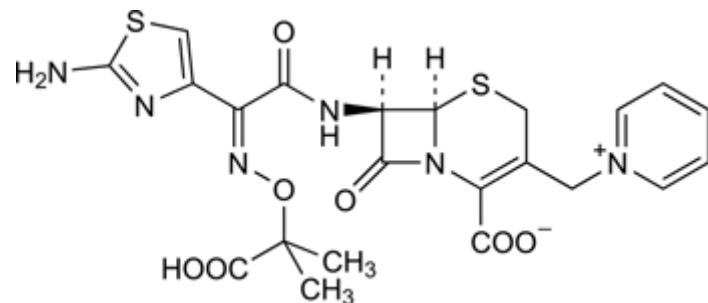
ANNEXE 16 : Ceftazidime et produits de dégradation

Figure A : Structure de la ceftazidime (59)

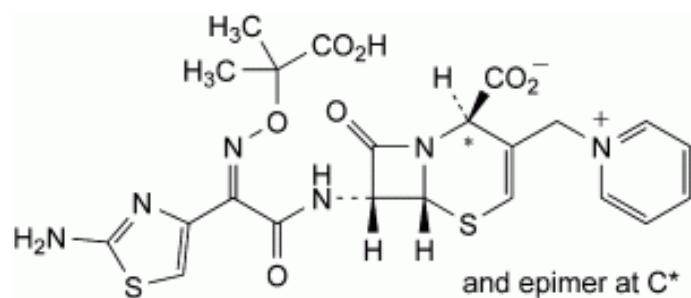
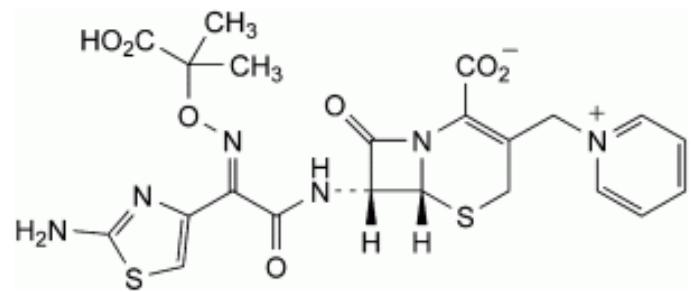
Figure B : Structure de l'impureté A (Δ_2 -Isomère) (59)

Figure C : Impureté B (Anti-isomère) (59)