



**HAL**  
open science

## Stabilité de solutions d'antibiotiques diluées destinées à des tests allergologiques pour intradermoréaction

Valentin Philippe

► **To cite this version:**

Valentin Philippe. Stabilité de solutions d'antibiotiques diluées destinées à des tests allergologiques pour intradermoréaction. Sciences pharmaceutiques. 2018. hal-03297610

**HAL Id: hal-03297610**

**<https://hal.univ-lorraine.fr/hal-03297610v1>**

Submitted on 23 Jul 2021

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



## AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : [ddoc-thesesexercice-contact@univ-lorraine.fr](mailto:ddoc-thesesexercice-contact@univ-lorraine.fr)

## LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

[http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg\\_droi.php](http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php)

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

FACULTE DE PHARMACIE

**MEMOIRE**  
**du DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES**  
**de PHARMACIE HOSPITALIERE**

Soutenu devant le Jury Interrégional

Le 12 décembre 2018

par Valentin PHILIPPE  
né le 22 juin 1990

Conformément aux dispositions de l'arrêté

du 4 octobre 1988 tient lieu de

**THESE**  
**pour le DIPLOME D'ETAT**  
**de DOCTEUR en PHARMACIE**

---

STABILITE DE SOLUTIONS D'ANTIBIOTIQUES DILUEES DESTINEES A DES  
TESTS ALLERGOLOGIQUES POUR INTRADERMOREACTION

---

Membres du Jury

Président : Pr Igor CLAROT

Juges : Dr Sophie MENETRE  
Dr Pascale MONFORT  
Pr Eric MARCHIONI



**UNIVERSITÉ DE LORRAINE**  
**FACULTÉ DE PHARMACIE**  
**Année universitaire 2018-2019**

**DOYEN**

Raphaël DUVAL

**Vice-Doyen**

Julien PERRIN

**Directrice des études**

Marie SOCHA

**Conseil de la Pédagogie**

Présidente, Brigitte LEININGER-MULLER

Vice-Présidente, Alexandrine LAMBERT

**Collège d'Enseignement Pharmaceutique Hospitalier**

Présidente, Béatrice DEMORE

**Commission Prospective Facultaire**

Président, Christophe GANTZER

Vice-Président, Jean-Louis MERLIN

**Commission de la Recherche**

Présidente, Caroline GAUCHER

**Chargés de Mission**

**Communication**

**Innovation pédagogique**

**Référente ADE**

**Référent dotation sur projet (DSP)**

Marie-Paule SAUDER

Alexandrine LAMBERT

Virginie PICHON

Dominique DECOLIN

**Responsabilités**

**Filière Officine**

Caroline PERRIN-SARRADO

**Filière Industrie**

Julien GRAVOULET

Isabelle LARTAUD,

Jean-Bernard REGNOUF de VAINS

**Filière Hôpital**

Béatrice DEMORE

Marie SOCHA

**Pharma Plus ENSIC**

Jean-Bernard REGNOUF de VAINS

**Pharma Plus ENSAIA**

Xavier BELLANGER

**Pharma Plus ENSGSI**

Igor CLAROT

**Cellule de Formation Continue et Individuelle**

Luc FERRARI

**Commission d'agrément des maîtres de stage**

François DUPUIS

**ERASMUS**

Mihayl VARBANOV

**DOYENS HONORAIRES**

Chantal FINANCE

Francine PAULUS

Claude VIGNERON

**PROFESSEURS EMERITES**

Jeffrey ATKINSON

Max HENRY

Claude VIGNERON

**PROFESSEURS HONORAIRES**

Pierre DIXNEUF

Chantal FINANCE

Marie-Madeleine GALTEAU

Thérèse GIRARD

Michel JACQUE

Pierre LABRUDE

Vincent LOPPINET

Alain NICOLAS

Janine SCHWARTZBROD

Louis SCHWARTZBROD

**MAITRES DE CONFERENCES HONORAIRES**

Monique ALBERT

Mariette BEAUD

François BONNEAUX

Gérald CATAU

Jean-Claude CHEVIN

Jocelyne COLLOMB

Bernard DANGIEN

Marie-Claude FUZELLIER

Françoise HINZELIN

Marie-Hélène LIVERTOUX

Bernard MIGNOT

Blandine MOREAU

Dominique NOTTER

Francine PAULUS

Christine PERDICAKIS

Marie-France POCHON

Anne ROVEL

Gabriel TROCKLE

María WELLMAN-ROUSSEAU

Colette ZINUTTI

**ASSISTANTS HONORAIRES**

Marie-Catherine BERTHE

Annie PAVIS

**ENSEIGNANTS***Section GNU\***Discipline d'enseignement***PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS**

Danièle BENSOUSSAN-LEJZEROWICZ	82	<i>Thérapie cellulaire</i>
Jean-Louis MERLIN	82	<i>Biologie cellulaire</i>
Jean-Michel SIMON	81	<i>Economie de la santé, Législation pharmaceutique</i>
Nathalie THILLY	81	<i>Santé publique et Epidémiologie</i>

**PROFESSEURS DES UNIVERSITES**

Christine CAPDEVILLE-ATKINSON	86	<i>Pharmacologie</i>
Igor CLAROT	85	<i>Chimie analytique</i>
Joël DUCOURNEAU	85	<i>Biophysique, Acoustique, Audioprothèse</i>
Raphaël DUVAL	87	<i>Microbiologie clinique</i>
Béatrice FAIVRE	87	<i>Hématologie, Biologie cellulaire</i>
Luc FERRARI	86	<i>Toxicologie</i>
Pascale FRIANT-MICHEL	85	<i>Mathématiques, Physique</i>
Christophe GANTZER	87	<i>Microbiologie</i>
Frédéric JORAND	87	<i>Eau, Santé, Environnement</i>
Isabelle LARTAUD	86	<i>Pharmacologie</i>
Dominique LAURAIN-MATTAR	86	<i>Pharmacognosie</i>
Brigitte LEININGER-MULLER	87	<i>Biochimie</i>
Pierre LEROY	85	<i>Chimie physique</i>
Philippe MAINCENT	85	<i>Pharmacie galénique</i>
Patrick MENU	86	<i>Physiologie</i>
Jean-Bernard REGNOUF de VAINS	86	<i>Chimie thérapeutique</i>
Bertrand RHHN	87	<i>Biochimie, Biologie moléculaire</i>

**MAITRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS**

Béatrice DEMORE	81	<i>Pharmacie clinique</i>
Alexandre HARLE	82	<i>Biologie cellulaire oncologique</i>
Julien PERRIN	82	<i>Hématologie biologique</i>
Loïc REPPPEL	82	<i>Biothérapie</i>
Marie SOCHA	81	<i>Pharmacie clinique, thérapeutique et biotechnique</i>

**MAITRES DE CONFÉRENCES**

Sandrine BANAS	87	<i>Parasitologie</i>
Xavier BELLANGER	87	<i>Parasitologie, Mycologie médicale</i>
Emmanuelle BENOIT	86	<i>Communication et Santé</i>
Isabelle BERTRAND	87	<i>Microbiologie</i>
Michel BOISBRUN	86	<i>Chimie thérapeutique</i>
Ariane BOUDIER	85	<i>Chimie Physique</i>
Cédric BOURA	86	<i>Physiologie</i>
Joël COULON	87	<i>Biochimie</i>
Sébastien DADE	85	<i>Bio-informatique</i>
Dominique DECOLIN	85	<i>Chimie analytique</i>
Roudayna DIAB	85	<i>Pharmacie galénique</i>
Natacha DREUMONT	87	<i>Biochimie générale, Biochimie clinique</i>
Florence DUMARCAY	86	<i>Chimie thérapeutique</i>
François DUPUIS	86	<i>Pharmacologie</i>
Reine EL OMAR	86	<i>Physiologie</i>
Adil FAIZ	85	<i>Biophysique, Acoustique</i>
Anthony GANDIN	87	<i>Mycologie, Botanique</i>
Caroline GAUCHER	86	<i>Chimie physique, Pharmacologie</i>
Stéphane GIBAUD	86	<i>Pharmacie clinique</i>
Thierry HUMBERT	86	<i>Chimie organique</i>
Olivier JOUBERT	86	<i>Toxicologie, Sécurité sanitaire</i>

**ENSEIGNANTS (suite)**

Section CNU\*

Discipline d'enseignement

Alexandrine LAMBERT	85	Informatique, Biostatistiques
Julie LEONHARD	86/01	Droit en Santé
Christophe MERLIN	87	Microbiologie environnementale
Maxime MOURER	86	Chimie organique
Coumba NDIAYE	86	Epidémiologie et Santé publique
Arnaud PALLOTTA <sup>⌘</sup>	86	Bioanalyse du médicament
Marianne PARENT	85	Pharmacie galénique
Caroline PERRIN-SARRADO	86	Pharmacologie
Virginie PICHON	85	Biophysique
Sophie PINEL	85	Informatique en Santé (e-santé)
Anne SAPIN-MINET	85	Pharmacie galénique
Marie-Paule SAUDER	87	Mycologie, Botanique
Guillaume SAUTREY	85	Chimie analytique
Rosella SPINA	86	Pharmacognosie
Sabrina TOUCHET	86	Pharmacochimie
Mihayl VARBANOV	87	Immuno-Virologie
Marie-Noëlle VAULTIER	87	Mycologie, Botanique
Emilie VELOT	86	Physiologie-Physiopathologie humaines
Mohamed ZAIYOU	87	Biochimie et Biologie moléculaire

**PROFESSEUR ASSOCIE**

Julien GRAVOULET	86	Pharmacie clinique
Anne MAHEUT-BOSSER	86	Sémiologie

**PROFESSEUR AGREGÉ**

Christophe COCHAUD	11	Anglais
--------------------	----	---------

<sup>⌘</sup> En attente de nomination**\* Disciplines du Conseil National des Universités :**

80 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé

81 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences du médicament et des autres produits de santé

82 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences biologiques, fondamentales et cliniques

85 : Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé

86 : Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences du médicament et des autres produits de santé

87 : Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences biologiques, fondamentales et cliniques

11 : Professeur agrégé de lettres et sciences humaines en langues et littératures anglaises et anglo-saxonnes

## SERMENT DES APOTHICAIRES



**Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :**

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

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

**De** ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

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

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





« LA FACULTE N'ENTEND DONNER AUCUNE APPROBATION,  
NI IMPROBATION AUX OPINIONS EMISES DANS LES  
THESES, CES OPINIONS DOIVENT ETRE CONSIDEREES  
COMME PROPRES A LEUR AUTEUR ».

## **Remerciements**

J'aimerais tout d'abord remercier mes co-directeurs de thèse, le Dr Sophie MENETRE et le Pr Igor CLAROT pour leur encadrement, leurs conseils, leurs relectures de ce travail et leur participation au jury.

Je remercie également le Dr Pascale MONFORT et le Pr Eric MARCHIONI pour avoir accepté d'examiner mon travail et de faire partie du jury.

Les membres de l'équipe du laboratoire EA 3452 CITHEFOR ont toute ma gratitude pour leur accueil chaleureux et pour m'avoir fourni le matériel nécessaire à cette étude. Un grand merci au CHRU de Nancy pour avoir fourni les spécialités antibiotiques utilisées pour ce travail.

Je remercie chaleureusement mes collègues du CHR Metz-Thionville avec lesquels j'ai pris un grand plaisir à travailler. Ils m'ont également permis de me libérer régulièrement pour me rendre au laboratoire afin de réaliser les expériences.

Enfin je remercie Emilie ainsi que ma famille pour leur soutien sans lequel je ne serais pas là aujourd'hui.

## Sommaire

I.	Introduction .....	19
II.	Généralités sur l'allergie .....	21
A.	Allergie médicamenteuse.....	24
B.	Le principe de précaution.....	25
C.	Les réactions croisées.....	26
D.	Surestimation des allergies médicamenteuses.....	26
III.	L'allergie aux antibiotiques.....	31
A.	Contexte .....	35
B.	Benzylpénicilline sodique.....	38
C.	Amoxicilline sodique.....	39
D.	Clavulanate potassique .....	39
E.	Cefotaxime sodique .....	40
F.	Ceftriaxone sodique.....	41
G.	Cefazoline sodique.....	42
H.	Cefuroxime sodique .....	43
I.	Ofloxacin.....	44
J.	Levofloxacin.....	45
K.	Ciprofloxacine.....	46
IV.	Objectifs .....	49
V.	Matériel et méthodes.....	51
A.	Réactifs .....	51
B.	Antibiotiques .....	51
C.	Instrumentation .....	52
D.	Méthodes .....	53
1.	Méthodes chromatographiques.....	54
a.	Benzylpénicilline sodique (07/2017 :0114).....	54
b.	Amoxicilline sodique (01/2017 :0577) .....	54
c.	Amoxicilline sodique + clavulanate potassique (07/2010 :1140) .....	55

d.	Cefotaxime sodique (01/2008 :0989) .....	55
e.	Ceftriaxone sodique (01/2008 :0991) .....	56
f.	Cefazoline sodique (04/2014 :0988) .....	56
g.	Cefuroxime sodique (01/2008 :0992) .....	57
h.	Ofloxacin (01/2017 :1455).....	57
i.	Lévofoxacin (01/2017 :1455).....	57
j.	Ciprofoxacin (01/2017 :1089).....	58
2.	Expériences .....	59
3.	Statistiques .....	61
VI.	Résultats.....	63
A.	Benzypénicilline sodique.....	63
1.	Chromatogrammes .....	63
2.	Test de linéarité.....	63
3.	Stabilité de la benzypénicilline sodique.....	63
B.	Amoxicilline sodique .....	65
1.	Chromatogrammes .....	65
2.	Test de linéarité.....	68
3.	Stabilité de l'amoxicilline sodique .....	69
a.	Dans le sérum physiologique .....	70
b.	Dans le sérum physiologique + phénol .....	70
C.	Amoxicilline + acide clavulanique .....	71
1.	Chromatogrammes .....	71
2.	Test de linéarité sur le clavulanate potassique .....	73
3.	Stabilité du clavulanate potassique .....	74
D.	Cefotaxime sodique.....	77
1.	Chromatogrammes du cefotaxime sodique .....	77
2.	Test de linéarité du cefotaxime sodique .....	80
3.	Stabilité du cefotaxime .....	81
E.	Ceftriaxone sodique.....	82

1.	Chromatogrammes de la ceftriaxone sodique .....	82
2.	Test de linéarité sur la ceftriaxone sodique .....	85
3.	Stabilité de la ceftriaxone sodique .....	86
F.	Cefazoline sodique .....	87
1.	Chromatogrammes de la cefazoline sodique.....	87
2.	Test de linéarité sur la cefazoline sodique.....	89
3.	Stabilité de la cefazoline sodique .....	89
G.	Cefuroxime sodique .....	90
1.	Chromatogrammes du cefuroxime sodique .....	90
2.	Test de linéarité sur le cefuroxime sodique .....	92
3.	Stabilité du cefuroxime sodique.....	93
H.	Ofloxacin .....	94
1.	Chromatogrammes de l'ofloxacin .....	94
2.	Test de linéarité sur l'ofloxacin .....	95
3.	Stabilité de l'ofloxacin .....	96
a.	Dans le sérum physiologique.....	97
b.	Dans le sérum physiologique + phénol 0,4 % .....	97
I.	Levofloxacin.....	97
1.	Chromatogrammes de la levofloxacin.....	97
2.	Test de linéarité sur la levofloxacin.....	98
3.	Stabilité de la levofloxacin .....	99
a.	Dans le sérum physiologique.....	100
b.	Dans le sérum physiologique + phénol 0,4 .....	100
J.	Ciprofloxacine.....	100
1.	Chromatogrammes de la ciprofloxacine .....	100
2.	Test de linéarité sur la ciprofloxacine .....	102
3.	Stabilité de la ciprofloxacine .....	103
a.	Dans le sérum physiologique.....	104
b.	Dans le sérum physiologique + phénol 0,4 % .....	104

VII.	Discussion .....	105
1.	Pénicillines .....	106
a.	Benzylpénicilline .....	106
b.	Amoxicilline.....	106
c.	Amoxicilline + acide clavulanique.....	107
d.	Bilan pénicillines .....	107
2.	Céphalosporines .....	108
a.	Cefotaxime .....	108
b.	Ceftriaxone .....	108
c.	Cefazoline.....	109
d.	Cefuroxime .....	109
e.	Bilan céphalosporines.....	110
3.	Fluoroquinolones.....	110
a.	Ofloxacin.....	110
b.	Levofloxacin.....	111
c.	Ciprofloxacine.....	111
d.	Bilan fluoroquinolones .....	111
4.	Bilan.....	112
VIII.	Conclusion.....	115
IX.	Bibliographie.....	117
X.	Annexes .....	133
A.	Annexe 1 : questionnaire ENDA sur l'allergie médicamenteuse.....	133
	<b>RESUME :</b> .....	142

## Liste des figures

Figure 1 : Classification de l'hypersensibilité par Johansson <i>et al.</i> 2001 .....	21
Figure 2 : Classification des maladies allergiques et allergies médicamenteuses selon Gell & Coombs [NICOLAS, 2015] .....	23
Figure 3 : Arbre diagnostique de l'allergie médicamenteuse [BOUSQUET et DEMOLY, 2006].	28
Figure 4 : Consommation d'antibiotiques en milieu hospitalier en Europe pour l'année 2016 [ECDC, 2017] .....	31
Figure 5 : Consommation d'antibiotiques en ville en Europe pour l'année 2016 [ECDC, 2017] .....	32
Figure 6 : Consommation d'antibiotiques en milieu hospitalier en France pour l'année 2016 [ANSM, décembre 2017] .....	33
Figure 7 : Consommation d'antibiotiques en ville en France pour l'année 2016 [ANSM, décembre 2017] .....	33
Figure 8 : Formule développée de la benzylpénicilline sodique [Pharmacopée européenne 9.2, 2017b] .....	38
Figure 9 : Formule développée de l'amoxicilline sodique [Pharmacopée européenne 9.2, 2017a] .....	39
Figure 10 : Formule développée du clavulanate de potassium [Pharmacopée européenne 9.2, 2017h] .....	40
Figure 11 : Formule développée du cefotaxime sodique [Pharmacopée européenne 9.2, 2017d] .....	41
Figure 12 : Formule développée de la ceftriaxone sodique [Pharmacopée européenne 9.2, 2017e] .....	42
Figure 13 : Formule développée de la cefazoline sodique [Pharmacopée européenne 9.2, 2017c] .....	42
Figure 14 : Formule développée du cefuroxime sodique [Pharmacopée européenne 9.2, 2017f] .....	43
Figure 15 : Formule développée de l'ofloxacin [Pharmacopée européenne 9.2, 2017i] .....	44
Figure 16 : Formule développée des énantiomères de l'ofloxacin .....	46
Figure 17 : Formule développée de la ciprofloxacine [Pharmacopée européenne 9.2, 2017g] .....	47
Figure 18 : Chromatogramme de l'amoxicilline sodique 20 mg/mL dans du chlorure de sodium 0,9 % .....	66
Figure 19 : Chromatogramme de l'amoxicilline sodique 2 mg/mL dans du chlorure de sodium 0,9 % + phénol 0,4 % .....	66

Figure 20 : Chromatogramme de l'amoxicilline sodique 20 mg/mL dégradée dans du chlorure de sodium 0,9 %.....	66
Figure 21: Impureté C de l'amoxicilline .....	67
Figure 22 : Impureté D de l'amoxicilline.....	67
Figure 23 : Impuretés J de l'amoxicilline .....	68
Figure 24 : Chromatogramme de l'amoxicilline sodique 200 mg/mL + clavulanate potassique 20 mg/mL dilué au 10 <sup>e</sup> avec la phase mobile.....	71
Figure 25 : Chromatogramme de l'amoxicilline sodique 2 mg/mL +clavulanate potassique 0,2 mg/mL dans du chlorure de sodium 0,9 % + phénol 0,4 %.....	71
Figure 26 : Chromatogramme de l'amoxicilline sodique 100 mg/mL +clavulanate potassique 10 mg/mL dégradés .....	72
Figure 27 : Impuretés A, B et C du clavulanate potassique .....	73
Figure 28 : Chromatogramme du cefotaxime sodique 200 mg/mL dilué au 10 <sup>e</sup> avec la phase mobile .....	77
Figure 29 : Chromatogramme du cefotaxime sodique 0,2 mg/mL dans du chlorure de sodium 0,9 % + phénol 0,4 % .....	77
Figure 30 : Chromatogramme du cefotaxime sodique 200 mg/mL dégradé.....	78
Figure 31 : Impureté B du cefotaxime.....	79
Figure 32 : Impureté D du cefotaxime.....	79
Figure 33 : Impureté F du cefotaxime .....	80
Figure 34 : Chromatogramme de la ceftriaxone sodique 200 mg/mL dilué au 100 <sup>e</sup> avec la phase mobile.....	82
Figure 35 : Chromatogramme de la ceftriaxone sodique 2 mg/mL dans du chlorure de sodium 0,9 % + phénol 0,4 % dilué au 10 <sup>e</sup> avec la phase mobile.....	83
Figure 36 : Chromatogramme de la ceftriaxone sodique 0,02 mg/mL dans du chlorure de sodium 0,9 % sans dilution au 10 <sup>e</sup> avec la phase mobile .....	83
Figure 37 : Chromatogramme de la ceftriaxone sodique 200 mg/mL dégradée dilué au 100 <sup>e</sup> avec la phase mobile.....	84
Figure 38 : Impureté B de la ceftriaxone .....	84
Figure 39 : Impureté C de la ceftriaxone.....	85
Figure 40 : Chromatogramme de la cefazoline sodique 200 mg/mL diluée au 100 <sup>e</sup> dans la phase mobile.....	87
Figure 41 : Chromatogramme de la cefazoline sodique 0,2 mg/mL dans du chlorure de sodium 0,9 % + phénol 0,4 %.....	88
Figure 42 : Chromatogramme de la cefazoline sodique 2 mg/mL dégradée par NaOH .....	88
Figure 43 : Chromatogramme du cefuroxime sodique 250 mg/mL diluée au 100 <sup>e</sup> dans la phase mobile.....	90



Figure 44 : Chromatogramme du cefuroxime sodique 2,5 mg/mL dans du chlorure de sodium 0,9 % + phénol 0,4 % .....	91
Figure 45 : Chromatogramme du cefuroxime sodique 250 mg/mL dégradation forcée à 80°C diluée au 100e dans la phase mobile .....	91
Figure 46 : Impureté A du cefuroxime.....	92
Figure 47 : Chromatogramme de l'ofloxacin 0,005 mg/mL dans du chlorure de sodium 0,9 % + phénol 0,4 % .....	94
Figure 48 : Chromatogramme de l'ofloxacin 5 mg/mL dégradée à température ambiante et à la lumière pendant 7 jours .....	95
Figure 49 : Chromatogramme de la levofloxacin 0,005 mg/mL dans chlorure de sodium 0,9 % + phénol 0,4 % .....	97
Figure 50 : Chromatogramme de la levofloxacin 5 mg/mL dégradée à température ambiante et à la lumière pendant 7 jours .....	98
Figure 51 : Chromatogramme de la ciprofloxacine 0,2 mg/mL dans chlorure de sodium 0,9 % + phénol 0,4 % .....	100
Figure 52 : Chromatogramme de la ciprofloxacine 2 mg/mL dégradée à température ambiante et à la lumière pendant 7 jours.....	101
Figure 53 : Impuretés B et C de la ciprofloxacine .....	102

## *Liste des tableaux*

Tableau I : Répartition par familles chimiques des IDR fabriqués de janvier à septembre 2014 au CHRU de Brabois de Nancy (CHUM, 2015) .....	36
Tableau II : Répartition par familles chimiques des IDR fabriqués en 2017 au CHR de Mercy à Metz .....	36
Tableau III : Nombre de séries d'IDR d'anti-infectieux de janvier à septembre 2014 au CHRU de Brabois à Nancy (CHUM, 2015) .....	37
Tableau IV : Nombre de séries d'IDR d'anti-infectieux en 2017 au CHR de Mercy à Metz.....	37
Tableau V : Teneurs maximales du total d'impuretés autorisées par la Pharmacopée européenne par molécule.....	53
Tableau VI : Dates de réalisation des analyses en CLHP.....	59
Tableau VII : Détails des dilutions réalisées pour l'étude de stabilité en NaCl 0,9 % et NaCl 0,9 % + phénol 0,4 % .....	61
Tableau VIII : Résultats du test de linéarité pour la benzylpénicilline sodique.....	63
Tableau IX : Légende pour les tableaux de stabilités.....	63
Tableau X : Stabilité de la benzylpénicilline sodique à différentes concentrations et dans différents solvants (n=3) .....	64
Tableau XI : Résultats du test de linéarité pour l'amoxicilline sodique .....	68
Tableau XII : Stabilité de l'amoxicilline sodique à différentes concentrations et dans différents solvants.....	69
Tableau XIII : Résultats du test de linéarité pour le clavulanate potassique.....	73
Tableau XIV : Stabilité du clavulanate potassique à différentes concentrations et dans différents solvants en présence d'amoxicilline sodique.....	74
Tableau XV : Stabilité de l'amoxicilline sodique à différentes concentrations et dans différents solvants en présence de clavulanate potassique.....	76
Tableau XVI : Résultats du test de linéarité pour le cefotaxime sodique.....	80
Tableau XVII : Stabilité du cefotaxime sodique à différentes concentrations et dans différents solvants.....	81
Tableau XVIII : Résultats du test de linéarité pour la ceftriaxone sodique.....	85
Tableau XIX : Stabilité de la ceftriaxone sodique à différentes concentrations et dans différents solvants .....	86
Tableau XX : Résultats du test de linéarité pour la cefazoline sodique .....	89
Tableau XXI : Stabilité de la cefazoline sodique à différentes concentrations.....	89
Tableau XXII : Résultats du test de linéarité pour le cefuroxime sodique.....	92
Tableau XXIII : Stabilité du cefuroxime sodique à différentes concentrations et dans différents solvants .....	93

Tableau XXIV : Résultats du test de linéarité pour l'ofloxacin	95
Tableau XXV : Stabilité de l'ofloxacin à différentes concentrations et dans différents solvants	96
Tableau XXVI : Résultats du test de linéarité pour la levofloxacin	98
Tableau XXVII : Stabilité de la levofloxacin à différentes concentrations et dans différents solvants	99
Tableau XXVIII : Résultats du test de linéarité pour la ciprofloxacine	102
Tableau XXIX : Stabilité de la ciprofloxacine à différentes concentrations et dans différents solvants	103
Tableau XXX : Récapitulatif de la stabilité des différentes solutions	105

## *Abréviations*

AINS : Anti-Inflammatoire Non Stéroïdien

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

BPP : Bonnes Pratiques de Préparation

CHR : Centre Hospitalier Régional

CHRU : Centre Hospitalier Régional Universitaire

CLHP : Chromatographie Liquide Haute Performance

DAHD : Drug Allergy and Hypersensitivity Database

DDD : Defined Daily Doses

DRESS syndrome : Drug Reaction with Eosinophilia and Systemic Symptoms

EAACI : European Academy of Allergy and Clinical Immunology

EC : European Commission

ECDC : European Centre for Disease Prevention and Control

ENDA : European Network on Drug Allergy

EPPI : Eau Pour Préparation Injectable

ICH : International Conference on Harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use

IDR : IntraDermoRéaction

InVS : Institut de Veille Sanitaire

LOQ : Limit Of Quantification

MW : Molecular Weight

ND : Non Déterminé

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

RCP : Résumé des Caractéristiques du Produit

UV : Ultra-Violet

ZAC : Zone à Atmosphère Contrôlée

## I. Introduction

Le terme allergie a été proposé pour la 1<sup>ère</sup> fois en 1906 par un chercheur et pédiatre autrichien, Clemens von Pirquet, pour décrire des variations de réactivité de l'organisme vis-à-vis d'agents extérieurs. [HUBER, 2006]

En France, la prévalence des allergies a grandement augmenté au cours des dernières décennies. On estime qu'environ 25 % de la population est touchée par une maladie allergique. [INSERM, 2016]

Elles peuvent être déclenchées par des produits présents dans l'air (pollens, poils, poussières,...), des aliments (œufs, arachides, fruits de mer,...), des venins (abeilles, guêpes,...), par exposition à certaines substances (métaux, latex,...), mais également par l'administration de médicaments.

Les antibiotiques sont parmi les médicaments les plus fréquemment impliqués dans les phénomènes allergiques. [DEMOLY, 2007] [MACY, ROMANO et KHAN, 2017] Après un phénomène présumé allergique lors d'un traitement, une éviction de la molécule présumée responsable est réalisée, parfois de la propre initiative du patient. Cependant tous les symptômes survenant durant un traitement ne sont pas des allergies. Il peut s'agir d'effets secondaires n'impliquant pas la réaction immunitaire, d'une infection associée, d'interactions avec un autre traitement,... [ATANASKOVIC-MARKOVIC, GAETA, MEDJO *et al.*, 2016] [DEMOLY, 2007] [PICHLER, BEELER, KELLER *et al.*, 2006] Il est parfois difficile de faire la part des choses, ce qui engendre une surestimation du nombre de véritables allergies. [COMTE, PETITPIERRE, SPERTINI *et al.*, 2012] [ESPOSITO, CASTELLAZZI, TAGLIABUE *et al.*, 2016]

Pour ces patients présumés allergiques à tort, la non utilisation de certaines molécules, voire famille de molécules, a un impact sur leur prise en charge, notamment à l'hôpital. En effet on exclut alors de manière inutile de nombreuses options thérapeutiques. Dans l'exemple des antibiotiques, en utilisant le traitement qui n'est pas toujours le plus adapté, par son spectre trop large et sa diffusion trop étendue, l'écologie bactérienne est altérée, ce qui favorise l'apparition de résistances et épuise l'arsenal thérapeutique. De manière globale il en découle une perte de chances pour les patients et un surcoût pour la société.

D'où l'intérêt de poser un diagnostic, en réalisant notamment des tests cutanés, Prick test, intradermoréactions ou patch tests, pour déterminer si les patients sont effectivement allergiques à la molécule concernée et aux autres de la même famille. Les solutions utilisées

pour les intradermoréactions sont extrêmement diluées et il n'existe pas ou peu de données sur leur stabilité, ce qui implique une préparation extemporanée, couteuse et chronophage.

Le but de ce travail est d'étudier la stabilité de solutions diluées d'antibiotiques utilisées pour les intradermoréactions, pour déterminer si elles peuvent être utilisées plusieurs jours après préparation. Nous commencerons par définir ce qu'est l'allergie et plus particulièrement l'allergie médicamenteuse et son diagnostic. Nous discuterons ensuite des allergies aux anti-infectieux, de leur surestimation et de l'intérêt des tests cutanés dans le diagnostic d'allergie. Puis nous présenterons l'intérêt et les conditions de réalisation de l'étude de stabilité et les résultats obtenus.

## II. Généralités sur l'allergie

L'hypersensibilité est définie comme causant « des symptômes ou signes objectivement reproductibles, induits par l'exposition à un stimulus défini à des doses tolérées par des sujets normaux ». [JOHANSSON, HOURIHANE, BOUSQUET *et al.*, 2001]

Cette réaction peut être médiée par le système immunitaire, via l'immunité humorale (IgE, IgG, IgA) ou l'immunité cellulaire (éosinophiles, cellules T) [STETSON et SIEGEL, 2007], on parle alors d'hypersensibilité allergique ou d'allergie. (Figure 1) Il s'agit d'une exagération pathologique de la réponse immunitaire initiée par un antigène que l'on nomme alors allergène.

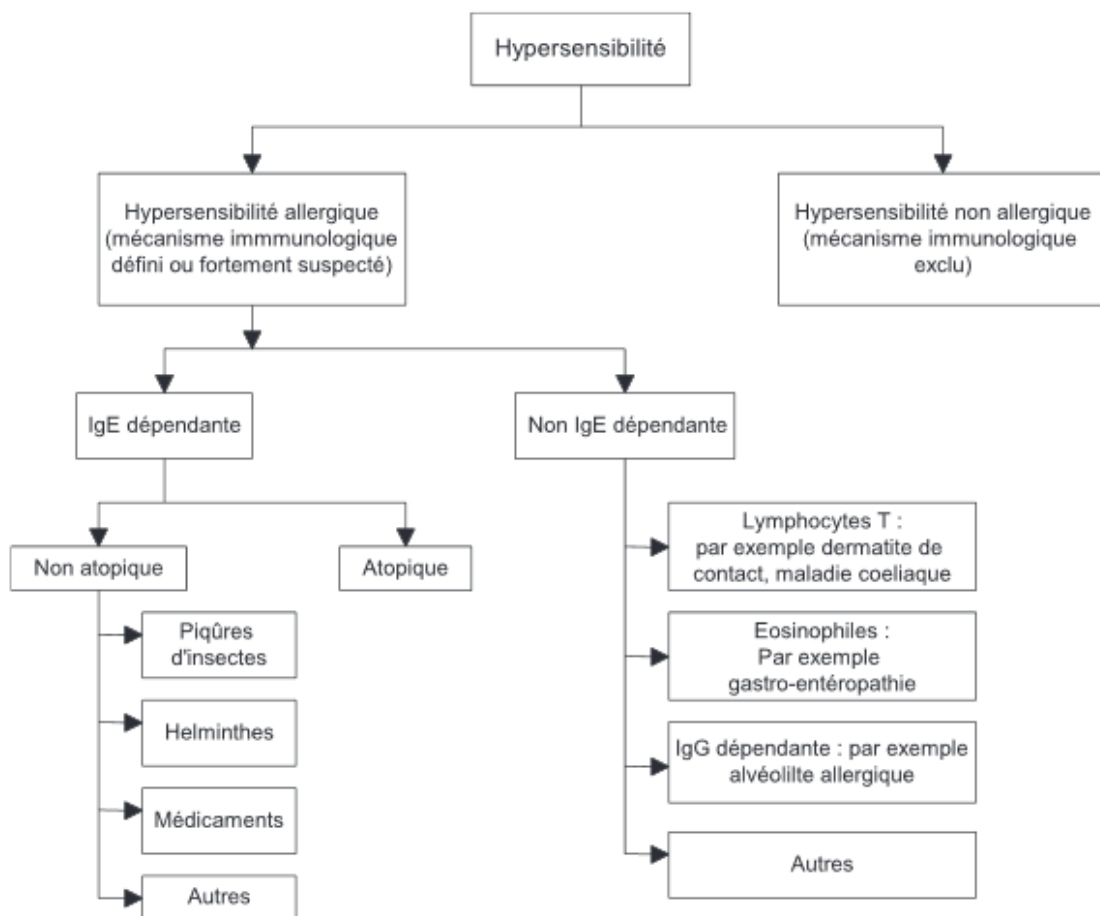


Figure 1 : Classification de l'hypersensibilité par Johansson *et al.* 2001

Les allergies sont multiples en termes d'allergènes, de mécanismes immunologiques impliqués et de symptômes.

### *Les voies d'entrées*

- Respiratoire, avec des allergènes en suspension dans l'air : pollens de graminées, de cyprès, poils d'animaux, excréments d'acariens, moisissures (*Aspergillus*, *Alternaria*)
- Orale : des aliments, par exemple les œufs, les arachides, les fruits de mer, également des médicaments
- Cutanée, par simple contact : latex, nickel, mais aussi les animaux et certains médicaments (antiseptiques, Anti-Inflammatoires Non Stéroïdiens ou AINS)
- Transcutanée : des venins suite à une pique d'abeilles ou de guêpes, une injection d'un médicament. [INSERM, 2016] [AVENEL-AUDRAN, 2014] [BARBAUD, VIGAN, DELROUS *et al.*, 2005]

### *Les mécanismes impliqués*

Les mécanismes impliqués dans les allergies sont nombreux et complexes. Selon le type d'effecteur de l'immunité en cause, la réaction peut être immédiate (quelques minutes à moins d'une heure) ou retardée (quelques heures à plusieurs semaines après exposition).

Tous les types d'hypersensibilité de la classification de Gell & Coombs peuvent être concernés (Figure 2) mais parmi les plus connus et les plus graves on retrouve le choc anaphylactique, dont la réponse immunitaire est immédiate et médiée par les IgE.



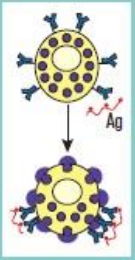
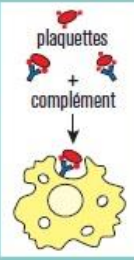
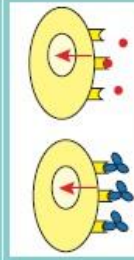

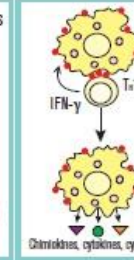
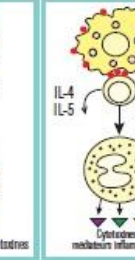
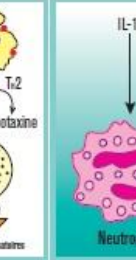

TYPE I	TYPE II		TYPE III	TYPE IV			
IgE	IgG		IgG	CD4 Th1	CD4 Th2	CD4 Th17	CD8 cytotoxique
Ag solubles	Ag cellulaires ou matriciels	Récepteurs cellulaires	Ag solubles	Ag solubles	Ag solubles		Ag cellulaires
Mastocyte	Complément, phagocytes, NK	Ac altérant la signalisation	Complément, phagocytes	Macrophages	Éosinophiles	Neutrophiles	Cytotoxicité
							
EXEMPLES DE MALADIES							
Rhinite, asthme, anaphylaxie	Réaction transfusionnelle, anémie hémolytique	Thyroidite, myasthénie	Lupus érythémateux, maladie sérique	Rejet de greffes, arthrite, diabète, psoriasis (intradermoréaction à la tuberculine)	Asthme chronique, rhinite chronique, eczéma atopique	Psoriasis, polyarthrite, sclérose en plaques, maladie de Crohn	Rejet de greffes, diabète de type I, eczéma de contact, vitiligo, pelade
ALLERGIES AUX MÉDICAMENTS							
Choc anaphylactique	Cytopénie médicamenteuse		Vascularite immuno-allergique, pseudo-maladie sérique	Exanthème, DRESS	DRESS	Pustulose exanthématique	Nécrolyse épidermique, Syndrome de Lyell/syndrome de Stevens-Johnson

Figure 2 : Classification des maladies allergiques et allergies médicamenteuses selon Gell & Coombs [NICOLAS, 2015]

### Les symptômes allergiques

Ils sont de localisation et de sévérité variables :

- Cutanés : urticaire, eczéma, toxidermies (Drug Reaction with Eosinophilia and Systemic Symptoms ou DRESS syndrome, syndrome de Lyell), œdème de Quincke (± dangereux selon la localisation) [ROUJEAU, 2007] [TEHRANY, LAFFITE et GROSGURIN, 2016]
- Respiratoires : toux, éternuements, rhinite allergique, asthme, pneumopathie interstitielle
- Oculaire : démangeaisons, larmoiement, conjonctivite
- Troubles digestifs : nausées, vomissements, diarrhées
- Troubles hématologiques : thrombopénie, anémie, agranulocytose
- Atteintes d'organes : glomérulonéphrite, néphrite interstitielle, cytolysé hépatique
- Troubles généralisés : choc anaphylactique de grade I à IV (classification de Ring et Messmer 1977)

## A. Allergie médicamenteuse

Un effet indésirable est une « réaction nocive et non voulue à un médicament, se produisant aux posologies normalement utilisées chez l'homme pour la prophylaxie, le diagnostic ou le traitement d'une maladie ou pour la restauration, la correction ou la modification d'une fonction physiologique, ou résultant d'un mésusage du médicament ou produit. » [Legifrance, 2005]

Un effet indésirable peut donc se produire dans les conditions normales d'utilisation ou résulter

- D'un mésusage
- D'un usage abusif
- D'un syndrome de sevrage
- De pharmacodépendance
- D'une erreur médicamenteuse
- D'une inefficacité thérapeutique
- D'effets sur le produit de conception
- D'un produit défectueux ou de mauvaise qualité. [OMS, 2000] [ANSM, 2018]

Ils sont classés selon leur fréquence, leur nature, leur mécanisme de survenue, leur prévisibilité et leur gravité.

On distingue notamment les types :

- A : prévisibles, liés aux propriétés pharmacologiques de la molécule, généralement connu lors de la mise sur le marché, peut être lié à une interaction médicamenteuse.
- B : imprévisibles ou idiosyncrasiques, non dose-dépendant, dont le mécanisme peut être allergique.
- C : surviennent après la prise chronique d'un médicament. Difficiles à établir puisque le traitement est en place depuis longtemps, le mécanisme est souvent indéterminé.

Des études ont montré que 10 à 20% des patients hospitalisés présentent des effets indésirables médicamenteux durant leur séjour. [DEMOLY, MESAAD, BENAHMED *et al.*, 2000] [IMBS, POUYANNE, HARAMBURU *et al.*, 1999] [LAZAROU, POMERANZ et COREY, 1999] Parmi ceux-ci environ 30% sont d'origine allergique. Les allergies médicamenteuses concernent 10 à 15% des patients hospitalisés (4% dans la population générale) et représentent 2 à 4 % des motifs d'admission. Il s'agit donc d'une part non négligeable de l'iatrogénie médicamenteuse, provoquant ou allongeant des hospitalisations, induisant

surmorbidity et surmortalité. [ASFARI, BOUSQUET, TROMPERT PAVIOT *et al.*, 2014] [DEMOLY *et* BOUSQUET, 2001] [DEMOLY, HILAIRE-BUYS, RAISON-PEYRON *et al.*, 2003] [GOMES, CARDOSO, PRACA *et al.*, 2004] [LAZAROU, POMERANZ *et* COREY, 1999] [MERTES, GUEANT *et* DEMOLY, 2007]

Ces chiffres sont des estimations, en effet les effets indésirables sont vraisemblablement sous déclarés. D'après l'OMS à peine 10% sont signalés même dans les centres bien établis. Les événements non graves sont également plus susceptibles de ne pas être déclarés. [HAZELL *et* SHAKIR, 2006] [MORIDE, HARAMBURU, REQUEJO *et al.*, 2003] [OMS, 2000]

## **B. Le principe de précaution**

Le principe de précaution apparaît dans le traité de Maastricht de 1992 et la loi Barnier de 1995 pour la protection de l'environnement. Il y est écrit que « l'absence de certitudes ne doit pas retarder l'adoption de mesures effectives et proportionnées visant à prévenir un risque de dommages graves et irréversibles ». Lors d'un Conseil d'Etat de 1998, ce principe est également défini comme « l'obligation pesant sur le décideur [...] de s'astreindre à une action ou de s'y refuser en fonction du risque possible ». [DAVID, NICOLAS *et* SUREAU, 2001] Il s'agit ici d'anticiper un risque même s'il n'est pas clairement défini et de prendre les mesures nécessaires afin d'éviter un dommage.

Aussi lorsqu'un patient rapporte une allergie à un médicament, même en l'absence de certitude, il est préférable d'envisager une alternative si elle existe.

L'anamnèse est utile : la date de l'évènement, le type de réaction, le détail des symptômes, la réintroduction potentielle de la substance suspectée,... mais il est fréquent que l'évènement soit ancien ou que sa description soit vague. Si le patient a repris sans le savoir et sans réaction la même molécule après sa présumée réaction allergique, ce traitement pourra être à nouveau utilisé chez lui, dans le cas contraire la prudence est de mise et une consultation allergologique aidera à poser un diagnostic de certitude.

### C. Les réactions croisées

Dans le cas, par exemple d'une réaction cutanée suite à l'amoxicilline, il peut s'agir d'un effet indésirable bénin ou d'une réaction allergique. En l'absence de certitude, il vaudra mieux s'orienter vers une alternative à l'amoxicilline. Bien souvent il s'agit des céphalosporines, qui font partie de la même famille antibiotique que l'amoxicilline, celle des  $\beta$ -lactamines. Comme leur nom l'indique elles contiennent un noyau  $\beta$ -lactame dans leur structure moléculaire. Cette proximité structurelle est une cause de réactions croisées potentielles entre les différentes molécules, à quoi s'ajoutent parfois des similarités entre les chaînes latérales des différents antibiotiques. [BHATTACHARYYA, 2010] Cette réactivité croisée est estimée selon les études entre 3% et 10 % des cas. [APTER, KINMAN, BILKER *et al.* 2006] [GRUCHALLA, 2006] [KELKAR, 2001] [PARADIS, THIRION et BERGERON, 2009] Dans le cas d'une réaction peu sévère à l'amoxicilline, il peut être envisageable d'utiliser une céphalosporine mais dans le cas d'une réaction sévère (choc anaphylactique, syndrome de Lyell, bronchospasme,...) leur utilisation serait contre indiquée en attendant le résultat de tests afin de ne pas mettre en péril la santé du patient.

### D. Surestimation des allergies médicamenteuses

Si les effets indésirables médicamenteux sont sous déclarés, ils sont également parfois mal interprétés. Une éruption maculo-papuleuse, une urticaire, une diarrhée se produisant peu après l'instauration d'un traitement peuvent être considérées à tort par le patient comme une réaction allergique. Il peut s'agir d'un effet indésirable du traitement ou d'une réaction liée à une pathologie sous-jacente, notamment virale. C'est pourquoi les allergies aux antibiotiques sont souvent surestimées, puisque déclarées par le patient à son admission dans un service et rarement étayées par un dossier allergologique. Plusieurs sources de la littérature estiment que seulement 1/10<sup>ème</sup> des patients se déclarant allergiques le sont vraiment. [ITEN, PLOJOUX et TARMARCAZ, 2007] [ARANASKOVIC-MARKOVIC, GAETA, MEDJO *et al.*, 2016] [COUSIN, CATELAIN, PHILIPS *et al.*, 2003] [ESPOSITO, CASTELLAZZI, TAGLIABUE *et al.*, 2016]

Par exemple peuvent apparaître :

- Des diarrhées lors d'un traitement par amoxicilline + acide clavulanique notamment, à cause d'un déséquilibre de la flore intestinale.
- Une éruption cutanée lors d'un traitement par amoxicilline lors d'une infection par le virus d'Epstein Barr. [HAMZAOUJ, 2006]
- Une réaction générale semblable à un choc anaphylactique appelée syndrome de Hoigné mais n'impliquant pas de mécanisme immunitaire et n'interdisant pas la réintroduction de l'antibiotique concerné. [LANDAIS, MARTY, BESSIS *et al.*, 2014] Elle peut se manifester lors d'une injection trop rapide de pénicilline procaïne ou de ceftriaxone.
- Une réaction de type fièvre, malaise et lésions cutanées lors du traitement par antibiotique de la syphilis ; les tréponèmes tués libérant des toxines qui provoquent ces symptômes. [MEISLIN et BREMER, 1976]

Lors d'une étude concernant 1800 personnes ayant présenté une présumée allergie médicamenteuse, seulement 15% se révélèrent positifs aux tests diagnostiques, les autres réactions n'étant pas issues d'un mécanisme allergique. [BOUSQUET et DEMOLY, 2006]

De ces différentes incertitudes découle la nécessité d'un diagnostic étayé par un questionnaire précis et des tests, afin de pouvoir écarter ou non la/les molécule(s) incriminée(s), il s'agit du rôle de l'allergologue.

Des procédures et des recommandations quant à la marche à suivre existent, publiées par des sociétés savantes telles que l'European Network on Drug Allergy (ENDA) et l'European Academy of Allergy and Clinical Immunology (EAACI). Elles définissent la place de l'interrogatoire et des différents tests à réaliser. (Figure 3)

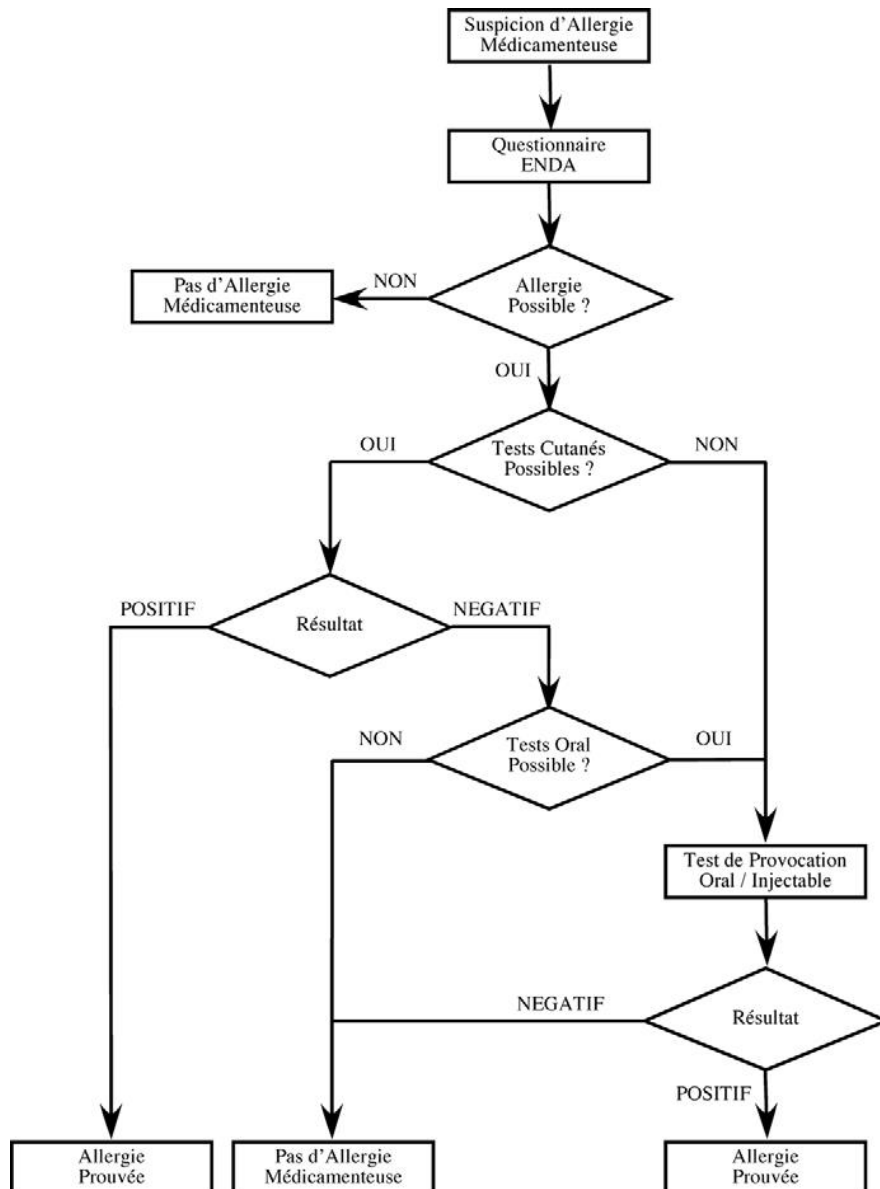


Figure 3 : Arbre diagnostique de l'allergie médicamenteuse [BOUSQUET et DEMOLY, 2006]

Lors d'une suspicion de phénomène allergique un interrogatoire détaillé est réalisé avec le patient grâce à un questionnaire standardisé existant en plusieurs langues. (Annexe 1)

Si le questionnaire est une étape importante pour écarter un diagnostic d'allergie, il n'est pas suffisant pour le confirmer, des tests sont nécessaires. Il peut s'agir de tests sur des échantillons de sang tel que le dosage des IgE sériques, le test d'activation des basophiles ou la sensibilisation lymphocytaire. Cependant la première méthode nécessite que les antigènes soient disponibles et les 2 autres sont peu spécifiques.

Les tests cutanés à lecture immédiate, les prick-tests et les intradermoréactions dont la lecture se fait 15 à 30 minutes après exposition, sont assez fiables et relativement peu

risqués. Ils occupent une place importante dans le diagnostic. [BROCKOW, ROMANO, BLANCA *et al.*, 2002]

En pratique, les patients sont mis en contact avec des concentrations faibles en médicaments, soit en déposant une goutte sur le bras puis en lésant la peau avec une aiguille, il s'agit d'un prick-test, soit en injectant quelques dizaines (20-50) de microlitres sous la peau, on parle alors d'intradermoréaction. [BROCKOW, ROMANO, BLANCA *et al.*, 2002] Les concentrations testées sont de plus en plus élevées jusqu'à ce que l'on obtienne un résultat positif ou jusqu'à atteindre une concentration irritante en antibiotique. Un résultat est jugé positif en cas d'apparition d'un érythème et de l'augmentation de la taille de la papule initiale de plus de 3 mm. L'utilisation de concentrations trop importantes en médicament peut être irritante et considérée à tort comme une réaction positive. Plusieurs études ont été réalisées et ont permis de déterminer des concentrations maximales non irritantes pour différentes molécules. [BROZ, HARR, HECKING *et al.*, 2012] [BROCKOW, GARVEY, ABERER *et al.*, 2013] [KUYUCU, MORI, ATANASKOVIC-MARKOVIC *et al.*, 2014] [GUILLOT, NOSBAUM, COUSIN *et al.*, 2005] [BARBAUD *et al.*, 2016]

Les réactions pouvant survenir durant ces tests sont généralement bénignes, éruptions locales, démangeaisons, mais dans de très rares cas il peut s'agir de réactions cutanées généralisées voire de chocs anaphylactiques. En conséquence il est nécessaire de prendre des précautions en termes de matériel disponible et de formation du personnel, pour reconnaître et prendre en charge rapidement les cas de réaction grave. [CO MINH *et al.*, 2005] [BLANCA, ROMANO, TORRES *et al.*, 2008]

Si la valeur prédictive positive des IDR (la probabilité d'être réellement allergique si le test est positif) est excellente (98 %) sa valeur prédictive négative est de seulement 57 % d'après une étude de *Torres et al.* [TORRES, ROMANO, MAYORGA *et al.*, 2001] Cela s'explique par une baisse de l'immunité dirigée contre l'allergène après plusieurs années sans exposition à celui-ci. Aussi un test cutané est à réaliser idéalement dans les 6 semaines à 6 mois après le phénomène présumé allergique, pour limiter au maximum les faux négatifs. [BARBAUD, GONCALO, BRUYNZEEL *et al.*, 2001] Un traitement anti-histaminique ou anti-inflammatoire peut également être source de faux positif, ils doivent être arrêtés dans la mesure du possible plusieurs jours avant le test.

La méthode la plus fiable mais la plus risquée est le test de provocation. Il s'agit de la réintroduction du produit ayant causé les symptômes, à des concentrations ou doses curatives. Cependant elle nécessite des précautions particulières, avec une surveillance par un personnel formé à intervenir en cas de besoin, et peut être contre indiquée si la réaction initiale était trop violente (choc anaphylactique, syndrome de Lyell). [BOUSQUET *et al.*, 2001]

DEMOLY, 2006] [BROCKOW, GARVEY, ABERER *et al.*, 2013] [DEMOLY, PIETTE et MESSAD, 2002]

Le rôle de ces examens est de poser un diagnostic de certitude, de ne plus utiliser chez le patient les molécules auxquelles il est allergique et de proposer des alternatives en déterminant celles auxquelles il n'y est pas.

Les résultats peuvent montrer une absence d'allergie et autoriser la réintroduction des molécules initialement suspectées. Il s'agit de pouvoir continuer à utiliser le traitement le plus approprié à la situation clinique du patient.



### III. L'allergie aux antibiotiques

Dans ce travail nous nous intéressons aux antibiotiques. En effet la classe des anti-infectieux est responsable d'une grande proportion des allergies médicamenteuses, environ 50 %, [HAMZAOUI, 2006] suivi par les produits de contraste et les curares. [DEMOLY, 2007]

Parmi les molécules les plus prescrites en Europe se trouvent les pénicillines (Figures 4 et 5). En France elle regroupe en ville et à l'hôpital plus de 50 % des prescriptions d'antibiotiques. (Figures 6 et 7) [ECDC, 2017] [ANSM, 2017]

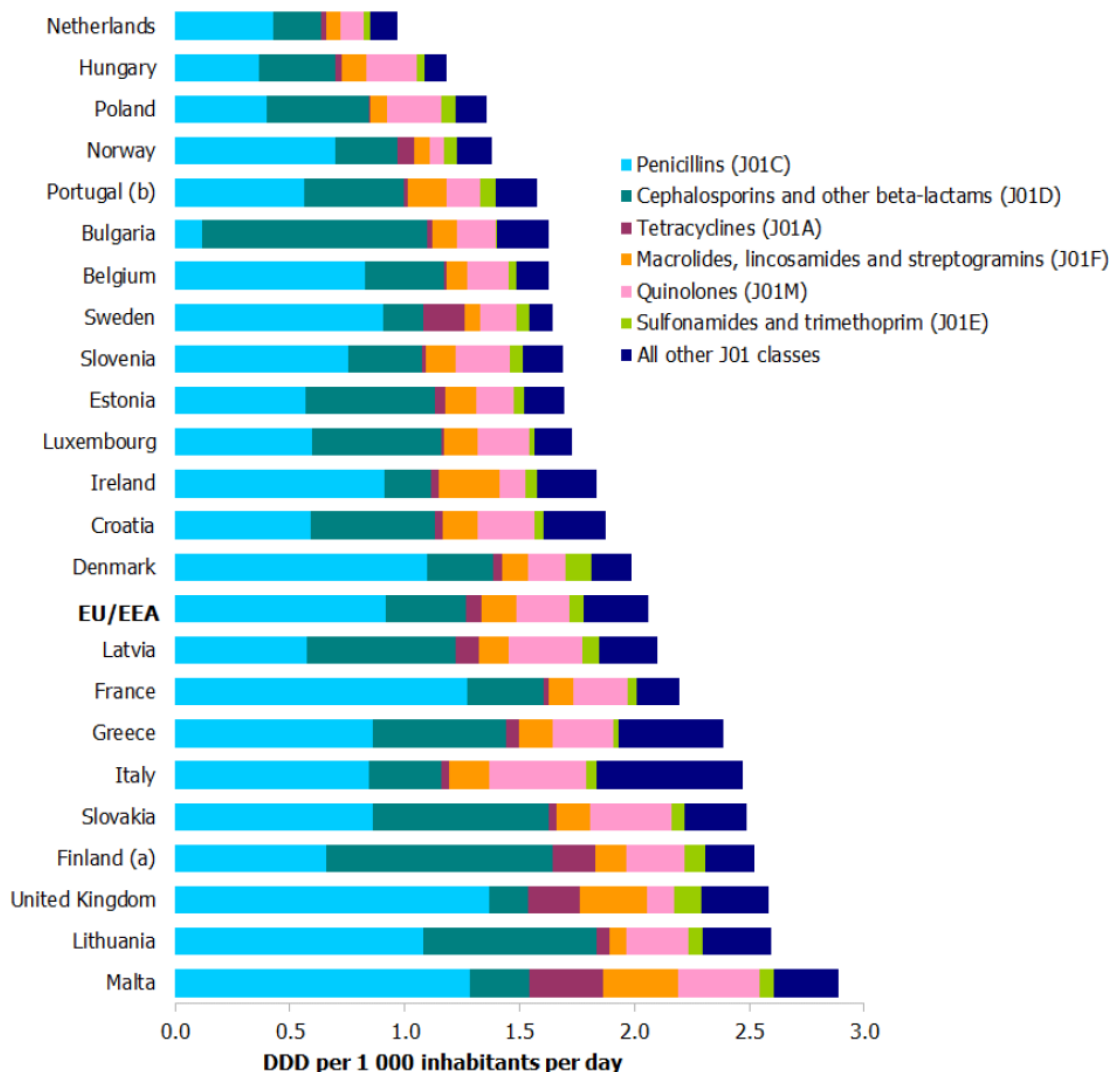


Figure 4 : Consommation d'antibiotiques en milieu hospitalier en Europe pour l'année 2016 [ECDC, 2017]

DDD signifie Defined Daily Doses. Il s'agit de la dose d'entretien moyenne quotidienne d'un traitement pour un patient adulte dans une indication donnée. Par exemple la DDD pour le cefotaxime est de 4 g par jour, celle pour la céftriaxone est de 2 g par jour. [OMS, 2017]

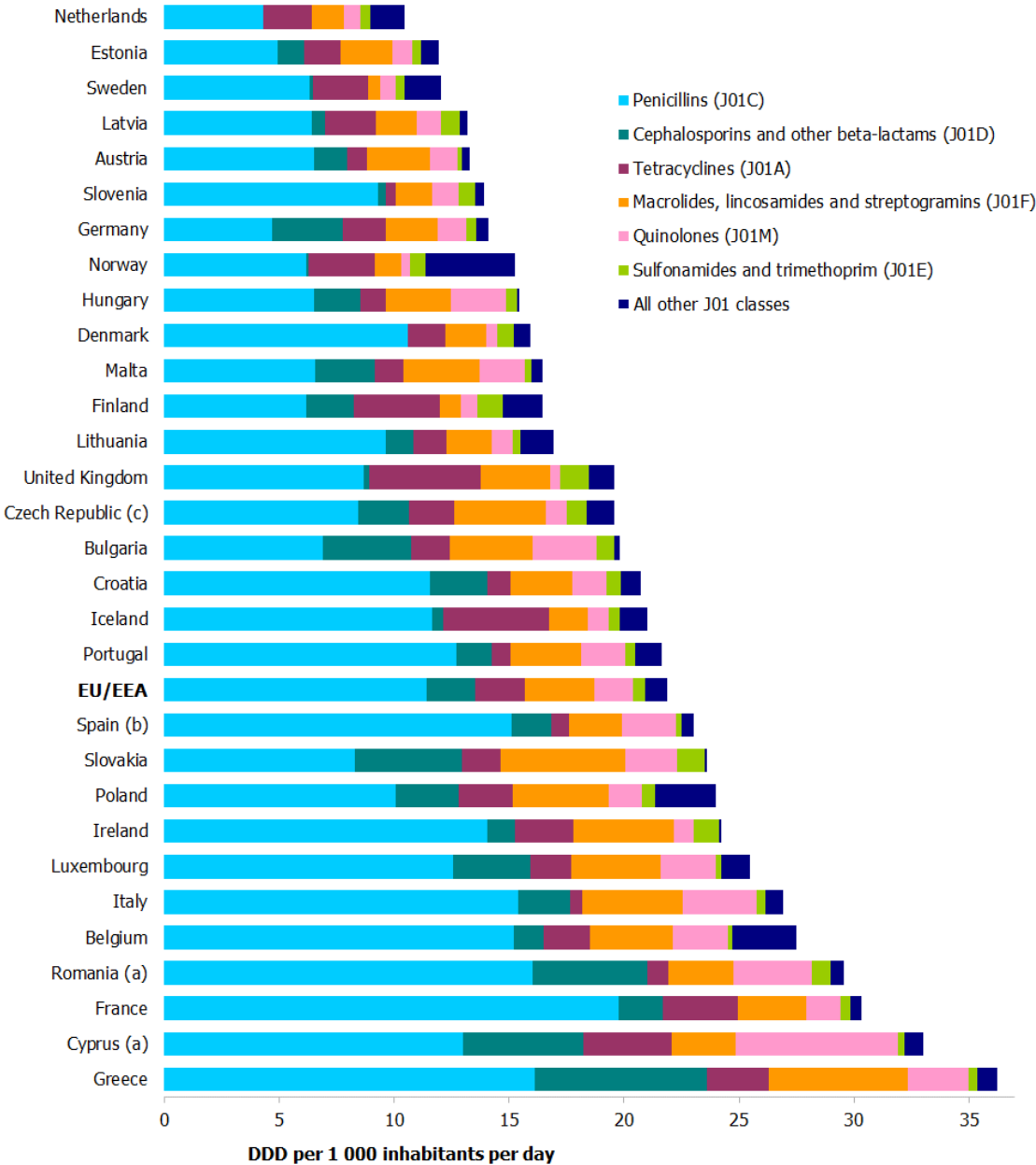


Figure 5 : Consommation d'antibiotiques en ville en Europe pour l'année 2016 [ECDC, 2017]

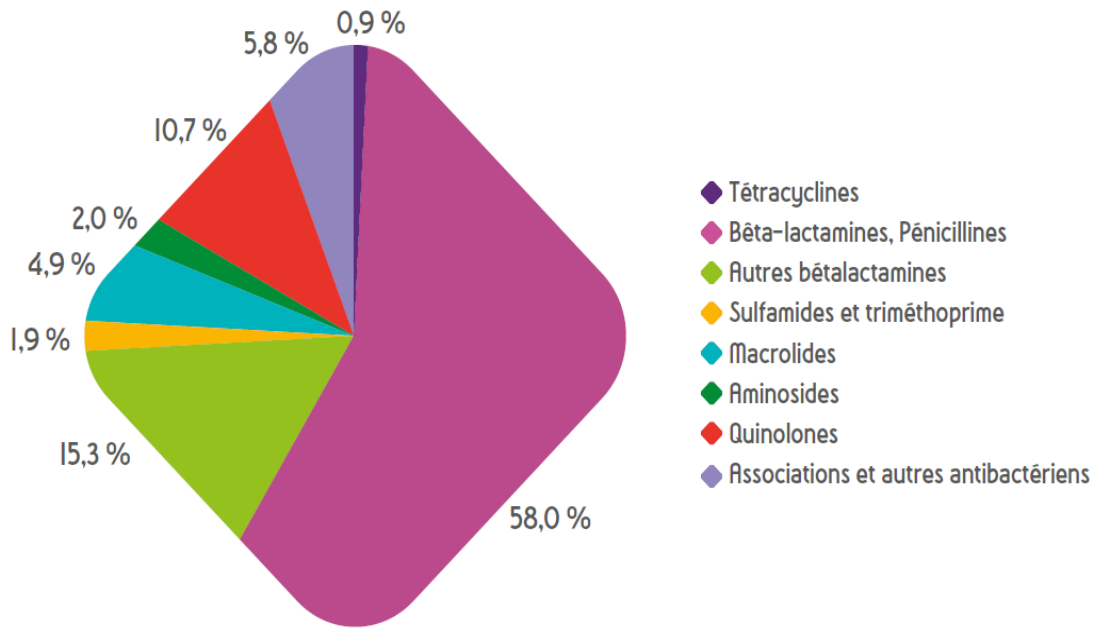


Figure 6 : Consommation d'antibiotiques en milieu hospitalier en France pour l'année 2016 [ANSM, décembre 2017]

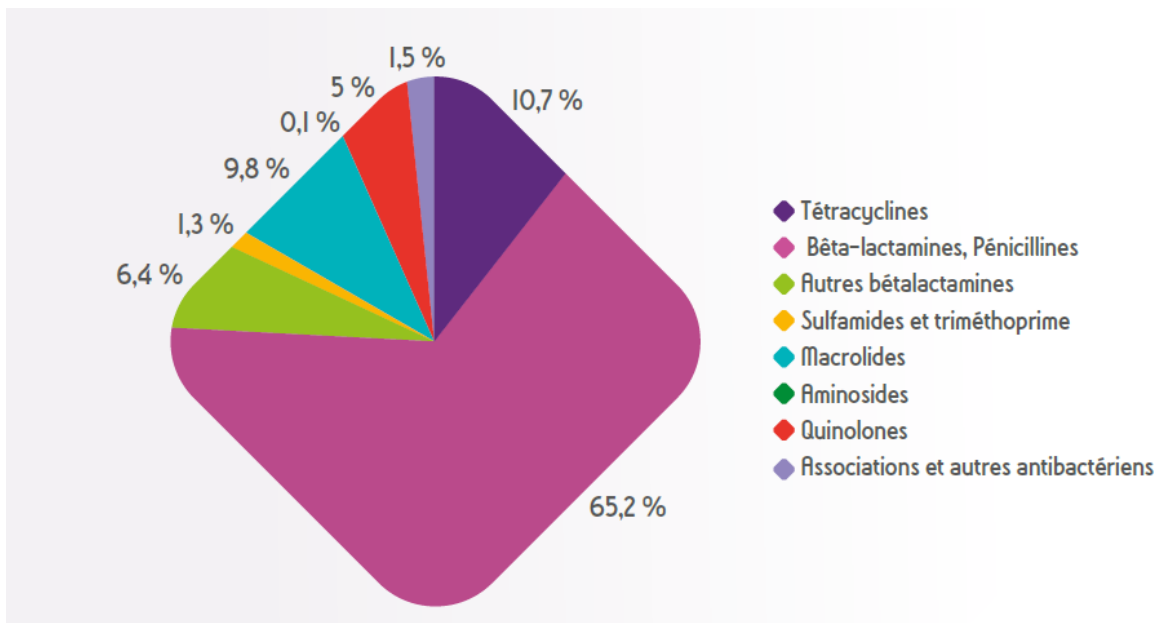


Figure 7 : Consommation d'antibiotiques en ville en France pour l'année 2016 [ANSM, décembre 2017]

Une étude américaine réalisée en 2009 [MACY, ROMANO et KHAN, 2017], recensait les antibiotiques auxquels les patients se déclaraient le plus fréquemment allergiques :

- Pénicillines (7,9%)
- Sulfamides (4,3 %)
- Macrolides (1,2 %)
- Céphalosporines (1,1 %)
- Tétracyclines (0,7 %)
- Quinolones (0,5 %).

Les pénicillines sont là aussi les molécules les plus représentées. Les sulfamides sont seconds dans ce classement mais sont assez peu prescrits, en ville comme à l'hôpital.

Les macrolides et les tétracyclines sont surtout prescrits en ville, à l'inverse des céphalosporines et des quinolones qui sont surtout prescrites à l'hôpital.

Des études ont montré que les allergies déclarées par les patients étaient bien souvent non fondées, sur-diagnostiquées par crainte du médecin traitant ou directement par le patient ou un de ses proches. Dans une étude américaine de 2002 [MACY, BURCHETTE, 2002] sur six ans seulement 10 % des 1081 patients ayant des antécédents de réaction aux pénicillines avaient été diagnostiqués comme réellement allergiques. Une autre étude, dont les résultats sont issus de la base de données DAHD (Drug Allergy and Hypersensitivity Database), mentionnait en 2006 des résultats semblables pour les réactions de type urticaire sous traitement anti-infectieux : seuls 15 % des patients présentaient une allergie. [BOUSQUET et DEMOLY, 2006]

Cette surestimation du nombre d'allergies pose plusieurs problèmes.

Tout d'abord il en résulte une perte de chance pour le patient : le prescripteur est obligé de trouver une alternative au traitement recommandé, reconnu pour son efficacité dans le contexte clinique. Il peut être amené à prescrire une molécule

- moins adaptée, avec une moindre diffusion vers le site infectieux ou vis-à-vis de laquelle le germe est moins sensible,
- potentiellement plus toxique, ou nécessitant une surveillance particulière (vancomycine avec dosages et néphrotoxicité, fluoroquinolones avec risques de tendinopathies et effets neuropsychiques chez le sujet âgé)

- plus couteuse
- avec un spectre d'action plus large
  - o déséquilibrant la flore bactérienne du patient (diarrhée ± colite pseudo membraneuses)
  - o favorisant l'apparition de résistances

La résistance des bactéries aux antibiotiques est un problème de santé publique préoccupant, de nombreuses campagnes de prévention et de sensibilisation ont été menées à ce sujet. On retiendra la fameuse phrase « les antibiotiques, c'est pas automatique » ou le fait que l'OMS avait déclaré la semaine du 13 au 19 novembre 2017 « Semaine mondiale pour un bon usage des antibiotiques ». Les professionnels de santé sont régulièrement sensibilisés et confrontés à ce problème [InVS, 2017]. Un état des lieux de la commission européenne [EC, 2017] mentionne le coût de ces résistances : 25 000 morts et 1,5 milliard d'euro par an.

Enfin certaines études ont également estimé le surcout lié à l'utilisation d'une alternative thérapeutique dans le cadre de l'allergie. Dans une étude britannique de 2013 [SATTA, HILL, LANZMANN *et al.*, 2013], une centaine de patients devaient recevoir un traitement anti-infectieux adapté à leur pathologie mais en écart avec la première ligne de traitement des recommandations de l'établissement, à cause de leur allergie. Il en a résulté un surcout de 80 % par rapport à la prise en charge habituelle. Une étude israélienne de 2003 [SADE, HOLTZER, LEVO *et al.*, 2003] avait mis en évidence des résultats semblables, avec un surcout d'environ 50 %. Dans une analyse canadienne de 2013 [PICARD, BEGIN, BOUCHARD *et al.*, 2013] le surcout mis en évidence était de 70 %.

## A. Contexte

Dans les hôpitaux de Brabois au CHRU de Nancy et de Mercy au CHR Metz Thionville, les différentes solutions diluées pour intradermoréactions sont préparées par la Pharmacie à Usage Intérieur (PUI). Il s'agit de préparations stériles destinées à être injectées à un patient et sont donc réalisées dans le cadre des Bonnes Pratiques de Préparation (BPP) publiées au Journal Officiel du 21 novembre 2007.

Les solutions sont réalisées à partir de spécialités pharmaceutiques stériles, avec du matériel stérile, dans une atmosphère contrôlée répondant aux normes de la classe A des

Zones à Atmosphère Contrôlée (ZAC). La stérilité est maintenue jusqu'à utilisation, ce qui correspond au procédé de préparation aseptique des BPP.

Une série d'IDR correspond à toutes les dilutions réalisées à partir d'une solution mère.

Comme mentionné plus tôt les anti-infectieux sont responsables d'environ 50 % des phénomènes allergiques. [HAMZAOUI, 2006] Il s'agit de la classe thérapeutique la plus testée dans les hôpitaux de Brabois et de Mercy. (Tableaux I et II)

**Tableau I : Répartition par familles chimiques des IDR fabriqués de janvier à septembre 2014 au CHRU de Brabois de Nancy (CHUM, 2015)**

Famille chimique	Nombre de séries	Répartition %
Anti-infectieux	575	33
Produits de contraste	334	19
Anesthésiques	289	16
Autres	208	12
Anti-inflammatoires	190	11
Héparines	104	6
Antinéoplasiques	52	3
<b>Total</b>	<b>1752</b>	<b>100</b>

**Tableau II : Répartition par familles chimiques des IDR fabriqués en 2017 au CHR de Mercy à Metz**

Famille chimique	Nombre de séries	Répartition %
Anti-infectieux	649	44
Produits de contraste	431	30
Autres	194	13
Anesthésiques	128	9
Antinéoplasiques	31	2
Héparines	28	2
<b>Total</b>	<b>1461</b>	<b>100</b>

Les familles d'antibiotiques les plus testées dans ces hôpitaux sont les pénicillines, les céphalosporines et les fluoroquinolones. (Tableaux III et IV)

Tableau III : Nombre de séries d'IDR d'anti-infectieux de janvier à septembre 2014 au CHRU de Brabois à Nancy (CHUM, 2015)

Classes d'anti-infectieux	Nombre de séries
Pénicillines	202
Céphalosporines	183
Autres	77
Fluoroquinolones	47
Macrolides	38
Carbapénèmes	28
<b>Total</b>	<b>575</b>

Tableau IV : Nombre de séries d'IDR d'anti-infectieux en 2017 au CHR de Mercy à Metz

Classes d'anti-infectieux	Nombre de séries
Pénicillines	480
Céphalosporines	99
Autres	43
Fluoroquinolones	27
<b>Total</b>	<b>649</b>

Nous avons choisi 10 molécules ou associations parmi ces 3 familles, les plus testées dans ces 2 hôpitaux et techniquement compatibles avec notre étude (existence d'une monographie à la Pharmacopée européenne et temps d'analyse suffisamment faible).

Dans la classe des pénicillines, les molécules retenues sont l'amoxicilline, l'amoxicilline + acide clavulanique et la pénicilline G. Ces 3 molécules représentent les 2 tiers des pénicillines testées sur Brabois et les 3 quarts de celles testées sur Mercy.

Dans la classe des céphalosporines, les tests sont réalisés sur 4 molécules, le cefotaxime, la ceftriaxone, la cefazoline et le cefuroxime, soit plus de 95 % des céphalosporines utilisées en allergologie dans ces deux hôpitaux.

Enfin dans la classe des fluoroquinolones, 3 molécules sont testées, ofloxacine, levofloxacine et ciprofloxacine, soit 100 % de la famille de molécules pour les 2 établissements.

## B. Benzylpénicilline sodique

La pénicilline G ou benzylpénicilline fut découverte en 1928 par Alexander Fleming, de manière fortuite en constatant l'effet d'une moisissure, le *Penicillium*, sur certaines bactéries. Il s'employa les années suivantes avec d'autres chercheurs, notamment E.B. Chain et Howard Florey à purifier la molécule afin de l'utiliser en médecine. Ils reçurent tous un prix Nobel en 1945 pour ces travaux.

Il s'agit d'un antibiotique possédant une activité bactéricide par l'inhibition de la synthèse du peptidoglycane de la paroi bactérienne en se liant et en inactivant les Protéines Liant les Pénicillines (PLP). Grâce à son analogie structurale avec le substrat de l'enzyme, la molécule agit comme un inhibiteur, empêchant la synthèse de la paroi ce qui induit la lyse cellulaire. [KIRSCHBAUM, 1986].

La molécule actuelle disponible sur le marché français est un sel de sodium, issu de biosynthèse à partir de souches de *Penicillium notatum*, de formule brute  $C_{16}H_{17}N_2NaO_4S$ .  
Figure 8.

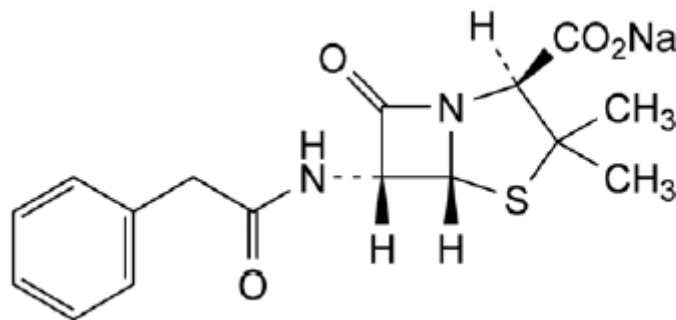


Figure 8 : Formule développée de la benzylpénicilline sodique [Pharmacopée européenne 9.2, 2017b]

Le spectre antibactérien de la molécule est assez étroit, elle est active sur des bactéries aérobies Gram positif tels que *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *Listeria* mais aussi *Neisseria*, cocci Gram négatif. [ANSM, 2005]



### C. Amoxicilline sodique

L'amoxicilline est découverte en 1964 par des chercheurs de Beecham Research Laboratories, mise sur le marché en 1972. [CHAST, 2002] Il s'agit d'un antibiotique de la famille des pénicillines de type A dont font également partie l'ampicilline et le pivmecillinam.

Son mode d'action est identique à celui de la pénicilline G : en se fixant aux PLP elle inhibe la synthèse du peptidoglycane de la paroi bactérienne, provoquant la lyse de la cellule.

La molécule actuelle sur le marché français est aussi un sel de sodium et il s'agit d'un produit hémi-synthétique dérivé d'un produit de fermentation, de formule brute  $C_{16}H_{18}N_3NaO_5S$ . Figure 9

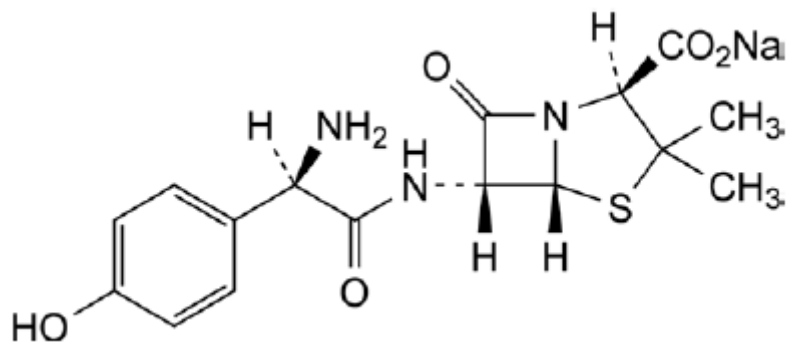


Figure 9 : Formule développée de l'amoxicilline sodique [Pharmacopée européenne 9.2, 2017a]

Le spectre antibactérien de la molécule reprend celui de la pénicilline G mais est plus large en touchant davantage de Gram positif comme *Enterococcus* mais également certains bacilles Gram négatif tels que *Escherichia*, *Haemophilus*, *Helicobacter*, *Salmonella* ou *Shigella*. [BHATTACHARYYA et CORT, 1978]

### D. Clavulanate potassique

L'acide clavulanique a été isolé pour la première fois de *Streptomyces clavuligerus* en 1975. [DESROY, 2004] Suite à des mutations bactériennes des résistances acquises à la pénicilline G et à l'amoxicilline apparaissent dès les années 60. Il peut notamment s'agir d'enzymes capables de lyser ces antibiotiques appelées  $\beta$ -lactamases.

Le clavulanate potassique existe sur le marché français depuis 1985, associé à l'amoxicilline [Theriaque, 2018]. Il a pour but d'inhiber les  $\beta$ -lactamases, en leur servant de cible et s'y liant de manière irréversible, protégeant ainsi la  $\beta$ -lactamine auquel il est associé (l'amoxicilline ou la ticarcilline).

Il s'agit d'un produit issu de biosynthèse de souches de *Streptomyces clavuligerus*, de formule brute  $C_8H_8KNO_5$ . Figure 10

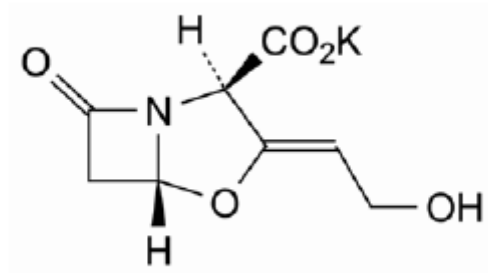


Figure 10 : Formule développée du clavulanate de potassium [Pharmacopée européenne 9.2, 2017h]

L'acide clavulanique ne possède pas d'activité antibactérienne propre, il ne sert qu'à restaurer l'activité de la  $\beta$ -lactamine auquel il est associé.

### E. Cefotaxime sodique

Le cefotaxime est une céphalosporine de 3<sup>e</sup> génération, agissant sur les bactéries de la même manière que les pénicillines, en se fixant et en inhibant les PLP impliquées dans la synthèse de la paroi bactérienne, également bactéricide. Son affinité pour son récepteur est plus élevée, de plus il passe plus facilement les parois bactériennes que les pénicillines et est plus résistant aux  $\beta$ -lactamases.

Il est issu d'hémi-synthèse et se présente sous forme d'un sel de sodium et de formule brute  $C_{16}H_{16}N_5NaO_7S_2$ . Figure 11

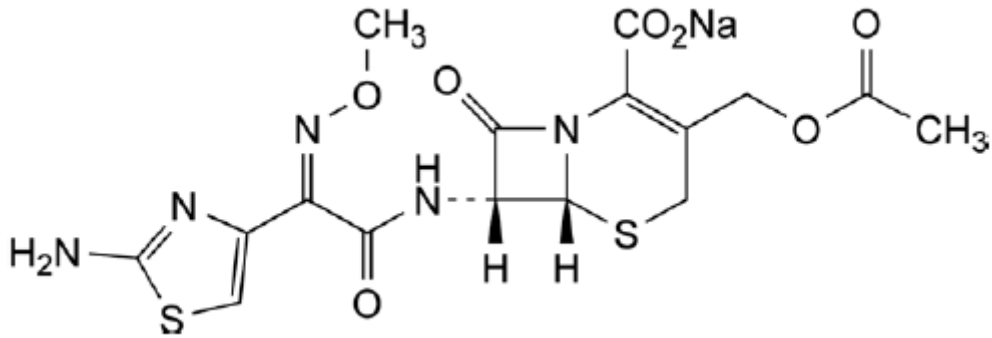


Figure 11 : Formule développée du cefotaxime sodique [Pharmacopée européenne 9.2, 2017d]

Son spectre bactérien est plus large que celui de l'amoxicilline et plus actif contre les bactéries Gram négatif tels que les entérobactéries, *Haemophilus* ou *Neisseria*. Il est également actif contre les souches meti-S de *Staphylococcus*, en revanche il n'a pas d'effet sur *Enterococcus*. [MUHTADI et HASSAN, 1982]

## F. Ceftriaxone sodique

La ceftriaxone est comme le cefotaxime une céphalosporine de 3<sup>e</sup> génération. Leur cible d'action est identique. La principale différence tient à la pharmacocinétique : avec une demi-vie de 6 à 9h, elle permet une seule administration quotidienne quand il en nécessite 3 avec le cefotaxime. Cependant l'élimination de la ceftriaxone se fait à 40-50 % par la bile à l'inverse du cefotaxime dont l'élimination se fait à au moins 80 % par les urines. De ce fait la flore bactérienne digestive est davantage au contact de la ceftriaxone, ce qui peut induire l'apparition de résistances. [Thériaque, 2018] [OWENS et DASH, 2003]

Il s'agit également d'un produit d'hémisynthèse dérivé de la fermentation, se présentant sous la forme d'un sel de sodium, de formule brute  $C_{18}H_{16}N_8Na_2O_7S_3 \cdot 3 \frac{1}{2} H_2O$ . Figure 12

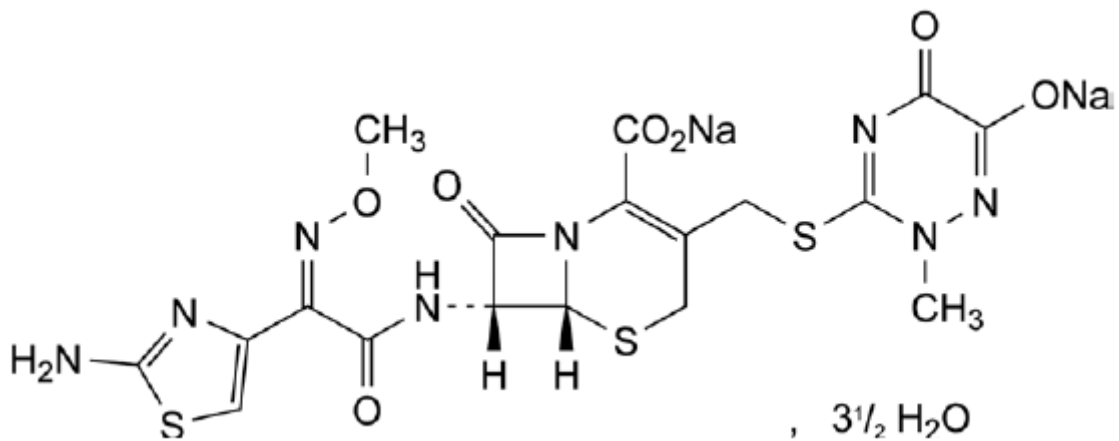


Figure 12 : Formule développée de la ceftriaxone sodique [Pharmacopée européenne 9.2, 2017e]

Le spectre antibactérien de la ceftriaxone est le même que celui du cefotaxime, plus large que l'amoxicilline, plus actif contre les bactéries Gram négatif et sans activité contre les entérocoques.

### G. Cefazoline sodique

La cefazoline est une céphalosporine de 1<sup>ère</sup> génération, dont la cible d'action est également les PLP. Elle est très peu métabolisée dans l'organisme et plus de 95 % du composé est éliminé dans les urines sous forme inchangée. [ZAPPALA, 1975]

Il s'agit d'un produit d'hémisynthèse dérivé de la fermentation, la forme actuellement sur le marché français est un sel de sodium et sa formule brute est  $C_{14}H_{13}N_8NaO_4S_3$ . Figure 13

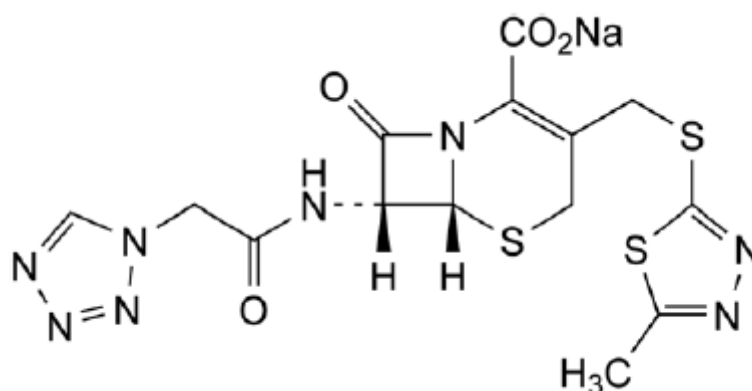


Figure 13 : Formule développée de la cefazoline sodique [Pharmacopée européenne 9.2, 2017c]

Son spectre d'action est plus étroit que les céphalosporines de 3<sup>e</sup> génération et elle est de ce fait moins susceptible de générer des résistances. De plus son efficacité sur les *Staphylococcus* meti-S en fait une molécule intéressante dans ces infections, notamment les sepsis ou les endocardites mais aussi dans l'antibioprophylaxie.

## H. Cefuroxime sodique

Il s'agit d'une céphalosporine de seconde génération, dont la cible d'action est également les PLP. Grâce à son groupe methoxyimino en position 7 du noyau  $\beta$ -lactame il est plus stable vis-à-vis des  $\beta$ -lactamases bactériennes que les autres céphalosporines de 1<sup>ère</sup> et de 2<sup>e</sup> génération. Il est également éliminé à plus de 95 % par voie urinaire sous forme inchangée. [WOZNIAK et HICKS, 1991].

Il s'agit d'un produit d'hémisynthèse dérivé de la fermentation, disponible sous la forme d'un sel de sodium, de formule brute  $C_{16}H_{15}N_4NaO_8S$ . Figure 14

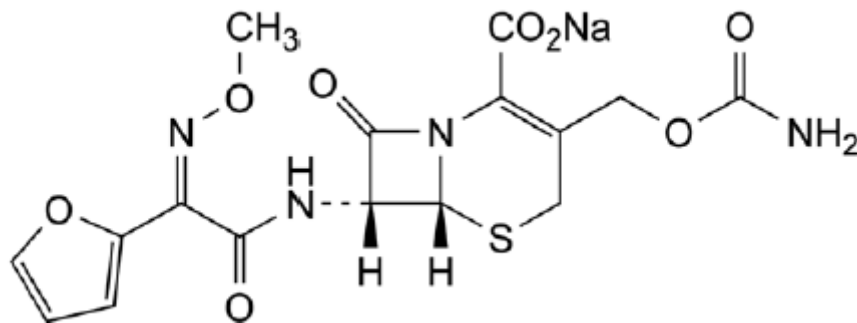


Figure 14 : Formule développée du cefuroxime sodique [Pharmacopée européenne 9.2, 2017f]

Son spectre antibactérien est à peu près identique à celui de la cefazoline, cependant son utilisation en clinique est assez réduite et son utilisation principale est l'antibioprophylaxie interventionnelle, notamment dans les chirurgies urinaires, digestives ou ophtalmologiques.

## I. Ofloxacin

L'ofloxacin appartient à la famille des quinolones de deuxième génération ou fluoroquinolones, elle est utilisée en France à partir 1986 [Thériaque, 2018]. Elle est capable de se lier aux topo-isomérases bactériennes de type II (ADN gyrase) et IV. Ces enzymes sont impliquées dans le maintien du surenroulement de l'ADN bactérien, sa réplication et sa réparation. Il en résulte la mort de la cellule, il s'agit donc d'un antibiotique bactéricide. Les fluoroquinolones diffusent très bien dans les tissus, ce qui permet d'atteindre des sites d'infections inaccessibles pour d'autres molécules tels que les os, les yeux, les abcès. Cependant elles sont alors en contact avec un grand nombre de bactéries (notamment du tube digestif) ce qui favorise l'apparition de résistances. [AL-OMAR, 2009].

Il s'agit d'un produit de synthèse, de formule brute  $C_{18}H_{20}FN_3O_4$ . Figure 15

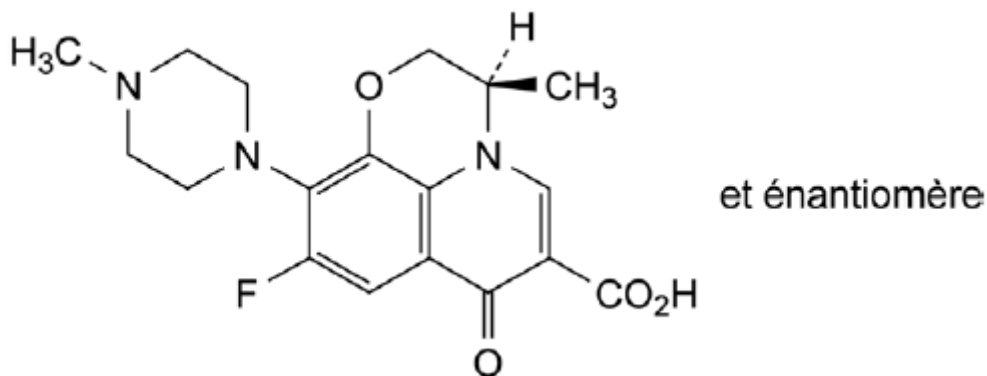


Figure 15 : Formule développée de l'ofloxacin [Pharmacopée européenne 9.2, 2017i]

Son spectre antibactérien est essentiellement orienté contre les bactéries Gram négatif aérobie, à l'exclusion de la plupart des souches de *Providencia* et *Pseudomonas*. L'ofloxacin est également active contre les staphylocoques *meti-S* mais pas contre les entérocoques ou les pneumocoques.

## J. Levofloxacin

La levofloxacin est une fluoroquinolone et apparait en France en 1998 [Thériaque, 2018]. Le mécanisme d'action et sa capacité de diffusion dans les tissus sont identiques à l'ofloxacin. De plus leurs formules brutes sont également identiques. En effet, l'ofloxacin est dite chirale : elle possède 2 énantiomères, c'est-à-dire 2 organisations spatiales des atomes différentes, images l'une de l'autre dans un miroir mais non superposables. Aucune de ces conformations n'est formée préférentiellement lors de la synthèse, le médicament ofloxacin est donc un racémique, c'est-à-dire le mélange à 50/50 des deux conformations de la molécule.

Cependant bien que quasiment identiques, les énantiomères peuvent présenter des propriétés physiques différentes. L'isomère Rectus (nomenclature Cahn-Ingold-Prelog) est dextrogyre, c'est-à-dire qu'il dévie un plan de lumière polarisée vers la droite, tandis que l'isomère Sinister est lévogyre, il dévie la lumière polarisée vers la gauche. Les différences ne s'arrêtent pas là : d'un point de vue activité antibactérienne, l'isomère S, lévogyre, est plusieurs dizaines de fois plus actif que le R, et au moins 2 fois plus actif que le racémique d'ofloxacin [FRACKOWIAK, KAMINSKI, URBANIAK *et al.*, 2016].

La lévofloxacin est donc l'isomère S (lévogyre) de l'ofloxacin. Il s'agit d'un produit de synthèse, de formule brute  $C_{18}H_{20}FN_3O_4$ . Figure 16

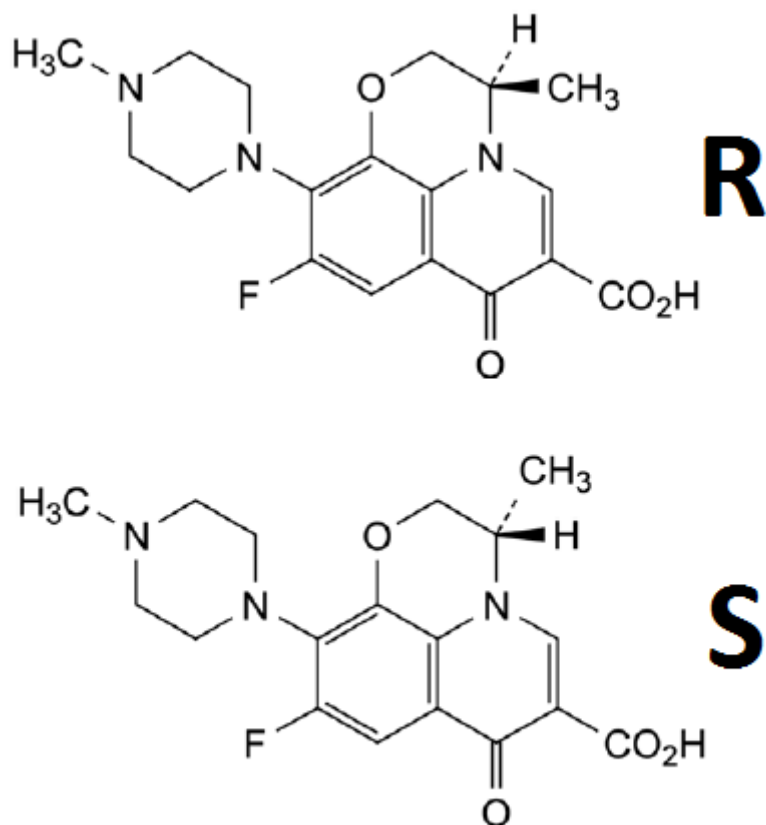


Figure 16 : Formule développée des énantiomères de l'ofloxacin

Le spectre antibactérien de la levofloxacin est le même que l'ofloxacin auquel s'ajoute une activité sur le pneumocoque, sur certains germes intracellulaires *Chlamydia* et *Legionella* et modérément sur *Pseudomonas*.

### K. Ciprofloxacin

La ciprofloxacin est une fluoroquinolone disponible en France depuis 1987 [Thériaque, 2018]. Son mécanisme d'action et ses capacités de diffusion sont semblables aux autres molécules de cette famille.

Il s'agit d'un produit de synthèse, de formule brute  $C_{17}H_{18}FN_3O_3$ . Figure 17



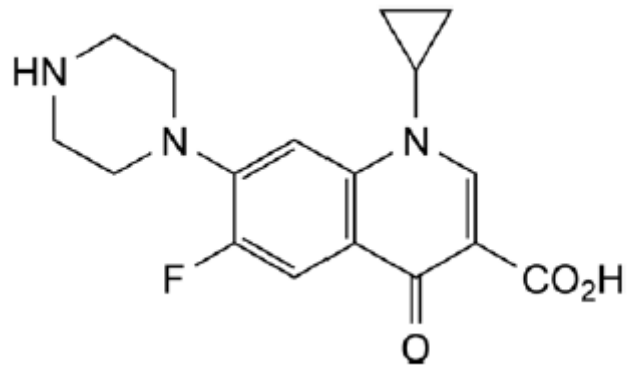


Figure 17 : Formule développée de la ciprofloxacin [Pharmacopée européenne 9.2, 2017g]

Son spectre antibactérien est élargi par rapport à l'ofloxacin sur les bactéries Gram négatif, elle est peu active sur le pneumocoque et la plus active sur *Pseudomonas*.



## IV. Objectifs

La stabilité d'un médicament est définie par l'OMS comme « son aptitude à conserver ses propriétés chimiques, physiques, microbiologiques et biopharmaceutiques dans des limites spécifiées pendant toute sa durée de validité » [OMS, 1998]. Celle de ces antibiotiques est bien étudiée par les laboratoires pharmaceutiques les fabriquant et dans la littérature scientifique. Il existe d'ailleurs une base de données en ligne, Stabilis®, qui synthétise les résultats d'un grand nombre de publications. Cependant ces stabilités sont étudiées à des concentrations d'utilisation courante, à visée anti-infectieuse.

Pour l'allergologie, les concentrations utilisées sont bien inférieures et il n'a pas été retrouvé dans la littérature de données de stabilité aux concentrations et dans les solvants d'intérêt.

Au Centre Hospitalier Régional Universitaire (CHRU) de Nancy et au Centre Hospitalier Régional (CHR) de Metz-Thionville, les dilutions sont réalisées à la pharmacie, le jour même et en conditions stériles dans une Zone à Atmosphère Contrôlée (ZAC).

Il s'agit d'une activité chronophage et coûteuse, en termes de matériel, de temps de manipulation et de contrôle par les préparateurs et les pharmaciens. Elle peut également poser un problème d'organisation, tant pour la pharmacie qui doit préparer rapidement les solutions de tests que pour les services qui les attendent avec les patients déjà présents. Une étude réalisée en 2015 par le CHRU de Nancy avait mis en évidence des coûts de préparation allant de 60 à 150 euro environ par batterie de test contenant 3 à 8 molécules. [CHUM, 2014]

Notre objectif est d'étudier la stabilité de 10 molécules ou associations de molécules qui ont été retenues parmi les 3 familles d'antibiotiques les plus testées.

L'intérêt de mener une étude de stabilité chimique sur ces différentes molécules dans les conditions relatives à la pratique de l'allergologie est de réduire la fréquence des préparations. Si une molécule est démontrée stable 1 semaine, il sera possible de réaliser une seule préparation par semaine. Cela pourrait permettre de :

- Réduire le nombre de préparations réalisées
- Réduire le temps nécessaire au maintien de l'activité
- Faciliter l'organisation des services en diminuant les temps d'attente des préparations
- Réduire les coûts liés à l'activité de préparation.

Certains fournisseurs proposent des flacons pré-remplis contenant un diluant phénolé, composé de sérum physiologique et de phénol 0,4 %. Ce dernier sert de conservateur antimicrobien mais on peut se demander s'il impacte la stabilité des principes actifs.

Le but de ce travail est donc d'étudier la stabilité de ces dix molécules à différentes concentrations, dans du sérum physiologique et dans du sérum physiologique additionné de phénol à 0,4 %, sur sept jours, à l'abri de la lumière et au réfrigérateur.

## V. Matériel et méthodes

### A. Réactifs

Phénol (MW : 94,11 g.mol<sup>-1</sup>) GenApex

Acétate de sodium (MW : 82,03 g.mol<sup>-1</sup>), acétate d'ammonium (MW : 77,08 g.mol<sup>-1</sup>) Merck

Phosphate disodique dodécahydraté (MW : 358,14 g.mol<sup>-1</sup>), méthanol HPLC Isocratic (MW : 32,04 g.mol<sup>-1</sup>) Carlo Erba

Acide acétique (MW : 60,05 g.mol<sup>-1</sup>), bromure de tétraheptylammonium (MW : 490,17 g.mol<sup>-1</sup>), perchlorate de sodium monohydraté (MW : 140,46 g.mol<sup>-1</sup>) Sigma Aldrich

Acetonitrile HPLC-S Gradient Grade (MW : 41,04 g.mol<sup>-1</sup>) Biosolve

Acide chlorhydrique 37 % (MW : 36,46 g.mol<sup>-1</sup>) Honeywell

Hydroxyde de sodium 50 % (MW : 40,00 g.mol<sup>-1</sup>) Acros Organics

Acide orthophosphorique 85 % (MW : 98,00 g.mol<sup>-1</sup>) Riedel-de Haën

Phosphate monopotassique (MW : 136,06 g.mol<sup>-1</sup>) Prolabo

Chlorure de sodium 0,9 % Braun

Diluant physiologique phénolé à 0,4 % Stallergenes

Eau Pour Préparation Injectable, Lavoisier

### B. Antibiotiques

Amoxicilline 2 g Panpharma lot 304761 exp 09/2020

Amoxicilline + acide clavulanique 2 g/200 mg Mylan lot HN7037 exp 09/2019

Cefazoline 1 g Mylan lot 170623 exp 06/2020

Cefotaxime 1 g Mylan lot R2153 exp 09/2019

Ceftriaxone 1 g Mylan lot 170737 exp 07/2019

Cefuroxime 750 mg Mylan lot R2036 exp 05/2019

Ciprofloxacin 200 mg/100 mL Kabi lot 15LD524P1 exp 03/2019

Levofloxacin 200 mg/100 mL Kabi lot 15LE510P1 exp 04/2020

Ofloxacin 200 mg/40 mL Mylan lot M1171 exp 08/2020

Pénicilline G 5 MUI Panpharma lot 304759 exp 09/2020

### C. Instrumentation

Les appareils utilisés sont :

- Un vortex Labnet® VX100
- Une balance Mettler® AE200
- Un PH-mètre Hanna Instruments® HI221
- Une chaîne de Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP) Shimadzu® composée de
  - o Un dégazeur Prominence degasser DGU-20A3
  - o Une pompe Prominence Liquid Chromatograph LC20AD
  - o Un injecteur Prominence Auto Sampler SIL-20AC
  - o Un four Prominence Column Oven CTO-20A
  - o Un détecteur UV-visible Prominence UV/vis Detector SPD-20A
  - o Un logiciel Shimadzu® LC Solution

Les colonnes utilisées sont :

- Une colonne Nucleosil® C18 de Macherey-Nagel, longueur 125 mm, diamètre 4 mm, porosité 100 Å, diamètre des particules 5 µm
- Une colonne Nucleosil® C8 de Macherey-Nagel, longueur 125 mm, diamètre 4 mm, porosité 100 Å, diamètre des particules 5 µm
- Une colonne Nucleosil® C18 de Macherey-Nagel, longueur 125 mm, diamètre 4 mm, porosité 100 Å, diamètre des particules 3 µm
- Une colonne Nucleosil® C18 de Macherey-Nagel, longueur 250 mm, diamètre 4,6 mm, porosité 300 Å, diamètre des particules 5 µm
- Une colonne Nucleosil® C18 de Macherey-Nagel, longueur 150 mm, diamètre 4,6 mm, porosité 100 Å, diamètre des particules 5 µm
- Une cartouche Lichrospher® RP18 endcapped de Merck, longueur 250 mm, diamètre 4 mm, porosité 100 Å, diamètre des particules 5 µm

## D. Méthodes

Les antibiotiques possèdent des chromophores, c'est-à-dire des groupements chimiques capables d'absorber certaines fréquences du spectre lumineux. Ils peuvent donc être détectés en spectrophotométrie UV-visible. Cependant ce sont pour la plupart des produits d'hémisynthèse, ils ne sont pas purs. De plus, après reconstitution des produits de dégradation peuvent apparaître. Ces substances dérivées peuvent posséder des propriétés semblables aux molécules antibiotiques, d'où la nécessité d'une méthode séparative, ici la Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP), afin de distinguer la molécule principale et ses produits de synthèse et de dégradation et des impuretés.

Les méthodes chromatographiques utilisées sont celles décrites dans l'essai des substances apparentées de la Pharmacopée européenne 9.2 des monographies de chaque molécule. Elles sont destinées à l'analyse de matières premières, de poudres pures, avant leur formulation galénique, c'est pourquoi des teneurs minimales et maximales en impuretés sont décrites (produits de synthèse, de dégradation, impuretés) par rapport à la molécule d'intérêt.

**Tableau V : Teneurs maximales du total d'impuretés autorisées par la Pharmacopée européenne par molécule**

<b>Molécule</b>	<b>Teneur limite – total des impuretés</b>
<b>Benzylpénicilline sodique</b>	3,0 %
<b>Amoxicilline sodique</b>	9,0 %
<b>Clavulanate potassique</b>	2,0 %
<b>Cefotaxime sodique</b>	3,0 %
<b>Ceftriaxone sodique</b>	4,0 %
<b>Cefazoline sodique</b>	3,5 %
<b>Cefuroxime sodique</b>	3,0 %
<b>Ofloxacin</b>	2,5 %
<b>Levofloxacin</b>	2,5 %
<b>Ciprofloxacine</b>	2,5 %

Ces méthodes sont ici appliquées à un produit fini, nous ne cherchons pas à confirmer la qualité d'une poudre mais à étudier la stabilité des molécules après reconstitution avec une solution aqueuse et à des concentrations différentes de celles décrites dans les essais des

monographies. Les méthodes de dosage sont donc soumises à une validation partielle, sur la linéarité uniquement.

Les solutions utilisées pour ces méthodes ont été préparées selon les protocoles décrits par la Pharmacopée européenne 9.2. [Pharmacopée européenne 9.2, 2017a] [Pharmacopée européenne 9.2, 2017b] [Pharmacopée européenne 9.2, 2017c] [Pharmacopée européenne 9.2, 2017d] [Pharmacopée européenne 9.2, 2017e] [Pharmacopée européenne 9.2, 2017f] [Pharmacopée européenne 9.2, 2017g] [Pharmacopée européenne 9.2, 2017h] [Pharmacopée européenne 9.2, 2017i]

## **1. Méthodes chromatographiques**

### ***a. Benzylpénicilline sodique (07/2017 :0114)***

Colonne : Nucleosil® C18 de Macherey-Nagel, longueur 125 mm, diamètre 4 mm, porosité 100 Å, diamètre des particules 3 µm

Composition de la phase mobile :

- Phase mobile A : 10 volumes d'une solution de phosphate monopotassique à 68 g/l pH 3,4 + 30 volumes de méthanol + 60 volumes eau ultra pure
- Phase mobile B : 10 volumes d'une solution de phosphate monopotassique à 68 g/l pH 3,4 + 55 volumes de méthanol + 35 volumes eau ultra pure
- Gradient 0-70 % de A et 30-100 % de B

Température du four : 50 °C

Débit : 1,5 mL/min

Longueur d'onde de travail : 225 nm

### ***b. Amoxicilline sodique (01/2017 :0577)***

Colonne : Nucleosil® C18 de Macherey-Nagel, longueur 250 mm, diamètre 4,6 mm, porosité 300 Å, diamètre des particules 5 µm

Composition de la phase mobile :



- Phase mobile A : 1 volume d'acétonitrile + 99 volumes d'une solution de phosphate monopotassique 0,05 M pH 5,0
- Phase mobile B : 20 volumes d'acétonitrile + 80 volumes d'une solution de phosphate monopotassique 0,05 M pH 5,0
- Gradient 0-92 % de A et 8-100 % de B

Température du four : 40 °C

Débit : 1,0 mL/min

Longueur d'onde de travail: 254 nm

### *c. Amoxicilline sodique + clavulanate potassique (07/2010 :1140)*

Colonne : Nucleosil® C18 de Macherey-Nagel, longueur 125 mm, diamètre 4 mm, porosité 100 Å, diamètre des particules 5 µm

Composition de la phase mobile :

- Phase mobile A : solution de phosphate monosodique à 7,8 g/L pH 4,0
- Phase mobile B : mélange à volumes égaux de phase mobile A et de méthanol
- Gradient 50-100 % de A et 0-50 % de B

Température du four : 40 °C

Débit : 1,0 mL/min

Longueur d'onde de travail: 230 nm

### *d. Cefotaxime sodique (01/2008 :0989)*

Colonne : Nucleosil® C18 de Macherey-Nagel, longueur 125 mm, diamètre 4 mm, porosité 100 Å, diamètre des particules 5 µm

Composition de la phase mobile :

- Phase mobile A : solution de phosphate disodique dodécahydraté à 7,1 g/L pH 6,25
- Phase mobile B : méthanol

- Gradient 60-86 % de A et 14-40 % de B

Température du four : 30 °C

Débit : 1,0 mL/min

Longueur d'onde de travail: 235 nm

*e. Ceftriaxone sodique (01/2008 :0991)*

Colonne : Nucleosil® C18 de Macherey-Nagel, longueur 250 mm, diamètre 4,6 mm, porosité 300 Å, diamètre des particules 5 µm

Composition de la phase mobile : 4,0 g de bromure de tétraheptylammonium dans un mélange de 440 mL d'eau ultra pure + 55 mL de solution tampon phosphate pH 7,0 0,067 M + 5,0 mL de solution tampon citrate pH 5,0 + 500 mL d'acétonitrile

Température du four : 40 °C

Débit : 1,5 mL/min

Longueur d'onde de travail: 254 nm

*f. Cefazoline sodique (04/2014 :0988)*

Colonne : Nucleosil® C18 de Macherey-Nagel, longueur 125 mm, diamètre 4 mm, porosité 100 Å, diamètre des particules 3 µm

Composition de la phase mobile :

- Phase mobile A : solution de phosphate disodique dodécahydraté 14,54 g/L et phosphate monopotassique 3,53 g/L
- Phase mobile B : acétonitrile
- Gradient 35-98 % de A et 2-65 % de B

Température du four : 45 °C

Débit : 1,2 mL/min

Longueur d'onde de travail: 570 nm

*g. Cefuroxime sodique (01/2008 :0992)*

Colonne : Nucleosil® C8 de Macherey-Nagel, longueur 125 mm, diamètre 4 mm, porosité 100 Å, diamètre des particules 5 µm

Composition de la phase mobile : 1 volume d'acétonitrile avec 99 volumes d'une solution tampon acétate pH 3,4

Température du four : 40 °C

Débit : 1,5 mL/min

Longueur d'onde de travail: 273 nm

*h. Ofloxacin (01/2017 :1455)*

Colonne : Nucleosil® C18 de Macherey-Nagel, longueur 150 mm, diamètre 4,6 mm, porosité 100 Å, diamètre des particules 5 µm

Composition de la phase mobile : 4,0 g d'acétate d'ammonium et 7,0 g de perchlorate de sodium dans 1300 mL d'eau ultra pure pH 2,2 + 240 mL d'acétonitrile

Température du four : 45 °C

Débit : 1,5 mL/min

Longueur d'onde de travail: 294 nm

*i. Lévofoxacin (01/2017 :1455)*

Colonne : Nucleosil® C18 de Macherey-Nagel, longueur 150 mm, diamètre 4,6 mm, porosité 100 Å, diamètre des particules 5 µm

Composition de la phase mobile : 4,0 g d'acétate d'ammonium et 7,0 g de perchlorate de sodium dans 1300 mL d'eau ultra pure pH 2,2 + 240 mL d'acétonitrile

Température du four : 45 °C

Débit : 1,5 mL/min

Longueur d'onde de travail: 294 nm

*j. Ciprofloxacin (01/2017:1089)*

Colonne : Lichrospher® RP18 endcapped de Merck, longueur 250 mm, diamètre 4 mm, porosité 100 Å, diamètre des particules 5 µm

Composition de la phase mobile : 13 volumes d'acétonitrile et 87 volumes d'une solution d'acide phosphorique à 2,45 g/L ajusté à pH 3,0 avec de la triéthylamine.

Température du four : 40 °C

Débit : 1,5 mL/min

Longueur d'onde de travail: 278 nm

## 2. Expériences

Les différentes solutions d'antibiotiques ont été conservées entre 2 et 8 °C pendant 7 jours, à l'abri de la lumière.

Tableau VI : Dates de réalisation des analyses en CLHP

	J0	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7
<b>Benzylpénicilline sodique</b>	×	×	×					×
<b>Amoxicilline sodique</b>	×	×	×					×
<b>Amoxicilline sodique + clavulanate potassique</b>	×	×			×			×
<b>Cefotaxime sodique</b>	×	×		×				×
<b>Ceftriaxone sodique</b>	×				×			×
<b>Cefazoline sodique</b>	×		×					×
<b>Cefuroxime sodique</b>	×		×				×	×
<b>Ofloxacin</b>	×							×
<b>Levofloxacin</b>	×							×
<b>Ciprofloxacine</b>	×							×

Les analyses ont été réalisées au moins à J0 et J7, avec des intermédiaires détaillés dans le tableau VI.

Les préparations ont été réalisées sur paillasse, en conditions non stériles.

Les concentrations testées des différents antibiotiques découlent de celles utilisées pour les intradermoréactions au CHRU de Nancy et préconisées par la littérature par une publication d'un groupe de travail de l'ENDA/EAACI. [BROCKOW, GARVEY, ABERER *et al.*, 2013]

Le but de ces analyses est de réaliser une étude de stabilité sur ces 10 molécules. Il s'agit de mesurer la surface du pic chromatographique de la molécule d'intérêt à J0, reflet de la concentration en antibiotique, et de la comparer à celle des jours suivants, au maximum J7 ici.

Pour suivre les recommandations de l'OMS quant aux études de stabilité pharmaceutiques sur les principes actifs nous considérons qu'une variation de plus 5 % de la teneur en principe actif par rapport à la valeur initiale est une modification importante [OMS, 1998]. On retrouve cette valeur dans les recommandations de la Conférence Internationale sur l'Harmonisation (ICH) Q1E [ICH, 2003]. Dans le cas où la variation serait moindre sur toute la période considérée, la solution sera jugée stable. La conséquence pratique qui en découle est la possibilité de préparer les solutions à l'avance.

Les antibiotiques existants en solution ont été utilisés tels quels :

- Ciprofloxacine 2 mg/mL
- Lévofloxacine 5 mg/mL
- Ofloxacine 5 mg/mL

Les poudres suivantes ont été reconstituées avec de l'Eau Pour Préparation Injectable (EPPI), selon la procédure du CHRU de Nancy pour obtenir les concentrations suivantes :

- Amoxicilline 200 mg/mL
- Amoxicilline + acide clavulanique 200/20 mg/mL
- Cefazoline 200 mg/mL
- Ceftriaxone 200 mg/mL
- Cefuroxime 250 mg/mL

Les poudres suivantes ont été reconstituées avec du chlorure de sodium 0,9 %, selon la procédure du CHRU de Nancy pour obtenir les concentrations suivantes :

- Cefotaxime 200 mg/mL
- Pénicilline G 1 MUI/mL

5 dilutions successives au  $1/10^{\text{ème}}$  ont été réalisées à partir de ces solutions, soit dans du chlorure de sodium 0,9 %, soit dans du diluant phénolé. Les solutions reconstituées/initiales sont laissées dans leurs contenants primaires, les dilutions sont réalisées dans des flacons en verre avec bouchon.

Tableau VII : Détails des dilutions réalisées pour l'étude de stabilité en NaCl 0,9 % et NaCl 0,9 % + phénoI 0,4 %

Solutions reconstituées	Concentrations des dilutions (en mg/mL, UI/mL pour la pénicilline G)				
	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>
<b>Amoxicilline 200 mg/mL</b>	20	2	0,2	0,02	0,002
<b>Amoxicilline + acide clavulanique 200/20 mg/mL</b>	20/2	2/0,2	0,2/0,02	0,02/0,002	0,002/0,0002
<b>Cefazoline 200 mg/mL</b>	20	2	0,2	0,02	0,002
<b>Cefotaxime 200 mg/mL</b>	20	2	0,2	0,02	0,002
<b>Ceftriaxone 200 mg/mL</b>	20	2	0,2	0,02	0,002
<b>Cefuroxime 250 mg/mL</b>	25	2,5	0,25	0,025	0,0025
<b>Ciprofloxacine 2 mg/mL</b>	0,2	0,02	0,002	0,0002	0,00002
<b>Lévofloxacine 5 mg/mL</b>	0,5	0,05	0,005	0,0005	0,00005
<b>Ofloxacine 5 mg/mL</b>	0,5	0,05	0,005	0,0005	0,00005
<b>Pénicilline G 1 MUI/mL</b>	100000	10000	1000	100	10

### 3. Statistiques

L'étude statistique des résultats a été effectuée avec les logiciels Excel® et AVA 3.0, ce dernier étant un logiciel de validation analytique.

Le test de Fischer ou test F permet de vérifier l'égalité de 2 variances. En effet il s'agit d'un critère prérequis pour d'autres tests. Il permet également de vérifier l'existence d'une droite (pente différente de 0) et de tester la validité de celle-ci (erreur liée à la régression < erreur aléatoire).

Le test de Student est un test paramétrique, avec pour prérequis la normalité de la distribution et l'homogénéité des variances. Il permet notamment la comparaison de moyennes entre elles : ordonnées à l'origine avec 0, comparaison des concentrations des jours J<sub>N</sub> avec J<sub>0</sub>, des pentes et ordonnées à l'origine entre les 2 types de solutés.

Le test t de Welch est semblable au test de Student mais peut être utilisé même quand l'homogénéité des variances n'est pas vérifiée.

Pour chaque test on pose une hypothèse  $H_0$ , l'hypothèse nulle, selon laquelle les échantillons sont issus de populations identiques, ne présentent donc pas de différences. On pose également une hypothèse  $H_1$ , l'hypothèse alternative, selon laquelle les échantillons sont issus de populations différentes.

Il s'agit ensuite de déterminer laquelle de ces hypothèses est vraie, 2 types d'erreurs sont alors possible :

- L'erreur de 1<sup>ère</sup> espèce : affirmer à tort que  $H_1$  est vraie à la place de  $H_0$ , définie par le risque  $\alpha$ .
- L'erreur de 2<sup>nd</sup> espèce : affirmer à tort que  $H_0$  est vraie à la place de  $H_1$  définie par le risque  $1-\beta$  (où  $\beta$  est la puissance du test).

Le risque  $\alpha$  est fixé arbitrairement (généralement entre 1 et 10 %), dans ce travail il est fixé, sauf mention contraire, à 5 %. En effet plus un type d'erreur diminue et plus l'autre augmente, il s'agit donc de trouver un équilibre entre les deux, et la valeur  $\alpha$  la plus souvent utilisée est 5 %.

Une fois la valeur  $\alpha$  déterminée, on réalise le test et l'on compare la valeur retrouvée à un seuil de décision, variable selon le test et la population de l'échantillon, ici  $n=3$ . Lorsque le résultat ne dépasse pas le seuil de décision on considère qu'on ne peut pas rejeter l'hypothèse  $H_0$  au risque  $\alpha$ .

L'intervalle de confiance est un intervalle qui a une probabilité  $1-\alpha$  de contenir la moyenne véritable, la moyenne observée lors des expériences n'étant qu'une approximation de la valeur réelle. Plus  $\alpha$  est faible, plus la probabilité de contenir la valeur vraie est importante, plus l'intervalle de confiance s'élargit. Ici aussi le risque  $\alpha$  choisi est de 5 %, pour un intervalle de confiance de taille raisonnable et une probabilité de 95 % de contenir la valeur vraie.

$$I_\alpha = m \pm t_\alpha \frac{s}{\sqrt{n}}$$

Avec  $m$  la moyenne,  $s$  l'écart type calculé,  $n$  la population et  $t_\alpha$  lu dans la table de Student pour 2 degré de liberté ( $n-1$ ) et un risque  $\alpha$  de 5 %, soit 4,3027.



## VI. Résultats

Au total un peu plus de jours d'expériences auront été nécessaires pour produire et analyser environ 1000 échantillons et autant de chromatogrammes.

### A. Benzypénicilline sodique

#### 1. Chromatogrammes

Le disque dur de l'ordinateur servant à l'acquisition des données ne fonctionne plus, les chromatogrammes pour cette molécule n'avaient pas encore été récupérés.

#### 2. Test de linéarité

Tableau VIII : Résultats du test de linéarité pour la benzylpénicilline sodique

Soluté de dilution	NaCl 0,9 %	NaCl 0,9 % + phénol 0,4 %
Pente	31616 ± 60	31783 ± 62
Ordonnée à l'origine	5.10 <sup>6</sup> ± 3.10 <sup>6</sup>	3.10 <sup>6</sup> ± 3.10 <sup>6</sup>
Test de l'existence d'une pente significative	Hautement significatif (p<0,001)	Hautement significatif (p<0,001)
Test de validité de la pente	Valide au risque 5%	Valide au risque 5%
Coefficient de corrélation	0.999977	0.999975
Comparaison des pentes	Absence de différence significative au risque 5 %	
Comparaison des ordonnées à l'origine	Absence de différence significative au risque 5 %	

La comparaison des équations de droites ne montre pas de différences selon le solvant utilisé, le phénol n'interfère pas avec le dosage de la benzylpénicilline sodique. (Tableau VIII)

#### 3. Stabilité de la benzylpénicilline sodique

Comme mentionné plus tôt, la variation de concentration tolérée est de 5,0 %. Dans les tableaux de stabilités suivants, lorsque la concentration ne s'écarte pas de plus de 5,0 % de la valeur initiale, les cellules sont vertes. A l'inverse lorsque la concentration est inférieure à 95,0 % ou supérieure à 105,0 % de la valeur à J0, les cellules sont oranges. (Tableau IX)

Tableau IX : Légende pour les tableaux de stabilités

Intervalle de confiance comprenant une partie de l'intervalle [95,0 ; 105,0]

Intervalle de confiance ne comprenant pas l'intervalle [95,0 ; 105,0]

Tableau X : Stabilité de la benzylpénicilline sodique à différentes concentrations et dans différents solvants (n=3)

	J0	J1	J2	J7
<b>Reconstitué</b>				
<b>1 000 000 UI/mL dilué 10e eau</b>	100,0%	101,5 ± 0,5 %	67,5 ± 4,6 %	52,6 ± 3,9 %
<b>NaCl 0,9 %</b>				
<b>100 000 UI/mL</b>	100,0%	101,5 ± 0,4 %	99,1 ± 0,6 %	99,3 ± 0,3 %
<b>10 000 UI/mL</b>	100,0%	100,4 ±0,4 %	100,4 ± 0,4 %	96,6 ± 1,2 %
<b>1 000 UI/mL</b>	100,0%	100,0 ± 0,1 %	99,9 ± 0,2 %	98,3 ± 0,5 %
<b>100 UI/mL</b>	100,0%	100,2 ± 0,3 %	100,3 ± 0,3 %	100,1 ± 0,7 %
<b>10 UI/mL</b>	100,0%	99,4 ± 0,4 %	99,9 ± 0,2 %	100,0 ± 0,2 %
<b>NaCl 0,9 % + phénol 0,4 %</b>				
<b>100 000 UI/mL</b>	100,0%	100,1 ± 0,4 %	98,7 ± 0,2 %	95,4 ± 0,8 %
<b>10 000 UI/mL</b>	100,0%	99,9 ± 0,2 %	100,1 ± 0,1 %	95,1 ± 0,3 %
<b>1 000 UI/mL</b>	100,0%	99,0 ± 0,6 %	99,0 ± 0,3 %	95,6 ± 0,7 %
<b>100 UI/mL</b>	100,0%	100,0 ± 0,2 %	102,2 ± 2,5 %	99,7 ± 1,9 %
<b>10 UI/mL</b>	100,0%	100,5 ± 1,4 %	102,0 ± 2,0 %	98,7 ± 2,0%

A la concentration la plus élevée, 1 MUI/mL, la solution n'est stable que 24h à l'abri de la lumière et entre 2 et 8 °C, ce qui est en accord avec les données du Résumé des Caractéristiques du Produit (RCP).

Notre étude a montré que la benzylpénicilline sodique est stable au moins 7 jours dans ces conditions et dans les deux solvants considérés, le chlorure de sodium 0,9 % et le chlorure de sodium 0,9 % + phénol 0,4 %, aux concentrations comprises entre 10 UI/mL et 100 000 UI/mL. Cela est conforme aux données retrouvées dans la littérature et compilées sur Stabilis®.

Comme le montre la comparaison des pentes et des ordonnées à l'origine (Tableau VIII), la présence de phénol 0,4 % ne perturbe pas le dosage de la benzylpénicilline sodique, ni sa stabilité sur 7 jours (Tableau X).

## **B. Amoxicilline sodique**

### **1. Chromatogrammes**

L'étude de stabilité de l'amoxicilline est réalisée dans 2 solvants différents. Il s'agit de vérifier que le phénol et les impuretés ne sont pas co-élués avec la molécule d'intérêt dont nous allons suivre la surface au cours des jours.

La figure 18 montre un temps de rétention d'environ 5 minutes pour l'amoxicilline, la figure 19 indique environ 15 minutes pour le phénol, les 2 espèces chimiques sont bien séparées.

La solution d'amoxicilline dégradée a été laissée à la lumière et à température ambiante pendant une semaine pour obtenir la figure 20. Il s'agissait de mimer les conditions de dégradation de la molécule en milieu aqueux pour déterminer où sont attendus les produits de dégradation et vérifier leur bonne séparation par rapport au pic d'intérêt. La majorité des impuretés ont un temps de rétention entre 15 et 17,5 min, elles sont donc bien séparées de l'amoxicilline.

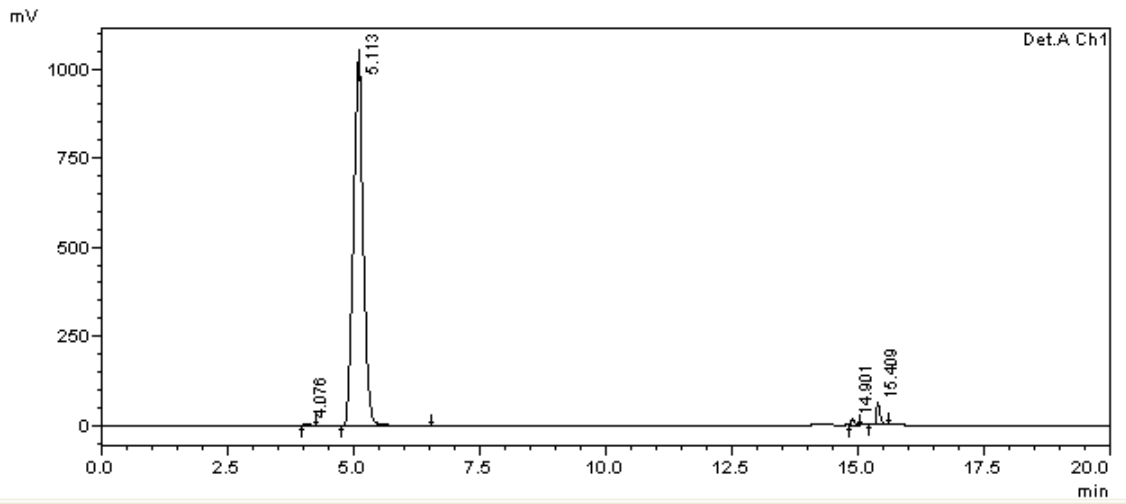


Figure 18 : Chromatogramme de l'amoxicilline sodique 20 mg/mL dans du chlorure de sodium 0,9 %

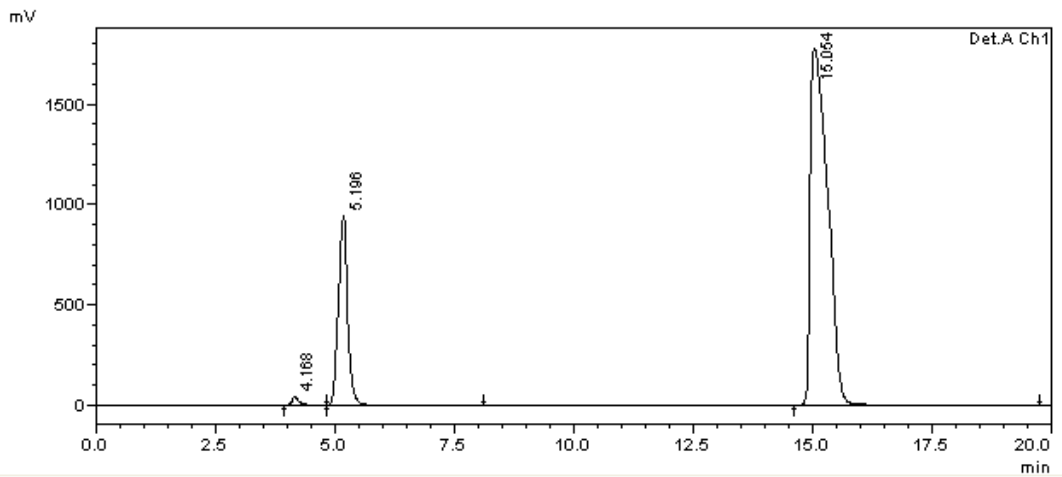


Figure 19 : Chromatogramme de l'amoxicilline sodique 2 mg/mL dans du chlorure de sodium 0,9 % + phénol 0,4 %

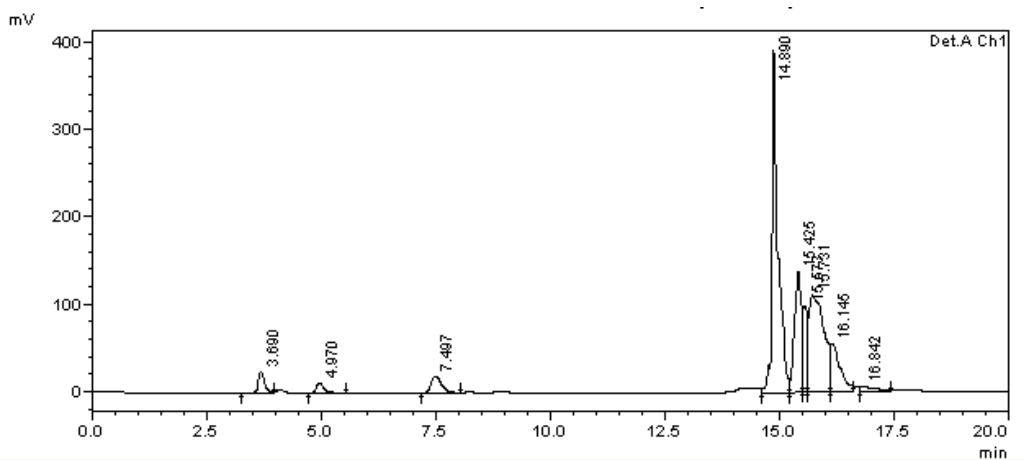
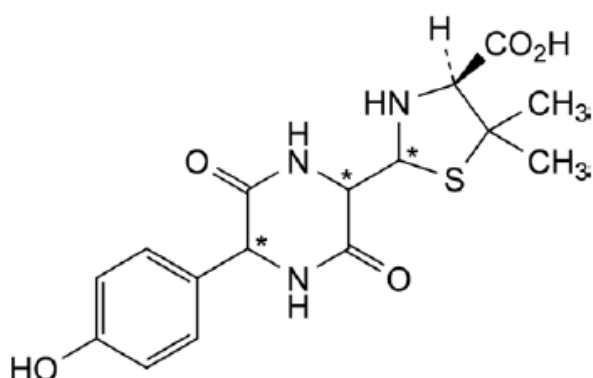


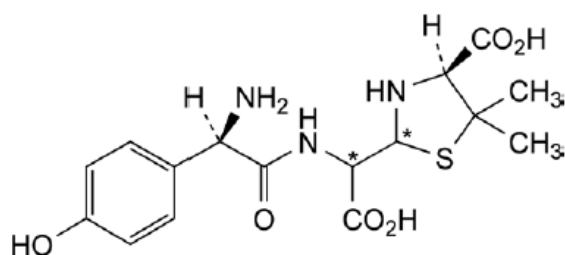
Figure 20 : Chromatogramme de l'amoxicilline sodique 20 mg/mL dégradée dans du chlorure de sodium 0,9 %

Les principaux produits de dégradation de l'amoxicilline sont les impuretés C et D, respectivement définies par la Pharmacopée européenne comme des dicétopipérazines et des acides pénicilloïques d'amoxicilline (Figure 21 et 22), et les impuretés J, des polymères d'amoxicilline (Figure 23), avec un temps de rétention entre 15 et 17,5 min sur le chromatogramme (Figure 20). [Pharmacopée européenne 9.2, 2017a] [LAMM, GOZLAN, ROTSTEIN *et al.*, 2009]



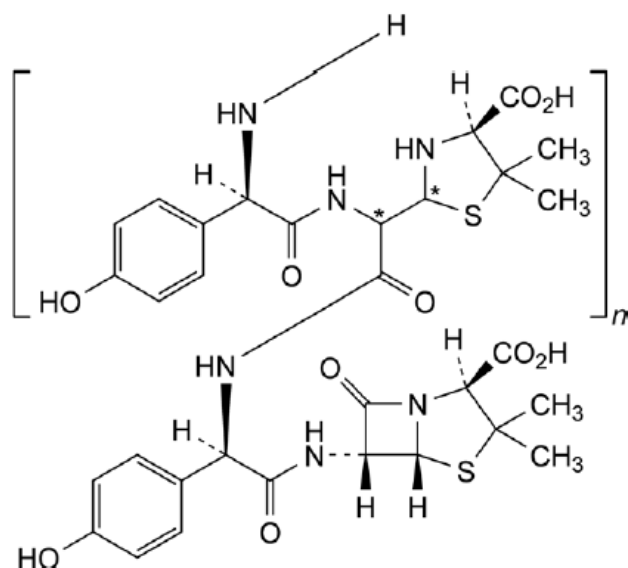
C. acide (4S)-2-[5-(4-hydroxyphényl)-3,6-dioxopipérazin-2-yl]-5,5-diméthylthiazolidine-4-carboxylique (dicétopipérazines d'amoxicilline),

Figure 21: Impureté C de l'amoxicilline



D. acide (4S)-2-[[[(2R)-2-amino-2-(4-hydroxyphényl)-acétyl]amino]carboxyméthyl]-5,5-diméthylthiazolidine-4-carboxylique (acides pénicilloïques d'amoxicilline),

Figure 22 : Impureté D de l'amoxicilline



J. cooligomères d'amoxicilline et d'acides pénicilloïques d'amoxicilline,

Figure 23 : Impuretés J de l'amoxicilline

## 2. Test de linéarité

Tableau XI : Résultats du test de linéarité pour l'amoxicilline sodique

Soluté de dilution	NaCl 0,9 %	NaCl 0,9 % + phénol 0,4 %
<b>Pente</b>	$2,79.10^7 \pm 1.10^5$	$2,58.10^7 \pm 1.10^5$
<b>Ordonnée à l'origine</b>	$5.10^5 \pm 4.10^5$	$-5.10^5 \pm 8.10^5$
<b>Test de l'existence d'une pente significative</b>	Hautement significatif ( $p < 0,001$ )	Hautement significatif ( $p < 0,001$ )
<b>Test de validité de la pente</b>	Valide au risque 5%	Valide au risque 5%
<b>Coefficient de corrélation</b>	0,999983	0,999927
<b>Comparaison des pentes</b>	Différence significative au risque 5 %	
<b>Comparaison des ordonnées à l'origine</b>	Absence de différence significative au risque 5 %	

La comparaison des équations de droite montre une différence au risque 5 % entre les 2 solvants de dilution utilisés. Le phénol interfère avec le dosage de l'amoxicilline. (Tableau XI)

### 3. Stabilité de l'amoxicilline sodique

Tableau XII : Stabilité de l'amoxicilline sodique à différentes concentrations et dans différents solvants

	J0	J1	J2	J7
<b>Reconstitué</b>				
<b>200 mg/mL dilué 10e phase A</b>	100,0%	97,8 ± 0,7 %	27,7 ± 0,9 %	9,5 ± 0,1 %
<b>NaCl 0,9 %</b>				
<b>20 mg/mL</b>	100,0%	95,1 ± 0,2 %	91,2 ± 0,1 %	75,4 ± 0,2 %
<b>2 mg/mL</b>	100,0%	99,6 ± 0,1 %	99,0 ± 0,1 %	97,1 ± 0,1 %
<b>0,2 mg/mL</b>	100,0%	99,8 ± 0,1 %	100,7 ± 0,8 %	100,3 ± 0,2%
<b>0,02 mg/mL</b>	100,0%	99,7 ± 1,1 %	99,5 ± 0,7 %	99,6 ± 1,4 %
<b>0,002 mg/mL</b>	100,0%	101,1 ± 1,2 %	100,9 ± 0,8 %	99,9 ± 0,3 %
<b>NaCl 0,9 % + phénol 0,4 %</b>				
<b>20 mg/mL</b>	100,0%	94,5 ± 0,1 %	89,2 ± 0,4 %	71,4 ± 0,4 %
<b>2 mg/mL</b>	100,0%	92,0 ± 0,9 %	84,4 ± 1,2 %	66,5 ± 2,2 %
<b>0,2 mg/mL</b>	100,0%	94,3 ± 1,0 %	89,5 ± 0,7 %	76,2 ± 1,6 %
<b>0,02 mg/mL</b>	100,0%	97,9 ± 0,4 %	96,6 ± 0,8 %	93,4 ± 0,8 %
<b>0,002 mg/mL</b>	100,0%	101,1 ± 1,3 %	99,6 ± 1,2 %	101,2 ± 1,6 %

La stabilité de l'amoxicilline seule est variable selon la concentration et le solvant considéré (Tableau XII).

Après reconstitution, soit 200 mg/mL, nous montrons 24h de stabilité.

#### *a. Dans le sérum physiologique*

A la plus forte concentration de 20 mg/mL, la stabilité observée est également de 24h. Les données Stabilis® des études se déroulant dans les conditions les plus proches indiquent également quelques heures de stabilité.

Entre 2 µg/mL et 2 mg/mL, nous montrons une stabilité de la molécule sur au moins 7 jours. Des résultats semblables sont retrouvés dans la littérature avec 4 jours dans les mêmes conditions de lumière et de température dans du sérum physiologique pour 5 mg/mL dans une poche de polypropylène. [MULLER et HAKER, 2003]

#### *b. Dans le sérum physiologique + phénol*

Pour les concentrations 0,2, 2 et 20 mg/mL l'amoxicilline sodique n'est pas stable 24h, au moins 2 jours pour la solution à 20 µg/mL et 7 jours pour celle à 2 µg/mL.

Le phénol a donc un impact sur la stabilité en solution de la molécule, et également sur son dosage avec une pente de droite significativement différente (Tableau XI).



## C. Amoxicilline + acide clavulanique

### 1. Chromatogrammes

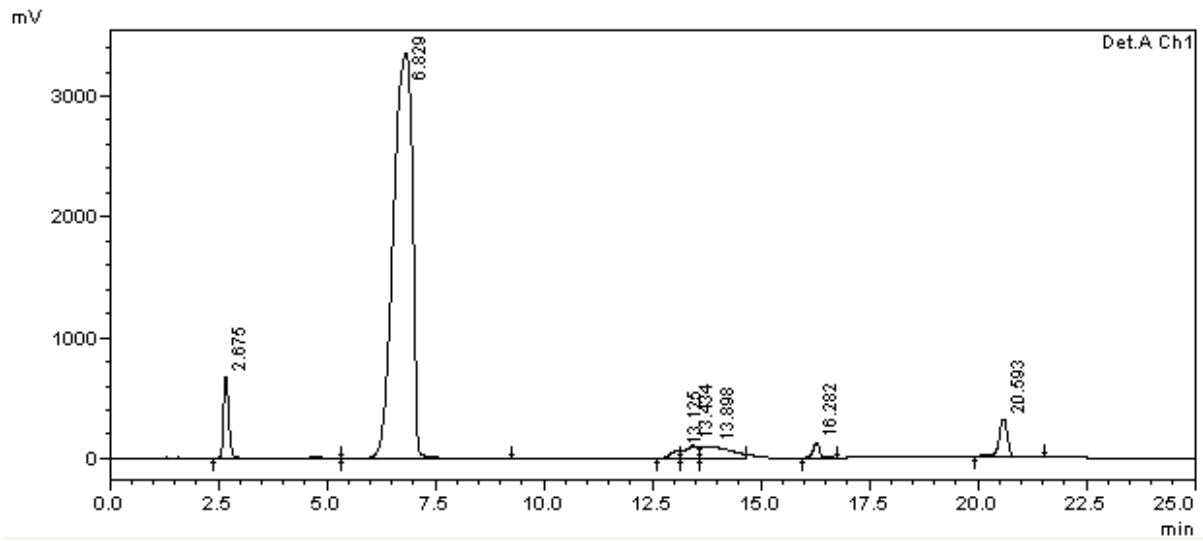


Figure 24 : Chromatogramme de l'amoxicilline sodique 200 mg/mL + clavulanate potassique 20 mg/mL dilué au 10<sup>e</sup> avec la phase mobile

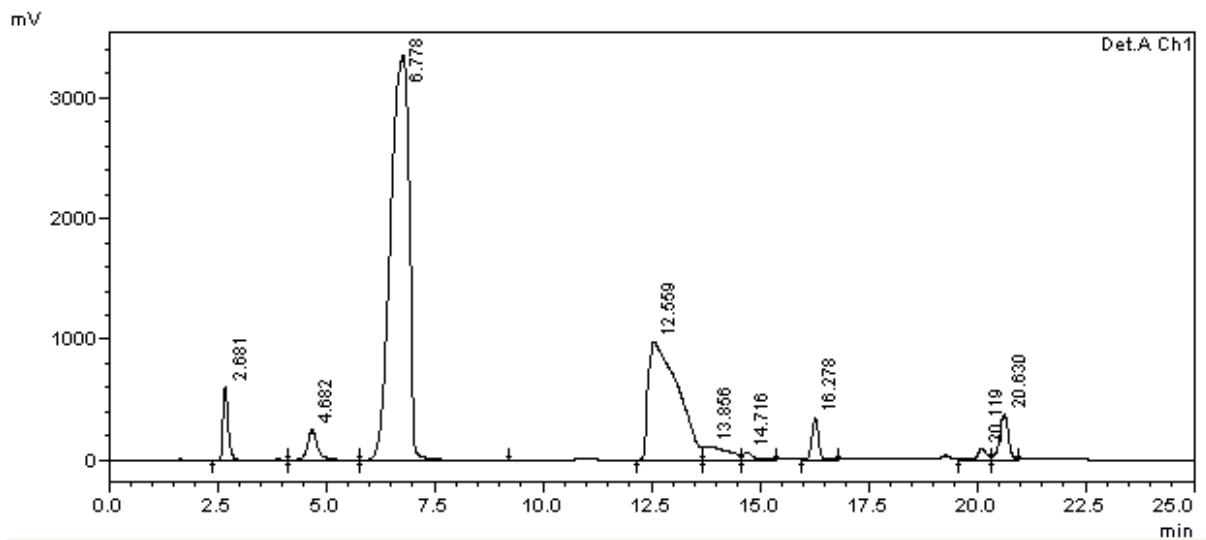
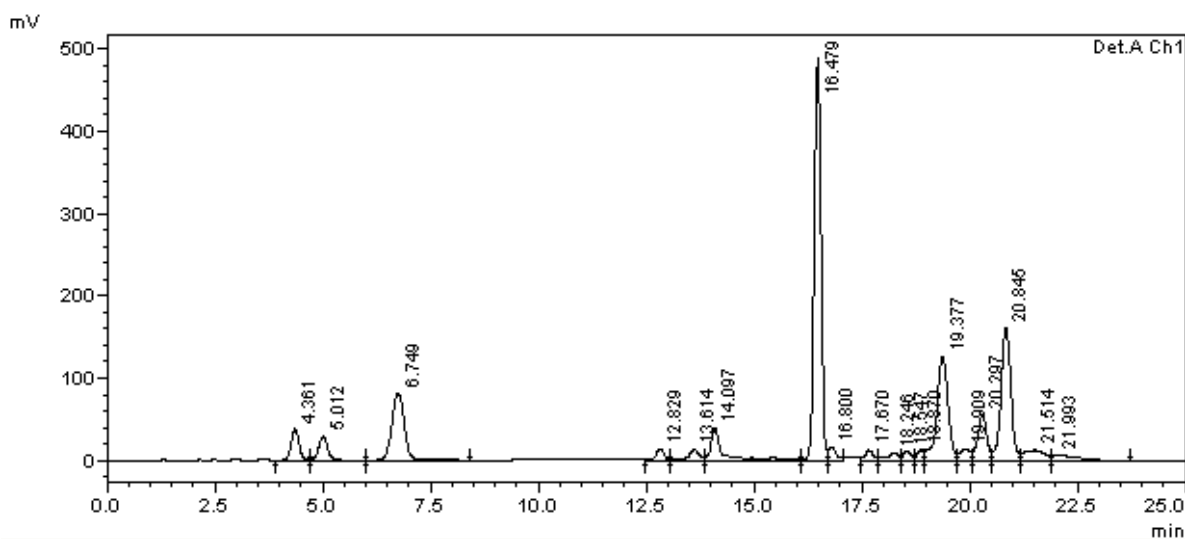


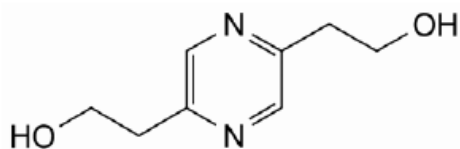
Figure 25 : Chromatogramme de l'amoxicilline sodique 2 mg/mL + clavulanate potassique 0,2 mg/mL dans du chlorure de sodium 0,9 % + phénol 0,4 %



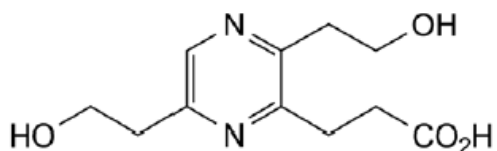
**Figure 26 : Chromatogramme de l'amoxicilline sodique 100 mg/mL +clavulanate potassique 10 mg/mL dégradés**

Sur les figures 24, 25 et 26 nous pouvons voir que le temps de rétention de l'amoxicilline est d'environ 6,7 minutes, celui du clavulanate de 2,7 minutes et le phénol de 12,6 minutes. Les 3 sont donc bien séparés. La solution a été dégradée en la laissant une semaine à la lumière et à température ambiante. Les produits de dégradation sont nombreux mais vu la disparition du pic lié au clavulanate et la faible aire du pic d'amoxicilline, il ne semble pas y avoir de co-élution entre les impuretés et les molécules d'intérêt. Ici aussi le phénol est co-élué avec des impuretés.

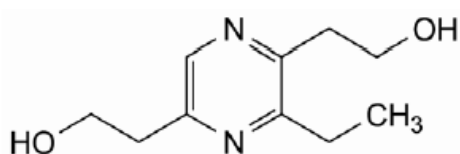
Parmi les principaux produits de dégradation du clavulanate par hydrolyse puis polymérisation on retrouve les impuretés A, B et C (Figure 27).



A. 2,2'-(pyrazine-2,5-diyl)diéthanol,



B. acide 3-[3,6-bis(2-hydroxyéthyl)pyrazin-2-yl]propanoïque,



C. 2,2'-(3-éthylpyrazine-2,5-diyl)diéthanol,

Figure 27 : Impuretés A, B et C du clavulanate potassique

## 2. Test de linéarité sur le clavulanate potassique

Tableau XIII : Résultats du test de linéarité pour le clavulanate potassique

Soluté de dilution	NaCl 0,9 %	NaCl 0,9 % + phénol 0,4 %
Pente	$9,9 \cdot 10^7 \pm 1 \cdot 10^6$	$7,6 \cdot 10^7 \pm 1 \cdot 10^6$
Ordonnée à l'origine	$6 \cdot 10^5 \pm 6 \cdot 10^5$	$1 \cdot 10^6 \pm 1 \cdot 10^6$
Test de l'existence d'une pente significative	Hautement significatif ( $p < 0,001$ )	Hautement significatif ( $p < 0,001$ )
Test de validité de la pente	Valide au risque 5%	Valide au risque 5%
Coefficient de corrélation	0.999663	0.99878
Comparaison des pentes	Différence significative au risque 5 %	
Comparaison des ordonnées à l'origine	Absence de différence significative au risque 5 %	

La comparaison des équations de droite montre une différence au risque 5 % entre les 2 solvants de dilution utilisés. Le phénol semble avoir un impact sur le dosage du clavulanate. (Tableau XIII)

### 3. Stabilité du clavulanate potassique

Tableau XIV : Stabilité du clavulanate potassique à différentes concentrations et dans différents solvants en présence d'amoxicilline sodique

	J0	J1	J4	J7
<b>Reconstitué</b>				
<b>20 mg/mL dilué 10e phase mobile</b>	100,0%	3,0 ± 0,3 %	1,2 ± 0,4 ± 0,7 %	0,1 %
<b>NaCl 0,9 %</b>				
<b>2 mg/mL</b>	100,0%	63,0 ± 0,2 %	5,4 ± 1,6 ± 1,5 %	0,1 %
<b>0,2 mg/mL</b>	100,0%	97,5 ± 0,7 %	2,9 ± 1,5 ± 0,5 %	0,2 %
<b>0,02 mg/mL</b>	100,0%	99,2 ± 0,2 %	1,2 ± 1,1 ± 0,2 %	0,1 %
<b>0,002 mg/mL</b>	100,0%	97,2 ± 0,3 %	<LOQ	<LOQ
<b>0,0002 mg/mL</b>	100,0%	99,3 ± 1,1 %	<LOQ	<LOQ
<b>NaCl 0,9 % + phénol 0,4 %</b>				
<b>2 mg/mL</b>	100,0%	57,9 ± 1,2 %	5,2 ± 1,8 ± 0,3 %	0,1 %
<b>0,2 mg/mL</b>	100,0%	93,7 ± 1,0 %	1,4 ± 1,3 ± 0,1 %	0,1 %
<b>0,02 mg/mL</b>	100,0%	98,1 ± 0,4 %	<LOQ	<LOQ
<b>0,002 mg/mL</b>	100,0%	99,5 ± 0,4 %	<LOQ	<LOQ
<b>0,0002 mg/mL</b>	100,0%	ND	<LOQ	<LOQ

La dégradation du clavulanate potassique est très rapide, 24h après reconstitution il ne reste dans le flacon plus que 3 % de la concentration initiale (Tableau XIV), ce qui concorde avec les recommandations du RCP d'une utilisation extemporanée. Passé 24h, la concentration résiduelle en clavulanate n'est plus quantifiable pour les solutions les plus diluées car inférieure à la limite de quantification (<LOQ).

On montre une différence de stabilité selon le solvant utilisé pour la solution à 0,2 mg/mL mais il ne s'agit que de quelques heures. Dans les 2 cas le clavulanate tient moins de 24h pour la concentration 2 mg/mL, ce qui est cohérent avec les données de la littérature, et environ 24h entre 0,2 µg/mL et 20 µg/mL.

On trouve également des données indiquant que le clavulanate et ses produits de dégradation sont des catalyseurs de sa propre dégradation, d'où la décroissance très rapide de sa concentration, mais qu'il déstabilise également les solutions d'amoxicilline. [BRETHAUER, HELD et PANKE, 2008] [VAHDAT et SUNDERLAND, 2009] Cela se confirme dans notre étude (Tableau XV) où l'on peut constater des durées de stabilités réduites pour les plus fortes concentrations.

Tableau XV : Stabilité de l'amoxicilline sodique à différentes concentrations et dans différents solvants en présence de clavulanate potassique

	J0	J1	J4	J7
<b>Reconstitué</b>				
<b>200 mg/mL dilué 10e phase mobile</b>	100,0%	56,0 ± 1,0 %	28,5 ± 1,2 %	13,4 ± 1,1 %
<b>NaCl 0,9 %</b>				
<b>20 mg/mL</b>	100,0%	93,0 ± 0,5 %	87,0 2,5 %	76,7 ± 5,3 %
<b>2 mg/mL</b>	100,0%	98,9 ± 0,1 %	99,8 ± 0,9 %	88,9 ± 1,4 %
<b>0,2 mg/mL</b>	100,0%	99,3 ± 0,1 %	98,3 ± 0,1 %	97,4 ± 0,6 %
<b>0,02 mg/mL</b>	100,0%	99,9 ± 0,1 %	100,3 ± 0,1 %	100,4 ± 0,2 %
<b>0,002 mg/mL</b>	100,0%	99,9 ± 1,1 %	100,0 ± 1,5 %	99,7 ± 1,3 %
<b>NaCl 0,9 % + phénol 0,4 %</b>				
<b>20 mg/mL</b>	100,0%	91,6 ± 0,3 %	75,7 ± 1,1 %	61,6 ± 0,8 %
<b>2 mg/mL</b>	100,0%	93,0 ± 0,3 %	81,6 ± 1,1 %	67,8 ± 1,7 %
<b>0,2 mg/mL</b>	100,0%	93,3 ± 0,7 %	82,6 ± 0,6 %	69,4 ± 1,5 %
<b>0,02 mg/mL</b>	100,0%	98,9 ± 0,2 %	96,6 ± 0,6 %	91,7 ± 1,2 %
<b>0,002 mg/mL</b>	100,0%	ND	100,9 ± 1,0 %	96,1 ± 0,6 %

## D. Cefotaxime sodique

### 1. Chromatogrammes du cefotaxime sodique

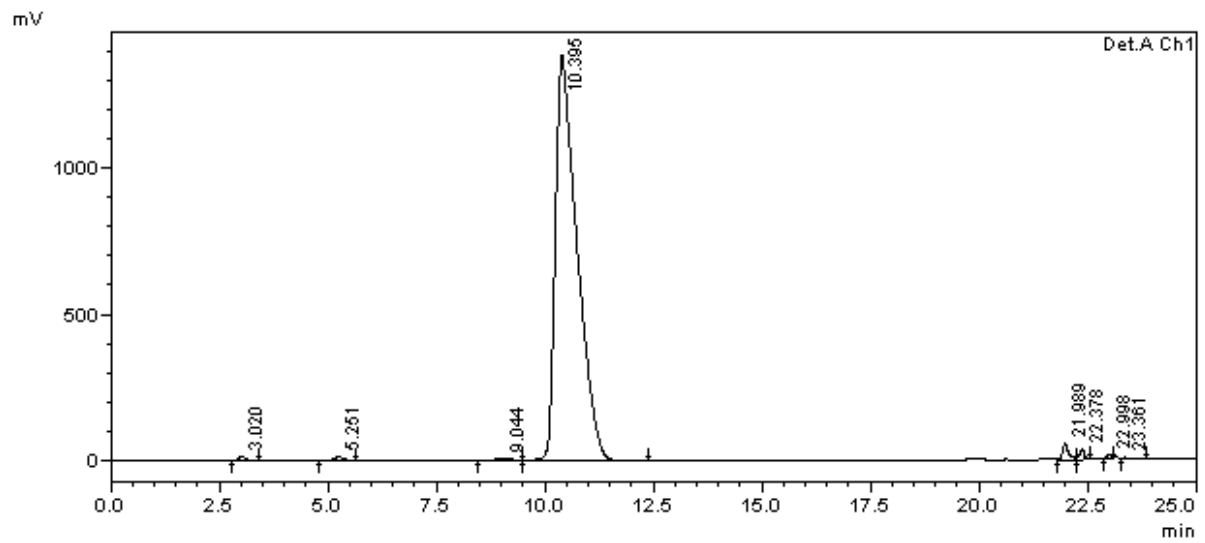


Figure 28 : Chromatogramme du cefotaxime sodique 200 mg/mL dilué au 10e avec la phase mobile

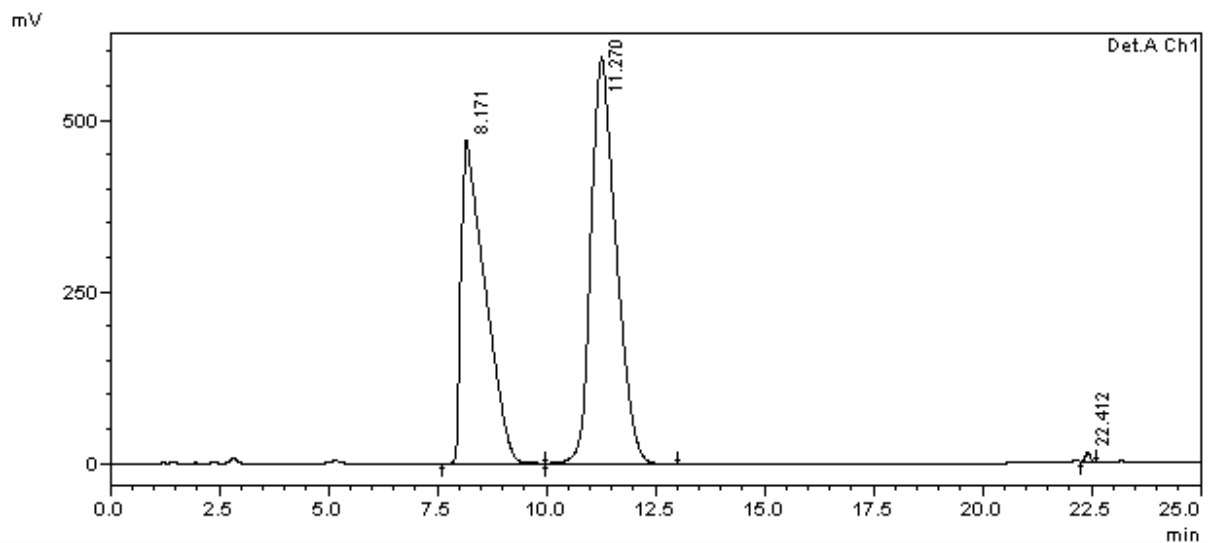
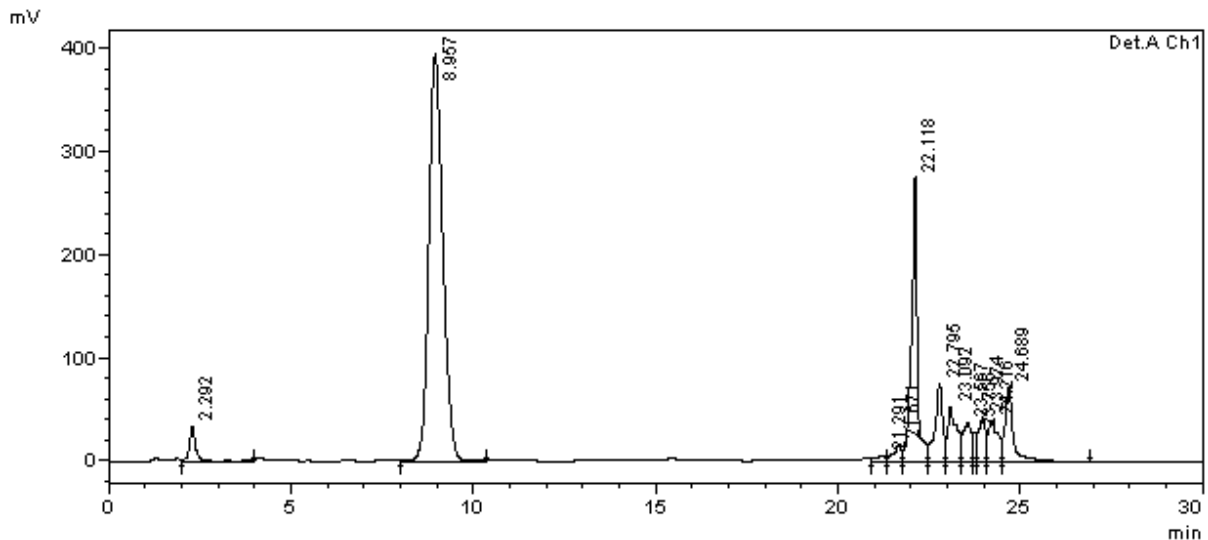


Figure 29 : Chromatogramme du cefotaxime sodique 0,2 mg/mL dans du chlorure de sodium 0,9 % + phénol 0,4 %



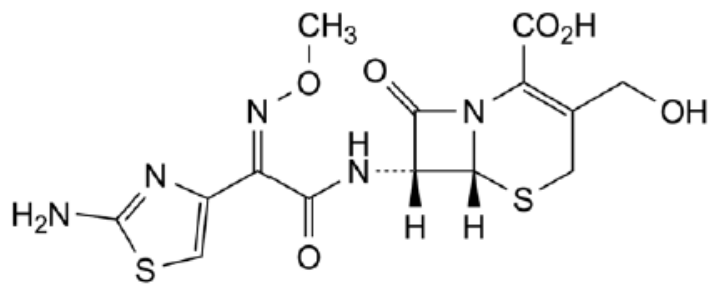
**Figure 30 : Chromatogramme du cefotaxime sodique 200 mg/mL dégradé**

Les figures 28 et 29 permettent de visualiser le cefotaxime avec un temps de rétention d'environ 10,5 minutes et le phénol avec un temps de rétention de 8 minutes.

Les principales impuretés du cefotaxime observés sur la Figure 30 sont

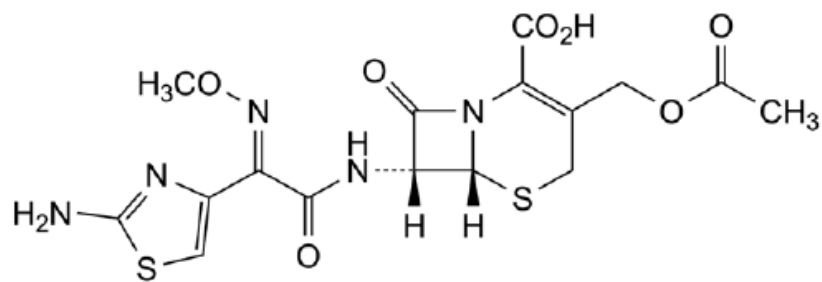
- l'impureté B ( $t_R$  environ 2,3 min) qui est un produit de dégradation obtenu par desacétylation du cefotaxime (Figure 31)
- et un groupe impuretés avec des temps de rétention entre 20 et 25 minutes. Il peut s'agir d'impuretés de synthèse car présents dès J0 ou de produits de dégradation. On y retrouve notamment l'impureté D (Figure 32) qui est un isomère de position du cefotaxime et l'impureté F (Figure 33) qui est un dimère du cefotaxime. [BERGE, HENDERSON et FRANK, 1983] [FABRE, EDDINE et BERGE, 1984] [Pharmacopée européenne 9.2, 2017d]





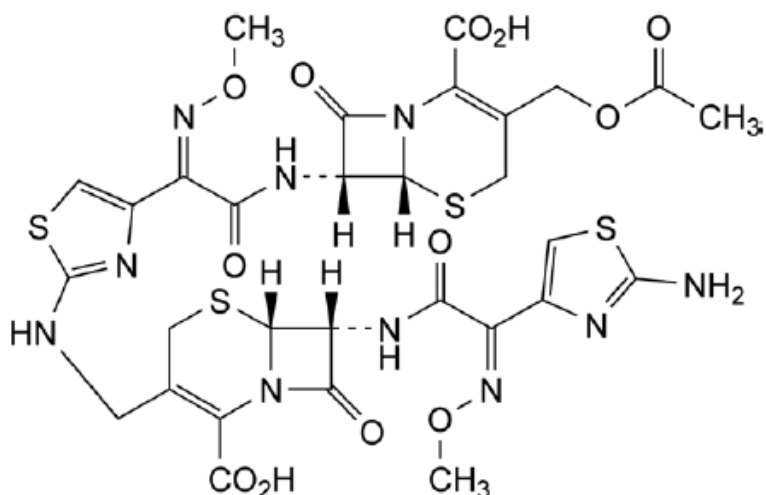
B. acide (6*R*,7*R*)-7-[[*(2Z)*]-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(méthoxyimino)acétyl]amino]-3-(hydroxyméthyl)-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-ène-2-carboxylique (désacétylcéfotaxime),

Figure 31 : Impureté B du cefotaxime



D. acide (6*R*,7*R*)-3-[(acétyloxy)méthyl]-7-[[*(2E)*]-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(méthoxyimino)acétyl]amino]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-ène-2-carboxylique (*(E)*-céfotaxime),

Figure 32 : Impureté D du cefotaxime



F. acide (6*R*,7*R*)-3-[(acétyloxy)méthyl]-7-[[[(2*Z*)-2-[2-[[[(6*R*,7*R*)-7-[[[(2*Z*)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(méthoxyimino)acétyl]amino]-2-carboxy-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-én-2-yl]méthyl]amino]thiazol-4-yl]-2-(méthoxyimino)acétyl]amino]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-ène-2-carboxylique (dimère de la céfotaxime),

Figure 33 : Impureté F du cefotaxime

## 2. Test de linéarité du cefotaxime sodique

Tableau XVI : Résultats du test de linéarité pour le cefotaxime sodique

Soluté de dilution	NaCl 0,9 %	NaCl 0,9 % + phénol 0,4 %
Pente	$2,94.10^8 \pm 2.10^6$	$3,15.10^8 \pm 4.10^6$
Ordonnée à l'origine	$-4.10^7 \pm 2.10^7$	$-5.10^7 \pm 4.10^7$
Test de l'existence d'une pente significative	Hautement significatif ( $p < 0,001$ )	Hautement significatif ( $p < 0,001$ )
Test de validité de la pente	Non valide au risque 5% (erreur expé trop faible)	Valide au risque 5%
Coefficient de corrélation	0.999718	0.998995
Comparaison des pentes	Différence significative au risque 5 %	
Comparaison des ordonnées à l'origine	Absence de différence significative au risque 5 %	

La comparaison des équations de droite montre une différence au risque 5 % entre les 2 solvants de dilution utilisés. Le phénol semble avoir un impact sur le dosage du cefotaxime. (Tableau XVI)

### 3. Stabilité du cefotaxime

Tableau XVII : Stabilité du cefotaxime sodique à différentes concentrations et dans différents solvants

	J0	J1	J3	J7
<b>NaCl 0,9 %</b>				
<b>20 mg/mL dilué 10e phase mobile</b>	100,0%	98,1 ± 1,5 %	97,9 ± 1,9 %	97,4 ± 3,3 %
<b>2 mg/mL</b>	100,0%	99,1 ± 0,8 %	98,4 ± 0,5 %	96,7 ± 2,4 %
<b>0,2 mg/mL</b>	100,0%	99,2 ± 0,1 %	98,5 ± 0,3 %	98,1 ± 0,1 %
<b>0,02 mg/mL</b>	100,0%	98,9 ± 0,3 %	97,0 ± 3,4 %	98,5 ± 0,3 %
<b>0,002 mg/mL</b>	100,0%	97,4 ± 2,9 %	97,1 ± 2,7 %	99,7 ± 5,3 %
<b>NaCl 0,9 % + phénol 0,4 %</b>				
<b>20 mg/mL dilué 10e phase mobile</b>	100,0%	99,0 ± 2,8 %	97,5 ± 8,4 %	99,7 ± 6,2 %
<b>2 mg/mL</b>	100,0%	101,2 ± 1,7 %	99,3 ± 1,7 %	98,6 ± 1,3 %
<b>0,2 mg/mL</b>	100,0%	101,4 ± 2,2 %	101,6 ± 3,7 %	100,8 ± 3,3 %
<b>0,02 mg/mL</b>	100,0%	101,9 ± 3,7 %	101,6 ± 2,2 %	101,0 ± 2,6 %
<b>0,002 mg/mL</b>	100,0%	101,3 ± 0,9 %	97,4 ± 3,4 %	95,9 ± 5,8 %

La plus forte concentration en cefotaxime, 200 mg/mL, n'est pas présentée ici à cause d'un problème de pipette. Il n'y a pas non plus de données à cette concentration sur Stabilis® et le RCP du produit recommande une utilisation immédiate après reconstitution. Cependant une étude préliminaire, réalisée il y a 2 ans avec des concentrations et des conditions de conservation identiques ainsi que la même méthode d'analyse retrouvait les résultats suivants pour la concentration 200 mg/mL : 99,2 % à J1, 97,1 % à J4 et 94,7 % à J7. L'expérience avait été réalisée en n=1, il n'y a donc pas d'écart type. Les autres résultats étaient semblables à ceux de cette étude.

Dans cette étude le cefotaxime sodique est stable entre 2 µg/mL et 20 mg/mL pendant au moins 7 jours et pour les 2 solvants testés. Cela est cohérent avec ce qui est retrouvé dans la littérature, jusqu'à 22 jours pour une concentration de 10 mg/mL à 4 °C et à l'abri de la lumière dans du sérum physiologique et une poche de PVC. [DAS GUPTA, 1984]

## E. Ceftriaxone sodique

### 1. Chromatogrammes de la ceftriaxone sodique

Les temps de rétention observés sont respectivement pour la ceftriaxone et le phénol de 4,5 min et 2,5 min. (Figures 34 et 35)

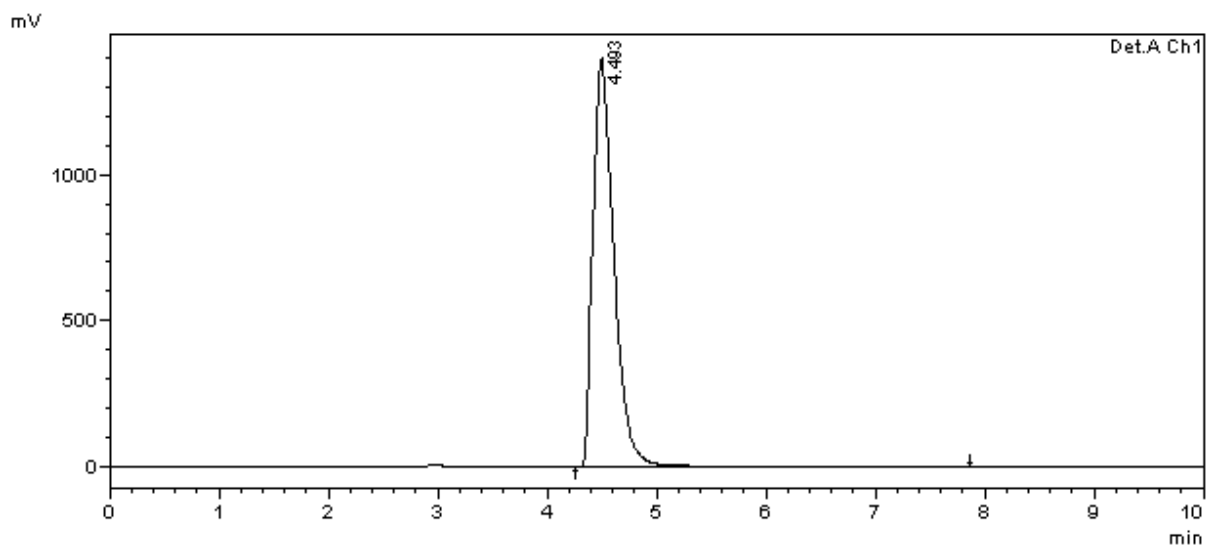
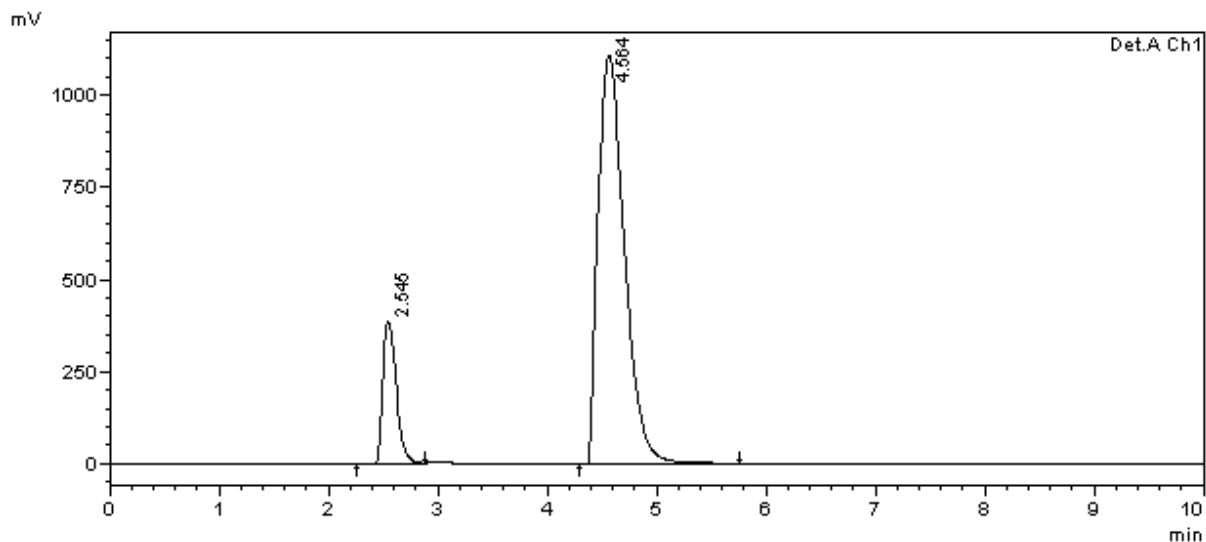
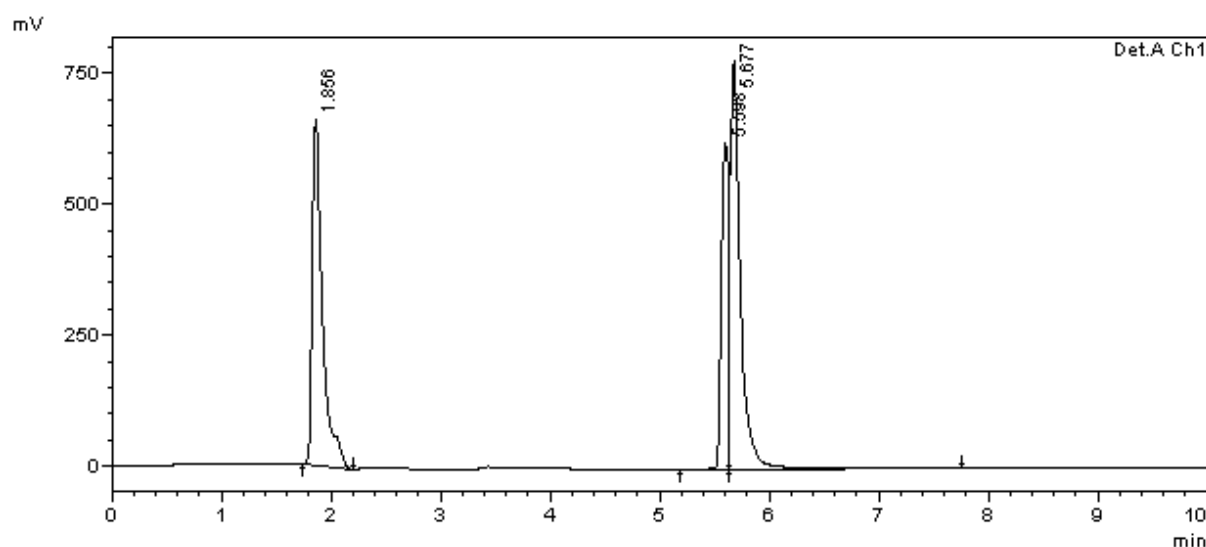


Figure 34 : Chromatogramme de la ceftriaxone sodique 200 mg/mL diluée au 100e avec la phase mobile



**Figure 35 : Chromatogramme de la ceftriaxone sodique 2 mg/mL dans du chlorure de sodium 0,9 % + phénol 0,4 % dilué au 10e avec la phase mobile**



**Figure 36 : Chromatogramme de la ceftriaxone sodique 0,02 mg/mL dans du chlorure de sodium 0,9 % sans dilution au 10e avec la phase mobile**

La figure 36 montre la nécessité pour la ceftriaxone de diluer l'échantillon avec de la phase mobile avant injection dans le système chromatographique. En effet la phase mobile contient des contre-ions, permettant d'augmenter le temps de rétention de la ceftriaxone et d'améliorer la séparation. En l'absence de dilution préalable, un pic de ceftriaxone peu ou pas retenu par la colonne apparait avant 2 min. L'autre partie qui a quand même été retenue par la colonne ressort plus tard et sous la forme d'un pic double.

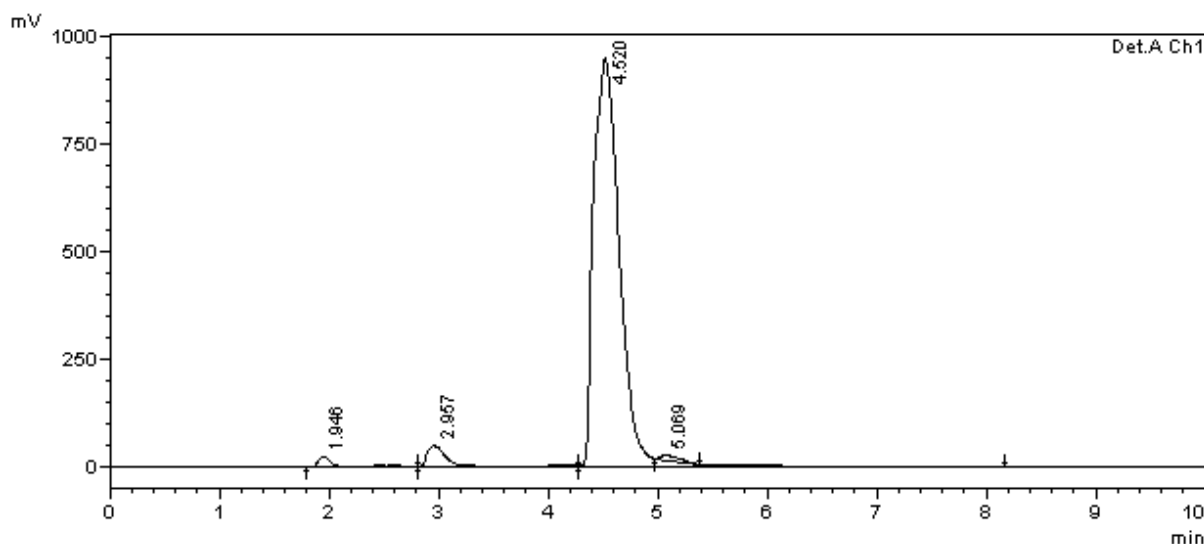
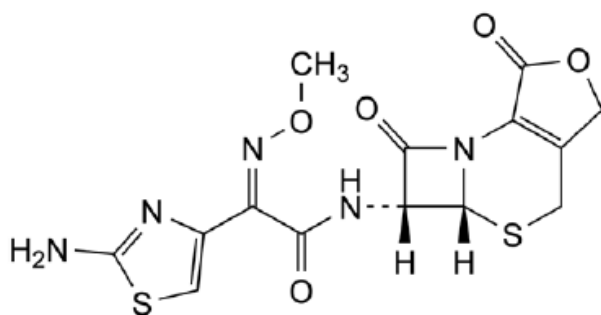


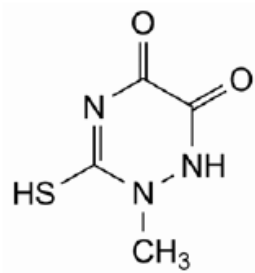
Figure 37 : Chromatogramme de la ceftriaxone sodique 200 mg/mL dégradée diluée au 100e avec la phase mobile

A défaut d'informations sur les temps de rétention des impuretés dans la Pharmacopée européenne, les impuretés retrouvées sur le chromatogramme (Figure 37) ne sont pas identifiées avec certitude. En comparant nos chromatogrammes à ceux d'une autre étude [KUMAR, RAO et NAIDU, 2010], le pic à 2 minutes peut être l'impureté B (Figure 38) et celui à 3 minutes l'impureté C (Figure 39), les deux se formant lors de l'hydrolyse de la molécule de ceftriaxone. [ZAJAC et MUSZALSKA, 1998] [Pharmacopée européenne 9.2, 2017e]



B. (5a*R*,6*R*)-6-[[*(2Z)*-(2-aminothiazol-4-yl)(méthoxyimino)-acétyl]amino]-5a,6-dihydro-3*H*,7*H*-azéto[2,1-*b*]furo[3,4-*d*][1,3]thiazine-1,7(4*H*)-dione,

Figure 38 : Impureté B de la ceftriaxone



### C. 2-méthyl-3-sulfanyl-1,2-dihydro-1,2,4-triazine-5,6-dione,

Figure 39 : Impureté C de la ceftriaxone

#### 2. Test de linéarité sur la ceftriaxone sodique

Tableau XVIII : Résultats du test de linéarité pour la ceftriaxone sodique

Soluté de dilution	NaCl 0,9 %	NaCl 0,9 % + phénol 0,4 %
<b>Pente</b>	$3,7 \cdot 10^7 \pm 1 \cdot 10^6$	$3,7 \cdot 10^7 \pm 1 \cdot 10^6$
<b>Ordonnée à l'origine</b>	$7 \cdot 10^5 \pm 4 \cdot 10^5$	$5 \cdot 10^5 \pm 8 \cdot 10^5$
<b>Test de l'existence d'une pente significative</b>	Hautement significatif ( $p < 0,001$ )	Hautement significatif ( $p < 0,001$ )
<b>Test de validité de la pente</b>	Valide au risque 5%	Valide au risque 5%
<b>Coefficient de corrélation</b>	0.99999	0.999958
<b>Comparaison des pentes</b>	Absence de différence significative au risque 5 %	
<b>Comparaison des ordonnées à l'origine</b>	Absence de différence significative au risque 5 %	

Le phénol 0,4 % dans le sérum physiologique n'interfère pas avec le dosage de la ceftriaxone sodique : on ne montre pas de différences significatives entre les 2 équations de droite (Tableau XVIII).

### 3. Stabilité de la ceftriaxone sodique

Tableau XIX : Stabilité de la ceftriaxone sodique à différentes concentrations et dans différents solvants

	J0	J4	J7
<b>Reconstitué</b>			
<b>200 mg/mL dilué 10e phase mobile</b>	100,0%	97,7 ± 0,3 %	79,9 ± 4,9 %
<b>NaCl 0,9 %</b>			
<b>20 mg/mL dilué 10e phase mob</b>	100,0%	99,1 ± 1,2 %	82,2 ± 4,1 %
<b>2 mg/mL dilué 10e phase mob</b>	100,0%	98,4 ± 0,3 %	98,4 ± 2,3 %
<b>0,2 mg/mL dilué 10e phase mob</b>	100,0%	99,4 ± 0,4 %	100,5 ± 1,1 %
<b>0,02 mg/mL dilué 10e phase mob</b>	100,0%	99,3 ± 0,5 %	99,0 ± 0,5 %
<b>0,002 mg/mL dilué 10e phase mob</b>	100,0%	99,4 ± 2,0 %	100,3 ± 1,7 %
<b>NaCl 0,9 % + phénol 0,4 %</b>			
<b>20 mg/mL dilué 10e phase mob</b>	100,0%	98,4 ± 0,3 %	86,3 ± 2,8 %
<b>2 mg/mL dilué 10e phase mob</b>	100,0%	98,7 ± 0,8 %	102,6 ± 2,8 %
<b>0,2 mg/mL dilué 10e phase mob</b>	100,0%	97,6 ± 0,4 %	100,0 ± 0,9 %
<b>0,02 mg/mL dilué 10e phase mob</b>	100,0%	100,2 ± 2,1 %	99,5 ± 2,3%
<b>0,002 mg/mL dilué 10e phase mob</b>	100,0%	96,8 ± 1,1 %	98,0 ± 0,7 %

Après reconstitution, notre étude montre une stabilité d'au moins 4 jours pour la concentration à 200 mg/mL mais pas jusqu'à 7 jours. Cela est en contradiction avec les données de la littérature qui annoncent 10 à 40 jours de stabilité dans des conditions proches [BAILEY, CAPPEL ET OROSZ, 1994]. Cela est également en contradiction avec l'étude préalable réalisée il y a 2 ans dans laquelle on retrouvait 99,7 % à J7 (n=1). Cet écart



pourrait s'expliquer par une cristallisation due aux fortes concentrations avec un défaut de remise en suspension / resolubilisation avant injection, ou à un contact avec le fond du réfrigérateur qui aurait engendré des cycles de congélation-décongélation de certains flacons.

On retrouve le même phénomène pour la concentration 20 mg/mL pour les 2 diluants, stable jusqu'à J4, non stable à J7. Le résultat est également contradictoire et les explications possibles identiques.

Les solutions sont stables au moins 7 jours entre 2 µg/mL et 2 mg/mL avec les 2 solvants testés.

## F. Cefazoline sodique

### 1. Chromatogrammes de la cefazoline sodique

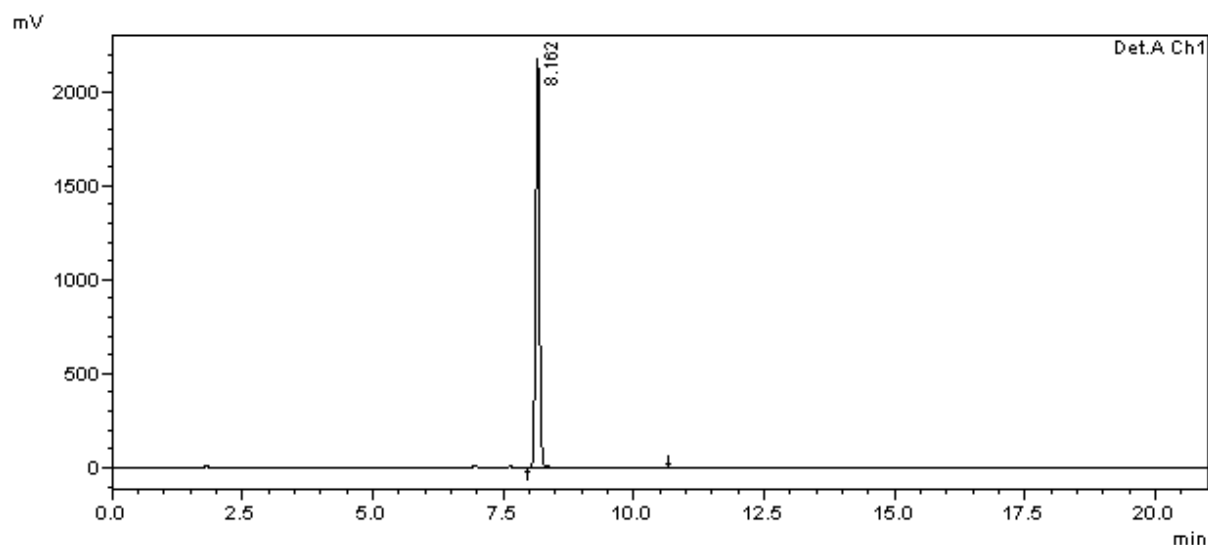


Figure 40 : Chromatogramme de la cefazoline sodique 200 mg/mL diluée au 100<sup>e</sup> dans la phase mobile

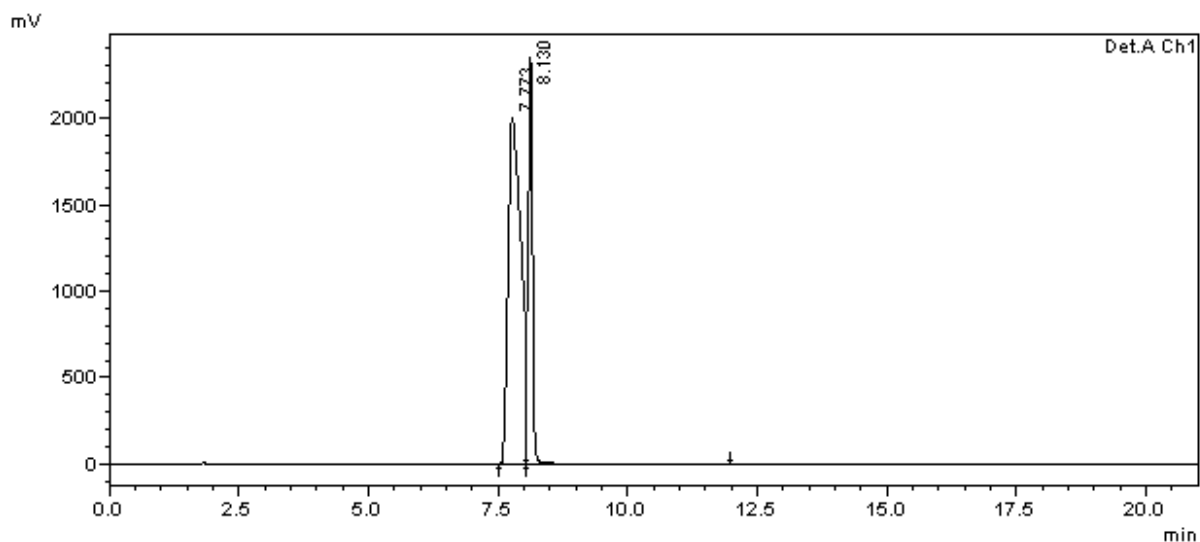


Figure 41 : Chromatogramme de la cefazoline sodique 0,2 mg/mL dans du chlorure de sodium 0,9 % + phénol 0,4 %

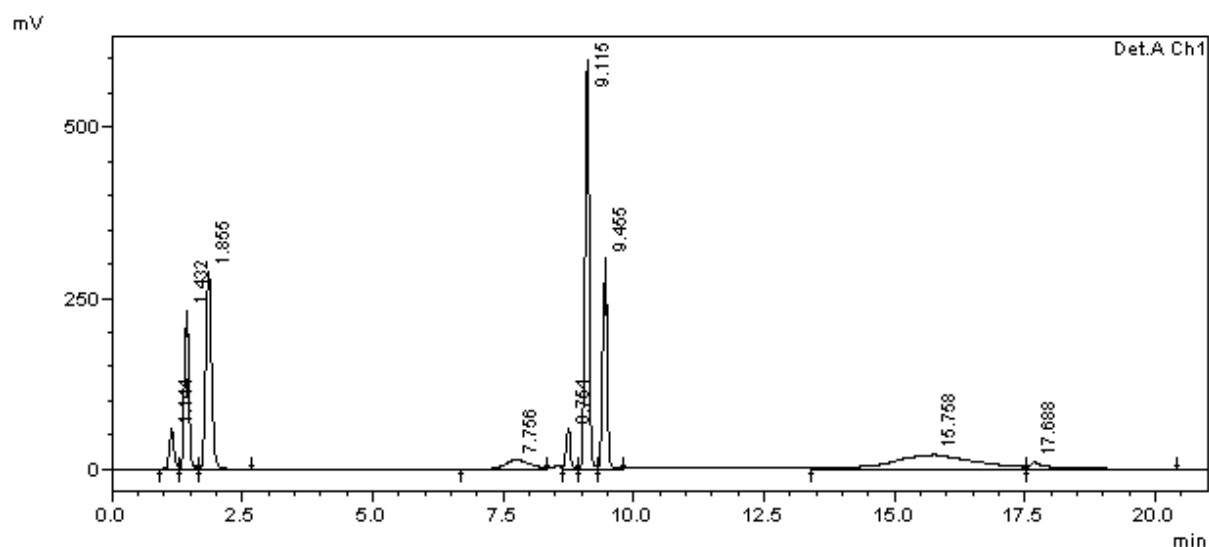


Figure 42 : Chromatogramme de la cefazoline sodique 2 mg/mL dégradée par NaOH

La figure 40 montre que la cefazoline a un temps de rétention d'environ 8 minutes. Malheureusement le phénol est co-élué avec l'antibiotique, la séparation est insuffisante et la modification des paramètres autorisés par la Pharmacopée n'a pas suffi à obtenir une résolution satisfaisante (Figure 41). Les seuls résultats présentés sont donc les dosages dans le chlorure de sodium 0,9 %, sans phénol.

Pour la cefazoline sodique la Pharmacopée européenne comprend un essai de dégradation en milieu basique assorti d'un chromatogramme type qui permet l'identification des différents

pics observés. Le profil de dégradation de la cefazoline avec de la soude est conforme avec ce qui est attendu par la Pharmacopée européenne. (Figure 42)

## 2. Test de linéarité sur la cefazoline sodique

Tableau XX : Résultats du test de linéarité pour la cefazoline sodique

Soluté de dilution	NaCl 0,9 %
Pente	$2,21 \cdot 10^8 \pm 4 \cdot 10^5$
Ordonnée à l'origine	$-1 \cdot 10^6 \pm 3 \cdot 10^6$
Test de l'existence d'une pente significative	Hautement significatif ( $p < 0,001$ )
Test de validité de la pente	Valide au risque 5%
Coefficient de corrélation	0.999982

Le pic de phénol n'étant pas séparé de celui de la cefazoline, nous n'avons pas pu réaliser de dosage dans le solvant sérum physiologique + phénol 0,4 %, il n'y a donc pas de droites à comparer. (Tableau XX)

## 3. Stabilité de la cefazoline sodique

Tableau XXI : Stabilité de la cefazoline sodique à différentes concentrations

	J0	J2	J7
<b>Reconstitué</b>			
<b>200 mg/mL dilué 100e phase mobile</b>	100,0%	101,0 ± 1,2 %	100,7 ± 1,4 %
<b>NaCl 0,9 %</b>			
<b>20 mg/mL dilué 10e phase mobile</b>	100,0%	98,5 ± 0,3 %	98,3 ± 0,2 %
<b>2 mg/mL</b>	100,0%	100,7 ± 2,6 %	100,5 ± 0,6 %
<b>0,2 mg/mL</b>	100,0%	100,4 ± 0,1 %	99,9 ± 1,0 %
<b>0,02 mg/mL</b>	100,0%	100,8 ± 0,4 %	99,5 ± 1,2%
<b>0,002 mg/mL</b>	100,0%	100,6 ± 1,7 %	97,7 ± 1,2 %

La cefazoline sodique est retrouvée stable au moins 7 jours pour toutes les concentrations considérées, de 2 µg/mL à 200 mg/mL., ce qui est conforme aux données de la littérature. [MULLER, HOWE, FRANK, *et al.*, 2000] (Tableau XXI)

## G. Cefuroxime sodique

### 1. Chromatogrammes du cefuroxime sodique

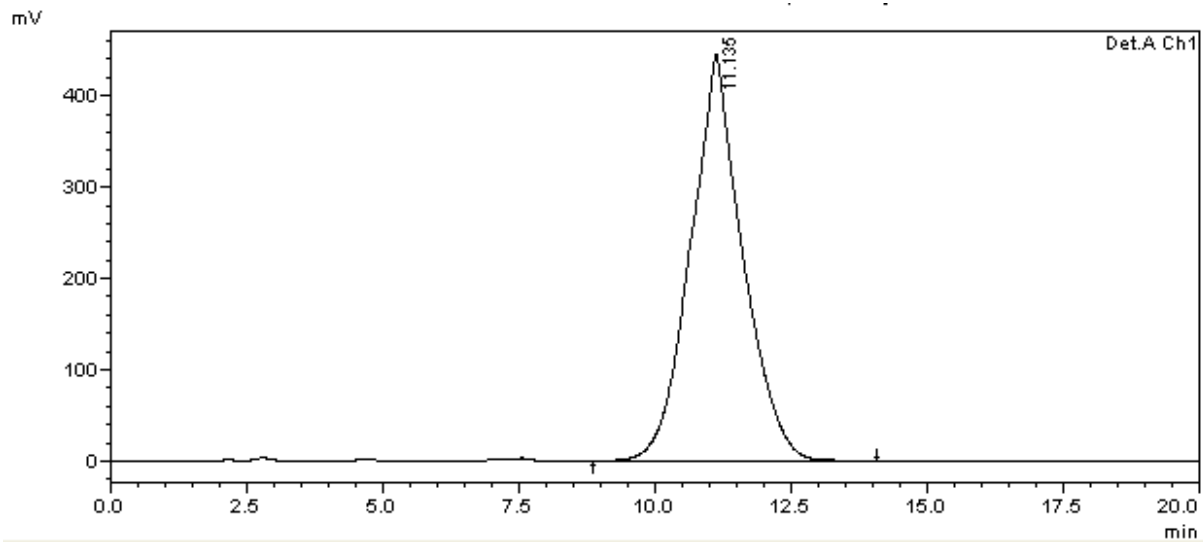


Figure 43 : Chromatogramme du cefuroxime sodique 250 mg/mL diluée au 100e dans la phase mobile

Le temps de rétention du cefuroxime est d'environ 11 min (Figure 43), celui du phénol d'environ 4,3 min. Les 2 pics sont bien séparés. (Figure 44)

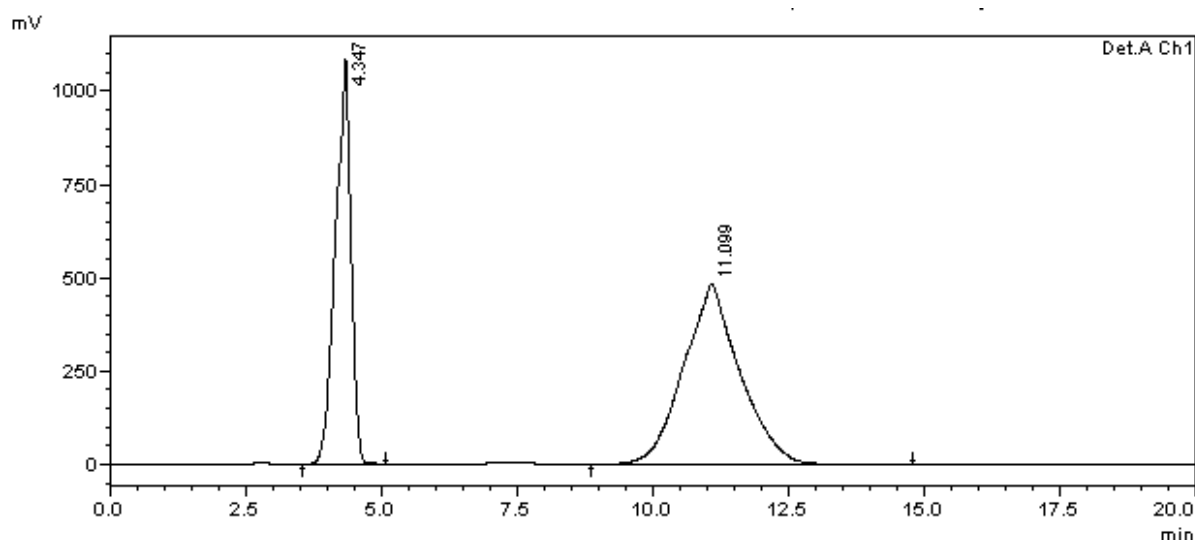


Figure 44 : Chromatogramme du cefuroxime sodique 2,5 mg/mL dans du chlorure de sodium 0,9 % + phénol 0,4 %

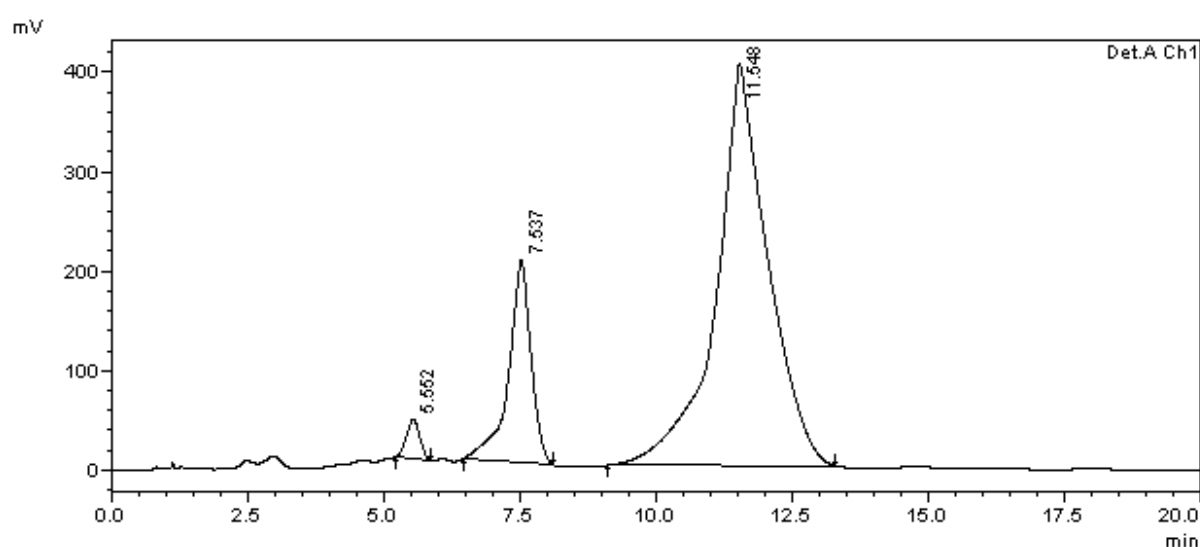
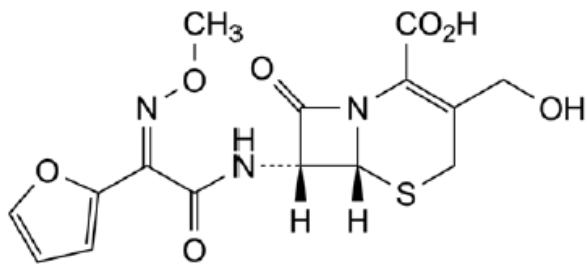


Figure 45 : Chromatogramme du cefuroxime sodique 250 mg/mL dégradation forcée à 80°C diluée au 100e dans la phase mobile

Pour la cefazoline sodique la Pharmacopée européenne comprend un essai de dégradation forcée à 80 °C (Figure 45). 2 pics d'impuretés sont apparus, le pic à 5,5 min n'est pas identifié, le second à 7,5 min correspond à l'impureté A, résultat de l'hydrolyse de la molécule de cefuroxime. (Figure 46) [Pharmacopée européenne 9.2, 2017f] [WANG et NOTARI, 1994]



A. acide (6*R*,7*R*)-7-[[*Z*)-(furan-2-yl)(méthoxyimino)acétyl]-amino]-3-(hydroxyméthyl)-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo-[4.2.0]oct-2-ène-2-carboxylique (descarbamoyl-céfuroxime),

Figure 46 : Impureté A du cefuroxime

## 2. Test de linéarité sur le cefuroxime sodique

Tableau XXII : Résultats du test de linéarité pour le cefuroxime sodique

Soluté de dilution	NaCl 0,9 %	NaCl 0,9 % + phénol 0,4 %
<b>Pente</b>	$1,80 \cdot 10^8 \pm 2 \cdot 10^6$	$1,86 \cdot 10^8 \pm 2 \cdot 10^6$
<b>Ordonnée à l'origine</b>	$-2 \cdot 10^7 \pm 2 \cdot 10^7$	$-3 \cdot 10^7 \pm 2 \cdot 10^7$
<b>Test de l'existence d'une pente significative</b>	Hautement significatif ( $p < 0,001$ )	Hautement significatif ( $p < 0,001$ )
<b>Test de validité de la pente</b>	Valide au risque 5%	Valide au risque 5%
<b>Coefficient de corrélation</b>	0.999055	0.999138
<b>Comparaison des pentes</b>	Absence de différence significative au risque 5 %	
<b>Comparaison des ordonnées à l'origine</b>	Absence de différence significative au risque 5 %	

Les 2 équations de droite (Tableau XXII) ne sont pas significativement différentes, le phénol n'a pas d'impact sur le dosage de la molécule.

### 3. Stabilité du cefuroxime sodique

Tableau XXIII : Stabilité du cefuroxime sodique à différentes concentrations et dans différents solvants

	J0	J2	J6	J7
<b>NaCl 0,9 %</b>				
<b>25 mg/mL dilué 10e phase mobile</b>	100,0%	101,9 ± 4,3 %	83,4 ± 2,2 %	70,8 ± 2,0%
<b>2,5 mg/mL</b>	100,0%	98,3 ± 1,7 %	98,5 ± 0,4 %	98,3 ± 0,6 %
<b>0,25 mg/mL</b>	100,0%	99,2 ± 0,4 %	98,3 ± 0,6 %	98,0 ± 0,7 %
<b>0,025 mg/mL</b>	100,0%	98,3 ± 4,5 %	98,4 ± 0,1 %	97,8 ± 0,1 %
<b>0,0025 mg/mL</b>	100,0%	102,0 ± 5,5 %	100,6 ± 2,5 %	100,8 ± 3,1 %
<b>NaCl 0,9 % + phénol 0,4 %</b>				
<b>25 mg/mL dilué 10e phase mobile</b>	100,0%	99,8 ± 3,9 %	81,6 ± 3,2 %	70,3 ± 2,5 %
<b>2,5 mg/mL</b>	100,0%	100,0 ± 1,1 %	99,1 ± 0,5 %	98,8 ± 0,9 %
<b>0,25 mg/mL</b>	100,0%	98,9 ± 1,6 %	98,0 ± 1,3 %	98,5 ± 0,6 %
<b>0,025 mg/mL</b>	100,0%	101,4 ± 1,7 %	100,4 ± 1,0 %	99,3 ± 1,1 %
<b>0,0025 mg/mL</b>	100,0%	ND	101,9 ± 2,9 %	98,3 ± 5,8 %

La plus forte concentration en cefuroxime, 250 mg/mL, n'est pas présentée ici à cause d'un problème de pipette. Il n'y a pas non plus de données à cette concentration sur Stabilis® et le RCP du produit recommande une utilisation quelques heures après reconstitution. Cependant l'étude préliminaire, réalisée il y a 2 ans retrouvait les résultats suivants pour la concentration 250 mg/mL : 99,9 % à J1, 99,6 % à J4 et 99,1 % à J7. L'expérience avait été réalisée en n=1, il n'y a donc pas d'écart type.

On retrouve des résultats de stabilité semblable avec et sans phénol.

Pour la concentration à 25 mg/mL, on retrouve le même phénomène qu'avec la ceftriaxone ; les solutions sont stables jusqu'à J2 et ne le sont plus à J6 et J7. Ici aussi cela est discordant avec les données de la littérature qui indiquent une stabilité allant de 7 à 30 jours [DAS GUPTA et STEWART, 1986] et les résultats de l'étude préliminaire.

Les concentrations allant de 2,5 µg/mL à 2,5 mg/mL sont stables au moins 7 jours pour les 2 solvants.

## H. Ofloxacin

### 1. Chromatogrammes de l'ofloxacin

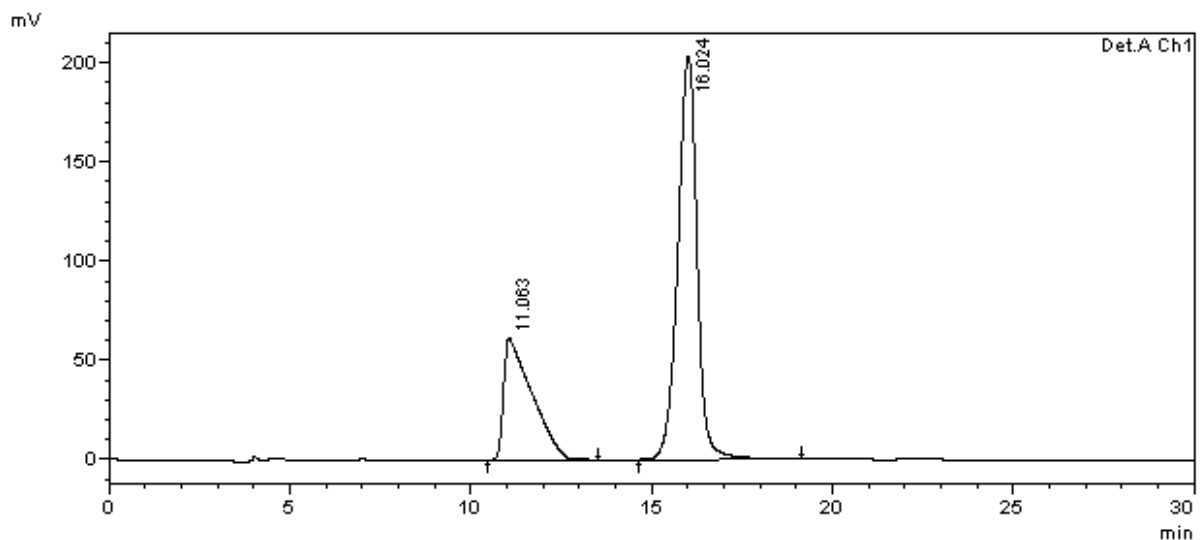


Figure 47 : Chromatogramme de l'ofloxacin 0,005 mg/mL dans du chlorure de sodium 0,9 % + phénol 0,4 %

Les temps de rétention de l'ofloxacin et du phénol sont respectivement de 16 et 11 minutes. (Figure 48)

L'ofloxacin est un racémique de 2 énantiomères. N'utilisant pas de ligand chiral, notre système chromatographique n'est pas capable de les séparer, il n'y a donc qu'un seul pic principal.



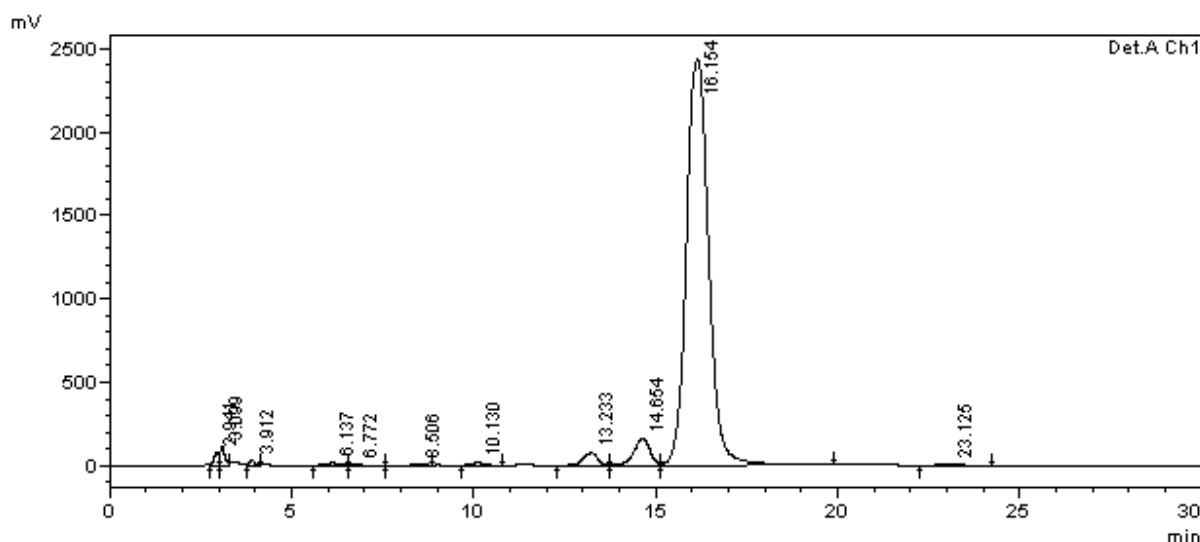


Figure 48 : Chromatogramme de l'ofloxacine 5 mg/mL dégradée à température ambiante et à la lumière pendant 7 jours

L'ofloxacine est sensible à la lumière et ses produits de dégradation potentiels sont nombreux [FRACKOWIAK, KAMINSKI, URBANIAK *et al.*, 2016] et observables sur la figure 49.

## 2. Test de linéarité sur l'ofloxacine

Tableau XXIV : Résultats du test de linéarité pour l'ofloxacine

Soluté de dilution	NaCl 0,9 %	NaCl 0,9 % + phénol 0,4 %
<b>Pente</b>	$1,10 \cdot 10^9 \pm 1 \cdot 10^7$	$1,12 \cdot 10^9 \pm 1 \cdot 10^7$
<b>Ordonnée à l'origine</b>	$4 \cdot 10^6 \pm 3 \cdot 10^6$	$5 \cdot 10^6 \pm 2 \cdot 10^6$
<b>Test de l'existence d'une pente significative</b>	Hautement significatif ( $p < 0,001$ )	Hautement significatif ( $p < 0,001$ )
<b>Test de validité de la pente</b>	Valide au risque 5%	Non valide au risque 5%
<b>Coefficient de corrélation</b>	0.999145	0.999557
<b>Comparaison des pentes</b>	Absence de différence significative au risque 5 %	
<b>Comparaison des ordonnées à l'origine</b>	Absence de différence significative au risque 5 %	

Les 2 équations de droite (Tableau XXIV) ne sont pas significativement différentes, le phénol n'interfère donc pas avec le dosage de l'ofloxacine.

### 3. Stabilité de l'ofloxacin

Tableau XXV : Stabilité de l'ofloxacin à différentes concentrations et dans différents solvants

	J0	J7
<b>Reconstitué</b>		
<b>5 mg/mL</b>	100,0%	102,4 ± 4,4%
<b>NaCl 0,9 %</b>		
<b>0,5 mg/mL</b>	100,0%	96,5 ± 1,7 %
<b>0,05 mg/mL</b>	100,0%	95,6 ± 1,5 %
<b>0,005 mg/mL</b>	100,0%	95,0 ± 5,1 %
<b>0,0005 mg/mL</b>	100,0%	83,0 ± 7,6 %
<b>0,00005 mg/mL</b>	100,0%	81,8 ± 5,3 %
<b>NaCl 0,9 % + phénol 0,4 %</b>		
<b>0,5 mg/mL</b>	100,0%	96,6 ± 5,1 %
<b>0,05 mg/mL</b>	100,0%	96,3 ± 3,9 %
<b>0,005 mg/mL</b>	100,0%	92,6 ± 1,2 %
<b>0,0005 mg/mL</b>	100,0%	87,0 ± 6,8 %
<b>0,00005 mg/mL</b>	100,0%	77,4 ± 2,8 %

La solution d'ofloxacin à 5 mg/mL est stable au moins 7 jours (Tableau XXV), ce qui est conforme aux données de la littérature [BORNSTEIN, KAO, MERCORELLI, *et al.* 1992] et qui est normal vu qu'il s'agit de la spécialité pharmaceutique telle quelle, avec une durée de conservation de 30 mois après fabrication.

Les résultats semblent différer selon le solvant utilisé.

#### *a. Dans le sérum physiologique*

Dans le chlorure de sodium 0,9 %, les solutions sont stables au moins 7 jours entre 5 et 500 µg/mL, les concentrations moyennes retrouvées sont supérieures ou égales à 95,0 %.

Pour les concentrations 0,5 et 0,05 µg/mL, les concentrations moyennes retrouvées sont inférieures à 95,0 %.

#### *b. Dans le sérum physiologique + phénol 0,4 %*

Dans le solvant phénolé, les concentrations 50 et 500 µg/mL sont retrouvées stables au moins 7 jours.

Les concentrations 0,05, 0,5 et 5 µg/mL ne sont pas retrouvées stables 7 jours avec le phénol.

## I. Levofloxacin

### 1. Chromatogrammes de la levofloxacin

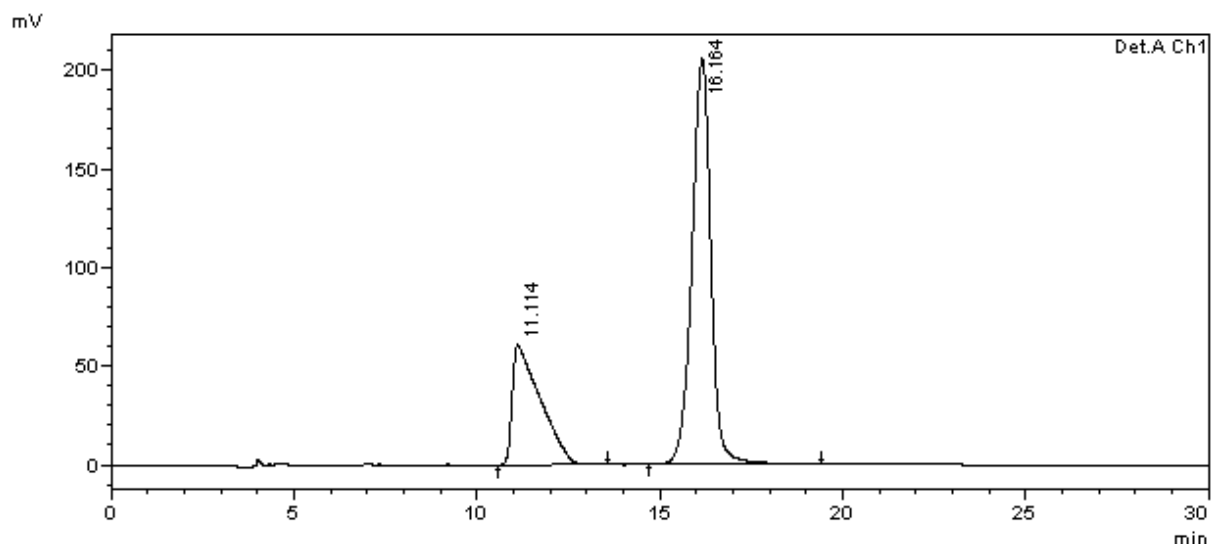


Figure 49 : Chromatogramme de la levofloxacin 0,005 mg/mL dans chlorure de sodium 0,9 % + phénol 0,4 %

Le temps de rétention de la levofloxacin est le même que celui de l'ofloxacin (Figures 48 et 51), s'agissant de la même molécule. La méthode de dosage est identique, le temps de rétention du phénol est donc toujours d'environ 11 minutes.

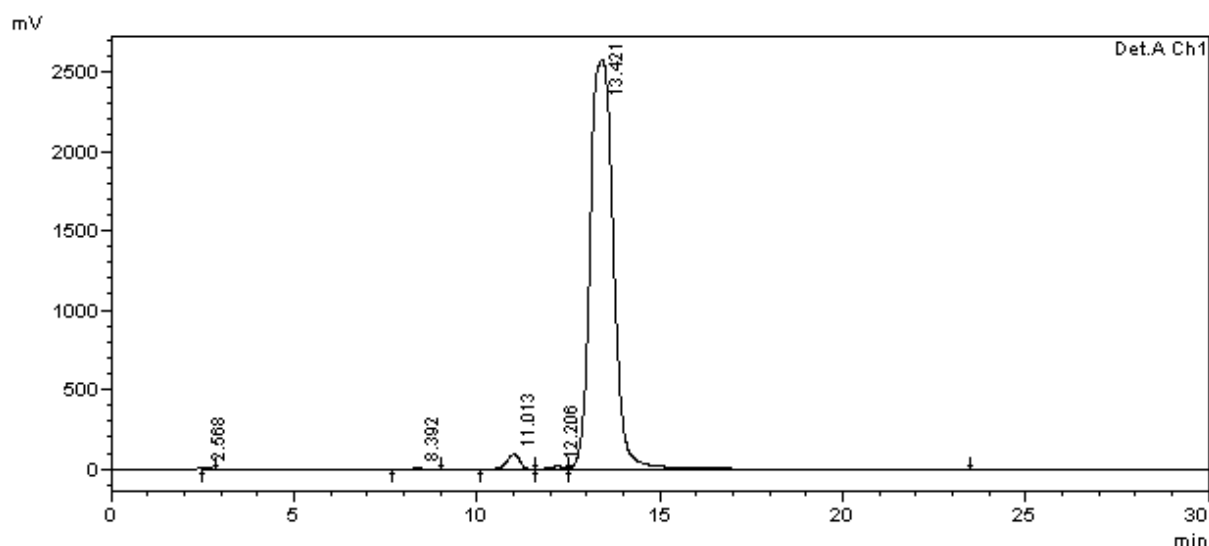


Figure 50 : Chromatogramme de la levofloxacin 5 mg/mL dégradée à température ambiante et à la lumière pendant 7 jours

La levofloxacin se comporte de manière semblable à l'ofloxacin sous l'effet de la lumière avec formation de multiples produits de dégradation. (Figure 52)

## 2. Test de linéarité sur la levofloxacin

Tableau XXVI : Résultats du test de linéarité pour la levofloxacin

Soluté de dilution	NaCl 0,9 %	NaCl 0,9 % + phénol 0,4 %
<b>Pente</b>	$1,17 \cdot 10^9 \pm 2 \cdot 10^7$	$1,14 \cdot 10^9 \pm 2 \cdot 10^7$
<b>Ordonnée à l'origine</b>	$4 \cdot 10^6 \pm 4 \cdot 10^6$	$4 \cdot 10^6 \pm 3 \cdot 10^6$
<b>Test de l'existence d'une pente significative</b>	Hautement significatif ( $p < 0,001$ )	Hautement significatif ( $p < 0,001$ )
<b>Test de validité de la pente</b>	Valide au risque 5%	Valide au risque 5%
<b>Coefficient de corrélation</b>	0.99883	0.998807
<b>Comparaison des pentes</b>	Absence de différence significative au risque 5 %	
<b>Comparaison des ordonnées à l'origine</b>	Absence de différence significative au risque 5 %	

Les 2 équations de droite (Tableau XXVI) ne sont pas significativement différentes, le phénol n'interfère donc pas avec le dosage de la levofloxacin.

### 3. Stabilité de la levofloxacin

Tableau XXVII : Stabilité de la levofloxacin à différentes concentrations et dans différents solvants

	J0	J7
<b>Reconstitué</b>		
<b>5 mg/mL</b>	100,0%	101,6 ± 3,3 %
<b>NaCl 0,9 %</b>		
<b>0,5 mg/mL</b>	100,0%	97,4 ± 3,0 %
<b>0,05 mg/mL</b>	100,0%	96,1 ± 2,5 %
<b>0,005 mg/mL</b>	100,0%	87,1 ± 4,0 %
<b>0,0005 mg/mL</b>	100,0%	91,9 ± 8,3 %
<b>0,00005 mg/mL</b>	100,0%	90,2 ± 9,5 %
<b>NaCl 0,9 % + phénol 0,4 %</b>		
<b>0,5 mg/mL</b>	100,0%	100,9 ± 5,1 %
<b>0,05 mg/mL</b>	100,0%	97,3 ± 1,2 %
<b>0,005 mg/mL</b>	100,0%	97,9 ± 0,8 %
<b>0,0005 mg/mL</b>	100,0%	93,9 ± 1,5 %
<b>0,00005 mg/mL</b>	100,0%	93,0 ± 3,9%

La solution commerciale pure est stable au moins 7 jours d'après notre étude, ce qui coïncide avec la littérature [WILLIAMS, BORNSTEIN ET JOHNSON, 1996] et les données du laboratoire, 24 mois après fabrication.

#### *a. Dans le sérum physiologique*

Ici on retrouve l'inverse de ce qui est observé pour l'ofloxacine, les concentrations 50 et 500 µg/mL sont stables au moins 7 jours, tandis que les 3 concentrations les plus faibles ne le sont pas.

#### *b. Dans le sérum physiologique + phénol 0,4*

Les concentrations allant de 5 à 500 µg/mL sont stables au moins 7 jours, les concentrations 0,05 et 0,5 µg/mL ne le sont pas.

## J. Ciprofloxacine

### 1. Chromatogrammes de la ciprofloxacine

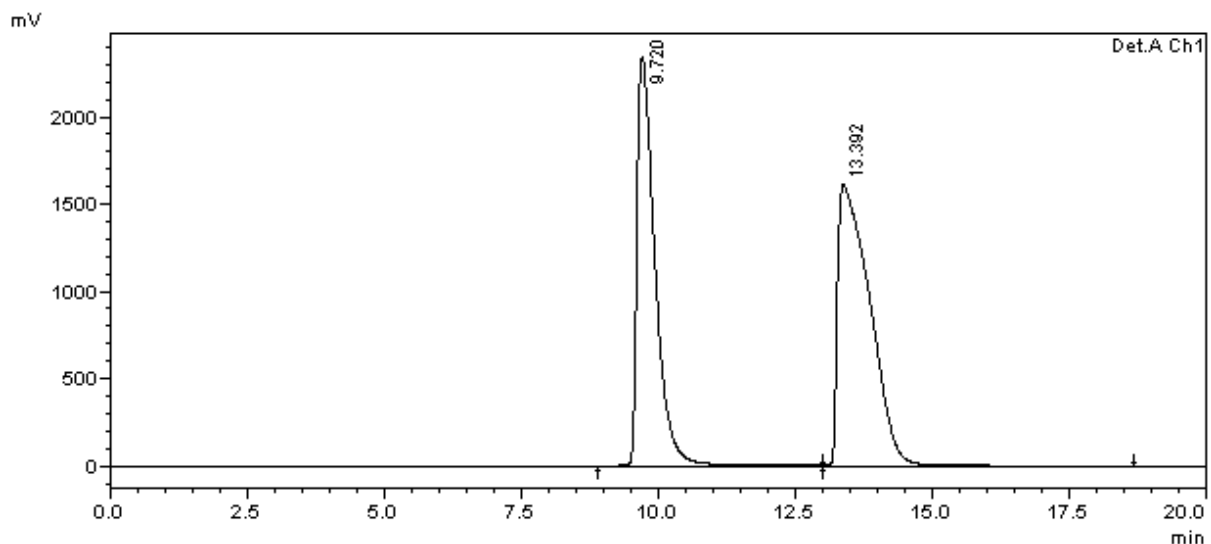
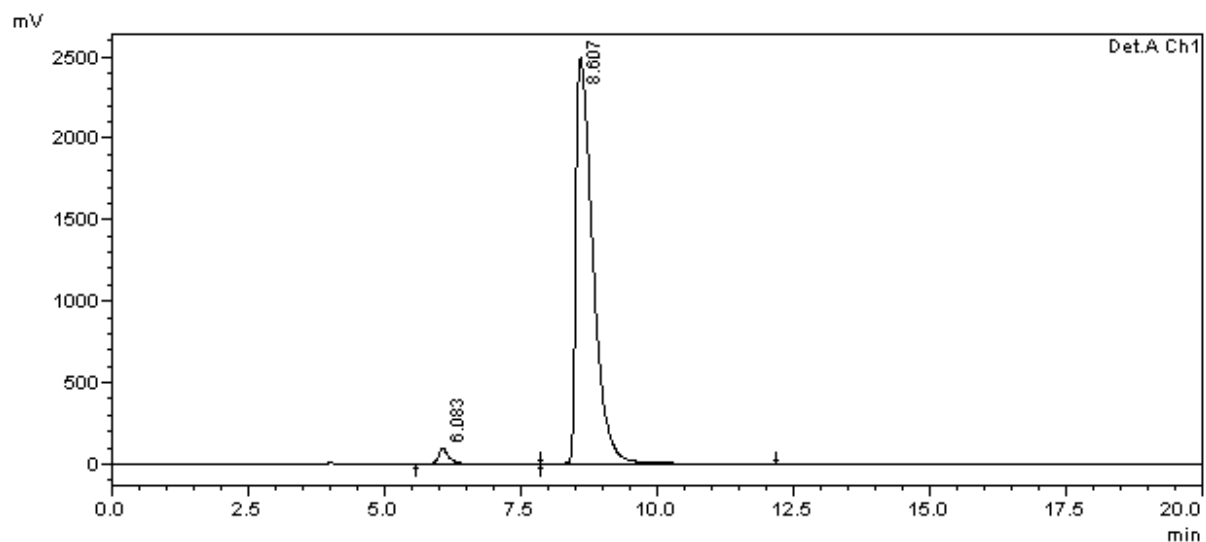


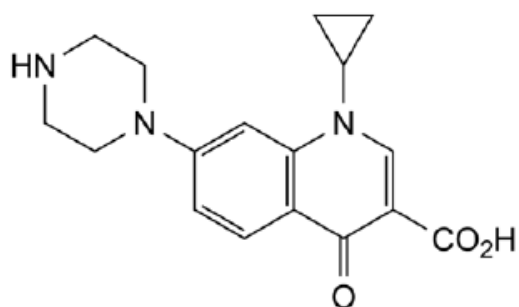
Figure 51 : Chromatogramme de la ciprofloxacine 0,2 mg/mL dans chlorure de sodium 0,9 % + phénol 0,4 %

Sur la figure 54, on observe un temps de rétention d'environ 9,7 min pour la ciprofloxacine et de 13,4 min pour le phénol, les pics sont séparés.

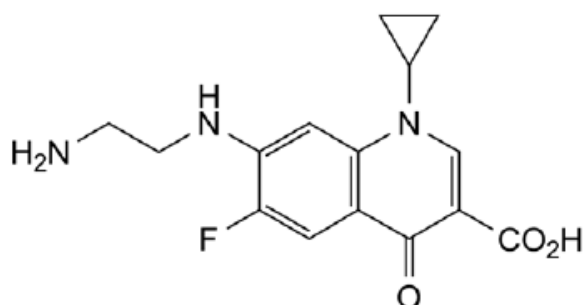


**Figure 52 : Chromatogramme de la ciprofloxacine 2 mg/mL dégradée à température ambiante et à la lumière pendant 7 jours**

La seule impureté observée (Figure 55) peut être l'impureté B ou C (Figure 56), le temps de rétention des 2 étant assez proche. Comme pour l'ofloxacine, la ciprofloxacine est sensible à la lumière, cependant la dégradation semble moins prononcée pour les mêmes conditions. [Pharmacopée européenne 9.2, 2017g] [PIPONSKI, BAKOVSKA, NAUMOSKA *et al.*, 2015]



B. acide 1-cyclopropyl-4-oxo-7-(pipérazin-1-yl)-1,4-dihydroquinoléine-3-carboxylique (dérivé défluoré),



C. acide 7-[(2-aminoéthyl)amino]-1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydroquinoléine-3-carboxylique (dérivé de l'éthylènediamine),

Figure 53 : Impuretés B et C de la ciprofloxacine

## 2. Test de linéarité sur la ciprofloxacine

Tableau XXVIII : Résultats du test de linéarité pour la ciprofloxacine

Soluté de dilution	NaCl 0,9 %	NaCl 0,9 % + phénoI 0,4 %
Pente	$1,095 \cdot 10^9 \pm 2 \cdot 10^6$	$1,01 \cdot 10^9 \pm 1 \cdot 10^7$
Ordonnée à l'origine	$2 \cdot 10^5 \pm 1 \cdot 10^5$	$3 \cdot 10^6 \pm 1 \cdot 10^7$
Test de l'existence d'une pente significative	Hautement significatif ( $p < 0,001$ )	Hautement significatif ( $p < 0,001$ )
Test de validité de la pente	Valide au risque 5%	Valide au risque 5%
Coefficient de corrélation	0.999986	0.998991
Comparaison des pentes	Différence significative au risque 5 %	
Comparaison des ordonnées à l'origine	Absence de différence significative au risque 5 %	



La comparaison des pentes des équations de droite montre une différence significative au risque 5 %, le phénol interfère donc avec le dosage de la ciprofloxacine. (Tableau XXVIII)

### 3. Stabilité de la ciprofloxacine

Tableau XXIX : Stabilité de la ciprofloxacine à différentes concentrations et dans différents solvants

	J0	J7
<b>Reconstitué</b>		
<b>2 mg/mL</b>	100,0%	96,4 ± 4,3 %
<b>NaCl 0,9 %</b>		
<b>0,2 mg/mL</b>	100,0%	98,8 ± 4,5 %
<b>0,02 mg/mL</b>	100,0%	97,4 ± 4,6 %
<b>0,002 mg/mL</b>	100,0%	99,5 ± 1,4 %
<b>0,0002 mg/mL</b>	100,0%	99,7 ± 1,7 %
<b>0,00002 mg/mL</b>	100,0%	95,0 ± 2,5 %
<b>NaCl 0,9 % + phénol 0,4 %</b>		
<b>0,2 mg/mL</b>	100,0%	99,8 ± 0,7 %
<b>0,02 mg/mL</b>	100,0%	102,2 ± 3,9 %
<b>0,002 mg/mL</b>	100,0%	101,8 ± 3,2 %
<b>0,0002 mg/mL</b>	100,0%	103,6 ± 7,8 %
<b>0,00002 mg/mL</b>	ND	ND

La concentration  $2 \cdot 10^{-5}$  mg/mL n'est pas quantifiable devant le pic de phénol.

La solution commerciale de ciprofloxacine à 2 mg/mL est stable au moins 7 jours, ce qui est appuyé par les données de la littérature [DONNELLY, 2011] [AL-OMAR, 2004] et les données du laboratoire, avec une conservation de 24 mois après fabrication.

*a. Dans le sérum physiologique*

Toutes les concentrations testées, de 0,02 µg/mL à 0,2 mg/mL sont retrouvées stables au moins 7 jours.

*b. Dans le sérum physiologique + phénol 0,4 %*

Les concentrations allant de 0,2 µg/mL à 0,2 mg/mL sont retrouvées stables au moins 7 jours. La concentration la plus faible, 0,02 µg/mL n'a pas pu être quantifiée, à cause de l'interférence causée par le phénol.

## VII. Discussion

Les conditions de conservation choisies sont celles qui permettent habituellement la meilleure conservation des produits tout en les maintenant utilisables. A l'abri de la lumière, les molécules photosensibles sont préservées, entre 2 et 8 °C les réactions chimiques, sont limitées par rapport à 25 °C. La stabilité est potentiellement meilleure à -20 °C mais les solutions ne sont alors pas utilisables immédiatement.

A la PUI de Brabois, qui est à l'initiative de cette étude, les préparations sont réalisées dans des flacons en verre vides, en utilisant le sérum physiologique comme solvant. Un changement de pratiques vers l'utilisation de flacons en verre pré remplis avec un solvant phénolé est envisagé. D'où notre choix de tester le verre comme contenant et 2 solvants : NaCl 0,9 % et NaCl 0,9 % + phénol 0,4 %.

Tableau XXX : Récapitulatif de la stabilité des différentes solutions

Solutions reconstituées	Stabilité (en jours)											
	10 <sup>0</sup>		10 <sup>-1</sup>		10 <sup>-2</sup>		10 <sup>-3</sup>		10 <sup>-4</sup>		10 <sup>-5</sup>	
	φ	Phénol	φ	Phénol	φ	Phénol	φ	Phénol	φ	Phénol	φ	Phénol
<b>Amoxicilline 200 mg/mL</b>	1	1	< 1	≥ 7	< 1	≥ 7	< 1	≥ 7	2	≥ 7	≥ 7	≥ 7
<b>Amoxicilline + acide clavulanique 200/20 mg/mL</b>	< 1	< 1	< 1	1	< 1	1	1	1	1	1	1	< 4
<b>Cefazoline 200 mg/mL</b>	≥ 7	≥ 7	≥ 7	≥ 7	≥ 7	≥ 7	≥ 7	≥ 7	≥ 7	≥ 7	≥ 7	≥ 7
<b>Cefotaxime 200 mg/mL</b>	≥ 7	≥ 7	≥ 7	≥ 7	≥ 7	≥ 7	≥ 7	≥ 7	≥ 7	≥ 7	≥ 7	≥ 7
<b>Ceftriaxone 200 mg/mL</b>	4	4	≥ 7	≥ 7	≥ 7	≥ 7	≥ 7	≥ 7	≥ 7	≥ 7	≥ 7	≥ 7
<b>Cefuroxime 250 mg/mL</b>	2	2	≥ 7	≥ 7	≥ 7	≥ 7	≥ 7	≥ 7	≥ 7	≥ 7	≥ 7	≥ 7
<b>Ciprofloxacin 2 mg/mL</b>	≥ 7	≥ 7	≥ 7	≥ 7	≥ 7	≥ 7	≥ 7	≥ 7	≥ 7	≥ 7	≥ 7	≥ 7
<b>Lévofloxacin 5 mg/mL</b>	≥ 7	≥ 7	≥ 7	≥ 7	≥ 7	< 7	≥ 7	< 7	< 7	< 7	< 7	< 7
<b>Ofloxacin 5 mg/mL</b>	≥ 7	≥ 7	≥ 7	≥ 7	≥ 7	≥ 7	< 7	< 7	< 7	< 7	< 7	< 7
<b>Pénicilline G 1 MUI/mL</b>	1	≥ 7	≥ 7	≥ 7	≥ 7	≥ 7	≥ 7	≥ 7	≥ 7	≥ 7	≥ 7	≥ 7

Le tableau XXX reprend les résultats de stabilité pour les différentes solutions. Une solution est déclarée stable au moins 7 jours (en vert) lorsque sa concentration ne s'écarte pas de plus de 5,0 % de sa valeur initiale (J0) sur la période considérée.

Les flèches rouges représentent les concentrations maximales non irritantes proposées par l'ENDA. Pour chaque molécules, les concentrations se trouvant à gauche des flèches sont considérées comme potentiellement irritantes, il n'est donc pas conseillé de les tester car il y a de fortes chances qu'elles induisent un faux positif. A l'inverse, à droite des flèches se trouvent les concentrations que l'on peut tester.

## 1. Pénicillines

### a. Benzylpénicilline

La solution reconstituée de pénicilline G à 1 MUI/mL n'est stable que 24h dans nos conditions expérimentales, ce qui est conforme au Résumé des Caractéristiques du Produit (RCP). Il s'agit d'une concentration très importante qui n'est pas testée chez le patient car irritante, le test serait donc faussement positif. Les recommandations de l'ENDA/EAACI indiquent de ne pas tester une concentration supérieure à 10 kUI/mL pour cette molécule. [BROCKOW, GARVEY, ABERER *et al.*, 2013]

Les solutions à 100, 10 et 1 kUI/mL sont stables au moins 7 jours pour les 2 solvants utilisés, ce qui est conforme aux données que l'on retrouve dans la littérature avec le chlorure de sodium 0,9 % : 6 jours à 130 kUI/mL [VELLA-BRINCAT, BEGG, GALLAGHER *et al.*, 2004] et 21 jours pour 50 et 2,5 kUI/mL [HOSSAIN, FRICIU, AUBIN *et al.*, 2014]. Nos résultats ne montrent pas de dégradation accélérée de la molécule en présence de phénol 0,4 %.

Enfin les solutions les plus diluées à 100 et 10 UI/mL sont également stables au moins 7 jours dans les 2 solvants, concentrations pour lesquelles on ne retrouve pas de données dans la littérature.

### b. Amoxicilline

La solution reconstituée à 200 mg/mL d'amoxicilline n'est stable que 24h d'après nos résultats, le RCP indique également que la solution est à utiliser rapidement, quelques heures après reconstitution. Cette solution n'est pas testée non plus chez le patient, le seuil qu'il est recommandé de ne pas dépasser étant de 20 mg/mL.

Pour la solution à 20 mg/mL dans le sérum physiologique, la stabilité retrouvée est la même, seulement 24h. Une publication de 1982 indique 8h pour cette concentration dans du NaCl 0,9 % mais à 25 °C. [COOK, HILL, LYNN, 1982]

Pour les solutions à 2 et 0,2 mg/mL dans le chlorure de sodium 0,9 %, nous montrons une stabilité d'au moins 7 jours. Les données d'autres études à des concentrations semblables et à 4 °C mais dans des solvants parfois différents indiquent : 4 jours à 5 mg/mL [MÜLLER et HAKER, 2003] et 14 jours à 0,125 mg/mL dans des solutions de dialyse péritonéale. [PATEL, LI, SHASTRI *et al.*, 2015]

Les dilutions à 20 et 2 µg/mL réalisées en chlorure de sodium 0,9 % sont stables aux moins 7 jours d'après nos expériences. Il n'a pas été retrouvé de données auxquelles comparer ces résultats.

En ce qui concerne les dilutions réalisées dans le sérum physiologique avec phénol, nous retrouvons une stabilité bien moindre de l'amoxicilline. La dégradation cette molécule antibiotique est accélérée par le phénol. Cependant l'instabilité semble dépendante de la concentration initiale en amoxicilline puisque l'on retrouve une stabilité de 7 jours pour la solution à 2 µg/mL.

#### *c. Amoxicilline + acide clavulanique*

Nous montrons que cette association de molécules est instable, peu importe le solvant et la concentration. Cela se vérifie également dans la littérature, où l'on retrouve au maximum 8 heures de stabilité. [KAMBIA, MERITE, DINE *et al.*, 2010]

L'acide clavulanique agit comme un catalyseur et accélère la dégradation de l'amoxicilline. [VAHDAT et SUNDERLAND, 2009]

#### *d. Bilan pénicillines*

Pour la benzylpénicilline, toutes les concentrations testées sur les patients sont stables au moins 7 jours pour les 2 solvants. Il serait possible pour cette molécule de préparer les dilutions à l'avance.

Pour l'amoxicilline, la dilution à 20 mg/mL dans le sérum physiologique est à tester sur les patients mais n'est stable que 24h, ce qui empêche sa réalisation anticipée. Cependant étant la 1<sup>ère</sup> dilution il s'agit de celle qui prend le moins de temps à réaliser. Les dilutions suivantes sont stables au moins 7 jours.

La dégradation de l'amoxicilline est accélérée par le phénol 0,4 %, sa présence dans le diluant oriente vers une utilisation extemporanée des solutions.

Les solutions d'amoxicilline + acide clavulanique ne sont pas stables, peu importe la concentration et le solvant, elles doivent donc être utilisées rapidement après leur préparation.

## 2. Céphalosporines

### a. Cefotaxime

Pour la solution reconstituée à 200 mg/mL nous n'avons pas obtenu de données dans cette étude. La donnée la plus proche retrouvée dans la littérature est une solution à 50 mg/mL dans du sérum physiologique conservée à l'abri de la lumière et à 5 °C, stable 18 jours. [DAS GUPTA, 2002]

La solution à 20 mg/mL est retrouvée stable au moins 7 jours dans les 2 solvants testés. La littérature confirme ces résultats avec une étude de 1984 qui retrouve 22 jours avec une solution à 10 mg/mL. [DAS GUPTA, 1984]

Cependant les recommandations de l'ENDA/EAACI conseillent de ne pas tester les céphalosporines à des concentrations supérieures à 2 mg/mL, au risque de rendre des tests cutanés faussement positifs.

Toutes les concentrations testées chez les patients (2 mg/mL, 200, 20 et 2 µg/mL) sont retrouvées stables au moins 7 jours dans les 2 solvants utilisés. Nous n'avons pas retrouvé de données dans la littérature à ces concentrations.

Pour cette molécule, nous ne montrons pas de différence de stabilité en présence ou en absence de phénol.

### b. Ceftriaxone

Pour la solution reconstituée à 200 mg/mL et pour la première dilution à 20 mg/mL (pour les 2 solvants) nous retrouvons une stabilité de 4 jours. Cela est en contradiction avec les données de la littérature qui indiquent une stabilité d'au moins 10 jours dans ces conditions de conservation. [MULLER, HOWE, FRANK *et al.*, 2000] [BAILEY, CAPPEL ET OROSZ, 1994] Cela peut être dû à un problème de conservation : les solutions les plus concentrées se trouvant au fond du frigo ont pu entrer en contact avec la paroi du réfrigérateur et subir des cycles de congélation/décongélation, ce qui ne respecte pas les conditions de

conservation de l'étude. Il n'est pas recommandé par l'ENDA/EAACI de tester ces 2 concentrations car potentiellement irritantes pour la peau.

La solution à 2 mg/mL est retrouvée stable au moins 7 jours pour les 2 solvants. Cela concorde avec les données de la littérature où l'on retrouve 14 jours dans du glucose 5 %. [SMITH, 1983]

Les solutions à 200, 20 et 2 µg/mL sont également stables au moins 7 jours pour les 2 solvants testés. Nous n'avons pas retrouvé de données pour confirmer ces résultats.

Le phénol ne semble pas altérer la stabilité de la ceftriaxone.

### *c. Cefazoline*

Pour cette molécule nous n'avons pas pu réaliser de dosage en présence du phénol, il ne nous est donc pas possible de conclure quant à son impact sur la stabilité de la cefazoline.

La solution reconstituée à 200 mg/mL ainsi que les dilutions dans le sérum physiologique à 20 et 2 mg/mL sont stables au moins 7 jours, ces informations sont corroborées par la littérature : 30 jours à 200 mg/mL dans de l'EPPI, 30 jours à 20 mg/mL dans du NaCl 0,9 % [DONNELLY, 2011] et 14 jours à 0,5 mg/mL dans une solution pour dialyse péritonéale [NAHATA ET AHALT, 1991]. Les solutions à 200 et 20 mg/mL ne sont pas testées chez les patients car irritantes.

Les dilutions à 200, 20 et 2 µg/mL sont également stables au moins 7 jours dans le sérum physiologique mais nous n'avons pas retrouvé de données pour comparer ces résultats.

### *d. Cefuroxime*

Pour la solution reconstituée à 250 mg/mL nous n'avons pas obtenu de données dans cette étude. Le RCP indique une stabilité de quelques heures après reconstitution.

Pour la solution à 25 mg/mL nous retrouvons une stabilité de 2 jours pour les 2 solvants. Cela est en contradiction avec les données de la littérature, qui indique une vingtaine de jours de stabilité. [GUPTA, 2003] Comme pour la ceftriaxone, le problème vient peut-être d'un problème lié à la conservation.

Les concentrations 250 et 25 mg/mL ne sont pas testées chez les patients car irritantes.

La dilution à 2,5 mg/mL est stable au moins 7 jours pour les 2 solvants, ce qui est conforme aux données de la littérature : 30 jours à 5 mg/mL dans du NaCl 0,9 %. [DAS GUPTA et STEWART, 1986]

Les dilutions à 250, 25 et 2,5 µg/mL sont retrouvées stables au moins une semaine pour les 2 solvants testés. Nous n'avons pas retrouvé de données auxquelles confronter ces résultats.

Le phénol ne semble pas affecter la stabilité du cefuroxime.

#### *e. Bilan céphalosporines*

Pour ces 4 céphalosporines toutes les dilutions testées chez les patients pour les tests cutanés sont montrées stables au moins 7 jours avec le sérum physiologique. Pour la cefazoline nous n'avons pas de données avec le phénol 0,4 % mais les 3 autres céphalosporines sont également stables avec le phénol à toutes les concentrations testées chez les patients.

Il semble donc possible pour cette famille de réaliser les dilutions à l'avance.

### **3. Fluoroquinolones**

#### *a. Ofloxacin*

La solution commerciale d'ofloxacin à 5 mg/mL et les dilutions à 0,5 mg/mL et 0,05 mg/mL (sérum physiologique et solvant phénolé) sont stables au moins 7 jours, ce qui se vérifie dans la littérature : 14 jours pour 4 et 0,4 mg/ml dans du sérum physiologique [BORNSTEIN, KAO, MERCORELLI *et al.*, 1992] et 14 jours à 0,025 mg/mL dans une solution pour dialyse péritonéale [BATTISTA, KANE, MOON *et al.*, 1995 ]. Les tests cutanés sont réalisés dès 5 mg/mL pour cette molécule. [KUYUCU, MORI, ATANASKOVIC-MARKOVIC *et al.*, 2014] [LOBERA, AUDICANA, ALARCON *et al.*, 2010]

La dilution à 5 µg n'est montrée stable qu'avec le sérum physiologique, et les solutions suivantes à 0,5 et 0,05 µg/mL ne sont pas stables 7 jours. Nous n'avons pas retrouvé de données dans la littérature pour confronter nos résultats.



### ***b. Levofloxacin***

La solution initiale à 5 mg/mL et la dilution à 0,5 mg/mL (NaCl 0,9 % et NaCl 0,9 % + phénol 0,4 %) sont stables au moins 7 jours. On retrouve des résultats comparables dans la littérature : 14 jours à 5 et 0,5 mg/mL dans du sérum physiologique. [WILLIAMS, BORNSTEIN ET JOHNSON, 1996] Comme pour l'ofloxacin, les tests cutanés sont réalisés dès 5 mg/mL.

La dilution à 50 µg/mL est retrouvée stable au moins 7 jours avec les 2 solvants. Celle à 5 µg n'est montrée stable qu'avec le solvant phénolé, à l'inverse de ce que l'on retrouve avec l'ofloxacin. Les solutions suivantes à 0,5 et 0,05 µg/mL ne sont pas stables 7 jours. La littérature n'indique pas de données de stabilité pour ces concentrations.

### ***c. Ciprofloxacin***

Comme pour les autres fluoroquinolones, la ciprofloxacin est utilisée pour les tests cutanés dès sa concentration commerciale à 2 mg/mL. Cette dernière, ainsi que les dilutions à 200 et 20 µg/mL sont montrées stables au moins 7 jours, ce qui est confirmé par la littérature : 30 jours à 2 mg/mL dans du chlorure de sodium 0,9 % [DONNELLY, 2011] et 42 jours à 25 µg/mL dans une solution de dialyse péritonéale [MAWHINNEY, ADAIR, GORMAN *et al.*, 1992].

Les dilutions à 2 et 0,2 µg/mL sont retrouvées stables au moins 7 jours avec les 2 solvants testés. La solution à 0,02 µg/mL est montrée stable uniquement avec le sérum physiologique. Nous n'avons pas retrouvé des points de comparaison dans la littérature.

### ***d. Bilan fluoroquinolones***

Il semble possible de réaliser les dilutions à l'avance pour la ciprofloxacin. Nous n'avons pas de données pour la dernière dilution mais le phénol ne semble pas altérer la stabilité de cette molécule.

En revanche pour l'ofloxacin et la levofloxacin nous ne montrons une stabilité de 7 jours que pour la solution commerciale et les 2 premières dilutions. Il semble donc difficile de réaliser les préparations à l'avance. Cependant les écarts types de nos résultats sont importants pour ces molécules, il pourrait être intéressant d'apporter davantage de résultats pour les affiner. Le phénol ne semble pas modifier la stabilité de ces molécules.

#### 4. Bilan

Parmi les 10 molécules que nous avons testées, 6 sont stables au moins 7 jours dans les 2 solvants aux concentrations recommandées pour les tests cutanés par l'ENDA/EAACI : benzylpénicilline, cefotaxime, ceftriaxone, cefazoline, cefuroxime et ciprofloxacine. Pour ces molécules il est donc possible de préparer les solutions à l'avance. Les doses à administrer peuvent être préparées à partir des flacons au fur et à mesure de la semaine.

Pour l'amoxicilline, la 1<sup>ère</sup> dilution n'est pas stable. C'est celle qui est la plus rapide à réaliser, il faudra la refaire chaque jour de test. Les dilutions suivantes dans le sérum physiologique sont stables sur une semaine et peuvent être préparées à l'avance. En revanche la molécule n'est pas stable dans le solvant phénolé et les préparations doivent être réalisées extemporanément.

L'association amoxicilline + acide clavulanique n'est stable à aucune concentration avec aucun des solvants, il faudra donc continuer à réaliser les préparations le jour même.

Pour l'ofloxacine et la levofloxacine, les solutions commerciales et les 2 premières dilutions sont stables au moins 7 jours, pour les 2 solvants. En revanche les dilutions suivantes ne sont pas stables. S'il est besoin de tester des concentrations inférieures à 0,05 mg/mL il faudra continuer à réaliser les préparations le jour de la venue du patient.

En pratique la réalisation anticipée de préparations permet de réduire la charge ponctuelle de travail de la PUI et de l'étaler sur la semaine. Cela permet également d'envoyer tôt aux services de soins les préparations nécessaires aux tests et de réduire l'attente des patients en service.

Le nombre de molécules testées en allergologie est bien supérieur à 10, il y a d'autres antibiotiques et d'autres familles de médicaments, tels que les produits de contraste iodés, les curares ou les anesthésiques locaux. Cette étude ne couvre qu'une petite partie de l'activité et mériterait d'être étendue afin d'avoir un réel impact sur l'organisation des préparations et des services, en objectivant la possibilité de préparation anticipée d'un grand nombre de préparations.

Par ailleurs nous n'avons testé ici que le verre comme contenant mais d'autres PUI, comme celle de Mercy, réalisent leurs dilutions directement dans des seringues de polypropylène, il faudrait également étudier la stabilité des solutions diluées dans ces contenants.

Certaines solutions ne nécessitent peut être pas une conservation au réfrigérateur ou à l'abri de la lumière pour leur conservation. Il est également possible d'imaginer un stockage

d'unidoses prêtes à l'emploi au congélateur qu'il n'y aurait plus qu'à ramener à température ambiante. Il faudrait donc tester d'autres conditions de stockage pour les solutions diluées.



## VIII. Conclusion

Les antibiotiques sont des médicaments fréquemment utilisés, en ville comme à l'hôpital et responsables d'une grande proportion des allergies médicamenteuses. Cependant de nombreuses réactions peuvent être considérées à tort comme allergiques et amener à l'exclusion inutile d'une molécule voire d'une classe thérapeutique dans un traitement. Cela engendre une perte de chance pour le patient et un surcout pour le système de santé.

Le rôle de l'allergologue est de poser un diagnostic de certitude quant à l'origine allergique ou non de la réaction, par un interrogatoire du patient et des tests, notamment cutanés.

Les solutions utilisées pour ces tests sont très diluées et, dans les hôpitaux de Brabois et de Mercy, préparées par la PUI en conditions stériles. Actuellement faute de données de stabilité, les préparations sont réalisées le jour de l'administration au patient.

Le but de ce travail était d'étudier la durée de stabilité de solutions diluées d'antibiotiques utilisées à des fins diagnostiques en allergologie.

Nous avons étudié 10 molécules antibiotiques parmi les plus testées en allergologie : benzylpénicilline, amoxicilline, amoxicilline + acide clavulanique, cefotaxime, ceftriaxone, cefazoline, cefuroxime, ofloxacine, levofloxacine et ciprofloxacine.

Les résultats de cette étude peuvent permettre de réduire la fréquence des préparations. Cela faciliterait l'organisation des services de soins et des PUI, réduirait le nombre de préparations réalisées, le temps nécessaire au maintien de l'activité et donc les coûts, tout en maintenant le niveau de qualité pour les patients.

Nous n'avons étudié ici qu'un seul matériau de contenant, le verre, et 2 solvants, le sérum physiologique et un solvant phénolé. Nous avons montré que le phénol peut avoir un impact important sur la stabilité d'une solution avec l'exemple de l'amoxicilline. Des tests avec d'autres matériaux, d'autres solvants et dans des conditions de conservation différentes pourraient venir compléter ce travail.

L'allergologie teste un vaste panel de médicaments, pas uniquement ces 10 molécules antibiotiques. Il serait intéressant de réaliser ces tests sur davantage de molécules : compléter les antibiotiques mais également les produits de contraste iodés, les curares, les anesthésiques locaux et autres molécules les plus souvent testées en allergologie. Cela permettrait aux PUI de réduire les coûts, de faciliter l'organisation des services d'allergologie et de réduire le temps d'attente des patients.



## IX. Bibliographie

AL-OMAR M. A. Ciprofloxacin: Physical Profile. Profiles of Drug Substances, Excipients, and Related Methodology, 2004, 31, pp.163-178.

AL-OMAR M. A. Ofloxacin. Profiles of Drug Substances, Excipients, and Related Methodology, 2009, 34, pp.265-298.

ANSM (Agence Nationale de Sécurité du Médicament). La consommation d'antibiotiques en France en 2016. 2017, disponible sur : [https://ansm.sante.fr/content/download/113089/1432671/version/1/file/Rapport+antibio\\_nov2017.pdf](https://ansm.sante.fr/content/download/113089/1432671/version/1/file/Rapport+antibio_nov2017.pdf) (Page consultée le 22/08/2018).

ANSM (Agence Nationale de Sécurité du Médicament). Spectres d'activité antimicrobienne. 2005, disponible sur : <https://www.ansm.sante.fr/afssaps/content/download/11285/135649/version/4/file/atb.pdf> (Page consultée le 18/08/2018).

APTER A. J., KINMAN J. L., BILKER W. B., HERLIM M., MARGOLIS D. J., LAUTENBACH E., HENNESSY S., STROM B. L. Is There Cross-Reactivity Between Penicillins and Cephalosporins? The American Journal of Medicine, 2006, 119(4), pp.354.e11-354.e19.

ASFARI H., BOUSQUET C., TROMBERT PAVIOT B., BELLET F., MOUNIER G., MARSILLE F., BEYENS M.-N., GUY C. Chocs anaphylactiques d'origine médicamenteuse : sous-notification et PMSI. Thérapie, 2014, 69(6), pp.483-490.

ATANASKOVIC-MARKOVIC M., GAETA F., MEDJO B., GAVROVIC-JANKULOVIC M., CIRKOVIC VELICKOVIC T., TMUSIC V., ROMANO A. Non-Immediate Hypersensitivity

Reactions to Beta-Lactam Antibiotics in Children - Our 10-Year Experience in Allergy Work-Up. *Pediatric Allergy and Immunology*, 2016, 27(5), pp.533-538.

AVENEL-AUDRAN M. Allergies et photo-allergies de contact aux AINS topiques. *Revue Française d'Allergologie*, 2014, 54(3), pp.218-222.

BAILEY L. C., CAPPEL K. M., OROSZ S. T. Stability of ceftriaxone sodium in injectable solutions stored frozen in syringes. *American Journal of Hospital Pharmacy*, 1994, 51, pp.2159-2161.

BARBAUD A., GONCALO M., BRUYNZEEL D., BIRCHER A. Guidelines for Performing Skin Tests Withdrugs in the Investigation of Cutaneous Adverse Drug Reactions. *Contact Dermatitis*, 2001, 45(6), pp.321-328.

BARBAUD A., VIGAN M., DELROUS J.-L., ASSIER H., AVENEL-AUDRAN M., COLLET E., DEHLEMMES A., DUTARTRE H., GERAUT C., GIRARDIN P., LE COZ C., MILPIED-HOMSI B., NASSIF A., PONS-GUIRAUD A., RAISON-PEYRON N. Allergie de contact aux antiseptiques : 75 cas analysés par le réseau Revidal de dermato-allergovigilance. *Annales de Dermatologie et de Vénérologie*, 2005, 132(12), pp.962-965.

BARBAUD A., WATON J. *Progrès en Dermato-Allergologie, 37e cours d'actualisation*. John Libbey Eurotext Ed. Nancy, France. 2016, 364 p.

BATTISTA C., KANE M. P., MOON D. G., BAILIE G. R. Stability of ofloxacin in peritoneal dialysis solutions. *Peritoneal Dialysis International*, 1995, 15, pp.72-74.

BERGE S.M., HENDERSON N.L., FRANK M.J. Kinetics and Mechanism of Degradation of Cefotaxime Sodium in Aqueous Solution. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1983, 72(1), pp.59-63.



BHATTACHARYYA P. K., CORT W. M. Amoxicillin. *Analytical Profiles of Drug Substances*, 1978, 7, pp.19-41.

BHATTACHARYYA S. The Facts about Penicillin Allergy: A Review. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*, 2010, 1(1), pp.11-17.

BLANCA M., ROMANO A., TORRES M. J., FERNANDEZ J., MAYORGA C., RODRIGUEZ J, DEMOLY P., BOUSQUET P J., MERK H. F., SANZ M. L., OTT ., ATANASKOVIC-MARKOVIC M. Update on the evaluation of hypersensitivity reactions to betalactams. *Allergy*, 2009, 64, pp.183-193.

BORNSTEIN M., KAO S. H., MERCORELLI M., VERMA S. Stability of an ofloxacin injection in various infusion fluids. *American Journal of Hospital Pharmacy*, 1992, 49, pp.2756-2760.

BOUSQUET P.-J., DEMOLY P. Les urticaires au cours d'un traitement anti-infectieux : le médicament est-il vraiment souvent en cause ? *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*, 2006, 46(3), pp.288-294.

BRETHAUER S., HELD M., PANKE S. Clavulanic Acid Decomposition Is Catalyzed by the Compound Itself and by Its Decomposition Products. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2008, 97(8), pp.3451-3455.

BROCKOW K., GARVEY L. H., ABERER W., ATANASKOVIC-MARKOVIC M., BARBAUD A., BILO M. B., BIRCHER A., BLANCA M., BONADONNA B., CAMPI P., CASTRO E., CERNADAS J. R., CHIRIAC A. M., DEMOLY P, GROSBER M., GOOI J., LOMBARDO C., MERTES P. M., MOSBECH H., NASSER S., PAGANI M., RING J., ROMANO A., SCHERER K. SCHNYDER B., TESTI S., TORRES M., TRAUTMANN A., TERREEHORST I. Skin Test Concentrations for Systemically Administered Drugs - an ENDA/EAACI Drug Allergy Interest Group Position Paper. *Allergy*, 2013, 68(6), pp.702-712.

BROCKOW K., ROMANO A., BLANCA M., RING J., PICHLER W., DEMOLY P. General considerations for skin test procedures in the diagnosis of drug hypersensitivity. *Allergy*, 2002, 57, pp.45-51

BROZ P., HARR T., HECKING C., GRIZE L., SCHERER K., JAEGER K. A., BIRCHER A. J. Nonirritant intradermal skin test concentration of ciprofloxacin, clarithromycin, and rifampicin. *Allergy*, 2012, 67, pp.647-652.

CHAST F. Histoire contemporaine des médicaments. La Découverte Ed. Paris. 2002, 416 p.

CHUM V. Préparations allergologiques pour intradermoréaction au CHU de Nancy Détermination du coût direct lié à la fabrication par la pharmacie à usage intérieur. Thèse de doctorat en pharmacie. Nancy : Université de Lorraine, 2015, 129 p.

CO MINH H.-B., DEMOLY P. Les tests cutanés sont-ils dangereux ? John Libbey Eurotext, 2005, 16, pp.1-5.

COMTE D., PETITPIERRE S., SPERTINI F., BART P. A. Allergie aux b-lactamines. *Revue Médicale Suisse*, 2012, 8, pp.836-842.

COOK B., HILL S. A., LYNN B. The stability of amoxycillin sodium in intravenous infusion fluids. *Journal of Clinical and Hospital Pharmacy*, 1982, 7, pp.245-250.

COUSIN F., CATELAIN A., PHILIPS K., FAVIER B., QUEUILLE E., NICOLAS J. F. Immediate hypersensitivity is rarely implicated in drug induced urticaria. *Annales De Dermatologie Et De Venereologie*, 2003, 130(3), pp.321-324.

DAS GUPTA V. Chemical stability of cefuroxime sodium after reconstitution in 0.9% sodium chloride injection and storage in polypropylene syringes for pediatric use. *International Journal of Pharmaceutical Compounding*, 2003, 7(4), pp.310-312.

DAS GUPTA V. Stability of cefotaxime sodium after reconstitution in 0.9% sodium chloride injection and storage in polypropylene syringes for pediatric use. *International Journal of Pharmaceutical Compounding*, 2002, 6, pp.234-236.

DAS GUPTA V. Stability of cefotaxime sodium as determined by High-Performance Liquid Chromatography. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1984, 73, pp.565-567.

DAS GUPTA V., STEWART K. R. Stability of cefuroxime sodium in some aqueous buffered solutions and intravenous admixtures. *Journal of Clinical and Hospital Pharmacy*, 1986, 11, pp.47-54.

DAVID G., NICOLAS G., SUREAU C. La médecine et le principe de précaution. *Annales de chirurgie*, 2001, 126, pp.731-733.

DEMOLY P. Les allergies médicamenteuses. *Médecine thérapeutique/Pédiatrie*, 2007, 10(1), pp.34-43.

DEMOLY P., BOUSQUET J. Epidemiology of Drug Allergy. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*, 2001, 1(4), pp.305-310.

DEMOLY P., HILLAIRES-BUYS D., RAISON-PEYRON N., GODARD P., MICHEL F. B., BOUSQUET J. Identifier et Comprendre Les Allergies Médicamenteuses. *Medecine/Sciences*, 2003, 19, pp.327-336.

DEMOLY P., MESSAAD D., BENAHMED S., HILLAIRE-BUYS D., BLAYAC J. P., GODARD P., MICHEL F. B., BOUSQUET J. Les réactions immuno-allergiques d'origine médicamenteuse : données épidémiologiques et cliniques. THERAPIE, 2000, 55(1), pp.13-19.

DEMOLY P, PIETTE V., MESSAAD D. Diagnostic de l'allergie médicamenteuse : quels tests et dans quelles circonstances ? Revue des Maladies Respiratoires, 2002, 19, p260-262.

DESROY N. Synthèse de bêta-lactames polycycliques et du fragment C15-C30 des dolabélides, macrolides cytotoxiques d'origine marine, par catalyse organométallique. Thèse de doctorat de chimie organique. Paris : Université Pierre et Marie Curie, 2004, 287 p.

DONNELLY R. F. Stability of Cefazolin Sodium in Polypropylene Syringes and Polyvinylchloride Minibags. Canadian Journal of Hospital Pharmacy, 2001, 64(4), pp.241-245.

DONNELLY R. F. Stability of Ciprofloxacin in Polyvinylchloride Minibags. Canadian Journal of Hospital Pharmacy, 2011, 64(4), pp.252-256.

EC (European Commission). EU Action on Antimicrobial Resistance. 2017, disponible sur : [https://ec.europa.eu/health/amr/antimicrobial-resistance\\_en](https://ec.europa.eu/health/amr/antimicrobial-resistance_en) (Page consultée le 09/09/2018)

ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control). Summary of the latest data on antibiotic consumption in the European Union. 2017, disponible sur : [http://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/documents/Final\\_2017\\_EAAD\\_ESAC-Net\\_Summary-edited%20-%20FINALwith%20erratum.pdf](http://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/documents/Final_2017_EAAD_ESAC-Net_Summary-edited%20-%20FINALwith%20erratum.pdf) (Page consultée le 23/08/2018).

ESPOSITO S., CASTELLAZZI L., TAGLIABUE C., PRINCIPI N. Allergy to Antibiotics in Children: An Overestimated Problem. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2016, 48(4), pp. 361-366.

FABRE H., HUSSAM EDDINE N., BERGE G. Degradation Kinetics in Aqueous Solution of Cefotaxime Sodium, a Third-Generation Cephalosporin. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1984, 73(5), pp.611-618.

FRĄCKOWIAK A., KAMINSKI B., URBANIAK B., DEREZIŃSKI P., KLUPCZYŃSKA A., DARUL-DUSZKIEWICZ M., KOKOT Z. A Study of Ofloxacin and Levofloxacin Photostability in Aqueous Solutions. *Journal of Medical Science*, 2016, 85(4), pp.238-244.

GOMES E., CARDOSO M. F., PRACA F., GOMES L., MARINO E., DEMOLY P. Self-Reported Drug Allergy in a General Adult Portuguese Population. *Clinical Experimental Allergy*, 2004, 34(10), pp.1597-1601.

GRUCHALLA R. S., PIRMOHAMED M. Antibiotic Allergy. *The New England Journal of Medicine*, 2006, 354, pp.601-609.

GUILLOT I., NOSBAUM A., COUSIN F., CHAMBOST V., KERHOAS A., BERARD F., NICOLAS J.-F. Précautions à prendre avec certains médicaments irritants et toxiques donnant des tests cutanés faussement positifs. *John Libbey Eurotext*, 2005, 14, pp.1-24.

HAMZAOUI A. Allergie aux anti-infectieux. *Revue des Maladies Respiratoires*, 2006, 23(4), pp.70-72.

HAZELL L., and SHAKIR S. A. W. Under-Reporting of Adverse Drug Reactions. *Drug Safety*, 2006, 29(5), pp.385-396.

HOSSAIN M.A., FRICIU M., AUBIN S., LECLAIR G. Stability of penicillin G sodium diluted with 0.9% sodium chloride injection or 5% dextrose injection and stored in polyvinyl chloride bag containers and elastomeric pump containers. American Journal of Health-System Pharmacy, 2014, 71, pp.669-673.

HUBER B. 100 Jahre Allergie: Clemens von Pirquet – sein Allergiebegriff und das ihm zugrunde liegende Krankheitsverständnis. Wiener klinische Wochenschrift, 2006, 118(19-20), pp.573-579.

ICH (International Conference On Harmonisation Of Technical Requirements For Registration Of Pharmaceuticals For Human Use). Evaluation For Stability Data Q1E. 2003, disponible sur : [http://www.ich.org/fileadmin/Public\\_Web\\_Site/ICH\\_Products/Guidelines/Quality/Q1E/Step4/Q1E\\_Guideline.pdf](http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q1E/Step4/Q1E_Guideline.pdf) (Page consultée le 08/10/2018)

IMBS J. L., POUYANNE P., HARAMBURU F., WELSCH M., DECKER N., BLAYAC J. P., BEGAUD B. Introgénie médicamenteuse : estimation de sa prévalence dans les hôpitaux publics français. THERAPIE, 1999, 54(1), pp.21-27.

INSERM (Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale). Allergies. 2016, disponible sur : <https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/allergies> (Page consultée le 08/07/2018)

InVS (Institut de Veille Sanitaire). Consommation d'antibiotiques et résistance aux antibiotiques en France : Soyons concernés, soyons responsables. 2017, disponible sur : [http://invs.santepubliquefrance.fr/content/download/141289/510843/version/3/file/rapport\\_consommation\\_antibiotiques\\_resistance\\_antibiotiques\\_france\\_soyons\\_concernes\\_soyons\\_responsables.pdf](http://invs.santepubliquefrance.fr/content/download/141289/510843/version/3/file/rapport_consommation_antibiotiques_resistance_antibiotiques_france_soyons_concernes_soyons_responsables.pdf) (Page consultée le 23/08/2018)

ITEN A., PLOJOUX J., TARMARCAZ P. Allergies aux pénicillines et aux céphalosporines : faut-il craindre les réactions croisées ? *Revue Médicale Suisse*, 2007, 129(3), pp.18-28.

JOHANSSON S. G. O., HOURIHANE J., BOUSQUET J., BRUIJNZEEL-KOOMEN C., DREBORG S., HAAHTELA T., KOWALSKI L., MYGIND N., RING J., VAN CAUWENBERGE P., VAN HAGE-HAMSTEN M., WURTHRICH B. A Revised Nomenclature for Allergy. *Allergy & Clinical Immunology International - Journal of the World Allergy Organization*, 2001, 56, pp.813-824.

KAMBIA N., MERITE N., DINE .T, DUPIN-SPRIET T., GRESSIER B., LUYCKX M., WATINNE C., BRUNET C. Stability studies of amoxicillin/clavulanic acid combinaison in polyolefin infusion bags. *European Journal of Hospital Pharmacy*, 2010, 16, pp.30-37.

KELKAR P.S., LI J. Cephalosporin Allergy. *The New England Journal of Medicine*, 2001, 345(11), pp.804-809.

KIRSCHBAUM J. Penicillin G, potassium. *Analytical Profiles of Drug Substances*, 1986, 15, pp.427-507.

KUMAR R. N., RAO G. N., NAIDU P. Y. Stability indicating fast lc method for determination of ceftriaxone and tazobactam for injection related substances in bulk and pharmaceutical formulation. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, 2010, 1(1), pp.145-157.

KUYUCU S., MORI F., ATANASKOVIC-MARKOVIC M., CAUBERT J.-C., TEREHORST I., GOMES E., BROCKOW K. Hypersensitivity Reactions to Non-Betalactam Antibiotics in Children: An Extensive Review. *Pediatric Allergy and Immunology*, 2014, 25, pp.534-543.

LAMM A., GOZLAN I., ROTSTEIN A., AVISAR D. Detection of Amoxicillin-Diketopiperazine-2', 5' in Wastewater Samples. Journal of Environmental Science and Health, 2009, 44(14), pp.1512-1517.

LANDAIS A., MARTY N., BESSIS D., PAGES M., BLARD J.-M. Un cas de syndrome de Hoigné lors d'une injection intraveineuse de ceftriaxone. La Revue de Médecine Interne, 2014, 35(3), pp.199-201.

LAZAROU, J., POMERANZ B H., COREY P. N. Incidence of Adverse Drug Reactions in Hospitalized Patients: A Meta-Analysis of Prospective Studies. American Medical Association, 1999, 43(1), pp.53-54.

Legifrance. Arrêté du 28 avril 2005 relatif aux bonnes pratiques de pharmacovigilance. 2005, disponible sur : <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000000812853> (Page consultée le 09/09/2018).

LOBERA T., AUDÍCANA M. T., ALARCÓN E., LONGO N., NAVARRO B., MUÑOZ D. Allergy to Quinolones: Low Cross-reactivity to Levofloxacin. Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology, 2010, 20(7), pp.

MACY E., BURCHETTE R. J. Oral antibiotic adverse reactions after penicillin skin testing: multi-year follow-up. Allergy, 2002, 57(12), pp.1151-1158.

MACY E., ROMACO A., KHAN D. Practical Management of Antibiotic Hypersensitivity in 2017. American Academy of Allergy, Asthma & Immunology, 2017, pp.577-586.



MAWHINNEY W. M., ADAIR C. G., GORMAN S. P., McCLURG B. Stability of ciprofloxacin in peritoneal dialysis solution. *American Journal of Hospital Pharmacy*, 1992, 49, pp.2956-2959.

MEISLIN H. W., BREMER J. C. Jarisch-Herxheimer Reaction Case Report. *Journal of the American College of Emergency Physicians*, 1976, 5(10), pp.779-781.

MERTES P.-M., GUEANT J.-L., DEMOLY P. L'allergie aux antibiotiques. Mise Au Point en Anesthésie Réanimation, 2007, pp.535-546

MORIDE Y., HARAMBURU F., REQUEJO A. A., BÉGAUD B. Under-Reporting of Adverse Drug Reactions in General Practice. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 2003, 43(2), pp.177-181.

MUHTADI F. J., HASSAN M. M. A. Cefotaxime. *Analytical Profiles of Drug Substances*, 1982, 11, pp.139-168.

MULLER H. J., HAKER I. The stability of amoxicillin, ampicillin, benzylpenicillin, flucloxacillin, mezlocillin and piperacillin in isotonic saline solutions when stored in an innovative infusion container (Freeflex container). *European Journal of Hospital Pharmacy*, 2003, 6, pp.106-111.

MULLER H. J., HOWE K., FRANK C., HAKER I. Stability of cefazolin, cefotiam, cefuroxime, cefotaxime, ceftriaxone and ceftazidime in normal saline solutions, stored in a new IV container made of Biofine®. *European Journal of Hospital Pharmacy*, 2000, 6, pp.17-23.

NAHATA M. C., AHALT P. A. Stability of cefazolin sodium in peritoneal dialysis solutions. *American Journal of Hospital Pharmacy*, 1991, 48, pp.291-292.

NICOLAS J. F. Hypersensibilité aux médicaments. La revue du praticien, 2015, 65, pp.967-989.

OMS (Organisation Mondiale de la Santé). Assurance de la qualité des produits pharmaceutiques - Recueil de directives et autres documents. 1998, disponible sur : <http://apps.who.int/medicinedocs/fr/d/Jh1814f/> (Page consultée le 08/09/2018).

OMS (Organisation Mondiale de la Santé). ATC/DDD Index 2018. 2017, disponible sur : [https://www.whocc.no/atc\\_ddd\\_index/](https://www.whocc.no/atc_ddd_index/) (Page consultée le 12/11/2018)

OMS (Organisation Mondiale de la Santé). Surveillance de la sécurité d'emploi des médicaments: guide pour la création et le fonctionnement d'un centre de pharmacovigilance. 2000, disponible sur : <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/h2934f/h2934f.pdf> (Page consultée le 17/08/2018).

OWENS H. M., DASH A. K. Ceftriaxone Sodium: Comprehensive Profile. Profiles of Drug Substances, Excipients, and Related Methodology, 2003, 30, pp.21-57.

PARADIS H., THIRION D., BERGERON L. Les allergies croisées aux antibiotiques : comment s'y retrouver ? Pharmacothérapie, 2009, 42(1), pp.22-33.

PATEL R. P., LI K., SHASTRI M., WANANDY T., JOSE M. D. Stability of ampicillin and amoxicillin in peritoneal dialysis solutions. American Journal of Health-System Pharmacy, 2015, 72, pp.13-14.

PHARMACOPEE EUROPEENNE 9.2a. Monographie de l'amoxicilline sodique 01/2017 :0577. 2017, disponible sur : <http://online.edqm.eu/FR/entry.htm> (Page consultée le 08/03/2018).

PHARMACOPEE EUROPEENNE 9.2b. Monographie de la benzylpénicilline sodique 07/2017 :0114. 2017, disponible sur : <http://online.edqm.eu/FR/entry.htm> (Page consultée le 08/03/2018).

PHARMACOPEE EUROPEENNE 9.2c. Monographie de la cefazoline sodique 04/2014 :0988. 2017, disponible sur : <http://online.edqm.eu/FR/entry.htm> (Page consultée le 08/03/2018).

PHARMACOPEE EUROPEENNE 9.2d. Monographie du cefotaxime sodique 01/2008 :0989. 2017, disponible sur : <http://online.edqm.eu/FR/entry.htm> (Page consultée le 08/03/2018).

PHARMACOPEE EUROPEENNE 9.2e. Monographie de la ceftriaxone sodique 01/2008 :0991. 2017, disponible sur : <http://online.edqm.eu/FR/entry.htm> (Page consultée le 08/03/2018).

PHARMACOPEE EUROPEENNE 9.2f. Monographie du cefuroxime sodique 01/2008 :0992. 2017, disponible sur : <http://online.edqm.eu/FR/entry.htm> (Page consultée le 08/03/2018).

PHARMACOPEE EUROPEENNE 9.2g. Monographie de la ciprofloxacine 01/2017 :1089. 2017, disponible sur : <http://online.edqm.eu/FR/entry.htm> (Page consultée le 08/03/2018).

PHARMACOPEE EUROPEENNE 9.2h. Monographie du clavulanate potassique 07/2010 :1140. 2017, disponible sur : <http://online.edqm.eu/FR/entry.htm> (Page consultée le 08/03/2018).

PHARMACOPEE EUROPEENNE 9.2. Monographie de l'ofloxacine 01/2017 :1455. 2017, disponible sur : <http://online.edqm.eu/FR/entry.htm> (Page consultée le 08/03/2018).

PICARD M., BÉGIN P., BOUCHARD H., CLOUTIER J., LACOMBE-BARRIOS J., PARADIS J., DES ROCHES A., LAUFER B., PARADIS L. Treatment of Patients with a History of Penicillin Allergy in a Large Tertiary-Care Academic Hospital. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*, 2013, 1(3), pp.252-257.

PICHLER W. J., BEELER A., KELLER M., LERCH M., POSADAS S., SCHMID D., SPANOZ Z., ZAWODNIAK A., GERBER B. Pharmacological Interaction of Drugs with Immune Receptors: The p-i Concept. *Allergology International*, 2006, 55(1), pp.17-25.

PIPONSKI M., BAKOVSKA T., NAUMOSKA M., RUSEVSKA T., SERAFIMOVSKA G., ANDONOSKA H. Preliminary Investigation of the Possibility for Implementation of Modified Pharmacopoeial HPLC Methods For Quality Control Of Metronidazole And Ciprofloxacin In Medicinal Products Used In Veterinary Medicine. *Macedonian Veterinary Review*, 2015, 38(1), pp.31-42.

ROUJEAU J.-C. Syndromes de Lyell et de Stevens- Johnson. *La Revue du Praticien*, 2007, 57, pp.1165-1170.

SADE K., HOLTZER I., LEVO Y., KIVITY S. The economic burden of antibiotic treatment of penicillin-allergic patients in internal medicine wards of a general tertiary care hospital. *Clinical & Experimental Allergy*, 2003, 33, pp.501-506.

SATTA G., HILL V., LANZMAN M., BALAKRISHNAN I.  $\beta$ -lactam allergy: clinical implications and costs. *Clinical and Molecular Allergy*, 2013, 11(1), pp.1-3.

SMITH B. R. Effect of storage temperature and time stability of cefmenoxime, ceftriaxone, and cefotetan in 5% dextrose injection. *American Journal of Hospital Pharmacy*, 1983, 40, pp.1024-1025.

STETSON S., SIEGEL P. Hypersensitivity. xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference, 2007, pp.1-4.

TEHRANY Y. A., LAFFITTE E., GROSGURIN O. Syndrome DRESS (drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms). Revue Médicale Suisse, 2016, 12, pp.684-690.

THERIAQUE. Banque de donnée sur les médicaments Thériaque 2018, disponible sur : <http://www.theriaque.org/apps/contenu/accueil.php> (Pages consultées en 2018).

TORRES J., ROMANO A., MAYORGA C., MOYA M. C., GUZMAN A. E., RECHE M., JUAREZ C., BLANCA M. Diagnostic Evaluation of a Large Group of Patients with Immediate Allergy to Penicillins: The Role of Skin Testing. Allergy, 2001, 56(9), pp.850-856.

VAHDAT L., SUNDERLAND B. The Influence of Potassium Clavulanate on the Rate of Amoxicillin Sodium Degradation in Phosphate and Acetate Buffers in the Liquid State. Drug Development and Industrial Pharmacy, 2009, 35(4), pp.471-479.

VELLA-BRINCAT J. W. A, BEGG E. J., GALLAGHER K., KIRKPATRICK C. M. J., ZHANG M., FRAMPTON C., CHAMBERS S. T. Stability of benzylpenicillin during continuous home intravenous therapy. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2004, 53, pp.675-677.

WANG D., NOTARI R. E. Cefuroxime Hydrolysis Kinetics and Stability Predictions in Aqueous Solution. Journal of Pharmaceutical Sciences, 1994, 83(4), pp.577-581.

WILLIAMS N. A., BORNSTEIN M., JOHNSON K. Stability of levofloxacin in intravenous solutions in polyvinyl chloride bags. American Journal of Health-System Pharmacy, 1996, 53, pp.2309-2313.

WOZNIAK T. J., HICKS J. R. Analytical profile of cefuroxime sodium. Analytical Profiles of Drug Substances, 20, pp.209-236.

ZAJAC M., MUSZALSKA I. Mechanism of ceftriaxone degradation in aqueous solution. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 1998, 55, pp.35-39.

ZAPPALA A. F., HOLL W. W., POST A. Cefazolin. *Profiles of Drug Substances, Excipients, and Related Methodology*, 1975, 4, pp.1-20.

## X. Annexes

### A. Annexe 1 : questionnaire ENDA sur l'allergie médicamenteuse

#### ALLERGIE MEDICAMENTEUSE

**INVESTIGATEUR :**

Nom : ..... Centre : ..... Date : .....

**PATIENT :**

Nom : ..... Date de naissance : ..... Age : .....ans Poids : .....kg  
 Profession : ..... Origine ethnique: ..... Sexe :  M  F Taille : .....cm

PLAINTES ACTUELLES : .....

Prise **REACTION MEDICAMENTEUSE :** 1: par rapport au 1er jour 2: par rapport à dernière prise 1 2  
ant.

- 1- ..... Date de la réaction: ..... Chronologie: .....
- 2- .....
- 3- .....
- 4- .....
- 5- .....
- 6- .....

**SYMPTOMES CUTANEO-MUQUEUX:**

- Angioedème --> localisation : .....
- Conjonctivite
- Eczéma de contact  Cause topique  Cause hématogène  .....
- Exanthème maculeux
- Exanthème maculopapuleux
- Erythème pigmenté fixe
- Prurit isolé
- Purpura --> Taux des plaquettes:.....  
 palpable  hémorragique/nécrotique
- Atteinte viscérale .....
- Pustulose exanthématique aiguë généralisée
- Syndrome de Stevens Johnson / Lyell
- Urticaire
- Vascularite urticaire
- Autres (préciser morphologie et localisation) :

**DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL:**

.....  
 .....

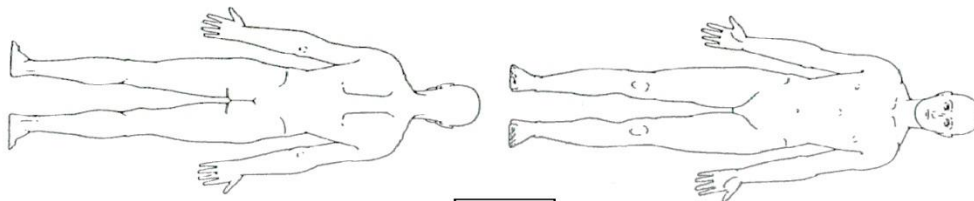
**FACTEURS FAVORISANTS:**

- Infections virales :  grippale  Autres
- Fièvre.....
- Photosensibilité (lésions photodistribuées) ?  Non  Oui  Ne sait pas
- Stress
- Exercice
- Autres (préciser) : .....

**EVOLUTION:** Intensité



**LOCALISATION DES LESIONS ET EVOLUTION (↑ ↓, reporter les chiffres ou couleurs différentes si plusieurs réactions)**



généralisé

**SYMPTOMES GASTROINTESTINAUX:**

- Diarrhée
- Douleurs gastro-intestinales
- Nausée, vomissements
- Autres (préciser) : .....

**SYMPTOMES RESPIRATOIRES:**

- Dyspnée --> DEP ou VEMS : .....
- Dysphonie
- Rhinite:
  - Rhinorrhée
  - Eternuements
  - Obstruction nasale
- Sifflements / Bronchospasme
- Toux
- Autres (préciser) : .....

**SYMPTOMES ASSOCIES:**

- Arthralgie/Myalgie --> Localisation/s : .....
- Douleur/Brûlure --> Localisation/s : .....
- Fièvre : .....°C
- Lymphadénopathie --> Localisation/s : .....

- Oedème: --> Localisation/s:.....
- Perte de connaissance
- Autres (préciser) : .....

**SYMPTOMES CARDIO-VASCULAIRES:**

- Arythmie
- Collapsus
- Hypotension --> Pression artérielle: .....mmHg
- Tachycardie --> Poulx: ...../min
- Autres (préciser) : .....

**SYMPTOMES PSYCHIQUES:**

- Angoisse / Réactions de panique
- Hyperventilation
- Malaise
- Sueurs
- Vertige
- Autre (préciser) : .....

**IMPLICATION D'AUTRES ORGANES:**

(ex. neuropathie périphérique, atteinte pulmonaire, cytopénie, hépatite...)

- .....
- .....
- .....
- .....



**MEDICAMENTS PRIS DEPUIS SANS PROBLEME :**

.....  
 .....  
 .....

**MEDICAMENTS SUSPECTES:**

Nom générique du médicament ± additifs / Indication:	Dose quotidienne / Voie Durée du traitement :	Intervalle prise/ réaction	Prise antérieure de ce(s) médicament(s):
1.	.....mg/j .....; .....j		<input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/> Ne sait pas <input type="checkbox"/> Oui -> Symptômes: .....
2.	.....mg/j .....; .....j		<input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/> Ne sait pas <input type="checkbox"/> Oui -> Symptômes: .....
3.	.....mg/j .....; .....j		<input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/> Ne sait pas <input type="checkbox"/> Oui -> Symptômes: .....
4.	.....mg/j .....; .....j		<input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/> Ne sait pas <input type="checkbox"/> Oui -> Symptômes: .....
5.	.....mg/j .....; .....j		<input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/> Ne sait pas <input type="checkbox"/> Oui -> Symptômes: .....
6.	.....mg/j .....; .....j		<input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/> Ne sait pas <input type="checkbox"/> Oui -> Symptômes: .....

Traitement de l'épisode aigu :  Pas de traitement  Consultation urgente  Hospitalisation

- Arrêt des médicaments suspectés N° # .....
- Antihistaminiques  locaux  oraux  systémiques; --> préciser : .....
- Corticostéroïdes  locaux  oraux  systémiques; --> préciser : .....
- Bronchodilatateurs  locaux  systémique; --> préciser : .....
- Traitement de choc  adrénaline  remplissage vasculaire  autres : .....
- Réduction simple de dose de : .....
- Changement de médicaments pour : type/nom : ..... tolérance : .....
- Autre (préciser) : .....

**MEDICAMENTS EN COURS:**

Antihistaminiques: .....  β-Bloquants: .....

Autres médicaments: .....  
 .....  
 .....

**HISTOIRE PERSONNELLE :**

1) Y A T'IL EU DES SYMPTOMES SIMILAIRES OBSERVES SANS PRISE DU MEDICAMENT INCRIMINE ? :  Oui  Non  Ne sait pas

.....  
 .....

2) ANTECEDENTS :

- Asthme  Autoimmunité (Goujerot, Lupus, etc)  Urticaria pigmentosa / mastocytose
  - Polyposse naso-sinusienne  Lymphoprolifération (LAL, LLC, Hodgkin...)
  - Mucoviscidose  Chirurgie du disque intervertébral  Urticaria chronique
  - Diabète  Foie : .....  HIV positif
  - Autre/Préciser : .....  Rein : .....
- .....  
 .....

3) MALADIES ALLERGIQUES: (ex. pollinose, dermatite atopique, allergie alimentaire, allergie aux venins d'hyménoptères, allergie au latex, etc.)

.....  
 .....

4) REACTIONS MEDICAMENTEUSES LORS DE PRECEDENTES CHIRURGIES (préciser le nombre, avec/sans réaction):

Dentaires: .....  Pas de réaction  
 Anesthésies loco-régionales: .....  Pas de réaction  
 Anesthésies générales: .....  Pas de réaction

.....  
 .....

5) REACTIONS MEDICAMENTEUSES LORS DE VACCINATIONS (oui/non):  Polio  Tétanos

Rubéole

Rougeole

Hépatite B

Diphtérie

Autres: .....

**HISTOIRE FAMILIALE :**

Allergies / Allergies médicamenteuses : .....  
.....

**TESTS DIAGNOSTIQUES :**

**RESULTATS**

1) PENDANT L'EPISODE AIGU:		DATE	NORMAL	ANORMAL	DOUTEUX
<b>Sang:</b>	<input type="checkbox"/> NFS: Eosinophiles: .....		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Valeur: .....	<input type="checkbox"/>
	Autres: .....		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Valeur: .....	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/> ECP .....		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Valeur: .....	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/> CRP / VS .....		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Valeur: .....	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/> Cytométrie (.....) .....		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Valeur: .....	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/> Histamine .....		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Valeur: .....	<input type="checkbox"/>
<b>Foie:</b>	<input type="checkbox"/> Trypsine .....		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Valeur: .....	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/> GOT .....		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Valeur: .....	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/> GPT .....		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Valeur: .....	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/> γGT .....		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Valeur: .....	<input type="checkbox"/>
<b>Rein:</b>	<input type="checkbox"/> Phosphatase alk. ....		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Valeur: .....	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/> Créatinine .....		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Valeur: .....	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/> Méthylhistaminurie .....		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Valeur: .....	<input type="checkbox"/>
<b>Autres:</b>	<input type="checkbox"/> Autres : .....		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Valeur: .....	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/> Médiateurs (IL-4-5-10) .....		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Valeur: .....	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/> Complexes immuns circ. ....		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Valeur: .....	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/> Biopsie cutanée .....		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Valeur: .....	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> Complément .....			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Valeur: .....	<input type="checkbox"/>
2) AU DECOURS:			NEGATIF	POSITIF	DOUTEUX
<b>Tests cutanés:</b>	<input type="checkbox"/> Prick: .....		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Immédiat <input type="checkbox"/> Retardé	<input type="checkbox"/>
	.....		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Immédiat <input type="checkbox"/> Retardé	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/> IDR: .....		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Immédiat <input type="checkbox"/> Retardé	<input type="checkbox"/>
	.....		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Immédiat <input type="checkbox"/> Retardé	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/> Patch: .....		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Immédiat <input type="checkbox"/> Retardé	<input type="checkbox"/>
	.....		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Immédiat <input type="checkbox"/> Retardé	<input type="checkbox"/>
<b>Tests sanguins:</b>	<input type="checkbox"/> IgE totales .....			<input type="checkbox"/> Valeur: .....	
	<input type="checkbox"/> IgE spécifiques : <input type="checkbox"/> CAP <input type="checkbox"/> RAST .....			<input type="checkbox"/> Valeur: .....	
	.....			<input type="checkbox"/> Valeur: .....	
	<input type="checkbox"/> IgG spécifiques/Test de Coombs indir.: .....			<input type="checkbox"/> Valeur: .....	
	<input type="checkbox"/> Autre: .....			<input type="checkbox"/> Valeur: .....	
<b>Tests cellulaires:</b>	<input type="checkbox"/> TTL: .....		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> SI: .....	<input type="checkbox"/>
	.....		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> SI: .....	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/> Test d'activation des basophiles (préciser : .....		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Valeur: .....	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/> CAST: .....		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Valeur: .....	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> Autre: .....		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Valeur: .....	<input type="checkbox"/>	
<b>Tests de provocation:</b>	<input type="checkbox"/> Anesthésiques locaux : .....		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> .....	
	<input type="checkbox"/> AINS : .....		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> .....	
	<input type="checkbox"/> Aspirine : .....		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> .....	
	<input type="checkbox"/> Paracétamol : .....		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> .....	
	<input type="checkbox"/> β-lactamines : .....		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> .....	
	<input type="checkbox"/> Autres : .....		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> .....	

**CONCLUSIONS:**

Réaction de type I (médiée par les IgE) à : A.....

Réaction de type II (médiée par les anticorps) à : B.....

Réaction de type III (à complexes immuns) à : C.....

Réaction de type IV (cellulaire) à : D.....

Réaction cytotoxique (cellulaire) à : E.....

Réaction pseudoallergique à : F.....

Réaction pharmacologique à : G.....

Réaction psychologique à : H.....

Autre: ..... à : I.....

ECHELLE DE PROBABILITE: (marquer la lettre du médicament sur l'échelle)

Très vraisemblable      Vraisemblable      Plausible      Douteux      Exclue / Non cotée

---



**DECLARATION AU CRPV ?**                       Non                       Oui    Score : C:....., S:....., I:.....    Date: .....

**REMARQUES:** .....  
.....  
.....



**DEMANDE D'IMPRIMATUR**

Date de soutenance : 12/12/2018

<p><b>DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE</b></p> <p>présenté par : M Valentin PHILIPPE</p> <p><b>Sujet : STABILITE DE SOLUTIONS D'ANTIBIOTIQUES DILUEES DESTINEES A DES TESTS ALLERGOLOGIQUES POUR INTRADERMOREACTION</b></p> <p><u>Jury :</u> Président : M. Igor CLAROT, Professeur des Universités Directeur : Mme Sophie MENETRE, Pharmacien Hospitalier Juges : Mme Pascale MONFORT, Pharmacien Hospitalier M Eric MARCHIONI, Professeur des Universités</p>	<p>Vu, Nancy, le 12 11 2018</p> <p>Le Président du Jury      Directeur de Thèse</p> <p>M. Igor CLAROT      Mme Sophie MENETRE</p> <p><i>[Signature]</i>      <i>[Signature]</i></p> <p>Codirecteur Igor CLAROT</p> <p><i>[Signature]</i></p>
<p>Vu et approuvé, Nancy, le 15.11.18</p> <p>Doyen de la Faculté de Pharmacie de l'Université de Lorraine,</p> <p>Pr. Raphaël DUVAL</p> 	<p>Vu, Nancy, le 26 NOV. 2018</p> <p>Le Président de l'Université de Lorraine,</p>  <p>Pierre MUTZENHARDT</p> <p>N° d'enregistrement : 10559</p>



**TITRE**

**STABILITE DE SOLUTIONS D'ANTIBIOTIQUES DILUEES DESTINEES A DES TESTS ALLERGOLOGIQUES POUR INTRADERMOREACTION**

Thèse soutenue le 12 décembre 2018

Par PHILIPPE Valentin

**RESUME :**

Les allergies touchent une grande partie de la population française. Elles impactent la qualité de vie mais peuvent également menacer la santé des personnes qui en souffrent.

Il convient donc d'identifier précisément le déclencheur de la réaction allergique ou allergène, c'est un des rôles de l'allergologue. Il s'agit d'objectiver l'allergie et d'identifier le déclencheur pour ensuite l'éviter. Ou à l'inverse de montrer l'absence d'allergie et de ne pas prendre de précautions inutiles.

Des médicaments peuvent provoquer des réactions allergiques et parmi les plus concernés se trouvent les antibiotiques. Il faut alors tester la ou les molécules potentiellement incriminées, le plus souvent par des tests cutanés, notamment les intradermoréactions. Cela consiste en l'administration sous cutanée de faibles volumes de solutions très diluées contenant l'allergène suspecté.

La stabilité de ces solutions diluées est peu étudiée, et à défaut d'informations elles sont préparées extemporanément par les PUI de Brabois et de Mercy à destination des services d'allergologie.

Le but de ce travail est d'étudier la stabilité de solutions diluées de 10 molécules antibiotiques destinées à être utilisées pour des intradermoréactions. Les tests sont réalisés sur 7 jours, en milieu non aseptique, dans des flacons en verre, à l'abri de la lumière, entre 2 et 8 °C, avec 2 solvants : sérum physiologique et diluant phénolé. Les analyses sont réalisées en CLHP selon les recommandations des monographies de la Pharmacopée Européenne 9.2 des molécules.

Les résultats montrent que 6 de ces molécules sont stables au moins 7 jours dans les 2 solvants à toutes les concentrations testées sur les patients : benzylpénicilline, cefotaxime, ceftriaxone, cefazoline, cefuroxime et ciprofloxacine.

Pour l'amoxicilline seule la 1ère dilution à 20 mg/mL n'est pas stable 7 jours, les dilutions suivantes le sont dans le sérum physiologique. En revanche l'amoxicilline n'est pas stable avec le solvant phénolé.

L'association amoxicilline + acide clavulanique n'est stable à aucune concentration avec aucun des solvants, il faudra donc continuer à réaliser les préparations le jour même.

Pour l'ofloxacine et la levofloxacine, les solutions commerciales et les 2 premières dilutions sont stables au moins 7 jours, pour les 2 solvants. En revanche les dilutions suivantes ne sont pas stables.

Avec ces données de stabilité sur ces solutions, il est possible de préparer pour certaines molécules un seul flacon par semaine, pour plusieurs patients venant des jours différents. Cela faciliterait l'organisation des services de soins et des PUI, réduirait le nombre de préparations réalisées, le temps nécessaire au maintien de l'activité et donc les coûts, tout en maintenant le niveau de qualité pour les patients.

Cette étude pourrait être complétée en testant d'autres molécules, solvants, contenants ou conditions de conservation, afin de couvrir toute l'activité de l'allergologie.

**MOTS CLES** : Allergologie – Analytique – Antibiotiques – Intradermoréactions – Stabilité

Directeur de thèse	Intitulé du laboratoire	Nature
Dr Sophie MENETRE	EA3452 CITHEFOR	Expérimentale <input checked="" type="checkbox"/>
Co-directeur : Pr IGOR CLAROT		Bibliographique <input type="checkbox"/>
		Thème <b>3</b>

**Thèmes**

1 – Sciences fondamentales

3 – Médicament

5 - Biologie

2 – Hygiène/Environnement

4 – Alimentation – Nutrition

6 – Pratique professionnelle