



HAL
open science

Réalisation d'études de stabilité d'antibiotiques, ceftolozane/tazobactam, méropénem, témocilline, céfidérol, ceftazidime, ceftazidime/avibactam et pipéracilline/tazobactam en seringue et en diffuseur portable dans le cadre de l'optimisation de ces molécules en administration continue en réanimation et en ambulatoire

Guillaume Loeuille

► **To cite this version:**

Guillaume Loeuille. Réalisation d'études de stabilité d'antibiotiques, ceftolozane/tazobactam, méropénem, témocilline, céfidérol, ceftazidime, ceftazidime/avibactam et pipéracilline/tazobactam en seringue et en diffuseur portable dans le cadre de l'optimisation de ces molécules en administration continue en réanimation et en ambulatoire. Sciences pharmaceutiques. 2021. hal-04042734

HAL Id: hal-04042734

<https://hal.univ-lorraine.fr/hal-04042734v1>

Submitted on 23 Mar 2023

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.



**UNIVERSITÉ
DE LORRAINE**

**BIBLIOTHÈQUES
UNIVERSITAIRES**

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 bibliothèque : ddoc-thesesexercice-contact@univ-lorraine.fr
(Cette adresse ne permet pas de contacter les auteurs)

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.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>



UNIVERSITÉ
DE LORRAINE



FACULTÉ
DE PHARMACIE

**UNIVERSITE DE LORRAINE
2021**

FACULTE DE PHARMACIE

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

Soutenu devant le Jury Interrégional

Le 19 octobre 2021

Par Guillaume LOEUILLE

né le 08/06/1992

Conformément aux dispositions de l'arrêté du 4 octobre 1988 tient lieu de

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

**Réalisation d'études de stabilité d'antibiotiques,
ceftolozane/tazobactam, méropénem, témocilline, céfidérocol,
ceftazidime, ceftazidime/avibactam et pipéracilline/tazobactam en
seringue et en diffuseur portable dans le cadre de l'optimisation de ces
molécules en administration continue en réanimation et en ambulatoire**

Membres du Jury

Président / Co-directeur	Pr. Béatrice DEMORE	PU-PH en Pharmacie clinique, Faculté de Pharmacie de Nancy, Université de Lorraine et CHRU de Nancy.
Directeur	Dr. Jean VIGNERON	PH, Pharmacien, CHRU de Nancy.
Juges	Pr Mathieu BOULIN	PU-PH en Pharmacie clinique, Faculté de Pharmacie de Dijon, Université de Bourgogne et CHRU de Dijon.
	Dr Alexandre CHARMILLON	PH, Infectiologue, CHRU de Nancy.
	Dr Elise D'HUART	AH, Pharmacien, CHRU de Nancy.

UNIVERSITÉ DE LORRAINE
FACULTÉ DE PHARMACIE
Année universitaire 2020-2021

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, Igor CLAROT

Vice-Président, Raphaël DUVAL

Commission de la Recherche

Présidente, Caroline GAUCHER

Chargés de Mission

Aline BONTEMPS

Alexandrine LAMBERT

Virginie PICHON

Marie-Paule SAUDER

Arnaud PALLOTTA

Communication

Innovation pédagogique

Référente ADE

Référente dotation sur projet (DSP)

Référent vie associative

Responsabilités

Caroline PERRIN-SARRADO

Julien GRAVOULET

Isabelle LARTAUD,

Jean-Bernard REGNOUF de VAINS

Béatrice DEMORE

Marie SOCHA

Jean-Bernard REGNOUF de VAINS

Xavier BELLANGER

Igor CLAROT

Luc FERRARI

François DUPUIS

Mihayl VARBANOV

Filière Officine

Filière Industrie

Filière Hôpital

Pharma Plus ENSIC

Pharma Plus ENSAIA

Pharma Plus ENSGSI

Cellule de Formation Continue et Individuelle

Commission d'agrément des maîtres de stage

ERASMUS

DOYENS HONORAIRES

Chantal FINANCE

Francine PAULUS

Claude VIGNERON

PROFESSEURS EMERITES

Pierre LEROY

Philippe MAINCENT

Claude VIGNERON

PROFESSEURS HONORAIRES

Jean-Claude BLOCK
 Pierre DIXNEUF
 Chantal FINANCE
 Marie-Madeleine GALTEAU
 Thérèse GIRARD
 Pierre LABRUDE
 Vincent LOPPINET
 Alain NICOLAS
 Janine SCHWARTZBROD
 Louis SCHWARTZBROD

ASSISTANTS HONORAIRES

Marie-Catherine BERTHE
 Annie PAVIS

MAITRES DE CONFERENCES HONORAIRES

Monique ALBERT
 Mariette BEAUD
 François BONNEAUX
 Gérald CATAU
 Jean-Claude CHEVIN
 Jocelyne COLLOMB
 Bernard DANGIEN
 Dominique DECOLIN
 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
 Maria WELLMAN-ROUSSEAU
 Colette ZINUTTI

PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

Danièle BENSOUSSAN-LEJZEROWICZ	82	<i>Thérapie cellulaire</i>
Béatrice DEMORE	81	<i>Pharmacie clinique</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

Ariane BOUDIER	85	<i>Chimie Physique</i>
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>
Patrick MENU	86	<i>Physiologie</i>
Jean-Bernard REGNOUF de VAINS	86	<i>Chimie thérapeutique</i>
Bertrand RIHN	87	<i>Biochimie, Biologie moléculaire</i>

MAITRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

Alexandre HARLE ^H	82	<i>Biologie cellulaire oncologique</i>
Julien PERRIN	82	<i>Hématologie biologique</i>
Loïc REPEL	82	<i>Biothérapie</i>

MAITRES DE CONFÉRENCES

Xavier BELLANGER ^H	87	Parasitologie, Mycologie médicale
Emmanuelle BENOIT ^H	86	Communication et Santé
Isabelle BERTRAND ^H	87	Microbiologie
Michel BOISBRUN ^H	86	Chimie thérapeutique
Cédric BOURA ^H	86	Physiologie
Sandrine CAPIZZI	87	Parasitologie
Antoine CAROF	85	Informatique
Frédérique CHANGEY	87	Microbiologie
Sébastien DADE	85	Bio-informatique
Natacha DREUMONT ^H	87	Biochimie générale, Biochimie clinique
Florence DUMARCAY ^H	86	Chimie thérapeutique
François DUPUIS ^H	86	Pharmacologie
Reine EL OMAR	86	Physiologie
Adil FAIZ	85	Biophysique, Acoustique
Anthony GANDIN	87	Mycologie, Botanique
Caroline GAUCHER ^H	86	Chimie physique, Pharmacologie
Stéphane GIBAUD ^H	86	Pharmacie clinique
Thierry HUMBERT	86	Chimie organique
Olivier JOUBERT ^H	86	Toxicologie, Sécurité sanitaire

Alexandrine LAMBERT	85	Informatique, Biostatistiques
Julie LEONHARD ^H	86/01	Droit en Santé
Christophe MERLIN ^H	87	Microbiologie environnementale
Maxime MOURER ^H	86	Chimie organique
Coumba NDIAYE	86	Epidémiologie et Santé publique
Arnaud PALLOTTA	85	Bioanalyse du médicament
Marianne PARENT	85	Pharmacie galénique
Caroline PERRIN-SARRADO	86	Pharmacologie
Virginie PICHON	85	Biophysique
Sophie PINEL ^H	85	Informatique en Santé (e-santé)
Anne SAPIN-MINET ^H	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 ^H	87	Mycologie, Botanique
Emilie VELOT ^H	86	Physiologie-Physiopathologie humaines
Mohamed ZAIYOU ^H	87	Biochimie et Biologie moléculaire

PROFESSEUR ASSOCIE

Julien GRAVOULET	86	Pharmacie clinique
------------------	----	--------------------

PROFESSEUR AGREGÉ

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

^H *Maître de conférences titulaire HDR*

** 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 DE GALIEN

En présence des Maitres de la Faculté, je fais le serment :

D'honorer ceux qui m'ont instruit(e) dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle aux principes qui m'ont été enseignés et d'actualiser mes connaissances

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 Déontologie, de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers la personne humaine et sa dignité

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

De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession

De faire preuve de loyauté et de solidarité envers mes collègues pharmaciens

De coopérer avec les autres professionnels de santé

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

Que je sois couvert(e) d'opprobre et méprisé(e) 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

À madame le **Professeur Béatrice Demoré**,

Pour l'honneur que vous me faites de présider cette thèse, merci pour vos précieux conseils et pour l'intérêt que vous portez à ce travail, veuillez trouver ici mes sincères remerciements et ma profonde reconnaissance.

Au **Docteur Jean Vigneron**

D'avoir accepté d'encadrer ce travail de thèse. Merci pour votre lecture attentive, votre disponibilité, vos précieux conseils. Je vous suis extrêmement reconnaissant de m'avoir guidé lors de ce travail et de m'avoir fait découvrir le monde de la stabilité. Soyez assuré de tout mon respect et de ma considération.

À monsieur le **Professeur Mathieu Boullin**,

Je vous adresse mes sincères remerciements pour avoir accepté de faire partie de ce jury. Veuillez trouver l'expression de ma reconnaissance la plus sincère.

Au **Docteur Alexandre Charmillon**,

Pour avoir accepté de juger ce travail et pour tout ce que j'ai pu apprendre à tes côtés notamment au poste des antibiotiques, je t'adresse mes sincères remerciements.

Au **Docteur Elise d'Huart**,

Je t'adresse mes sincères remerciements pour avoir accepté de faire partie de ce jury, merci pour les relectures, tes précieux conseils, la gentillesse et la pédagogie dont tu as fait preuve tout au long de ce travail.

À mes **parents**

Merci de m'avoir toujours soutenu, dans mes projets, d'avoir cru en moi. Merci pour tout ce que vous m'apportez, encore aujourd'hui.

À ma sœur adorée **Hélène**, pour tous ces bons moments vécus en colocation au début de notre vie étudiante et pour ton soutien sans faille.

A **Isabelle** et **Laurent**, merci pour votre soutien.

À ma **famille**,

À ceux qui sont toujours présents pour moi

À ceux qui sont partis trop tôt et pour qui j'ai une pensée particulière à ce jour

À mes **amis**,

Théo, Kevin, Félicien, Vincent, merci à vous, pour nos tournées européennes.

Aux petites poules de Paris, **Caroline, Anne-Laure** et **Julie**, et aussi à **Camille, Adrien, Gia Van** et **Luc** pour nos innombrables soirées et le partage de cette vie étudiante passionnante.

À mes co-internes de promo : **Benoît, Taglha, Mathieu, Lounisse, Julia, Marie B, Marie R et Manon**. À tous mes autres co-internes : **Marine, Quentin, Caroline, Julie, Juline, Tiphaine, Elsa, Pauline, Maxime, Jeanne, Alexandre, Loïc, Romane, Lucas, Adèle, Aline, Claire, Zahoua, Marie, Célia, Gillian, Jean-Baptiste, Samuel**... ceux dont j'ai oublié le nom et à tous les nouveaux.

À **Franck, Hubert et Nathalie**, merci pour votre accueil au laboratoire de contrôle de la PUI du CHRU de Nancy, pour votre aide dans la réalisation de ce travail de thèse. Travailler avec vous pendant cette année a été un immense plaisir. Sans vous, je n'y serais pas arrivé !

À toutes les équipes pharmaceutiques, médicales et paramédicales que j'ai pu rencontrer au cours de mon parcours.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION.....	1
PARTIE THEORIQUE : Contexte.....	2
I. Les β -lactamines	2
I.1 Présentation et mode d'action	2
I.2 Les sous-classes de β -lactamines.....	3
I.3 Pharmacocinétique (PK).....	6
I.4 Pharmacodynamie (PD)	7
II. Optimisation PK/PD des β -lactamines.....	8
II.1 Avantages de la perfusion continue en unité de soins critiques	10
II.2 Réalisation de perfusion continue dans les services de soins critiques	12
III. Antibiothérapie parentérale à domicile (OPAT)	13
III.1 Définition.....	13
III.2 Avantages de l'OPAT	13
III.3 Optimisation PK/PD à domicile.....	14
III.4 Dispositif de perfusion continue à domicile.....	15
IV. Stabilité médicamenteuse.....	16
IV.1 Définition.....	16
IV.2 Facteurs influençant la stabilité	17
IV.3 Conséquences cliniques d'une instabilité médicamenteuse.....	19
IV.4 Ouvrage de référence, guide et base de données	19
OBJECTIFS.....	23
PARTIE EXPERIMENTALE, REALISATION D'ETUDES DE STABILITE	24
I. Modèle étude de stabilité.....	24
I.1 Introduction	24
I.2 Objectifs.....	24
I.3 Matériels et méthodes	25
I.4 Résultats.....	29

I.5	Discussion/Conclusion.....	30
II.	Pipéracilline/tazobactam.....	31
II.1	Introduction	31
II.2	Objectifs.....	32
II.3	Matériels et méthodes	33
II.4	Résultats.....	35
II.5	Discussion	44
II.6	Conclusion	45
III.	Ceftolozane/tazobactam	47
III.1	Introduction	47
III.2	Objectifs.....	49
III.3	Matériels et méthodes	49
III.4	Résultats.....	51
III.5	Discussion	59
III.6	Conclusion	61
IV.	Méropénem.....	62
IV.1	Introduction	62
IV.2	Objectif.....	63
IV.3	Matériels et méthodes	64
IV.4	Résultats.....	66
IV.5	Discussion	71
IV.6	Conclusion	71
V.	Céfidérocol	72
VI.	Témocilline.....	79
VI.1	Introduction	79
VI.2	Objectifs.....	80
VI.3	Matériels et méthodes	80
VI.4	Résultats.....	83
VI.5	Discussion	90

VI.6	Conclusion	91
VII.	Ceftazidime/avibactam.....	92
VIII.	Ceftazidime	113
VIII.1	Introduction / objectifs.....	113
VIII.2	Matériels et méthodes	113
VIII.3	Résultats.....	114
VIII.4	Discussion	116
VIII.5	Conclusion	117
	DISCUSSION GENERALE	118
I.	Rôle du pharmacien hospitalier	118
II.	Limites rencontrées lors des études de stabilité.....	119
II.1	Seringue	119
II.2	Diffuseur	119
II.3	Limites financières	120
II.4	Limites administratives	121
III.	Perspectives	121
	CONCLUSION	123
	LISTE DES ANNEXES.....	125
	ANNEXES	126
	BIBLIOGRAPHIE.....	162

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figure 1 : Structure chimique du noyau bêta-lactame.....	2
Figure 2 : Structure chimique du noyau pénème	3
Figure 3 : Structure chimique du noyau céphème.....	4
Figure 4 : Structure chimique du noyau carbapénème	6
Figure 5 : Structure chimique du noyau monobactame.....	6
Figure 6 : Efficacité de l'antibiothérapie (concentration ou temps-dépendant) en fonction de sa concentration.....	8
Figure 7 : Concept de l'optimisation PK/PD	9
Figure 8 : Modélisation des concentrations plasmatiques obtenues après l'administration de 12g/j de pipéracilline en bolus (à gauche) en perfusion continue sans (au milieu) ou avec une dose de charge (à droite), (adapté SFAR/SFPT,2018).	10
Figure 9 : Schéma fenêtre de sélection des mutants.	11
Figure 10 : Exemple de pousse seringue électrique	12
Figure 11 : Exemple d'un diffuseur élastomérique (BAXTER®).....	15
Figure 12 : The Injectable Drug Information™ (gauche) et The Handbook on injectable Drugs® (20 th Edition) (droite)	20
Figure 13 : Page d'accueil de la base de données Stabilis®	21
Figure 14 : Guide méthodologique des études de stabilité des préparations	22
Figure 15 : Chaîne CLHP du laboratoire de contrôle analytique de la PUI	26
Figure 16 : Page d'accueil ValiStab®.....	27
Figure 17 : Structure chimique de la pipéracilline (gauche) et du tazobactam (droite)	31
Figure 18 : Chromatogramme d'une solution de pipéracilline/tazobactam à 300/37,5 µg/mL dans du NaCl 0,9% après reconstitution et spectre UV de la pipéracilline (en bas à droite), spectre UV du tazobactam (en bas à gauche) de 190 à 450 nm	36
Figure 19 : Chromatogrammes de solution de pipéracilline/tazobactam (300/37,5 µg/mL) en conditions stressantes (thermique, oxydative, acide, alcaline, photolytique)	38
Figure 20 : Chromatogrammes de solution de pipéracilline (300 µg/mL) en conditions stressantes (thermique, oxydative, acide, alcaline, photolytique)	39
Figure 21 : Structure chimique du ceftolozane (gauche) et du tazobactam (droite).....	47
Figure 22 : Chromatogramme d'une solution de ceftolozane/tazobactam à 150/75 µg/mL dans du NaCl 0,9% après reconstitution et spectre UV du ceftolozane (en bas à droite), spectre UV du tazobactam (en bas à gauche) de 190 à 400 nm.....	52
Figure 23 : Chromatogrammes de solution de ceftolozane/tazobactam (150/75 µg/mL) en conditions stressantes (thermique, oxydative, acide, alcaline, photolytique)	54

Figure 24 : Diffuseur de ceftolozane/tazobactam à T 0h (gauche) et à T 24h (droite) dilué dans du G5%	59
Figure 25 : Structure chimique du méropénem	62
Figure 26 : Chromatogramme d'une solution de méropénem à 208,5 µg/mL dans du NaCl 0,9% fraîchement reconstitué et spectre UV du méropénem de 220 à 400 nm	66
Figure 27 : Chromatogrammes de solutions de méropénem (150 µg/mL) en conditions stressantes (thermique, oxydative, acide, alcaline, photolytique), produits de dégradation signalé par les flèches bleues.	68
Figure 28 : Seringue de méropénem dilué dans du NaCl 0,9% à T0h et T8h (gauche) et dilué dans du G5%, T0h et T8H (droite)	70
Figure 29 : Structure chimique de la témocilline	79
Figure 30 : Chromatogramme d'une solution de témocilline à 150 µg/mL dans du NaCl 0,9% après reconstitution et spectre UV de la témocilline de 190 à 400 nm	83
Figure 31 : Chromatogrammes de solutions de témocilline (150 µg/mL) en conditions stressantes (thermique, oxydative, acide, alcaline, photolytique) produits de dégradation signalés par des flèches bleues.	85
Figure 32 : Chromatogrammes de témocilline obtenus au bout de T0, T24 et T48 h en diffuseur (haut) et en seringue (bas)	88
Figure 33 : Solution de témocilline en diffuseur diluée dans du NaCl 0,9% à T0h (gauche), T24h (milieu) et T48h (droite).....	89

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Balance massique de solution pipéracilline/tazobactam (300/37,5 µg/mL) après dégradation forcée	40
Tableau II : Evolution de la concentration initiale de pipéracilline en seringue et diffuseur, diluée dans du NaCl 0,9% et dans du G5%	41
Tableau III : Evolution de la concentration initiale de tazobactam en seringue et diffuseur, diluée dans du NaCl 0,9% et dans du G5%	42
Tableau IV : Mesure des valeurs de pH des solutions de pipéracilline/tazobactam au cours de l'étude de stabilité.....	43
Tableau V : Mesure de l'absorbance des solutions de pipéracilline/tazobactam au cours de l'étude de stabilité.....	44
Tableau VI : Balance massique du ceftolozane/tazobactam après dégradations forcées	55
Tableau VII : Evolution de la concentration initiale de ceftolozane en seringue et diffuseur, diluée dans du NaCl 0,9% et dans du G5%	57
Tableau VIII : Evolution de la concentration initiale de tazobactam en seringue et diffuseur, diluée dans du NaCl 0,9% et dans du G5%	57
Tableau IX : Mesure de l'absorbance des solutions de ceftolozane/tazobactam au cours de l'étude de stabilité.....	58
Tableau X : Balance massique de solution de méropénem à 150 µg/mL après dégradation forcée	69
Tableau XI : Evolution de la concentration initiale de méropénem en seringue, dilué dans du NaCl 0,9% et dans du G5%	69
Tableau XII : Balance massique de solution de témocilline à 150 µg/mL après dégradation forcée	86
Tableau XIII : Evolution de la concentration initiale de témocilline en diffuseur et en seringue, diluée dans du NaCl 0,9% et dans du G5%	87
Tableau XIV : Mesure de l'absorbance des solutions de témocilline en diffuseur au cours de l'étude de stabilité.....	89
Tableau XV : Evolution de la concentration initiale de ceftazidime en diffuseur et en seringue, diluée dans du NaCl 0,9% et dans du G5%	114
Tableau XVI : Concentration et quantité de pyridine détectée pendant l'étude de stabilité .	115
Tableau XVII : Mesure de l'absorbance des solutions de ceftazidime en seringue et en diffuseur au cours de l'étude de stabilité	116
Tableau XVIII : Récapitulatif des durées de stabilité validées d'antibiotiques.....	123

LISTE DES ABREVIATIONS

5-HMF	5-(hydroxyméthyl)furfural
AMM	Autorisation de Mise sur le Marché
ANSM	Agence Nationale de Sécurité du Médicament
BPP	Bonnes Pratiques de Préparations
C1G-C5G	Céphalosporine de première, deuxième, troisième, quatrième et cinquième génération
BLSE	Bactéries productrices de Béta-lactamases à Spectre Elargi
CHRU	Centre Hospitalier Régional Universitaire
CLHP	Chromatographie en Phase Liquide à Haute Performance
CMI	Concentration Minimale d'Inhibition
CMB	Concentration Minimale Bactéricide
CPM	Concentration de Prévention des Mutants
CSH	Convergences Santé Hôpital
CV	Coefficients de Variations
EAHP	<i>European Association of Hospital Pharmacists</i>
EBLSE	EntéroBactéries sécrétrices de β -Lactamase à Spectre Elargi
EDTA	Ethylènediaminetétraacétique
EJHP	<i>European Journal of Hospital Pharmacy</i>
Eau UP	Eau Ultra-Pure
Eau PPI	Eau Pour Préparation Injectable
FSM	Fenêtre de sélection des mutants
GERPAC	Groupe d'Evaluation et de Recherche sur la Protection en Atmosphère Contrôlée
GRIF	Groupe des Référents en Infectiologie d'Ile-de-France
G5%	Glucose 5%
HAD	Hospitalisation À Domicile
HAS	Haute Autorité de Santé
ICH	<i>International Conference on Harmonisation</i>
JNI	Journées Nationales d'Infectiologie
NaCl 0,9%	Chlorure de Sodium 0,9%
NHS	<i>National Health Service</i>
OPAT	<i>Outpatient Parenteral Antimicrobial Therapy</i>
PD	Pharmacodynamie
PK	Pharmacocinétique

PLP	Protéines Liant la Pénicilline
PSE	Pousse Seringue Electrique
PUI	Pharmacie à Usage Intérieur
PVC	PolyChlorure de Vinyle
RCP	Résumé des Caractéristiques du Produit
SARM	Staphylococcus aureus Résistant à la Méricilline
SFAR	Société Française d'Anesthésie Réanimation
SFPC	Société Française de Pharmacie Clinique
SFPO	Société Française de Pharmacie Oncologique
SFPT	Société Française de Pharmacologie et de Thérapeutique
SMR	Service Médical Rendu
Vd	Volume de Distribution

INTRODUCTION

Les β -lactamines font partie de la classe d'antibiotiques la plus utilisée à l'hôpital, en particulier dans les services de soins critiques où elles représentent 69% des antibiotiques consommés (ATB- RAISIN, 2017). En 2018 la Société Française de Pharmacologie et de Thérapeutique (SFPT) et la Société Française d'Anesthésie Réanimation (SFAR) annoncent des nouvelles Recommandations de Pratiques Professionnelles, et recommandent l'optimisation thérapeutique des β -lactamines (antibiotiques temps-dépendant) en ayant recours au maximum à la perfusion continue (SFAR/SFPT, 2018) . Cette recommandation est basée sur les données de la littérature permettant d'atteindre plus facilement les concentrations spécifiques, de maximiser l'effet du traitement, en améliorant le taux de guérison clinique, tout en diminuant les effets secondaires et la mortalité. Mais la perfusion d'antibiotiques en continu sur 24 heures à forte posologie et dans des volumes faibles pour éviter les surcharges liquidiennes nécessite des données de stabilité, généralement non fournies par les laboratoires pharmaceutiques. La faisabilité de ces perfusions continues par la réalisation d'études de stabilité est indispensable, pour accomplir cette optimisation thérapeutique.

En ville, pour les antibiothérapies parentérales à domicile ou « *outpatient antimicrobial therapy* » (OPAT) dans la littérature internationale, les β -lactamines font également partie de la classe d'antibiotique la plus consommée (84%). En France, cette pratique est encore très peu développée mais est en pleine essor avec le virage ambulatoire observé depuis plusieurs années. L'OPAT présente de nombreux avantages : une réduction des coûts hospitaliers, une diminution du risque d'infections nosocomiales, une reprise précoce de l'autonomie et un meilleur impact sur la qualité de vie du patient. L'optimisation thérapeutique de ces molécules par perfusion continue est possible mais nécessite d'acquérir des données de stabilité en diffuseur élastomérique pour s'assurer de la faisabilité de cette administration.

L'objectif de cette thèse est de réaliser des études de stabilité physico-chimiques de plusieurs β -lactamines, en seringue polypropylène à forte posologie pour les patients en soins critiques et en diffuseur élastomérique pour les patients recevant une antibiothérapie parentérale à domicile, afin de réaliser des perfusions continues et donc d'améliorer la prise en charge médicamenteuse de ces patients.

I. Les β -lactamines

I.1 Présentation et mode d'action

Les bêta-lactamines sont des composés naturels à activité antibiotique produits à l'origine par certaines espèces bactériennes et fongiques. Les antibiotiques de la famille des bêta-lactamines sont des molécules ayant la particularité de toutes posséder un noyau bêta-lactame dans leur structure (Figure 1). Il s'agit d'une large famille d'antibiotiques composée de plusieurs sous-classes parmi lesquelles les dérivés de la pénicilline, les céphalosporines, les carbapénèmes, les monobactames et les inhibiteurs de bêta-lactamase, qui ne sont pas des antibiotiques au sens strict du terme mais plutôt des composés permettant d'inhiber certains mécanismes de résistance. Chaque sous-classe se définit par des molécules possédant des structures chimiques et des propriétés biologiques très proches.

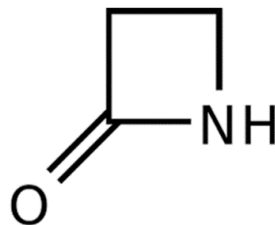


Figure 1 : Structure chimique du noyau bêta-lactame

L'action antibiotique des bêta-lactamines est portée par leur noyau bêta-lactame. En effet, ce noyau possède une très forte affinité pour le site catalytique des PLP (Protéines de Liaison à la Pénicilline), enzymes essentielles de la synthèse et du remodelage du peptidoglycane bactérien (Tipper, 1985). Les PLP sont des transpeptidases qui interviennent dans la stabilisation du peptidoglycane en formant les liaisons inter-peptidoglycanes. Le peptidoglycane est le constituant principal de la paroi de toutes les espèces bactériennes, et une inhibition de sa synthèse entraîne la mort de la bactérie par choc osmotique. De ce fait,

les bêta-lactamines possèdent une activité bactéricide (Kohanski, Dwyer, Hayete, *et al.*, 2007). Par leur mode d'action, les bêta-lactamines sont des antibiotiques temps-dépendant.

I.2 Les sous-classes de β -lactamines

Les antibiotiques de la famille des β -lactamines sont classés en quatre sous-classes : les pénicillines, céphalosporines, carbapénèmes et les monobactames,

I.2.1 Les pénicillines

Cette sous-classe de β -lactamine est elle-même divisée en plusieurs groupes. Le spectre antibactérien varie, entre les différents groupes, mais toutes ces molécules possèdent un noyau péname (Figure 2) dans leurs structures chimiques :

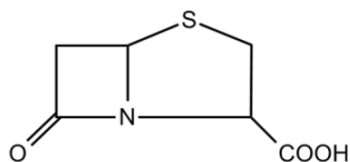


Figure 2 : Structure chimique du noyau péname

- Benzyl-pénicilline, (pénicilline du groupe G), il s'agit du premier antibiotique isolé en 1928 par Alexander Fleming. Cette molécule possède un spectre antibactérien couvrant les Cocci à Gram positif. Mais l'émergence rapide de *Staphylococcus aureus* résistant à cette molécule, par la production de pénicillinases a conduit à la synthèse de nouveaux antibiotiques

- Les isoxazolyl-pénicillines (pénicillines du groupe M) ont l'intérêt d'avoir une plus grande stabilité face à l'hydrolyse enzymatique que la pénicilline G. Exemple : cloxacilline et oxacilline.

- Les amino-pénicillines (pénicillines du groupe A) dont le représentant le plus connu est l'amoxicilline, possèdent un spectre antibactérien plus élargi avec une activité sur les bacilles à Gram négatif.

- Les carboxypénicillines (ticarcilline), uréidopénicilline (pipéracilline) possèdent également un spectre élargi à certains bacilles à Gram négatif, notamment face à *Pseudomonas aeruginosa* et contre certaines souches productrices de céphalosporinases.

- Les amidino-pénicillines ont un spectre limité aux bacilles à Gram négatif et plus particulièrement les entérobactéries. Exemple : pivmecillinam.

1.2.2 Les céphalosporines

Cette sous-classe de β -lactamine se caractérise par un large spectre antibactérien notamment contre les bacilles à Gram négatif. Les céphalosporines sont classées en cinq générations en fonction de leur spectre antibactérien mais surtout en fonction de leur capacité de résistance vis-à-vis des différents types de céphalosporinases. Toutes les céphalosporines possèdent un noyau céphème (Figure 3).

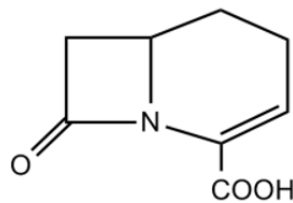


Figure 3 : Structure chimique du noyau céphème

- Les céphalosporines de première génération (C1G) possèdent un spectre antibactérien qui couvre les cocci à Gram positif ainsi que quelques espèces bactériennes à Gram négatif. Ce sont les céphalosporines les plus sensibles à l'hydrolyse par les céphalosporinases. Exemple : céfazoline.
- Les céphalosporines de deuxième génération (C2G) possèdent un spectre antibactérien plus étendu contre les bactéries à Gram négatif. Elles sont résistantes à l'hydrolyse de nombreuses bêta-lactamases d'origine plasmidique n'étant pas des Bêta-Lactamases à Spectre Étendu (BLSE) mais sont sensibles à l'hydrolyse par les céphalosporinases d'origine chromosomique. Exemple : céfoxitine.

- Les céphalosporines de troisième génération (C3G) possèdent un spectre antibactérien plus élargi contre les bactéries à Gram négatif mais au détriment d'un spectre plus étroit que les précédentes générations contre les cocci à Gram positif. Cependant, elles sont beaucoup plus résistantes à l'hydrolyse par les céphalosporinases chromosomiques que les précédentes générations. La découverte des BLSE en 1983 marque le début d'une nouvelle ère dans l'histoire de la résistance aux bêta-lactamines (Knothe, Shah, Krcmery, *et al.*, 1983). Les BLSE possèdent une activité accrue contre les bêta-lactamines et sont notamment capables d'hydrolyser les C3G et les monobactames (Bush, 2001). Exemple : céfotaxime, ceftriaxone.
- Les céphalosporines de quatrième génération (C4G) possèdent un spectre antibactérien comparable à celui des céphalosporines de première génération en ce qui concerne les bactéries à Gram positif et à celui des céphalosporines de troisième génération en ce qui concerne les bactéries à Gram négatif. De plus, ce type de céphalosporine est beaucoup plus résistant aux souches bactériennes hyperproductrices de bêta-lactamases que les C3G. Exemple : céfépime.
- Les céphalosporines de cinquième génération (C5G), possèdent un spectre antibactérien couvrant les bactéries à Gram négatif mais également les bactéries à Gram positif et possèdent une activité intéressante sur les *Staphylococcus aureus* Résistant à la Métilcilline (SARM) ainsi que sur les streptocoques résistants aux pénicillines. Exemple : céftobiprole.

1.2.3 Les carbapénèmes

Cette sous-classe de β -lactamine possède une très forte affinité pour les PLP, son spectre est donc le plus large existant chez les β -lactamines. Il couvre à la fois les bactéries pathogènes à Gram positif et à Gram négatif. La préservation et l'utilisation des carbapénèmes en dernier recours sont devenues indispensables. Cette sous-classe est caractérisée par la présence d'un noyau dit carbapénème (Figure 4). Exemple : méropénem.

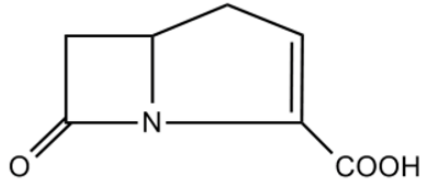


Figure 4 : Structure chimique du noyau carbapénème

I.2.4 Les monobactames

Actuellement, cette sous classe de β -lactamine n'est composée que d'un seul représentant : l'aztréonam. Son spectre antibactérien se limite aux bacilles à Gram négatif. Il présente également un intérêt pour les patients allergiques aux β -lactamines, avec un risque très limitée d'allergie croisé avec les autres pénicillines ou céphalosporines. L'aztréonam se caractérise par la présence d'un noyau monobactame (Figure 5).

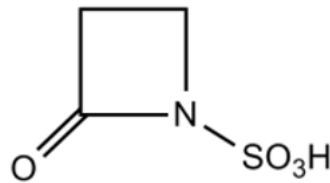


Figure 5 : Structure chimique du noyau monobactame

I.3 Pharmacocinétique (PK)

Pour la suite de ce travail, nous allons uniquement nous intéresser aux β -lactamines par voie parentérale. La pharmacocinétique, qui regroupe les actions qu'a le corps sur le médicament, est traditionnellement composée des quatre étapes : absorption, distribution, métabolisme et élimination.

La biodisponibilité des β -lactamines IV est de 100% mais il s'agit de molécules hydrophiles possédant un volume de distribution (V_d) relativement faible. De plus, seule la fraction libre de l'antibiotique non lié à l'albumine ou aux protéines plasmatiques peut posséder une activité biologique en étant capable de traverser les membranes biologiques pour atteindre le site infectieux (Liebchen, Kratzer, Wicha, *et al.*, 2014; Wong, Briscoe, Adnan, *et al.*, 2013).

La majorité des β -lactamines est peu ou pas métabolisée et éliminée par la voie urinaire. Il s'agit donc d'antibiotiques à adapter à la fonction rénale, à l'exception notable de la ceftriaxone, qui est la seule céphalosporine à être éliminée par voie biliaire (avec une demi-vie plus longue de 8 heures ne nécessitant qu'une seule injection par jour).

I.4 Pharmacodynamie (PD)

La pharmacodynamie peut être définie comme l'action du médicament sur l'organisme. De par leur mode d'action, les β -lactamines sont des antibiotiques bactéricides et « temps dépendant ». La bactéricidie est proportionnelle au temps passé au contact de l'antibiotique à une concentration supérieure à une fois la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI).

L'autre catégorie d'antibiotique concerne le produit dit « concentration dépendant », comme la famille des aminosides ou des fluoroquinolones. Plus la concentration est élevée, plus il y a une augmentation de la vitesse de bactéricidie et de sa profondeur, de façon proportionnelle. (Figure 6).

Une catégorie combine également les deux effets. Il s'agit de la classe des glycopeptides dont l'antibiotique représentatif est la vancomycine.

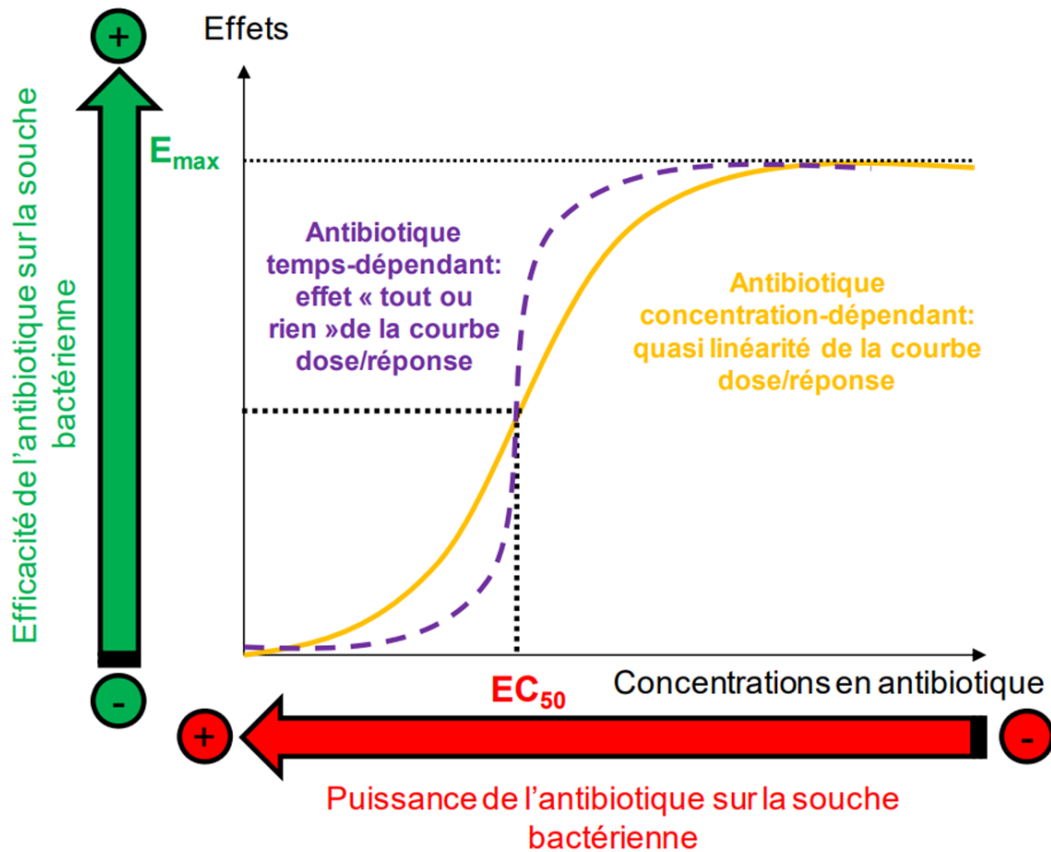


Figure 6 : Efficacité de l'antibiothérapie (concentration ou temps-dépendant) en fonction de sa concentration

II. Optimisation PK/PD des β -lactamines

L'optimisation PK/PD correspond à la variation de l'effet bactéricide au site infectieux, en fonction du temps et de la concentration de l'antibiotique. Il s'agit d'un concept de prendre en considération à la fois les propriétés (PK) et antibactériennes (PD) d'un antibiotique de façon concomitante. La pharmacocinétique est l'étude de la concentration en fonction du temps. La pharmacodynamie est l'étude de l'effet de l'antibiotique en fonction de sa concentration. L'optimisation PK/PD permet d'étudier l'effet de l'antibiotique en fonction du temps. (Figure 7.) « Aussi efficace que soit un antibiotique *In Vitro* (PD), s'il n'arrive pas ou peu au site infectieux (PK) il ne sera pas efficace et inversement. »

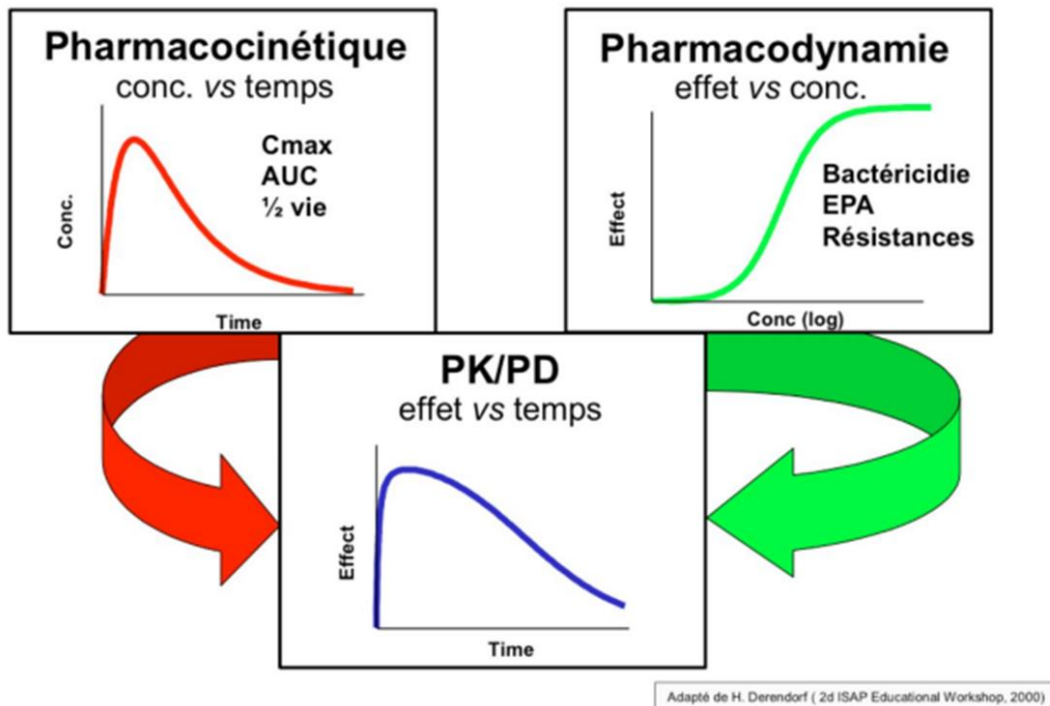


Figure 7 : Concept de l'optimisation PK/PD

Le paramètre PK/PD est donc exprimé en pourcentage de temps pendant lequel la concentration plasmatique de la forme libre de β -lactamines est supérieure au moins à une fois la CMI. Les données *in vitro* obtenues à partir des courbes de bactéricidie ont mis en évidence pour différentes β -lactamines (ceftazidime, céfépime, méropénem) :

- un effet bactéricide minimal pour une concentration comprise entre 1 et 2 fois la CMI (concentration minimale bactéricide, (CMB), proche de la CMI) (Craig et Ebert, 1990; Turnidge, 1998).

- un effet bactéricide maximal pour une concentration comprise entre 4 et 8 fois la CMI (Manduru, Mihm, White, *et al.*, 1997; Mouton et den Hollander, 1994)

La meilleure solution pour atteindre une cible située entre 4 et 8 fois la CMI et d'être 100% du temps au dessus de cette concentration est le passage d'une administration des β -lactamines en bolus ou perfusion courte à une administration en perfusion continue. (Figure 8)

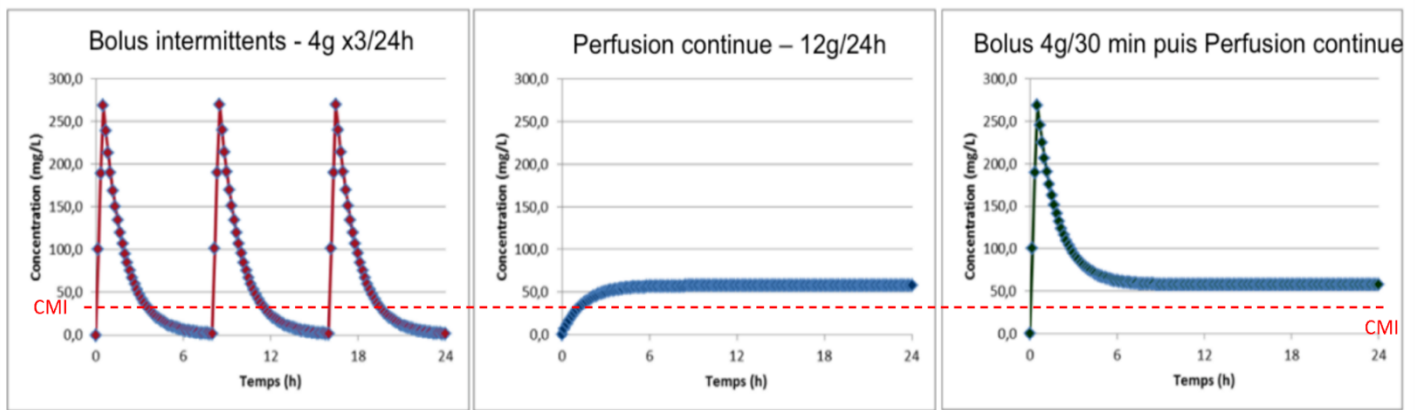


Figure 8 : Modélisation des concentrations plasmatiques obtenues après l'administration de 12g/j de piperacilline en bolus (à gauche) en perfusion continue sans (au milieu) ou avec une dose de charge (à droite), (adapté SFAR/SFPT,2018).

Sur la figure 8, le schéma thérapeutique permettant d'être à 100% du temps au dessus de la CMI et d'atteindre une efficacité maximum est le schéma de l'administration continue précédée d'une dose de charge. A l'inverse, le schéma discontinu ou la réalisation d'une perfusion continue sans dose de charge, peut conduire à se situer sous la CMI pendant plusieurs heures.

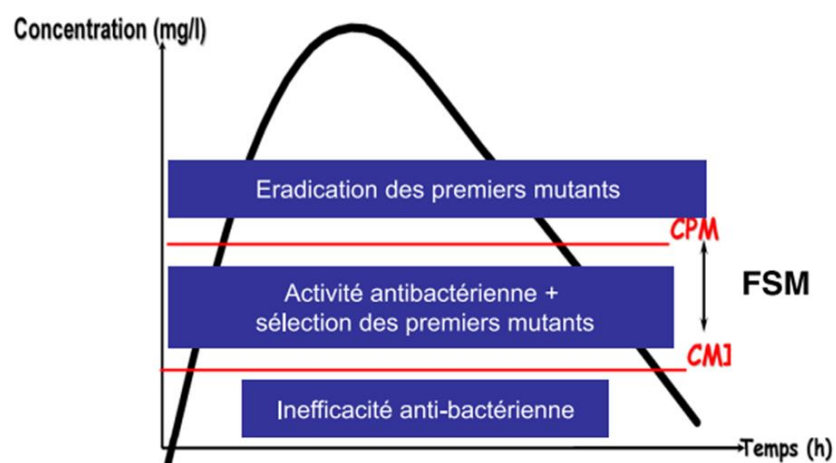
II.1 Avantages de la perfusion continue en unité de soins critiques

En 2018, les experts de la SFAR/SFPT recommandent :

- D'administrer les β -lactamines en perfusion prolongée ou continue en cas de CMI élevée de la bactérie responsable de l'infection pour augmenter les chances d'atteindre l'objectif PK/PD (Krueger, Bulitta, Kinzig-Schippers, *et al.*, 2005; Sakka, Glauner, Bulitta, *et al.*, 2007).
- D'administrer les β -lactamines en perfusion prolongée ou continue chez les patients en état de choc et/ou dont le score de gravité est élevé afin d'améliorer le taux de guérison clinique. L'analyse post-hoc réalisée par Abdul-Aziz *et al.* sur la cohorte DALI confirme un taux de guérison clinique (administration prolongée 73 % vs. discontinue 35 % ; $p=0,035$) et une survie à 30 jours (73% vs 25% ; $p=0,025$) plus élevés chez les patients traités par perfusion continue de piperacilline/tazobactam ou de méropénem (Abdul-Aziz, Lipman, Akova, *et al.*, 2016).

- Enfin, les experts de la SFAR/SFPT recommandent l'administration continue des β -lactamines chez les patients de soins critiques ayant une infection à bacille Gram négatif non fermentant pour améliorer le taux de guérison clinique, cela concerne principalement comme bactéries : *Pseudomonas aeruginosa* et *Stenotrophomonas maltophilia* (Roberts, Abdul-Aziz, Davis, et al., 2016).
- La perfusion continue est également recommandée pour les patients de soins critiques avec une infection respiratoire basse. Deux méta-analyses ont déterminé une amélioration du taux de guérison clinique en faveur de la perfusion continue. En revanche, aucune différence significative n'a été retrouvée pour la mortalité (Lal, Jaoude et El-Solh, 2016; Lee, Miller, Alzghari, et al., 2018).

Un autre avantage de la perfusion continue de β -lactamines est la lutte contre l'antibiorésistance. En effet, au sein d'une population de bactéries dite sensible, il existe des mutants spontanément résistants à l'antibiotique donné et qui possède une CMI plus élevée que le reste de la population. On parle alors de concentration de prévention des mutants (CPM). Si la concentration d'antibiotique est supérieure à la CMI de la population bactérienne initiale mais inférieure à la CPM, il y a sélection de la population résistante (fenêtre de sélection de mutants, (FSM)) (Drlica, K., and X. Zhao, 2004) (Figure 9).



Drlica Rev Med Microbiol 2004

Figure 9 : Schéma fenêtre de sélection des mutants.

L'objectif avec la perfusion continue est d'être également au dessus de cette CPM, d'où l'intérêt de viser une concentration entre 4 et 8 fois la CMI, permettant de limiter au maximum le risque de sélection de mutants.

II.2 Réalisation de perfusion continue dans les services de soins critiques

Dans les services de soins critiques, les perfusions d'antibiotiques sont réalisées dans des faibles volumes pour éviter les surcharges liquidiennes. Dans le cadre d'administration continue, l'usage des pousse-seringues électriques (PSE) (Figure 10) est très fréquent dans ces unités (Bourgain *et al*, 2016). Les PSE présentent l'avantage d'utiliser des seringues pour administrer les médicaments dont le volume maximal est de 50 mL, à un débit contrôlé variant de 1 à 10 mL/h. La précision d'un PSE est de l'ordre de $\pm 3\%$.



Figure 10 : Exemple de pousse seringue électrique

Pour l'administration de β -lactamines en perfusion continue à forte posologie par l'intermédiaire d'un PSE, il est nécessaire d'avoir des données de stabilité, or la plupart des laboratoires pharmaceutiques ne les fournissent pas. Ces données sont primordiales afin de s'assurer que la perfusion est réalisable sur une durée, à une concentration donnée et avec l'utilisation d'un solvant validé.

III. Antibiothérapie parentérale à domicile (OPAT)

III.1 Définition

L'OPAT se définit par au moins deux injections IV d'un antibiotique, sur deux jours différents et sans passer la nuit dans une structure hospitalière (avec ou sans hospitalisation préalable). L'OPAT englobe aussi, l'antibiothérapie parentérale à une seule injection par jour (avec pour exemple les β -lactamines à demi-vie longue comme la ceftriaxone ou l'értapénem) (Tice, Rehm, Dalovisio, *et al.*, 2004).

III.2 Avantages de l'OPAT

L'antibiothérapie par voie orale reste la voie de prédilection autant que possible. Mais le recours à une OPAT est parfois nécessaire. L'OPAT est en pleine expansion avec le virage ambulatoire observé en France depuis plusieurs années. Cet essor provient des avantages liés à l'OPAT : (Goodfellow, Wai, Frighetto, *et al.*, 2002; Zahnd, Aebi, Rusterholz, *et al.*, 1999):

- avec une amélioration de la qualité de vie des patients par une prise en charge ambulatoire précoce,
- une diminution des effets secondaires liés aux effets d'une hospitalisation prolongée
- une reprise de l'autonomie des patients plus précoce,
- une diminution du coût de la prise en charge avec une diminution des journées d'hospitalisation.

La seconde raison de l'essor de l'OPAT provient de l'émergence des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi (EBLSE). En 2002, en France, seulement 0,8% des souches d'*E.coli* présentaient une résistance aux C3G. En 2017, ce taux était de 10,2%. Le taux de résistance aux C3G en 2017 est de 28,8% pour les souches de *K. pneumoniae* (ECDC europa, 2018). Face à cette augmentation de l'antibiorésistance, le recours à l'OPAT devient nécessaire, étant donné l'impossibilité d'utiliser de plus en plus à la voie orale.

Actuellement, peu de données existent sur l'utilisation de la perfusion continue à domicile. Il n'existe pas pour le moment d'études randomisées évaluant son efficacité par rapport à une antibiothérapie réalisée en milieu hospitalier.

Une étude très intéressante réalisée de Durojaiye *et al.*, a été réalisée dans un centre hospitalier au Royaume-Uni. Plus de 2812 OPAT ont été analysées durant une période de 10 ans, entre janvier 2006 et janvier 2016. Au total, plus de 49854 journées d'hospitalisation ont pu être économisées. Le taux de guérison clinique était de 88% (n= 3357) et le taux de réadmission de 7% (n = 265). Cette étude a permis de démontrer que l'OPAT répond à des critères de sécurité cliniques avec seulement 15 infections enregistrées, liées à l'utilisation de cathéters intraveineux. Cette étude montre que l'OPAT est sûr, cliniquement efficace et acceptable pour le traitement d'un large éventail d'infections avec des niveaux élevés de satisfaction des patients et des économies substantielles (Durojaiye, Bell, Andrews, *et al.*, 2018).

En France, aucune donnée similaire n'a pu être collectée mais plusieurs audits de prestataire de santé ont été réalisés. En 2014, Diamantis *et al.* ont réalisé un audit d'un prestataire de santé en région parisienne. Sur 116 prescriptions analysées, 89% étaient des β -lactamines avec respectivement : 45% de céphalosporines, 27% de pénicillines avec inhibiteur, 12% de carbapénèmes et 5% de pénicillines. L'optimisation PK/PD des β -lactamines était très limitée avec seulement deux perfusions continues réalisées (Diamantis S, 2017).

III.3 Optimisation PK/PD à domicile

La perfusion intermittente de courte durée doit rester la règle pour les antibiotiques « concentration dépendant » ou pour les antibiotiques « temps dépendant » comme les β -lactamines pour les situations cliniques simples. En 2016, le groupe des référents en infectiologie d'Ile-de-France (GRIF) recommande l'optimisation PK/PD par la perfusion continue d'antibiotiques « temps dépendant » dans toutes les situations « défavorables » à l'efficacité des antibiotiques (Longuet, Lecapitaine, Cassard, *et al.*, 2016) :

- les infections avec une bactérie présentant une CMI élevée,
- l'utilisation de posologies élevées,
- une mauvaise diffusion au sein du site infecté (infections ostéoarticulaire, infection sur matériel étranger, endocardite) (Arensdorff, Boillat-Blanco, Decosterd, *et al.*, 2017; Voumard, Gardiol, André, *et al.*, 2018).
-

La perfusion continue permet également de diminuer le nombre de passages infirmiers par jour à domicile et donc de réduire les risques iatrogéniques liés à l'administration intraveineuse.

III.4 Dispositif de perfusion continue à domicile.

Les pompes volumétriques sont principalement utilisées pour la perfusion de volumes supérieurs ou égaux à 60 mL en ayant recours à une source électrique pour réaliser la perfusion (Bourgain *et al*, 2016). La précision d'une pompe volumétrique est de l'ordre de $\pm 5\%$. Mais leur principal inconvénient est leur encombrement important, impactant sur l'autonomie et la qualité de vie des patients à domicile.

Les diffuseurs à membrane élastomérique élastique sont des systèmes portables fonctionnant sans différence de hauteur et sans source d'énergie électrique. Le diffuseur est constitué d'un régulateur de débit pré-réglé. Il est non-programmable (variable de 0,5 mL/h à plus de 10 mL/h), mais permet des perfusions continues de longue durée (de nombreux modèles existent dont le volume final de perfusion peut varier de quelques dizaines de millilitres (mL) à plus de 500 mL). Il s'agit d'un dispositif portable, étant placé au contact de la peau du patient, la précision du débit dépend de la viscosité et de la température du produit. La précision d'un diffuseur élastomérique est de l'ordre de $\pm 15\%$. Du point de vue ergonomique, les diffuseurs sont très avantageux et permettent l'autonomie du patient, ils sont à choisir en première intention (Figure 11).

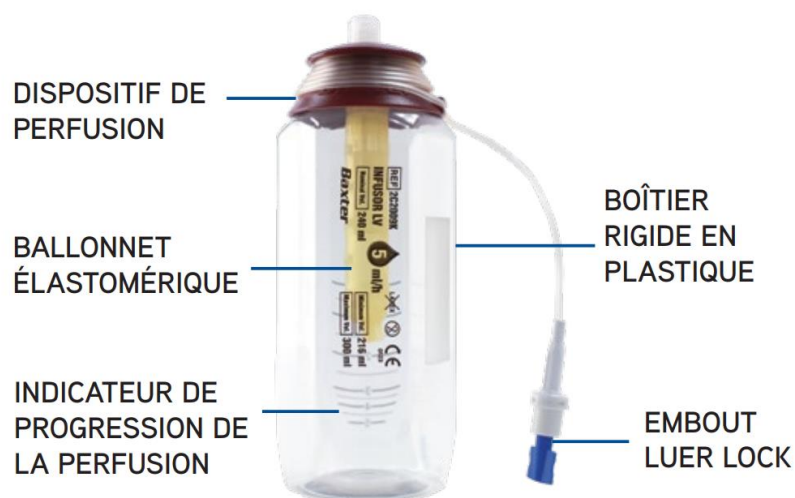


Figure 11 : Exemple d'un diffuseur élastomérique (BAXTER®)

Le diffuseur élastomérique est donc le dispositif de choix pour réaliser des perfusions continues d'antibiotiques à domicile. Mais avant de réaliser ces perfusions, il faut s'assurer que celles-ci soient stables or, la plupart des laboratoires pharmaceutiques ne fournissent pas ces données de stabilité en diffuseur élastomérique. Il est donc nécessaire de réaliser des

études de stabilités physico-chimiques afin de d'assurer de la possibilité de réaliser cette optimisation thérapeutique en toute sécurité pour le patient.

IV. Stabilité médicamenteuse

IV.1 Définition

De nombreuses publications reprennent la définition de la stabilité comme étant « [...] *as not less than 90% of the initial drug concentration remaining in the solution.* » (Food and Drug Administration, 2008).

L'International Conference on Harmonisation (ICH) Q1A (R2) définit la stabilité comme étant « *The ability of an active ingredient or a drug product to retain its properties within specified limits throughout its shelf-life. The chemical, physical, microbiological and biopharmaceutical aspects of stability must be considered.* ». Ce référentiel explicite la notion de « changement significatif » en indiquant qu'il s'agit :

- d'un changement de 5% par rapport à la valeur initiale ;
- de la présence de produits de dégradation, excédant un critère d'acceptation ;
- d'une modification de l'aspect physique : changement de couleur, séparation de phase, etc.
- d'une variation de pH en dehors des normes.

Le National Health Service (NHS) définit la stabilité comme étant « *in general, for injections the British Pharmacopoeia specification is 95-105% of stated amount. For this reason it is suggested that, where loss of the active ingredient is the critical parameter, a loss of 5% should constitute the maximum shelf life.* » (NHS, 2017)

Le consensus européen considère que la limite de stabilité dépend de la molécule et de son utilisation. Le choix de cette limite doit être justifié et être cliniquement pertinent (Bardin, Astier, Vulto, *et al.*, 2011). La notion de stabilité est multiparamétrique et correspond à la fois à la stabilité physique et chimique mais également microbiologique (Brossard, Chedru-Legros, Crauste-Manciet, *et al.*, 2013).

IV.2 Facteurs influençant la stabilité

IV.2.1 Température

Il s'agit d'un des facteurs les plus importants sur la stabilité médicamenteuse. Une variation de la température peut être à l'origine d'une augmentation de la vitesse de dégradation. Pour la majorité des médicaments, la cinétique de dégradation suit la loi d'Arrhénius. Le Guide méthodologique des études de stabilité des préparations indique qu'« une augmentation de 10°C [...] peut conduire à augmenter de 2 à 5 fois la vitesse des réactions de dégradation » (Brossard, Chedru-Legros, Crauste-Manciet, *et al.*, 2013). Plusieurs antibiotiques sont particulièrement thermosensibles : pénicilline G, amoxicilline, céfotaxime, cloxacillin etc (Longuet, Lecapitaine, Cassard, *et al.*, 2016)

IV.2.2 pH

Le pH est un facteur jouant un rôle important dans l'hydrolyse des médicaments ainsi que dans la dégradation oxydative de certains médicaments. Le pH joue également un rôle dans la solubilisation du médicament (Brossard, Chedru-Legros, Crauste-Manciet, *et al.*, 2013) Le pH optimal est souvent identique à celui de la meilleure solubilité pour une molécule donnée. Par exemple, Barthes *et al* ont démontré que le céfotaxime était plus stable lorsqu'il était compris entre un pH de 4,5 et 5,5 en solution (Barthes, Fauconneau, Martin, *et al.*, 1989). Un pH non optimal peut donc influencer la stabilité d'un médicament et entraîner potentiellement la formation d'un précipité entraînant une instabilité physique.

IV.2.3 Solvant

Le choix du solvant peut influencer la stabilité d'une molécule. Le pH des solutions de glucose 5% (G5%) est entre 4,0 et 4,5 alors que celui des solutions de chlorure de sodium 0,9% (NaCl 0,9%) est compris entre 5,5 et 6,0 (Bourgain *et al*, 2016). Das Gupta *et al* ont démontré que la ceftazidime était bien plus stable dans du NaCl 0,9% que dans du G5% (Das Gupta, Bethea et dela Torre, 1988).

IV.2.4 Concentration

La concentration peut jouer un rôle important sur la stabilité chimique et physique d'une molécule. Une concentration élevée peut augmenter la dégradation de celle-ci (instabilité chimique). D'Huart *et al.* ont démontré qu'une concentration élevée de vancomycine en seringue (> 62,5 mg/mL) pouvait conduire à la formation d'un précipité (instabilité physique) (d'Huart, Vigneron, Charmillon, *et al.*, 2019). Berthoin *et al.* ont démontré également une moins

bonne stabilité du méropénem à des concentrations élevées (Berthoin, Le Duff, Marchand-Brynaert, *et al.*, 2010a).

IV.2.5 Matériaux

Les dispositifs médicaux utilisés pour l'administration des préparations tels que les perfuseurs, prolongateurs, seringues, diffuseurs, ont une influence sur la stabilité du médicament. Cette stabilité est influencée principalement par deux phénomènes :

- L'adsorption correspond à la fixation de molécules à la surface de l'emballage primaire (Brossard, Chedru-Legros, Crauste-Manciet, *et al.*, 2013). Cette fixation entraîne une diminution de la concentration de la molécule présente en solution et donc de la dose administrée au patient. Ce phénomène est observable par exemple avec des poches en PolyChlorure de Vinyle (PVC) contenant de l'héparine sodique (Sautou, Chopineau, Gremeau, *et al.*, 1994).
- L'absorption correspond à la pénétration du principe actif dans le matériau et intervient donc après l'adsorption. Ce phénomène a été également prouvé avec des poches en PVC et plusieurs benzodiazépines (diazépam et lorazépam) (Jin, You, Jeon, *et al.*, 2016; Mancano, Boullata, Gelone, *et al.*, 1995).

L'utilisation de matériel plus inerte chimiquement, comme le polypropylène ou des élastomères en polyisoprène permet de limiter les phénomènes d'adsorption et d'absorption.

IV.2.6 Lumière

La lumière est un paramètre susceptible de provoquer une instabilité chimique des molécules photosensibles. En effet, les rayons UV peuvent catalyser des réactions d'hydrolyse et d'oxydation. Les contenants en verre ambré permettent de protéger des rayonnements d'une longueur d'onde inférieure à environ 470 nm. Pour des médicaments particulièrement sensibles comme l'isoprénaline ou la nifédipine, le recours à des tubulures et des seringues opaques lors de l'administration sont nécessaires (Brustugun, Kristensen et Tønnesen, 2004).

IV.2.7 Oxygène

La présence d'oxygène au sein d'une préparation peut entraîner l'instabilité de celle-ci par oxydation d'un de ces composants. Le moyen de protéger le médicament, en particulier lors de son stockage, est le recours lors de sa formulation à l'ajout d'un agent chélateur comme l'éthylènediaminetétraacétique (EDTA). Une autre solution est le remplacement de l'air par un

gaz inerte comme l'azote lors du remplissage. Ce phénomène peut être spontané, on parle alors d'auto-oxydation (Brossard, Chedru-Legros, Crauste-Manciet, *et al.*, 2013).

IV.3 Conséquences cliniques d'une instabilité médicamenteuse

Marsilio *et al.* ont démontré qu'une dégradation d'un principe actif, par une instabilité chimique, avec une diminution de l'activité du principe actif et la formation de produit de dégradation toxique, peut être délétère pour des patients déjà dans un état clinique critique (Marsilio, Silva et Bueno, 2016).

De même, la formation d'un précipité dans une solution, dûe à une instabilité physique peut avoir de graves conséquences cliniques pour le patient. Si le précipité passe dans le système veineux du patient, il y a un risque de provoquer une pneumopathie interstitielle diffuse, une occlusion de l'artère pulmonaire ou la formation de granulomes pulmonaires (Benlabed, Perez, Gaudy, *et al.*, 2019).

IV.4 Ouvrage de référence, guide et base de données

IV.4.1 ASHP's (American Society of Health System Pharmacists) Injectable Drug Information™ 2021.

Le *Injectable Drug Information*™ est un ouvrage répertoriant les données de stabilité et de compatibilité de médicaments injectables. Anciennement appelé *Handbook on Injectable Drugs*®, la première version est parue en 1977 avec le Dr Lawrence A. Trissel comme auteur principal (Figure 12). La 20^{ème} édition publiée en 2018 comprend 392 monographies de médicaments injectables et 3419 références.

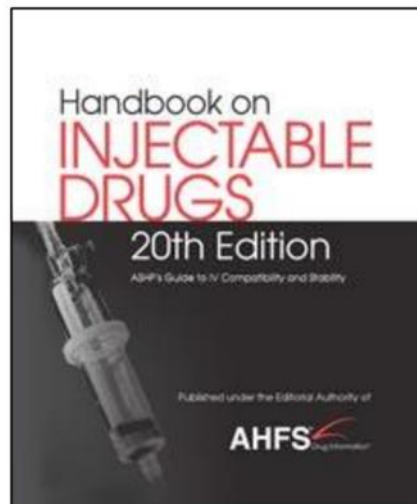
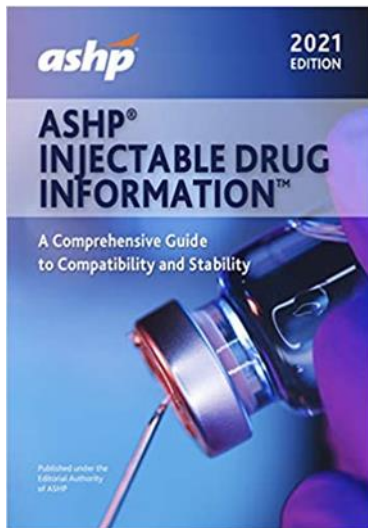


Figure 12 : The Injectable Drug Information™ (gauche) et The Handbook on injectable Drugs® (20th Edition) (droite)

IV.4.2 Base de données Stabilis®

Stabilis® est une base de données internationale créée à Nancy (France), sur la stabilité et la compatibilité des médicaments injectables. La première version date de 2001 et est diffusée sur CDROM. Depuis 2008, elle est disponible sur le site www.stabilis.org. La base Stabilis® a été conçue dans un langage international à base de pictogrammes et cette base est traduite en 29 langues (Figure 13).

STABILIS
Dernière mise à jour : 08/09/2021

Rechercher

Stabilité et compatibilité des médicaments
Bienvenue dans Stabilis.
Si vous désirez recevoir la newsletter trimestrielle, indiquez votre adresse email. [Inscrivez-vous](#)

Pour toute question ou remarque, contactez : infostab@stabilis.org

Base de données

Références bibliographiques :	2660
Molécules :	817
Classes pharmacologiques :	46
Stabilités en solution :	5930
Stabilités en mélange :	1187
Compatibilités :	11956
Noms commerciaux :	4525

Nouveautés - Molécules

Tocilizumab	07/09/2021
Propafenone Hydrochloride	31/08/2021
Melatonine	31/08/2021
Lurbinctedin	27/08/2021
Buprenorphine	16/07/2021
Ambrisentan	16/07/2021
Gemtuzumab ozogamicin	03/06/2021
Estrone	03/06/2021

Nouveautés - Références bibliographiques

	Date de saisie
4608 Durvalumab (Imfinzi - Summary of Product Characteristics, updated August 2021) Astra Zeneca	19/08/2021
4606 Study on the Optimal Conditions for Long-term Storage of Melatonin Powder as an In-hospital Preparation. Int J Pharm Compound	10/08/2021
4605 Impact of physical incompatibility on drug mass flow rates: example of furosemide-midazolam incompatibility. Ann Allergy	09/08/2021
4602 Physical and Chemical Stability of Dexamethasone Sodium Phosphate in Intravenous Admixtures Used to Prevent Chemotherapy-Induced Nausea and Vomiting. Hosp Pharm	06/08/2021
4603 Compatibility of Lactated Ringer's Injection With 94 Selected Intravenous Drugs During Simulated Y-site Administration. Hosp Pharm	06/08/2021
4600 Physicochemical stability of lurbinctedin reconstituted at 500 µg/mL and diluted at 15, 30, and 70 µg/mL in 0.9% sodium chloride and 5% dextrose. EJOP	04/08/2021
4589 Pemetrexed Mylan - Résumé des caractéristiques du produit Mylan	18/06/2021
4587 Stability-indicating LC-MS Method for Determination of Stability of Extemporaneously Compounded Buprenorphine Oral Syringes for Neonatal Abstinence Syndrome. J Pediatr Pharmacol Ther	09/06/2021
4584 Long-term stability of 10 mg/mL dobutamine injectable solutions in 5% dextrose and normal saline solution stored in polypropylene syringes and cyclic-olefin- copolymer vials. EJHP	26/05/2021

Figure 13 : Page d'accueil de la base de données Stabilis®

En septembre 2021, cette base comptabilise 4608 références bibliographiques pour 817 molécules dont 467 injectables et 72 faisant partie de la catégorie des antibiotiques. Cette base est composée d'une liste de monographies et pour chaque médicament, plusieurs éléments sont précisés : la stabilité en solution simple, la stabilité en mélange, les facteurs influençant la stabilité, les incompatibilités médicamenteuses, les voies d'administration et les références bibliographiques ayant permis de répertorier l'ensemble de ces données.

Depuis 2014, un système de cotation a été instauré pour la classe thérapeutique des anticancéreux. Il s'agit d'un système à 5 niveaux de preuve, de A à E, où A représente le niveau de preuve le plus élevé. Les critères retenus permettent de déterminer la qualité d'une étude en fonction des techniques utilisées pour déterminer la stabilité physique (examen visuel

et subvisuel) et la stabilité chimique (capacité indicatrice de stabilité, linéarité, précision, variabilité des résultats).

IV.4.3 Conférence de consensus européenne

A l'initiative de la Société Française de Pharmacie Oncologique (SFPO), une conférence de consensus européenne s'est tenue en mai 2010 afin d'élaborer des recommandations européennes pour des études de stabilité notamment sur des médicaments anticancéreux (Bardin, Astier, Vulto, *et al.*, 2011) : « Guidelines for the practical stability studies of anticancer drugs : A European consensus conference ». Ces recommandations ont été proposées pour couvrir les besoins en données de stabilité sur les anticancéreux adaptées à la pratique quotidienne.

IV.4.4 Guide méthodologique des études de stabilité des préparations

La Société Française de Pharmacie Clinique (SFPC) et le Groupe d'Évaluation et de Recherche sur la Protection en Atmosphère Contrôlée (GERPAC) ont élaboré en collaboration, un Guide Méthodologique des Études de Stabilité des Préparations à partir des référentiels internationaux et de la pratique hospitalière (Brossard, Chedru-Legros, Crauste-Manciet, *et al.*, 2013). Cet outil est une aide à la réalisation d'études de stabilité ainsi qu'une aide à l'interprétation des données de stabilité publiées dans la littérature. Ce premier ouvrage se consacre aux préparations liquides (Figure 14).

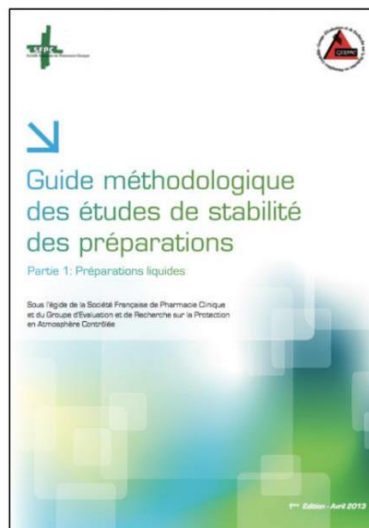


Figure 14 : Guide méthodologique des études de stabilité des préparations

OBJECTIFS

L'objectif de ce travail est de participer à l'amélioration de la prise en charge médicamenteuse du patient, par l'optimisation de l'administration des β -lactamines en perfusion continue : cefidérocol, ceftolozane/tazobactam, pipéracilline/tazobactam, témocilline, méropénem, ceftazidime, ceftazidime/avibactam, ainsi que de promouvoir le bon usage de ces antibiotiques, en acquérant des données de stabilité pour réaliser ces perfusions en toute sécurité.

L'objectif principal a été de réaliser des études de stabilités physico-chimiques de plusieurs β -lactamines au sein du laboratoire de contrôle analytique de la PUI du CHRU de Nancy. Les études de stabilité ont été réalisées en seringue polypropylène en faible volume et à forte posologie, destinées pour les patients des services de soins critiques et également dans des diffuseurs élastomériques en polyisoprène, destinées pour les patients recevant une antibiothérapie intraveineuse à domicile.

L'objectif secondaire a été d'identifier si possible les différents paramètres influençant sur la stabilité des β -lactamines étudiées.

PARTIE EXPERIMENTALE, REALISATION D'ETUDES DE STABILITE

I. Modèle étude de stabilité

Au total, 7 études de stabilité ont été réalisées. Chaque étude est présentée séparément sous le format d'un article court. Une étude sur la ceftazidime/avibactam est présentée sous forme de manuscrit pour soumission. Le céfidérocol est présenté sous forme de publication. Le même format est utilisé pour l'ensemble des articles, dont la structure et le matériel et méthode sont décrits ci-dessous.

I.1 Introduction

Pour chaque étude, une présentation rapide de la molécule étudiée sera réalisée :

- sous-classe de β -lactamine,
- présentation de la forme commerciale, flacon, dosage,
- indications thérapeutiques/posologie,
- présentation des modalités de reconstitution selon le RCP du produit,
- états des connaissances sur la stabilité de la molécule et/ou états des connaissances sur les éventuelles études en perfusions continues.

I.2 Objectifs

Plusieurs paramètres seront présentés :

- la concentration de l'antibiotique,
- le choix des solvants utilisés (NaCl 0,9% et G5%),
- le contenant utilisé : une seringue en polypropylène d'une contenance de 50 mL (BD, Plastipak™) et/ou un diffuseur élastomérique (Baxter, FOLFusor LV10), d'une contenance nominale de 240 mL,

- les conditions de stockage : les seringues sont exposées à la lumière, et stockées au sein du laboratoire à une température comprise entre 20 et 25°C. Les diffuseurs sont stockés dans une étuve à 37°C (ICH, Binder) à l'abri de la lumière,
- la durée de l'étude : variant de 8 heures pour l'étude la plus courte à 48 heures.

I.3 Matériels et méthodes

La première partie du chapitre « matériels et méthodes » présente les différents réactifs chimiques, médicaments utilisés lors de l'étude de stabilité, puis la méthode analytique employée pour notre étude. Une méthode analytique par Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP) a été utilisée pour toutes les études de stabilité.

Le recours à une méthode analytique dite séparative comme la CLHP est essentiel pour déterminer la stabilité chimique d'une molécule (Bardin, Astier, Vulto, *et al.*, 2011). Elle permet de séparer les différents constituants d'une préparation : la ou les molécules d'intérêts, les produits de dégradation ou encore les différents excipients rentrant dans la formulation de la spécialité médicamenteuse. On parle alors de méthode indicatrice de stabilité ou « *stability indicating method* ».

La capacité indicatrice de stabilité sera analysée en effectuant des dégradations forcées pour chacune des études. L'objectif est de pouvoir dégrader entre 10 et 20% de notre molécule d'intérêts, et de prouver qu'il n'y a pas d'interaction entre les produits de dégradations et la molécule d'intérêt (Brossard, Chedru-Legros, Crauste-Manciet, *et al.*, 2013). Les dégradations forcées effectuées sont variées afin d'explorer les différentes voies de dégradation d'une même molécule :

- Thermique (exposition à la chaleur).
- Acide (utilisation de l'acide chlorhydrique (HCl)).
- Basique (utilisation de soude (NaOH)).
- Photolytique (exposition à une lumière UV de 254 nm, lampe Vilbert Lourmat®)
- Oxydative (par exposition à du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂))

La chaîne chromatographique utilisée pour l'ensemble des études de stabilité est une ELITE LaChrom-VWR/Hitachi (Figure 15) composée d'un organisateur pour 4 solvants, d'une pompe quaternaire L-2130, d'un injecteur automatique thermostaté L-2200, d'un four à colonnes L-2300 et la détection est assurée par un détecteur à barrette de diodes L-2455.

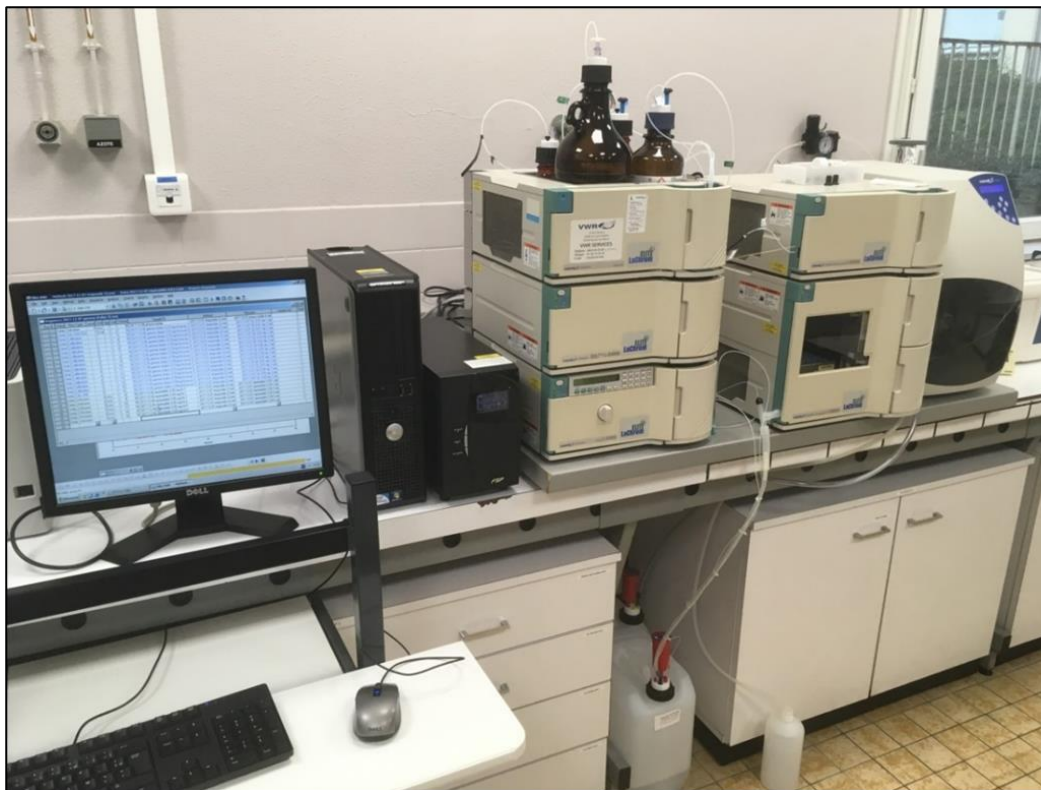


Figure 15 : Chaine CLHP du laboratoire de contrôle analytique de la PUI

Pour chaque étude, une présentation de la méthode analytique sera effectuée :

- Composition de la phase mobile et son mode d'élution.
- Type de colonne chromatographique, longueur, taille des particules, T°C colonne, diamètre interne.
- Longueur d'onde de détection.
- Débit, volume d'injection, temps d'analyse.

La validation de la méthode est réalisée en suivant les recommandations de la Conférence Internationale d'Harmonisation (ICH) Q2 (R1) (« ICH Validation of Analytical Procedures Q 2 (R1) Guidelines 2005 », 2006):

- La linéarité est évaluée avec une courbe de calibration composée de 5 points.
- La linéarité est répétée 3 fois afin d'obtenir une courbe de calibration moyenne.
- La répétabilité a été évaluée sur la concentration basse, la concentration moyenne et la concentration haute de la courbe de calibration.
- La fidélité intermédiaire a été évaluée en répétant la répétabilité 3 fois.

- La stabilité des échantillons dans l'échantillonneur automatique ou « auto-sampler » a été évaluée sur une période de plusieurs heures, afin de s'assurer d'une absence de dégradation de la molécule d'intérêt entre plusieurs analyses. La température de l'auto-sampler est comprise entre 4 et 8°C.

Le critère d'acceptation pour la répétabilité est un coefficient de variation inférieur (CV) à 2%. Pour la précision intermédiaire, le coefficient de variation doit être inférieur à 4%.

Plusieurs tests statistiques sont réalisés à partir de l'outil informatique ValiStab®, outil informatique développé en interne dont une version sous forme de logiciel est en cours de développement. Il s'agit d'un outil d'aide à la réalisation d'étude de stabilité et d'aide à la validation de nos différentes méthodes analytiques (Figure 16).



Figure 16 : Page d'accueil ValiStab®

Un risque $\alpha = 5\%$ a été fixé pour l'ensemble des tests statistiques :

- L'homogénéité des variances pour établir la courbe de calibration est évaluée par un test de Cochran (répétition $n = 3$, nombre de point = 5). T_f théorique = 0,684, si T_f est inférieur à la valeur T_f théorique, le test n'est pas significatif (on ne met pas en évidence de différences entre les variances).

- La linéarité est évaluée par l'analyse des variances : ANOVA, évaluant la présence d'une pente, ce test permet également de tester si la droite est en bonne adéquation avec un modèle linéaire. Si $F_{\text{non-linéarité}} < F_{\text{non-linéarité limite}}$, la droite est en bonne adéquation avec un modèle linéaire au risque considéré. ($F_{\text{non-linéarité limite}} = 3,71$).
- L'intervalle de confiance des coefficients du modèle linéaire est évalué afin de s'assurer que la droite passe par 0 au risque considéré.
- Une analyse des résidus est effectuée. Si le ratio positif versus négatif est équilibré, le modèle linéaire est estimé adéquat (nombre de points = 15).
- L'exactitude se caractérise par l'étroitesse de l'accord entre un résultat d'essais et la valeur de référence acceptée. Elle est évaluée par un test de Student, sur la concentration basse, moyenne et haute de la courbe de calibration.

L'intégralité des tests statistiques réalisés pour chaque molécule est présentée en annexe. Pour chaque étude, 3 préparations sont réalisées pour chaque condition. A chaque temps d'analyse, l'échantillon de chaque préparation est évalué en triplicata. Les résultats sont exprimés en % de la concentration initiale de la préparation, soit à T0 heures = 100%. La limite d'acceptabilité est fixée à une variation de $\pm 10\%$ de la valeur initiale mesurée à T0 heure, soit une concentration comprise entre 90-110 % de la concentration initiale.

Spécificité :

La spécificité est la capacité d'évaluer l'analyte sans équivoque en présence de composants susceptibles d'être présents. L'absence d'interférence démontrée entre le médicament d'intérêt et les excipients, solvants est réalisée. Pour chaque étude dans le glucose 5%, l'analyse d'une solution de 5-(hydroxyméthyl) furfural (5-HMF) est nécessaire, il s'agit du principal produit de dégradation du glucose, possédant un maximum d'absorbance à 284 nm.

pH

Les mesures de pH ont été réalisées avec un pH-mètre Bioblock Scientific. Une mesure de pH est réalisée à chaque temps d'analyse. La limite d'acceptabilité a été fixée à ± 1 unité de pH, en comparaison avec le pH mesuré juste après la préparation de la seringue. Le pH étant

exprimé sur une échelle logarithmique, le changement d'une unité pH, représente une variation par 10 de la quantité de proton H⁺.

La stabilité physique

Dans son chapitre 2.2. *Physical and physicochemical methods*, la Pharmacopée Européenne recommande notamment de réaliser un examen visuel à l'œil nu sur un fond noir et blanc. L'objectif est de détecter la formation d'un précipité, ou de gaz et de détecter un changement de coloration de la solution.

Le consensus européen précise que l'examen visuel est important mais pas suffisant et que l'aspect subvisuel doit également être étudié, l'analyse subvisuelle est réalisée à 350, 410 et 550 nm par un spectrophotomètre (Safas Monaco UV m²) (Bardin, Astier, Vulto, *et al.*, 2011).

L'acquisition au cours de l'année 2021 d'un compteur de particule PAMAS SVSS a permis de réaliser des tests de contamination particulaire pour deux études de stabilité. Selon les critères de la Pharmacopée Européenne, les préparations d'un volume inférieur à 100 mL sont conformes au test de contamination particulaire si le nombre de particules mesurées ne dépasse pas 6000 particules supérieures à 10 µm par récipient et 600 particules inférieures à 25 µm par récipient. Ces critères sont utilisés pour les seringues d'un volume de 48 mL. Les préparations d'un volume supérieur à 100 mL sont conformes au test de contamination particulaire si le nombre de particules mesurées ne dépasse pas 25 particules inférieures à 10 µm par mL et 3 particules supérieures à 25 µm par mL. Ces critères sont utilisés pour les diffuseurs d'un volume de 240 mL (Pharmaceutical technical procedures, 2.9.19 European Pharmacopoeia. 10th ed).

I.4 Résultats

La validation de la méthode sera présentée avec :

- un chromatogramme d'une solution fraîchement préparée avec son spectre UV,
- une présentation des chromatogrammes de dégradation forcée et du bilan massique associée,
- une présentation des résultats de stabilité chimique, mesure de la concentration de l'analyte d'intérêt à chaque temps d'analyse et mesure du pH,
- une présentation des résultats de la stabilité physique, visuelle et subvisuelle.

I.5 Discussion/Conclusion

Une discussion est effectuée pour chaque étude de stabilité, reprenant :

- la méthode analytique employée, et sa validation,
- Si possible, un commentaire sera effectué sur les facteurs influençant la stabilité de la molécule et de la détection des produits de dégradation.
- Comparaison des données acquises avec celles de la littérature.
- Impact de nos données sur la pratique clinique.

Une conclusion brève est effectuée en rapportant la durée de stabilité validée et en précisant :

- la concentration,
- le contenant,
- le solvant,
- les conditions de stockage.

II. Pipéracilline/tazobactam

Une communication affichée intitulée « Stabilité physico-chimique de la pipéracilline/tazobactam en seringue et en diffuseur portable pour une administration continue en service de soins critiques et à domicile » a été présentée aux 24^{èmes} journées scientifiques européennes du GERPAC (octobre 2021) (Annexes 1 et 2).

II.1 Introduction

La pipéracilline/tazobactam (TAZOCILLINE panpharma®) est disponible en flacon pour poudre pour usage parentéral de 2/0,25 g ou de 4/0,5 g sous forme de sel de sodium (TAZOCILLINE®). Il s'agit de la combinaison d'une uréidopénicilline et d'un inhibiteur de β -lactamase (Figure 17). Le flacon ne contient pas d'excipient. La pipéracilline/tazobactam s'administre en perfusion intraveineuse diluée dans du NaCl 0,9% ou du G5% sur 30 minutes selon le RCP du produit (RCP - PIPERACILLINE/TAZOBACTAM PANPHARMA 4 g/500, 2020).

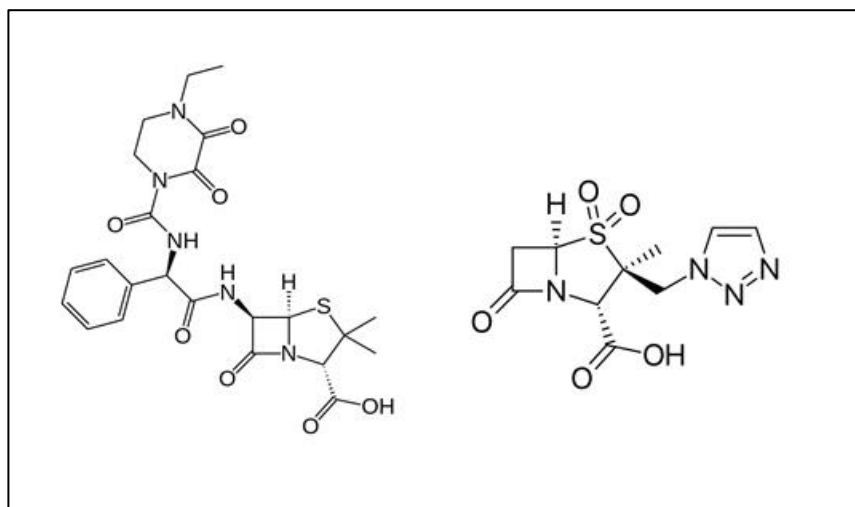


Figure 17 : Structure chimique de la pipéracilline (gauche) et du tazobactam (droite)

La posologie habituelle est de 4 g de pipéracilline/0,5 g de tazobactam toutes les 8 heures (12/1,5 g/j). Pour les pneumonies nosocomiales et les infections bactériennes chez les patients neutropéniques, la dose recommandée est de 4 g de pipéracilline/0,5 g de tazobactam toutes les 6 heures soit 16/2 g/j. Cette posologie peut être appliquée pour traiter des patients avec d'autres infections quand elles sont sévères. Le flacon doit être reconstitué avec 20 mL d'eau

ppi, du NaCl 0,9% ou du G5%, puis dilué soit dans du NaCl 0,9% ou du G5% dans un volume entre 50 à 100 mL selon le RCP du produit.

Aucune information de stabilité en seringue polypropylène n'est indiquée par le laboratoire. Moon YSK *et al* ont pu démontrer une stabilité de 24 heures en seringue à 150/18,75 et à 200/25 mg/mL de pipéracilline/tazobactam diluées dans du NaCl 0,9% ou du G5% sur une durée de 24 heures (Moon, Chung, Chin, *et al.*, 1995). Curti *et al* ont pu démontrer une stabilité de 12 h en seringue à une concentration de 80/10 mg/mL mais uniquement dans du NaCl 0,9% (Curti, Souab, Lamy, *et al.*, 2019).

En diffuseur élastomérique, le laboratoire annonce une stabilité de 24 heures à 80/10 et 10/1,25 mg/mL dans du NaCl 0,9% ou du G5% mais à une température de 25°C sans précision sur l'exposition à la lumière. Deux autres études en diffuseur élastomérique sont disponibles. Viaene *et al.* ont démontré une stabilité à une concentration de 126/16 mg/mL pendant 72 heures à 25°C et de 24 heures à 37°C mais uniquement dans de l'eau ppi comme solvant (Viaene, Chanteux, Servais, *et al.*, 2002). L'équipe de Jamieson *et al.* a démontré dans un tampon citrate 0,3% utilisé comme solvant, une stabilité de 24 heures à 32°C à une concentration de 25/3,125 et 90/11,25 mg/mL (Jamieson, Ozolina, Seaton, *et al.*, 2020).

Toutefois ces études sont anciennes avec un niveau de preuve peu élevé, à l'exception de la publication récente de Jamieson *et al* mais cette équipe a utilisé un tampon inhabituel dans la pratique courante (tampon citrate 0,3%).

L'intérêt de la perfusion continue ou prolongée de la TAZOCILLINE® a déjà pu être démontré par une méta-analyse réalisée par Falagas *et al*, regroupant 14 études (1229 patients) avec une mortalité plus faible dans le groupe de patients recevant une perfusion continue de TAZOCILLINE® ou de carbapénème versus les patients recevant une administration intermittente (en particulier pour les patients atteints de pneumonie)(Falagas, Tansarli, Ikawa, *et al.*, 2013).

II.2 Objectifs

Le but de ce travail est d'étudier la stabilité physico-chimique de la pipéracilline/tazobactam diluée dans du NaCl 0,9% ou du G5% pendant 48 heures, à 125/15,62 mg/mL en seringues polypropylène à température ambiante, à la lumière (6 g dans 48 mL pour les services de soins intensifs). Les concentrations plus fortes ne seront pas étudiées en raison d'un problème

de solubilité (12 g dans 48 mL nécessite une longue agitation et un passage aux ultrasons pour assurer une dissolution totale, non envisageable en service de réanimation). La stabilité a également été étudiée à 66,67/8,33 mg/mL en diffuseurs élastomériques (16/2 g dans 240 mL) à 37 °C à l'abri de la lumière pour simuler l'administration en perfusion continue à domicile.

II.3 Matériels et méthodes

II.3.1 Produits chimiques et réactifs

Dihydrogéoorthophosphate de sodium monohydraté (Emsure ; lot : AM10075721), Acétonitrile-isocratique CLHP (Carlo Erba) et de l'acide orthophosphorique 85% (VWR ; lot : 17B174014) ont été utilisés pour la phase mobile. L'HCl 1 M (VWR ; lot : 190423C004), l'H₂O₂ 30% (Emsure ; lot : K48743810713) et le NaOH 1M (VWR ; lot : 200618C011) et la pipéracilline 4g (PanPHARMA ; lot : 306532) ont été utilisés pour la dégradation forcée. TAZOCILLINE® 4/0,5g (PanPHARMA ; lot : 306584) Glucose G5% 100 mL poche polyoléfine Easyflex+ (Macopharma ; lot : 20C18E), Chlorure de sodium 0,9% 100 mL poche polyoléfine Easyflex+ (Macopharma ; lot : 20H27A), ont été utilisés pour l'étude de stabilité.

II.3.2 Méthode CLHP

Les solutions de TAZOCILLINE® sont analysées par une méthode CLHP en phase inverse indicatrice de stabilité, adaptée de la méthode de Jamieson *et al* (Jamieson, Ozolina, Seaton, *et al.*, 2020). La phase stationnaire utilisée était une colonne C18 LiChrospher® 100 RP-18, LiChroCART® de 12,5 cm de long, 4,6 mm de diamètre et contenant des particules de silice de 5 µm (Analytical Chromatography, Merck). La phase mobile était constituée d'un tampon phosphate : KH₂PO₄ 0,02 M ajusté à pH 2,5 avec de l'acide orthophosphorique 85% (phase A) et de l'acétonitrile (phase B). L'élution est réalisée avec un gradient commençant à T0 min 92,5/7,5 phase A/B (v/v), de T5 à T10 min, le gradient varie de manière linéaire pour atteindre 70/30 (v/v) où il est maintenu jusqu'à T15 min avant de revenir à T20 min à 92,5/7,5 (v/v) jusqu'à T25 minutes. Le débit était de 1,5 mL/min et le volume d'injection de 10 µL. La détection a été réalisée à une longueur d'onde de 210 nm pour la pipéracilline et le tazobactam. La température de l'injecteur automatique est fixée à 5°C et la température de la colonne à 30 °C.

La linéarité a été évaluée avec cinq concentrations (100/12,5, 200/25, 300/37,5, 400/50 et 500/62,5 µg/mL) de pipéracilline/tazobactam diluée dans de l'eau PPI. Cette gamme étalon a

été faite trois fois pour déterminer la linéarité et obtenir une équation de la courbe d'étalonnage moyenne pour les deux molécules. La répétabilité a été évaluée, comme recommandé par la Conférence Internationale d'Harmonisation (ICH) Q2 (R1), sur trois concentrations (100/12,5, 300/37,5 et 500/62,5 µg/mL) (n=3) (« ICH Validation of Analytical Procedures Q 2 (R1) Guidelines 2005 », 2006). La fidélité intermédiaire a été évaluée en réalisant la répétabilité trois fois. La stabilité d'une solution de pipéracilline/tazobactam à 300/37,5 µg/mL dans l'auto-sampler a été évaluée sur une période de 8 heures.

Le caractère indicateur de stabilité de la méthode a été évalué en réalisant des dégradations forcées de solutions de pipéracilline/tazobactam.

- En condition acide, 1 mL d'une solution de pipéracilline/tazobactam à 1200/150 µg/mL a été mélangé à 1 mL d'HCl 0,01 M pendant 2 heures à 40°C. L'acide a été neutralisé avec 1 mL de NaOH 0,01M et 1 mL d'eau UP (Ultra-Pure) a été ajouté pour obtenir une concentration théorique de 300/37,5 µg/mL.
- En condition alcaline, 1 mL d'une solution de pipéracilline/tazobactam à 1200/150 µg/mL a été mélangé à 1 mL de NaOH à 0,01 M pendant 10 minutes, puis neutralisé avec 1 mL d'HCl 0,01M, et 1 mL d'eau UP a été ajouté pour obtenir une concentration théorique de 300/37,5 µg/mL.
- En condition oxydative, une solution de pipéracilline/tazobactam à 1200/150 µg/mL a été mélangée avec 0,5 mL d'une solution d'H₂O₂ à 0,03% puis chauffée pendant 2 heures à 40°C ; 2,5 mL d'eau UP ont été ajoutés pour obtenir une concentration théorique de 300/37,5 µg/mL.
- En condition photolytique, une solution de pipéracilline/tazobactam à 300/37,5 µg/mL a été exposée pendant 3 heures en dessous d'une lampe UV (Vilbert Lourmat®) à 254 nm.
- La dégradation thermique a été réalisée avec une concentration de 300/37,5 µg/mL de pipéracilline/tazobactam exposée à une température de 75°C pendant 2 heures.

Pour cette étude, une seconde dégradation a été réalisée, mais en utilisant uniquement la spécialité ne contenant que de la pipéracilline, afin de s'assurer qu'aucun produit de dégradation n'interfère avec le pic de tazobactam lors de l'analyse par CLHP. La concentration

de pipéracilline ainsi que la méthode sont identiques que lors de la dégradation forcée de pipéracilline/tazobactam.

La spécificité de notre méthode a été évaluée par l'analyse de solutions de NaCl 0,9% et de glucose 5%. Une solution de 100 µg/mL de (5-HMF), principal produit de dégradation du glucose, a également été analysée.

Dilution pour analyse par CLHP : pour les seringues, 600 µL de l'échantillon sont dilués dans une fiole de 250 mL (avec de l'eau ultrapure) pour obtenir une concentration théorique de 300/37,5 µg/mL. En diffuseur, 900 µL de l'échantillon sont dilués dans une fiole de 200 mL (avec de l'eau ultrapure) pour obtenir une concentration théorique de 300/37,5 µg/mL.

II.3.3 Mesure du pH

Les mesures de pH ont été réalisées avec un pHmètre Bioblock Scientific. Une mesure de pH est réalisée à chaque temps d'analyse, T0, T8, T24 et T48 heures sur chaque seringue et diffuseur. La limite d'acceptabilité a été fixée à ± 1 unité de pH, en comparaison avec le pH mesuré juste après la préparation de la seringue.

II.3.4 Stabilité physique

La stabilité physique a été évaluée par un examen visuel (recherche la formation d'un précipité et de gaz, ou d'un changement de couleur) et un examen subvisuel, en mesurant la turbidimétrie des solutions à l'aide d'un spectrophotomètre UV à trois longueurs d'onde (350, 410 et 550 nm), comme recommandé par la conférence de consensus européenne à chaque temps d'analyse (Bardin, Astier, Vulto, *et al.*, 2011).

II.4 Résultats

II.4.1 Validation de la méthode analytique

Le temps de rétention est de 2,2 minutes pour le tazobactam et de 13,5 minutes pour la pipéracilline. Un chromatogramme présentant une solution fraîchement reconstituée de pipéracilline/tazobactam est présenté figure 18, ainsi que les spectres UV de ces deux molécules.

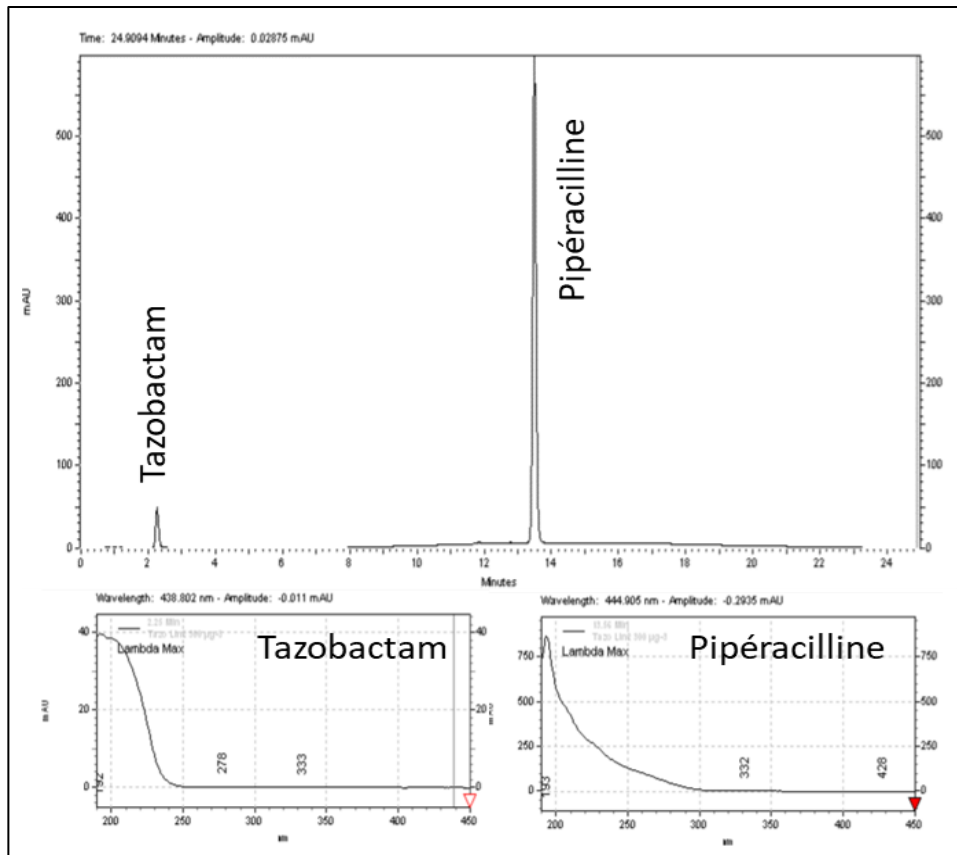


Figure 18 : Chromatogramme d'une solution de pipéracilline/tazobactam à 300/37,5 µg/mL dans du NaCl 0,9% après reconstitution et spectre UV de la pipéracilline (en bas à droite), spectre UV du tazobactam (en bas à gauche) de 190 à 450 nm

L'équation de la courbe de calibration moyenne de la pipéracilline est : $y = 55643,3x + 199297,8$. L'homogénéité des variances de la courbe de calibration a pu être démontrée avec un test de Cochran ($C_{exp} = 0,599 < C_{th(5\%; 3; 5)} = 0,684$). La linéarité a été démontrée avec un $R^2 > 0,9999$. L'ANOVA (non-linéarité) a démontré le bon ajustement d'un modèle linéaire pour notre méthode ($F_{exp} = 0,99 < F_{th(5\%; 3; 10)} = 3,71$). Toutes les valeurs de répétabilité et de précisions intermédiaires présentent un CV < 2%.

L'équation de la courbe de calibration moyenne du tazobactam est : $y = 34321,1x - 2021,0$. L'homogénéité des variances de la courbe de calibration a pu être démontrée avec un test de Cochran ($C_{exp} = 0,554 < C_{th(5\%; 3; 5)} = 0,684$). La linéarité a été démontrée avec un $R^2 > 0,9999$. L'ANOVA (non-linéarité) a démontré le bon ajustement d'un modèle linéaire pour notre méthode ($F_{exp} = 0,14 < F_{th(5\%; 3; 10)} = 3,71$). Toutes les valeurs de répétabilité et de précisions intermédiaires présentent un CV < 2%.

L'ensemble des tests statistique et la validation de la méthode pour la pipéracilline et le tazobactam sont présentés en annexe 3 et 4.

La stabilité dans le passeur automatique (5°C) a été démontrée avec une variabilité de 0,10% pour la pipéracilline et un taux de dégradation de 0,33% pour le tazobactam au bout de 8 heures.

L'injection de NaCl 0,9% avec notre méthode n'a pu mettre en évidence de pic. A l'inverse, l'injection, d'une solution de glucose 5% a mis en évidence deux pics avec un temps de rétention de 1,1 et 2,0 minutes. L'injection d'une solution de 5-HMF a mis en évidence le même pic avec un temps de rétention de 2,0 minutes.

La capacité indicatrice de stabilité de notre méthode a été testée en utilisant de nombreuses conditions de dégradation forcée. Les chromatogrammes de dégradations forcées de pipéracilline/tazobactam sont présentés figure 19. La figure 20 présente dans les mêmes conditions de dégradation, les chromatogrammes de solutions composées uniquement de pipéracilline.

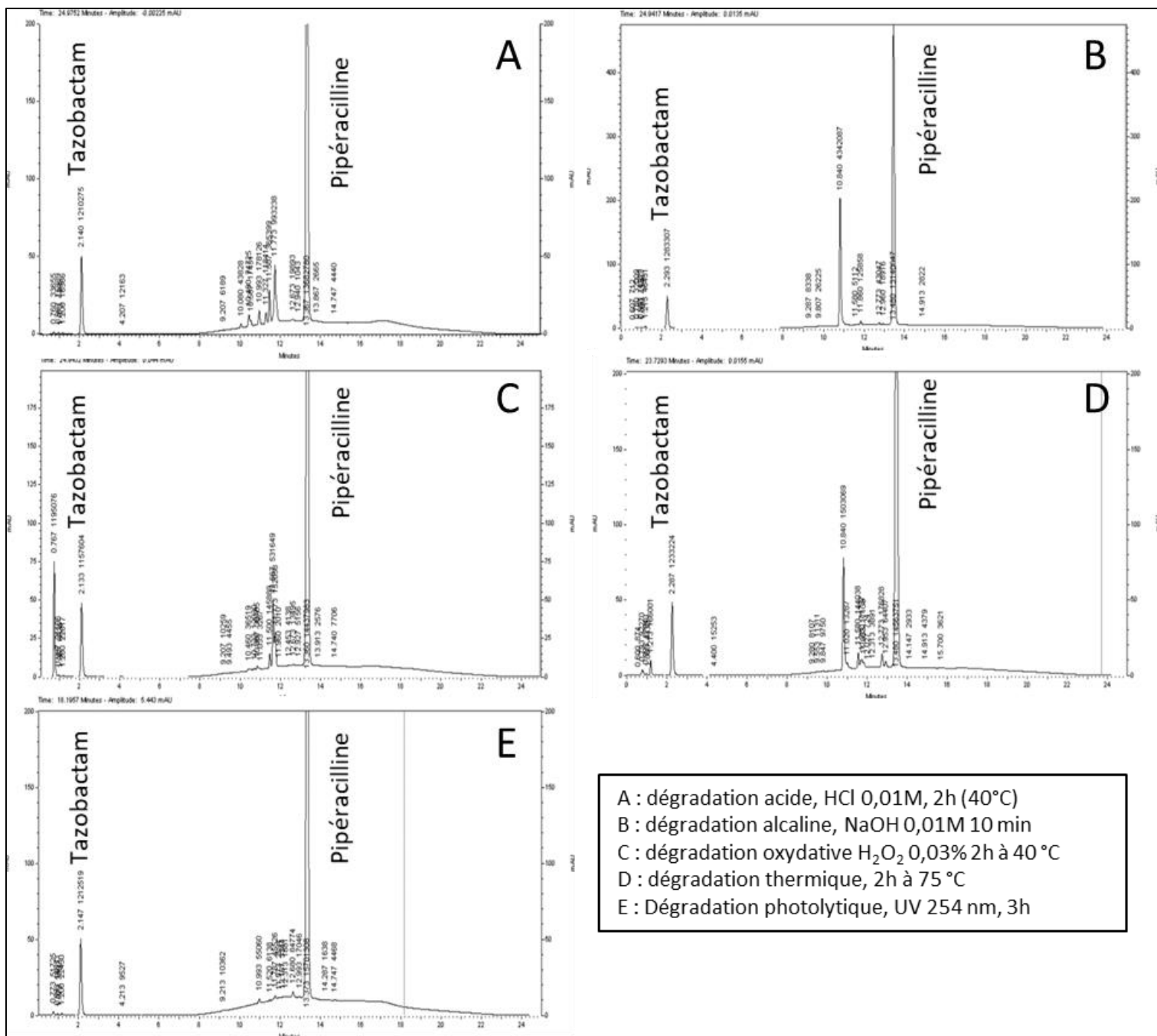


Figure 19 : Chromatogrammes de solution de piperacilline/tazobactam (300/37,5 µg/mL) en conditions stressantes (thermique, oxydative, acide, alcaline, photolytique)

Au total, 12 produits de dégradation ont pu être observés pour l'ensemble des méthodes de dégradation forcée. Les principaux pics de dégradation observés sont les pics n°6, 9 et 11. Le

bilan massique et le temps de rétention des produits de dégradation par rapport au pic de pipéracilline/tazobactam non dégradée sont présentés dans le tableau I.

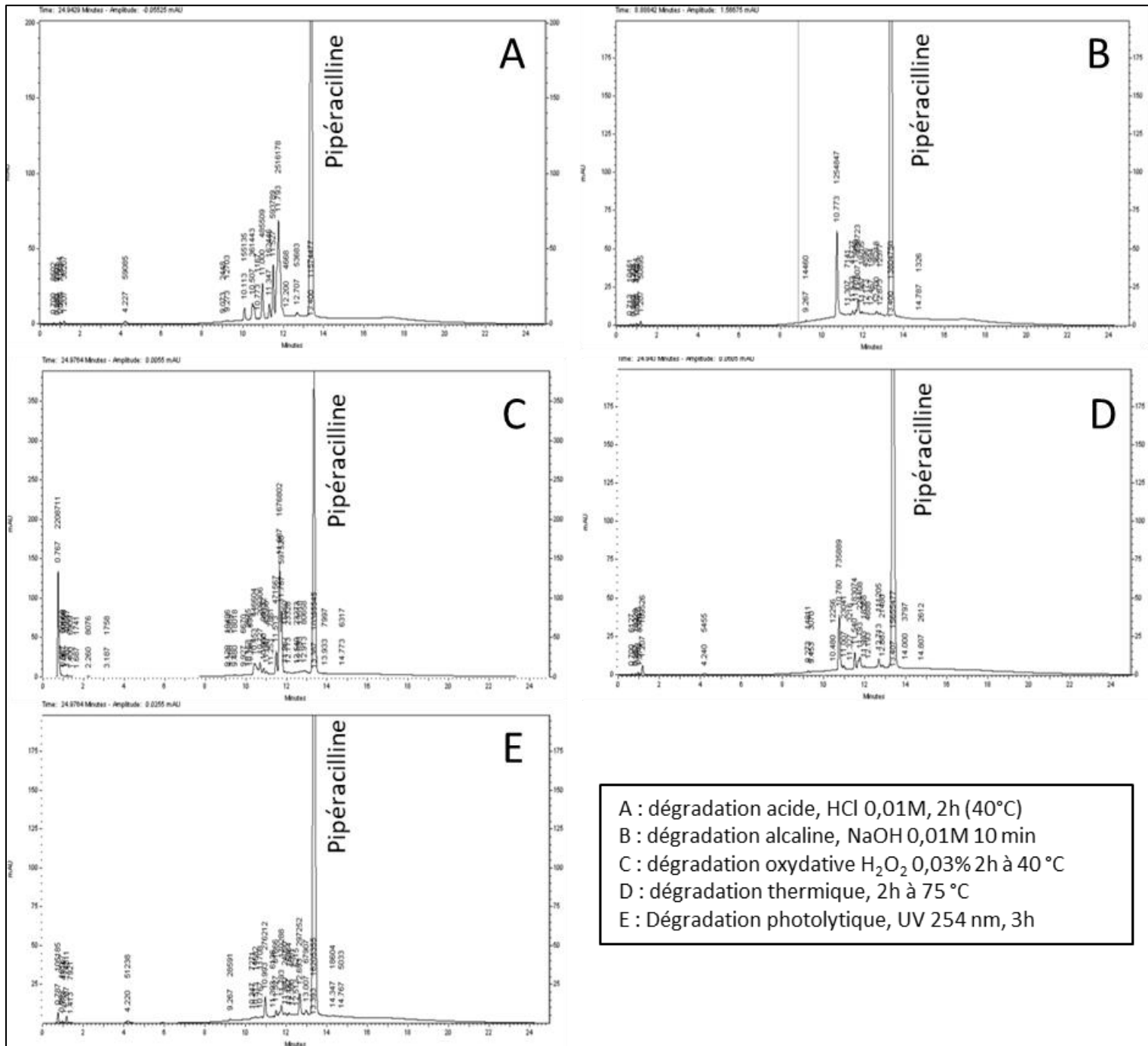


Figure 20 : Chromatogrammes de solution de pipéracilline (300 µg/mL) en conditions stressantes (thermique, oxydative, acide, alcaline, photolytique)

Tableau I : Balance massique de solution pipéracilline/tazobactam (300/37,5 µg/mL) après dégradation forcée

Pics (n°)	Temps de rétention (minutes)	Rétention relative	Sans dégradation forcée	Aire				
				Dégradation acide	Dégradation alcaline	Dégradation oxydative	Dégradation thermique	Dégradation photolytique
				HCl 0,01M 2h+ 40°C	NaOH 0,01M 10 min	H ₂ O ₂ 0,03% 2h + 40°C	75°C 2h	UV 254 nm 3h
Pipéracilline	13,5	5,87	17051506	13682780	13140647	14437983	14563751	15701308
Tazobactam	2,2	1	1293958	1210275	1283307	1157604	1233224	1212519
1	0,8	0,3	23228	33655	32009	1195076	92270	51725
2	1,0	0,4	-	-	-	21106	-	-
3	1,2	0,5	19422	-	48431	22017	166001	22430
4	9,8	4,3	-	43828	26225	-	-	-
5	10,5	4,6	-	74725	-	36519	-	-
6	10,8	4,7	-	178126	4342087	36785	1503069	55060
7	11,3	4,9	-	118414	-	-	-	-
8	11,5	5,0	-	365399	-	145889	144038	-
9	11,7	5,1	-	993238	-	531649	71737	45526
10	11,9	5,2	43421	-	125858	152058	-	-
11	12,8	5,6	-	19893	43047	13495	176828	84774
12	12,9	5,6	-	-	18916	-	64407	17046
Bilan massique			18431535	16720333	19060527	17750181	18015325	17190388
% dégradation pipéracilline				20%	23%	15%	15%	8%
% dégradation tazobactam				6%	1%	11%	5%	6%

Après l'exposition des solutions de pipéracilline/tazobactam en conditions stressantes, l'étendue de la dégradation pour la pipéracilline varie de 23 % en condition alcaline à 8 % en condition photolytique. Dans les mêmes conditions de dégradation, le tazobactam s'est dégradé de 11% en condition oxydative à seulement 1% en condition alcaline. Le bilan massique est présenté dans le tableau I, nous observons une perte moyenne de 5% de la masse pour une dégradation des deux molécules proches de 20%. Les 2 conditions de dégradation ou la perte massique est la plus importante sont les dégradations photolytique et acide.

II.4.2 Stabilité chimique

L'évolution de la concentration initiale de pipéracilline en seringue et en diffuseur élastomérique est présentée dans le tableau II. Après 48 h en seringue, la concentration de pipéracilline diluée dans du NaCl 0,9% ou du G5% est supérieure à 90% de la concentration initiale. Les solutions de pipéracilline en diffuseur diluées dans du NaCl 0,9% ou du G5% ont une concentration restante comprise entre [91,86% – 95,08%] au bout de 24 h. Au bout de 48 heures dans tous les diffuseurs, la concentration initiale de pipéracilline restante est inférieure à 90% [83,24% - 86,67%] dans le NaCl 0,9% et le G5%.

Tableau II : Evolution de la concentration initiale de pipéracilline en seringue et diffuseur, diluée dans du NaCl 0,9% et dans du G5%.

		Temps ; % de la concentration initiale de pipéracilline (moyenne ± CV)									
C° (mg/mL)	Solvant	Seringue (S)	C° réelle (mg/mL) (D)	T0h		T8h		T24h		T48h	
		Diffuseur									
125	NaCl 0,9%	S1	119,91	100%	± 1,21%	102,18%	± 0,50%	100,97%	± 1,08%	97,40%	± 1,57%
		S2	121,77	100%	± 0,39%	100,37%	± 0,13%	101,48%	± 0,23%	98,59%	± 0,48%
		S3	120,17	100%	± 0,12%	101,21%	± 0,29%	100,39%	± 0,10%	98,40%	± 0,31%
125	G5%	S1	129,59	100%	± 0,16%	95,80%	± 0,16%	94,81%	± 0,32%	91,46%	± 0,20%
		S2	123,30	100%	± 0,38%	99,41%	± 0,05%	97,56%	± 0,05%	96,00%	± 0,33%
		S3	128,77	100%	± 0,34%	96,14%	± 0,14%	95,25%	± 0,46%	93,11%	± 0,44%
66,67	NaCl 0,9%	D1	64,88	100%	± 2,29%	100,70%	± 0,18%	95,08%	± 1,96%	85,87%	± 2,73%
		D2	66,08	100%	± 0,17%	99,02%	± 0,19%	93,89%	± 0,37%	86,67%	± 0,36%
		D3	67,76	100%	± 0,12%	95,79%	± 0,14%	91,86%	± 0,08%	84,45%	± 0,12%
66,67	G5%	D1	68,22	100%	± 0,11%	97,72%	± 0,17%	93,24%	± 0,19%	83,24%	± 0,07%
		D2	67,14	100%	± 0,17%	98,94%	± 0,35%	93,52%	± 0,11%	84,70%	± 0,08%
		D3	67,39	100%	± 0,18%	97,14%	± 0,29%	94,07%	± 0,19%	84,26%	± 0,28%

Tableau III : Evolution de la concentration initiale de tazobactam en seringue et diffuseur, diluée dans du NaCl 0,9% et dans du G5%

C° (mg/mL)	Solvant	Seringue (S) Diffuseur (D)	C° réelle (mg/mL)	Temps ; % de la concentration initiale de tazobactam (moyenne ± CV)			
				T0h	T8h	T24h	T48h
15,62	NaCl 0,9%	S1	14,94	100%±1,57%	101,85%±0,33%	101,14%±1,86%	98,82%±1,60%
		S2	15,20	100%±0,76%	100,10%±0,18%	101,82%±0,32%	99,98%±0,58%
		S3	15,03	100%±0,23%	100,57%±0,16%	100,40%±0,15%	99,53%±0,40%
15,62	G5%	S1	16,20	100%±0,42%	94,45%±0,31%	96,23%±0,15%	93,11%±0,19%
		S2	15,41	100%±0,31%	98,97%±0,06%	97,83%±0,11%	96,65%±0,91%
		S3	15,99	100%±0,50%	95,53%±0,59%	96,23%±0,54%	95,61%±0,18%
8,33	NaCl 0,9%	D1	8,06	100%±2,38%	101,21%±0,10%	98,95%±1,77%	97,18%±2,61%
		D2	8,24	100%±0,20%	99,36%±0,30%	96,95%±0,35%	97,08%±0,26%
		D3	8,43	100%±0,15%	96,04%±0,28%	95,13%±0,07%	94,22%±0,25%
8,33	G5%	D1	8,53	100%±0,23%	98,45%±0,31%	97,80%±0,24%	95,08%±0,18%
		D2	8,39	100%±0,15%	99,65%±0,47%	98,21%±0,20%	96,30%±0,21%
		D3	8,41	100%±0,26%	97,92%±0,34%	98,62%±0,11%	95,99%±0,23%

L'évolution de la concentration initiale de tazobactam en seringue et en diffuseur est présentée dans le tableau III. La concentration initiale de tazobactam reste supérieure à plus de 90% de la concentration initiale au bout de 48 heures en seringue et en diffuseur, quel que soit le solvant utilisé.

Les mesures de pH à chaque temps d'analyse pour les solutions de pipéracilline/tazobactam sont présentées dans le tableau IV. Le pH diminue dans toutes les conditions (en seringue et diffuseur, et avec l'utilisation du NaCl 0,9% ou du G5% comme solvant). En seringue, cette variation n'excède pas une unité pH après 48 heures. En diffuseur, la limite d'une unité pH est dépassée au bout de 24 heures avec le NaCl 0,9% utilisé comme solvant (différence avec J0 : [1,09 – 1,11]). Pour les diffuseurs dilués dans le G5%, nous n'avons pas observé une différence de plus d'une unité pH au cours de l'étude.

Tableau IV : Mesure des valeurs de pH des solutions de pipéracilline/tazobactam au cours de l'étude de stabilité

		T0h	T8h	T24h		T48h		
		pH	pH	Différence avec J0	pH	Différence avec J0	pH	Différence avec J0
NaCl 0,9%	S1	5,92	5,66	-0,26	5,37	-0,55	5,08	-0,84
	S2	5,93	5,66	-0,27	5,36	-0,57	5,1	-0,83
	S3	5,93	5,65	-0,28	5,36	-0,57	5,11	-0,82
G5%	S1	5,94	5,54	-0,4	5,38	-0,56	5,02	-0,92
	S2	5,93	5,57	-0,36	5,36	-0,57	5,04	-0,89
	S3	5,95	5,56	-0,39	5,33	-0,62	5,06	-0,89
NaCl 0,9%	D1	5,78	5,13	-0,65	4,68	-1,1	4,64	-1,14
	D2	5,83	5,19	-0,64	4,72	-1,11	4,67	-1,16
	D3	5,81	5,16	-0,65	4,72	-1,09	4,69	-1,12
G5%	D1	5,6	5,08	-0,52	4,75	-0,85	4,75	-0,85
	D2	5,64	5,04	-0,6	4,74	-0,9	4,78	-0,86
	D3	5,65	5,04	-0,61	4,71	-0,94	4,75	-0,9

II.4.3 Stabilité physique

L'ensemble des mesures d'absorbance effectuées par le spectrophotomètre sont présentées dans le tableau V. L'analyse subvisuelle ne révèle aucune modification à 410 et 550 nm au cours de l'étude que ce soit pour les solutions diluées dans du NaCl 0,9% ou du G5%. A 350 nm, nous observons un accroissement de l'absorbance au bout de 8 heures en diffuseur et au bout de 24 heures en seringue.

Tableau V : Mesure de l'absorbance des solutions de pipéracilline/tazobactam au cours de l'étude de stabilité

		Valeurs moyennes des absorbances \pm écart-type			
		0 h	8 h	24 h	48h
350 nm					
NaCl 0,9%	S	0,592 \pm 0,022	0,526 \pm 0,008	1,017 \pm 0,014	1,991 \pm 0,017
G5%	S	0,516 \pm 0,006	0,580 \pm 0,025	1,191 \pm 0,009	2,177 \pm 0,026
NaCl 0,9%	D	0,274 \pm 0,023	0,447 \pm 0,009	1,850 \pm 0,081	2,435 \pm 0,010
G5%	D	0,215 \pm 0,022	0,624 \pm 0,034	2,062 \pm 0,011	2,418 \pm 0,015
410 nm					
NaCl 0,9%	S	0,015 \pm 0,001	0,009 \pm 0,007	0,012 \pm 0,000	0,013 \pm 0,001
G5%	S	0,015 \pm 0,001	0,015 \pm 0,002	0,017 \pm 0,003	0,024 \pm 0,007
NaCl 0,9%	D	0,008 \pm 0,000	0,006 \pm 0,000	0,006 \pm 0,000	0,009 \pm 0,001
G5%	D	0,006 \pm 0,001	0,008 \pm 0,001	0,009 \pm 0,001	0,017 \pm 0,001
550 nm					
NaCl 0,9%	S	0,001 \pm 0,001	0,001 \pm 0,001	0,000 \pm 0,000	0,001 \pm 0,001
G5%	S	0,002 \pm 0,001	0,001 \pm 0,000	0,001 \pm 0,001	0,004 \pm 0,006
NaCl 0,9%	D	0,000 \pm 0,000	0,000 \pm 0,000	0,000 \pm 0,000	0,001 \pm 0,001
G5%	D	0,001 \pm 0,000	0,001 \pm 0,000	0,003 \pm 0,000	0,001 \pm 0,001

Aucune formation de précipité ou de gaz n'a été observée au cours de l'étude. Au bout de 48 heures, un léger jaunissement a été observé pour les solutions de pipéracilline/tazobactam en diffuseur (observé dans le NaCl 0,9% et le G5%).

II.5 Discussion

Notre méthode adaptée des travaux de Jamieson *et al* a été validée comme étant indicatrice de stabilité. En effet, de nombreux produits de dégradation ont pu être identifiés lors de la dégradation forcée. Nous avons pu démontrer la spécificité de notre méthode grâce à la double dégradation forcée effectuée entre la pipéracilline/tazobactam et la pipéracilline seule. Le bilan massique des dégradations forcées photolytique et acide ne permet pas de retrouver la surface initiale de pipéracilline/tazobactam, cela peut s'expliquer par une perte de chromophores lors de ces dégradations. La répétabilité, la précision intermédiaire, ainsi que l'ensemble des mesures de concentrations réalisées lors de notre étude, présentent des coefficients de variation inférieurs à 2 %.

L'augmentation de l'absorbance à 350 nm dans toutes les conditions peut être due à la présence d'un produit de dégradation. L'analyse spectrale des produits de dégradations nous laisse supposer que le produit de dégradation n°6 peut en être la cause. Pour le changement de pH observé dans toutes les solutions au cours de l'étude, Viola *et al* ont démontré qu'il était dû à la formation d'acide penicilloïque (Viola, Ferrazzano, Martelli, *et al.*, 2019). Cette formation a lieu par hydrolyse de la pipéracilline dans une solution aqueuse. Dans leur article, Viola *et al* suggèrent que l'augmentation de l'acidité entraîne une augmentation de la dégradation du noyau β -lactame de la pipéracilline. La grande variabilité du pH observée dans cette étude, peut être également expliquée par l'absence d'excipient et donc de tampon dans la formulation de la poudre de pipéracilline/tazobactam. A notre connaissance, il s'agit de la première étude détectant une variation aussi importante de pH à 37°C pour les diffuseurs utilisant le NaCl 0,9% comme solvant.

Le tazobactam présente une stabilité chimique bien plus importante que la pipéracilline. Lors de la réalisation des dégradations forcées, la pipéracilline était toujours bien plus dégradée que le tazobactam. Cela s'est confirmé lors de l'étude ou même en diffuseur à 37°C, la concentration de tazobactam n'est jamais descendue en dessous de 90% de la concentration initiale, à l'inverse de la pipéracilline.

La stabilité de la pipéracilline/tazobactam en seringue polypropylène a donc été démontrée sur 48 heures. Nos résultats sont concordants avec ceux réalisés par Moon *et al* qui avaient travaillé à une concentration similaire (150/18,75 mg/mL) sur 24 heures. Mais, en pratique, cette stabilité a peu d'impact en clinique car, à cette concentration, il est nécessaire de réaliser plusieurs seringues par jour pour que le patient reçoive la dose recommandée de pipéracilline/tazobactam, soit 12/1,5 ou 16/2 g/j.

En revanche la démonstration de la stabilité en diffuseur élastomérique de la pipéracilline/tazobactam sur 24 heures à 37°C dilué dans du G5% a un réel intérêt clinique pour une administration à domicile car un seul passage d'une infirmière par jour est nécessaire pour que le patient reçoive la dose maximale de 16 g/j.

II.6 Conclusion

En seringue polypropylène, la pipéracilline/tazobactam est stable pendant 48 heures dans du NaCl 0,9% ou du G5%, à une concentration de 125/15,62 mg/mL (6/0,75 g dans 48 mL) à température ambiante. Pour un retour à domicile, la stabilité en diffuseur élastomérique a été

validée sur 24 heures dans du G5% à 37°C à une concentration de 66,67/8,33 mg/mL (16/2 g dans 240 mL) pour la réalisation d'une administration en continu à domicile mais pas dans le NaCl 0,9 %.

III. Cefotolozane/tazobactam

Une communication orale et affichée intitulée « *Physicochemical stability of ceftolozane/tazobactam in polypropylene syringes at 61.5/31.25 mg/mL and in elastomeric devices at 25.0/12.5 mg/mL* » a été présentée aux 25^{èmes} congrès de l'European Association of Hospital Pharmacists (EAHP) (mars 2021) (Annexes 5 et 6).

III.1 Introduction

Le ceftolozane/tazobactam (ZERBAXA[®]) est disponible en flacon pour poudre pour usage parentéral de 1/0,5 g. Il s'agit de la combinaison d'une céphalosporine de 3^{ème} génération et d'un inhibiteur de β -lactamase (Figure 21). Le flacon contient de la L-arginine, de l'acide citrique anhydre et du chlorure de sodium comme excipients (« Cefotolozane / tazobactam (Zerbaxa[®]) - Summary of Product Characteristics Laboratoires Merck Sharp & Dohme Chibret 2020 »,). Le ceftolozane/tazobactam a obtenu son autorisation de mise sous le marché (AMM) en 2015.

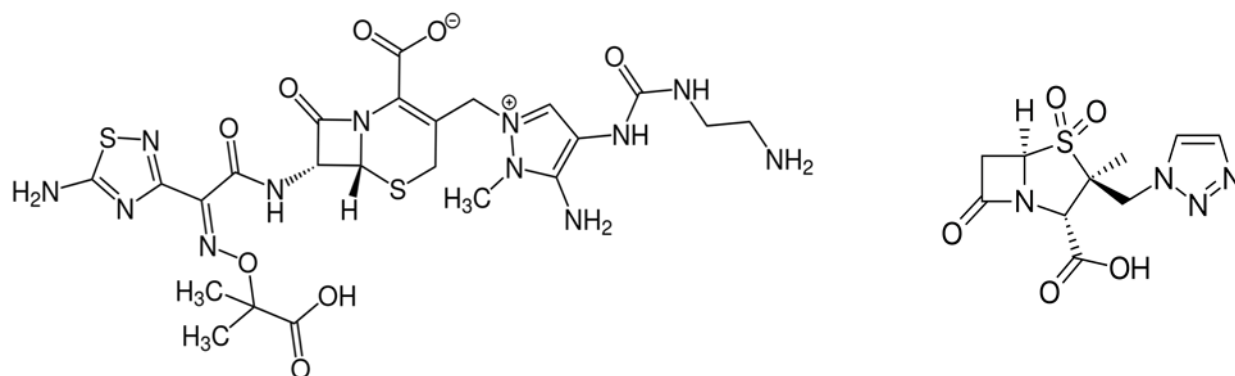


Figure 21 : Structure chimique du ceftolozane (gauche) et du tazobactam (droite)

La posologie habituelle est de 1 g de ceftolozane / 0,5 g de tazobactam administré toutes les 8 heures (3/1,5 g/j) en perfusion intraveineuse d'au moins une heure dans 100 mL de NaCl 0,9% ou de G5%. Un flacon de ZERBAXA[®] de 1/0,5 g doit être reconstitué avec 10 mL d'eau PPI ou avec du NaCl 0,9% selon le RCP du produit. En cas d'infection sévère, la posologie peut être doublée à 2/1 g de ceftolozane/tazobactam toutes les 8 heures (6/3 g/j).

Le ceftolozane/tazobactam selon son AMM est utilisé dans les indications suivantes : infection intra-abdominale compliquée, pyélonéphrite aiguë, infection urinaire compliquée et les

pneumonies nosocomiales (dont les pneumopathies acquises sous ventilation mécanique) (« Ceftolozane / tazobactam (Zerbaxa®) - Summary of Product Characteristics Laboratoires Merck Sharp & Dohme Chibret 2020 »,).

La commission de transparence a estimé que le Service Médical Rendu (SMR) est important dans les indications de l'AMM. Le ZERBAXA® possède une activité particulièrement intéressante sur *Pseudomonas aeruginosa*, et notamment sur les souches multi-résistantes. Dans son avis du 21 février 2020, la Haute Autorité de Santé (HAS) a attribué une amélioration du SMR modérée dans la prise en charge des infections à *P. aeruginosa* sensibles au ceftolozane/tazobactam, et pour lesquelles le recours aux autres bêta-lactamines n'est pas envisageable en cas de résistance (« Avis HAS février 2020 ZERBAXA (ceftolozane/ tazobactam) »,). La Commission Spécialisée des Anti-Infectieux (CSAI) du CHRU de Nancy propose de référencer le ZERBAXA® en cas d'infections documentées à bacilles à Gram négatif résistantes, en alternative à une carbapénème dans le cadre d'une stratégie d'épargne des carbapénèmes (« Avis de la commission specialisee des anti-infectieux sur le referencement de ZERBAXA (ceftolozane/tazobactam) Nancy, 2016 »,).

Des données de stabilité fournies par le laboratoire indiquent une stabilité de 24 heures à la concentration de 20/10 et 10/5 mg/mL dans du NaCl 0,9% ou dans du G5%, à température ambiante et à la lumière. Aucune donnée n'est disponible en diffuseur portable à 37°C. Les données de stabilité du laboratoire sont d'une heure à température ambiante et quatre jours entre 2 et 8°C pour la solution reconstituée. Pour la solution diluée dans du NaCl 0,9% ou dans du G5%, à une concentration de 10/5 mg/mL, la stabilité est de 24 heures à température ambiante et de 7 jours entre 2 et 8 °C (Ceftolozane / tazobactam (Zerbaxa®) - Summary of Product Characteristics Laboratoires Merck Sharp & Dohme Chibret 2020).

Plusieurs études de stabilité ont été publiées. Terraciano *et al.* ont étudié la stabilité de solutions à 10/5 mg/mL en poche polychlorure de vinyle (PVC) et en diffuseur portable élastomérique avec une stabilité de 7 jours au réfrigérateur et 24 heures à température ambiante. Ni la méthode analytique employée, ni sa validation ne sont présentées (non sélectionnées dans Stabilis®)(Terraciano, Rhee et Walsh, 2017). Kratzer *et al.* ont étudié la stabilité aux concentrations 20/10 et 10/5 mg/mL dans du NaCl 0,9% et dans du G5%, ils ont pu conclure à une stabilité de 24 heures à température ambiante . Par contre, la validation de la méthode n'est pas présentée dans la publication (non sélectionnée dans Stabilis®) (Kratzer, Rothe et Dorn, 2019). Enfin, Harmanjeet *et al.* ont étudié la stabilité dans des solutions de

dialyses péritonéales, mais à des faibles concentrations (55/27,5 ; 20/10 µg/mL), utilisées dans le traitement des péritonites. (Harmanjeet, Jani, Zaidi, *et al.*, 2020).

III.2 Objectifs

Le but de ce travail est d'étudier la stabilité physico-chimique du ceftolozane/ tazobactam dilué dans du NaCl 0,9% ou du G5% pendant 48 heures dans deux conditions différentes. D'une part, dans des seringues en polypropylène à température ambiante non protégées de la lumière à une concentration de 62,5/31,25 mg/mL (3 g dans 48 mL) pour les services de soins intensifs. D'autre part, la stabilité a été étudiée dans des diffuseurs portables à 37°C à une concentration de 25/12,5 mg/mL (3 g dans 120 mL, pour diminuer les coûts) pour une administration à domicile.

III.3 Matériels et méthodes

III.3.1 Produits chimiques et réactifs

Dihydrogénophosphate de potassium (VWR Chemicals, lot : AM1089577747), l'acétonitrile pour CLHP isocratique (Carlo Erba, lot : 17J231482), l'acide chlorhydrique (HCl) 1M (VWR Chemicals, lot : 190403C001) ont été utilisés pour la phase mobile. De l'acide chlorhydrique (HCl) 1M (VWR Chemicals, lot : 190403C001), de l'hydroxyde de sodium (NaOH) 1M (VWR Chemicals, lot : 190423C004), et du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) 30% (Emsure® lot 1710005) ont été utilisés pour les dégradations forcées. L'eau pour chromatographie a été obtenue par un système d'osmose inverse (Millipore Iberica, Madrid, Espagne). Du ZERBAXA® 1/0,5 g, poudre pour solution injectable (MSD France, lot : T003341), du NaCl 0,9% 500 mL Easyflex et du G5% 250 mL Easyflex ont été utilisés pour les solutions tests, les dégradations forcées et la validation de la méthode analytique.

III.3.2 Méthode CLHP

Les solutions de ceftolozane/tazobactam sont analysées par une méthode de CLHP en phase inverse indicatrice de stabilité, adaptée de la méthode de Kratzer *et al.* (Kratzer, Rothe et Dorn, 2019). La phase stationnaire utilisée était une colonne C18 LiChrospher® 100 RP-18, LiChroCART® de 12,5 cm de long, 4,6 mm de diamètre et contenant des particules de silice de 5 µm (Analytical Chromatography, Merck). La phase mobile était composée d'un tampon phosphate (dihydrogénophosphate de potassium) à 50 mM ajusté pH 3,4 avec de l'acide chlorhydrique 1M. Pour un litre de tampon phosphate, nous ajoutons 26 mL d'acétonitrile

(1000/26) (v/v). L'élution est réalisée de manière isocratique. Le débit est de 1 mL/min et le volume d'injection de 20 µL. La longueur d'onde de détection est de 220 nm. L'injecteur est à une température de 5°C et la colonne à 40°C.

La linéarité a été évaluée avec cinq concentrations (50/25, 100/50, 150/75, 200/100 et 250/125 µg/mL) de ceftolozane/tazobactam dilué dans de l'eau pour préparation injectable. Cette gamme étalon a été réalisée trois fois pour déterminer la linéarité et obtenir une équation de la courbe d'étalonnage moyenne pour les deux molécules. La répétabilité a été évaluée, comme recommandé par la Conférence Internationale d'Harmonisation (ICH) Q2 (R1), sur trois concentrations (50/25, 150/75 et 250/125 µg/mL) (n=3) (« ICH Validation of Analytical Procedures Q 2 (R1) Guidelines 2005 », 2006). La fidélité intermédiaire a été évaluée en réalisant la répétabilité trois fois. La stabilité d'une solution de ceftolozane/tazobactam à 150/75 µg/mL dans l'auto-sampler a été évaluée sur une période de 4 heures.

Le caractère indicateur de stabilité de la méthode a été évalué en réalisant des dégradations forcées de solutions de ceftolozane/tazobactam.

- En condition acide, 1 mL d'une solution de ceftolozane/tazobactam à 600/300 µg/mL a été mélangé à 1 mL d'HCl 1 M pendant 3 heures. L'acide a été neutralisé avec 1 mL de NaOH 1M et 1 mL d'eau UP a été ajouté pour obtenir une concentration théorique de 150/75 µg/mL.
- En condition alcaline, 1 mL d'une solution de ceftolozane/tazobactam à 600/300 µg/mL a été mélangé à 1 mL de NaOH à 0,01 M pendant 15 minutes, puis neutralisé avec 1 mL d'HCl 0,01M, et 1 mL d'eau UP était ajouté pour obtenir une concentration théorique de 150/75 µg/mL.
- En condition oxydative, une solution de ceftolozane/tazobactam à 600/300 µg/mL a été mélangée avec 0,5 mL d'une solution d'H₂O₂ à 0,3% pendant 2 heures ; 2,5 mL d'eau UP ont été ajoutés pour obtenir une concentration théorique de 150/75 µg/mL.
- En condition photolytique, une solution de ceftolozane/tazobactam à 150/75 µg/mL a été exposée pendant 45 min en dessous d'une lampe UV (Vilbert Lourmat®) à 254 nm.
- La dégradation thermique a été réalisée avec une concentration de 150/75 µg/mL de ceftolozane/tazobactam exposée à une température de 70°C pendant 2 heures.

La spécificité de notre méthode a été évaluée par l'analyse de solutions de NaCl 0,9% et de glucose 5%. Une solution de 100 µg/mL de (5-HMF), principal produit de dégradation du glucose, a également été analysée.

Dilution pour analyse par CLHP : pour les seringues, 100 µL de l'échantillon sont dilués dans une fiole de 50 mL (avec de l'eau ultrapure) pour obtenir une concentration théorique de 125/62,5 µg/mL. En diffuseur, 500 µL de l'échantillon sont dilués dans une fiole de 100 mL (avec de l'eau ultrapure) pour obtenir également une concentration théorique de 125/62,5 µg/mL.

III.3.3 Mesure du pH

Les mesures de pH ont été réalisées avec un pHmètre Bioblock Scientific. Une mesure de pH est réalisée à chaque temps d'analyse, T0, T8, T24 et T48 heures sur une seringue et un diffuseur. La limite d'acceptabilité a été fixée à ± 1 unité de pH, en comparaison avec le pH mesuré juste après la préparation de la seringue.

III.3.4 Stabilité physique

La stabilité physique a été évaluée par un examen visuel (recherche de la formation d'un précipité et de gaz, ou d'un changement de couleur) et un examen subvisuel, en mesurant la turbidimétrie des solutions à l'aide d'un spectrophotomètre UV à trois longueurs d'onde (350,410 et 550 nm), comme recommandé par la conférence de consensus européenne à chaque temps d'analyse (Bardin, Astier, Vulto, *et al.*, 2011).

III.4 Résultats

III.4.1 Validation de la méthode analytique

Le temps de rétention est de 4,8 minutes pour le tazobactam et de 8,7 minutes pour la ceftolozane. Un chromatogramme présentant une solution fraîchement reconstituée de ceftolozane/tazobactam est présenté figure 22, ainsi qu'avec les spectres UV de ces deux molécules.

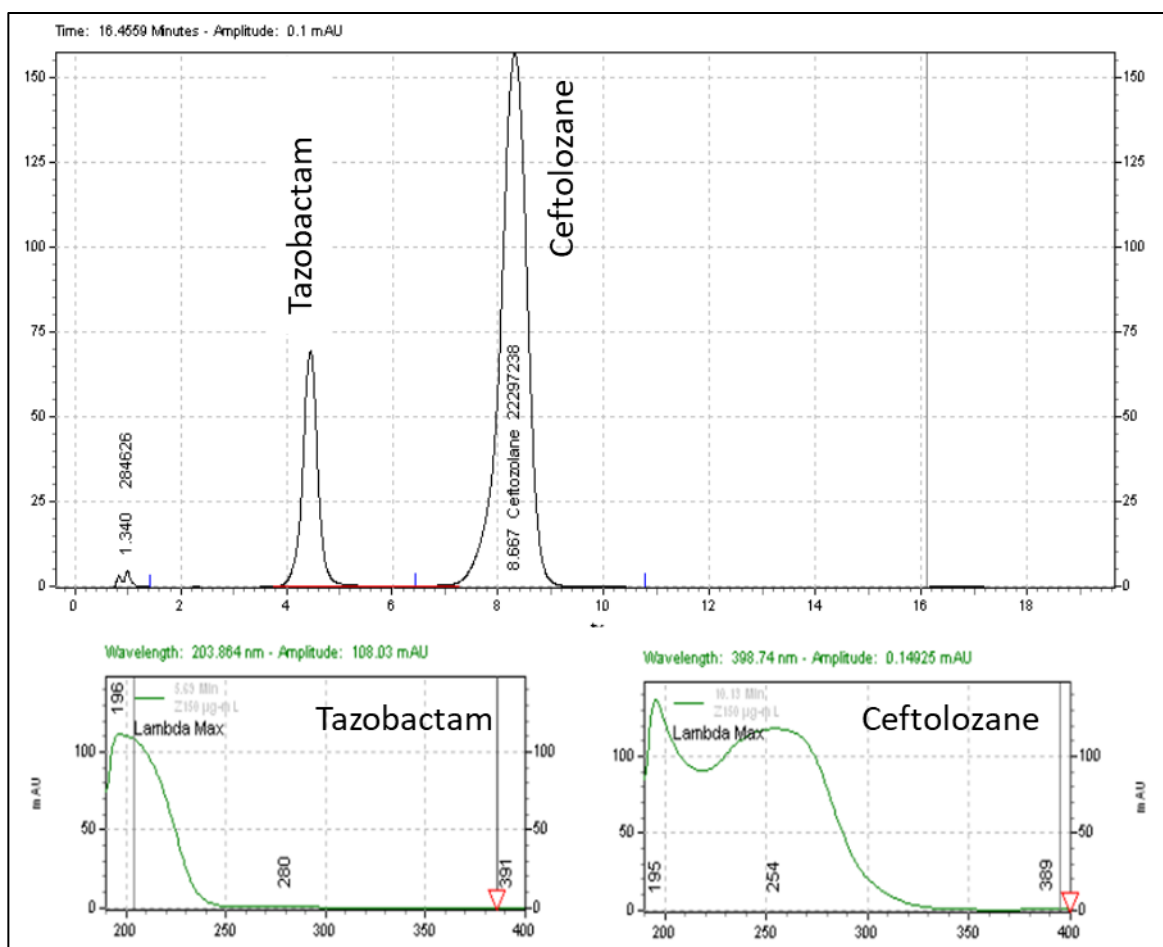


Figure 22 : Chromatogramme d'une solution de ceftolozane/tazobactam à 150/75 µg/mL dans du NaCl 0,9% après reconstitution et spectre UV du ceftolozane (en bas à droite), spectre UV du tazobactam (en bas à gauche) de 190 à 400 nm

L'équation de la courbe de calibration moyenne de la ceftolozane est : $y = 146123,9x - 156123,7$. L'homogénéité des variances de la courbe de calibration a pu être démontrée avec un test de Cochran ($C_{exp} = 0,579 < C_{th(5\%; 3; 5)} = 0,684$). La linéarité a été démontrée avec un $R^2 > 0,9999$. L'ANOVA (non-linéarité) a démontré le bon ajustement d'un modèle linéaire pour notre méthode ($F_{exp} = 0,26 < F_{th(5\%; 3; 10)} = 3,71$). Toutes les valeurs de répétabilités et de précisions intermédiaires présentent un $CV < 2\%$.

L'équation de la courbe de calibration moyenne du tazobactam est : $y = 74795,3x - 45336,07$. L'homogénéité des variances de la courbe de calibration a pu être démontrée avec un test de Cochran ($C_{exp} = 0,643 < C_{th(5\%; 3; 5)} = 0,684$). La linéarité a été démontrée avec un $R^2 > 0,9999$. L'ANOVA (non-linéarité) a démontré le bon ajustement d'un modèle linéaire pour notre

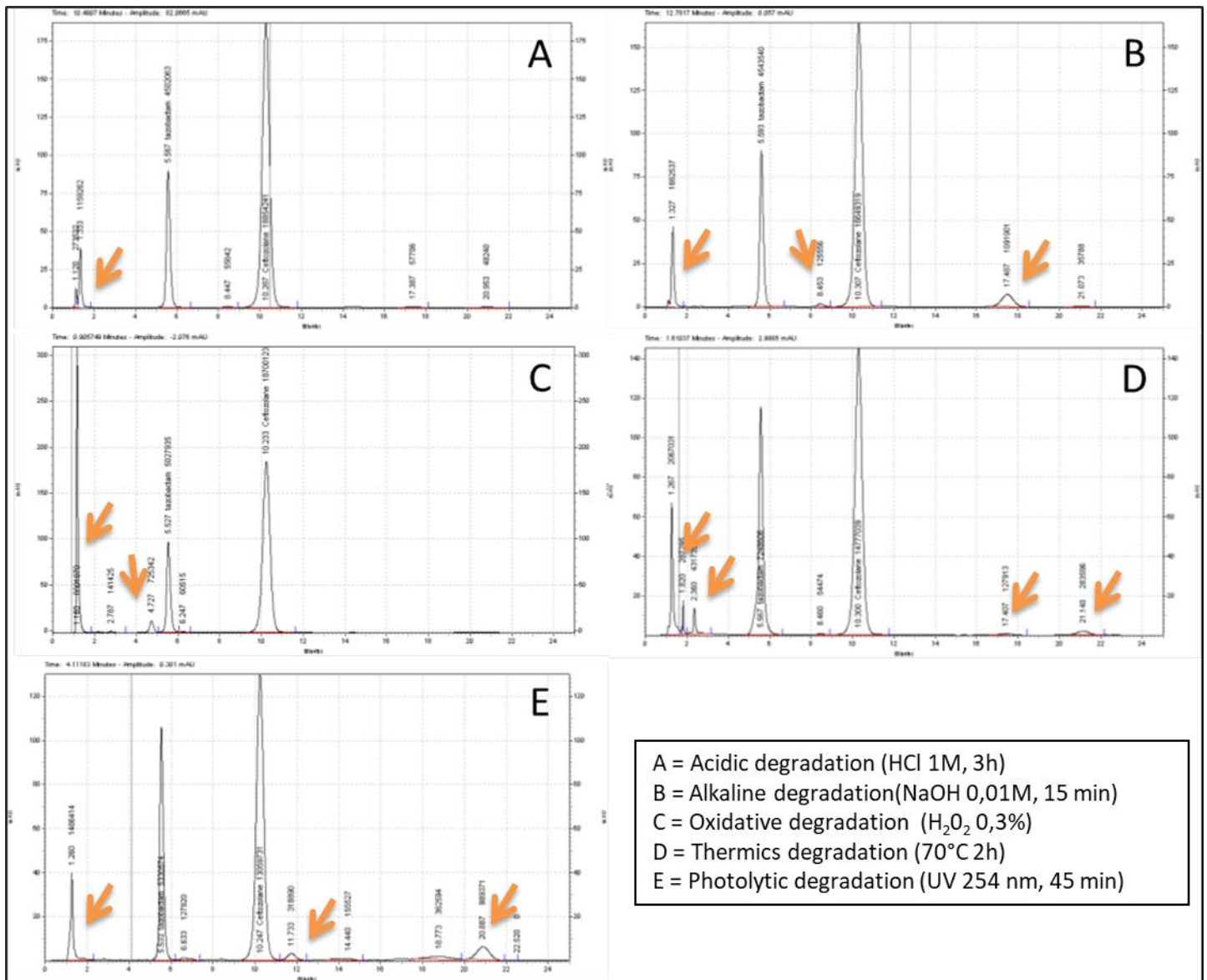
méthode ($F_{exp} = 0,49 < F_{th(5\%; 3; 10)} = 3,71$). Toutes les valeurs de répétabilité et de précisions intermédiaires présentent un CV < 2%.

L'ensemble des tests statistiques et de la validation de méthode pour la ceftolozane et le tazobactam est présenté en annexes 7 et 8.

La stabilité dans le passeur automatique (5°C) a été démontrée avec une variabilité de 0,78% pour la ceftolozane et de 1,03 % pour le tazobactam au bout de 4 heures.

L'injection de NaCl 0,9% ou de G5% avec notre méthode n'a pu mettre en évidence de pic. A l'inverse, l'injection d'une solution de 5-HMF a mis en évidence un pic avec un temps de rétention de 5,7 minutes.

La capacité indicatrice de stabilité de notre méthode a été testée en utilisant de nombreuses conditions de dégradation forcée. L'ensemble des chromatogrammes de dégradations forcées de ceftolozane/tazobactam est présenté figure 23.



A = Acidic degradation (HCl 1M, 3h)
 B = Alkaline degradation (NaOH 0,01M, 15 min)
 C = Oxidative degradation (H₂O₂ 0,3%)
 D = Thermics degradation (70°C 2h)
 E = Photolytic degradation (UV 254 nm, 45 min)

Figure 23 : Chromatogrammes de solution de ceftolozane/tazobactam (150/75 µg/mL) en conditions stressantes (thermique, oxydative, acide, alcaline, photolytique)

Au total, 13 produits de dégradation ont pu être observés pour l'ensemble des méthodes de dégradation forcée. Les principaux pics de dégradation observés sont les pics n°1 et 10. Le bilan massique et le temps de rétention des produits de dégradation par rapport au pic de ceftolozane/tazobactam non dégradé sont présentés dans le tableau VI.

Tableau VI : Balance massique du ceftolozane/tazobactam après dégradations forcées

Pics (n°)	Temps de rétention (minutes)	Rétention relative	Sans dégradation forcée	Aire				
				Dégradation acide	Dégradation alcaline	Dégradation oxydative	Dégradation thermique	Dégradation photolytique
				HCl 1M 3h	NaOH 0,01M 15 min	H ₂ O ₂ 0,3% 2h	70°C 2h	UV 254 nm 45 min
Ceftolozane	10,3	1	19420198	18854241	16649319	18300123	14777039	13059731
Tazobactam	5,5	0,53	5112940	4502063	4543540	5027935	7248606	5330574
1	1,3	0,13	282148	1159262	1662537	6601878	2067031	1406543
2	1,8	0,17	-	-	-	-	287295	73182
3	2,4	0,23	-	-	-	141425	431735	-
4	4,7	0,46	-	-	-	725342	-	-
5	6,2	0,6	-	-	-	60515	-	127920
6	8,5	0,83	-	55642	125556	-	54474	-
7	11,7	1,14	-	-	-	-	-	318890
8	13,8	1,34	-	-	-	-	-	72884
9	14,4	1,4	-	-	-	-	-	82430
10	17,5	1,7	-	57706	1091901	-	-	-
11	18,8	1,83	-	-	-	-	-	362594
12	20,9	2,03	-	48240	-	-	-	989371
13	21,1	2,05	-	-	-	-	283596	-
Bilan massique			24815286	24677154	24072853	30857218	25149776	21824119
% dégradation Ceftolozane				3%	14%	6%	24%	33%
% dégradation tazobactam				12%	11%	2%	-42%	-4%

Après l'exposition des solutions de ceftolozane/tazobactam en conditions stressantes, l'étendue de la dégradation pour le ceftolozane varie de 33 % après l'exposition thermique à 3 % en condition acide. Dans les mêmes conditions de dégradation, le tazobactam s'est dégradé de 12% en condition acide à seulement 2% en condition oxydative. Pour deux conditions (thermique et photolytique), la surface du pic de tazobactam a augmenté.

Le bilan massique est présenté dans le tableau VI. Nous observons que dans toutes les conditions de dégradation le bilan massique retrouvé est proche du bilan massique initiale, à l'exception de la dégradation oxydative où celui-ci est en nette augmentation (avec la présence du pic n°1 possédant une aire plus importante que le tazobactam, il s'agit du pic d'H₂O₂).

III.4.1 Stabilité chimique

L'évolution de la concentration initiale de ceftolozane/tazobactam en seringue et en diffuseur est présentée dans les tableaux VII et VIII. La concentration initiale de ceftolozane reste supérieure à plus de 90% de la concentration initiale au bout de 48 heures quel que soit le solvant utilisé. En diffuseur, la concentration initiale de ceftolozane reste supérieure à plus de 90 % de la concentration initiale au bout de 24 heures dans le NaCl 0,9% mais pas dans le G5%. Après 48 heures, la concentration restante de ceftolozane est proche de 80% de la concentration initiale.

En seringue, la concentration de tazobactam n'évolue pas au cours de l'étude. En revanche en diffuseur élastomérique, la concentration de tazobactam augmente progressivement à chaque temps d'analyse et dans les deux solvants. L'analyse de la pureté du pic ne permet pas de mettre en évidence une co-élution.

Le pH diminue dans toutes les conditions (en seringue et diffuseur, et avec l'utilisation du NaCl 0,9% ou du G5% comme solvant). En seringue, cette variation n'excède pas 0,26 unité pH après 24 heures [5,76 – 5,50] et 0,35 unité à 48 heures [5,76 – 5,41]. En diffuseur, la variation maximum observée était de 0,49 unité pH au bout de 24 heures [5,95 – 5,46] et de 0,69 unité pH au bout de 48 heures [5,95 – 5,26] dans le G5%. Pour les diffuseurs comme pour les seringues, aucune différence de plus d'une unité pH n'a été observée au cours de l'étude.

Tableau VII : Evolution de la concentration initiale de ceftolozane en seringue et diffuseur, diluée dans du NaCl 0,9% et dans du G5%

C° th (mg/mL)	Solvant	Seringue (S) Diffuseur (D)	C° réelle mg/mL	Temps ; % de la concentration initiale de ceftolozane (moyenne ± CV)			
				T0h	T8h	T24h	T48h
62,5	NaCl 0,9%	S1	59,35	100% ± 0,56%	97,54% ± 0,33%	94,31% ± 1,08%	92,33% ± 2,02%
		S2	60,12	100% ± 2,84%	94,81% ± 2,65%	93,64% ± 0,23%	91,60% ± 0,72%
		S3	61,22	100% ± 1,68%	96,93% ± 1,00%	93,67% ± 0,10%	91,60% ± 0,49%
62,5	G5%	S1	59,87	100% ± 2,98%	97,57% ± 1,26%	94,47% ± 0,32%	91,64% ± 0,14%
		S2	59,14	100% ± 0,46%	98,96% ± 2,22%	98,73% ± 0,05%	93,22% ± 0,56%
		S3	58,32	100% ± 0,47%	98,85% ± 1,00%	95,53% ± 0,46%	93,56% ± 0,14%
25	NaCl 0,9%	D1	22,42	100% ± 2,43%	101,95% ± 0,30%	93,26% ± 1,96%	80,04% ± 3,90%
		D2	23,08	100% ± 0,22%	100,01% ± 0,54%	90,75% ± 0,37%	80,25% ± 1,31%
		D3	22,95	100% ± 0,37%	98,13% ± 0,90%	91,31% ± 0,08%	83,75% ± 1,15%
25	G5%	D1	22,99	100% ± 0,98%	97,53% ± 0,78%	88,65% ± 0,19%	78,92% ± 1,62%
		D2	22,72	100% ± 1,16%	97,41% ± 0,77%	90,95% ± 0,11%	88,29% ± 1,12%
		D3	22,73	100% ± 0,44%	97,63% ± 0,41%	88,20% ± 0,19%	77,77% ± 2,26%

Tableau VIII : Evolution de la concentration initiale de tazobactam en seringue et diffuseur, diluée dans du NaCl 0,9% et dans du G5%

C° (mg/mL)	Solvant	Seringue (S) Diffuseur (D)	C° réelle mg/mL	Temps ; % de la concentration initiale de tazobactam (moyenne ± CV)			
				T0h	T8h	T24h	T48h
31,25	NaCl 0,9%	S1	29,92	100%±0,62%	98,93%±0,28%	99,18%±2,38%	101,25%±2,68%
		S2	29,83	100%±2,85%	96,52%±2,27%	98,92%±2,69%	100,41%±1,74%
		S3	30,79	100%±1,71%	98,55%±0,99%	98,77%±0,83%	101,07%±0,56%
31,25	G5%	S1	29,91	100%±3,15%	99,13%±1,19%	99,37%±1,99%	100,96%±0,17%
		S2	29,64	100%±0,53%	100,34%±2,62%	103,87%±0,18%	102,75%±0,68%
		S3	29,04	100%±0,52%	100,42%±1,05%	100,53%±2,03%	103,07%±0,12%
12,5	NaCl 0,9%	D1	11,40	100%±3,93%	105,07%±0,27%	108,61%±1,00%	114,36%±4,22%
		D2	11,54	100%±0,25%	105,25%±0,57%	109,86%±0,25%	115,72%±1,27%
		D3	11,37	100%±0,28%	103,42%±0,82%	109,19%±0,65%	120,03%±1,13%
12,5	G5%	D1	11,48	100%±0,87%	103,07%±0,71%	109,20%±1,01%	116,09%±1,41%
		D2	11,45	100%±1,17%	102,95%±0,76%	110,08%±1,33%	117,85%±0,93%
		D3	11,32	100%±0,26%	103,14%±0,45%	109,34%±1,29%	115,87%±2,14%

III.4.2 Stabilité physique

Les mesures d'absorbance effectuées par le spectrophotomètre sont présentées dans le tableau IX. L'analyse subvisuelle ne révèle aucune modification à 550 nm au cours de l'étude que ce soit pour les solutions diluées dans du NaCl 0,9% ou du G5%. A 350 et 410 nm, nous observons un accroissement de l'absorbance dès 8 heures en diffuseur et au bout de 24 heures en seringue.

Tableau IX : Mesure de l'absorbance des solutions de ceftolozane/tazobactam au cours de l'étude de stabilité

		Absorbances			
		T0 h	T8 h	T24 h	T48h
350 nm					
NaCl 0,9%	S	2,555	2,684	2,9567	3,031
G5%	S	2,501	2,655	2,932	3,098
NaCl 0,9%	D	1,006	1,241	1,757	2,322
G5%	D	1,013	1,277	1,904	2,551
410 nm					
NaCl 0,9%	S	0,121	0,121	0,093	0,204
G5%	S	0,111	0,091	0,098	0,213
NaCl 0,9%	D	0,041	0,061	0,115	0,195
G5%	D	0,05	0,082	0,181	0,339
550 nm					
NaCl 0,9%	S	0,007	0,005	0,007	0,008
G5%	S	0,001	0,001	0,002	0,008
NaCl 0,9%	D	0,001	0,002	0,004	0,003
G5%	D	0,004	0,009	0,002	0,009

Aucune formation de précipité ou de gaz n'a été observée au cours de l'étude. Au bout de 24 heures, un jaunissement a été observé pour les solutions de ceftolozane/tazobactam en diffuseur (observé dans le NaCl 0,9% et le G5%) (Figure 24).



Figure 24 : Diffuseur de ceftolozane/tazobactam à T 0h (gauche) et à T 24h (droite) dilué dans du G5%

III.5 Discussion

Pour le dosage du ceftolozane/tazobactam, nous avons utilisé une méthode adaptée des travaux de Kratzer *et al* (Kratzer, Rothe et Dorn, 2019). Notre méthode a été validée avec des coefficients de variation inférieurs à 2% en termes de répétabilité, précision intermédiaire que ce soit pour le ceftolozane ou le tazobactam. Mais le caractère indicateur de stabilité est incomplet, en effet nous avons un des produits de dégradation du ceftolozane qui possède le même temps de rétention que le tazobactam, entraînant une augmentation artificielle de la concentration de celui-ci au cours de l'étude due à une co-élution. Ce produit de dégradation a été observé lors de la dégradation forcée par la chaleur.

Afin de régler ce problème, un changement de la méthode analytique est indispensable, avec par exemple un changement du mode d'élution : passage d'un mode isocratique à une élution en gradient afin de pouvoir séparer correctement les produits de dégradation avec les pics d'intérêts. Mais le coût d'une telle étude peut être conséquent. Le prix d'un flacon de ZERBAXA® est de 93,42 € TTC. De plus, une rupture mondiale depuis le 7 décembre 2020 est en cours sur ce médicament (Disponibilité des produits de santé - ZERBAXA 0,1 g/0,5 g | , poudre pour solution à diluer pour perfusion - ANSM 2020,) empêchant la réalisation d'étude complémentaire.

Pour notre étude en seringue polypropylène, nous pouvons conclure avec une marge de sécurité que le ceftolozane/tazobactam présente une stabilité physico-chimique sur 48 heures. D'un point de vue clinique, cela correspond à une posologie normale de 3/1,5 g/j que l'on peut administrer sur 24 heures. Pour rappel, la réalisation d'une seringue à forte posologie, soit 6/3 g/j de ceftolozane/tazobactam n'est pas possible pour le moment car il faut reconstituer 6 flacons de ZERBAXA®. Avec le déplacement de volume, cela correspond à un volume de 67,2 mL, rendant impossible la réalisation d'une seringue de 50 mL, utilisée lors des administrations continues en pousse-seringue électrique. Pour l'utilisation d'une forte posologie, il faut donc préparer deux seringues/jour avec un changement toutes les 12 heures.

Pour les diffuseurs, avec la concentration de tazobactam qui ne correspond pas à la concentration réelle présente dans le diffuseur, la détermination de la stabilité est plus délicate. Nous observons une influence du solvant sur la stabilité du ceftolozane en diffuseur avec moins de 90% de la concentration initiale de ceftolozane présent dans les diffuseurs dilués avec du G5% au bout de 24 heures. Mais conclure à une stabilité sur 24 heures dans le NaCl 0,9%, est délicat puisque même si la concentration initiale de ceftolozane reste supérieure à 90%, nous sommes très proche de la valeur limite ($S_2 : 90,75\% \pm 0,37\%$). De plus, nous observons un changement physique important avec un jaunissement, et une modification subvisuelle à 350 et 410 nm et la concentration réelle de tazobactam est inconnue, en raison de la co-élution d'un produit de dégradation du ceftolozane avec le pic de tazobactam.

Il existe un point de comparaison grâce à l'étude de stabilité de la pipéracilline/tazobactam réalisée précédemment. Dans cette étude, en diffuseur, avec le NaCl 0,9% ou le G5%, le tazobactam conservait plus de 95% de sa concentration initiale au bout de 24 heures. A noter que la concentration de tazobactam en diffuseur était de 8,33 mg/mL contre 12,5 mg/mL pour l'association avec le ceftolozane. Pour le moment, nous pouvons donc conclure à une stabilité en diffuseur dans les 2 solvants de 8 heures, les projections tendent que la possibilité d'une stabilité à 12 heures est hautement probable mais la réalisation d'une étude complémentaire est nécessaire.

Une étude intéressante a été réalisée par Raby *et al.*, dans laquelle la stabilité du ceftolozane/tazobactam en diffuseur a été étudiée à plusieurs concentrations, températures et uniquement dans du NaCl 0,9% (Raby, Naicker, Sime, *et al.*, 2020). Nous avons un point de comparaison avec l'étude à 37°C à la même concentration, Raby *et al.* retrouvent plus de 93% de la concentration initiale de ceftolozane et plus de 95% de la concentration initiale de tazobactam au bout de 24 heures. Mais la validation de la méthode n'est pas décrite, (non sélectionné dans Stabilis®). Les auteurs notent également un changement de couleur mais

uniquement à 48 heures. Cette donnée contradictoire devra être clarifiée par la réalisation d'études complémentaires dès la remise à disposition du ZERBAXA® au niveau mondial.

III.6 Conclusion

En seringue polypropylène, la ceftolozane/tazobactam est stable pendant 48 heures dans du NaCl 0,9% ou du G5%, à une concentration de 62,5/31,25 mg/mL (3/1,5 g dans 48 mL) à température ambiante. Pour un retour à domicile, la stabilité en diffuseur élastomérique a été validée dans du NaCl 0,9% et du G5% à 37°C à une concentration de 25/12,5 mg/mL (3/1,5 g dans 240 mL) sur une période de 8 heures.

IV. Méropénem

Une communication affichée intitulée « *Physicochemical stability of meropenem in Polypropylene Syringes at 41.7 mg/mL for Intensive Care Units* » a été présentée au 25^{ème} congrès de l'EAHP (mars 2021) (Annexes 10 et 11)

IV.1 Introduction

Le méropénem (Figure 25) est une carbapénème, antibiotique appartenant à la famille des β -lactamines. Le méropénem est disponible en flacon de poudre pour usage parentéral de 1 g. Le flacon contient comme excipient du carbonate de calcium. Le méropénem s'administre en bolus, en perfusion intraveineuse, dilué dans du NaCl 0,9% ou du G5%. La posologie est variable, de 1 g 3 fois par jour jusqu'à 2 g 3 fois par jour pour les infections sévères, en perfusion de 15 à 30 minutes.

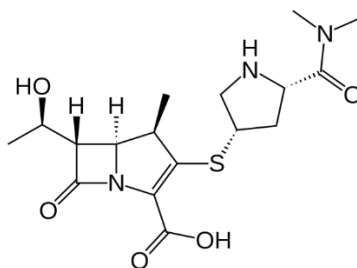


Figure 25 : Structure chimique du méropénem

Les flacons doivent être reconstitués avec de l'eau ppi pour obtenir une concentration de 50 mg/mL. Dans le cas d'une administration en perfusion, la reconstitution peut s'effectuer directement avec la solution de perfusion (NaCl 0,9% ou G5%) (Trissel's Handbook).

Les données de stabilité fournies par les laboratoires indiquent des stabilités courtes et variables. Pour la solution reconstituée, la stabilité est de 1 heure (Maco Pharma), 2 heures (Arrow et Panpharma) ou 3 heures (Kabi et Aurobindo).

La stabilité des perfusions dans NaCl 0,9% ou G5% dans une plage de concentration de 1 à 20 mg/mL varie selon les solvants et les laboratoires. Dans le NaCl 0,9%, la stabilité varie de 1 heure (PanPharma et Maco Pharma), 4 heures (Arrow) à 6 heures (Aurobindo). Dans le G5%, la stabilité varie de 30 minutes (Aurobindo), 1 heure (Maco Pharma et Kabi), 4 heures (Arrow) à 6 heures (Aurobindo). Aucune donnée n'est disponible à plus forte concentration.

(« Meropenem- Summary of Product Characteristics. Update 2016, Arrow générique », ; « Meropenem- Summary of Product Characteristics. Update 2017, Frésenius Kabi », ; « Meropenem- Summary of Product Characteristics. Update 2019, Aurobindo Pharma », ; « Meropenem- Summary of Product Characteristics. Update 2019, Maco Pharma. », ; « Meropenem- Summary of Product Characteristics. Update 2019, Panpharma »,)

De nombreuses études de stabilité ont été publiées avec des stabilités à température ambiante ne dépassant pas 24 heures, avec 2 facteurs influençant la stabilité : la concentration et le solvant. La stabilité semble diminuer quand la concentration s'élève et elle est moins bonne dans le glucose 5%.

A forte concentration (de l'ordre de 40 mg/mL), quelques études ont été publiées :

- en contenant verre
 - dans l'eau ppi 40 mg/mL : 12 heures (Berthoin, Le Duff, Marchand-Brynaert, *et al.*, 2010)
 - dans l'eau ppi 50 mg/mL : 8 heures (Patel et Cook, 1997)
 - dans du NaCl 0,9% 50 mg/mL : 8 heures (Patel et Cook, 1997)
 - dans du G5% 50 mg/mL : 3 heures (Patel et Cook, 1997)
- en contenant élastomérique
 - dans l'eau ppi 64 mg/mL : 5 heures (Viaene, Chanteux, Servais, *et al.*, 2002)
- en seringue polypropylène
 - dans du NaCl 0,9% 40 mg/mL : 4 heures (Curti, Souab, Lamy, *et al.*, 2019)
 - dans du NaCl 0,9% 40 mg/mL : 8 heures (Carlier, Stove, Verstraete, *et al.*, 2015)

Seules deux études ont été réalisées en seringue polypropylène à 40 mg/mL avec des résultats contradictoires (4 heures et 8 heures) (Carlier, Stove, Verstraete, *et al.*, 2015; Curti, Souab, Lamy, *et al.*, 2019). Le produit étant instable, la préparation d'une seringue sur 24 heures n'est pas envisageable, la pratique actuelle étant d'une seringue toutes les 6 heures.

IV.2 Objectif

Le but de ce travail est d'étudier la stabilité physico-chimique du méropénem dilué dans du NaCl 0,9% ou dans du G5% pendant 8 heures à 41,7 mg/mL soit 2 g dans 48 mL dans une seringue en polypropylène, exposé à la lumière et stocké à température ambiante pour une administration en perfusion continue en service de réanimation.

IV.3 Matériels et méthodes

IV.3.1 Produits chimiques et réactifs

L'acétate d'ammonium (Merck ; lot : A1426116916), l'acide acétique glacial (VWR Chemical ; lot : 19F054008) et l'acétonitrile (Carlo Erba ; lot : 17J231482) ont été utilisés pour la phase mobile. L'hydroxyde de sodium 1 M (VWR Chemicals ; lot : 190423C004), l'acide chlorhydrique 1M (VWR Chemical ; lot : 190403C001) et le peroxyde d'hydrogène 30% (Merck ; lot : K48743810713) ont été utilisés pour la dégradation forcée. L'eau utilisée pour la chromatographie a été obtenue à partir d'un système d'osmose inverse (Millipore Iberica, Madrid, Espagne). Méropénem 1 g, poudre pour usage parentéral (Panpharma ; lot MFR1020), NaCl 0,9%, flacon de verre de 250 mL (Chaix et du Marais, Lavoisier, lot : 9F582) ou G5%, flacon de verre de 250 mL (Chaix et du Marais, Lavoisier, lot : 9F591) et l'eau pour injection 500 mL (Chaix et du Marais, Lavoisier, lot : 0F564) ont été utilisés pour les solutions d'essai, la dégradation forcée et la validation de la méthode d'analyse.

IV.3.2 Préparation des solutions et dilution pour analyse

Trois seringues, pour chaque condition, ont été préparées à une concentration de 41,7 mg/mL (2 g de méropénem dans 48 mL). La reconstitution de la poudre se fait directement avec le solvant de perfusion. Après prélèvement d'un échantillon (trois par seringue à chaque temps d'analyse), une dilution au 1/200 est réalisée (500 µL dans 100 mL) avec l'obtention d'une concentration théorique de 208,5 µg/mL avant analyse par CLHP.

IV.3.3 Méthode CLHP

Les solutions de méropénem sont analysées par une méthode CLHP en phase inverse indicatrice de stabilité, adaptée de la méthode de Elkhaili *et al.* (Elkhaïli, Niedergang, Pompei, *et al.*, 1996). La phase stationnaire utilisée était une colonne C18 LiChrospher® 100 RP-18, LiChroCART® de 12,5 cm de long, 4,6 mm de diamètre et contenant des particules de silice de 5 µm (Analytical Chromatography, Merck). La phase mobile est constituée d'un tampon d'acétate d'ammonium (10.53 mM) ajustée à pH = 4,0 avec de l'acide acétique glacial et de l'acétonitrile avec un ratio 95/5 v/v. Le débit est de 1 mL/min, avec un volume d'injection de 10 µL. La détection est réalisée à une longueur d'onde de 297 nm. La température de l'injecteur est fixée à 5°C et la température de la colonne à 30 °C.

La linéarité a été évaluée avec cinq concentrations (50, 100, 150, 200 et 250 µg/mL) de méropénem dilué dans de l'eau pour préparation injectable. Cette gamme étalon a été réalisée trois fois pour déterminer la linéarité et obtenir une équation de la courbe d'étalonnage

moyenne. La répétabilité a été évaluée, comme recommandé par la Conférence Internationale d'Harmonisation (ICH) Q2 (R1), sur trois concentrations (50, 150 et 250 µg/mL) (« ICH Validation of Analytical Procedures Q 2 (R1) Guidelines 2005 », 2006). La fidélité intermédiaire a été évaluée en réalisant la répétabilité trois fois. La stabilité d'une solution de méropénem dans l'auto-sampler a été évaluée sur une période de 3 heures.

Le caractère indicateur de stabilité de la méthode a été évalué en réalisant des dégradations forcées de solutions de méropénem :

- En condition acide, 1 mL d'une solution de méropénem à 600 µg/mL a été mélangé à 1 mL d'HCl 0,1 M pendant 10 minutes. L'acide a été neutralisé avec 1 mL de NaOH 0,1M et 1 mL d'eau UP a été ajouté pour obtenir une concentration théorique de 150 µg/mL.
- En condition alcaline, 1 mL d'une solution de méropénem à 600 µg/mL a été mélangé à 1 mL de NaOH à 0,01M pendant 20 minutes, puis neutralisé avec 1 mL d'HCl 0,01M, et 1 mL d'eau UP était ajouté pour obtenir une concentration théorique de 150 µg/mL.
- En condition oxydative, une solution de méropénem à 600 µg/mL a été mélangée avec 0,5 mL d'une solution d'H₂O₂ à 0,3% pendant 5 min ; 2,5 mL d'eau UP ont été ajoutés pour obtenir une concentration théorique de 150 µg/mL.
- En condition photolytique, une solution de méropénem à 150 µg/mL a été exposée pendant 1 heure en dessous d'une lampe UV (Vilbert Lourmat®) à 254 nm.
- La dégradation thermique a été réalisée avec une concentration de 150 µg/mL de méropénem exposé à une température de 50°C pendant 1 heure.

La spécificité de notre méthode a été évaluée par l'analyse de solutions de NaCl 0,9% et de glucose 5%. Une solution de 100 µg/mL de (5-HMF), principal produit de dégradation du glucose, a également été analysée car elle a une absorbance maximale de 284 nm.

IV.3.4 Mesure de pH

Les mesures de pH ont été réalisées avec un pHmètre Bioblock Scientific. En raison du volume limité disponible dans une seringue, seule une mesure de pH est réalisée à chaque temps d'analyse, T0, T4 et T8 heures. La limite d'acceptabilité a été fixée à ± 1 unité de pH, en comparaison avec le pH mesuré juste après la préparation de la seringue.

IV.3.5 Stabilité physique

La stabilité physique a été évaluée par un examen visuel (recherche la formation d'un précipité et de gaz, ou d'un changement de couleur) et un examen subvisuel, en mesurant la turbidimétrie des solutions à l'aide d'un spectrophotomètre UV à trois longueurs d'onde (350, 410 et 550 nm), comme recommandé par la conférence de consensus européenne à chaque temps d'analyse (Bardin, Astier, Vulto, *et al.*, 2011).

IV.4 Résultats

IV.4.1 Validation méthode analytique

La courbe de calibration du méropénem est linéaire, le coefficient de corrélation est de 0,9999 avec pour équation de la courbe d'étalonnage moyenne : $y = 116901,9 X + 134765,4$. La répétabilité exprimée en écart-type relatif était comprise entre [0,08% - 1,04%] à 50 µg/mL, [0,06% - 1,30%] à 150 µg/mL et [0,09% - 0,84%] à 250 µg/mL. La fidélité-intermédiaire exprimée en écart-type relatif était comprise entre [0,71% - 1,13%]. L'ensemble des tests statistiques pour la validation de la méthode est présenté en Annexe 11.

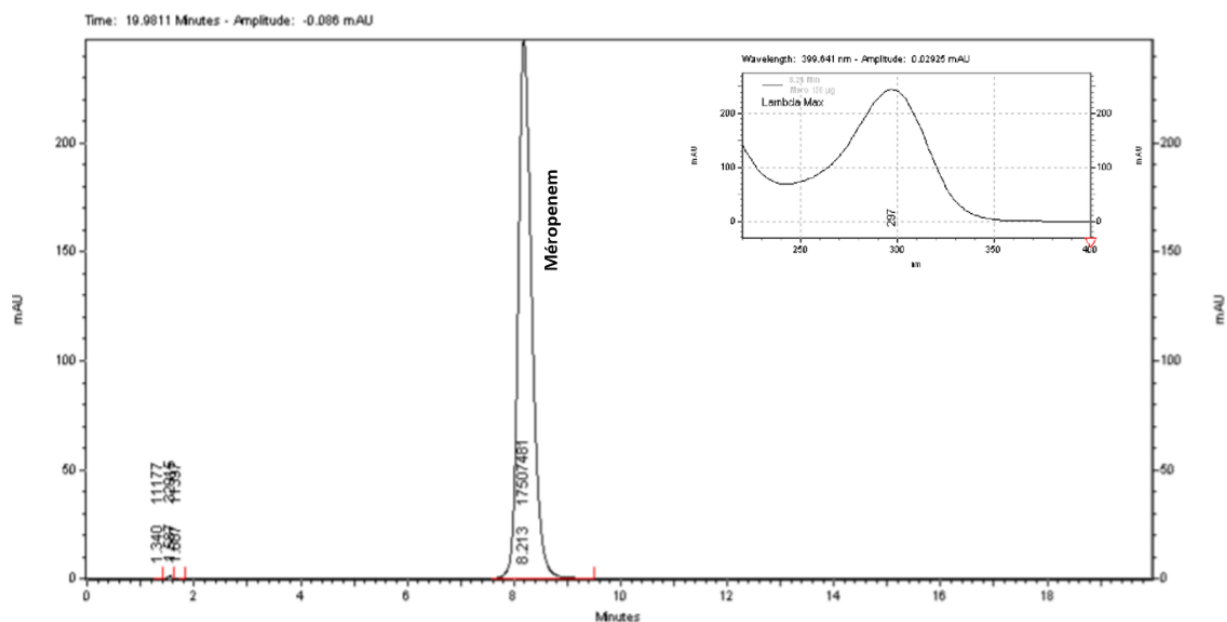


Figure 26 : Chromatogramme d'une solution de méropénem à 208,5 µg/mL dans du NaCl 0,9% fraîchement reconstitué et spectre UV du méropénem de 220 à 400 nm

La stabilité dans le passeur automatique (5°C) a été démontrée avec un taux de dégradation inférieur à 1% au bout de 180 minutes avec une solution de méropénem à 150 µg/mL. Un chromatogramme d'une solution de méropénem à 150 µg/mL, sans dégradation forcée, est présenté figure 26. Le méropénem a un temps de rétention de 8,2 minutes et présente un maximum d'absorption à 297 nm.

La spécificité de la méthode a été démontrée avec des solutions de NaCl 0,9% et de G5%, aucun pic n'a été observé. Un pic avec un temps de rétention de 1,1 minutes a été retrouvé avec la solution de 5-HMF.

La capacité indicatrice de stabilité de notre méthode a été testée en utilisant de nombreuses conditions de dégradation forcée. L'ensemble des chromatogrammes de dégradation forcée de méropénem est présenté figure 27. Au total, 7 pics de produits de dégradation ont pu être observés pour l'ensemble des méthodes de dégradation. Les deux pics de dégradation principaux observés sont : le pic n°6 (dégradation thermique) et le pic n°3 (dégradation oxydative et photolytique). Le bilan massique et la rétention des produits de dégradation par rapport au pic de méropénem non dégradé sont présentés dans le tableau X. Après dégradation forcée, l'étendue de la dégradation était de 8 % en condition acide, 5 % en condition alcaline, 44 % en condition oxydante, 10 % en condition thermique et 8 % en condition photolytique.

Seuls les bilans massiques des dégradations alcaline et surtout thermique permettent de récupérer une surface initiale observée lors d'absence de dégradation.

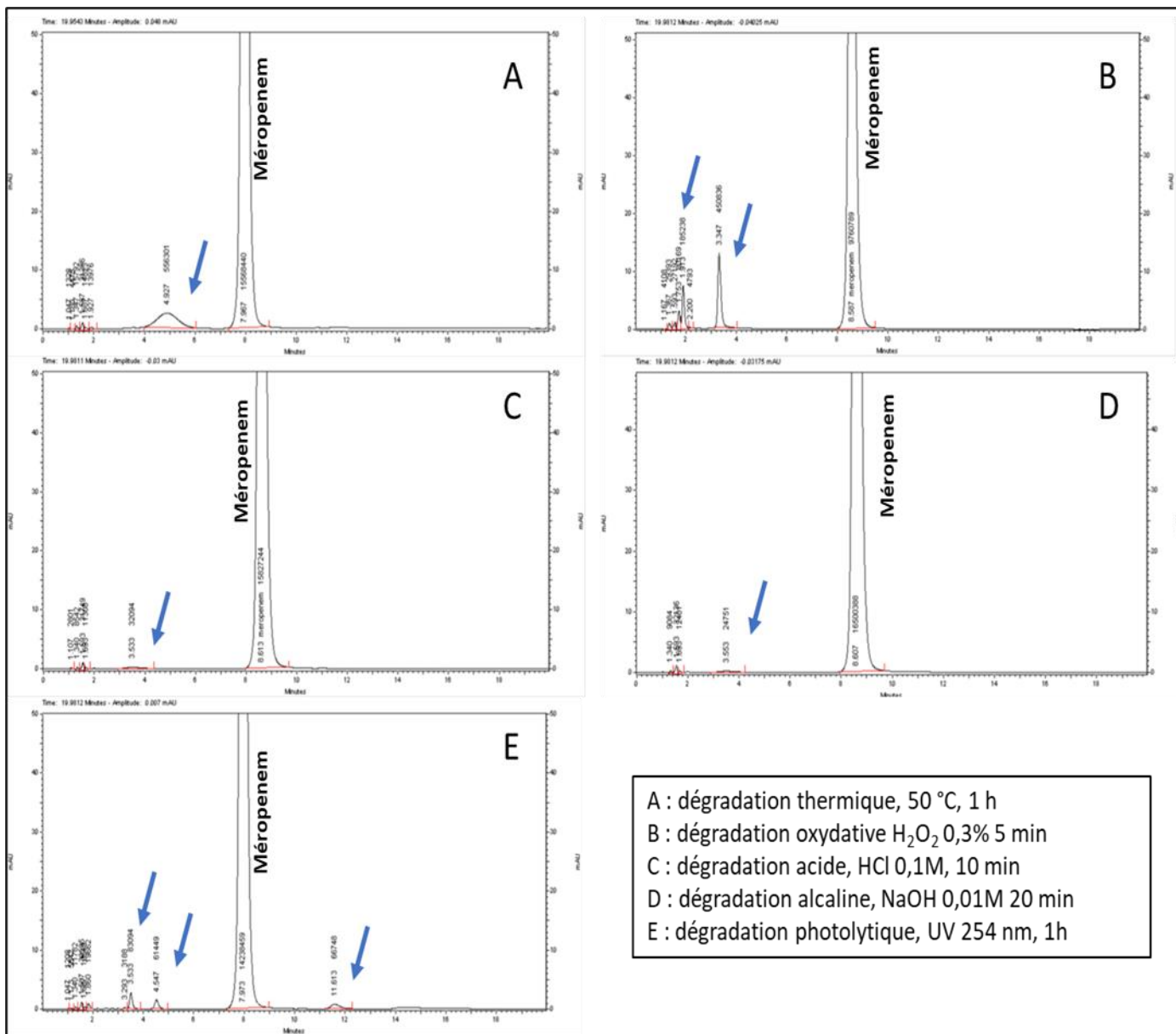


Figure 27 : Chromatogrammes de solutions de méropénem (150 µg/mL) en conditions stressantes (thermique, oxydative, acide, alcaline, photolytique), produits de dégradation signalé par les flèches bleues.

Tableau X : Balance massique de solution de méropénem à 150 µg/mL après dégradation forcée

Pics (n°)	Temps de rétention (minutes)	Rétention relative	Sans dégradation forcée	Aire				
				Dégradation acide	Dégradation alcaline	Dégradation oxydative	Dégradation thermique	Dégradation photolytique
				HCl 0,1M 10 min	NaOH 0,1M 20 min	H ₂ O ₂ 0,3% 5 min	50°C 1h	UV 254 nm 1h
Méropénem	8,2	1	17284190	15827244	16500388	9760789	15568440	14238459
1	1,34	0,17		-	-	29393	-	11782
2	1,59	0,2		21249	32126	27192	31286	30595
3	1,86	0,23		-	-	185238	-	29814
4	3,53	0,44		32094	24751	450836	-	83094
5	4,55	0,57		-	-	-	-	61449
6	4,93	0,62		-	-	-	556301	-
7	11,61	1,45		-	-	-	-	66748
Total bilan massique			17284190	15880587	16557265	10453448	16156027	14521941
% dégradation				8%	5%	44%	10%	8%

IV.4.2 Stabilité chimique

L'évolution de la concentration de méropénem exprimée en pourcentage de la concentration initiale en seringue est présentée tableau XI. Au bout de 8 heures, la concentration de méropénem dilué dans du NaCl 0,9% est supérieure à 90 % de la concentration initiale. Pour les solutions de méropénem dilué dans du G5%, la concentration reste supérieure à 90 % de la concentration initiale au bout de 4 heures. Elle n'est plus que de 85 % au bout de 8 heures. Aucun pic observé pendant la dégradation forcée n'a été retrouvé durant l'étude.

Tableau XI : Evolution de la concentration initiale de méropénem en seringue, dilué dans du NaCl 0,9% et dans du G5%

C° th (mg/mL)	Solvant	C° réelle mg/mL	Seringue (S)	Temps ; % de la concentration initiale de méropénem (moyenne ± CV)		
				T0h	T4h	T8h

41,7	NaCl 0,9%	40,87	S1	100% ± 1,29%	98,64% ± 0,88%	95,12% ± 0,08%
		41,83	S2	100% ± 0,20%	94,82% ± 0,20%	91,06% ± 0,72%
		40,93	S3	100% ± 0,18%	97,95% ± 0,13%	92,81% ± 1,21%
41,7	G5%	39,81	S1	100% ± 1,88%	94,83% ± 0,91%	86,14% ± 0,08%
		40,56	S2	100% ± 1,40%	94,05% ± 0,13%	86,14% ± 0,15%
		40,79	S3	100% ± 0,06%	92,50% ± 0,18%	85,31% ± 0,03%

Le pH a augmenté de 0,1 unité pour les solutions de méropénem diluées dans du NaCl 0,9% au bout de 8 heures (de 7,55 à 7,65). Le pH a diminué de 0,19 unité au bout de 8 heures pour les solutions de méropénem diluées dans du G5% (de 7,79 à 7,60).

IV.4.3 Stabilité physique

Aucune formation de précipité ou de gaz n'a été observée au cours de l'étude. Au bout de 8 heures, un léger jaunissement a été observé pour les seringues de méropénem diluées dans du NaCl 0,9%. Au bout de 8 heures, les solutions de méropénem diluées dans du G5% sont devenues jaune-orange (Figure 28).

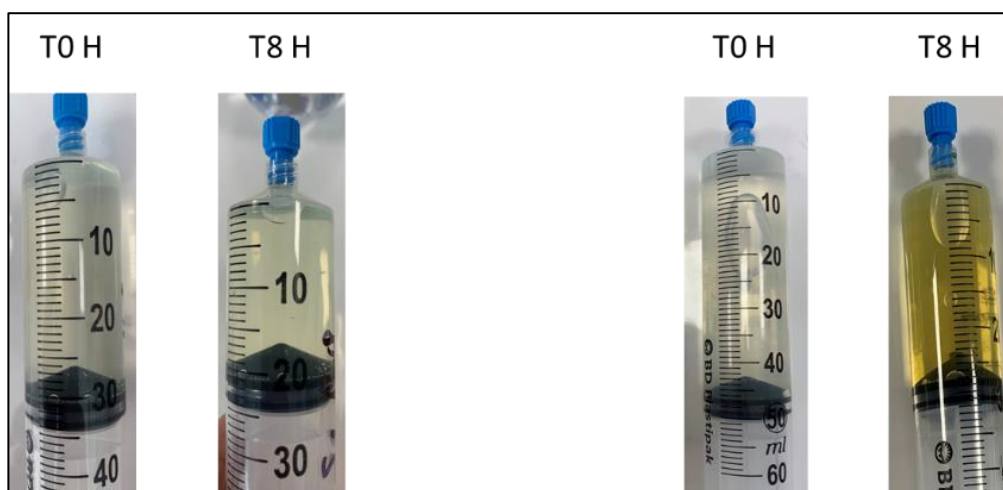


Figure 28 : Seringue de méropénem dilué dans du NaCl 0,9% à T0h et T8h (gauche) et dilué dans du G5%, T0h et T8H (droite)

Pour l'analyse subvisuelle, aucune modification majeure n'a été observée à 350, 410 et 550 nm au cours de l'étude pour les seringues de méropénem diluées dans du NaCl 0,9%. L'analyse subvisuelle des solutions diluées dans du G5% révèle un accroissement de l'absorbance à 410 et à 550 nm au bout de 8 heures.

IV.5 Discussion

Notre méthode adaptée des travaux de Elkhaili *et al.* a été validée comme indicatrice de stabilité (Elkhaïli, Niedergang, Pompei, *et al.*, 1996). Le bilan massique des dégradations forcées acide, oxydative et photolytique ne permet pas de retrouver la surface initiale de méropénem. Cela peut s'expliquer par une perte de chromophores lors de ces dégradations. La répétabilité, la précision intermédiaire, ainsi que l'ensemble des mesures de concentrations réalisées lors de notre étude présentent des coefficients de variation inférieurs à 2 %. Cette étude retrouve des résultats similaires avec celle réalisée par l'équipe de Carlier *et al.*, avec une stabilité du méropénem de 8 heures en seringue dilué dans du NaCl 0,9% (Carlier, Stove, Verstraete, *et al.*, 2015). Cette étude confirme également l'influence du solvant, avec une diminution de la stabilité du méropénem lorsqu'il est dilué dans du G5% (de Souza Barbosa, Capra Pezzi, Tsao, *et al.*, 2020).

IV.6 Conclusion

Dans le G5%, le méropénem présente une instabilité chimique et physique ne permettant pas de réaliser des perfusions continues en seringue polypropylène plus longues que 4 heures. Le méropénem est stable à 41,7 mg/mL dans des seringues en polypropylène dilué dans du NaCl 0,9% pour une durée de 8 heures. Cette donnée permet de réaliser des perfusions continues de méropénem de 8 heures trois fois par jour en service de soins critiques.

V. Céfidérocol

Préambule : L'étude de stabilité, pour le céfidérocol est présentée sous un format d'article.
(Accepté en juillet 2021 à l'*European Journal of Hospital Pharmacy* EJHP).

Les tests statistiques pour la validation de la méthode du céfidérocol sont présentées en annexe 12.

Physicochemical stability of cefiderocol, a novel siderophore cephalosporin, in syringes at 62.5 mg/mL for continuous administration in intensive care units

Guillaume Loeuille,¹ Jean Vigneron,^{1,2} Elise D'Huart,^{1,2} Alexandre Charmillon,³ Béatrice Demoré^{1,4}

¹Pharmacy, Centre Hospitalier Universitaire de Nancy, Vandoeuvre-lès-Nancy, France

²Non-Profit Association, INFOSTAB, Heillecourt, 54180, France

³Service de Maladies Infectieuses, Centre Hospitalier Régional Universitaire de Nancy, Vandoeuvre-lès-Nancy, 54511, France

⁴EA 4360 APEMAC, Université de Lorraine, Nancy, Lorraine, France

Correspondence to

Dr Jean Vigneron, Pharmacy Department, Centre Hospitalier Universitaire de Nancy, Vandoeuvre-lès-Nancy, 54511, France; j.vigneron@chru-nancy.fr

Received 14 June 2021

Accepted 19 July 2021

EAHP Statement 3: Production and Compounding. EAHP Statement 4: Clinical Pharmacy Services.

ABSTRACT

Introduction Cefiderocol is a new siderophore time-dependent antibiotic of last resort. The manufacturer reports a stability of 6 hours for the infusion solution diluted in normal saline (NS) or dextrose 5% in water (D5W) for a concentration between 7.5 and 20 mg/mL. Optimising its effectiveness by continuous infusion is crucial. The aim of this work was to study the physicochemical stability of cefiderocol diluted in NS or D5W in polypropylene syringes for 48 hours at a concentration of 62.5 mg/mL stored at room temperature, protected or not from light.

Materials and methods Three preparations for each condition were performed. At each time of the analysis, one sample for each preparation was analysed in triplicate by a validated high performance liquid chromatography method coupled to a photodiode array detector at 260 nm. Particle contamination, absorbance measurement, visual inspection and pH measurement were assessed. The limit of stability was set at 90% of the initial concentration, without physical modification.

Results The linearity was validated with an R² of 0.9999. The coefficients of variation for repeatability and intermediate precision were less than 2%. In NS and D5W, cefiderocol retained more than 90% of the initial concentration after 12 hours in syringes, exposed or not to light. Two degradation products (nos 2 and 11, observed during forced degradation) were detected during the stability study. The absorbance at 410 nm increased progressively, regardless of the storage conditions. The particulate contamination test met the specifications of the container. pH values were all between 5.22 and 5.32. No visual changes were detected.

Conclusion In polypropylene syringes, cefiderocol 62.5 mg/mL (3 g in 48 mL) diluted in NS or D5W was stable for 12 hours at room temperature. These new data allow the use of cefiderocol in continuous infusion.

through iron chelation systems.² Cefiderocol then binds to penicillin-binding protein. It is the siderophore group that protects cefiderocol from carbapenemases such as oxacillin carbapenemase, New Delhi metallo-β-lactamase and Verona integron-encoded metallo-β-lactamase.^{3,4}

The recommended dosage for treating infections is 6 g per day, divided into three injections, with an infusion time of 3 hours. The manufacturer reports a stability of 6 hours for the infusion solution (diluted in normal saline (NS) or dextrose 5% in water (D5W)) for a concentration between 7.5 and 20 mg/mL and stored at room temperature.⁵

Patients in intensive care units (ICUs) are a population at risk. For pathophysiological reasons, most patients have fluid restriction, which does not allow high-volume infusions.^{6–8} Drugs are administered in small volumes and in flow-controlled syringes. However, administration in a small volume leads to very concentrated solutions—for example, for cefiderocol a concentration of 62.5 mg/mL is obtained (3 g diluted in 48 mL). To the best of our knowledge, no stability studies have been performed at such high concentrations.

Cefiderocol belongs to the β-lactam class and is therefore a time-dependent antibiotic. The aim of the treatment is to rapidly reach a concentration of 4 times the minimum inhibitory concentration and to maintain this concentration for the duration of the treatment period.⁹ Optimising its effectiveness by continuous infusion is therefore crucial.¹⁰ However, this approach needs to be validated with a stability study.

The aim of this work was to study the physicochemical stability of cefiderocol diluted in NS or D5W in polypropylene syringes for 48 hours at a concentration of 62.5 mg/mL stored at room temperature, protected or not from light, in order to simulate the administration by infusion in an ICU.

INTRODUCTION

Cefiderocol is a new cephalosporin approved by the European Medicines Agency in 2020.¹ It is used as an antibiotic of last resort to treat an infection caused by a carbapenemase-producing Gram-negative bacterium. The spectrum also covers *Pseudomonas aeruginosa* and non-fermentative bacteria such as *Acinetobacter baumannii* and *Stenotrophomonas maltophilia*. Cefiderocol has the ability to bind to free extracellular iron via the siderophore on its side chain (figure 1), allowing active transport into the periplasmic space of Gram-negative bacteria

MATERIALS AND METHOD

Chemicals and reagents

Potassium dihydrogen phosphate (KH₂PO₄) (Merck; batch: AM1089577747), methanol for high performance liquid chromatography (HPLC) (Carlo Erba; batch: V0D04260D) and orthophosphoric acid (VWR; batch 17B174014) were used for the mobile phase. Hydrochloric acid 1 M (VWR Chemicals; batch: 200618C011), sodium hydroxide 1 M (VWR Chemicals; batch: 200416C004) and hydrogen peroxide 30% (Merck;



© European Association of Hospital Pharmacists 2021. No commercial re-use. See rights and permissions. Published by BMJ.

To cite: Loeuille G, Vigneron J, D'Huart E, et al. *Eur J Hosp Pharm* Epub ahead of print: [please include Day Month Year]. doi:10.1136/ejpharm-2021-002935

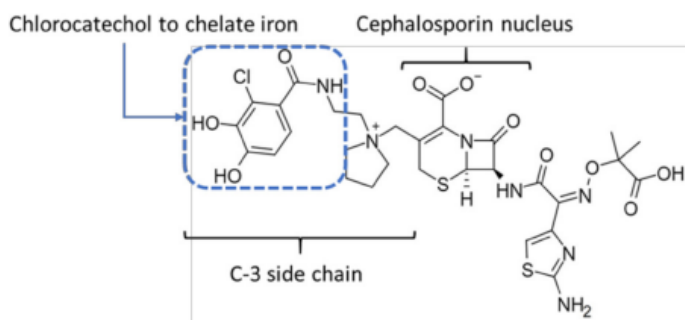


Figure 1 Structure–activity relationships for cefiderocol.

batch: K48743810713) were used for the forced degradation. Cefiderocol (Fetcroja) 1 g, powder for injection, for intravenous use (Shionogi; batch: FEFR0120), NS 250 mL glass vial (Chaix et du Marais, Lavoisier, batch: 9F582) and D5W 250 mL glass vial (Chaix et du Marais, Lavoisier, batch: 9F591) were used for preparation of syringes. Water for injection 500 mL (Chaix et du Marais, Lavoisier, batch: 0F564) and Water for chromatography (obtained from a reverse osmosis system) (Millipore Iberica, Madrid, Spain) were used for test solutions and dilution. Toluene-sulfonic acid sodium for synthesis (Merck; batch: S7975925108); sucrose 24% (Algopedol) (PEDCO Pharma; batch: 04220) were used to assess the specificity.

Preparation of test solutions

All manipulations were performed under a biological safety cabinet. As recommended by the summary of product characteristics, cefiderocol should be reconstituted with 10 mL NS or D5W to obtain a 89.3 mg/mL solution of cefiderocol (11.2 mL displacement volume).⁵ For cost reasons, a single vial was reconstituted and then filled with the same solvent to a volume of 16 mL in a polypropylene syringe (Omnifix, B Braun; 20 mL; batch: 20M09C8) to obtain a concentration of 62.5 mg/mL. This allows simulation of a 48 mL syringe at 62.5 mg/mL (real condition) without using three vials.

Chemical stability

HPLC assay

Cefiderocol solutions were analysed by stability-indicating reversed-phase HPLC (RP-HPLC) with photodiode array detection, adapted from a method developed in our laboratory for the determination of ceftazidime/avibactam. The HPLC system consisted of an ELITE LaChrom VWR/Hitachi plus autosampler, a VWR photodiode array (PDA) detector L-2455 and a VWR L-2130 HPLC pump. The column used was LiChrospher 100 RP-18, LiChroCART 125–4, length 12.5 cm and particle size 5 μ m (Analytical Chromatography, Merck). The photodiode array detector evaluates the UV spectrum of the chromatographic column effluent every 0.4 s. The wavelength of the analysis spectrum was between 190 and 400 nm. Data acquisition and peak interpretation was performed with the EZChrome Elite software (VWR, Agilent). The mobile phase consisted of 0.05 mol/L buffer KH_2PO_4 (A) and methanol (B). The pH of the mobile phase was adjusted to pH 3 with orthophosphoric acid. This was a gradient method: the gradient starts with a ratio of 83/17 (A/B), then linearly changes to 70/30 at T7 min and is maintained until T15 min, changes again to 83/17 at T17 min and is maintained until the end of the analysis at T20 min. The flow rate was set at 1.5 mL/min, with an injection volume of 50 μ L. The detection wavelength was set at 260 nm. The

temperature of the injector was set at 5°C and the temperature of the column oven at 30°C.

Validation method

The calibration curve was constructed from the plots of peak area versus concentration obtained from the manufacturer's powder. The linearity of the method was evaluated with five concentrations (25, 37.5, 50, 62.5 and 75 μ g/mL) of cefiderocol, diluted in ultrapure water. For the calibration curves, the homogeneity of the variances was evaluated with a Cochran test whose significance level was set at $p < 0.05$. An analysis of variance (ANOVA) of the linear regression data was performed to assess the significance ($p < 0.05$) of the proposed method. The intra-day repeatability was evaluated as recommended by the International Conference on Harmonisation (ICH) Q2 (R1)¹¹ using three determinations for each concentration at 25, 50 and 75 μ g/mL. For inter-day precision, three determinations for each concentration at 25, 50 and 75 μ g/mL of cefiderocol solutions were assayed daily on three different days.

Forced degradation and specificity

The stability-indicating capability was evaluated by analysing forced degraded cefiderocol solutions. The aim of this forced degradation was to obtain degradation products with retention times different from those of cefiderocol. The objective was to obtain a degradation close to 20% of our molecule of interest.¹² Conditions for the degradation of cefiderocol were as follows:

- ▶ Acidic condition: 1 mL of a 200 μ g/mL cefiderocol solution was diluted with 1 mL HCl 1 M, stored at room temperature for 15 hours, neutralised by 1 mL NaOH 1 M and diluted with 1 mL ultrapure water to obtain a theoretical concentration of 50 μ g/mL.
- ▶ Alkaline condition: 1 mL of a 200 μ g/mL cefiderocol solution was diluted with 1 mL NaOH 0.01 M, stored at 20–25°C for 5 min, neutralised by 1 mL HCl 0.01 M and diluted with 1 mL ultrapure water to obtain a theoretical concentration of 50 μ g/mL.
- ▶ Oxidative degradation: 1 mL of a 200 μ g/mL cefiderocol solution was diluted with H_2O_2 0.3% 1 mL, stored at 35°C for 1 hour and diluted with 2 mL ultrapure water to obtain a theoretical concentration of 200 μ g/mL.
- ▶ Heat degradation: a solution of 50 μ g/mL of cefiderocol was exposed to a temperature of 80°C for 2 hours. The solution was analysed directly without dilution.
- ▶ Photolytic degradation: a 50 μ g/mL cefiderocol solution was exposed to a UV source of 254 nm for 30 min. The solution was analysed directly without dilution.

The specificity of our method was evaluated with the analysis of NS, D5W and water for injection solutions. A 100 μ g/mL solution of 5-hydroxymethylfurfural, the main degradation product of dextrose, was also analysed as it has a maximum absorbance of 284 nm. A solution of sodium tosylate at 100 μ g/mL and sucrose was also analysed, as this is the main excipient found in the manufacturer's powder.⁵

Physical stability

Physical stability was defined as the absence of particulate formation, haze, colour change and gas evolution. The samples were visually inspected against a white/black background with unaided eye at each analysis time. The subvisual aspect was assessed by using a UV spectrophotometer (Safas Monaco UV m²). The absorbance was measured at 350, 410 and 550 nm as recommended by the guidelines of the European consensus

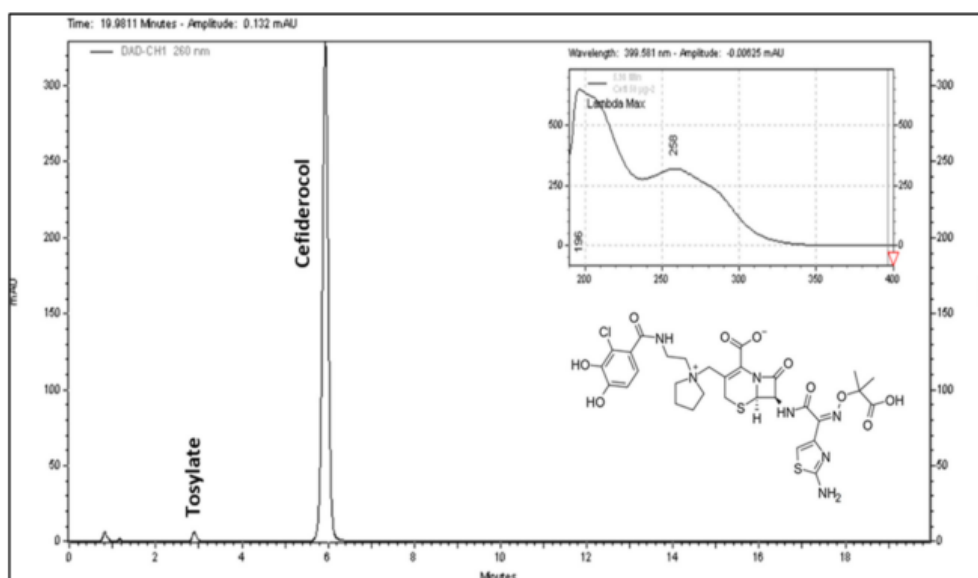


Figure 2 Chromatogram of cefiderocol after reconstitution and UV spectrum.

conference.¹³ Physical stability was also assessed by performing a particulate contamination test (Particle counter; PAMAS SVSS) at the beginning and end of the study. According to the criteria of the European Pharmacopoeia, preparations of a volume <100 mL comply with the particulate contamination test if the number of particles measured does not exceed 6000 particles of $\geq 10 \mu\text{m}$ per container and 600 particles of $\geq 25 \mu\text{m}$ per container.¹⁴ These criteria are used for polypropylene syringes which have a volume less than 100 mL.

Study design

Stability was monitored according to the French Society of Clinical Pharmacy (SFPC), the Group of Evaluation and Research for Protection in Areas Under Control (GERPAC) recommendations and ICH guidelines.^{11 12} The stability of cefiderocol was determined at four time points: after reconstitution (T0 hours) and then at T12, T24 and T48 hours. According to these recommendations, for each storage condition three preparations were produced (ie, six syringes: three diluted in NS and three diluted in D5W), stored at 20–25°C, exposed to light. Six other syringes were prepared under the same conditions (three syringes diluted with NS and three with D5W), stored at 20–25°C but protected from light. The concentrations were expressed as a percentage of the initial concentration of the preparation. At each analysis time for each preparation, the chemical stability was determined by our analytical method; all samples were analysed in triplicate. For HPLC analysis, 200 μL of the polypropylene syringe solution (62.5 mg/mL) was diluted with ultrapure water in a volumetric flask (final volume 200 mL) to obtain a theoretical concentration of 62.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ cefiderocol. At each analysis time, a visual and subvisual inspection (UV spectrophotometry) was carried out, as well as a pH measurement with a pH meter (Bioblock Scientific model 93313). The particle count was carried out with an additional polypropylene syringe after the chemical stability period had been defined, for cost reasons and volume required to perform the examination.

Solutions were considered stable if the concentration of cefiderocol remained above 90% of the initial concentration. The maximum pH variation accepted during the study was 1 pH unit. No physical instability should be detectable either visually or subvisually (UV spectrophotometry and particle counting).

RESULTS

HPLC assay

The retention time for cefiderocol was 5.95 min (figure 2). The UV spectrum of cefiderocol is shown in figure 2, which has an absorbance maximum at 195 and 260 nm.

The results of the calibration study highlight the homogeneity of the variance (Cochran's test: $C_{\text{exp}}=0.424 < C_{\text{th}(5\%; 3; 5)}=0.684$). Linearity was demonstrated for cefiderocol with an R^2 of >0.9999. ANOVA (non-linearity) demonstrated the good fit of a linear model for our method ($F_{\text{exp}}=0.07 < F_{\text{th}(5\%; 3; 10)}=3.71$). All intra-day and inter-day precisions were less than 2%.

The set of forced degradations performed is shown in figure 3 and table 1; a total of 20 degradation products were detected. Only degradation products nos 2 and 13 were found whatever the degradation mode. We were able to degrade cefiderocol between 12% with acid degradation and up to 44% with photolytic degradation. For alkaline, oxidative and photolytic degradation, a cefiderocol degradation product has the same retention time as tosylate, with an increase in its surface area compared with an immediately reconstituted solution. Only degradation product no 11 on acid degradation showed co-elution (imperfect resolution, with an $R_s < 1.5$) with the cefiderocol peak (figure 2A). The mass balance for alkaline, heat and photolytic degradation showed a significant decrease in mass compared with a solution after reconstitution. Conversely, the mass balance was higher for oxidative degradation.

In terms of specificity, the peaks detected were 5-hydroxymethylfurfural, tosylate (figure 2) and sucrose, which had a retention time of 1.8, 2.9 and 0.9 min, respectively, with our method.

Chemical stability

The remaining percentage of the initial concentration of cefiderocol with our analytical method is shown in table 2. In polypropylene syringes, cefiderocol retains more than 90% of its initial concentration after 12 hours of storage in NS and D5W. After 24 hours all syringes except one (syringe diluted in NS exposed to light, remaining concentration: 89.9%) retained more than 90% of the initial concentration. After 48 hours, no solution

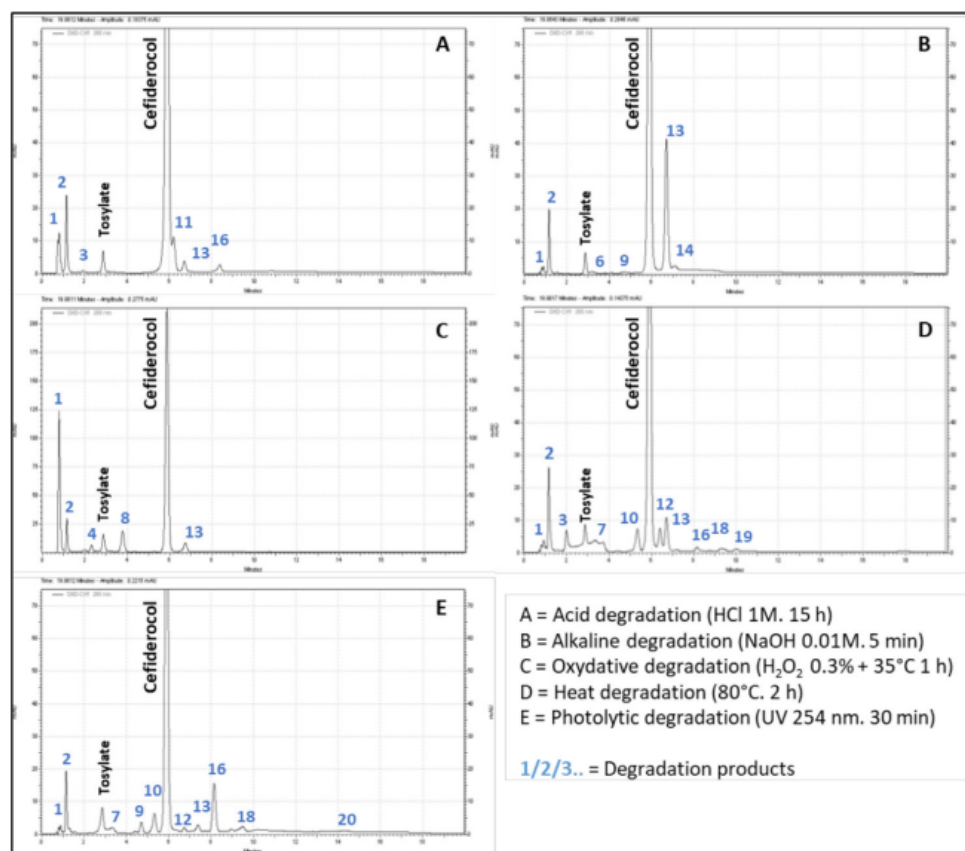


Figure 3 Chromatograms of cefiderocol after various forced degradations.

retained more than 90% of the initial concentration regardless of the solvent or light exposure (82.9–89.4%).

Regarding pH measurements, after 12 hours the maximum variation observed was 0.03 units and the maximum variation observed during the stability study was at 48 hours with a variation of 0.1 unit (5.22–5.32) for a syringe diluted with D5W exposed to light.

Physical stability

After reconstitution and preparation of the polypropylene syringes the solutions were clear and colourless. Throughout the study no physical changes were detected, either the formation of gas or precipitate, or the detection of a colour change.

The subvisual analysis by UV spectrophotometry is shown in table 3. This analysis shows no change in absorbance at 350 nm or at 550 nm. At 410 nm the absorbance increases over time, with a greater increase observed after 48 hours for the light-exposed syringes, but at 12 hours there were no observable differences between the syringes according to their light exposure.

Particle counting was performed on a syringe of cefiderocol diluted in NS and D5W exposed to light with analysis at T0 and T12 hours. This average count is related to the initial syringe volume of 48 mL. For the syringe diluted in NS, 352 particles $\geq 10\mu\text{m}$ and 16 particles $\geq 25\mu\text{m}$ were counted on average after reconstitution. After 12 hours, 896 particles $\geq 10\mu\text{m}$ and 48 particles $\geq 25\mu\text{m}$ had been counted. For the syringe diluted in D5W, 256 particles $\geq 10\mu\text{m}$ and 32 particles $\geq 25\mu\text{m}$ were counted on average after reconstitution. After 12 hours, 1312 particles $\geq 10\mu\text{m}$ and 16 particles $\geq 25\mu\text{m}$ had been counted. The particle count was in accordance with the standards set by the European Pharmacopoeia.

DISCUSSION

Our results show that the methods developed were reliable and adequate for the assessment of the physicochemical stability of cefiderocol based on selectivity, linearity, sensitivity, precision and accuracy. To the best of our knowledge, this study is the first to have developed and validated a stability indication method for assessing the chemical stability of cefiderocol. During our study only peak no 2 was detected; peak no 11 was not detected.

The subvisual analysis is intended to verify the absence of particle formation. It was confirmed by particle counter analysis and by measuring the absorbance at 550 nm. The relative increase in absorbance at 410 nm may be due to the presence of a degradation product, but spectrum analysis of degradation product no 2 does not reveal absorption at this wavelength. This may be because our method does not detect a possible degradation product as the mass balance performed during forced degradation reveals a loss of mass for alkaline, heat and photolytic degradation. This may be due to the loss of chromophore grouping during the degradation of cefiderocol. Conversely, the mass balance was increased with oxidative degradation, since the H_2O_2 used for degradation absorbs (degradation product no 1) with this method.

This was the first stability study carried out on cefiderocol. We show that the solvents used (NS or D5W) had no influence on the stability. Exposure to light also had no influence on stability, although exposure to UV light for a short time (30 min) during forced degradation degraded about 50% of the cefiderocol present in solution.

We cannot compare this stability time with other studies on cefiderocol, but we can compare it with two cephalosporins which share a very similar chemical structure: ceftazidime and

Table 1 Mass balance of cefiderocol solutions after reconstitution and after various methods of forced degradation

Peak number	Retention time (min)	Relative retention	Area					
			Without stress degradation	Acid degradation	Alkaline degradation	Oxydative degradation	Heat degradation	Photolytic degradation
				HCl 1M 15 hours	NaOH 0.01M 5 min	H ₂ O ₂ 0.3% + 35°C 1 hour	80°C 2 hours	UV 254 nm 30 min
Cefiderocol	5.95	1	11 856 019	10 384 121	8 729 280	8 211 948	7 728 212	6 633 355
1	0.9	0.15	30 878	396 754	18 640	2 838 219	41 622	21 247
2	1.2	0.20	–	477 758	372 703	524 182	534 352	311 060
3	2.0	0.34	–	17 283	–	47 454	198 375	–
4	2.3	0.39	–	–	–	150 684	–	–
Tosylate	2.9	0.49	174 445	178 742	189 987	471 047	179 972	350 975
6	3.2	0.54	–	–	41 266	–	–	–
7	3.4	0.57	–	–	–	–	52 270	138 770
8	3.8	0.64	–	–	–	713 425	–	–
9	4.7	0.80	–	–	24 114	–	–	115 212
10	5.4	0.90	–	–	–	16 340	323 151	261 029
11	6.2	1.05	–	459 768	–	–	–	–
12	6.4	1.08	–	–	–	–	296 998	30 955
13	6.8	1.14	–	155 641	1 639 206	394 453	440 497	64 950
14	7.1	1.20	–	–	80 540	19 011	–	–
15	7.5	1.25	–	–	–	–	–	118 089
16	8.2	1.38	–	105 253	–	13 336	47 174	611 008
17	9.0	1.51	–	–	–	–	–	30 043
18	9.5	1.60	–	–	–	–	57 924	100 717
19	10.0	1.69	–	–	–	–	47 122	–
20	14.3	2.41	–	–	–	–	–	33 340
Total mass balance			12 061 342	12 175 320	11 095 736	13 400 099	9 947 669	8 820 750
% degradation cefiderocol				12%	26%	31%	35%	44%

cefepime.¹⁵ Arsene *et al* were able to demonstrate a 20-hour stability at 20°C for solutions of ceftazidime diluted in NS or D5W at 40 mg/mL in polypropylene bags.¹⁶ Nahata *et al* demonstrated 24-hour syringe stability for ceftazidime diluted in water for injection at 100 mg/mL and stored at 22°C.¹⁷ For cefepime, Stewart *et al* showed 48-hour stability at 20°C for solutions of ceftazidime diluted in NS or D5W at 200 mg/mL in polypropylene syringes and stored at 20–22°C.¹⁸ Curti *et al* reported a stability in polypropylene syringes of 10 hours for solutions diluted in NS at 120 mg/mL and stored

at 25°C.¹⁹ Although it is difficult to compare stability times with different molecules, our study found similar results (with similar concentrations, temperatures and containers) for antibiotics belonging to the same cephalosporin family. In view of the results of the chemical stability (HPLC), all points are >90% of the initial concentration except for one syringe at 24 hours (89.94±1.28%). As a precaution, we will suggest 12 hours of stability, but the degradation kinetics allow time to be added for possible preparation in a centralised unit and immediate transport to the patient.

Table 2 Chemical stability of cefiderocol diluted in 0.9% sodium chloride (NS) or in dextrose 5% in water (D5W)

Concentration (mg/mL)	Solvent	Light exposure	Syringe	Concentration at T0 hours (mg/mL)	Time: % of initial concentration of cefiderocol (mean±SD)*			
					T0 hours	T12 hours	T24 hours	T48 hours
62.5	NS	No	S1	61.3	100%±1.11%	95.43%±0.60%	92.80%±0.66%	85.56%±1.43%
			S2	61.1	100%±0.36%	95.52%±0.90%	93.28%±0.13%	86.04%±0.60%
			S3	60.7	100%±0.18%	96.71%±0.17%	94.82%±0.16%	89.37%±0.12%
62.5	D5W	No	S1	60.4	100%±0.27%	97.28%±0.17%	93.49%±0.13%	87.39%±0.10%
			S2	61.5	100%±0.40%	95.09%±0.16%	91.79%±0.15%	87.41%±0.18%
			S3	60.4	100%±0.19%	97.10%±0.12%	92.51%±0.18%	87.87%±1.28%
62.5	NS	Yes	S1	62.2	100%±0.30%	93.15%±0.97%	89.94%±1.28%	82.93%±1.69%
			S2	61.9	100%±0.31%	93.16%±1.83%	91.84%±0.39%	87.16%±1.31%
			S3	60.5	100%±0.20%	96.25%±0.13%	93.00%±0.03%	86.98%±0.32%
62.5	D5W	Yes	S1	61.0	100%±0.13%	96.15%±0.17%	92.86%±0.06%	85.36%±0.13%
			S2	59.1	100%±0.08%	97.87%±0.01%	94.41%±0.11%	88.91%±0.09%
			S3	59.7	100%±0.13%	98.02%±0.37%	94.82%±0.01%	87.05%±0.06%

*Samples tested in triplicate at all time points. D5W, dextrose 5% in water; NS, normal saline;

Table 3 Absorbance values for cefiderocol solutions during the stability study

		Mean±SD absorbance values*			
		T0 hours	T12 hours	T24 hours	T48 hours
350 nm					
NS	S	2.442±0.052	2.471±0.014	2.265±0.179	2.455±0.019
D5W	S	2.425±0.025	2.458±0.029	2.438±0.040	2.467±0.036
NS	S lu	2.451±0.030	2.450±0.036	2.474±0.016	2.453±0.043
D5W	S lu	2.438±0.039	2.457±0.031	2.435±0.046	2.461±0.050
410 nm					
NS	S	0.063±0.002	0.080±0.002	0.096±0.001	0.135±0.002
D5W	S	0.067±0.002	0.082±0.002	0.103±0.002	0.143±0.002
NS	S lu	0.059±0.003	0.080±0.004	0.110±0.001	0.194±0.005
D5W	S lu	0.064±0.001	0.087±0.002	0.117±0.005	0.203±0.004
550 nm					
NS	S	0.002±0.002	0.004±0.002	0.002±0.000	0.003±0.000
D5W	S	0.002±0.001	0.002±0.000	0.003±0.001	0.004±0.001
NS	S lu	0.001±0.001	0.002±0.001	0.003±0.000	0.006±0.003
D5W	S lu	0.002±0.000	0.001±0.001	0.004±0.000	0.002±0.001

*Samples tested in triplicate at all time points.

D5W, dextrose 5% in water; NS, normal saline; S lu, syringes exposed to light.

CONCLUSION

In polypropylene syringes, cefiderocol 62.5 mg/mL (3 g in 48 mL) diluted in NS or D5W was stable for 12 hours at room temperature. Exposure to light had no influence on the physicochemical stability. These new data allow the use of cefiderocol in a continuous infusion for patients in ICUs.

What this paper adds

What is already known on this subject

- ▶ Cefiderocol is a new siderophore time-dependent antibiotic of last resort.
- ▶ The manufacturer reports a stability of 6 hours for the infusion solution.
- ▶ Optimising its effectiveness by continuous infusion is therefore crucial.

What this study adds

- ▶ This is the first stability study on cefiderocol.
- ▶ In polypropylene syringes, cefiderocol 62.5 mg/mL is stable for 12 hours at room temperature.
- ▶ Exposure to light or the choice of diluent (sodium chloride or dextrose 5% in water) has no influence on the physicochemical stability.

Acknowledgements The authors thank Jacques Kuhné for reading through the manuscript and making corrections, and Franck Blaise, Nathalie Sobalak and Hubert Zenier for their technical assistance and their help during this study.

Funding The authors have not declared a specific grant for this research from any funding agency in the public, commercial or not-for-profit sectors.

Competing interests None declared.

Patient consent for publication Not required.

Provenance and peer review Not commissioned; externally peer reviewed.

Data availability statement All data relevant to the study are included in the article or uploaded as supplementary information.

REFERENCES

- 1 Fetroja®. *European Medicines Agency*, 2020. <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/fetroja>
- 2 Bassetti M, Echols R, Matsunaga Y, *et al.* Efficacy and safety of cefiderocol or best available therapy for the treatment of serious infections caused by carbapenem-resistant gram-negative bacteria (CREDIBLE-CR): a randomised, open-label, multicentre, pathogen-focused, descriptive, phase 3 trial. *Lancet Infect Dis* 2021;21:226–40.
- 3 Poirel L, Kieffer N, Nordmann P. Stability of cefiderocol against clinically significant broad-spectrum oxacillinases. *Int J Antimicrob Agents* 2018;52:866–7.
- 4 Ito-Horiyama T, Ishii Y, Ito A, *et al.* Stability of novel siderophore cephalosporin S-649266 against clinically relevant carbapenemases. *Antimicrob Agents Chemother* 2016;60:4384–6.
- 5 Fetroja® 1 g powder - Summary of Product Characteristics (SmPC) - (EMC). Available: <https://www.medicines.org.uk/emc/product/11771#gref>
- 6 Yunos NM, Bellomo R, Hegarty C, *et al.* Association between a chloride-liberal vs chloride-restrictive intravenous fluid administration strategy and kidney injury in critically ill adults. *JAMA* 2012;308:1566–72.
- 7 Hjortrup PB, Haase N, Bundgaard H, *et al.* Restricting volumes of resuscitation fluid in adults with septic shock after initial management: the classic randomised, parallel-group, multicentre feasibility trial. *Intensive Care Med* 2016;42:1695–705.
- 8 Myles PS, Bellomo R, Corcoran T, *et al.* Restrictive versus liberal fluid therapy for major abdominal surgery. *N Engl J Med* 2018;378:2263–74.
- 9 Craig WA, Ebert SC. Continuous infusion of beta-lactam antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother* 1992;36:2577–83.
- 10 Roberts JA, Abdul-Aziz M-H, Davis JS, *et al.* Continuous versus intermittent β -lactam infusion in severe sepsis. A meta-analysis of individual patient data from randomized trials. *Am J Respir Crit Care Med* 2016;194:681–91.
- 11 International Conference on Harmonisation. Validation of analytical procedures: text and methodology Q2 (R1). guideline 2005. Available: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q2_R1/Step4/Q2_R1_Guideline.pdf
- 12 SFPC (French Society of Clinical Pharmacy), GERPAC (Evaluation and Research Group on Protection in Controlled Atmosphere). Methodological guidelines for stability studies of hospital pharmaceutical preparations. Part I: Liquid preparations. Available: http://www.gerpac.eu/IMG/pdf/guide_stabilite_anglais.pdf
- 13 Bardin C, Astier A, Vulto A, *et al.* Guidelines for the practical stability studies of anticancer drugs: a European consensus conference. *Ann Pharm Fr* 2011;69:221–31.
- 14 Council of Europe, European Directorate for the Quality of Medicines and Healthcare (EDQM). 2.9.19: Particulate contamination: sub-visible particles. In: *European Pharmacopoeia*. 10th ed. Strasbourg, France: EDQM, 2019: 360–2.
- 15 Wu JY, Srinivas P, Pogue JM. Cefiderocol: a novel agent for the management of multidrug-resistant gram-negative organisms. *Infect Dis Ther* 2020;9:17–40.
- 16 Arsène M, Favetta P, Favier B, *et al.* Comparison of ceftazidime degradation in glass bottles and plastic bags under various conditions. *J Clin Pharm Ther* 2002;27:205–9.
- 17 Nahata MC, Morosco RS, Fox JL. Stability of ceftazidime (with arginine) stored in plastic syringes at three temperatures. *Am J Hosp Pharm* 1992;49:2954–6.
- 18 Stewart JT, Maddox FC, Warren FW. Stability of cefepime hydrochloride in polypropylene syringes. *Am J Health Syst Pharm* 1999;56:1134.
- 19 Curti C, Souab HK, Lamy E, *et al.* Stability studies of antipocyanic beta-lactam antibiotics used in continuous infusion. *Pharmazie* 2019;74:357–62.

VI. Témocilline

Une communication affichée intitulée « Stabilité physico-chimique de la Témocilline à 25 mg/mL en diffuseur portable à 37°C pour une administration continue à domicile » a été présentée 16^{èmes} Rencontres Convergences Santé Hôpital (CSH), (septembre 2021) (Annexes 13 et 14).

VI.1 Introduction

La témocilline est disponible en flacon pour poudre pour usage parentéral de 1 g ou de 2 g sous forme de témocilline disodique (NEGABAN®) (Figure 29). Le flacon ne contient pas d'excipient. La témocilline s'administre en bolus, en perfusion intraveineuse diluée dans du NaCl 0,9% ou du G5% ou en perfusion continue. La témocilline se présente sous forme de 2 stéréo-isomères R et S. Les 2 isomères sont actifs. La proportion est de 68 % R et 32 % S.

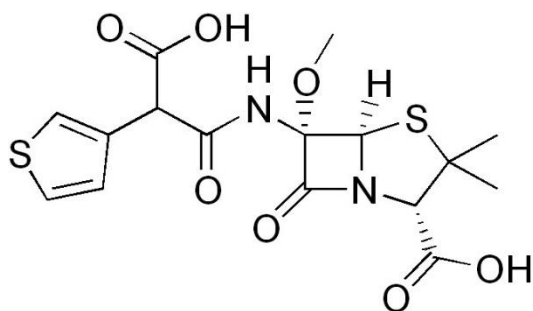


Figure 29 : Structure chimique de la témocilline

La posologie est de 4 grammes par jour en 2 administrations ou, pour les infections sévères, de 6 grammes par jour réparties en 3 administrations ou en perfusion continue après une dose de charge de 2 g (« Negaban 1 g, powder for solution for injection/infusion - Summary of Product Characteristics (SmPC) - (emc) »,). Le flacon doit être reconstitué avec 10 mL ou 20 mL d'eau ppi ou de NaCl 0,9%. Dans le cadre d'une administration en perfusion, la reconstitution peut s'effectuer directement avec la solution de perfusion (NaCl 0,9% ou G5%)(« Negaban 1 g, powder for solution for injection/infusion - Summary of Product Characteristics (SmPC) - (emc) »,).

Le laboratoire indique une stabilité de 24 heures à 25°C pour les solutions utilisées pour la perfusion continue à une concentration de 125 mg/mL en seringue avec pour solvant : l'EPPI, le NaCl 0,9%, G5% et le ringer lactate. Aucune information de stabilité en diffuseur portable et

à plus haute température n'est indiquée (« Negaban 1 g, powder for solution for injection/infusion - Summary of Product Characteristics (SmPC) - (emc) »,).

Une étude indique une stabilité de 28 jours pour les diffuseurs portables à 10 et 20 mg/mL dans l'eau ppi mais avec une conservation à 4°C (Carryn, Couwenbergh et Tulkens, 2010). Un résumé de poster de la même équipe indique une stabilité dans l'eau ppi à 37°C mais sans précision du contenant et de la concentration et la méthode analytique n'est pas indiquée (Claeysoone, Basma, Hens, *et al.*, 2005).

Une autre étude démontre une stabilité de 30 jours à -20°C en poches polyoléfine (Rolin, Hecq, Tulkens, *et al.*, 2011). Craig Dyar *et al* ont réalisé une étude de l'influence du pH et de la température sur la stabilité et démontré une stabilité de 1,8 jours à 30°C à pH 6,5-7. Ces conditions théoriques, si elles laissent présager la faisabilité de la préparation en diffuseur sont toutefois loin des solutions préparées pour les patients (Dyar et Notari, 1998).

VI.2 Objectifs

Le but de ce travail est d'étudier la stabilité physico-chimique de la témocilline diluée dans du NaCl 0,9% ou du G5% en diffuseur élastomérique pendant 48 heures à 25 mg/mL soit 3 g dans 120 mL et conservée à 37 °C à l'abri de la lumière pour simuler l'administration en perfusion continue à domicile pendant 48 heures.

VI.3 Matériels et méthodes

VI.3.1 Produits chimiques et réactifs

Dihydrogéoorthophosphate de sodium monohydraté (Emsure ; lot : AM10075721), Méthanol-isocratique CLHP (Carlo Erba ; lot : V0B717040C) et NaOH 1M (VWR ; lot : 190423C004) ont été utilisés pour la phase mobile. HCl 1 M (VWR ; lot : 190423C004), H₂O₂ 30% (Emsure ; lot : K48743810713) ont été utilisés pour la dégradation forcée. NEGABAN® 1g (Eumedica ; lot : 190403C001), NEGABAN® 2g (Eumedica ; lot : 190403C004), Glucose, G5% 100 mL poche polyoléfine Easyflex+ (Macopharma ; lot : 20D20D), Chlorure de sodium 0,9% 100 mL poche polyoléfine Easyflex+ (Macopharma ; lot : 20C05C).

VI.3.2 Préparation des solutions et dilution pour analyse

Nous avons préparé 3 diffuseurs à 3 grammes de témocilline dans 120 mL (25 mg/mL) de NaCl 0,9% et 3 autres diffuseurs à la même concentration dans du G5%. Pour l'analyse par

CLHP, 300 µL de l'échantillon sont dilués dans une fiole de 50 mL (avec de l'eau ultrapure) afin d'obtenir une concentration théorique de 150 µg/mL.

VI.3.3 Méthode CLHP

Les solutions de témocilline sont analysées par une méthode de chromatographie liquide haute performance en phase inverse indicatrice de stabilité, adaptée de la méthode de Burton *et al* (Burton, Dobson et Everett, 1986). La phase stationnaire utilisée était une colonne C18 LiChrospher® 100 RP-18, LiChroCART® de 12,5 cm de long, 4,6 mm de diamètre et contenant des particules de silice de 5 µm (Analytical Chromatography, Merck). La phase mobile était constituée d'un tampon phosphate : KH_2PO_4 0,1 M ajusté à pH = 7,0 avec de l'hydroxyde de sodium 1M, l'élution est isocratique : tampon phosphate / méthanol 93/7 (v/v). Le débit était de 1 mL/min et le volume d'injection de 20 µL. La détection a été réalisée à une longueur d'onde de 230 nm. La température de l'injecteur automatique est fixée à 5°C et la température de la colonne à 30 °C.

La linéarité a été évaluée avec cinq concentrations (50, 100, 150, 200 et 250 µg/mL) de témocilline diluée dans de l'eau pour préparation injectable. Cette gamme étalon a été réalisée trois fois pour déterminer la linéarité et obtenir une équation de la courbe d'étalonnage moyenne. La répétabilité a été évaluée, comme recommandé par la Conférence Internationale d'Harmonisation (ICH) Q2 (R1), sur trois concentrations (50, 150 et 250 µg/mL) (n=3) (« ICH Validation of Analytical Procedures Q 2 (R1) Guidelines 2005 », 2006). La fidélité intermédiaire a été évaluée en réalisant la répétabilité trois fois. La stabilité d'une solution de témocilline à 150 µg/mL dans l'auto-sampler a été évaluée sur une période de 8 heures.

Le caractère indicateur de stabilité de la méthode a été évalué en réalisant des dégradations forcées de solutions de témocilline.

- En condition acide, 1 mL d'une solution de témocilline à 600 µg/mL a été mélangé à 1 mL d'HCl 0,1 M pendant 45 minutes. L'acide a été neutralisé avec 1 mL de NaOH 0,1M et 1 mL d'eau UP a été ajouté pour obtenir une concentration théorique de 150 µg/mL.
- En condition alcaline, 1 mL d'une solution de témocilline à 600 µg/mL a été mélangé à 1 mL de NaOH à 0,1 M pendant 5 minutes, puis neutralisé avec 1 mL d'HCl 0,1M, et 1 mL d'eau UP était ajouté pour obtenir une concentration théorique de 150 µg/mL.

- En condition oxydative, une solution de témocilline à 600 µg/mL a été mélangée avec 0,5 mL d'une solution d'H₂O₂ à 0,3% puis chauffée pendant 45 minutes ; 2,5 mL d'eau UP ont été ajoutés pour obtenir une concentration théorique de 150 µg/mL.
- En condition photolytique, une solution de témocilline à 150 µg/mL a été exposée pendant 45 minutes en dessous d'une lampe UV (Vilbert Lourmat®) à 254 nm.
- La dégradation thermique a été réalisée avec une solution de 150 µg/mL de témocilline exposée à une température de 70°C pendant 2 heures.

La spécificité de notre méthode a été évaluée par l'analyse de solutions de NaCl 0,9% et de glucose 5%. Une solution de 100 µg/mL de 5-HMF, principal produit de dégradation du glucose, a également été analysée car elle a une absorbance maximale de 284 nm.

VI.3.4 Mesure du pH

Les mesures de pH ont été réalisées avec un pHmètre Bioblock Scientific. Une mesure de pH est réalisée à chaque temps d'analyse, T0, T24 et T48 heures sur chaque seringue. La limite d'acceptabilité a été fixée à ± 1 unité de pH, en comparaison avec le pH mesuré juste après la préparation de la seringue.

VI.3.5 Stabilité physique

La stabilité physique a été évaluée par un examen visuel (recherche de la formation d'un précipité et de gaz, ou d'un changement de couleur) et un examen subvisuel, en mesurant la turbidimétrie des solutions à l'aide d'un spectrophotomètre UV à trois longueurs d'onde (350,410 et 550 nm), comme recommandé par la conférence de consensus européenne à chaque temps d'analyse (Bardin, Astier, Vulto, *et al.*, 2011).

VI.3.6 Etude complémentaire seringue

Une étude de stabilité complémentaire en seringue a été effectuée, en reprenant les données de stabilité annoncées par le laboratoire, soit la réalisation de seringues de témocilline à 125 mg/mL dans du NaCl 0,9% et du G5%, exposées à la lumière et conservées à 25°C. Trois seringues (6 g dans 48 mL) dans chaque solvant ont été préparées, analysées avec la même méthode analytique afin de comparer les produits de dégradation observés lors de l'étude avec les diffuseurs élastomériques. Seule la stabilité chimique a été évaluée, aux mêmes temps d'analyses que pour l'étude en diffuseur mais chaque échantillon a été analysé à n=1

vs n=3 pour les diffuseurs. Pour l'analyse par CLHP, 300 µL de l'échantillon sont dilués dans une fiole de 250 mL (avec de l'eau UP) afin d'obtenir une concentration théorique de 150 µg/mL

VI.4 Résultats

VI.4.1 Validation de la méthode analytique

La courbe de calibration de la témocilline est linéaire, le coefficient de corrélation est de 0,9999 avec pour équation de la courbe d'étalonnage moyenne : $y = 91335x - 51305$. La répétabilité exprimée en écart-type relatif était comprise entre [0,05% - 1,72%] à 50 µg/mL, [0,21% - 1,36%] à 150 µg/mL, [0,10% - 1,27%] à 250 µg/mL. La fidélité-intermédiaire exprimée en écart-type relatif était comprise entre [0,91% - 2,02%]. Les tests statistiques pour la validation de la méthode sont présentés en annexe 15.

La stabilité dans le passeur automatique (5°C) a été démontrée avec une variabilité de 0,56% au bout de 2 heures et 2,28% au bout de 6 heures. Un chromatogramme d'une solution de témocilline à 150 µg/mL fraîchement reconstituée est présenté figure 30.

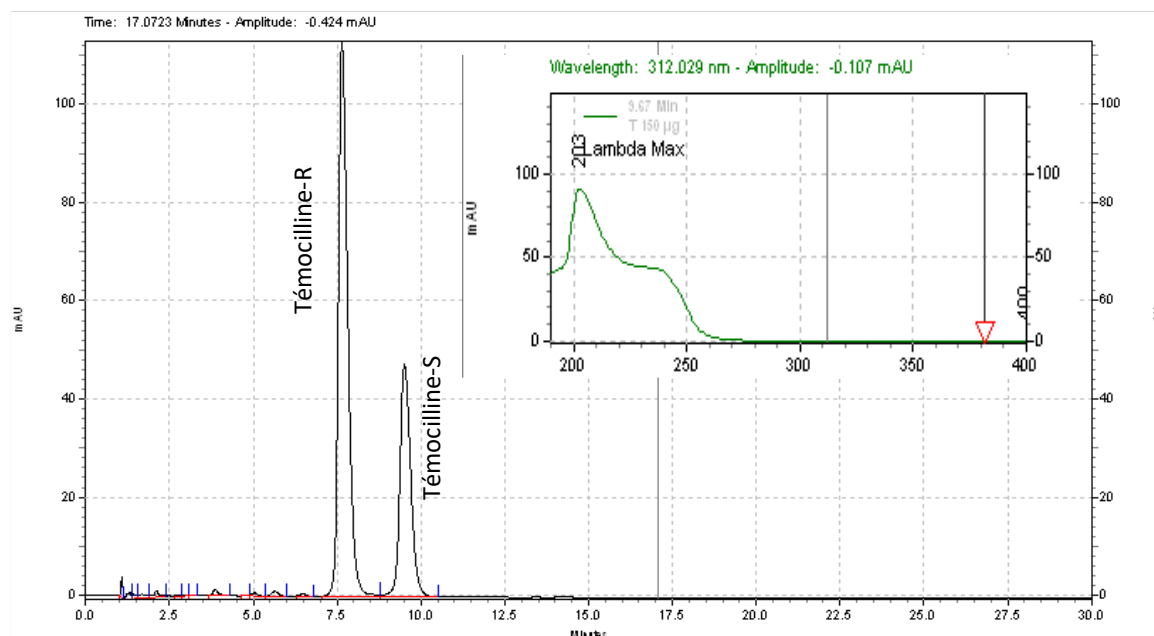


Figure 30 : Chromatogramme d'une solution de témocilline à 150 µg/mL dans du NaCl 0,9% après reconstitution et spectre UV de la témocilline de 190 à 400 nm

La témocilline-R a un temps de rétention de 7,6 minutes et de 9,2 minutes pour la témocilline S. La résolution entre les deux pics d'intérêts est de 3,38.

L'injection de NaCl 0,9% avec notre méthode n'a pu mettre en évidence de pic. A l'inverse, l'injection d'une solution de glucose 5% a mis en évidence trois pics avec un temps de rétention de 1,1 ; 1,9 et 5,2 minutes. L'injection d'une solution de 5-HMF a mis en évidence le même pic avec un temps de rétention de 5,2 minutes.

La capacité indicatrice de notre méthode a été testée en utilisant de nombreuses conditions de dégradation forcée. Les chromatogrammes de dégradation forcée de témocilline sont présentés figure 31.

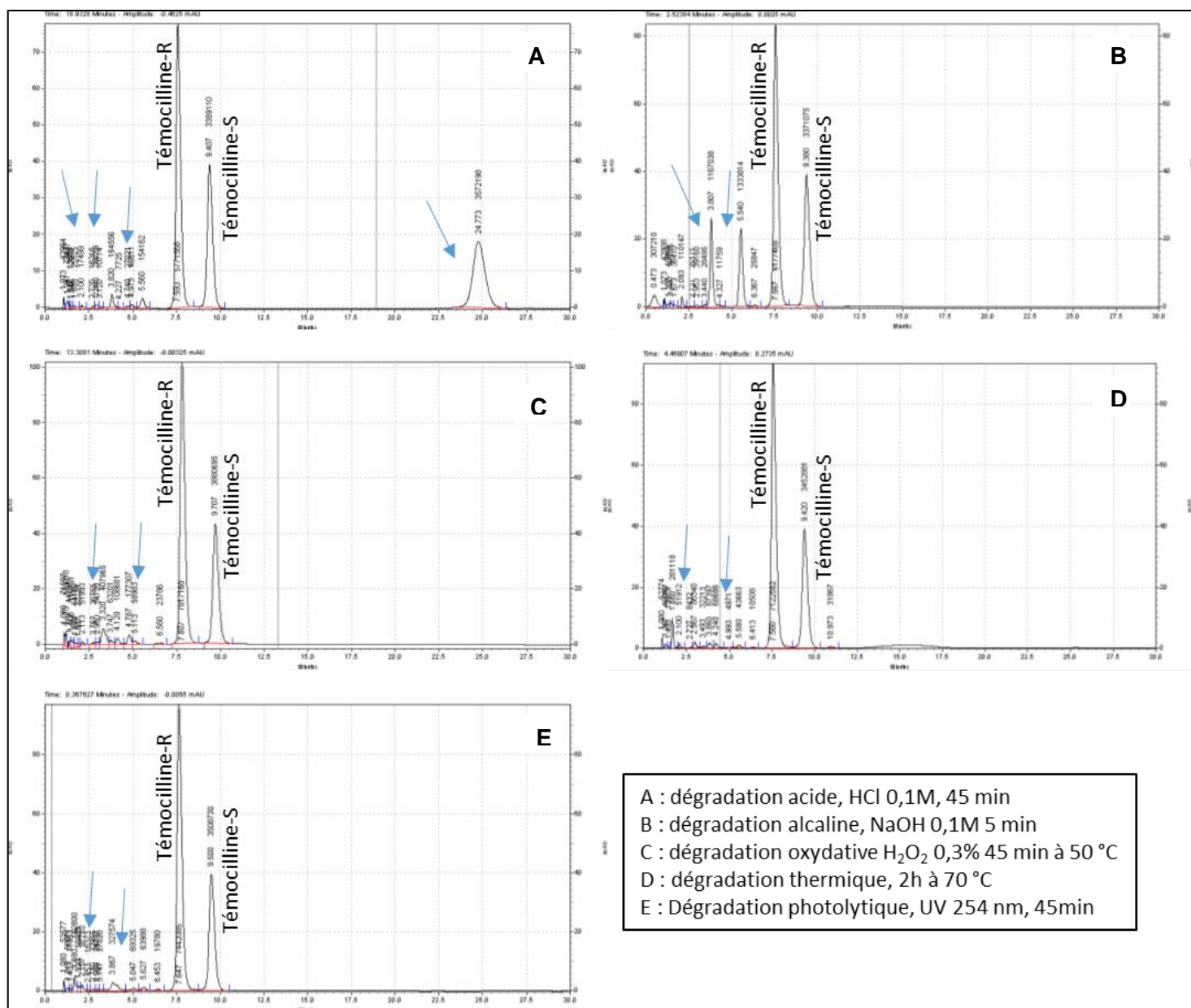


Figure 31 : Chromatogrammes de solutions de tétmocilline (150 µg/mL) en conditions stressantes (thermique, oxydative, acide, alcaline, photolytique) produits de dégradation signalés par des flèches bleues.

Au total, 13 produits de dégradation ont pu être observés pour l'ensemble des méthodes de dégradation forcée. Les principaux pics de dégradation observés sont les pics n°7 et 10 (dégradations acide et alcaline) ainsi que le pic n°3 (dégradation thermique). Le bilan massique et le temps de rétention des produits de dégradation par rapport au pic de tétmocilline non dégradée sont présentés dans le tableau XII. Cinq pics (n°4, 7, 9, 10, 11) sont observés dès la reconstitution de la tétmocilline quel que soit le solvant utilisé et sans réaliser de dégradation.

Tableau XII : Balance massique de solution de témocilline à 150 µg/mL après dégradation forcée

Pics (n°)	Temps de rétention (minutes)	Rétention relative	Sans dégradation forcée	Aire				
				Dégradation acide	Dégradation alcaline	Dégradation oxydative	Dégradation thermique	Dégradation photolytique
				HCl 0,1M 45 min	NaOH 0,1M 5 min	H ₂ O ₂ 0,3% 45 min + 50°C	70°C 2h	UV 254 nm 45 min
Témocilline pic R et S*	7,71	1	12966318	9160678	9548544	11697855	10575463	10950815
1	1,1	0,1	-	42964	42908	110018	52774	-
2	1,3	0,2	-	73437	-	-	-	-
3	1,7	0,2	-	25525	-	116791	281118	192800
4	2,1	0,3	44017	-	110147	-	51912	97782
5	2,9	0,4	-	39759	-	-	86340	-
6	3,3	0,4	-	-	-	407965	-	-
7	3,8	0,5	62119	164556	1167038	-	87397	327574
8	4,1	0,5	-	-	-	108681	-	-
9	5,0	0,6	30413	46611	-	177307	-	69325
10	5,6	0,7	55238	154182	1333814	-	43663	63988
11	6,4	0,8	22780	-	-	-	-	-
12	11,0	1,4	-	-	-	-	31867	-
13	24,8	3,2	-	3572198	-	-	-	-
Bilan massique			13180885	13279910	12202451	12618617	11210534	11702284
% dégradation				29%	26%	10%	18%	15%

(Témocilline pic R et S* = addition des 2 pics actifs, temps de rétention basé sur le pic de témocilline R)

Après l'exposition des solutions de témocilline en conditions stressantes, l'étendue de la dégradation était de 29 % en condition acide, de 26 % en condition alcaline, de 10 % en condition oxydative, de 18 % en condition thermique et de 15 % en condition photolytique.

VI.4.2 Stabilité chimique

L'évolution de la concentration initiale de témocilline en diffuseur élastomérique est présentée dans le tableau XIII. Après 24 h, la concentration de témocilline diluée dans du NaCl 0,9% est supérieure à 90% de la concentration initiale (92,6% en moyenne). A l'inverse, pour les solutions de témocilline diluées dans du G5%, la concentration moyenne au bout de 24 h est de 87,5%. Une dizaine de pics est observée lors de l'étude (Figure 31), ces derniers ont été observés lors de la dégradation forcée. L'étude complémentaire réalisée en seringue permet de retrouver en moyenne après 24 h 95,7% et 94,6% de la concentration initiale de témocilline diluée dans du NaCl 0,9% et du G5%.

Tableau XIII : Evolution de la concentration initiale de témocilline en diffuseur et en seringue, diluée dans du NaCl 0,9% et dans du G5%

C° th (mg/mL)	Solvant	Seringue (S) Diffuseur (D)	C° réelle (mg/mL)	Temps ; % de la concentration initiale de témocilline R et S (moyenne ± CV) ^a		
				T0h	T24h	T48h
25	NaCl 0,9%	D1	21,95	100% ± 2,81%	91,75% ± 0,41%	77,64% ± 0,25%
		D2	21,48	100% ± 2,13%	91,97% ± 1,31%	81,75% ± 0,25%
		D3	22,28	100% ± 0,18%	94,20% ± 1,90%	81,63% ± 0,41%
25	G5%	D1	22,36	100% ± 1,14%	90,02% ± 2,10%	82,26% ± 1,00%
		D2	23,51	100% ± 1,16%	86,26% ± 1,47%	74,15% ± 0,42%
		D3	22,76	100% ± 0,32%	86,12% ± 1,93%	79,89% ± 1,52%
125	NaCl 0,9%	S1	112,52	100% ± -	94,95% ± -	89,11% ± -
		S2	106,84	100% ± -	94,52% ± -	92,09% ± -
		S3	105,83	100% ± -	97,52% ± -	94,56% ± -
125	G5%	S1	107,25	100% ± -	95,28% ± -	93,46% ± -
		S2	108,19	100% ± -	93,88% ± -	91,40% ± -
		S3	107,43	100% ± -	94,49% ± -	92,94% ± -

Les mêmes produits de dégradation sont observés en seringue ou en diffuseur (Figure 32). Les produits de dégradation n° 3, 5 et 8 sont retrouvés en quantité plus importante en diffuseur. Les produits n° 2, 4 et 10 retrouvés à chaque temps d'analyse ne varient pas au cours de l'étude.

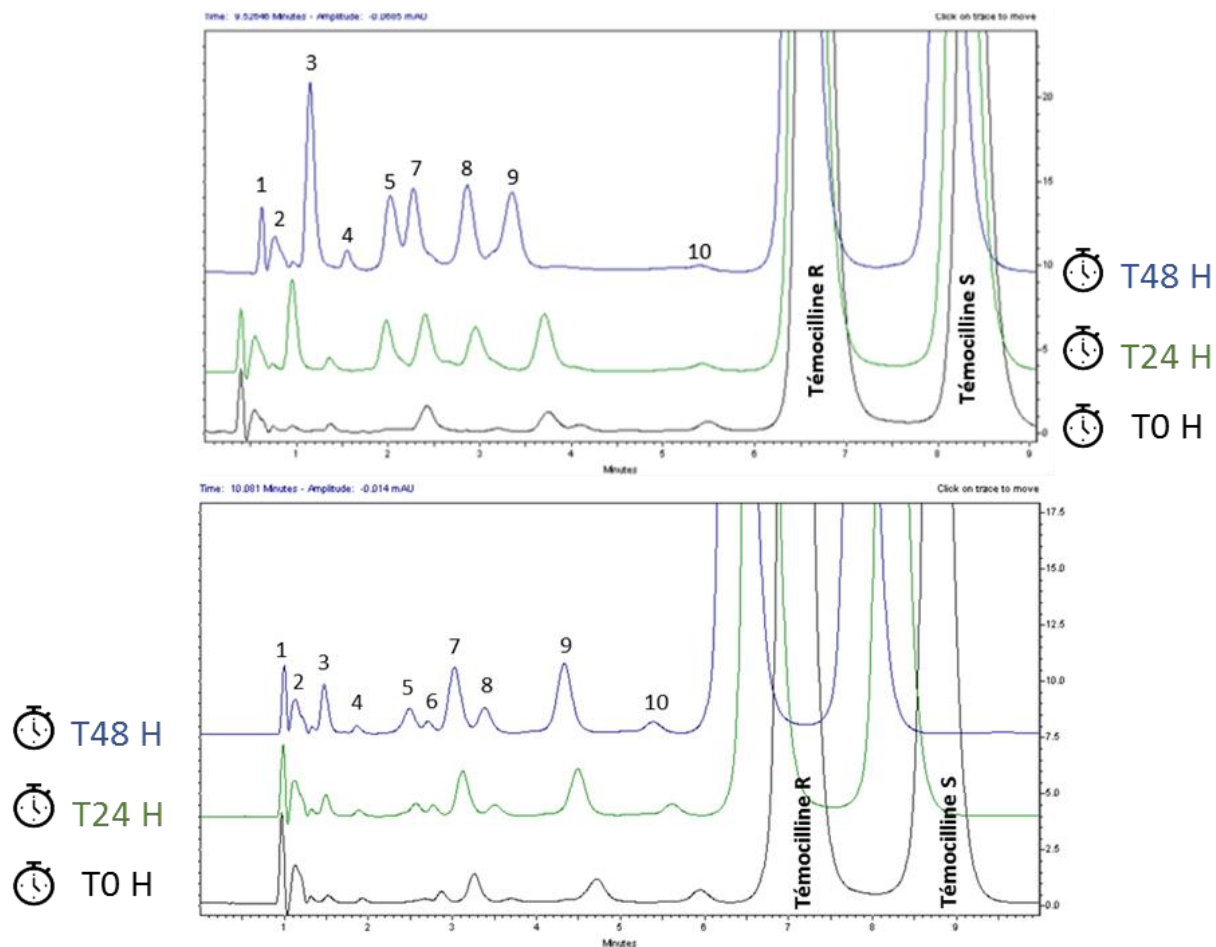


Figure 32 : Chromatogrammes de témocilline obtenus au bout de T0, T24 et T48 h en diffuseur (haut) et en seringue (bas)

Le pH a diminué de 0,55 unité en moyenne pour les solutions de témocilline diluées dans du NaCl 0,9% au bout de 24h. Le pH a diminué de 0,69 unité en moyenne pour les solutions de témocilline diluées dans du G5% au bout de 24h. La variation maximum de pH observée durant l'étude était de 0,78 dans le G5% au bout de 48h (6,98 à 6,20).

VI.4.3 Stabilité physique

L'ensemble des mesures d'absorbance effectuées par le spectrophotomètre est présenté dans le tableau XIV. L'analyse subvisuelle ne révèle aucune modification à 550 nm au cours de l'étude que ce soit pour les solutions diluées dans du NaCl 0,9% ou du G5%. A 350 nm et 410 nm nous observons un accroissement de l'absorbance à 24 et 48 heures.

Tableau XIV : Mesure de l'absorbance des solutions de témocilline en diffuseur au cours de l'étude de stabilité

	Valeurs moyennes des absorbances \pm écart-type					
	0 h		24 h		48 h	
350 nm						
NaCl 0,9%	0,46	\pm 0,02	1,25	\pm 0,04	2,01	\pm 0,02
G5%	0,43	\pm 0,03	1,02	\pm 0,06	1,48	\pm 0,05
410 nm						
NaCl 0,9%	0,09	\pm 0,05	0,25	\pm 0,03	0,42	\pm 0,01
G5%	0,09	\pm 0,01	0,23	\pm 0,02	0,31	\pm 0,01
550 nm						
NaCl 0,9%	0,01	\pm 0,00	0,01	\pm 0,00	0,01	\pm 0,00
G5%	0,01	\pm 0,00	0,01	\pm 0,00	0,07	\pm 0,00

Aucune formation de précipité ou de gaz n'a été observée au cours de l'étude. Au bout de 24 heures, un léger jaunissement a été observé pour les solutions de témocilline quel que soit le solvant. Au bout de 48 heures, ce jaunissement s'est accentué (figure 33).

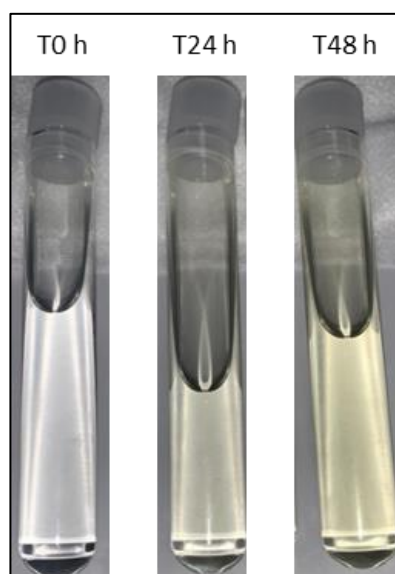


Figure 33 : Solution de témocilline en diffuseur diluée dans du NaCl 0,9% à T0h (gauche), T24h (milieu) et T48h (droite)

VI.5 Discussion

Notre méthode adaptée des travaux de Burton *et al* a été validée comme indicatrice de stabilité. De nombreux produits de dégradation ont pu être identifiés que ce soit lors de la dégradation forcée ou au cours de l'étude. Le bilan massique des dégradations forcées photolytique et thermique ne permet pas de retrouver la surface initiale de témocilline, cela peut s'expliquer par une perte de chromophores lors de ces dégradations. La répétabilité, la précision intermédiaire, ainsi que l'ensemble des mesures de concentrations réalisées lors de notre étude, présentent des coefficients de variation inférieurs à 2 %. Les pics dont la surface n'évolue pas lors de notre étude, sont exactement les mêmes que ce soit en diffuseur ou en seringue. Leurs présences dès la reconstitution du produit, permettent de supposer qu'il s'agit des résidus de fabrication et non de véritables produits de dégradation. Le léger jaunissement observé au bout de 24 heures, peut être expliqué en partie par le RCP de la témocilline, celui-ci indique qu'après reconstitution nous obtenons une solution jaune pâle exempte de particule (« Negaban 1 g, powder for solution for injection/infusion - Summary of Product Characteristics (SmPC) - (emc) »,).

Dans l'objectif de réduction des coûts, nous avons réalisé l'étude en diffuseur, avec l'utilisation d'un flacon de NEGABAN® à 1 g, et d'un flacon de NEGABAN® à 2 g, soit 3 g dans 120 mL (88,8 €/diffuseur) pour obtenir une concentration à 25 mg/mL. En pratique courante, le diffuseur sera réalisé avec 3 flacons de NEGABAN® à 2 g soit 6 g dans 240 mL (177,6 €/diffuseur) mais toujours à la même concentration de 25 mg/mL.

Actuellement, la témocilline est commercialisée dans peu de pays : France, Belgique, Royaume-Uni, Luxembourg. L'intérêt de la témocilline réside dans le fait qu'elle peut être utilisée comme alternative aux antibiotiques à plus larges spectres (en particulier dans les infections causées par les entérobactéries productrices de bêtalactamases à spectre élargi), pour diminuer la pression de sélection de ces antibiotiques (en particulier les carbapénèmes) et favoriser leur préservation (HAS, NEGABAN, 2015).

Peu de données sur son utilisation en administration continue existent. Laterre *et al.* ont pu démontrer que la témocilline (6 g par jour) administrée en perfusion continue permet à une plus grande proportion de patients gravement malades, d'avoir des concentrations sériques de médicament libre couvrant les infections causées par des *Enterobacteriaceae* avec une CMI de 16 mg/L (Laterre, Wittebole, Van de Velde, *et al.*, 2015). D'Huart *et al.* ont pu prouver sur un faible échantillon de patient (< 30) qu'aucune récurrence n'a été constatée avec

l'administration de la témocilline en continu versus une administration sur 30 minutes (D'Huart, Meyer, Demoré, *et al.*, 2020).

VI.6 Conclusion

Dans le G5%, la témocilline est instable chimiquement au bout de 24 h. La témocilline à 25 mg/mL diluée dans du NaCl 0,9 % est stable dans un diffuseur élastomérique à 37°C pendant 24 h. Cette nouvelle donnée de stabilité permet l'administration en perfusion continue au domicile du patient dans le cadre d'un relais hôpital-ville.

VII. Ceftazidime/avibactam

Préambule :

L'étude de stabilité, pour la ceftazidime/avibactam est présentée sous format d'article (soumis à l'*American Journal of Health-System Pharmacy*).

Une communication affichée intitulée « Stabilité physico-chimique du ceftazidime/avibactam en seringue et en diffuseur portable pour une administration continue en service de soins critiques et à domicile » a été présentée 21^{èmes} Journées Nationales d'Infectiologie (JNI) (août 2021 Montpellier) (Annexes 16 et 17).

Pour cette étude une double méthode analytique a été développée ; appelé méthode analytique n°1 pour l'analyse de l'avibactam et du ceftazidime. La méthode analytique n°2 a été développée pour l'analyse du ceftazidime et de la pyridine.

L'ensemble des tests statistiques pour la validation de la méthode de la pyridine avec la méthode analytique n°1 est présenté en annexe 18.

L'ensemble des tests statistiques pour la validation de la méthode du ceftazidime avec la méthode analytique n°2 est présenté en annexe 19.

L'ensemble des tests statistiques pour la validation de la méthode de l'avibactam avec la méthode analytique n°2 est présenté en annexe 20.

L'ensemble des tests statistiques pour la validation de la méthode du ceftazidime avec la méthode analytique n°1 est présenté en annexe 21.

Physicochemical stability of ceftazidime/avibactam in syringes and elastomeric devices for continuous administration in critical care units and at home.

Authors:

Guillaume LOEUILLE, Pharm Resident¹, Jean VIGNERON, PharmD^{1,4}, Elise D'HUART, PharmD^{1,4}, Benoît BEILER, Pharm Resident¹, Alexandre CHARMILLON, M.D³, Béatrice DEMORE, Ph. D^{1,2,4}.

¹Pharmacy Department, University Hospital, Allée du Morvan, 54511 Vandoeuvre-lès-Nancy, France

²Lorraine University, EA 4360 APEMAC, Nancy, France.

³Infectious Diseases Departement University Hospital, Allée du Morvan, 54511 Vandoeuvre-lès-Nancy, France

⁴Infostab, non-profit association, Heillecourt, France

Address correspondence to Dr. Vigneron

(j.vigneron@chru-nancy.fr)

ABSTRACT:

Background: Ceftazidime/avibactam is a time-dependent antibiotic of last resort. Optimisation of its efficacy by continuous infusion is crucial. Pyridine is one of the degradation products of ceftazidime that can be toxic. The literature suggested a safe dose not to exceed 100 mg/day. The objectives were to study the physicochemical stability of ceftazidime/avibactam diluted in 0.9% NaCl and D5W at 125/31.25 mg/mL in polypropylene syringes, stored at 20-25°C and at 25/6.25 mg/mL in elastomeric devices, stored at 37°C.

Materials and methods: The solutions were analysed after preparation and at 12, 24 and 48 hours using a validated HPLC method for the determination of ceftazidime/avibactam and a second HPLC method was used for the determination of pyridine. Particle contamination, absorbance measurement, visual inspection and pH measurement were assessed.

Results: More than 90% of the initial concentration of ceftazidime and avibactam was recovered after 24 hours in syringes and 12 hours in elastomeric devices, diluted in 0.9% NaCl. After immediate reconstitution of 6 g of ceftazidime, the amount of pyridine measured was 10 mg. No dose above 65 mg pyridine was detected when the ceftazidime solution retained more than 90% of its initial concentration. The particulate contamination test meets the specifications of the container.

Conclusion: In syringes, ceftazidime/avibactam 125/31.25 mg/mL, diluted in 0.9% NaCl was stable for 24 hours at room temperature. A preparation by diffuser has been validated at 25/6.25 mg/mL diluted in 0.9% NaCl with stability over 12 hours at 37°C. For these solutions and stability data, the safe dose of pyridine proposed in the literature is not exceeded.

KEY POINTS

- The stability of ceftazidime decreases with the use of dextrose 5% in water as diluent and/or high temperature, with increased pyridine formation.
- Avibactam has a higher physicochemical stability than ceftazidime, the diluents dextrose 5% in water or sodium chloride (0.9% NaCl) or high temperature have no influence on its stability.
- Ceftazidime/avibactam diluted in 0.9% NaCl is stable for 24 hours in polypropylene syringes and 12 hours in elastomeric devices for continuous administration.

Keywords:

Ceftazidime/avibactam, Stability, Infusion, HPLC, Intensive Care Units

INTRODUCTION

Ceftazidime/avibactam is a combination of a 3rd generation cephalosporin and a beta-lactamase inhibitor. It's a time-dependent antibiotic of last resort and it is used for the treatment of extended-spectrum beta-lactamase and carbapenemase-producing *enterobacteriaceae*. Optimising its effectiveness by continuous infusion is therefore crucial.¹ The goal of therapy should be to rapidly obtain a concentration of 4 times the minimum inhibitory concentration (MIC) and to maintain this concentration for the duration of the dosage treatment period.² The administration of ceftazidime/avibactam is exclusively parenteral: the dosage is 6/1.5 g per day for severe infections divided into 3 injections during the day. The Summary of Product Characteristics (SMPc) indicates 12 hours of stability between 8/2 and 40/10 mg/mL, in dextrose 5% in water (D5W) or 0.9% sodium chloride (0.9% NaCl) at room temperature, without specifying the container.³

Patients in Intensive Care Units (ICUs) are population at risk. For pathophysiological reasons, most patients have fluid restriction, which does not allow high-volume infusions.⁴⁻⁶ Drugs are administered in small volumes and in flow-controlled syringes. However, administration in a small volume leads to very concentrated solutions, e.g. for ceftazidime/avibactam a concentration of 125/31.25 mg/mL is obtained (6/1.5 g diluted in 48 mL). To the best of our knowledge, no stability studies have been performed at such high concentrations.

The practice of intravenous antibiotic therapy at home is developing rapidly because it allows early outpatient treatment, reduces the side effects of prolonged hospitalisation, facilitates the recovery of patient autonomy and reduces the cost of treatment.^{7,8} At home, one of the ways to achieve continuous administration of a drug is to use an elastomeric device (ED). To our knowledge, no studies have yet been conducted with an ED at high temperatures (37°C) for continuous administration of ceftazidime/avibactam at home.

The ceftazidime molecule has a pyridine ring which is released during hydrolysis. It is one of the major degradation products of ceftazidime but is considered toxic. The toxicity of pyridine and at which concentration has been discussed for several decades.⁹⁻¹³ Pyridine has been characterised in humans as a central nervous system depressant, and it can also cause liver, kidney and digestive disorders.^{14,15} Recently, Jones *et al.* suggested a safe dose of 100 mg per day of pyridine.¹⁶

The objective was to study the physicochemical stability of ceftazidime/avibactam diluted in 0.9% NaCl and D5W at 125/31.25 mg/mL (6 g in 48 mL) in polypropylene syringes (PPs), stored at 20-25°C and at 25/6.25 mg/mL (6 g in 240 mL) in EDs, stored at 37°C, protected from light, with identification and quantification of pyridine at each time of analysis.

MATERIAL AND METHOD

Preparation of test solutions

All manipulations were performed under a biological safety cabinet. As recommended by the SmPC, ceftazidime/avibactam^a should be reconstituted with 10 mL of water for injection (WFI)^b to obtain a 167.3 mg/mL solution of ceftazidime (11.95 mL displacement volume).³ Three vials were used for each preparation in PPs^c and then made up to 48 mL with 0.9% NaCl^d or D5W^e. We obtained a concentration of 125/31.25 mg/mL of ceftazidime/avibactam by syringe (6/1.5 g in 48 mL). For EDs^f, 3 vials of ceftazidime/avibactam 2/0.5 g were used. Then, the volume was made up to 240 mL in an ED^f with either 0.9% NaCl or D5W. We obtained a concentration of 25/6.25 mg/mL of ceftazidime/avibactam.

Chemical stability

HPLC Assay

In the framework of this study, two analytical methods were developed. Both methods were developed on an HPLC system coupled with a photodiode array detector^g. Ceftazidime/avibactam was analysed by a new stability indicating assay (analytical method n°1). This new analytical method was based on the work of Vikram *et al.*¹⁷ A C₁₈ column^h (5 µm, 4.6×125 mm) was used for separation. The mobile phase consisted of 0.05 mol/L bufferⁱ KH₂PO₄ (A) and methanol^j (B). The pH of the mobile phase was adjusted to pH 3 with orthophosphoric acid^k. This was a gradient method: the gradient was 99/1 (A/B) between 1 and 4 min, from 4 to 9 min it reaches 90/10 and was maintained for 20 min before returning to 99/1 between 28 and 32 min then stabilising until the end of the analysis at 40 min. The flow rate was set at 1.5 mL/min, with an injection volume of 20 µL. The detection wavelength was set at 230 nm. The temperature of the injector was set at 5°C and the temperature of the column oven at 30°C.

The second analytical method developed (analytical method n°2), based on the work of Harmi *et al.*, was used for the determination of ceftazidime and pyridine.¹⁸ A C₁₈ column^l (5 µm, 5×250 mm) was used. The mobile phase consisted of (A) 0.1M ammonium acetate buffer^m adjusted to pH 7.5 with ammoniaⁿ and (B) acetonitrile^o was run at 90/10 vol/vol, with isocratic elution (1 mL/min). The injection volume was 10 µL. The detection wavelength was set at 260 nm. The temperature of the injector was set at 5°C and the temperature of the column oven at 30°C.

For both methods: the photo-diode array detector allows the evaluation of the UV spectrum of the chromatographic column effluent every 0,4 second. The wavelength of the analysis spectrum ranges from 190 to 400 nm. Data acquisition, peak interpretation was performed with EZChrome Elite software.

Validation method

The calibration curve was constructed from the plots of peak area versus concentration obtained from the manufacturer's powder^a. Linearity of the method was evaluated with 5 concentrations (100, 200, 300, 400 and 500 µg/mL) of ceftazidime, (25, 50, 75, 100, 125 µg/mL) of avibactam and (1, 10, 20, 30 and 40 µg/mL) of pyridine^p diluted in ultrapure water^b. For all the calibration curves, the homogeneity of the variances was evaluated with a Cochran test whose significance level was set at $P < 0.05$. An analysis of variance (ANOVA) of the linear regression data was performed to assess the significance ($P < 0.05$) of the proposed methods. The intra-day reproductibility was evaluated as recommended by the International Conference on Harmonisation (ICH) Q2 (R1),¹⁹ using three determinations for each concentration at 100/25, 300/75 and 500/125 µg/mL for ceftazidime/avibactam and at 1, 20 and 40 µg/mL for pyridine. For interday precision, three determinations for each concentration at 100/25, 300/75 and 500/125 µg/mL of ceftazidime/avibactam and at 1, 20 and 40 µg/mL for pyridine, solutions were assayed daily on three different days. Consequently, four validations were performed: ceftazidime/avibactam with analytical method n°1 and ceftazidime/pyridine with analytical method n°2.

Dilutions for analysis by HPLC

For PPs solutions, 600 µL of ceftazidime/avibactam solution was diluted in 250 mL of ultrapure water to a theoretical concentration of 300/75 µg/mL before injection. For ED solutions, 600 µL of ceftazidime/avibactam solution was diluted in 50 mL of ultrapure water to get a theoretical concentration of 300/75 µg/mL before injection in HPLC.

Forced degradation and specificity

The stability-indicating capability was evaluated by analysing forced degraded ceftazidime/avibactam solutions. The aim of this forced degradation was to obtain degradation products with retention times different from those of ceftazidime and avibactam. The objective was to achieve a degradation between 10-20% of our molecules of interest.¹⁴

Conditions for the degradation of ceftazidime and avibactam were presented Table 1.

Table 1 Conditions for forced degradation of ceftazidime and avibactam

	Acid degradation	Alkaline degradation	Oxydative degradation	Heat degradation	Photolytic degradation
Ceftazidime	HCL 1M + 50°C 10 min	NaOH 0.01M 5 min	H ₂ O ₂ 0.3% + 50°C 15 min	75°C 1h	UV 254 nm 2 h 30
Avibactam	HCL 0.1M 30 min	NaOH 0.1M 50 min	H ₂ O ₂ 0.3% + 50°C 15 min	75°C 3h	UV 254 nm 24 h
Neutralization	NaOH	HCL	-	-	-

With analytical method n°1, three degradations were performed: ceftazidime^u alone, avibactam^v alone and then a degradation with ceftazidime/avibactam together, to ensure that there is no co-elution between a degradation product and one of the peaks of interest. For analytical method n°2, only the degradation with ceftazidime was performed.

The specificity of our method was evaluated with the analysis of 0.9% NaCl, D5W and WFI solutions. A 100 µg/mL solution of 5-hydroxymethylfurfural (5-HMF)^w, the main degradation product of dextrose was also analysed as it has a maximum absorbance of 284 nm. A sodium carbonate^x solution (100 µg/mL in WFI) was also analysed, as this is the main excipient found in the manufacturer's powder.³ The specificity was carried out on both analytical methods.

Determination of physical stability

Physical stability was defined as the absence of particulate formation, haze and color change. The samples were visually inspected against a white/black background with unaided eye at each analysis time. The subvisual aspect was assessed by using a UV spectrophotometer^y. The absorbance was measured at 350, 410 and 550 nm as recommended by the guidelines of the European consensus conference.²⁰ Physical stability was also assessed by performing a particulate contamination test^z, at the beginning and at the end of the study. According to the criteria of the European Pharmacopoeia, preparations of a volume inferior to 100 mL comply with the particulate contamination test if the number of particles measured does not exceed 6000 particles superior to 10 µm per container and 600 particles inferior to 25 µm per container. These criteria are used for PPs with a volume of 48 mL. Preparations with a volume superior to 100 mL comply with the particle contamination test if the number of particles measured does not exceed 25 particles inferior to 10 µm per mL and 3 particles superior to 25 µm per mL. These criteria are used for EDs with a volume of 240 mL.²¹

Study design

Stability was monitored according to French Society of Clinical Pharmacy (SFPC) and the Group of Evaluation and Research for Protection in Areas Under Control (GERPAC) recommendations and ICH guidelines.^{19,22} The stability of ceftazidime/avibactam was determined at four time points: after reconstitution (T0 h) and then after T12 h, T24 h and T48 hours. According to these recommendations, for each storage condition, 3 preparations were realized, i.e. 6 PPs: 3 diluted in 0.9% NaCl and 3 diluted in D5W, stored at 20-25 °C, not protected from light. For the EDs, 6 preparations were realized: 3 diluted in 0.9% NaCl and 3 diluted in D5W, stored at 37°C in an ICH climatic chamber^{aa}, protected from light. The concentrations were expressed as a percentage of the initial concentration of the preparation. At each analysis time, for each preparation: six samples were taken, three were used immediately to determine the concentration of ceftazidime/avibactam with analytical method n°1, the other three were frozen at -20°C for later analysis with analytical method n°2 to determine the pyridine concentration.

Defrosting is carried out by leaving the sample at room temperature for 25 minutes. At each analysis time, a visual and subvisual inspection (UV spectrophotometry) was carried out, as well as a pH measurement with a pH meter^{ab}. The particle count was carried out with an additional PPs and EDs after the chemical stability period had been defined, for cost reasons and volume required to perform the examination.

Solutions were considered stable if the concentration of ceftazidime and avibactam remained above 90% of the initial concentration. The maximum pH variation accepted during the study was one pH unit. No physical instability, either visually or subvisually (spectrophotometry and particle counting) should be detected. The total amount of pyridine (measured concentration, related to the initial volume of the preparation) must not exceed 100 mg.¹⁶

RESULTS

HPLC assay

The retention times for avibactam and ceftazidime with analytical method n°1 were 1.6 and 20.3 minutes respectively (Figure 1A). The retention times for ceftazidime and pyridine with method n°2 were 4.5 and 12.2 minutes respectively (Figure 1B).

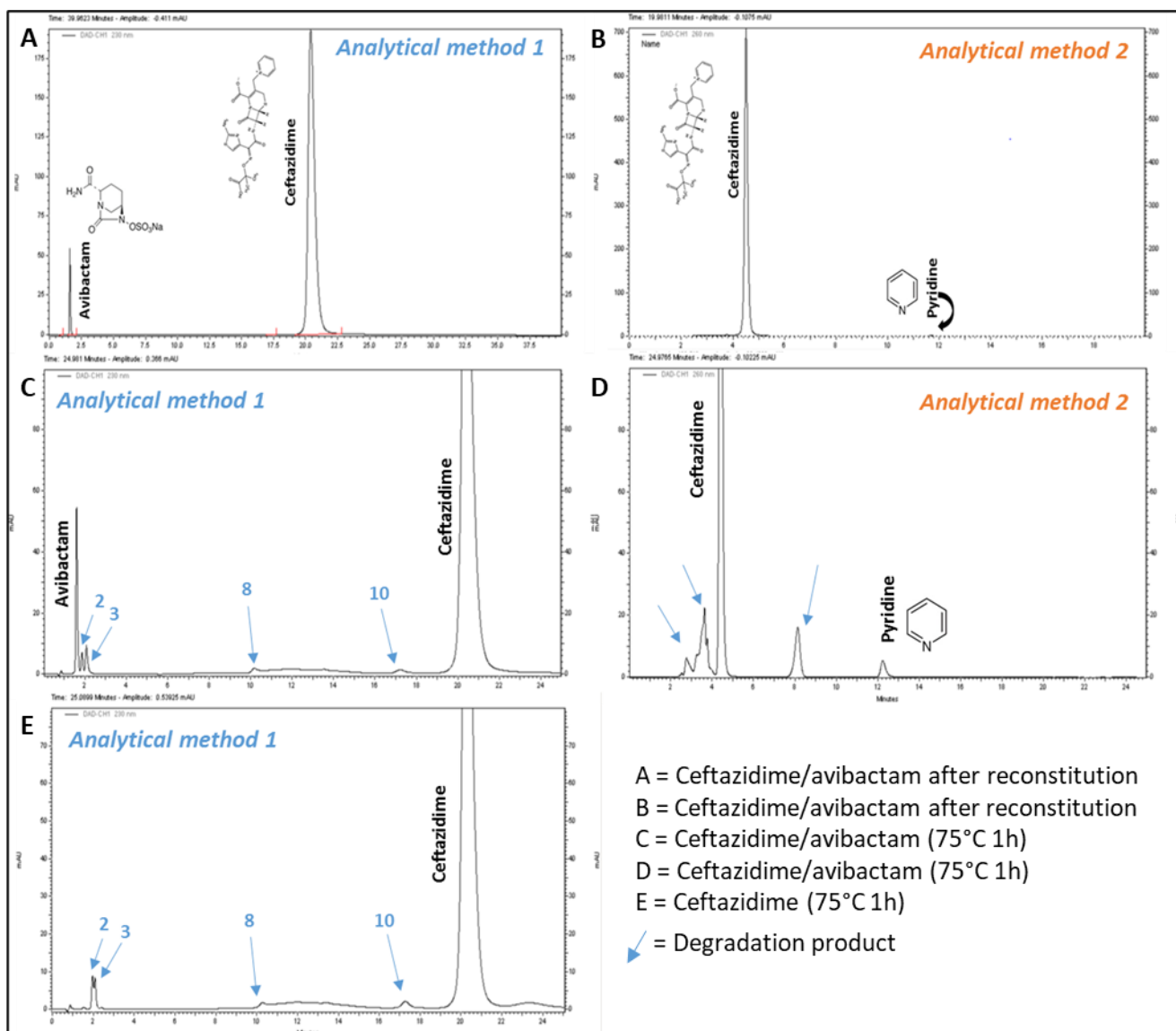


Figure 1: Chromatograms of ceftazidime/avibactam after reconstitution and after forced degradation

The set of forced degradations performed with method n°1 is presented in Table 2, in total 11 degradation products could be detected. Only the degradation product n°10 was found whatever the degradation mode. We were able to degrade ceftazidime between 10% with acid degradation and up to 35% with oxidative degradation. With the same degradation conditions, avibactam was degraded between 9% (oxidative degradation) and 0% (photolytic degradation), and for acidic degradation where under the same conditions 97% of avibactam was degraded. With the same conditions of degradation, we could observe the same percentages of degradation of ceftazidime with method n°2. Under these conditions, pyridine was observed with method n°2 regardless of the forced degradation performed (figure 1D). To degrade avibactam, we had to strengthen the different forced degradation methods, with

the exception of acid degradation: where we degraded 27% of avibactam with a lower concentration of acid (0.1M HCl for 30 minutes) compared to ceftazidime.

Table 2 : Mass balance of ceftazidime/avibactam solutions after various methods of forced degradation

peaks (n°)	Retention times (minutes)	Relative retention	Area					
			without stresses degradation	Acid degradation	Alkaline degradation	Oxydative degradation	Heat degradation	Photolytic degradation
				HCL 1M + 50°C 10 min	NaOH 0.01M 5 min	H ₂ O ₂ 0.3% + 50°C 15 min	75°C 1h	UV 254 nm 2h30
Ceftazidime	20.3	1	28549585	25822974	24908466	18564626	25400102	24799650
Avibactam	1.6	0.08	1190312	34299	1128099	1089009	1133724	1203413
1	0.9	0.04	-	113814	-	6644850	28783	27544
2	2.0	0.10	-	-	-	-	136550	-
3	2.1	0.10	-	-	-	44524	244596	-
4	2.4	0.12	-	-	-	-	-	38530
5	10.3	0.51	-	-	-	315916	74818	36220
6	11.2	0.55	-	-	-	369821	-	-
7	12.4	0.61	-	-	-	4002244	-	34710
8	13.5	0.67	-	588694	-	161525	11388	-
9	15.3	0.75	-	-	-	20069	-	-
10	17.3	0.85	19965	63100	111470	18193	107757	23327
11	23.4	1.15	-	-	822248	-	-	-
Total mass balance			29759862	26622881	26970283	31230777	27137718	26163394
% degradation avibactam				97%	5%	9%	5%	-1%
% degradation ceftazidime				10%	13%	35%	11%	13%

Thermal degradation is the only degradation where a ceftazidime degradation product (n°2) (Table 2) with a retention time close to that of avibactam was observed (Figure 1C) (2.0 and 1.6 min). The resolution between the two peaks is superior to 1.5. For all other degradation conditions, no interaction between a degradation product and the peaks of interest was detected with either analytical method n°1 or n°2. In terms of specificity no peaks were detected except for 5-HMF which had a retention time of 7.1 min with method n°1 and 6.5 min with method n°2.

The data set for the validation of the methods was presented in Table 3. Linearity was demonstrated for ceftazidime and avibactam with an $R^2 > 0.9998$. The homogeneity of the variances was also proven (Cochran test) for both molecules with the two analytical methods ($C_{exp} < C_{th}$). Finally, we demonstrated that our calibration curves were in agreement with the linear model (ANOVA non-linearity test) for all molecules. All intraday precisions were between 0.05% and 1.53%. All interday precisions were less than 2% except for the lowest pyridine calibration point, where the accuracy was 4.7%. The limit of quantification for pyridine was 0.81 µg/mL.

Table 3 : Results of the validation of analytical methods

	Concentration µg/mL	R ²	Cochran's test C _{exp}	ANOVA (non- linearity) F _{exp}	Intra-day [min ; max](%)	Inter-day (%)
Ceftazidime		0.9999	0.551	0.21		
method 1	100				[0.26 ; 0.48]	1.05
	300				[0.24 ; 0.44]	0.31
	500				[0.27 ; 0.50]	0.53
Ceftazidime		0.9998	0.553	3.06		
method 2	100				[0.16 ; 1.53]	0.94
	300				[0.05 ; 0.27]	0.28
	500				[0.06 ; 0.82]	0.44
Avibactam		0.9999	0.514	1.38		
method 1	25				[0.13 ; 0.43]	0.72
	75				[0.34 ; 0.41]	0.43
	125				[0.25 ; 0.43]	0.33
Pyridine		0.9999	0.338	2.47		
method 2	1				[0.34 ; 1.52]	4.68
	20				[0.18 ; 0.56]	0.72
	40				[0.16 ; 0.68]	0.43

$$C_{th (5\%; 3; 5)} = 0.684 \quad F_{th (5\%; 3; 10)} = 3.71$$

Chemical stability of solutions

The remaining percentage of the initial concentration of ceftazidime/avibactam with the quantification of method n°1 is presented in Table 4. In PPs, ceftazidime retains more than 90% of its initial concentration after 24 hours of storage in 0.9% NaCl and D5W. For EDs after 12 hours ceftazidime retained more than 90% of its initial concentration when diluted in 0.9% NaCl. However, when diluted in D5W, the concentration of ceftazidime varied from 85.4 to 87.5% after 12 hours.

Avibactam retained more than 95% of its initial concentration after 12 hours regardless of the container or solvent used. After 24 hours, avibactam retained more than 90% of its initial concentration regardless of the container or solvent used. At 48 hours, we could observe once that the concentration went below 90% of the initial concentration (ED n°3 diluted in D5W) (Table 4).

The concentration and amount of pyridine detected during the stability study is presented in the Table 5. At T0 h, as soon as the syringes or diffusers were prepared, the dose of pyridine was between [9.6 to 12.0 mg] and [8.6 to 11.0 mg] respectively. The amount of pyridine measured increased throughout the stability study. After 24 hours, the average amount of pyridine observed in syringes was 32 mg in 0.9% NaCl and [41 to 63 mg] in D5W. The concentration of pyridine exceeded 1.1 mg/mL for the syringes diluted with D5W after 24 hours. This concentration was exceeded for the EDs after 48 hours (0.9% NaCl and D5W). The amount of pyridine present in the ED was [43-45 mg] in 0.9% NaCl and [51-62 mg] in D5W. After 24 hours, amounts above 100 mg could be detected for an ED diluted in D5W.

Table 4 : Chemical stability of ceftazidime/avibactam diluted in 0.9% sodium chloride (0.9% NaCl) or in dextrose 5% in water (D5W)

Time; % of Initial Concentration CEFTAZIDIME (Mean ± SD) ^a											
Concentration (mg/mL)	Solvent	Syringe Diffuser	C° T0h (mg/mL)	T0h		T12h		T24h		T48h	
125	0.9% NaCl	S1	127.1	100% ±	0.81%	95.59% ±	0.54%	93.35% ±	1.74%	86.43% ±	1.25%
		S2	124.8	100% ±	0.14%	97.42% ±	0.08%	96.90% ±	1.05%	87.00% ±	0.38%
		S3	125.2	100% ±	0.54%	97.09% ±	0.31%	95.29% ±	0.16%	88.81% ±	0.15%
125	D5W	S1	121.4	100% ±	2.16%	97.78% ±	0.43%	91.76% ±	0.30%	86.66% ±	1.50%
		S2	120.3	100% ±	0.20%	98.09% ±	0.08%	92.74% ±	0.19%	88.69% ±	1.41%
		S3	122.0	100% ±	0.51%	98.54% ±	0.49%	90.59% ±	0.46%	85.98% ±	0.72%
25	0.9% NaCl	D1	24.5	100% ±	1.01%	92.99% ±	0.84%	84.87% ±	0.56%	68.73% ±	0.57%
		D2	26.4	100% ±	0.98%	91.85% ±	0.51%	81.69% ±	0.48%	65.42% ±	0.55%
		D3	25.6	100% ±	0.46%	91.87% ±	1.41%	80.24% ±	0.49%	64.74% ±	0.59%
25	D5W	D1	22.7	100% ±	0.36%	87.45% ±	1.14%	76.20% ±	0.71%	58.11% ±	1.92%
		D2	26.9	100% ±	0.18%	85.83% ±	0.39%	76.34% ±	0.46%	59.56% ±	0.12%
		D3	25.3	100% ±	0.71%	85.38% ±	0.22%	73.50% ±	0.85%	56.58% ±	0.05%

Time; % of Initial Concentration AVIBACTAM (Mean ± SD) ^a											
Concentration (mg/mL)	Solvent	Syringe Diffuser	C° T0h (mg/mL)	T0h		T12h		T24h		T48h	
31.25	0.9% NaCl	S1	31.6	100% ±	0.75%	95.83% ±	0.21%	93.41% ±	1.03%	89.99% ±	0.96%
		S2	31.1	100% ±	0.03%	97.45% ±	0.20%	97.63% ±	0.60%	91.09% ±	0.42%
		S3	31.3	100% ±	0.97%	95.82% ±	1.49%	97.55% ±	0.70%	91.95% ±	0.21%
31.25	D5W	S1	31.1	100% ±	2.23%	98.35% ±	0.37%	93.52% ±	1.39%	91.42% ±	1.41%
		S2	30.5	100% ±	0.29%	99.25% ±	0.11%	96.09% ±	0.08%	95.19% ±	1.43%
		S3	30.9	100% ±	0.45%	99.63% ±	0.56%	94.44% ±	0.29%	92.24% ±	0.27%
6.25	0.9% NaCl	D1	6.1	100% ±	1.03%	99.61% ±	1.14%	99.10% ±	0.44%	96.09% ±	0.62%
		D2	6.8	100% ±	1.03%	98.62% ±	0.40%	95.62% ±	0.24%	92.72% ±	0.03%
		D3	6.5	100% ±	0.28%	96.85% ±	0.26%	94.90% ±	0.32%	92.78% ±	0.58%
6.25	D5W	D1	5.7	100% ±	0.29%	97.12% ±	0.89%	95.40% ±	0.68%	90.73% ±	1.71%
		D2	6.8	100% ±	0.12%	95.15% ±	0.19%	94.52% ±	0.30%	91.75% ±	0.10%
		D3	6.4	100% ±	0.37%	93.95% ±	0.16%	91.68% ±	0.70%	88.35% ±	0.29%

S : Syringes D: Elastomeric devices, C°: Concentration, ^a Samples tested in triplicate at all time points 0.9%: Normal Saline; D5W: Dextrose 5% in Water

About pH measurements, the maximum variation observed in the stability study was 0.47 pH units (6.63 - 7.10), This maximum change was observed in EDs diluted in 0.9% NaCl after 48 hours.

Table 5: Concentration and amount of pyridine detected during the stability study

Solvent	Syringe Diffuser	Average Pyridine concentration ($\mu\text{g/mL}$) + total amount of Pyridine (mg)							
		T0h		T12h		T24h		T48h	
		$\mu\text{g/mL}$	mg	$\mu\text{g/mL}$	mg	$\mu\text{g/mL}$	mg	$\mu\text{g/mL}$	mg
0.9% NaCl	S1	200	9.6	361	17.3	678	32.5	1237	59.4
	S2	201	9.7	371	17.8	676	32.4	1098	52.7
	S3	225	10.8	370	17.8	669	32.1	1120	53.8
D5W	S1	213	10.2	468	22.4	855	41.1	1359	65.2
	S2	220	10.6	701	33.7	1260	60.5	1686	80.9
	S3	250	12.0	614	29.5	1314	63.1	1861	89.3
0.9% NaCl	D1	37	8.8	180	43.3	344	82.5	2606	125.1
	D2	36	8.6	188	45.2	295	70.8	2829	135.8
	D3	40	9.5	179	42.9	394	94.5	3442	165.2
D5W	D1	38	9.2	212	51.0	374	89.6	3829	183.8
	D2	46	11.0	260	62.3	436	104.7	4849	232.7
	D3	44	10.6	211	50.7	402	96.5	4351	208.9

S: Syringes; D: Elastomeric devices; 0.9%: Normal Saline; D5W: Dextrose 5% in Water

Physical stability of solutions

After reconstitution and preparation of the PPs and EDs, the solutions were pale yellow. A more significant yellowing was observed after 24 hours in EDs and after 48 hours for the syringes. No precipitate was observed during the study. The formation of a few air bubbles could be observed in syringes after 12 hours.

The subvisual analysis by UV spectrophotometry is presented in Table 6. This analysis shows no change in absorbance at 350 nm, at 550 nm. The absorbance only increased after 48 hours. At 410 nm, whether in syringes or in diffusers, the absorbance increased progressively throughout the stability study.

Particle counting was performed on a syringe of ceftazidime/avibactam and an ED diluted in 0.9% NaCl with analysis at T0 and then T24 hours for the syringe and T12 hours for the ED. For PPs: 1520 particles $\geq 10 \mu\text{m}$ and 80 particles $\geq 25 \mu\text{m}$ were counted on average after 24 hours. For EDs 5 particles ≥ 10 and 1 particle $\geq 25 \mu\text{m}$ were found on average per mL after 12 hours. The particle count met the standards set by the European Pharmacopoeia.²¹

Table 6: Absorbance values for Ceftazidime/avibactam solutions during stability study

		Mean absorbance values \pm standard deviation			
		0 h	12 h	24 h	48h
350 nm					
NaCl 0.9%	S	2.487 \pm 0.030	2.470 \pm 0.009	2.490 \pm 0.022	2.470 \pm 0.012
D5W	S	2.517 \pm 0.044	2.477 \pm 0.020	2.467 \pm 0.016	2.503 \pm 0.007
NaCl 0.9%	D	2.451 \pm 0.045	2.464 \pm 0.023	2.449 \pm 0.012	2.471 \pm 0.025
D5W	D	2.437 \pm 0.030	2.462 \pm 0.031	2.449 \pm 0.020	2.468 \pm 0.017
410 nm					
NaCl 0.9%	S	0.438 \pm 0.004	0.465 \pm 0.013	0.608 \pm 0.006	0.909 \pm 0.012
D5W	S	0.443 \pm 0.005	0.469 \pm 0.007	0.619 \pm 0.004	0.921 \pm 0.025
NaCl 0.9%	D	0.061 \pm 0.005	0.095 \pm 0.003	0.158 \pm 0.005	0.317 \pm 0.016
D5W	D	0.063 \pm 0.004	0.098 \pm 0.011	0.174 \pm 0.015	0.364 \pm 0.033
550 nm					
NaCl 0.9%	S	0.002 \pm 0.001	0.003 \pm 0.001	0.006 \pm 0.001	0.025 \pm 0.002
D5W	S	0.001 \pm 0.001	0.000 \pm 0.000	0.004 \pm 0.000	0.031 \pm 0.014
NaCl 0.9%	D	0.002 \pm 0.000	0.002 \pm 0.000	0.005 \pm 0.003	0.011 \pm 0.002
D5W	D	0.001 \pm 0.000	0.002 \pm 0.001	0.005 \pm 0.000	0.014 \pm 0.001

S : Syringes D: Elastomeric devices, ^a Samples tested in triplicate at all time points 0.9%: Normal Saline; D5W: Dextrose 5% in Water

DISCUSSION

Our results have shown that the methods developed were reliable and adequate for the evaluation of the physicochemical stability of ceftazidime/avibactam as well as pyridine, on the basis of selectivity, linearity, sensitivity, precision and accuracy. To our knowledge, this study is the first to have developed and validated a stability indicating method to assess the chemical stability of the ceftazidime/avibactam combination. However, this method has a relatively long analysis time (40 min) and analytical method n°1 does not allow the detection of small quantities of pyridine. Hence the use of a second analytical method, which does not allow the detection of avibactam. The use of this second method allowed to confirm quantification of the ceftazidime dosage obtained with method n°1.

We were able to demonstrate that the concentration of ceftazidime at 125 mg/mL remains above 90% of the initial concentration (0.9% NaCl or D5W) in syringes after 12 hours. Few stability studies have been performed with such a high concentration. Nahata *et al.* were able to demonstrate 24-hour stability in syringes (100 mg/mL) but with solutions diluted in WFI.²³ Under the same conditions, Stewart *et al.* have concluded that the solution was stable for 8 hours.²⁴ An 18-hour stability of the reconstituted solution of ceftazidime (at 270 mg/mL) with WFI has been demonstrated by Farina *et al.*²⁵ Several teams have also demonstrated the stability of ceftazidime for 24 hours, but at a lower concentration and in different containers.²⁶⁻²⁹

For EDs, we have studied the stability at a temperature of 37°C (choose the worst condition). Several studies carried out on EDs worn in contact with the patient's skin show that the temperature can reach 37°C.^{30,31} At this temperature with our study, we demonstrated that ceftazidime (25 mg/mL) retained more than 90% of its initial concentration after 12 hours in 0.9% NaCl but not in D5W. Viaene *et al.* demonstrated a 24-hour stability at 120 mg/mL diluted in WFI, but when stored at 25°C, this stability decreased to 8 hours at 37°C.¹¹ Other studies have been carried out with EDs but using temperatures close to room temperature, stability between 12 h and 24 h have been demonstrated with D5W and 0.9% NaCl.^{32,33}

This is the first study where we have been able to demonstrate the chemical stability of avibactam with a concentration close to 95% of the initial concentration after 24 hours. We were able to prove that the stability of avibactam was independent of the solvent used or the exposure to heat, with similar results obtained in PPs or EDs. This study confirms the observations obtained during the forced degradation of avibactam where we had to use more extensive forced degradation methods than those used for ceftazidime, in order to obtain the same percentage of degradation.

Pyridine (9.6 to 12.0 mg) is already present upon reconstitution/preparation of the solutions. Another study showed that 11 mg pyridine was present in devices containing 6 g/100 mL immediately after dissolution.³⁴ The amount of pyridine depends on the rate of degradation of ceftazidime but not only since about 2 times more pyridine is detected in syringes diluted with D5W after 24 hours than in syringes diluted with 0.9% NaCl. In our study, especially for EDs, pyridine was probably overestimated. We carried out the study under the worst conditions (37°C), and we calculated the quantity of pyridine in relation to the initial volume of the preparation at each analysis time, without taking into account the volume already injected to the patient with a necessarily lower pyridine concentration. The limit of 100 mg pyridine is never exceeded when ceftazidime retains more than 90% of its original concentration, regardless of the solvent or container. However, the amount of pyridine found in syringes diluted in D5W was double that found in 0.9% NaCl after 24 hours, so we recommend preferring 0.9% NaCl as a diluent to keep the amount of pyridine administered to patients to a minimum. Ceftazidime has been used for several decades as a continuous infusion and is very well tolerated.³⁵⁻³⁷ The most frequently reported adverse events (with similar frequency for continuous and intermittent infusions) include transient increases in aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase.³⁷

For physical stability, the yellowing of the solution is explained by the SmPC, which indicates that after reconstitution, the resulting solution is pale yellow.³ The formation of some bubbles in the syringe can also be explained by the presence of sodium carbonate in the manufacturer's powder composition.³ The subvisual analysis is intended to verify the absence of particle formation. This was confirmed by particle counter analysis and by measuring the absorbance at 550 nm. For a duration of 24 hours in PPs and 12 hours in EDs.

CONCLUSION

In syringes, ceftazidime/avibactam 125/31.25 mg/mL (6/1.5 g in 48 mL), diluted in 0.9% NaCl was stable for 24 hours at room temperature. For a return at home, administration by diffuser has been validated at 25/6.25 mg/mL (6/1.5 g in 240 mL) diluted in 0.9% NaCl with stability over 12 hours at 37°C, but not in D5W. For these solutions and stability times, the safe dose of pyridine proposed in the literature is not exceeded.

Acknowledgements: Thank you to Franck Blaise, Nathalie Sobalak and Hubert Zenier for their help and their involvement throughout this stability study. Thank you to Jacques Kuhnle for reading through it all and making corrections.

Disclosure: The authors have declared no potential conflicts of interest.

Chemicals and reagents:

^a Ceftazidime/avibactam (ZAVICEFTA[®]) 2/0,5 g, powder for injection, for intravenous use, Pfizer, Ringaskiddy, Irlande, lot 3M05L95690

^b Water for injection 500 mL, Chaix et du Marais, Paris, France, lot 0F564

^c Polypropylene syringes, BD Plastipak 50mL, San Agustin Spain, lot 300865

^d 0.9% NaCl 250 mL glass vial, Chaix et du Marais, Paris, France, lot 9F582

^e D5W 250 mL glass vial, Chaix et du Marais, Paris, France, lot 9F591

^f Elastomeric device, Baxter FOLFusor 10 mL/h, Guyancourt, France, lot 2C4063K

^g ELITE LaChromVWR/Hitachi, VWR photodiode array (PDA) detector L-2455 and a VWR L-2130 HPLC pump, Paris, France

^h Column LiChrospher 100 RP-18 (5 µm, 4.6×125 mm), Merck, Fontenay-sous-Bois, France

ⁱ KH₂PO₄, Emsure, Val-de-Reuil, France, lot AM1590277032

^j Methanol for HPLC gradient grade, Carlo Erba, Val-de-Reuil, France, lot V0D04260D

- ^k Orthophosphoric acid, VWR, Fontenay-sous-Bois, France lot 17B174014
- ^l Column LiChrospher 100 RP-18 (5 µm, 5×250 mm), Merck, Fontenay-sous-Bois, France
- ^m Ammonium acetate, Emsure, Val-de-Reuil, France, lot A1426116916
- ⁿ Ammonia 28-30 %, Emsure, Val-de-Reuil, France, lot Z0494523811
- ^o Acetonitrile for HPLC isocratic grade, Carlo Erba, Val-de-Reuil, France lot 17J231482
- ^p Pyridine ACS, Reag Ph Eur, VWR, Fontenay-sous-Bois, France, lot 18F074042
- ^q HCL 1M, VWR, Fontenay-sous-Bois, France, lot 200416C004
- ^r NaOH 1M, VWR, Fontenay-sous-Bois, France, lot 200618C011
- ^s H₂O₂ 30%, Emsure, Val-de-Reuil, France, lot R48743810713
- ^t UV lamp, Vilbert Lourmat, Marne-la-Vallée, France
- ^u Ceftazidime 2 g, powder for injection, for intravenous use, Mylan, Paris, France, lot 191102
- ^v Avibactam 5 mg, Biovision, Nanterre, France, lot 9L4V-A
- ^w 5-hydroxymethylfurfural, Acros Organics, Strasbourg, France, lot A0406699
- ^x Sodium carbonate, VWR; Belgium, lot 20G304117
- ^y Spectrophotometer; Safas Monaco UV m², Monaco
- ^z Particle counter PAMAS SVSS; Rutesheim, Germany
- ^{aa} : ICH Climatic Chamber, Binder, Tuttlingen, Germany
- ^{ab} pH meter, edge[®], Hanna instruments, Tanneries, France

BIBLIOGRAPHIE

1. Roberts JA, Abdul-Aziz M-H, Davis JS, *et al.* Continuous versus Intermittent β -Lactam Infusion in Severe Sepsis. A Meta-analysis of Individual Patient Data from Randomized Trials. *Am J Respir Crit Care Med.* 2016 ;194(6) :681-91.
2. Craig WA, Ebert SC. Continuous infusion of beta-lactam antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother.* 1992 ;36(12):2577-83.
3. Zavicefta 2 g/0.5g powder for concentrate for solution for infusion - Summary of Product Characteristics (SmPC) - (emc) [Internet]. [cited mai 2021]. Available at <https://www.medicines.org.uk/emc/medicine/33061#gref>
4. Yunos NM, Bellomo R, Hegarty C, *et al.* Association between a chloride-liberal vs chloride-restrictive intravenous fluid administration strategy and kidney injury in critically ill adults. *JAMA.* 2012 ;308(15):1566-72.
5. Hjortrup PB, Haase N, Bundgaard H, *et al.* Restricting volumes of resuscitation fluid in adults with septic shock after initial management: the CLASSIC randomised, parallel-group, multicentre feasibility trial. *Intensive Care Med.* 2016 ;42(11) :1695-705.
6. Myles PS, Bellomo R, Corcoran T, *et al.* Restrictive versus Liberal Fluid Therapy for Major Abdominal Surgery. *N Engl J Med.* 2018 ;378(24) :2263-74.
7. Goodfellow AF, Wai AO, Frighetto L, *et al.* Quality-of-life assessment in an outpatient parenteral antibiotic program. *Ann Pharmacother.* 2002 ;36(12) :1851-5.
8. Zahnd D, Aebi S, Rusterholz S, *et al.* A randomized crossover trial assessing patient preference for two different types of portable infusion-pump devices. *Ann Oncol.* 1999 ;10(6) :727-9.
9. Pollock LJ, Finkelman I, Arieff AJ. Toxicity of pyridine in man. *Arch Int Med.* 1943; 71:95–106.
10. Jori A, Calamari D, Cattabeni F, *et al.* Ecotoxicological profile of pyridine. Working party on ecotoxicological profiles of chemicals. *Ecotoxicol Environ Saf.* 1983 ;7(3) :251-75.
11. Viaene E, Chanteux H, Servais H, *et al.* Comparative stability studies of antipseudomonal beta-lactams for potential administration through portable elastomeric pumps (home therapy for cystic fibrosis patients) and motor-operated syringes (intensive care units). *Antimicrob Agents Chemother.* 2002 ;46(8) :2327-32.
12. Favetta P, Allombert C, Breysse C, *et al.* Fortum stability in different disposable infusion devices by pyridine assay. *J Pharm Biomed Anal.* 2002 ;27(6) :873-9.
13. van Doorne H, Bernaards J, de Jonge P. Ceftazidime degradation rates for predicting stability in a portable infusion-pump reservoir. *Am J Health-Syst Pharm.* 1996 ;53(11):1302-5.
14. French National Institute of Research and Safety for the Prevention of Occupational Accidents and Diseases. 2011. INRS toxicological card of pyridine (FT 85). INRS, Paris, France.
15. International Agency for Research on Cancer (IARC). 2005. Pyridine. IARC, Lyon, France. [Internet]. [cited mai 2021]. Available at http://www.inchem.org/documents/iarc/vol77/77_16.html.
16. Jones TE, Selby PR, Mellor CS, *et al.* Ceftazidime stability and pyridine toxicity during continuous i.v. infusion. *Am J Health-Syst Pharm.* 2019 ;76(4) :200-5.

17. Vikram A, Prathap B, Mallikarjuna G *et al.* Analytical Method Development and Validation for Simultaneous Estimation of Avibactam and Ceftazidime by Rp-Hplc Method. *IOSR Journal of Pharmacy*, 10(3), 2020, pp. 52-85.
18. M.E.Abdel-Hamid, FSQ spectrophotometric and HPLC analysis of some cephalosporins in the presence of their alkali-induced degradation products, *Il Farmaco*, 1998, 53 : 132-138.
19. International Conference on Harmonisation: Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2 (R1). Guideline 2005. Available at: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q2_R1/Step4/Q2_R1__Guideline.pdf. Accessed: 24 March 2021.
20. Bardin C, Astier A, Vulto A, *et al.* Guidelines for the practical stability studies of anticancer drugs: a European consensus conference. *Ann Pharm Fr.* 2011 ;69(4) :221-31.
21. Pharmaceutical technical procedures, 2.9.19: particulate contamination: sub-visible particles. In: European Pharmacopoeia. 10th ed. Strasbourg, France: European Directorate for the Quality of Medicines and Health Care; 2019:360-362.
22. SFPC (French Society of Clinical Pharmacy) and GERPAC (Evaluation and Research Group on Protection in Controlled Atmospher). SFPC, GERPAC, Methodological guidelines for stability studies of hospital pharmaceutical preparations, Part I: Liquid preparations. http://www.gerpac.eu/IMG/pdf/guide_stabilite_anglais.pdf. Accessed March 24, 2021.
23. Nahata MC, Morosco RS, Fox JL. Stability of ceftazidime (with arginine) stored in plastic syringes at three temperatures. *Am J Hosp Pharm.* 1992 ;49(12) :2954-6.
24. Stewart JT, Warren FW, Johnson SM, *et al.* Stability of ceftazidime in plastic syringes and glass vials under various storage conditions. *Am J Hosp Pharm.* 1992 ;49(11) :2765-8.
25. Farina A, Porrà R, Cotichini V, *et al.* Stability of reconstituted solutions of ceftazidime for injections: an HPLC and CE approach. *J Pharm Biomed Anal.* 1999 ;20(3) :521-30.
26. Faouzi MA, Dine T, Luyckx M, *et al.* Stability and compatibility studies of cefaloridine, cefuroxime and ceftazidime with PVC infusion bags. *Pharm.* 1994 ;49(6) :425-7.
27. Arsène M, Favetta P, Favier B, *et al.* Comparison of ceftazidime degradation in glass bottles and plastic bags under various conditions. *J Clin Pharm Ther.* 2002 ;27(3) :205-9.
28. Xu QA, Trissel LA, Saenz CA, *et al.* Stability of three cephalosporin antibiotics in AutoDose Infusion System bags. *J Am Pharm Assoc Wash DC.* 2002 ;42(3) :428-31.
29. Muller HJ, Howe K, Frank C, *et al.* Stability of cefazolin, cefotiam, cefuroxime, cefotaxime, ceftriaxone and ceftazidime in normal saline solutions, stored in a new IV container made of Biofine*. *Eur Hosp Pharm.* 2000 ; 6: 17-23.
30. Docherty T, Montalto M, Leslie J, *et al.* Temperature profiles of antibiotic-containing elastomeric infusion devices used by ambulatory care patients. *Am J Health-Syst Pharm.* 2017 ;74(13) :992-1001.
31. Voumard R, Van Neyghem N, Cochet C, *et al.* Antibiotic stability related to temperature variations in elastomeric pumps used for outpatient parenteral antimicrobial therapy (OPAT). *J Antimicrob Chemother.* 2017 ;72(5) :1462-5.
32. Allen LV, Stiles ML, Prince SJ, *et al.* Stability of 14 drugs in the latex reservoir of an elastomeric infusion device. *Am J Health-Syst Pharm.* 1996 ;53(22) :2740-3.

32. Allen LV, Stiles ML, Prince SJ, *et al.* Stability of 14 drugs in the latex reservoir of an elastomeric infusion device. *Am J Health-Syst Pharm.* 1996 ;53(22) :2740-3.
33. Bednar DA, Klutman NE, Henry *et al.* Stability of ceftazidime (with arginine) in an elastomeric infusion device. *Am J Health-Syst Pharm.* 1995 ;52(17) :1912-4.
34. Stendal TL, Klem W, Tønnesen HH, *et al.* Drug stability and pyridine generation in ceftazidime injection stored in an elastomeric infusion device. *Am J Health-Syst Pharm.* 1998 ;55(7) :683-5.
35. Vinks AA, Brimicombe RW, Heijerman HG, *et al.* Continuous infusion of ceftazidime in cystic fibrosis patients during home treatment: clinical outcome, microbiology and pharmacokinetics. *J Antimicrob Chemother.* 1997 ;40(1) :125-33.
36. Vinks AA, Touw DJ, Heijerman HG, *et al.* Pharmacokinetics of ceftazidime in adult cystic fibrosis patients during continuous infusion and ambulatory treatment at home. *Ther Drug Monit.* 1994 ;16(4) :341-8.
37. Hubert D, Le Roux E, Lavrut T, *et al.* Continuous versus intermittent infusions of ceftazidime for treating exacerbation of cystic fibrosis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009 ;53(9) :3650-6

VIII. Ceftazidime

Préambule

Une communication affichée intitulée « Stabilité physico-chimique de la ceftazidime à 125 mg/mL en seringue polypropylène et à 25 mg/mL en diffuseur portable pour une administration continue en service de soins intensifs et à domicile 16^{èmes} Rencontres CSH, (octobre 2021) (Annexes 22 et 23).

L'ensemble des tests statistiques pour la validation de la méthode de l'avibactam avec la méthode analytique n°2 est présenté en annexe 20.

L'ensemble des tests statistiques pour la validation de la méthode de la ceftazidime avec la méthode analytique n°2 est présenté en annexe 19.

VIII.1 Introduction / objectifs

L'étude de stabilité de la ceftazidime est présentée sous le format d'un résumé, la présentation et la validation de la méthode analytique (méthode analytique n°2) ont été réalisées dans le chapitre précédent. L'objectif et le matériel et méthode de cette étude sont les mêmes que pour l'association ceftazidime/avibactam présentée dans le chapitre précédent : « *Physicochemical stability of ceftazidime/avibactam in syringes and elastomeric devices for continuous administration in critical care units and at home* ». La posologie recommandée pour traiter les infections sévères avec la ceftazidime est également de 6 g/j.

L'objectif est d'étudier la stabilité physico-chimique de solutions de ceftazidime à 125 mg/mL, en seringue polypropylène conservées à 20-25°C pour une administration continue en service de soins intensifs et à 25 mg/mL en diffuseur élastomérique, conservées à 37 °C, à l'abri de la lumière pour une administration continue à domicile. Les solutions ont été diluées dans du NaCl 0,9% ou dans G5% et analysées à T0, T8, T24 et T48 heures avec une identification et quantification de la pyridine à chaque temps d'analyse.

VIII.2 Matériels et méthodes

Trois diffuseurs et 3 seringues ont été préparés pour chaque condition. A chaque temps d'analyse, 3 échantillons de chaque préparation ont été analysés avec une méthode validée

selon les ICH Q2(R1) par chromatographie liquide haute performance couplée à un détecteur à barrette de diodes à 260 nm. La stabilité physique a été évaluée par une inspection visuelle et subvisuelle (turbidimétrie par spectrophotométrie à 350, 410 et 550 nm). Les valeurs de pH ont été mesurées. Les analyses sont réalisées à T0, T8, T24 et T48 heures pour les seringues et à T0, T8 et T24 heures pour les diffuseurs.

VIII.3 Résultats

Seules les stabilités chimique et physique seront présentées pour cette étude.

L'évolution de la concentration initiale de ceftazidime en seringue et en diffuseur sont présentées dans le tableau XV. En seringue, la concentration initiale passe en dessous de la limite de 90% après 8 heures dans le G5% et après 24 heures dans le NaCl 0,9%. En diffuseur, au bout de 24 heures, la concentration initiale dans le NaCl 0,9% est comprise entre 84,4% et 86,6%. Diluée dans le G5%, la concentration restante est même inférieure à 80% de la concentration initiale.

Tableau XV : Evolution de la concentration initiale de ceftazidime en diffuseur et en seringue, diluée dans du NaCl 0,9% et dans du G5%

Temps ; % de la concentration initial de ceftazidime (moyenne ± CV)							
C°th (mg/mL)	Solvant	Seringue Diffuseur	C° réelle (mg/mL)	T 0h	T 8h	T 24h	T 48h
125	NaCl 0,9%	S1	119,68	100%±0,05%	96,26%±0,13%	93,50%±1,72%	85,05%±2,14%
		S2	119,21	100%±0,67%	99,25%±0,04%	95,94%±0,55%	87,82%±0,91%
		S3	121,50	100%±0,15%	99,37%±0,26%	95,34%±0,82%	86,51%±0,14%
125	G5%	S1	124,73	100%±0,21%	93,49%±0,33%	88,26%±0,22%	80,96%±0,71%
		S2	120,09	100%±0,12%	98,31%±0,60%	91,23%±0,29%	84,04%±0,23%
		S3	123,42	100%±0,02%	93,49%±0,29%	87,73%±0,36%	81,43%±0,05%
25	NaCl 0,9%	D1	23,26	100%±1,31%	97,50%±1,23%	86,59%±1,94%	- ± -
		D2	24,04	100%±0,79%	94,75%±0,68%	85,67%±0,49%	- ± -
		D3	24,99	100%±0,15%	93,44%±0,32%	84,39%±0,23%	- ± -
25	G5%	D1	23,26	100%±0,22%	94,15%±0,10%	78,74%±0,37%	- ± -
		D2	24,86	100%±0,21%	94,20%±0,27%	76,29%±0,03%	- ± -
		D3	24,34	100%±0,30%	96,07%±0,15%	* ± *	- ± -

* fuite du diffuseur n°3 entre le temps d'analyse n°2 et 3.

L'évolution de la concentration de pyridine en seringue et en diffuseur sont présentées dans le tableau XVI. L'analyse à T0 h révèle la même quantité présente de pyridine en seringue ou en diffuseur (10,9 – 13,9 mg/mL). Pour rappel, la quantité de pyridine est exprimée par la concentration mesurée rapportée au volume initial de la seringue, soit 48 mL. En seringue, la limite de 100 mg de pyridine n'est jamais dépassée et la concentration reste inférieure à 1 mg/mL au bout de 24 heures dans le NaCl 0,9% et le G5%.

A l'inverse en diffuseur, la quantité de pyridine augmente plus rapidement, elle est multipliée par 3 au bout de 8 heures dans le NaCl 0,9% et par 5 dans le G5%. Au bout de 24 heures, la quantité de pyridine dépasse les 100 mg dans le G5% et est comprise entre 90,4 et 97,5 mg dans le NaCl 0,9%.

Tableau XVI : Concentration et quantité de pyridine détectée pendant l'étude de stabilité

		Concentration moyenne de pyridine (µg/mL) + quantité totale de pyridine (mg)							
Solvant	Seringue Diffuseur	T 0h		T 8h		T 24h		T 48h	
		µg/mL	mg	µg/mL	mg	µg/mL	mg	µg/mL	mg
NaCl 0,9%	S1	228	10,9	397	19,1	685	32,9	1148	55,1
	S2	228	10,9	395	19,0	705	33,9	1287	61,8
	S3	248	11,9	409	19,6	721	34,6	1277	61,3
G5%	S1	291	13,9	476	22,9	833	40,0	1532	73,5
	S2	242	11,6	460	22,1	844	40,5	1525	73,2
	S3	229	10,9	424	20,3	829	39,8	1542	74,0
NaCl 0,9%	D1	48	11,5	145	34,7	406	97,5	-	-
	D2	47	11,4	146	35,0	394	94,5	-	-
	D3	49	11,9	144	34,6	376	90,4	-	-
G5%	D1	47	11,3	219	52,5	500	120,0	-	-
	D2	51	11,3	221	53,0	596	143,1	-	-
	D3	52	12,4	201	48,3	*	*	-	-

* fuite du diffuseur n°3 entre le temps d'analyse n°2 et 3.

À 48 heures, la variation maximale de pH mesurée en seringue était de 0,65 unité. La variation maximale de pH mesurée en diffuseur est de 0,66 unité au bout de 24 heures.

La stabilité physique, dont les mesures d'absorbances sont présentées dans le tableau XVII. L'absorbance à 350 nm n'évolue pas au cours de l'étude (seringue et diffuseur). A 410 nm, l'absorbance augmente au bout de 48 heures en seringue, en diffuseur à cette longueur d'onde

l'absorbance double après 24 heures. Nous n'observons pas de changement à 550 nm en seringue et en diffuseur.

Tableau XVII : Mesure de l'absorbance des solutions de ceftazidime en seringue et en diffuseur au cours de l'étude de stabilité

		Valeurs moyenne d'absorbance \pm CV			
		T 0 h	T 8 h	T 24 h	T 48h
350 nm					
NaCl 0.9%	S	3,122 \pm 0,034	3,187 \pm 0,081	3,126 \pm 0,076	3,139 \pm 0,043
G5%	S	3,088 \pm 0,017	3,135 \pm 0,047	3,231 \pm 0,092	3,144 \pm 0,091
NaCl 0.9%	D	3,030 \pm 0,031	3,005 \pm 0,020	3,062 \pm 0,026	- \pm -
G5%	D	3,025 \pm 0,063	3,080 \pm 0,035	3,040 \pm 0,036	- \pm -
410 nm					
NaCl 0.9%	S	0,428 \pm 0,005	0,436 \pm 0,006	0,488 \pm 0,004	0,683 \pm 0,024
G5%	S	0,421 \pm 0,009	0,447 \pm 0,011	0,491 \pm 0,006	0,728 \pm 0,010
NaCl 0.9%	D	0,067 \pm 0,005	0,081 \pm 0,004	0,125 \pm 0,003	- \pm -
G5%	D	0,063 \pm 0,003	0,080 \pm 0,004	0,169 \pm 0,018	- \pm -
550 nm					
NaCl 0.9%	S	0,007 \pm 0,002	0,006 \pm 0,001	0,010 \pm 0,003	0,018 \pm 0,015
G5%	S	0,002 \pm 0,001	0,005 \pm 0,001	0,004 \pm 0,002	0,012 \pm 0,001
NaCl 0.9%	D	0,006 \pm 0,003	0,008 \pm 0,005	0,003 \pm 0,002	- \pm -
G5%	D	0,003 \pm 0,001	0,004 \pm 0,003	0,043 \pm 0,048	- \pm -

VIII.4 Discussion

Les résultats obtenus pour l'étude de stabilité avec la ceftazidime seule sont semblables à ceux obtenus avec l'association ceftazidime/avibactam. En diffuseur à 37°C, la stabilité chimique n'est pas atteinte au bout de 24 heures. La seule différence est une moins bonne stabilité chimique en seringue avec l'utilisation du G5% comme solvant, avec une concentration inférieure à 90% de la concentration initiale. Dans les mêmes conditions (24 h, G5%, en seringue), plus de 90% de la concentration initiale était retrouvée avec l'association ceftazidime/avibactam.

Pour la pyridine, les mêmes ordres de grandeur sont retrouvés dans les deux études, avec une dizaine de mg retrouvée dès la préparation des solutions (en seringue et diffuseur). Le point d'analyse n°2 est différent entre les deux études (T8 h) pour la ceftazidime et (T12 h)

pour l'association ceftazidime/avibactam. Mais nous retrouvons les mêmes résultats avec le point d'analyse n°3. Cette étude confirme l'influence de la température et du solvant G5% sur la stabilité de la ceftazidime.

VIII.5 Conclusion

Dans le G5%, la ceftazidime présente une instabilité chimique, ne permettant une administration que sur 8 heures en seringue et en diffuseur. Diluée dans du NaCl 0,9%, la ceftazidime est stable à 125 mg/mL pendant 24 heures en seringue polypropylène et 8 heures à 25 mg/mL en diffuseur élastomérique.

DISCUSSION GENERALE

Au total, 7 études de stabilité physico-chimiques ont été réalisées au sein du laboratoire de contrôle analytique de la pharmacie. Quatre de ces études ont été effectuées à la fois en seringue polypropylène et en diffuseur élastomérique (pipéracilline/tazobactam, ceftolozane/tazobactam, ceftazidime et ceftazidime/avibactam). Deux études ont été réalisées en seringue uniquement (céfidérocol et méropénem). Une seule étude a été réalisée uniquement en diffuseur (témocilline).

I. Rôle du pharmacien hospitalier

La réalisation de ces études de stabilité rentre dans le cadre des missions à accomplir par le pharmacien hospitalier. D'un point de vue réglementaire, le rôle du pharmacien hospitalier est bien établi au travers des Bonnes Pratiques de Préparations (BPP) :

- le chapitre 1 des BPP indique que : « la date limite d'utilisation des préparations terminées est fixée à la suite d'études bibliographiques et/ou d'essais de stabilité ».
- le chapitre 2 des BPP souligne : « A côté des missions et exigences mentionnées, le pharmacien a d'autres attributions telles que [...] le contrôle de la stabilité des produits » (Bonnes pratiques de preparation 2007).

La réalisation d'études de stabilité est d'autant plus cruciale, que les données de stabilité fournies par les laboratoires pharmaceutiques ne permettent pas de répondre aux besoins cliniques en pratique quotidienne, en particulier pour des médicaments perfusés en continu à des fortes concentrations comme les antibiotiques (Vigneron, D'Huart , Demoré (2019)). Nous pouvons citer également le Dr Lawrence Trissel auteur du Handbook on Injectable Drugs - ASHP's Guide to IV Compatibility and Stability, « La science fait partie de notre mission et la stabilité et la compatibilité appliquées au milieu clinique contribuent à la sécurité des patients et font clairement partie de la recherche pharmaceutique clinique » (Trissel, 2012).

Même si toutes les pharmacies hospitalières ne disposent pas d'un laboratoire de contrôle analytique permettant de réaliser des études de stabilités, le pharmacien hospitalier a pour mission d'être capable d'interpréter la pertinence des données de stabilités disponibles dans la littérature, de juger la qualité de la méthodologie employée ou de la transposition des données dans la littérature à une pratique quotidienne. Le pharmacien s'inscrit donc comme

expert du médicament, en permettant l'amélioration de la prise en charge médicamenteuse du patient et en soutien aux équipes cliniques.

II. Limites rencontrées lors des études de stabilité

II.1 Seringue

Une limite physique a été rencontrée pour les études de stabilité du ceftolozane/tazobactam, du céfidérocol et de la pipéracilline/tazobactam, concernant le volume nécessaire à la reconstitution de la poudre. A la plus forte posologie journalière, pour ces trois antibiotiques et en respectant les différents RCP, il est impossible de réaliser une seringue d'un volume final de 48 mL. Des tests sur le volume de reconstitution n'ont pas été effectués en raison du prix élevé du ceftolozane/tazobactam et du céfidérocol (« Ceftolozane / tazobactam (Zerbaxa®) - Summary of Product Characteristics Laboratoires Merck Sharp & Dohme Chibret 2020 », ; « Fetcroja 1 g powder - Summary of Product Characteristics (SmPC) - (emc) »,). Cela a pour conséquence de préparer plusieurs seringues par le personnel infirmier, sur une même journée.

II.2 Diffuseur

Pour les diffuseurs élastomériques, nous avons choisi une température de stockage pour les études de stabilité de 37 °C. Voumard *et al.* ainsi que Docherty *et al.* ont démontré, qu'un diffuseur porté au contact de la peau du patient le long de la journée, la température dépasse largement 25°C, et pouvait atteindre 37°C. L'élévation de la température à plus de 30°C a été également démontrée en utilisant des sacoches isothermes, qui sont donc peu efficaces (Docherty, Montalto, Leslie, *et al.*, 2017; Voumard, Van Neyghem, Cochet, *et al.*, 2017). De nombreuses études de stabilité ont été conduites en diffuseur à une température de 25°C, or plusieurs antibiotiques ont une durée de stabilité bien inférieure à haute température. Nous avons l'exemple avec les études réalisées dans le cadre de cette thèse comme avec le ceftolozane/tazobactam et la ceftazidime. D'autres pénicillines sont particulièrement thermosensibles comme la pénicilline G, l'amoxicilline ou le céfotaxime, avec un risque de formation de précipité quand ces solutions sont portées à 37°C (Dhelens, Tall, Boisrame *et al.* 2019). La température est un des facteurs les plus importants dans la stabilité des médicaments. Une augmentation de 10°C de la température de conservation, peut conduire à

augmenter de 2 à 5 fois la vitesse des réactions de dégradation (Brossard, Chedru-Legros, Crauste-Manciet, *et al.*, 2013). La réalisation de l'ensemble des études en diffuseurs à 37°C, permet donc une marge de sécurité pour l'utilisation en pratique réelle.

Jenkins *et al.* dans leur revue de la littérature sur la stabilité des antibiotiques en diffuseur, révèlent la nécessité d'acquérir le plus rapidement possible de nouvelles données de stabilité en diffuseur à haute température et que de nombreuses études ne sont pas applicables en pratique courante (Jenkins, Shanu, Jamieson, *et al.*, 2021). Longuet *et al.* dans leur article « Préparer et administrer des antibiotiques injectables : Comment éviter de jouer à Dieu » évoquent la nécessité d'avoir plus de données pour réaliser des perfusions continues en diffuseur à haute température (Longuet, Lecapitaine, Cassard, *et al.*, 2016).

L'influence de la lumière sur la stabilité des solutions en diffuseurs n'a pas pu être évaluée pour l'ensemble des études de stabilité effectuées en diffuseur, du fait d'avoir recours à une étuve. Mais pour un usage courant, le diffuseur est porté sous les vêtements du patient. Si le diffuseur doit être exposé à la lumière, nous recommandons donc l'utilisation d'un emballage supplémentaire de protection solaire. Une autre limite vient du diffuseur élastomérique en lui-même, le débit dépend de la viscosité de la solution et donc du solvant utilisé et également de la température, ayant pour conséquence une marge d'erreur de $\pm 15\%$. Au maximum l'administration peut durer 27-28h pour une administration prévue sur 24 heures, la stabilité sur cette période supérieure à 24 heures n'a pas pu être évaluée.

II.3 Limites financières

La réalisation d'une étude de stabilité physico-chimique est un processus chronophage et coûteux. Pour les unités de soins intensifs, les études de stabilité peuvent se limiter à 24-48 heures. Avant la réalisation de l'étude de stabilité proprement dite, un processus de validation de la méthode analytique doit être réalisé afin de démontrer la capacité indicatrice de stabilité de la méthode, la linéarité, la répétabilité, la fidélité intermédiaire, la spécificité, etc. Cette étape est en particulier responsable du caractère chronophage que représente une étude de stabilité physico-chimique. Le coût d'une étude de stabilité est dépendant également du type de médicament étudié, plusieurs antibiotiques sont des génériques, comme le méropénem, la pipéracilline/tazobactam et la ceftazidime permettant de diminuer fortement les coûts. A titre d'exemple l'étude de stabilité du méropénem a nécessité une quinzaine de flacons, soit un total de 57,9 euros. En revanche, le prix d'un seul flacon de céfidérol à 1 g est de 160,65 euros.

II.4 Limites administratives

Les antibiotiques étudiés dans le cadre de ce travail sont agréés aux collectivités. L'utilisation en milieu hospitalier ne pose pas de problème hormis les ruptures commerciales comme pour le ZERBAXA® au cours de l'année 2020-2021. Mais actuellement, le ceftolozane/tazobactam, la ceftazidime/avibactam et le céfidérol sont des médicaments de la réserve hospitalière (« Article R.5121-82 et R.5121-83 du Code de Santé Public »,). Pour permettre de réaliser une antibiothérapie au domicile du patient, il sera nécessaire de réaliser une hospitalisation à domicile (HAD). Le recours à une HAD est un dispositif plus étendu en lien avec un établissement de santé (soumis à une certification), disponible 24h/24 et 7j/7.

La témocilline est rétrocédable, mais soumise à une prescription hospitalière (« Article L.5126-4 du Code de Santé Publique »,). Le méropénem, la ceftazidime et la pipéracilline/tazobactam sont disponibles en officines mais également soumis à une prescription hospitalière (« Article R.5121-84 à R.5121-86 du Code de Santé Public »,). Pour ces médicaments non soumis à la réserve hospitalière, un prestataire de santé pourra assurer le service au domicile des patients. Que ce soit pour la réalisation d'une HAD, ou l'utilisation d'un prestataire de soins, une formation de ces différents organismes est indispensable pour acquiescer l'utilisation de ces nouvelles données de stabilité. Cela nécessite une étroite collaboration entre la pharmacie, le médecin prescripteur, l'infirmière coordinatrice et également le patient.

III. Perspectives

A notre connaissance, il s'agit des premières études de stabilités réalisées pour le céfidérol et la ceftazidime/avibactam. Ces nouvelles données de stabilité sont cruciales sur ces antibiotiques de dernier recours permettant de réaliser une optimisation de leur paramètres PK/PD. A titre d'exemple, dès l'acquisition de ces données, plusieurs patients ont été traités en perfusion continue avec du céfidérol au CHRU de Nancy à partir de mai 2021.

A partir de ces données de stabilités, de nouveaux essais cliniques pourront être conduits sur ces molécules où l'avantage de la perfusion continue reste à démontrer : céfidérol, ceftazidime/avibactam, témocilline et ceftolozane/tazobactam pour les patients présents dans les unités de soins critiques. Les précédentes méta-analyses réalisées sur les autres β -lactamines révèlent l'intérêt de la perfusion continue, en particulier avec une baisse de la

mortalité observée par rapport aux patients recevant une perfusion intermittente (Kondo, Ota, Imura, *et al.*, 2020; Vardakas, Voulgaris, Maliaros, *et al.*, 2018).

Pour les autres données de stabilités dont l'intérêt de la perfusion continue a été démontré, comme pour le méropénem, la pipéracilline/tazobactam et la ceftazidime (Cousson, Floch, Guillard, *et al.*, 2015; Dulhunty, Roberts, Davis, *et al.*, 2013; Hubert, Le Roux, Lavrut, *et al.*, 2009), nos données permettent de les administrer dans le plus faible volume de perfusion possible, en pousse-seringue électrique permettant de limiter au maximum les volumes de perfusion pour des patients en restriction hydrique en particulier au sein des unités de soins intensifs.

















































L'intérêt de réaliser une administration intraveineuse au domicile du patient a déjà été démontré : efficacité en termes de diminution des effets secondaires liés à l'hospitalisation prolongée, reprise de l'autonomie facilitée, amélioration de la qualité de vie des patients et diminution du coût de la prise en charge (Goodfellow, Wai, Frighetto, *et al.*, 2002; Zahnd, Aebi, Rusterholz, *et al.*, 1999). A notre connaissance, aucune étude clinique randomisée n'a été réalisée à ce jour, pour déterminer si une antibiothérapie à domicile en perfusion continue est plus efficace d'un point de vue thérapeutique (succès thérapeutique, sans rechute) que l'administration par voie intermittente pour les antibiotiques temps-dépendant.

Les données de stabilité acquises au cours de ce travail en diffuseur élastomérique nous permettent de réaliser des perfusions continues au domicile du patient en toute sécurité. Ces données pourront également servir à de futurs essais cliniques pour déterminer si ces perfusions continues entraînent une amélioration d'un succès thérapeutique.


CONCLUSION

Au total, sept études de stabilité physico-chimiques ont été réalisées au sein du laboratoire de contrôle de la pharmacie. Ce travail a permis d'approfondir et d'acquérir de nouvelles connaissances sur la stabilité du céfidérocol, du ceftolozane/tazobactam, de la pipéracilline/tazobactam, de la témocilline, de la ceftazidime, de la ceftazidime/avibactam et du méropénem. Le récapitulatif de l'ensemble des durées de stabilité validées pour ces antibiotiques est présenté dans le tableau XVIII ci-dessous :

Tableau XVIII : Récapitulatif des durées de stabilité validées d'antibiotiques

Molécule	Contenant	Concentration	Température	Solvant	Lumière	Heures
Céfidérocol		62,5 mg/mL	25°C	 		12 h
Ceftolozane/tazobactam		62,5/31,25 mg/mL	25°C	 		24 h
Ceftolozane/tazobactam		25/12,5 mg/mL	37°C	 		8 h
Pipéracilline/tazobactam		125/15,62	25°C	 		48 h
Pipéracilline/tazobactam		66,67/8,33	37°C			24 h
Pipéracilline/tazobactam		66,67/8,33	37°C			8 h
Ceftazidime/avibactam		125/31,25 mg/mL	25°C	 		24 h
Ceftazidime/avibactam		25/6,25 mg/mL	37°C			12 h
Ceftazidime		125 mg/mL	25°C			24 h
Ceftazidime		125 mg/mL	25°C			8 h
Ceftazidime		25 mg/mL	37°C	 		8 h
Témocilline		25 mg/mL	37°C			24 h
Méropénem		41,7 mg/mL	25°C			8 h
Méropénem		41,7 mg/mL	25°C			4 h

 : Glucose 5%

 : NaCl 0,9%

Ces nouvelles données de stabilité, permettant l'amélioration de la prise en charge médicamenteuse des patients au sein des services de soins critiques et pour les patients éligibles à l'antibiothérapie par voie parentérale à domicile, seront communiquées aux professionnels de santé de notre établissement, et également incrémentées dans la base de données Stabilis®, pour être accessibles au plus grand nombre.

LISTE DES ANNEXES

- Annexe 1 : Abstract pipéracilline/tazobactam 24^{èmes} journées européennes du GERPAC 2021
- Annexe 2 : Communication affichée pipéracilline/tazobactam aux 24^{èmes} journées européennes du GERPAC 2021
- Annexe 3 : Validation méthode/tests statistiques, pipéracilline (Valistab[®])
- Annexe 4 : Validation méthode/tests statistiques, tazobactam (Valistab[®])
- Annexe 5 : Abstract ceftolozane/tazobactam 25^{èmes} congrès de l'EHP 2021
- Annexe 6 : Communication affichée ceftolozane/tazobactam 25^{èmes} congrès de l'EHP 2021
- Annexe 7 : Validation méthode/tests statistiques, ceftolozane (Valistab[®])
- Annexe 8 : Validation méthode/tests statistiques, tazobactam ZERBAXA[®] (Valistab[®])
- Annexe 9 : Abstract méropénem, 25^{èmes} congrès de l'EHP 2021
- Annexe 10 : Communication affichée méropénem, 25^{èmes} congrès de l'EHP 2021
- Annexe 11 : Validation méthode/tests statistiques, méropénem (Valistab[®])
- Annexe 12 : Validation méthode/tests statistiques, céfidérol (Valistab[®])
- Annexe 13 : Abstract témocilline, 16^{èmes} rencontres CSH 2021
- Annexe 14 : Communication affichée témocilline, 16^{èmes} rencontres CSH 2021
- Annexe 15 : Validation méthode/tests statistiques, témocilline (Valistab[®])
- Annexe 16 : Abstract ceftazidime/avibactam, 21^{èmes} journées nationales d'infectiologie JNI 2021
- Annexe 17 : Communication affichée ceftazidime/avibactam, 21^{èmes} journées nationales d'infectiologie JNI 2021
- Annexe 18 : Validation méthode analytique n° 2 /tests statistiques, pyridine (Valistab[®])
- Annexe 19 : Validation méthode analytique n° 2 /tests statistiques, ceftazidime (Valistab[®])
- Annexe 20 : Validation méthode analytique 1 /tests statistiques, avibactam (Valistab[®])
- Annexe 21 : Validation méthode analytique 1 /tests statistiques, ceftazidime (Valistab[®])
- Annexe 22 : Abstract ceftazidime, 16^{èmes} rencontres CSH 2021
- Annexe 23 : Communication affichée, ceftazidime, 16^{èmes} rencontres CSH 2021

24^{èmes} journées européennes du GERPAC**2021****Stabilité physicochimique de la pipéracilline/tazobactam en seringue et en diffuseur portable pour une administration continue en service de soins critiques et à domicile****Auteurs : LOEUILLE Guillaume¹, VIGNERON Jean^{1,4}, D'HUART Elise^{1,4}, CHARMILLON Alexandre², DEMORE Béatrice^{1,3,4}**

1 Pharmacie, CHRU de Nancy, Allée du Morvan, 54511 Vandœuvre-lès-Nancy, France

2 Equipe transversale d'infectiologie, CHRU de Nancy, Allée du Morvan, 54511 Vandœuvre-lès-Nancy, France

3 Université de Lorraine, EA 4360 APEMAC, Nancy, France.

4 Infostab, Association à but non lucratif, 54180 Heillecourt France

Introduction

La pipéracilline/tazobactam est la combinaison d'une ureidopénicilline et d'un inhibiteur de β -lactamase. Antibiotique temps-dépendant de la famille des β -lactamines, l'administration en continu améliore son efficacité. La posologie recommandée est de 16/2 g/j pour les infections sévères. Son intérêt à l'hôpital repose sur son très large spectre, étant actif sur des bactéries à Gram + et à Gram -. Des données de stabilité existent (en seringue et en diffuseur), toutefois ces études sont anciennes avec un niveau de preuve peu élevé.

L'objectif est d'étudier la stabilité physicochimique de la pipéracilline/tazobactam à 125/15,62 mg/mL (6/0,75 g dans 48 mL), en seringue polypropylène, conservées à 20-25°C pour une administration continue en service de soins intensifs et à 66,67/8,33mg/mL (16/2 g dans 240 mL) en diffuseur élastomérique, conservées à 37 °C, à l'abri de la lumière pour une administration continue à domicile.

Matériels et méthodes

Trois diffuseurs et 3 seringues ont été préparés pour chaque condition. A chaque temps d'analyse, 3 échantillons de chaque préparation ont été analysés avec une méthode validée selon les ICH Q2(R1) par chromatographie liquide haute performance couplée à un détecteur à barrette de diodes à 210 nm. La stabilité physique a été évaluée par une inspection visuelle et subvisuelle (turbidimétrie par spectrophotométrie à 350, 410 et 550 nm et par un comptage particulaire). Les valeurs de pH ont été mesurées. Les solutions ont été diluées dans du chlorure de sodium 0,9% (NaCl 0,9%) ou dans du glucose 5% (G5%) et analysées à T0, T8, T24 et T48 heures.

Résultats

La linéarité a été validée avec un R² de 0,9999 pour la pipéracilline et le tazobactam. Les coefficients de variation pour la répétabilité et la précision intermédiaire étaient inférieurs à 2% pour les 2 molécules. Le temps de rétention est de 2,2 min pour le tazobactam et de 13,5 min pour la pipéracilline. Après 48h, le tazobactam en seringues et en diffuseurs a conservé plus de 90% de sa concentration initiale dans les 2 solvants. Après 48h en seringue et 24h en diffuseur, la pipéracilline a conservé plus de 90% de sa concentration initiale dans les 2 solvants. Aucune instabilité physique, visuelle n'a été détectée tout au long de l'étude. L'analyse par spectrophotométrie révèle une modification de l'absorbance à 350 nm, l'analyse spectrale du produit de dégradation (n°7) pourrait être la cause de ce changement.. Le pH varie de plus d'une unité dans les diffuseurs dilués avec du NaCl 0.9% au bout de 24 heures.

Conclusion

En seringue polypropylène la pipéracilline/tazobactam à 125/15,62 mg/mL est stable, diluée dans du NaCl 0,9% ou du G5% pendant 48 heures, conservé à température ambiante. Pour un retour à domicile, une administration en diffuseur a été validée à 66,67/8,33mg/mL dans du G5% avec une stabilité sur 24h à 37°C, mais pas dans du NaCl 0,9%.

Stabilité physicochimique de la pipéracilline/tazobactam en seringue et en diffuseur portable pour une administration continue en service de soins critiques et à domicile

Contact:
infostab@wanadoo.fr

N° 21-82658


LOEUILLE Guillaume¹, VIGNERON Jean^{1,4}, D'HUART Elise^{1,4}, CHARMILLON Alexandre², DEMORE Béatrice^{1,3,4}
 1. Pharmacie, CHRU de Nancy, Allée du Morvan, 54511 Vandœuvre-lès-Nancy, France
 2. Équipe transversale d'infectiologie, CHRU de Nancy, Allée du Morvan, 54511 Vandœuvre-lès-Nancy, France
 3. Université de Lorraine, EA 4360 APEMAC, Nancy, France.
 4. Infostab, association à but non lucratif, 54180 Heillecourt, France

INTRODUCTION

- La pipéracilline/tazobactam est un antibiotique (combinaison d'une uréidopénicilline et d'un inhibiteur de β -lactamase).
- La posologie recommandée varie de 12/1,5 à 16/2 g/j pour les infections graves.
- Antibiotique temps-dépendant: une administration en continu permet une meilleure efficacité thérapeutique.
- Son intérêt à l'hôpital repose sur son très large spectre, étant actif sur des bactéries à Gram + et à Gram -.
- Des données de stabilité existent (en seringue et en diffuseur), toutefois ces études présentent le plus souvent un niveau de preuve peu élevé.

OBJECTIFS

- Étudier la stabilité physicochimique de la pipéracilline/tazobactam.

	NaCl 0,9% et G5%	6 g/0,75 g dans 48 mL <i>Soit 12,5/15,62 mg/mL</i>	20-25 °C 	T 0h, 8h, 24h, 48h
		16 g/2 g dans 240 mL <i>Soit 66,67/8,33 mg/mL</i>	37 °C 	

DISCUSSION

- 1^{ere} étude à notre connaissance à retrouver une augmentation de plus d'une unité pH pour les diffuseurs dilués avec du NaCl 0,9% conservé à 37°C.
- L'7 de l'absorbance à 350 nm observées dans toutes les conditions est sans doute due à un produit de dégradation, probablement le n°6 (analyse spectrale)
- Le tazobactam est bien plus stable chimiquement que la pipéracilline, en particulier avec l'exposition à la chaleur.
- Impossible de réaliser une seringue de 48 mL, à 12 ou 16 g de pipéracilline en raison d'un trop grand volume de reconstitution nécessaire (la poudre se dissout très difficilement).

CONCLUSION

	NaCl 0,9% Ou G5%	6 g/0,75 g dans 48 mL <i>Soit 12,5/15,62 mg/mL</i>	20-25 °C 	Stable 48 h
	G5%	16 g/2 g dans 240 mL <i>Soit 66,67/8,33 mg/mL</i>	37 °C 	Stable 24 h

MATÉRIEL ET MÉTHODES

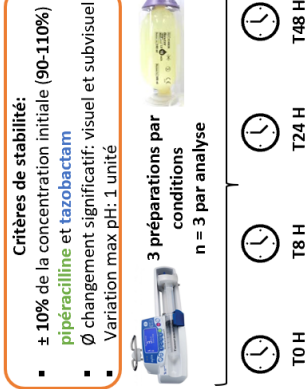
STABILITÉ CHIMIQUE

- Méthode : CLHP en phase inverse, avec un détecteur DAD à 210 nm [2], Cl18 Licrospher® 12,5 cm, taille particule = 5 μ m
- Phase mobile gradient: KH_2PO_4 (0,02M) / acétonitrile de 92,5/7,5 à 70/30 (v/v), ajusté pH 2,5 avec de l'acide orthophosphorique.
- Débit : 1,5 ml/min Volume d'injection : 10 μ l

VALIDATION MÉTHODE selon les ICH Q2R1

- Linéarité, répétabilité et précision intermédiaire
- Dégradation forcée : HCl 0,01M (2h + 40°C); NaOH 0,01 M (40 min); UV (3h à 254 nm), thermique (2h à 75°C); H_2O_2 0,03% (2h + 40°C)
- Mesure pH (Bioblock Scientific pH meter)

SCHEMA DE L'ETUDE



STABILITÉ PHYSIQUE

- Inspection visuelle :
 - Recherche d'un changement de couleur, formation d'un précipité ou de gaz.
- Inspection subvisuelle :
 - Comptage particulaire (PAMAS SVSS)
 - Mesure de la turbidimétrie par un spectrophotomètre à 350, 450 et 550 nm (Safas Monaco UV m²)

ICH : International conference on harmonisation.
 CLHP : Chromatographie liquide haute performance.
 [2] Conor et al/efjpharm-2020-002340

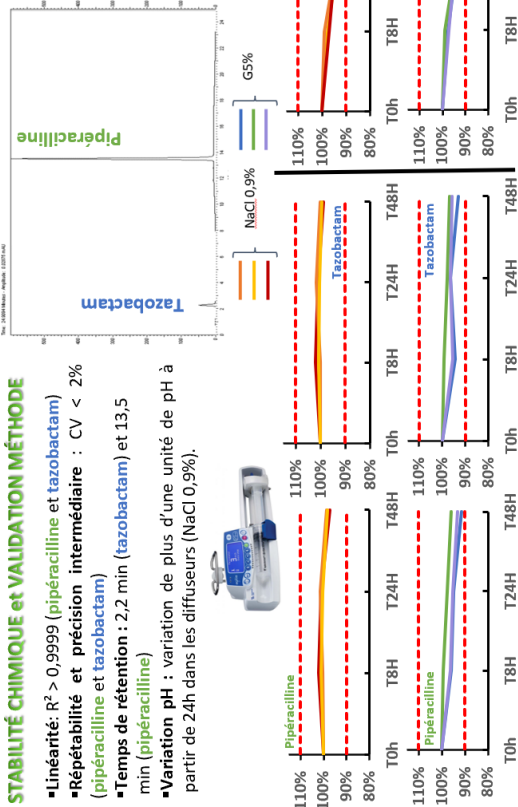
RÉSULTATS

STABILITÉ CHIMIQUE ET VALIDATION MÉTHODE

- Linéarité: $R^2 > 0,9999$ (pipéracilline et tazobactam)
- Répétabilité et précision intermédiaire : CV < 2%
- Temps de rétention : 2,2 min (tazobactam) et 13,5 min (pipéracilline)
- Variation pH : variation de plus d'une unité de pH à partir de 24h dans les diffuseurs (NaCl 0,9%).

STABILITÉ PHYSIQUE

- Inspection visuelle:
 - Aucun changement visuel détecté en seringue et en diffuseur
- Inspection subvisuelle:
 - Pas de changement significatif à 410 et 550 nm
 - NaCl 0,9%/G5% : \uparrow progressive de l'absorbance à 350 nm en seringue et en diffuseur
 - Comptage particulaire \rightarrow conforme au test \checkmark



Annexe 3 : Validation méthode/tests statistiques, piperacilline (Valistab®)

1. Homogénéité des variances : TEST DE COCHRAN

Molécule de l'étude: **piperacilline**

C	Répétitions			VAR
	Surface 1	Surface 2	Surface 3	
100,000	5802835	5787774	5622010	1,01E+10
200,000	11535642	11359543	11113390	4,50E+10
300,000	17175067	16501721	16882284	1,14E+11
400,000	22737158	22554882	22552216	1,12E+10
500,000	27957349	27806992	27995356	9,92E+09
			SUM VAR	1,90E+11

VAR MAX	Tf
1,14E+11	0,599

Répétitions	3
Nb points	5
Tf théorique	5% 0,684

Si Tf est inférieur à la valeur critique Tf théorique, le test n'est pas significatif (on ne met pas en évidence de différences entre les variances) et on peut conclure à l'homogénéité des variances considérées.

CONFORME

2. Linéarité : Analyse de variances ANOVA

C	Répétitions			SUM Xyi	SCEyi
	Surface 1	Surface 2	Surface 3		
100,000	5802835,333	5787773,667	5622010,333	1721261933	20134005702
200,000	11535642	11359543	11113390	6801715000	89966302905
300,000	17175067	16501721,33	16882284,33	15167721800	227981424563
400,000	22737158	22554882	22552216	27137702400	22478397032
500,000	27957349	27806991,67	27995355,67	41879848167	19844276965

SCEx	SUM XiYi	SPExy
300000,00	92708249300	16692983500

SOURCE	SCE	Degrés Liberté	Variances	F	F limite (α = 0,05)
Linéarité	9,29E+14	1	9,29E+14	24417,50	4,67
Non-linéarité	1,13E+11	3	3,75E+10	0,99	3,71
Résiduelle	3,80E+11	10	3,80E+10		
Total	9,29E+14	14			

F linéarité > F linéarité limite, la pente existe au risque considéré.

CONFORME

F non-linéarité < F non-linéarité limite, la droite est en bonne adéquation avec un modèle linéaire au risque considéré.

CONFORME

3. Coefficients du modèle linéaire

SCEx	SCEy	SPExy	Moy x	Moy y
300000	9,29345E+14	16692983500	300,000	16892281

a1	a0
55643,27833	199297,7889

var res	var pente	var a0
37917417439	126391,3915	13903053061

pour alpha = 0.05 t(1-α/2)= 2,16

54875	<	valeur vraie pente	<	56411
-55390	<	valeur vraie intersection	<	453986

La droite passe par 0 au risque considéré.

4. Résidus

Molécule de l'étude: **piperacilline**

C	Unité	J1	J2	J3
100	Unité	5802835,333	5787773,667	5622010,333
200	Unité	11535642	11359543	11113390
300	Unité	17175067	16501721,33	16882284,33
400	Unité	22737158	22554882	22552216
500	Unité	27957349	27806991,67	27995355,67

Concentration calculée

J1	J2	J3
97,53801245	100,585626	100,4638633
200,8122073	201,4617535	198,200433
302,4041691	294,5601944	300,876259
402,6029902	404,1518467	401,7907296
496,642621	499,2405794	498,668715

Modèle linéaire : $y = 55643,27833 X + 199297,7889$

C	Residues
100	-2,462
100	0,586
100	0,464
200	0,812
200	1,462
200	-1,800
300	2,404
300	-5,440
300	0,876
400	2,603
400	4,152
400	1,791
500	-3,357
500	-0,759
500	-1,331

Résidus positifs	9
Résidus négatifs	6

Conclusion :

Si le ratio positif versus négatif est équilibré, le modèle linéaire est estimé adéquate.

Oui

5. Exactitude

L'exactitude se caractérise par l'étroitesse de l'accord entre un résultat d'essais et la valeur de référence acceptée.

Molécule de l'étude: **piperacilline**

	C	Unité	J1	J2	J3
C basse	100	Unité	5802835,333	5787773,667	5622010,333
C moyenne	300	Unité	17175067	16501721,33	16882284,33
C haute	500	Unité	27957349	27806991,67	27995355,67

Concentration calculée		
J1	J2	J3
97,53801245	100,585626	100,4638633
302,4041691	294,5601944	300,876259
496,642621	499,2405794	498,668715

%		
97,54	100,59	100,46
100,80	98,19	100,29
99,33	99,85	99,73

Moyenne des % 99,64 %
SD 1,12

Valeur test Student t à un risque égal à 5% : **2,14**

Intervalle de confiance	
Compris entre	98,84 and 100,44

Si la valeur 100 % n'est pas compris dans l'intervalle de confiance, cela doit être justifié.

CONFORME

Annexe 4 : Validation méthode/tests statistiques, tazobactam (Valistab®)

1. Homogénéité des variances : TEST DE COCHRAN

Molécule de l'étude: **tazobactam**

C	Répétitions			VAR
	Surface 1	Surface 2	Surface 3	
12,500	435390	434345	419734	7,66E+07
25,000	872479	860750	836027	3,46E+08
37,500	1305313	1255057	1282835	6,34E+08
50,000	1737536	1666406	1724188	1,43E+09
62,500	2152713	2137258	2155266	9,49E+07
			SUM VAR	2,58E+09

VAR MAX	Tf
1,43E+09	0,554

Répétitions	3
Nb points	5
Tf théorique	5% 0,684

Si Tf est inférieur à la valeur critique Tf théorique, le test n'est pas significatif (on ne met pas en évidence de différences entre les variances) et on peut conclure à l'homogénéité des variances considérées.

CONFORME

2. Linéarité : Analyse de variances ANOVA

C	Répétitions			SUM Xyi	SCEyi
	Surface 1	Surface 2	Surface 3		
12,500	435390	434345,3333	419734,3333	16118371	153224183
25,000	872479	860750	836027	64231400	692514825
37,500	1305313	1255057,333	1282835	144120200	1267497094
50,000	1737536	1666406	1724188	256406500	2858801843
62,500	2152713	2137257,667	2155266,333	402827313	189899638

SCEx	SUM XiYi	SPExy
4687,50	883703783	160880108

SOURCE	SCE	Degrés Liberté	Variances	F	F limite (α = 0,05)
Linéarité	5,52E+12	1	5,52E+12	10696,72	4,67
Non-linéarité	2,23E+08	3	7,43E+07	0,14	3,71
Résiduelle	5,16E+09	10	5,16E+08		
Total	5,53E+12	14			

F linéarité > F linéarité limite, la pente existe au risque considéré.

CONFORME

F non-linéarité < F non-linéarité limite, la droite est en bonne adéquation avec un modèle linéaire au risque considéré.

CONFORME

3. Coefficients du modèle linéaire

SCEx	SCEy	SPExy	Moy x	Moy y
4688	5,52697E+12	160880108	37,500	1285020

a1	a0
34321,08978	-2021

var res	var pente	var a0
414210828,3	88364,97671	151877303,7

pour alpha = 0.05 t(1-α/2)= 2,16

33679	<	valeur vraie pente	<	34963
-28641	<	valeur vraie intersection	<	24599

La droite passe par 0 au risque considéré.

4. Résidus

Molécule de l'étude: **tazobactam**

C	Unité	J1	J2	J3
12,5	Unité	435390	434345,3333	419734,3333
25	Unité	872479	860750	836027
37,5	Unité	1305313	1255057,333	1282835
50	Unité	1737536	1666406	1724188
62,5	Unité	2152713	2137257,667	2155266,333

Concentration calculée		
J1	J2	J3
12,3443032	12,67446952	12,72851539
25,05125645	25,33048947	24,66563342
37,63450929	37,03383576	37,47777319
50,19999928	49,242982	50,13349181
62,26993178	63,21822325	62,49458619

Modèle linéaire : $y = 34321,08978 X + -2021$

C	Residues
12,5	-0,156
12,5	0,174
12,5	0,229
25	0,051
25	0,330
25	-0,334
37,5	0,135
37,5	-0,466
37,5	-0,022
50	0,200
50	-0,757
50	0,133
62,5	-0,230
62,5	0,718
62,5	-0,005

Résidus positifs	8
Résidus négatifs	7

Conclusion :

Si le ratio positif versus négatif est équilibré, le modèle linéaire est estimé adéquate.

Oui

5. Exactitude

L'exactitude se caractérise par l'étroitesse de l'accord entre un résultat d'essais et la valeur de référence acceptée.

Molécule de l'étude: **tazobactam**

	C	Unité	J1	J2	J3
C basse	12,5	Unité	435390	434345,3333	419734,3333
C moyenne	37,5	Unité	1305313	1255057,333	1282835
C haute	62,5	Unité	2152713	2137257,667	2155266,333

Concentration calculée		
J1	J2	J3
12,3443032	12,67446952	12,72851539
37,63450929	37,03383576	37,47777319
62,26993178	63,21822325	62,49458619

%		
98,75	101,40	101,83
100,36	98,76	99,94
99,63	101,15	99,99

Moyenne des % 100,20 %
SD 1,10

Valeur test Student t à un risque égal à 5%: **2,14**

Intervalle de confiance	
Compris entre	99,42 and 100,98

Si la valeur 100 % n'est pas compris dans l'intervalle de confiance, cela doit être justifié.

CONFORME

Physicochemical stability of CEFTOLOZANE/TAZOBACTAM in polypropylene syringes at 61.5/31.25 mg/mL and in elastomeric devices at 25.0/12.5 mg/mL

Authors: G.Loeuille¹, J.Vigneron^{1,4}, E.D'Huart^{1,4}, A.Charmillon², B.Demoré^{1,3,4}

¹ Pharmacy Department, University Hospital of Nancy, Allée du Morvan, 54511 Vandoeuvre-lès-Nancy, France

² Infectious and Tropical Diseases Service, University Hospital of Nancy, Allée du Morvan, 54511 Vandoeuvre-lès-Nancy, France

³ Lorraine University, EA 4360 APEMAC, Nancy, France.

⁴ Infostab, French non-profit association, 54180 Heillecourt France

Introduction:

Ceftolozane/tazobactam is a combination of a new third-generation cephalosporin and a β -lactamase inhibitor used to treat infections caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. The usual dose is 3 g per day. To the best of our knowledge, no stability data for ceftolozane/tazobactam at 62.5 mg/mL in polypropylene syringes (PS) for intensive care units or at 25.0/12.5 mg/mL in elastomeric devices (ED) for home administration, have been published.

Purpose:

The objective was to study the stability of ceftolozane/tazobactam solutions at 62.5/31.25 mg/mL, diluted in 0.9% sodium chloride (0.9% NaCl) or dextrose 5% in water (D5W), in PS after storage at 20-25°C, not protected from light, and solutions at 25.0/12.5 mg/mL diluted in 0.9% NaCl or D5W in ED after storage at 37°C, during a 48 hours period.

Materials and method:

Three preparations for each condition were performed. At each time of analysis, one sample for each preparation was analysed by a validated High Performance Liquid Chromatography method coupled to a photodiode array detector at 220 nm. Physical stability was evaluated by visual and subvisual inspection (turbidimetry by UV spectrophotometry at 350, 410 and 550 nm as recommended by the European Consensus Conference). pH values were measured.

Results:

The linearity has been validated with an R^2 of 0.9999. The coefficients of variation on repeatability and intermediate precision were less than 2%. In 0.9% NaCl and D5W, ceftolozane/tazobactam retained more than 90 % of the initial concentration after 48 hours in PS. After 24 hours in ED the concentration of ceftolozane remaining was 91% in 0.9% NaCl and 89% in D5W. A major degradation product, observed during the forced degradation, appeared progressively after 8 hours. At 24 hours in ED it represents 3.8% of the total peak area. A second degradation product eluted with tazobactam. After 24 hours the solutions have yellowed in the ED. During the stability study, pH values were all between 5.95 and 5.26.

Conclusion:

In ED, ceftolozane/tazobactam was unstable at 37°C in D5W and in 0.9% NaCl. Ceftolozane/tazobactam was stable at 62.5/31.25 mg/mL in PS diluted in 0.9% NaCl or D5W for 48 hours, allowing continuous intravenous infusion.

Physicochemical Stability of Ceftolozane/Tazobactam in Polypropylene Syringes and in Elastomeric Devices

LOEUILLE Guillaume¹, VIGNERON Jean^{1,4}, D'HUART Elise^{1,4}, CHARMILLON Alexandre², DEMORE Béatrice^{1,3,4}¹ Pharmacy, CHRU de Nancy, Allée du Morvan, 54511 Vandoeuvre-lès-Nancy, France³ Université de Lorraine, EA 4360 APEMAC, Nancy, France.² Infectious diseases department, CHRU de Nancy, Allée du Morvan, 54511 Vandoeuvre-lès-Nancy, France ⁴ Infostab, French non-profit association, 54180 Heillecourt FranceN°: 3PC-059
ATC code D06

INTRODUCTION

- **Ceftolozane (cef)/tazobactam (taz)** 1/0,5 g (**ZERBAXA**[®]): combination of a new 3th generation cephalosporin and a β -lactamase inhibitor.
- **Ceftolozane/tazobactam** is used to treat **severe infection** (multi-resistant germs as *Pseudomonas aeruginosa*)
- The usual dose is **3/1.5 g** per day and **6/3 g** per day for serious infection (divided in 3 injections per day).
- β -lactam antibiotics have a **time-dependent** activity, the **continuous administration** of which improves therapeutic effectiveness.
- Should be validate **long terms stability**.

PURPOSE

Studied the **physicochemical stability** of **ceftolozane/tazobactam**

	Normal saline (0.9 % NaCl) and	62.5/31.3 mg/mL	20-25 °C	T0h, 8h, 24h, 48h
	Dextrose 5% in Water (D5W)	25/12.5 mg/mL	37 °C	

MATERIALS AND METHOD

CHEMICAL STABILITY

- Method:** RP-HPLC with DAD detector at 220 nm
- C18 LiCrospher[®] 12.5 cm, particule size = 5 μ m
 - **Mobile phase:** isocratic: potassium phosphate buffer (50 mM) / acetonitrile 1000/26 (v/v), pH = 3.4 adjusted with HCl 1 M
 - **Flow rate:** 1 mL / min
 - **Injection volume:** 20 μ L
- **VALIDATION ACCORDING TO THE ICH Q2(R1)**
- **Forced degradation** → : HCl 1M (3h30); NaOH 0.01 M (15 min); UV (45 min at 254 nm); heat (3h at 70°C)
 - **Linearity:** standard curve with 5 points: 50 - 150 μ g/mL (cef)
 - **Repeatability and intermediate precision:** 50-100-150 μ g/mL (cef)
 - **pH measurement** (Bioblock Scientific pH meter)

PHYSICAL STABILITY

- **Visual inspection:** search for colour change, precipitation and gaz formation
- **Subvisual inspection:** turbidimetry by spectrophotometry at 350, 410 and 550 nm (Safas Monaco UV m²)

STUDY DESIGN



T0 H
T8 H
T24 H
T48 H

- **Analysis by HPLC:** concentration and degradation products: 3 samples by preparation
- **pH measurement**
- **Visual inspection**
- **Turbidimetry**

Agreement of STABILITY:

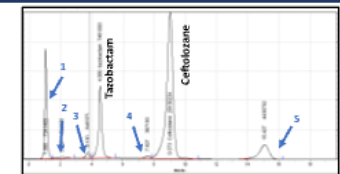
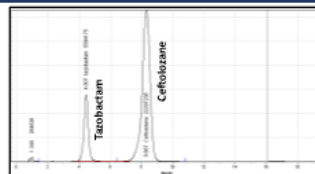
- $\pm 10\%$ of the initial concentration
- no significant subvisual, visual and pH variation

ICH: International conference on harmonisation.

RESULTS

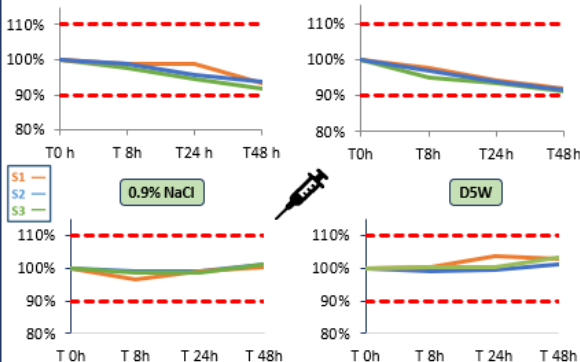
METHOD VALIDATION

- **Linearity :** $R^2 > 0.9999$ (cef) and (taz)
- **Repeatability and intermediate precision :** CV < 2%
- **Retention time:** 4.8 min (taz) and 8.7 min (cef)
- **Stability indicating capacity :** detection of 13 degradation products (in all stressed conditions)

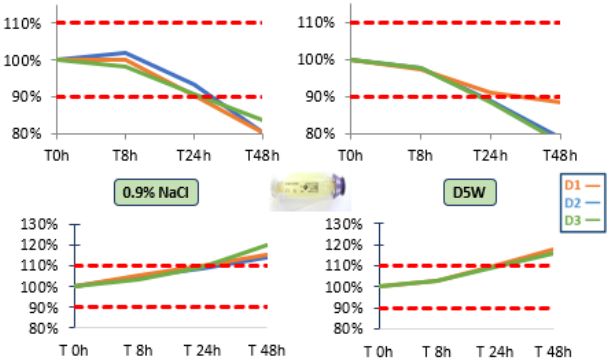


CHEMICAL STABILITY

Storage : 20-25°C, light, concentration: 62.5/31.3 mg/mL



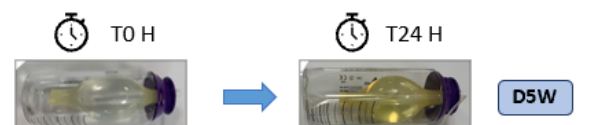
Storage : 37 °C, protect from light, concentration: 25/12.5 mg/mL



- **Degradation product:** peak n°1 with a retention time at 1.34 min also observed after the forced degradation gradually increased in all condition.
- **pH measurements :** decreased slightly with maximum variation : **0.7 unit pH** (5.95 \rightarrow 5.26), T0h \rightarrow T48h for elastomeric devices. (D5W)

PHYSICAL STABILITY

- **Visual aspect:** **yellowing** at 24 hours in elastomeric devices (0.9% NaCl an D5W)
- **Subvisual aspect:** \nearrow significant of the absorbance values at **350 and 410 nm** wavelength after 24 hours in **elastomeric devices** (0.9% NaCl an D5W).



CONCLUSION

- Physicochemical stability of **ceftolozane/tazobactam** at **62.5/31.5 mg/mL** in **0.9% NaCl** and **D5W** was proved for **48h** in **syringes**
- Administration by **continuous infusion** in a minimal volume of solution.
- In **elastomeric devices**, **ceftolozane/tazobactam** at **25/12.5 mg/mL** was **stable at 37°C** in the **D5W** and **0.9% NaCl** for **8 hours**
- Possible stability of 12 hours, further study to be carried out.

Annexe 7 : Validation méthode/tests statistiques, ceftolozane (Valistab®)

1. Homogénéité des variances : TEST DE COCHRAN

Molécule de l'étude: Ceftolozane				
	Répétitions			
C	Surface 1	Surface 2	Surface 3	VAR
50,000	7205058	7219076	6781657	6,18E+10
100,000	14429136	14722461	14330305	4,16E+10
150,000	21364387	22427005	22099164	2,96E+11
200,000	28479222	29490007	28668976	2,89E+11
250,000	35285926	37031488	36903200	9,47E+11
			SUM VAR	1,63E+12
VAR MAX	Tf			
9,47E+11	0,579			
		Répétitions	3	
		Nb points	5	
		Tf théorique	5%	0,684

Si Tf est inférieur à la valeur critique Tf théorique, le test n'est pas significatif (on ne met pas en évidence de différences entre les variances) et on peut conclure à l'homogénéité des variances considérées.

CONFORME

2. Linéarité : Analyse de variances ANOVA

	Répétitions				
C	Surface 1	Surface 2	Surface 3	SUM Xyi	SCEyi
50,000	7205058	7219076	6781657	1060289550	123600097562
100,000	14429136	14722461	14330305	4348190200	83197816841
150,000	21364387	22427005	22099164	9883583400	592177991645
200,000	28479222	29490007	28668976	17327641000	577261599901
250,000	35285926	37031488	36903200	27305153500	1893006565955

SCEx	SUM XiYi	SPExy
75000,00	59924857650	10959297450

SOURCE	SCE	Degrés Liberté	Variances	F	F limite (α = 0,05)
Linéarité	1,60E+15	1	1,60E+15	4898,43	4,67
Non-linéarité	2,56E+11	3	8,53E+10	0,26	3,71
Résiduelle	3,27E+12	10	3,27E+11		
Total	1,60E+15	14			

F linéarité > F linéarité limite, la pente existe au risque considéré.

CONFORME

F non-linéarité < F non-linéarité limite, la droite est en bonne adéquation avec un modèle linéaire au risque considéré.

CONFORME

3. Coefficients du modèle linéaire

SCEx	SCEy	SPExy	Moy x	Moy y
75000	1,60494E+15	10959297450	150,000	21762471

a1	a0
146123,966	-156123,7

var res	var pente	var a0
2,71171E+11	3615612,666	99429348303

pour alpha = 0.05 t(1-α/2)= 2,16

142017	<	valeur vraie pente	<	150231
-837224	<	valeur vraie intersection	<	524977

La droite passe par 0 au risque considéré.

4. Résidus

Molécule de l'étude: **Ceftolozane**

C	Unité	J1	J2	J3
50	Unité	7205058	7219076	6781657
100	Unité	14429136	14722461	14330305
150	Unité	21364387	22427005	22099164
200	Unité	28479222	29490007	28668976
250	Unité	35285926	37031488	36903200

Concentration calculée

J1	J2	J3
49,24995964	49,45923621	49,60679392
100,6948431	99,89038258	100,213325
150,0829006	151,6735426	152,296162
200,749831	199,1448222	196,3405253
249,2224657	249,8320164	251,5431937

Modèle linéaire : $y = 146123,966 X + -156123,7$

C	Residues
50	-0,750
50	-0,541
50	-0,393
100	0,695
100	-0,110
100	0,213
150	0,083
150	1,674
150	2,296
200	0,750
200	-0,855
200	-3,659
250	-0,778
250	-0,168
250	1,543

Résidus positifs	7
Résidus négatifs	8

Conclusion :

Si le ratio positif versus négatif est équilibré, le modèle linéaire est estimé adéquate.

Oui

5. Exactitude

L'exactitude se caractérise par l'étroitesse de l'accord entre un résultat d'essais et la valeur de référence acceptée.

Molécule de l'étude: **Ceftolozane**

	C	Unité	J1	J2	J3
C basse	50	Unité	7205058	7219076	6781657
C moyenne	150	Unité	21364387	22427005	22099164
C haute	250	Unité	35285926	37031488	36903200

Concentration calculée		
J1	J2	J3
49,24995964	49,45923621	49,60679392
150,0829006	151,6735426	152,296162
249,2224657	249,8320164	251,5431937

%		
98,50	98,92	99,21
100,06	101,12	101,53
99,69	99,93	100,62

Moyenne des % 99,95 %
SD 1,01

Valeur test Student t à un risque égal à 5%: **2,14**

Intervalle de confiance	
Compris entre	99,24 and 100,67

Si la valeur 100 % n'est pas compris dans l'intervalle de confiance, cela doit être justifié.

CONFORME

Annexe 8 : Validation méthode/tests statistiques, tazobactam ZERBAXA® (Valistab®)

1. Homogénéité des variances : TEST DE COCHRAN

Molécule de l'étude: Tazobactam				
C	Répétitions			VAR
	Surface 1	Surface 2	Surface 3	
25,000	1899737	1797591	1709207	9,09E+09
50,000	3757328	3688903	3663463	2,36E+09
75,000	5555477	5626504	5657976	2,76E+09
100,000	7421495	7414553	7361042	1,09E+09
125,000	9135584	9307916	9467564	2,76E+10
			SUM VAR	4,29E+10

VAR MAX	Tf	Répétitions	3
2,76E+10	0,643	Nb points	5
		Tf théorique	5% 0,684

Si Tf est inférieur à la valeur critique Tf théorique, le test n'est pas significatif (on ne met pas en évidence de différences entre les variances) et on peut conclure à l'homogénéité des variances considérées. CONFORME

2. Linéarité : Analyse de variances ANOVA

C	Répétitions			SUM Xyi	SCEyi
	Surface 1	Surface 2	Surface 3		
25,000	1899737	1797591	1709207	135163375	18182405891
50,000	3757328	3688903	3663463	555484700	4713270817
75,000	5555477	5626504	5657976	1262996775	5513788838
100,000	7421495	7414553	7361042	2219709000	2188727898
125,000	9135584	9307916	9467564	3488883000	55132174176

SCEx	SUM XiYi	SPExy
18750,00	7662236850	1402411350

SOURCE	SCE	Degrés Liberté	Variances	F	F limite (α = 0,05)
Linéarité	1,05E+14	1	1,05E+14	12235,31	4,67
Non-linéarité	1,26E+10	3	4,22E+09	0,49	3,71
Résiduelle	8,57E+10	10	8,57E+09		
Total	1,05E+14	14			

F linéarité > F linéarité limite, la pente existe au risque considéré. CONFORME

F non-linéarité < F non-linéarité limite, la droite est en bonne adéquation avec un modèle linéaire au risque considéré. CONFORME

3. Coefficients du modèle linéaire

SCEx	SCEy	SPExy	Moy x	Moy y
18750	1,04992E+14	1402411350	75,000	5564289

a1	a0
74795,272	-45356,06667

var res	var pente	var a0
7567614365	403606,0995	2774791934

pour alpha = 0.05 t(1-α/2) = 2,16

73423	<	valeur vraie pente	<	76168
-159137	<	valeur vraie intersection	<	68425

La droite passe par 0 au risque considéré.

4. Résidus

Molécule de l'étude: **Tazobactam**

C	Unité	J1	J2	J3
25	Unité	1899737	1797591	1709207
50	Unité	3757328	3688903	3663463
75	Unité	5555477	5626504	5657976
100	Unité	7421495	7414553	7361042
125	Unité	9135584	9307916	9467564

Concentration calculée

J1	J2	J3
24,62760246	24,73004806	24,74257705
50,23420311	49,95251863	50,16969008
75,0214051	75,79229768	76,12059288
100,7441706	99,6376565	98,27943578
124,3726187	124,8874791	125,6877042

Modèle linéaire : $y = 74795,272 X + -45356,06667$

C	Residues
25	-0,372
25	-0,270
25	-0,257
50	0,234
50	-0,047
50	0,170
75	0,021
75	0,792
75	1,121
100	0,744
100	-0,362
100	-1,721
125	-0,627
125	-0,113
125	0,688

Résidus positifs	7
Résidus négatifs	8

Conclusion :

Si le ratio positif versus négatif est équilibré, le modèle linéaire est estimé adéquate.

Oui

5. Exactitude

L'exactitude se caractérise par l'étroitesse de l'accord entre un résultat d'essais et la valeur de référence acceptée.

Molécule de l'étude: **Tazobactam**

	C	Unité	J1	J2	J3
C basse	25	Unité	1899737	1797591	1709207
C moyenne	75	Unité	5555477	5626504	5657976
C haute	125	Unité	9135584	9307916	9467564

Concentration calculée		
J1	J2	J3
24,62760246	24,73004806	24,74257705
75,0214051	75,79229768	76,12059288
124,3726187	124,8874791	125,6877042

%		
98,51	98,92	98,97
100,03	101,06	101,49
99,50	99,91	100,55

Moyenne des % 99,88 %

SD 1,01

Valeur test Student t à un risque égal à 5%: **2,14**

Intervalle de confiance	
Compris entre	99,16 and 100,61

Si la valeur 100 % n'est pas compris dans l'intervalle de confiance, cela doit être justifié.

CONFORME

Physicochemical stability of MEROPENEM in Polypropylene Syringes at 41.7 mg/mL for Intensive Care Units

Authors: G.Loeuille¹, J.Vignerot^{1,4}, E.D'Huart^{1,4}, A.Charmillon², B.Demoré^{1,3,4}

¹ Pharmacy Department, University Hospital of Nancy, Allée du Morvan, 54511 Vandoeuvre-lès-Nancy, France

² Infectious and Tropical Diseases Service, University Hospital of Nancy, Allée du Morvan, 54511 Vandoeuvre-lès-Nancy, France

³ Université de Lorraine, EA 4360 APEMAC, Nancy, France.

⁴ Infostab, French non-profit association, 54180 Heillecourt France

Introduction

Meropenem is a broad-spectrum antibiotic used to treat severe infectious. The maximum dose recommended is 6 g per day. A stability not exceeding 24 h has been demonstrated by many research teams in different publications. Only 2 studies were performed at 40 mg/mL in polypropylene syringes with conflicting stability results: 4h and 8h. Meropenem is a time-dependent antibiotic, its continuous administration improves its efficiency.

Purpose

The objective of this work was to study the stability of meropenem solutions at 41.7 mg/mL (2 g in 48 mL), diluted in 0.9% sodium chloride (0.9% NaCl) or dextrose 5% (D5W), in polypropylene syringes not protected from light, after preparation and after 4 and 8 hours at 20-25°C.

Materials and methods

Three syringes for each condition were performed. At each time of analysis, one sample for each preparation was analysed by High Performance Liquid Chromatography coupled to a photodiode array detector at 297 nm. The method was validated according to the ICH Q2 (R1). Physical stability was evaluated by visual and subvisual inspection (turbidimetry by UV spectrophotometry at 350, 410 and 550 nm as recommended by the European Consensus Conference). pH values were measured.

Results

The method has been validated with an r^2 of 0.9999. The coefficients of variation on repeatability and intermediate precision were less than 2%. In 0.9% NaCl, meropenem at 41.7mg/mL retained more than 90% of the initial concentration after 8 hours. In D5W, after 8 hours of storage, only 86.1% \pm 0.1% of the initial concentration remained and a major color change was also observed (yellowing). In the D5W, we detected a significant increase in absorbance at 450 and 550 nm in 8 hours. During the stability study, pH values were all between 7.55 and 7.79.

Conclusion

In D5W meropenem was unstable, with chemical and physical instability. Meropenem was stable at 41.7 mg/mL in polypropylene syringes diluted in NaCl 0.9% for 8 hours. This new stability data allows a continuous administration.

Key words: meropenem, stability, intensive care unit, HPLC.



Physicochemical stability of MEROPENEM in Polypropylene Syringes at 41.7 mg/mL for intensive care units



LOEUILLE Guillaume¹, VIGNERON Jean^{1,4}, D'HUART Elise^{1,4}, CHARMILLON Alexandre², DEMORE Béatrice^{1,3,4}

¹ Pharmacy, CHRU de Nancy, Allée du Morvan, 54511 Vandoeuvre-lès-Nancy, France

² Infectious diseases department, CHRU de Nancy, Allée du Morvan, 54511 Vandoeuvre-lès-Nancy, France

³ Université de Lorraine, EA 4360 APEMAC, Nancy, France.

⁴ Infostab, French non-profit association, 54180 Heillecourt France

infostab@wanadoo.fr

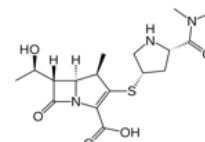
INTRODUCTION

Meropenem is a broad-spectrum antibiotic used to treat severe infectious. The maximum dose recommended is **6 g** per day. A stability not exceeding 24 h has been demonstrated by many research teams in different publications. Only 2 studies were performed at **40 mg/mL in polypropylene syringes** with **conflicting stability results: 4h and 8h.** [1] [2] **Meropenem** is a time-dependent antibiotic, its **continuous administration** improves its efficiency.

PURPOSE

To study the **physicochemical stability** of **meropenem** to prepare 3 syringes of 2 g every 8 hours in a **minimum injection volume**.

- **Concentration:** 41.7 mg/mL (2 g in 48 mL)
- **Container:** polypropylene syringe
- **Solvent:** 0.9% sodium chloride (0.9% NaCl) or Dextrose 5 % (D5W)
- **Storage:** 20-25 °C, not protected from light
- **Analysis time:** H0, H4 and H8



MATERIALS AND METHOD

CHEMICAL STABILITY

Method: RP-HPLC with DAD detector at 297 nm [3]

- C18 LiCrospher® 12.5 cm, particle size = 5 µm
- **Mobile phase:** isocratic: ammonium acetate buffer (10 mM) / acetonitrile 95/5 (v/v), pH = 3.0 adjusted with HCl 0.1M
- **Flow rate:** 1mL/min
- **Injection volume:** 20 µL

→ **VALIDATION ACCORDING TO THE ICH Q2(R1)**

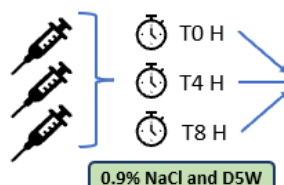
- **Forced degradation:** HCl 0.1M (10 min); NaOH 0.01 M (20 min); UV (1h at 254 nm); heat (1h at 50°C)
- **Linearity:** standard curve with 5 points: between 50 to 250 µg/mL
- **Repeatability and intermediate precision:** 50, 150, 250 µg/mL
- **pH measurement** (Bioblock Scientific pH meter)

PHYSICAL STABILITY

Visual inspection: search for colour change, precipitation and gaz formation

Subvisual inspection: turbidimetry by spectrophotometry at 350, 450 and 550 nm (Safas Monaco UV m²)

STUDY DESIGN



- **Analysis by HPLC:** concentration and degradation products: 3 samples by syringe
- **pH measurement**
- **Visual inspection**
- **Subvisual inspection**

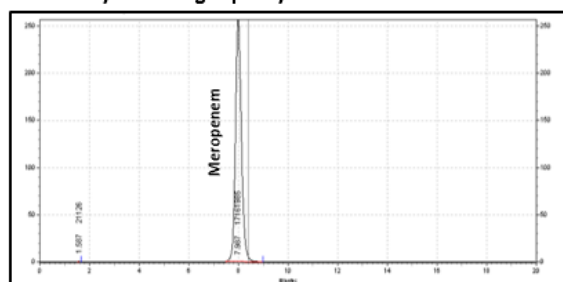
Agreement of STABILITY:

- ± 10% of the initial concentration
- no significant subvisual, visual and pH variation

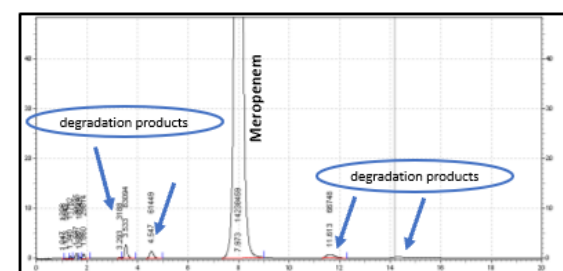
RESULTS

① Validation: RP-HPLC method

- **Linearity:** $R^2 > 0.9999$
- **Repeatability and intermediate precision:** CV < 2%
- **Retention time:** 7.9 min
- **Stability indicating capacity:**

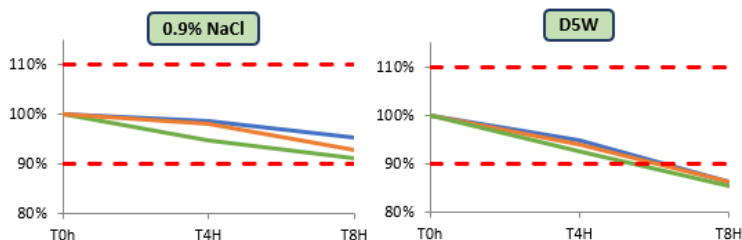


Chromatogram of meropenem 150 µg/mL in 0.9% NaCl without stressed conditions



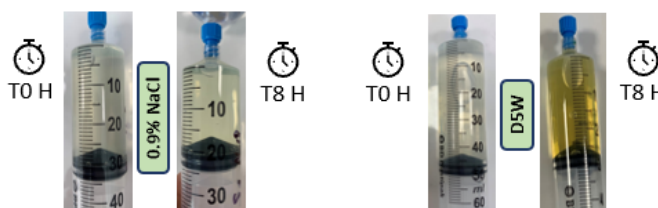
Chromatogram of meropenem 150 µg/mL in 0.9% NaCl after photolysis degradation (UV 254 nm, 1h)

② Chemical stability HPLC :



Room temperature (20-25 °C) not protected from light

- **pH measurement:** decreased slightly with maximum variation : 0.2 unit pH (7.8 → 7.6), T0h → T8h in **D5W** and 0.15 pH unit in **0.9% NaCl**
- ③ **Physical stability:**
 - **Subvisual inspection:** no significant variation in **0.9% NaCl**. In the **D5W** at 410 and 550 nm, major increase in absorbance between T0h and T8h.
 - **Visual inspection:** major colour change in **D5W** (yellowing +++) at T4 h and T8h. In **0.9% NaCl** only slight intensification in colour was observed.



CONCLUSION



Meropenem was **stable** at **41.7 mg/mL** in **polypropylene syringes** diluted in **0.9% NaCl** for **8 hours**. This new stability data allows a **continuous administration**.



In **D5W** **meropenem** was **unstable**, with chemical and physical instability.

Annexe 11 : Validation méthode/tests statistiques, méropénem (Valistab®)

1. Homogénéité des variances : TEST DE COCHRAN

Molécule de l'étude: Meropenem				
	Répétitions			
C	Surface 1	Surface 2	Surface 3	VAR
50,000	5903254	6004324	6000000	3,27E+09
100,000	11619429	11949218	11829584	2,79E+10
150,000	17717986	17998250	17764114	2,26E+10
200,000	23180448	23971562	22811072	3,52E+11
250,000	29091340	29806148	29404121	1,28E+11
			SUM VAR	5,34E+11
VAR MAX	Tf		Répétitions	3
3,52E+11	0,659		Nb points	5
			Tf théorique	5% 0,684

Si Tf est inférieur à la valeur critique Tf théorique, le test n'est pas significatif (on ne met pas en évidence de différences entre les variances) et on peut conclure à l'homogénéité des variances considérées.

CONFORME

2. Linéarité : Analyse de variances ANOVA

	Répétitions				
C	Surface 1	Surface 2	Surface 3	SUM Xyi	SCEyi
50,000	5903254	6004324	6000000	895378900	6531210131
100,000	11619429	11949218	11829584	3539823100	55746067501
150,000	17717986	17998250	17764114	8022052500	45165122859
200,000	23180448	23971562	22811072	13992616400	703012343491
250,000	29091340	29806148	29404121	22075402250	256802713185
SCEx	SUM XiYi	SPExy			
75000,00	48525273150	8767645650			
SOURCE	SCE	Degrés Liberté	Variances	F	F limite (α = 0,05)
Linéarité	1,02E+15	1	1,02E+15	9603,63	4,67
Non-linéarité	2,05E+11	3	6,84E+10	0,64	3,71
Résiduelle	1,07E+12	10	1,07E+11		
Total	1,03E+15	14			

F linéarité > F linéarité limite, la pente existe au risque considéré.

CONFORME

F non-linéarité < F non-linéarité limite, la droite est en bonne adéquation avec un modèle linéaire au risque considéré.

CONFORME

3. Coefficients du modèle linéaire

SCEx	SCEy	SPExy	Moy x	Moy y
75000	1,02623E+15	8767645650	150,000	17670057
a1	a0			
116901,942	134765,3667			
var res	var pente	var a0		
97889340359	1305191,205	35892758132		

pour alpha = 0.05 t(1-α/2)= 2,16

114434	<	valeur vraie pente	<	119370
-274455	<	valeur vraie intersection	<	543986

La droite passe par 0 au risque considéré.

4. Résidus

Molécule de l'étude: **Meropenem**

C	Unité	J1	J2	J3
50	Unité	5903254	6004324	6000000
100	Unité	11619429	11949218	11829584
150	Unité	17717986	17998250	17764114
200	Unité	23180448	23971562	22811072
250	Unité	29091340	29806148	29404121

Concentration calculée

J1	J2	J3
49,89817249	49,86266057	49,96684359
99,22896417	99,71419176	100,4047328
151,859726	150,4389831	151,7506207
199,0009655	200,5288164	195,4171857
250,0121718	249,4553483	252,4606171

Modèle linéaire : $y = 116901,942 X + 134765,3667$

C	Residues
50	-0,102
50	-0,137
50	-0,033
100	-0,771
100	-0,286
100	0,405
150	1,860
150	0,439
150	1,751
200	-0,999
200	0,529
200	-4,583
250	0,012
250	-0,545
250	2,461

Résidus positifs	7
Résidus négatifs	8

Conclusion :

Si le ratio positif versus négatif est équilibré, le modèle linéaire est estimé adéquate.

Oui

5. Exactitude

L'exactitude se caractérise par l'étroitesse de l'accord entre un résultat d'essais et la valeur de référence acceptée.

Molécule de l'étude: **Meropenem**

	C	Unité	J1	J2	J3
C basse	50	Unité	5903254	6004324	6000000
C moyenne	150	Unité	17717986	17998250	17764114
C haute	250	Unité	29091340	29806148	29404121

Concentration calculée		
J1	J2	J3
49,89817249	49,86266057	49,96684359
151,859726	150,4389831	151,7506207
250,0121718	249,4553483	252,4606171

%		
99,80	99,73	99,93
101,24	100,29	101,17
100,00	99,78	100,98

Moyenne des % 100,33 %
SD 0,63

Valeur test Student t à un risque égal à 5% : 2,14

Intervalle de confiance	
Compris entre	99,88 and 100,77

Si la valeur 100 % n'est pas compris dans l'intervalle de confiance, cela doit être justifié.

CONFORME

Annexe 12 : Validation méthode/tests statistiques, céfidérocol (Valistab®)

1. Homogénéité des variances : TEST DE COCHRAN

Molécule de l'étude: Cefiderocol				
	Répétitions			
C	Surface 1	Surface 2	Surface 3	VAR
25,000	6296124	6249121,667	6121968,667	8,12E+09
37,500	9442554	9215657	9198557	1,86E+10
50,000	12602952	12233148,33	12341777	3,61E+10
62,500	15854797	15142178	15275351	1,44E+11
75,000	19025610	18385111	18407728,67	1,32E+11
			SUM VAR	3,38E+11
VAR MAX	Tf			
1,44E+11	0,424			
		Répétitions	3	
		Nb points	5	
		Tf théorique	5%	0,684

Si Tf est inférieur à la valeur critique Tf théorique, le test n'est pas significatif (on ne met pas en évidence de différences entre les variances) et on peut conclure à l'homogénéité des variances considérées.

CONFORME

2. Linéarité : Analyse de variances ANOVA

	Répétitions				
C	Surface 1	Surface 2	Surface 3	SUM Xyi	SCEyi
25,000	6296124	6249121,667	6121968,667	466680358	16235728292
37,500	9442554	9215657	9198557	1044628800	37103064873
50,000	12602952	12233148,33	12341777	1858893867	72255773242
62,500	15854797	15142178	15275351	2892020375	287106184669
75,000	19025610	18385111	18407728,67	4186383725	264175956643
SCEx	SUM XiYi	SPExy			
4687,50	10448607125	1158975358			

SOURCE	SCE	Degrés Liberté	Variances	F	F limite (α = 0,05)
Linéarité	2,87E+14	1	2,87E+14	4233,48	4,67
Non-linéarité	1,42E+10	3	4,72E+09	0,07	3,71
Résiduelle	6,77E+11	10	6,77E+10		
Total	2,87E+14	14			

F linéarité > F linéarité limite, la pente existe au risque considéré.

CONFORME

F non-linéarité < F non-linéarité limite, la droite est en bonne adéquation avec un modèle linéaire au risque considéré.

CONFORME

3. Coefficients du modèle linéaire

SCEx	SCEy	SPExy	Moy x	Moy y
4688	2,87245E+14	1158975358	50,000	12386176

a1	a0
247248,0764	23771,86667

var res	var pente	var a0
53157213953	11340205,64	31894328372

pour alpha = 0.05 t(1-α/2)= 2,16

239974	<	valeur vraie pente	<	254522
-361982	<	valeur vraie intersection	<	409526

La droite passe par 0 au risque considéré.

4. Résidus

Molécule de l'étude: **Cefiderocol**

C	Unité	J1	J2	J3
25	Unité	6296124	6249121,667	6121968,667
37,5	Unité	9442554	9215657	9198557
50	Unité	12602952	12233148,33	12341777
62,5	Unité	15854797	15142178	15275351
75	Unité	19025610	18385111	18407728,67

Concentration calculée		
J1	J2	J3
25,10181444	25,18121099	24,92885008
37,44222098	37,46052687	37,47680106
49,8374105	49,95076383	50,29651114
62,59125829	61,99204775	62,26117419
75,02729579	75,41545055	75,03666352

Modèle linéaire : $y = 247248,0764 X + 23771,86667$

C	Residues
25	0,102
25	0,181
25	-0,071
37,5	-0,058
37,5	-0,039
37,5	-0,023
50	-0,163
50	-0,049
50	0,297
62,5	0,091
62,5	-0,508
62,5	-0,239
75	0,027
75	0,415
75	0,037

Résidus positifs	7
Résidus négatifs	8

Conclusion :

Si le ratio positif versus négatif est équilibré, le modèle linéaire est estimé adéquate.

Oui

5. Exactitude

L'exactitude se caractérise par l'étroitesse de l'accord entre un résultat d'essais et la valeur de référence acceptée.

Molécule de l'étude: **Cefiderocol**

	C	Unité	J1	J2	J3
C basse	25	Unité	6296124	6249121,667	6121968,667
C moyenne	50	Unité	12602952	12233148,33	12341777
C haute	75	Unité	19025610	18385111	18407728,67

Concentration calculée		
J1	J2	J3
25,10181444	25,18121099	24,92885008
49,8374105	49,95076383	50,29651114
75,02729579	75,41545055	75,03666352

%		
100,41	100,72	99,72
99,67	99,90	100,59
100,04	100,55	100,05

Moyenne des % 100,18 %
SD 0,39

Valeur test Student t à un risque égal à 5%: **2,14**

Intervalle de confiance	
Compris entre	99,90 and 100,47

Si la valeur 100 % n'est pas compris dans l'intervalle de confiance, cela doit être justifié.

CONFORME

Stabilité physico-chimique de la témocilline à 25 mg/mL en diffuseur portable élastomérique à 37°C pour une administration continue à domicile

LOEUILLE Guillaume¹, VIGNERON Jean^{1,4}, D'HUART Elise^{1,4}, CHARMILLON Alexandre², DEMORE Béatrice^{1,3,4}

1 Pharmacie, CHRU de Nancy, Allée du Morvan, 54511 Vandoeuvre-lès-Nancy, France

2 Equipe transversale d'infectiologie, CHRU de Nancy, Allée du Morvan, 54511 Vandoeuvre-lès-Nancy, France

3 Université de Lorraine, EA 4360 APEMAC, Nancy, France.

4 Infostab, Association à but non lucratif, 54180 Heillecourt France
infostab@wanadoo.fr

Introduction

La témocilline est un antibiotique de la famille des β -lactamines à spectre étroit (inactive sur les Gram+). La posologie recommandée est de 6 g/j pour les infections sévères. L'intérêt de la témocilline est son utilisation comme alternative aux carbapénèmes face aux infections causées par les entérobactéries productrices de β -lactamase à spectre élargi et de céphalosporinase hyperproduite. Antibiotique temps-dépendant, l'administration en continu améliore son efficacité. Le laboratoire indique une stabilité de 24 h en seringue à 125 mg/mL. A notre connaissance, aucune étude de stabilité de la témocilline n'a été réalisée en diffuseur à haute température (37°C) pour une administration à domicile.

Objectif

Étudier la stabilité physico-chimique de solutions de témocilline à 25 mg/mL (3 g dans 120 mL), diluées dans du chlorure de sodium 0,9% (NaCl 0,9%) ou dans du glucose 5% (G5%) dans un diffuseur élastomérique, conservées à 37 °C et protégées de la lumière pendant 48 heures.

Matériels et méthodes

Trois diffuseurs ont été préparés pour chaque condition. A chaque temps d'analyse, 3 échantillons pour chaque diffuseur ont été analysés avec une méthode validée selon les ICH Q2(R1) par chromatographie liquide haute performance couplée à un détecteur à barrette de diode à 230 nm. La stabilité physique a été évaluée par une inspection visuelle et subvisuelle (turbidimétrie à l'aide d'un spectrophotomètre à 350, 410 et 550 nm). Les valeurs de pH ont été mesurées. Une étude complémentaire a été réalisée en seringue, reprenant les conditions de stabilité du laboratoire avec une analyse des produits de dégradation présents au bout de 24 heures et 48 heures et une comparaison avec les produits de dégradation observés en diffuseur élastomérique.

Résultats

La linéarité a été validée avec un R^2 de 0,9999. Les coefficients de variation de la répétabilité et la précision intermédiaire étaient inférieurs à 2%. Dans le NaCl 0,9%, la témocilline a conservé plus de 90% de la concentration initiale après 24 heures. Dans le G5%, la concentration moyenne restante de témocilline était de 86% après 24 heures. Au bout de 48 heures dans les deux solvants, un jaunissement important a été observé. L'absorbance à 350 et 410 nm a augmenté progressivement au bout de 24 heures et 48 heures, aucun changement significatif à 550 nm n'a été observé. Les mêmes produits de dégradation sont retrouvés dans l'étude en seringue et en diffuseur (n° 3, 5, 7, 8, 9 retrouvés en quantité plus importante en diffuseur au bout de 24 h). Durant l'étude de stabilité, toutes les valeurs de pH étaient comprises entre 6,07 et 6,98.

Conclusion

Dans le G5%, la témocilline est instable chimiquement au bout de 24 h. La témocilline à 25 mg/mL diluée dans du NaCl 0,9 % est stable dans un diffuseur élastomérique à 37°C pendant 24 h. Cette nouvelle donnée de stabilité permet l'administration en perfusion continue au domicile du patient dans le cadre d'un relais hôpital-ville.

Mots-clefs : Témocilline, stabilité, CLHP



Stabilité physicochimique de la **Témocilline** à 25 mg/mL en diffuseur portable à 37°C pour une administration continue à domicile



LOEUVILLE Guillaume¹, VIGNERON Jean^{1,4}, D'HUART Elise^{1,4}, CHARMILLON Alexandre², DEMORE Béatrice^{1,3,4}

Poster
N° 237

1 Pharmacie, CHRU de Nancy, Allée du Morvan, 54511 Vandoeuvre-lès-Nancy, France
2 Service des maladies infectieuses, CHRU de Nancy, Allée du Morvan, 54511 Vandoeuvre-lès-Nancy, France
3 Université de Lorraine, EA 4360 APEMAC, Nancy, France.
4 Infostab, association à but non lucratif, 54180 Heillecourt France

Contact: infostab@wanadoo.fr

INTRODUCTION

- La **témocilline** est un antibiotique de la famille des β -lactamines. La posologie est de **6 g/j** pour les infections sévères.
- L'intérêt de la **témocilline** est son utilisation comme alternative aux carbapénèmes face aux infections causées par les EBLSE.
- Stabilité** laboratoire : **24 h** à T° ambiante, 125 mg/mL dilué dans du G5% / NaCl 0,9%. (contenant : seringue en polypropylène).
- La **témocilline** est un mélange de deux stéréo-isomères **R** et **S**.
- Au mieux de notre connaissance, aucune étude de stabilité n'a été réalisée en diffuseur à haute température.

OBJECTIFS

- Etudier la **stabilité physicochimique** de la **témocilline** pour préparer un diffuseur élastomérique portable: **6 g par 24 h**
- Concentration** : 25 mg/mL (3 g dans 120 mL)
- Contenu** : diffuseur élastomérique polyisoprène (Baxter® Infusor LV10)
- Solvant** : chlorure de sodium 0,9% (NaCl 0,9%) ou dans du glucose 5% (G5%)
- Stockage** : 37°C, protégé de la lumière
- Temps d'analyse** : T0, T24 et T48 heures

MATÉRIELS ET MÉTHODES

STABILITÉ CHIMIQUE

Méthode : CLHP en phase inverse, avec un détecteur DAD à 230 nm [1]

- C18 LiCrospher® 12,5 cm, taille particule = 5 μ m
- Phase mobile** : isocratique: tampon phosphate (0,1M) / méthanol 93/7 (v/v), ajusté pH 7,0 avec du NaOH (1M)
- Débit** : 1 mL/min **Volume d'injection** : 20 μ L

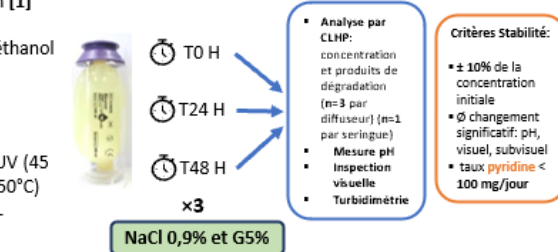
→ VALIDATION EN ACCORD AVEC LES ICH Q2(R1)

- Dégradation forcée** : HCl 0.1M (45 min); NaOH 0.1 M (5 min); UV (45 min à 254 nm); chaleur (2h à 70°C); H₂O₂ 0,3% (45 min + 50°C)
- Linéarité** : droite d'étalonnage en 5 points: entre 50 à 250 μ g/mL
- Répétabilité et précision intermédiaire** : 50, 150, 250 μ g/mL
- Mesure pH** (Bioblock Scientific pH meter)

STABILITÉ PHYSIQUE

- Inspection visuelle** : recherche d'un changement de couleur, formation d'un précipité ou de gaz.
- Inspection subvisuelle** : mesure de la turbidimétrie par un spectrophotomètre à 350, 450 et 550 nm (Safas Monaco UV m²)

SCHÉMA DE L'ÉTUDE



- Réalisation d'une étude complémentaire en seringue (**données laboratoire** : stable 24h en seringue à 125 mg/mL dilué dans du NaCl 0,9% /G5%). **Analyse des produits de dégradations présent au bout de 24h** → comparaison avec les produits de dégradation en diffuseur.

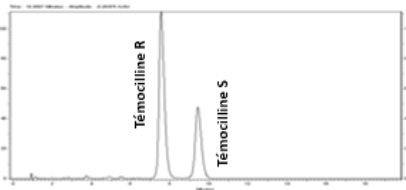
ICH : International conference on harmonisation.
CLHP : Chromatographie liquide haute performance.

S : Seringue
D : Diffuseur

RÉSULTATS

VALIDATION DE MÉTHODE

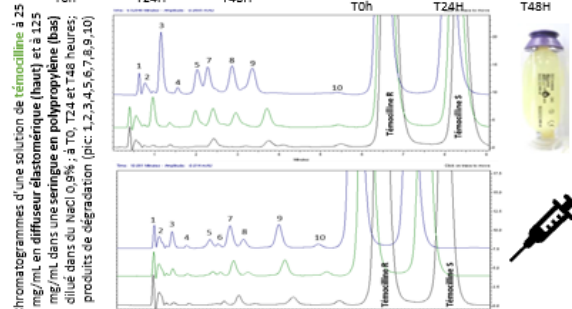
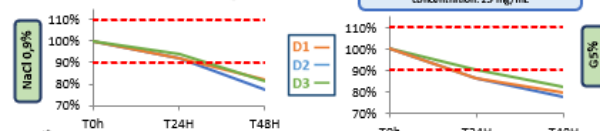
- Linéarité** : R² > 0,9999
- Répétabilité et précision intermédiaire**: CV < 2%
- Temps de rétention**: 7,6 min (**stéréo-isomères R**) et 9,2 min (**stéréo-isomères S**)
- Méthode indicatrice de stabilité** : détection des produits de dégradation, sans interférences avec la **témocilline R** et **S**



STABILITÉ PHYSIQUE

- Inspection visuelle**: absence de formation de précipité ou de gaz. À 24 h léger jaunissement, à 48h jaunissement ++ (NaCl 0,9% et G5%)
- Inspection subvisuelle**: pas de changement significatif à 550 nm; dans le NaCl 0,9% et le G5%, augmentation progressive de l'absorbance à 350 et 410 nm au bout de 24 et 48 heures.

STABILITÉ CHIMIQUE



DISCUSSION

- Les **mêmes produits de dégradation** sont retrouvés dans l'étude en seringue et en diffuseur. (n° 3, 5, 7, 8, 9 retrouvés en quantité plus importante en diffuseur au bout de 24 h)
- Analyse des spectres** des produits de dégradation identique en diffuseur comme en seringue.
- Produit n° 2, 6 et 10 : **impuretés de fabrication** ?
- Temps de rétention des produits de dégradation et de la **témocilline**, difficilement reproductible → phase mobile en cause ?

CONCLUSION

- La **témocilline** est stable à 25 mg/mL dans un diffuseur élastomérique dilué dans du NaCl 0,9 % à 37°C pendant 24h. Cette nouvelle donnée permet l'**administration en perfusion continue** au domicile du patient.
- Dans le G5%, la **témocilline** présente une instabilité chimique

[1] Bird A.E, Charsley C-H, Jennings K.R, Marshall A.C. High-performance liquid Chromatographic Assay of temocillin and Epimerisation of its diastereoisomers. Analyst 1984; 109: 1209-1212.

Annexe 15 : Validation méthode/tests statistiques, témocilline (Valistab®)

1. Homogénéité des variances : TEST DE COCHRAN

Molécule de l'étude: **Témocilline**

C	Répétitions			VAR
	Surface 1	Surface 2	Surface 3	
50,000	4546581	4304901	4606486	2,55E+10
100,000	9357305	8921283	9003618	5,37E+10
150,000	14089697	13345029	13629994	1,41E+11
200,000	18612863	17966020	18078837	1,19E+11
250,000	23061914	22475942	22733555	8,63E+10
			SUM VAR	4,26E+11

VAR MAX	Tf
1,41E+11	0,331

Répétitions	3
Nb points	5
Tf théorique	5% 0,684

Si Tf est inférieur à la valeur critique Tf théorique, le test n'est pas significatif (on ne met pas en évidence de différences entre les variances) et on peut conclure à l'homogénéité des variances considérées.

CONFORME

2. Linéarité : Analyse de variances ANOVA

C	Répétitions			SUM Xyi	SCEyi
	Surface 1	Surface 2	Surface 3		
50,000	4546581	4304901	4606486	672898400	50983781217
100,000	9357305	8921283	9003618	2728220600	107329576893
150,000	14089697	13345029	13629994	6159708000	282354109886
200,000	18612863	17966020	18078837	10931544000	238772436938
250,000	23061914	22475942	22733555	17067852750	172515758478

SCEx	SUM XiYi	SPExy
75000,00	37560223750	6850120000

SOURCE	SCE	Degrés Liberté	Variances	F	F limite (α = 0,05)
Linéarité	6,26E+14	1	6,26E+14	7343,75	4,67
Non-linéarité	9,62E+09	3	3,21E+09	0,04	3,71
Résiduelle	8,52E+11	10	8,52E+10		
Total	6,27E+14	14			

F linéarité > F linéarité limite, la pente existe au risque considéré.

CONFORME

F non-linéarité < F non-linéarité limite, la droite est en bonne adéquation avec un modèle linéaire au risque considéré.

CONFORME

3. Coefficients du modèle linéaire

SCEx	SCEy	SPExy	Moy x	Moy y
75000	6,26517E+14	6850120000	150,000	13648935

a1	a0
91334,93333	-51305

var res	var pente	var a0
66274846084	883664,6145	24300776898

pour alpha = 0.05 t(1-α/2)= 2,16

89304	<	valeur vraie pente	<	93365
-388021	<	valeur vraie intersection	<	285411

La droite passe par 0 au risque considéré.

Molécule de l'étude: **Témocilline**

C	Unité	J1	J2	J3
50	Unité	4546581	4304901	4606486
100	Unité	9357305	8921283	9003618
150	Unité	14089697	13345029	13629994
200	Unité	18612863	17966020	18078837
250	Unité	23061914	22475942	22733555

Concentration calculée		
J1	J2	J3
48,59735588	49,77559344	50,68233264
100,5644811	100,6315699	99,18436633
151,6854367	149,3653884	150,2150483
200,5462597	200,2721396	199,2874739
248,6064666	249,9553086	250,6307789

Modèle linéaire : $y = 91334,93333 X + -51305$

C	Residues
50	-1,403
50	-0,224
50	0,682
100	0,564
100	0,632
100	-0,816
150	1,685
150	-0,635
150	0,215
200	0,546
200	0,272
200	-0,713
250	-1,394
250	-0,045
250	0,631

Résidus positifs	8
Résidus négatifs	7

Conclusion :

Si le ratio positif versus négatif est équilibré, le modèle linéaire est estimé adéquate.

Oui

5. Exactitude

L'exactitude se caractérise par l'étroitesse de l'accord entre un résultat d'essais et la valeur de référence acceptée.

Molécule de l'étude: **Témocilline**

	C	Unité	J1	J2	J3
C basse	50	Unité	4546581	4304901	4606486
C moyenne	150	Unité	14089697	13345029	13629994
C haute	250	Unité	23061914	22475942	22733555

Concentration calculée		
J1	J2	J3
48,59735588	49,77559344	50,68233264
151,6854367	149,3653884	150,2150483
248,6064666	249,9553086	250,6307789

%		
97,19	99,55	101,36
101,12	99,58	100,14
99,44	99,98	100,25

Moyenne des % 99,85 %
SD 1,20

Valeur test Student t à un risque égal à 5%: **2,14**

Intervalle de confiance	
Compris entre	98,99 and 100,71

Si la valeur 100 % n'est pas compris dans l'intervalle de confiance, cela doit être justifié.

CONFORME

Stabilité physico-chimique du ceftazidime/avibactam en seringue et en diffuseur portable pour une administration continue en service de soins critiques et à domicile

G. Loeuille¹, J. Vigneron^{1,4}, E. D'Huart^{1,4}, A. Charmillon², B. Demoré^{1,3,4}

1 Pharmacie, CHRU de Nancy.

2 Equipe transversale d'infectiologie, CHRU de Nancy.

3 Université de Lorraine, EA 4360 APEMAC, Nancy, France.

4 Infostab, Association à but non lucratif.

Introduction

Ceftazidime/avibactam est un antibiotique temps-dépendant de dernier recours pour le traitement des infections à entérobactéries BLSE et/ou productrices de carbapénemases. L'optimisation de son efficacité par administration en perfusion continue est cruciale. Le laboratoire indique 12h de stabilité entre 8/2 et 40/10 mg/mL (NaCl 0,9% et G5%) à T°C ambiante. La pyridine est l'un des produits de dégradation de la ceftazidime pouvant être toxique. Jones *et al.* (Am J Health-Syst Pharm.2019;76:200-5) proposent une dose sécuritaire à ne pas dépasser de 100 mg/j. A notre connaissance, aucune étude ne s'est intéressée à la stabilité à plus forte concentration ou pour une administration en diffuseur. L'objectif est d'étudier la stabilité physico-chimique du ceftazidime/avibactam dilué dans du NaCl 0,9% et du G5% à 125/31,25 mg/mL (6 g dans 48mL), en seringues polypropylènes, conservées à 20-25°C et à 25/6,25 mg/mL (6 g dans 240mL) en diffuseurs élastomériques, conservés à 37°C, à l'abri de la lumière.

Matériels et méthodes

Les solutions ont été analysées à T0 puis à 12, 24 et 48h, par une méthode validée par Chromatographie Liquide à Haute Performance. Cette analyse a permis de quantifier la ceftazidime et l'avibactam. Les solutions sont analysées avec une seconde méthode analytique afin de quantifier la pyridine. Un examen visuel et subvisuel a été effectué pour détecter une instabilité physique (mesure des absorbances par spectrophotométrie UV à trois longueurs d'onde : 350, 410 et 550 nm). Les valeurs de pH ont été mesurées. Pour être stable, les solutions doivent conserver plus de 90% de la concentration initiale, sans modification physique.

Résultats

En seringue, la solution de ceftazidime a conservé plus de 90% de sa concentration initiale au bout de 24h (NaCl 0,9 % et G5%). En diffuseur, au bout de 12h, la concentration restante était de 92% dans le NaCl 0,9% et de 86% dans le G5%. Après 24h, l'avibactam en seringue et en diffuseur a conservé plus de 90% de sa concentration initiale dans les 2 solvants. Après reconstitution immédiate de 6 g de ceftazidime, la quantité de pyridine retrouvée est de 10 mg. A 24h la quantité moyenne en seringue est de 32 mg (NaCl 0,9%) et de 55 mg (G5%). En diffuseur, la quantité moyenne est inférieure à 55 mg (NaCl 0,9% ou G5%) après 12h. Au bout de 48h, en seringue, dans les deux solvants, un léger jaunissement a été observé ainsi que la formation de bulles dès 12h. L'absorbance à 550 nm a augmenté significativement au bout de 24h en diffuseur et 48h en seringue. Aucune modification majeure du pH n'a été observée.

Conclusion

En seringue, ceftazidime/avibactam à 125/31,25 mg/mL, dilué dans du NaCl 0,9% ou du G5% est stable 24h à T°C ambiante. Pour un retour à domicile, une administration en diffuseur a été validée à 25/6,25 mg/mL diluée dans du NaCl 0,9% avec une stabilité sur 12h à 37°C, mais pas dans du G5%. Pour ces solutions et durées de stabilité, la dose de pyridine sécuritaire proposée dans la littérature n'est pas dépassée.



Stabilité physicochimique du ceftazidime/avibactam en seringue et en diffuseur portable pour une administration continue en service de soins critiques et à domicile



BU - 09



infostab@wanadoo.fr

LOEUILLE Guillaume¹, VIGNERON Jean^{1,4}, D'HUART Elise^{1,4}, CHARMILLON Alexandre², DEMORE Béatrice^{1,3,4}

1. Pharmacie, CHRU de Nancy, Allée du Morvan, 54511 Vandoeuvre-lès-Nancy, France
2. Equipe transversale d'infectiologie, CHRU de Nancy, Allée du Morvan, 54511 Vandoeuvre-lès-Nancy, France
3. Université de Lorraine, EA 4360 APEMAC, Nancy, France.
4. Infostab, association à but non lucratif, 54180 Heillecourt, France

INTRODUCTION

- Le **ceftazidime/avibactam** est un antibiotique de **dernier recours**.
- La posologie recommandée est de **6/1,5 g/j** pour les **infections graves**.
- Antibiotique temps-dépendant: une administration **en continu** permet une **meilleure efficacité thérapeutique**.
- La **pyridine** est l'un des produits de dégradation pouvant être **toxique de la ceftazidime**.
- Jones *et al.* proposent dans leur revue de la littérature, une dose sécuritaire de **100 mg/j** de **pyridine**.

Ceftazidime stability and pyridine toxicity during continuous I.V infusion. *Am J Health-Syst Pharm*, 2019; 76(4): 200-205

OBJECTIFS

- Etudier la **stabilité physicochimique** du **ceftazidime/avibactam**

	NaCl 0,9% et G5%	6 g/1,5 g dans 48 mL Soit 125/31,25 mg/mL	20-25 °C	T 0h, 12h, 24h, 48h
		6 g/1,5 g dans 240 mL Soit 25/6,25 mg/mL	37 °C	

- Identifier et quantifier la **pyridine** potentiellement toxique.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

STABILITÉ CHIMIQUE

Chaque échantillon est analysé par une double méthode par CLHP :

- MÉTHODE ①** : détection et quantification de **ceftazidime/avibactam**

Validation for Simultaneous Estimation of Avibactam and Ceftazidime by RP-HPLC Method. *IOSR Journal of Pharmacy*, 10(3), 2020, pp. 52-85.

- MÉTHODE ②** : détection et quantification de **ceftazidime/pyridine**

FSQ spectrophotometric and HPLC analysis of some cephalosporins in the presence of their alkali-induced degradation products, *Il Farmaco*, 1998, 53 : 132-138

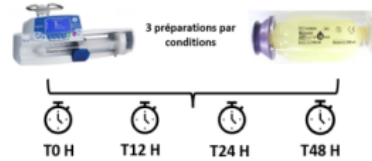
VALIDATION des MÉTHODES selon les ICH Q2R1

- Mesure pH (Bioblock Scientific pH meter)

SCHEMA DE L'ETUDE

CRITÈRES DE STABILITÉ

- Conservation de $\geq 90\%$ de la concentration initiale soit une conservation de $\pm 10\%$ → [90-110% de la C° initiale]
- Pas de changement significatif: pH, visuel, subvisuel
- Taux de **pyridine** < 100 mg/jour



STABILITÉ PHYSIQUE

- Inspection visuelle** :

➢ Recherche d'un changement de couleur, formation d'un précipité ou de gaz.

- Inspection subvisuelle** :

➢ **Comptage particulaire** (PAMAS SVSS)

➢ Mesure de la **turbidimétrie** par un spectrophotomètre à 350, 450 et 550 nm (Safas Monaco UV m²)

Cef : Ceftazidime Avi : Avibactam Pyr : Pyridine
ICH : International Conference On Harmonisation
CLHP : Chromatographie liquide haute performance
G5% : glucose 5% NaCl 0,9% : chlorure de sodium 0,9%
T°C : température C° : concentration

RÉSULTATS

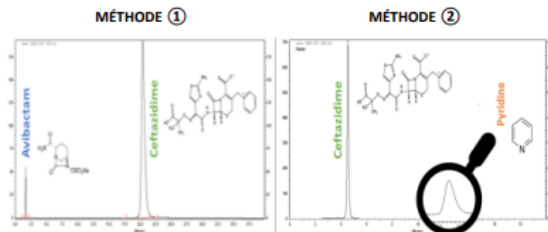
STABILITÉ CHIMIQUE

Validation de la méthode analytique :

- Linéarité
- Réplétabilité
- Précision intermédiaire

- Mesure du pH:

En seringue: variation max de **0,35** et en diffuseur : **0,46**



STABILITÉ PHYSIQUE

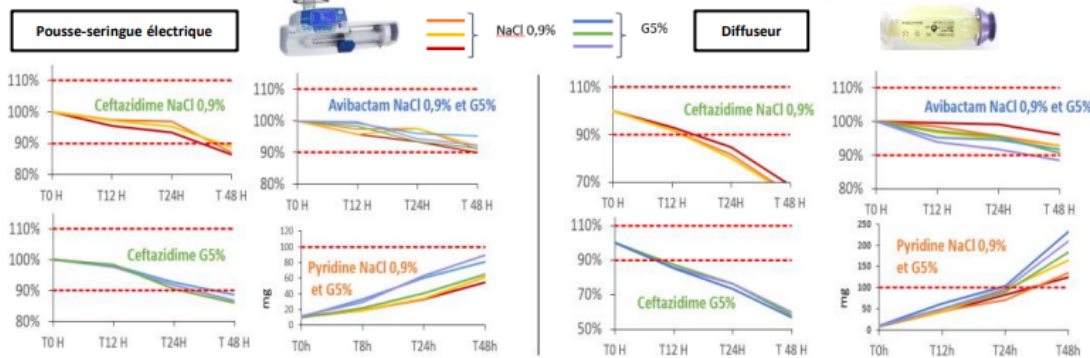
- Inspection visuelle**:

➢ Absence de précipité
➢ A 8h, formation de **microbulles** (NaCl 0,9% et G5%) sur certaines seringues
➢ A 24 h, léger **jaunissement** (NaCl 0,9% et G5%)

- Inspection subvisuelle**:

➢ Pas de changement significatif à 350 et 410 nm
➢ NaCl 0,9% /G5% : ↗ progressive de l'absorbance à 550 nm au bout de 48 h en seringue et 24 h en diffuseur

- Comptage particulaire** → conforme au test ✓



DISCUSSION

- Lorsque la **ceftazidime** conserve >90% de sa concentration initiale, le taux de **pyridine** reste inférieur au seuil admet comme sécuritaire à ne pas dépasser.
- Facteurs diminuant la stabilité de la ceftazidime**
→ solvant G5% et une T°C + élevée.
En conséquence, nous préconisons l'utilisation du NaCl 0,9%
- L'**avibactam** est plus stable que la **ceftazidime** (non influencé par la nature du solvant ou T°C).
- Apparition de **microbulles** due à la présence de **carbonate de sodium** comme excipient.

CONCLUSION

	NaCl 0,9% +++ (ou G5%)	6 g/1,5 g dans 48 mL Soit 125/31,25 mg/mL	20-25 °C	Stable 24 h
	NaCl 0,9%	6 g/1,5 g dans 240 mL Soit 25/6,25 mg/mL	37 °C	Stable 12 h

- Pour ces solutions et durées de stabilité, la dose de **pyridine** sécuritaire proposée dans la littérature n'est pas dépassée.

infostab@wanadoo.fr

Annexe 18 : Validation méthode analytique n° 2 /tests statistiques, pyridine (Valistab®)

Statistiques

1. Homogénéité des variances : TEST DE COCHRAN

Molécule de l'étude: **Pyridine**

C	Répétitions			VAR
	Surface 1	Surface 2	Surface 3	
1,000	55751,66667	54234,33333	58132,33333	3,86E+06
10,000	593895	577606	601792	1,52E+08
20,000	1200262,333	1190950	1226789	3,46E+08
30,000	1835728	1829884	1844855	5,69E+07
40,000	2432991,667	2402714	2435503	3,33E+08
SUM VAR				8,92E+08

VAR MAX	Tf
3,46E+08	0,388

Répétitions	3
Nb points	5
Tf théorique	5% 0,684

Si Tf est inférieur à la valeur critique Tf théorique, le test n'est pas significatif (on ne met pas en évidence de différences entre les variances) et on peut conclure à l'homogénéité des variances considérées.

CONFORME

2. Linéarité : Analyse de variances ANOVA

C	Répétitions			SUM Xyi	SCEyi
	Surface 1	Surface 2	Surface 3		
1,000	55751,66667	54234,33333	58132,33333	168118	7721426
10,000	593895	577606	601792	17732930	304218909
20,000	1200262,333	1190950	1226789	72360027	691605839
30,000	1835728	1829884	1844855	165314010	113861769
40,000	2432991,667	2402714	2435503	290848347	666054138

SCEx	SUM XiYi	SPExy
2882,40	546423432	175933447

SOURCE	SCE	Degrés Liberté	Variances	F	F limite (α = 0,05)
Linéarité	1,07E+13	1	1,07E+13	60211,40	4,67
Non-linéarité	1,32E+09	3	4,40E+08	2,47	3,71
Résiduelle	1,78E+09	10	1,78E+08		
Total	1,07E+13	14			

F linéarité > F linéarité limite, la pente existe au risque considéré.

CONFORME

F non-linéarité < F non-linéarité limite, la droite est en bonne adéquation avec un modèle linéaire au risque considéré.

CONFORME

3. Coefficients du modèle linéaire

SCEx	SCEy	SPExy	Moy x	Moy y
2882	1,07416E+13	175933447	20,200	1222739

a1	a0
61037,13826	-10210,97072

var res	var pente	var a0
238748807,9	82829,86676	49714486,03

pour alpha = 0.05 t(1-α/2)= 2,16

60415	<	valeur vraie pente	<	61659
-25441	<	valeur vraie intersection	<	5019

La droite passe par 0 au risque considéré.

4. Résidus

Molécule de l'étude: **Pyridine**

C	Unité	J1	J2	J3
1	Unité	55751,66667	54234,33333	58132,33333
10	Unité	593895	577606	601792
20	Unité	1200262,333	1190950	1226789
30	Unité	1835728	1829884	1844855
40	Unité	2432991,667	2402714	2435503

Concentration calculée

J1	J2	J3
1,113572463	1,14651622	0,996635147
9,907632219	9,766571567	9,879690896
19,81657326	19,86849256	20,09174733
30,20102421	30,39188692	30,19055559
39,96119785	39,82653273	39,84137104

Modèle linéaire : $y = 61037,13826 X + -10210,97072$

C	Residues
1	0,114
1	0,147
1	-0,003
10	-0,092
10	-0,233
10	-0,120
20	-0,183
20	-0,132
20	0,092
30	0,201
30	0,392
30	0,191
40	-0,039
40	-0,173
40	-0,159

Résidus positifs	6
Résidus négatifs	9

Conclusion :

Si le ratio positif versus négatif est équilibré, le modèle linéaire est estimé adéquate.

Oui

5. Exactitude

L'exactitude se caractérise par l'écart de l'accord entre un résultat d'essais et la valeur de référence acceptée.

Molécule de l'étude: **Pyridine**

	C	Unité	J1	J2	J3
C basse	1	Unité	55751,66667	54234,33333	58132,33333
C moyenne	20	Unité	1200262,333	1190950	1226789
C haute	40	Unité	2432991,667	2402714	2435503

Concentration calculée		
J1	J2	J3
1,113572463	1,14651622	0,996635147
19,81657326	19,86849256	20,09174733
39,96119785	39,82653273	39,84137104

%		
111,36	114,65	99,66
99,08	99,34	100,46
99,90	99,57	99,60

Moyenne des % 102,63 %
SD 5,95

Valeur test Student t à un risque égal à 5% : **2,14**

Intervalle de confiance	
Compris entre	98,38 and 106,87

Si la valeur 100 % n'est pas compris dans l'intervalle de confiance, cela doit être justifié.

CONFORME

1. Homogénéité des variances : TEST DE COCHRAN

Molécule de l'étude: Ceftazidime				
C	Répétitions			VAR
	Surface 1	Surface 2	Surface 3	
100,000	8615403	8637962	8348805,667	2,59E+10
200,000	16815368	16942891	16758002	8,96E+09
300,000	24882824	25104267	25223309,33	2,99E+10
400,000	33031103	33127273	33543321	7,41E+10
500,000	40608113	40604436,33	41296333	1,59E+11
			SUM VAR	2,98E+11

VAR MAX	Tf		
1,59E+11	0,533		

Répétitions	3
Nb points	5
Tf théorique	5% 0,684

Si Tf est inférieur à la valeur critique Tf théorique, le test n'est pas significatif (on ne met pas en évidence de différences entre les variances) et on peut conclure à l'homogénéité des variances considérées.

CONFORME

2. Linéarité : Analyse de variances ANOVA

C	Répétitions			SUM Xyi	SCEyi
	Surface 1	Surface 2	Surface 3		
100,000	8615403	8637962	8348805,667	2560217067	51731477243
200,000	16815368	16942891	16758002	10103252200	17912305269
300,000	24882824	25104267	25223309,33	22563120100	59712780530
400,000	33031103	33127273	33543321	39880678800	148237295576
500,000	40608113	40604436,33	41296333	61254441167	317460427874

SCEx	SUM XiYi	SPExy
300000,00	#####	24299885933

SOURCE	SCE	Degrés Liberté	Variances	F	F limite ($\alpha = 0,05$)
Linéarité	1,97E+15	1	1,97E+15	33077,34	4,67
Non-linéarité	5,47E+11	3	1,82E+11	3,06	3,71
Résiduelle	5,95E+11	10	5,95E+10		
Total	1,97E+15	14			

F linéarité > F linéarité limite, la pente existe au risque considéré.

CONFORME

F non-linéarité < F non-linéarité limite, la droite est en bonne adéquation avec un modèle linéaire au risque considéré.

CONFORME

3. Coefficients du modèle linéaire

SCEx	SCEy	SPExy	Moy x	Moy y
300000	1,96942E+15	24299885933	300,000	24902627

a1	a0
80999,61978	602741,4889

var res	var pente	var a0
87819412476	292731,3749	32200451241

pour alpha = 0.05 t(1- α /2)= 2,16				
79831	<	valeur vraie pente	<	82168
215141	<	valeur vraie intersection	<	990342

La droite passe par 0 au risque considéré.

4. Résidus

Molécule de l'étude: **Ceftazidime**

C	Unité	J1	J2	J3
100	Unité	8615403	8637962	8348805,667
200	Unité	16815368	16942891	16758002
300	Unité	24882824	25104267	25223309,33
400	Unité	33031103	33127273	33543321
500	Unité	40608113	40604436,33	41296333

Concentration calculée

J1	J2	J3
98,31762772	97,22984114	98,19698686
200,5601079	200,889423	199,9042719
301,1503799	302,7572203	302,2902066
402,7484056	402,8979256	402,9188237
497,2234789	496,2255898	496,689711

Modèle linéaire :

$$y = 80999,61978 X + 602741,4889$$

C	Residues
100	-1,682
100	-2,770
100	-1,803
200	0,560
200	0,889
200	-0,096
300	1,150
300	2,757
300	2,290
400	2,748
400	2,898
400	2,919
500	-2,777
500	-3,774
500	-3,310

Résidus positifs	8
Résidus négatifs	7

Conclusion :

Si le ratio positif versus négatif est équilibré, le modèle linéaire est estimé adéquate.

Oui

5. Exactitude

L'exactitude se caractérise par l'étroitesse de l'accord entre un résultat d'essais et la valeur de référence acceptée.

Molécule de l'étude: **Ceftazidime**

	C	Unité	J1	J2	J3
C basse	100	Unité	8615403	8637962	8348805,667
C moyenne	300	Unité	24882824	25104267	25223309,33
C haute	500	Unité	40608113	40604436,33	41296333

Concentration calculée

J1	J2	J3
98,31762772	97,22984114	98,19698686
301,1503799	302,7572203	302,2902066
497,2234789	496,2255898	496,689711

%

98,32	97,23	98,20
100,38	100,92	100,76
99,44	99,25	99,34

Moyenne des %

99,32 %

SD

1,25

Valeur test Student t à un

2,14

risque égal à 5% :

Intervalle de confiance

Compris entre 98,43 and 100,20

Si la valeur 100 % n'est pas compris dans l'intervalle de confiance, cela doit être justifié.

CONFORME

Annexe 20 : Validation méthode analytique 1 /tests statistiques, avibactam (Valistab®)

1. Homogénéité des variances : TEST DE COCHRAN

Molécule de l'étude: **Avibactam (ZAVICEFTA)**

C	Répétitions			VAR
	Surface 1	Surface 2	Surface 3	
25,000	367559,3333	371804,6667	374133,3333	1,11E+07
50,000	732961	744812	739254	3,52E+07
75,000	1103977,667	1117188,333	1122990	9,49E+07
100,000	1466943	1471897	1470424	6,47E+06
125,000	1828321,667	1836544,667	1852857	1,56E+08
			SUM VAR	3,04E+08

VAR MAX	Tf	Répétitions	3
1,56E+08	0,514	Nb points	5
		Tf théorique	5%
			0,684

Si Tf est inférieur à la valeur critique Tf théorique, le test n'est pas significatif (on ne met pas en évidence de différences entre les variances) et on peut conclure à l'homogénéité des variances considérées. **CONFORME**

2. Linéarité : Analyse de variances ANOVA

C	Répétitions			SUM Xyi	SCEyi
	Surface 1	Surface 2	Surface 3		
25,000	367559,3333	371804,6667	374133,3333	27837433	22221007
50,000	732961	744812	739254	110851350	70313138
75,000	1103977,667	1117188,333	1122990	250811700	189883290
100,000	1466943	1471897	1470424	440926400	12943069
125,000	1828321,667	1836544,667	1852857	689715417	311897510

SCEx	SUM XiYi	SPExy
18750,00	1520142300	275017225

SOURCE	SCE	Degrés Liberté	Variances	F	F limite (α = 0,05)
Linéarité	4,03E+12	1	4,03E+12	66427,10	4,67
Non-linéarité	2,51E+08	3	8,38E+07	1,38	3,71
Résiduelle	6,07E+08	10	6,07E+07		
Total	4,03E+12	14			

F linéarité > F linéarité limite, la pente existe au risque considéré. **CONFORME**

F non-linéarité < F non-linéarité limite, la droite est en bonne adéquation avec un modèle linéaire au risque considéré. **CONFORME**

3. Coefficients du modèle linéaire

SCEx	SCEy	SPExy	Moy x	Moy y
18750	4,0347E+12	275017225	75,000	1106778

a1	a0
14667,58533	6708,944444

var res	var pente	var a0
66057717,67	3523,078276	24221163,15

pour alpha = 0.05 t(1-α/2)= 2,16				
14539	<	valeur vraie pente	<	14796
-3921	<	valeur vraie intersection	<	17339

La droite passe par 0 au risque considéré.

4. Résidus

Molécule de l'étude: **Avibactam (ZAVICEFTA)**

C	Unité	J1	J2	J3
25	Unité	367559,3333	371804,6667	374133,3333
50	Unité	732961	744812	739254
75	Unité	1103977,667	1117188,333	1122990
100	Unité	1466943	1471897	1470424
125	Unité	1828321,667	1836544,667	1852857

Concentration calculée

J1	J2	J3
24,91164927	24,635473	24,99492583
49,90145917	50,13805078	49,74137102
75,27527876	75,59748699	75,74949041
100,0984679	99,84898167	99,29720278
124,8131449	124,7800076	125,21701

Modèle linéaire : $y = 14667,58533 X + 6708,944444$

C	Residues
25	-0,088
25	-0,365
25	-0,005
50	-0,099
50	0,138
50	-0,259
75	0,275
75	0,597
75	0,749
100	0,098
100	-0,151
100	-0,703
125	-0,187
125	-0,220
125	0,217

Résidus positifs	6
Résidus négatifs	9

Conclusion :

Si le ratio positif versus négatif est équilibré, le modèle linéaire est estimé adéquate.

Oui

5. Exactitude

L'exactitude se caractérise par l'étroitesse de l'accord entre un résultat d'essais et la valeur de référence acceptée.

Molécule de l'étude: **Avibactam (ZAVICEFTA)**

	C	Unité	J1	J2	J3
C basse	25	Unité	367559,3333	371804,6667	374133,3333
C moyenne	75	Unité	1103977,667	1117188,333	1122990
C haute	125	Unité	1828321,667	1836544,667	1852857

Concentration calculée		
J1	J2	J3
24,91164927	24,635473	24,99492583
75,27527876	75,59748699	75,74949041
124,8131449	124,7800076	125,21701

%		
99,65	98,54	99,98
100,37	100,80	101,00
99,85	99,82	100,17

Moyenne des % 100,02 %
SD 0,72

Valeur test Student t à un risque égal à 5%: **2,14**

Intervalle de confiance	
Compris entre	99,51 and 100,53

Si la valeur 100 % n'est pas compris dans l'intervalle de confiance, cela doit être justifié.

CONFORME

Annexe 21 : Validation méthode analytique 1 /tests statistiques, ceftazidime (Valistab®)

1. Homogénéité des variances : TEST DE COCHRAN

Molécule de l'étude: Ceftazidime				
	Répétitions			
C	Surface 1	Surface 2	Surface 3	VAR
100,000	9010857,667	8860968,667	8900013,333	6,05E+09
200,000	18039907	17626448	17641854	5,49E+10
300,000	27178021	26486537	26895524,33	1,21E+11
400,000	36107461	35033072	35266451	3,19E+11
500,000	45073669,33	43679287,67	45001391,33	6,16E+11
			SUM VAR	1,12E+12
VAR MAX	Tf			
6,16E+11	0,551			
		Répétitions	3	
		Nb points	5	
		Tf théorique	5%	0,684

Si Tf est inférieur à la valeur critique Tf théorique, le test n'est pas significatif (on ne met pas en évidence de différences entre les variances) et on peut conclure à l'homogénéité des variances considérées.

CONFORME

2. Linéarité : Analyse de variances ANOVA

	Répétitions				
C	Surface 1	Surface 2	Surface 3	SUM Xyi	SCEyi
100,000	9010857,667	8860968,667	8900013,333	2677183967	12092554849
200,000	18039907	17626448	17641854	10661641800	109877293442
300,000	27178021	26486537	26895524,33	24168024700	241741709254
400,000	36107461	35033072	35266451	42562793600	638691767021
500,000	45073669,33	43679287,67	45001391,33	66877174167	1232494149011
SCEx	SUM XiYi	SPExy			
300000,00	146946818233	26706379233			
SOURCE	SCE	Degrés Liberté	Variances	F	F limite (α = 0,05)
Linéarité	2,38E+15	1	2,38E+15	10637,78	4,67
Non-linéarité	1,42E+11	3	4,73E+10	0,21	3,71
Résiduelle	2,23E+12	10	2,23E+11		
Total	2,38E+15	14			

F linéarité > F linéarité limite, la pente existe au risque considéré.

CONFORME

F non-linéarité < F non-linéarité limite, la droite est en bonne adéquation avec un modèle linéaire au risque considéré.

CONFORME

3. Coefficients du modèle linéaire

SCEx	SCEy	SPExy	Moy x	Moy y
300000	2,37981E+15	26706379233	300,000	26720098
a1	a0			
89021,26411	13718,32222			
var res	var pente	var a0		
1,82834E+11	609446,6988	67039136869		
pour alpha = 0.05 t(1-α/2)= 2,16				
87335	<	valeur vraie pente	<	90708
-545547	<	valeur vraie intersection	<	572984

La droite passe par 0 au risque considéré.

4. Résidus

Molécule de l'étude: **Ceftazidime**

C	Unité	J1	J2	J3
100	Unité	9010857,667	8860968,667	8900013,333
200	Unité	18039907	17626448	17641854
300	Unité	27178021	26486537	26895524,33
400	Unité	36107461	35033072	35266451
500	Unité	45073669,33	43679287,67	45001391,33

Concentration calculée		
J1	J2	J3
99,63977246	99,22289677	101,3852922
199,7476698	199,925457	198,7035408
301,0648012	301,7149442	301,719716
400,0682986	399,9021536	394,9087768
499,479458	499,2345484	503,2826742

Modèle linéaire : $y = 89021,26411 X + 13718,32222$

C	Residues
100	-0,360
100	-0,777
100	1,385
200	-0,252
200	-0,075
200	-1,296
300	1,065
300	1,715
300	1,720
400	0,068
400	-0,098
400	-5,091
500	-0,521
500	-0,765
500	3,283

Résidus positifs	6
Résidus négatifs	9

Conclusion :

Si le ratio positif versus négatif est équilibré, le modèle linéaire est estimé adéquate.

Oui

5. Exactitude

L'exactitude se caractérise par l'étroitesse de l'accord entre un résultat d'essais et la valeur de référence acceptée.

Molécule de l'étude: **Ceftazidime**

	C	Unité	J1	J2	J3
C basse	100	Unité	9010857,667	8860968,667	8900013,333
C moyenne	300	Unité	27178021	26486537	26895524,33
C haute	500	Unité	45073669,33	43679287,67	45001391,33

Concentration calculée		
J1	J2	J3
99,63977246	99,22289677	101,3852922
301,0648012	301,7149442	301,719716
499,479458	499,2345484	503,2826742

%		
99,64	99,22	101,39
100,35	100,57	100,57
99,90	99,85	100,66

Moyenne des % 100,24 %
SD 0,65

Valeur test Student t à un risque égal à 5% : **2,14**

Intervalle de confiance	
Compris entre	99,77 and 100,70

Si la valeur 100 % n'est pas compris dans l'intervalle de confiance, cela doit être justifié.

CONFORME

Stabilité physico-chimique de la ceftazidime à 125 mg/mL en seringue polypropylène et à 25 mg/mL en diffuseur portable pour une administration continue en service de soins intensifs et à domicile

LOEUILLÉ.G¹, VIGNERON.J^{1,4}, D'HUART.E^{1,4}, CHARMILLON.A², DEMORE.B^{1,3,4}

1 Pharmacie, CHRU de Nancy, Allée du Morvan, 54511 Vandoeuvre-lès-Nancy, France

2 Equipe transversale d'infectiologie, CHRU de Nancy, Allée du Morvan, 54511 Vandoeuvre-lès-Nancy, France

3 Université de Lorraine, EA 4360 APEMAC, Nancy, France.

4 Infostab, Association à but non lucratif, 54180 Heillecourt France

infostab@wanadoo.fr

Introduction

La ceftazidime est un antibiotique de la famille des β -lactamines, possédant une activité temps-dépendant, son administration continue améliore son efficacité thérapeutique. Pour les infections sévères, la posologie recommandée est de 6 g/j. La pyridine est l'un des produits de dégradation de la ceftazidime pouvant être toxique. Jones *et al.* ont réalisé une revue de la littérature et proposent une dose sécuritaire de 100 mg/j de pyridine.

Objectif

Étudier la stabilité physico-chimique de solutions de ceftazidime à 125 mg/mL, en seringue polypropylène conservées à 20-25°C pour une administration continue en service de soins intensifs et à 25 mg/mL en diffuseur élastomérique, conservées à 37 °C, à l'abri de la lumière pour une administration continue à domicile. Les solutions ont été diluées dans du chlorure de sodium 0,9% (NaCl 0,9%) ou dans du glucose 5% (G5%) et analysées à T0, T8, T24 et T48 heures. Identifier et quantifier la pyridine à chaque temps d'analyse.

Matériels et méthodes

Trois diffuseurs et 3 seringues ont été préparés pour chaque condition. A chaque temps d'analyse, 3 échantillons de chaque préparation ont été analysés avec une méthode validée selon les ICH Q2(R1) par chromatographie liquide haute performance couplée à un détecteur à barrette de diode à 260 nm. La stabilité physique a été évaluée par une inspection visuelle et subvisuelle (turbidimétrie par spectrophotométrie à 350, 410 et 550 nm). Les valeurs de pH ont été mesurées.

Résultats

La linéarité a été validée avec un R^2 de 0,9997 pour la ceftazidime et un R^2 de 0,9999 pour la pyridine. Les coefficients de variation pour la répétabilité et la précision intermédiaire étaient inférieurs à 2% pour la ceftazidime. Le temps de rétention est de 4,1 min pour la ceftazidime et de 11,8 min pour la pyridine (résolution supérieure à 1,5 entre les 2 pics). Dans le NaCl 0,9%, la ceftazidime a conservé plus de 90% de la concentration initiale après 24 h en seringue et 8 h en diffuseur. Après 24 h dans le G5%, les solutions de ceftazidime conservaient 88% de la concentration initiale en seringue et 77% en diffuseur. Au bout de 48 h, dans les deux solvants, un léger jaunissement a été observé ainsi que la formation de gaz dès 8 h en seringue. L'absorbance à 550 nm a augmenté significativement au bout de 24h en diffuseur et 48 h en seringue. Les taux de pyridine étaient inférieurs à 100 mg lorsque les solutions conservaient plus de 90 % de la concentration initiale en ceftazidime. La variation maximale de pH observée durant l'étude est de 0,66 unité. Les facteurs diminuant la stabilité de la ceftazidime sont l'utilisation du glucose 5% comme solvant et l'exposition à haute température (37°C).

Conclusion

Dans le G5%, la ceftazidime présente une instabilité chimique, ne permettant une administration que sur 8 heures en seringue et en diffuseur. Diluée dans du NaCl 0,9%, la ceftazidime est stable à 125 mg/mL pendant 24 heures en seringue polypropylène et 8 heures à 25 mg/mL en diffuseur élastomérique.

Mots-clefs : ceftazidime, stabilité, CLHP

Références :

Terry E Jones *et al*, *Ceftazidime stability and pyridine toxicity during continuous i.v. infusion*, *Am J Health Syst Pharm*. 2019 Feb 1;76(4):200-205



Stabilité physicochimique de la **Ceftazidime** à 125 mg/mL en seringue polypropylène et à 25 mg/mL en diffuseur portable pour une administration continue en service de soins intensifs et à domicile



LOEUILLE Guillaume¹, VIGNERON Jean^{1,4}, D'HUART Elise^{1,4}, CHARMILLON Alexandre², DEMORE Béatrice^{1,3,4}

Poster
N° 238

¹ Pharmacie, CHRU de Nancy, Allée du Morvan, 54511 Vandoeuvre-lès-Nancy, France

² Service des maladies infectieuses, CHRU de Nancy, Allée du Morvan, 54511 Vandoeuvre-lès-Nancy, France

³ Université de Lorraine, EA 4360 APEMAC, Nancy, France.

⁴ Infostab, association à but non lucratif, 54180 Heillecourt France

INTRODUCTION

- La **ceftazidime** est un antibiotique de la famille des β -lactamines. La posologie est de 6 g/j pour les infections sévères.
- Antibiotique **temps-dépendant**: administration en continu permet une meilleure efficacité thérapeutique.
- La **pyridine** est l'un des produits de dégradation pouvant être toxique de la **ceftazidime**.
- Jones *et al* proposent dans leur revue de la littérature, une dose sécuritaire de 100 mg/j de **pyridine**. (*Ceftazidime stability and pyridine toxicity during continuous I.V infusion; Am J Health-syst Pharm, 2019; 76(4): 200-205*)

OBJECTIFS

- Etudier la stabilité physicochimique de la **ceftazidime**

	NaCl 0,9% et G5%	125 mg/mL	20-25 °C	T 0h, 8h, 24h, 48h
		25 mg/mL	37 °C	

- Identifier en quantifiant la **pyridine**.

(1) Diffuseur élastomérique en polyisoprène
Baxter Infusor[®] LV10

MATÉRIELS ET MÉTHODES

STABILITÉ CHIMIQUE

Méthode : CLHP en phase inverse, avec un détecteur DAD à 260 nm [2]; colonne: C18 LiCrospher[®] 25,0 cm, diamètre: 4,6 mm, taille particules = 5 μ m

- Phase mobile** : isocratique : acétate d'ammonium (0,1M) / acétonitrile 90/10 (v/v), ajusté pH 7,5 avec de l'ammoniac 28-30 %
- Débit** : 1 mL/min Volume d'injection : 20 μ L

→ VALIDATION EN ACCORD AVEC LES ICH Q2(R1)

- Dégradation forcée** : HCl 1M (10 min à 50°C); NaOH 0,01 M (5 min); UV (15 min à 254 nm); chaleur (1h à 75°C); H₂O₂ 0,3% (15 min à 50°C)
- Linéarité** : droite d'étalonnage en 5 points: entre 100 et 500 μ g/mL (**ceftazidime**) et entre 1 et 40 μ g/mL (**pyridine**)
- Répétabilité et précision intermédiaire** : 100, 300, 500 μ g/mL (**ceftazidime**) et 1, 20, 40 μ g/mL (**pyridine**)
- Mesure pH** (Bioblock Scientific pH meter)

SCHÉMA DE L'ÉTUDE



T0 H
T8 H
T24 H
T48 H

- Analyse par CLHP: concentration et produits de dégradation (n=3 par diffuseur et par seringue)
- Mesure pH
- Inspection visuelle
- Turbidimétrie

- Critères Stabilité:**
- ± 10% de la concentration initiale
 - Ø changement significatif: pH, visuel, subvisuel
 - taux **pyridine** < 100 mg/jour

STABILITÉ PHYSIQUE

- Inspection visuelle** : recherche d'un changement de couleur, formation d'un précipité ou de gaz.
- Inspection subvisuelle** : mesure de la turbidimétrie par un spectrophotomètre à 350, 450 et 550 nm (Safas Monaco UV m²)

ICH : International conference on harmonisation.

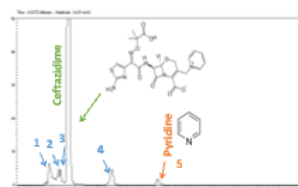
CLHP : Chromatographie liquide haute performance.

RÉSULTATS

Cef : Ceftazidime S : Seringue
Pyr : Pyridine D : Diffuseur

VALIDATION DE MÉTHODE

- Linéarité** : R² > 0,9997 (Cef) R² > 0,9999 (Pyr)
- Répétabilité** : CV < 2% (Cef) et (Pyr)
- Précision intermédiaire** : CV < 2% (Cef) et (Pyr) sauf pour le point à 1 μ g/mL (CV < 5%).
- Temps de rétention** : 4,1min (Cef), 11,8 min (Pyr)
- Méthode indicatrice de stabilité** : détection (1, 2, 3, 4) et quantification (5) des produits de dégradations.

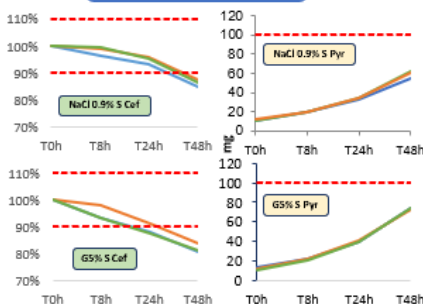


Chromatogramme d'une solution de **ceftazidime** à 125 mg/mL diluée dans du NaCl 0,9% (chauffé 1h à 75°C).

STABILITÉ PHYSIQUE

- Inspection visuelle**: absence de formation de précipité. À 48 h léger jaunissement (NaCl 0,9% et G5%). Formation de gaz à partir de 8 heures (NaCl 0,9% et G5%).
- Inspection subvisuelle**: Ø changement significatif à 350 et 410 nm; dans le NaCl 0,9% /G5%, augmentation progressive de l'absorbance à 550 nm au bout de 48 heures en seringue et 24h en diffuseur.

Stockage : T° ambiante, exposé à la lumière, concentration: 125 mg/mL



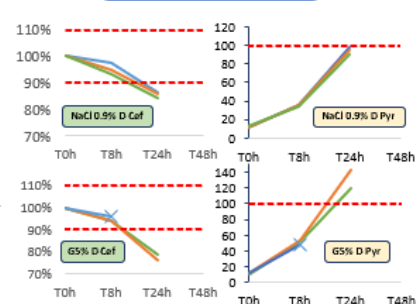
STABILITÉ CHIMIQUE

Variation pH:

- Variation max en seringue: 0,65 (48h)
- Variation max en diffuseur: 0,66 (24h)



Stockage : étude 37 °C, à l'abri de la lumière, concentration: 25 mg/mL



DISCUSSION

- Apparition de gaz lors de l'étude: du à la présence de carbonate de sodium comme excipient.
- Taux de **pyridine** (100 mg) soit l'équivalent d' 1,3% de la surface du pic de **ceftazidime**.
- Facteurs diminuant la stabilité: solvant G5% et T°C + élevée (37°C)
- Projection: stabilité possible de 12h en diffuseur dilué dans du NaCl 0,9% → étude complémentaire à réaliser.

CONCLUSION

- La **ceftazidime** est stable à 125 mg/mL pendant 24 h dans une seringue polypropylène diluée dans du NaCl 0,9%.
- La **ceftazidime** est stable à 25 mg/mL pendant 8 h à 37°C dans un diffuseur élastomérique diluée dans du NaCl 0,9% ou dans du G5%.

[2] M.E.Abdel-Hamid, F5Q spectrophotometric and HPLC analysis of some cephalosporins in the presence of their alkali-induced degradation products, Il Farmaco, 1998, 53 : 152-158
Contact: infostab@wanadoo.fr

BIBLIOGRAPHIE

Abdul-Aziz, M. H., Lipman, J., Akova, M., Bassetti, M., De Waele, J. J., Dimopoulos, G., Dulhunty, J., Kaukonen, K.-M., Koulenti, D., Martin, C., Montravers, P., Rello, J., Rhodes, A., Starr, T., Wallis, S. C., Roberts, J. A., DALI Study Group. (2016). Is prolonged infusion of piperacillin/tazobactam and meropenem in critically ill patients associated with improved pharmacokinetic/pharmacodynamic and patient outcomes? An observation from the Defining Antibiotic Levels in Intensive care unit patients (DALI) cohort. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 71(1), 196-207. doi:10.1093/jac/dkv288

Antibiothérapie des infections à entérobactéries et à *Pseudomonas aeruginosa* chez l'adulte : place des carbapénèmes et de leurs alternatives. *Haute Autorité de Santé*. Disponible à https://www.has-sante.fr/jcms/c_2968915/fr/antibiotherapie-des-infections-a-enterobacteries-et-a-pseudomonas-aeruginosa-chez-l-adulte-place-des-carbapenemes-et-de-leurs-alternatives

Arensdorff, L., Boillat-Blanco, N., Decosterd, L., Buclin, T. de Vallière, S. (2017). Adequate plasma drug concentrations suggest that amoxicillin can be administered by continuous infusion using elastomeric pumps. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 72(9), 2613-2615. doi:10.1093/jac/dkx178

Article L.5126-4 du Code de Santé Publique.

Article R.5121-82 et R.5121-83 du Code de Santé Public.

Article R.5121-84 à R.5121-86 du Code de Santé Public.

Avis de la commission spécialisée des anti-infectieux sur le référencement de ZERBAXA (ceftolozane/tazobactam) Nancy, 2016. Disponible à <https://www.antibioest.org/wp-content/uploads/2018/09/Avis-CSAI-Zerbaxa-def-mef.pdf>

Avis HAS février 2020 ZERBAXA (ceftolozane/ tazobactam). *Haute Autorité de Santé*. Disponible à https://www.has-sante.fr/jcms/p_3152698/fr/zerbaxa-ceftolozane-tazobactam

- Bardin, C., Astier, A., Vulto, A., Sewell, G., Vigneron, J., Trittler, R., Daouphars, M., Paul, M., Trojniak, M., Pinguet, F., French Society of Oncology Pharmacy. (2011). Guidelines for the practical stability studies of anticancer drugs: a European consensus conference. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 69(4), 221-231. doi:10.1016/j.pharma.2011.07.002
- Barthes, D., Fauconneau, B., Martin, J. et Courtois, P. (1989). Effects of storage temperature and pH on the stability of cefotaxime in PVC bags.
- Benlabeled, M., Perez, M., Gaudy, R., Genay, S., Lannoy, D., Barthélémy, C., Odou, P., Lebuffe, G. Décaudin, B. (2019). Clinical implications of intravenous drug incompatibilities in critically ill patients. *Anaesthesia, Critical Care & Pain Medicine*, 38(2), 173-180. doi:10.1016/j.accpm.2018.04.003
- Berthoin, K., Le Duff, C. S., Marchand-Brynaert, J., Carryn, S. et Tulkens, P. M. (2010a). Stability of meropenem and doripenem solutions for administration by continuous infusion. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 65(5), 1073-1075. doi:10.1093/jac/dkq044
- Berthoin, K., Le Duff, C. S., Marchand-Brynaert, J., Carryn, S. Tulkens, P. M. (2010b). Stability of meropenem and doripenem solutions for administration by continuous infusion. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 65(5), 1073-1075. doi:10.1093/jac/dkq044
- Bonnes pratiques de preparation. Ministère de la Santé, de la Jeunesse et des Sports – Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé. Bulletin officiel 2007/7bis. .
- Bourgain. (2016). Socle de connaissances sur la perfusion en anesthésie réanimation. Octobre 2016. Disponible à https://www.srlf.org/wp-content/uploads/2016/10/2016_-_socleperfusion2016-2.pdf
- Brossard D, Chedru-Legros V, Crauste-Manciet S, Fleury-Souverain S, Lagarce F, Odou P, Roy S, Sadeghipour F, Sautou V. (2013). Guide Méthodologique des Etudes de Stabilité des Préparations. Partie 1 : Préparations liquides. Coord. V. Sautou, 1ère édition. SFPC/GERPAC.

- Brustugun, J., Kristensen, S. Tønnesen, H. H. (2004). Photostability of symphatomimetic agents in commonly used infusion media in the absence and presence of bisulfite. *PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 58(6), 296-308.
- Burton, G., Dobson, C. R., Everett, J. R. (1986). The degradation of temocillin, a 6 alpha-methoxyphenicillin, and identification of the major degradation products. *The Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 38(10), 758-761. doi:10.1111/j.2042-7158.1986.tb04485.x
- Bush, K. (2001). New beta-lactamases in gram-negative bacteria: diversity and impact on the selection of antimicrobial therapy. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 32(7), 1085-1089. doi:10.1086/319610
- Carlier, M., Stove, V., Verstraete, A. G., De Waele, J. J. (2015). Stability of generic brands of meropenem reconstituted in isotonic saline. *Minerva Anestesiologica*, 81(3), 283-287.
- Carryn, S., Couwenbergh, N., Tulkens, P. M. (2010). Long-term stability of temocillin in elastomeric pumps for outpatient antibiotic therapy in cystic fibrosis patients. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 65(9), 2045-2046. doi:10.1093/jac/dkq229
- Ceftolozane / tazobactam (Zerbaxa®) - Summary of Product Characteristics Laboratoires Merck Sharp & Dohme Chibret 2020. .
- Claeysoone, K., Basma, V., Hens, R., Van Bambeke, F., De Jongh, R., Tulkens, P. (2005). Continuous versus intermittent infusion of temocillin in intensive care unit patients. *Critical Care*, 9(Suppl 1), P37. doi:10.1186/cc3100
- Cousson, J., Floch, T., Guillard, T., Vernet, V., Raclot, P., Wolak-Thierry, A., Jolly, D. (2015). Lung concentrations of ceftazidime administered by continuous versus intermittent infusion in patients with ventilator-associated pneumonia. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 59(4), 1905-1909. doi:10.1128/AAC.04232-14
- Craig, W. A. et Ebert, S. C. (1990). Killing and regrowth of bacteria in vitro: a review. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases. Supplementum*, 74, 63-70.
- Curti, C., Souab, H. K., Lamy, E., Mathias, F., Bornet, C., Guinard, B., Fersing, C., Primas, N., Albanèse, J., Vanelle, P. (2019). Stability Studies of Antipyocyanic Beta-Lactam

- Antibiotics Used in Continuous Infusion. *Die Pharmazie*, 74(6), 357-362.
doi:10.1691/ph.2019.8215
- Curti, C., Souab, H. K., Lamy, E., Mathias, F., Bornet, C., Guinard, B., Fersing, C., Primas, N., Albanèse, J., Vanelle, P. (2019). Stability Studies of Antipyocyanic Beta-Lactam Antibiotics Used in Continuous Infusion. *Die Pharmazie*, 74(6), 357-362.
doi:10.1691/ph.2019.8215
- Das Gupta, V., Bethea, C., dela Torre, M. (1988). Chemical stabilities of cefoperazone sodium and ceftazidime in 5% dextrose and 0.9% sodium chloride injections. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, 13(3), 199-205. doi:10.1111/j.1365-2710.1988.tb00181.x
- de Souza Barbosa, F., Capra Pezzi, L., Tsao, M., Dias Macedo, S. M., de Oliveira, T. F., Schapoval, E. E. S., Mendez, A. S. L. (2020). Stability in clinical use and stress testing of meropenem antibiotic by direct infusion ESI-Q-TOF: Quantitative method and identification of degradation products. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 179, 112973. doi:10.1016/j.jpba.2019.112973
- D'Huart, E., Meyer, F., Demoré, B. Charmillon, A. (2020, 9 septembre). Poster « Efficacité clinique de la témocilline dans un centre hospitalier universitaire français », présenté au 21^{ème} journées d'infectiologies (Poitiers, 2020). Poitiers.
- D'Huart, E., Vigneron, J., Charmillon, A., Claret, I., Demoré, B. (2019). Physicochemical Stability of Vancomycin at High Concentrations in Polypropylene Syringes. *The Canadian Journal of Hospital Pharmacy*, 72(5), 360-368.
- Diamantis S. (2017). Antibiothérapie parentérale à domicile, présentation orale, 18^{ème} Journées Nationales d'infectiologie (Saint-Malo).
- Disponibilité des produits de santé - ZERBAXA 0,1 g/0,5 g|, poudre pour solution à diluer pour perfusion - ANSM. . Disponible à <https://ansm.sante.fr/disponibilites-des-produits-de-sante/medicaments/zerbaxa-0-1-g-0-5-g-poudre-pour-solution-a-diluer-pour-perfusion>
- Docherty, T., Montalto, M., Leslie, J., King, K., Niblett, S., Garrett, T. (2017). Temperature profiles of antibiotic-containing elastomeric infusion devices used by ambulatory care patients. *American Journal of Health-System Pharmacy: AJHP: Official Journal of the*

- American Society of Health-System Pharmacists*, 74(13), 992-1001.
doi:10.2146/ajhp151071
- Drlica, K., et X. Zhao. (2004). Is 'dosing-to-cure' appropriate in the face of antimicrobial resistance? *Rev. Med. Microbiol.*15:73-80. Disponible à *Rev. Med. Microbiol.*15:73-80
- Dulhunty, J. M., Roberts, J. A., Davis, J. S., Webb, S. A. R., Bellomo, R., Gomersall, C., Shirwadkar, C., Eastwood, G. M., Myburgh, J., Paterson, D. L., Lipman, J. (2013). Continuous infusion of beta-lactam antibiotics in severe sepsis: a multicenter double-blind, randomized controlled trial. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 56(2), 236-244. doi:10.1093/cid/cis856
- Durojaiye, O. C., Bell, H., Andrews, D., Ntziora, F., Cartwright, K. (2018). Clinical efficacy, cost analysis and patient acceptability of outpatient parenteral antibiotic therapy (OPAT): a decade of Sheffield (UK) OPAT service. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 51(1), 26-32. doi:10.1016/j.ijantimicag.2017.03.016
- Dyar, S. C. et Notari, R. E. (1998). Hydrolysis kinetics and stability predictions for a mixture of R and S temocillin isomers. *International Journal of Pharmaceutics*, 173(1), 221-232. doi:10.1016/S0378-5173(98)00239-7
- ECDC europa. (2018). Surveillance of antimicrobial resistance in Europe. Disponible à <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/surveillance-antimicrobial-resistance-Europe-2018.pdf>
- Elkhaïli, H., Niedergang, S., Pompei, D., Linger, L., Leveque, D., Jehl, F. (1996). High-performance liquid chromatographic assay for meropenem in serum. *Journal of Chromatography. B, Biomedical Applications*, 686(1), 19-26. doi:10.1016/s0378-4347(96)00205-8
- Falagas, M. E., Tansarli, G. S., Ikawa, K., Vardakas, K. Z. (2013). Clinical outcomes with extended or continuous versus short-term intravenous infusion of carbapenems and piperacillin/tazobactam: a systematic review and meta-analysis. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 56(2), 272-282. doi:10.1093/cid/cis857

Fetroja 1 g powder - Summary of Product Characteristics (SmPC) - (emc). . Disponible à <https://www.medicines.org.uk/emc/product/11771#gref>

Food and Drug Administration. (2008). Department of Health and Human Services. Guidance for Industry, Drugs Stability Guidelines. Décembre 2008. Disponible à <https://www.fda.gov/ucm/groups/fdagov-public/@fdagov-avgen/documents/document/ucm051556.pdf>

Goodfellow, A. F., Wai, A. O., Frighetto, L., Marra, C. A., Ferreira, B. M., Chase, M. L., Nicol, R. E., Leong, C. A., TomLinson, S., Jewesson, P. J. (2002). Quality-of-life assessment in an outpatient parenteral antibiotic program. *The Annals of Pharmacotherapy*, 36(12), 1851-1855. doi:10.1345/aph.1C153

Harmanjeet, H., Jani, H., Zaidi, S. T. R., Wanandy, T., Castelino, R. L., Sud, K., Peterson, G. M., Patel, R. P. (2020). Stability of ceftolozane and tazobactam in different peritoneal dialysis solutions. *Peritoneal Dialysis International: Journal of the International Society for Peritoneal Dialysis*, 40(5), 470-476. doi:10.1177/0896860820902590

HAS NEGABAN 2015. Disponible à https://www.has-sante.fr/upload/docs/evamed/CT-14132_NEGABAN_PIC_INS_Avis2_CT14132.pdf

Hubert, D., Le Roux, E., Lavrut, T., Wallaert, B., Scheid, P., Manach, D., Grenet, D., Sermet-Gaudelus, I., Ramel, S., Cracowski, C., Sardet, A., Wizla, N., Deneuille, E., Garraffo, R. (2009). Continuous versus intermittent infusions of ceftazidime for treating exacerbation of cystic fibrosis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 53(9), 3650-3656. doi:10.1128/AAC.00174-09

International Conference on Harmonisation: Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2 (R1). Guideline 2005. Available at: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q2_R1/Step4/Q2_R1__Guideline.pdf. Accessed: 24 March 2021. .

Jamieson, C., Ozolina, L., Seaton, R. A., Gilchrist, M., Hills, T., Drummond, F., Wilkinson, A. S., BSAC Drug Stability Testing Working Group. (2020). Assessment of the stability of citrate-buffered piperacillin/tazobactam for continuous infusion when stored in two

- commercially available elastomeric devices for outpatient parenteral antimicrobial chemotherapy: a study compliant with the NHS Yellow Cover Document requirements. *European Journal of Hospital Pharmacy: Science and Practice*, ejhpharm-2020-002340. doi:10.1136/ejhpharm-2020-002340
- Jenkins, A., Shanu, S., Jamieson, C., Santillo, M. (2021). Systematic review of the stability of antimicrobial agents in elastomeric devices for outpatient parenteral antimicrobial therapy services based on NHS Yellow Cover Document standards. *European Journal of Hospital Pharmacy: Science and Practice*, ejhpharm-2021-002729. doi:10.1136/ejhpharm-2021-002729
- Jin, S.-E., You, S., Jeon, S., Hwang, S.-J. (2016). Diazepam sorption to PVC- and non-PVC-based tubes in administration sets with quantitative determination using a high-performance liquid chromatographic method. *International Journal of Pharmaceutics*, 506(1-2), 414-419. doi:10.1016/j.ijpharm.2016.04.040
- Knothe, H., Shah, P., Krcmery, V., Antal, M., Mitsuhashi, S. (1983). Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. *Infection*, 11(6), 315-317. doi:10.1007/BF01641355
- Kohanski, M. A., Dwyer, D. J., Hayete, B., Lawrence, C. A., Collins, J. J. (2007). A common mechanism of cellular death induced by bactericidal antibiotics. *Cell*, 130(5), 797-810. doi:10.1016/j.cell.2007.06.049
- Kondo, Y., Ota, K., Imura, H., Hara, N., Shime, N. (2020). Prolonged versus intermittent β -lactam antibiotics intravenous infusion strategy in sepsis or septic shock patients: a systematic review with meta-analysis and trial sequential analysis of randomized trials. *Journal of Intensive Care*, 8, 77. doi:10.1186/s40560-020-00490-z
- Kratzer, A., Rothe, U. et Dorn, C. (2019). NP-008 Stability of ceftolozane/tazobactam in solution as infusion for prolonged or continuous application. *European Journal of Hospital Pharmacy*, 26(Suppl 1), A294-A294. doi:10.1136/ejhpharm-2019-eahpconf.633

- Krueger, W. A., Bulitta, J., Kinzig-Schippers, M., Landersdorfer, C., Holzgrabe, U., Naber, K. G., Drusano, G. L., Sörgel, F. (2005). Evaluation by monte carlo simulation of the pharmacokinetics of two doses of meropenem administered intermittently or as a continuous infusion in healthy volunteers. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49(5), 1881-1889. doi:10.1128/AAC.49.5.1881-1889.2005
- Lal, A., Jaoude, P., El-Solh, A. A. (2016). Prolonged versus Intermittent Infusion of β -Lactams for the Treatment of Nosocomial Pneumonia: A Meta-Analysis. *Infection & Chemotherapy*, 48(2), 81-90. doi:10.3947/ic.2016.48.2.81
- Laterre, P.-F., Wittebole, X., Van de Velde, S., Muller, A. E., Mouton, J. W., Carryn, S., Tulkens, P. M., Dugernier, T. (2015). Temocillin (6 g daily) in critically ill patients: continuous infusion versus three times daily administration. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 70(3), 891-898. doi:10.1093/jac/dku465
- Lee, Y. R., Miller, P. D., Alzghari, S. K., Blanco, D. D., Hager, J. D., Kuntz, K. S. (2018). Continuous Infusion Versus Intermittent Bolus of Beta-Lactams in Critically Ill Patients with Respiratory Infections: A Systematic Review and Meta-analysis. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 43(2), 155-170. doi:10.1007/s13318-017-0439-5
- Liebchen, U., Kratzer, A., Wicha, S. G., Kees, F., Kloft, C., Kees, M. G. (2014). Unbound fraction of ertapenem in intensive care unit patients. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 69(11), 3108-3111. doi:10.1093/jac/dku226
- Longuet, P., Lecapitaine, A. L., Cassard, B., Batista, R., Gauzit, R., Lesprit, P., Haddad, R., Vanjak, D., Diamantis, S., Groupe des référents en infectiologie d'Île-de-France (GRIF). (2016a). Preparing and administering injectable antibiotics: How to avoid playing God. *Medecine Et Maladies Infectieuses*, 46(5), 242-268. doi:10.1016/j.medmal.2016.01.010
- Mancano, M. A., Boullata, J. I., Gelone, S. P., Zitterman, R. E., Borenstein, M. R. (1995). Availability of lorazepam after simulated administration from glass and polyvinyl

- chloride containers. *American Journal of Health-System Pharmacy*., 52(20), 2213-2216. doi:10.1093/ajhp/52.20.2213
- Manduru, M., Mihm, L. B., White, R. L., Friedrich, L. V., Flume, P. A., Bosso, J. A. (1997). In vitro pharmacodynamics of ceftazidime against *Pseudomonas aeruginosa* isolates from cystic fibrosis patients. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 41(9), 2053-2056. doi:10.1128/AAC.41.9.2053
- Marsilio, N. R., Silva, D. da, Bueno, D. (2016). Drug incompatibilities in the adult intensive care unit of a university hospital. *Revista Brasileira De Terapia Intensiva*, 28(2), 147-153. doi:10.5935/0103-507X.20160029
- Meropenem- Summary of Product Characteristics. Update 2016, Arrow générique.
- Meropenem- Summary of Product Characteristics. Update 2017, Frésénus Kabi.
- Meropenem- Summary of Product Characteristics. Update 2019, Aurobindo Pharma.
- Meropenem- Summary of Product Characteristics. Update 2019, Maco Pharma.
- Meropenem- Summary of Product Characteristics. Update 2019, Panpharma.
- Moon, Y. S., Chung, K. C., Chin, A., Gill, M. A. (1995). Stability of piperacillin sodium-tazobactam sodium in polypropylene syringes and polyvinyl chloride minibags. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 52(9), 999-1001. doi:10.1093/ajhp/52.9.999
- Mouton, J. W., den Hollander, J. G. (1994). Killing of *Pseudomonas aeruginosa* during continuous and intermittent infusion of ceftazidime in an in vitro pharmacokinetic model. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 38(5), 931-936. doi:10.1128/AAC.38.5.931
- Negaban 1 g, powder for solution for injection/infusion - Summary of Product Characteristics (SmPC) - (emc). . Disponible à <https://www.medicines.org.uk/emc/product/466>
- NHS. (2017). A Standard Protocol for Deriving and Assessment of Stability. Part 1- Aseptic Preparations (Small Molecules). 4th edition.
- Patel, P. R. et Cook, S. E. (1997). Stability of meropenem in intravenous solutions. *American Journal of Health-System Pharmacy: AJHP: Official Journal of the American Society of Health-System Pharmacists*, 54(4), 412-421. doi:10.1093/ajhp/54.4.412

- C. Dhelens, L-M Tall, J. Boisrame, A. Boibieux, C. Chidiac, F. Pirot, C. Pivot (2019) Perfusion continue d'oxacilline en diffuseur portable élastomérique : quelle stabilité physico-chimique en pratique clinique ? Communication orale JNl Lyon 2019. .
- Pharmaceutical technical procedures, 2.9.19: particulate contamination: sub-visible particles. In: European Pharmacopoeia. 10th ed. Strasbourg, France: European Directorate for the Quality of Medicines and Health Care; 2019:360-362. .
- Raby, E., Naicker, S., Sime, F. B., Manning, L., Wallis, S. C., Pandey, S., Roberts, J. A. (2020). Ceftolozane-tazobactam in an elastomeric infusion device for ambulatory care: an in vitro stability study. *European Journal of Hospital Pharmacy: Science and Practice*, 27(e1), e84-e86. doi:10.1136/ejhpharm-2019-002093
- Résumé des caractéristiques du produit - PIPERACILLINE/TAZOBACTAM PANPHARMA 4 g/500 mg, poudre pour solution pour perfusion - Base de données publique des médicaments. (2020) Disponible à <https://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/affichageDoc.php?specid=63012514&typedoc=R>
- Roberts, J. A., Abdul-Aziz, M.-H., Davis, J. S., Dulhunty, J. M., Cotta, M. O., Myburgh, J., Bellomo, R., Lipman, J. (2016). Continuous versus Intermittent β -Lactam Infusion in Severe Sepsis. A Meta-analysis of Individual Patient Data from Randomized Trials. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 194(6), 681-691. doi:10.1164/rccm.201601-0024OC
- Rolin, C., Hecq, J.-D., Tulkens, P., Vanbeckbergen, D., Jamart, J., Galanti, L. (2011). Long-term stability of temocillin in dextrose 5% and in sodium chloride 0.9% polyolefin bags at $5 \pm 3^\circ\text{C}$ after freeze-thaw treatment. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 69(6), 296-301. doi:10.1016/j.pharma.2011.09.004
- Sakka, S. G., Glauner, A. K., Bulitta, J. B., Kinzig-Schippers, M., Pfister, W., Drusano, G. L., Sörgel, F. (2007). Population pharmacokinetics and pharmacodynamics of continuous versus short-term infusion of imipenem-cilastatin in critically ill patients in a randomized, controlled trial. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 51(9), 3304-3310. doi:10.1128/AAC.01318-06

- Sautou, V., Chopineau, J., Gremeau, I., Chevrier, R., Bruneaux, F. (1994). Compatibility with medical plastics and stability of continuously and simultaneously infused isosorbide dinitrate and heparin. *International Journal of Pharmaceutics*, 107(2), 111-119. doi:10.1016/0378-5173(94)90448-0
- SFAR/SFPT. (2018). Recommandations de Pratiques Professionnelles, Optimisation du traitement par beta-lactamines chez le patient de soins critiques. Disponible à <https://sfar.org/optimisation-du-traitement-par-beta-lactamines-chez-le-patient-de-soins-critiques/>
- SFPC (French Society of Clinical Pharmacy) and GERPAC (Evaluation and Research Group on Protection in Controlled Atmospher). SFPC, GERPAC, Methodological guidelines for stability studies of hospital pharmaceutical preparations, Part I : Liquid preparations. http://www.gerpac.eu/IMG/pdf/guide_stabilite_anglais.pdf.
- Terracciano, J., Rhee, E. G., Walsh, J. (2017). Chemical Stability of Ceftolozane/Tazobactam in Polyvinylchloride Bags and Elastomeric Pumps. *Current Therapeutic Research, Clinical and Experimental*, 84, 22-25. doi:10.1016/j.curtheres.2017.03.002
- Tice, A. D., Rehm, S. J., Dalovisio, J. R., Bradley, J. S., Martinelli, L. P., Graham, D. R., Gainer, R. B., Kunkel, M. J., Yancey, R. W., Williams, D. N., IDSA. (2004). Practice guidelines for outpatient parenteral antimicrobial therapy. IDSA guidelines. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 38(12), 1651-1672. doi:10.1086/420939
- Tipper, D. J. (1985). Mode of action of beta-lactam antibiotics. *Pharmacology & Therapeutics*, 27(1), 1-35. doi:10.1016/0163-7258(85)90062-2
- Trissel, L. A. (2012). Institute for Safe Medication Practices Lifetime Achievement Award 2011. *International Journal of Pharmaceutical Compounding*, 16(1), 54-56.
- Turnidge, J. D. (1998). The pharmacodynamics of beta-lactams. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 27(1), 10-22. doi:10.1086/514622

- Vardakas, K. Z., Voulgaris, G. L., Maliaros, A., Samonis, G., Falagas, M. E. (2018). Prolonged versus short-term intravenous infusion of antipseudomonal β -lactams for patients with sepsis: a systematic review and meta-analysis of randomised trials. *The Lancet Infectious Diseases*, 18(1), 108-120. doi:10.1016/S1473-3099(17)30615-1
- Viaene, E., Chanteux, H., Servais, H., Mingeot-Leclercq, M.-P., Tulkens, P. M. (2002a). Comparative stability studies of antipseudomonal beta-lactams for potential administration through portable elastomeric pumps (home therapy for cystic fibrosis patients) and motor-operated syringes (intensive care units). *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46(8), 2327-2332. doi:10.1128/AAC.46.8.2327-2332.2002
- Vigneron J, D'Huart E, Demoré B. (2019) Stability studies in oncology – A marketing tool for pharmaceutical companies, a scientific mission for hospital pharmacists. *European Journal of Oncology Pharmacy* 2019. .
- Viola, A., Ferrazzano, L., Martelli, G., Cerisoli, L., Ricci, A., Tolomelli, A., Cabri, W. (2019). Novel insights into the chemistry of an old medicine: A general degradative pathway for penicillins from a piperacillin/tazobactam stability study. *European Journal of Pharmaceutical Sciences: Official Journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences*, 136, 104957. doi:10.1016/j.ejps.2019.104957
- Voumard, R., Gardiol, C., André, P., Arensdorff, L., Cochet, C., Boillat-Blanco, N., Decosterd, L., Buclin, T., de Vallière, S. (2018). Efficacy and safety of continuous infusions with elastomeric pumps for outpatient parenteral antimicrobial therapy (OPAT): an observational study. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 73(9), 2540-2545. doi:10.1093/jac/dky224
- Voumard, R., Van Neyghem, N., Cochet, C., Gardiol, C., Decosterd, L., Buclin, T., de Valliere, S. (2017). Antibiotic stability related to temperature variations in elastomeric pumps used for outpatient parenteral antimicrobial therapy (OPAT). *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 72(5), 1462-1465. doi:10.1093/jac/dkw582
- Wong, G., Briscoe, S., Adnan, S., McWhinney, B., Ungerer, J., Lipman, J., Roberts, J. A. (2013). Protein binding of β -lactam antibiotics in critically ill patients: can we

successfully predict unbound concentrations? *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 57(12), 6165-6170. doi:10.1128/AAC.00951-13

Zahnd, D., Aebi, S., Rusterholz, S., Fey, M. F., Borner, M. M. (1999). A randomized crossover trial assessing patient preference for two different types of portable infusion-pump devices. *Annals of Oncology*, 10(6), 727-729. doi:10.1023/A:1008334313918

DEMANDE D'IMPRIMATUR

Date de soutenance : 19 octobre 2021

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR
EN PHARMACIE

présenté par : Guillaume LOEUILLE

Sujet : Réalisation d'études de stabilité d'antibiotiques, ceftolozane/tazobactam, méropénem, témocilline, céfidérocol, ceftazidime, ceftazidime/avibactam et pipéracilline/tazobactam en seringue et en diffuseur portable dans le cadre de l'optimisation de ces molécules en administration continue en réanimation et en ambulatoire

Jury :

Président/ Co-Directeur : Pr Béatrice DEMORE
 Directeur : Dr Jean VIGNERON
 Juges : Pr Mathieu BOULIN
 Dr Alexandre CHARMILLON
 Dr Elise d'HUART


Vu,

Nancy, le 17 Septembre 2021

Le Président du Jury

Directeur de Thèse

M.
 Pr B. DEMORE
 Pharmacien ~~gérant~~
 Section 105832 H
 PUI CHRU NANCY

M. Vigneron Jean


Vu et approuvé,

Nancy, le 28.09.2021

Doyen de la Faculté de Pharmacie
de l'Université de Lorraine,

Vu,

Nancy, le 8.10.2021

Le Président de l'Université de Lorraine,



Pierre MUTZENHARDT

N° d'enregistrement : 12003C

TITRE

Réalisation d'études de stabilité d'antibiotiques, ceftolozane/tazobactam, méropénem, témocilline, cefiderocol, ceftazidime, ceftazidime/avibactam et pipéracilline/tazobactam en seringue et en diffuseur portable dans le cadre de l'optimisation de ces molécules en administration continue en réanimation et en ambulatoire

Thèse soutenue le 19 octobre 2021

Par : Guillaume LOEUILLE

RESUME :

Introduction : Les Bêta-lactamines font partie de la classe d'antibiotique la plus prescrite à l'hôpital et en ville. Antibiotique bactéricide et temps dépendant de part leur mode d'action, la réalisation de perfusions continues permet d'obtenir une meilleure efficacité thérapeutique.

Objectif : L'objectif de cette thèse est de réaliser des études de stabilité physicochimique de plusieurs β -lactamines, en seringue polypropylène à forte posologie pour les patients en soins critiques et en diffuseur élastomérique pour les patients recevant une antibiothérapie parentérale à domicile, afin de réaliser des perfusions continues et donc d'améliorer la prise en charge médicamenteuse de ces patients.

Matériel et méthode : Pour chaque étude, deux solvants ont été utilisés : le NaCl 0,9% et le G5%. Les seringues polypropylène réalisées pour l'étude sont stockées à température ambiante, non protégées de la lumière. Les diffuseurs en élastomère polyisoprène sont stockés à 37°C à l'abri de la lumière. Pour chaque condition de stockage (solvant/contenant/concentration) trois préparations sont réalisées.

La stabilité chimique est analysée par une méthode indicatrice de stabilité par chromatographie liquide haute performance couplée à un détecteur à barrette de diodes. Chaque méthode a été validée selon les recommandations des ICH Q2(R1). A chaque temps d'analyse, trois échantillons de chaque préparation ont été analysés. Les valeurs de pH ont été mesurées. La stabilité physique a été évaluée par une inspection visuelle et subvisuelle (turbidimétrie par spectrophotométrie à 350, 410 et 550 nm et par un comptage particulaire). La limite d'acceptabilité est fixée à une variation de $\pm 10\%$ de la valeur initiale mesurée à T0 heure, soit une concentration comprise entre 90-110 % de la concentration initiale. La variation maximale de pH tolérée est d'une unité pH.

Résultats : Au total 7 études de stabilité physicochimique ont été réalisées au sein du laboratoire de contrôle analytique de la pharmacie. Quatre de ces études ont été effectuées à la fois en seringue polypropylène et en diffuseur élastomérique (pipéracilline/tazobactam, ceftolozane/tazobactam, ceftazidime et ceftazidime/avibactam). Deux études ont été réalisées en seringue uniquement (céfidérocol et méropénem). Une seule a été réalisée uniquement en diffuseur (témocilline).

Les durées de stabilité en seringue polypropylène validées au cours de cette étude varient de 4 h pour le méropénem dilué dans du G5% et à 48 heures pour les solutions de pipéracilline/tazobactam diluées dans du NaCl 0,9% ou du G5%. En diffuseur élastomérique les durées de stabilité validées varient de 8 h pour le ceftazidime dilué dans du G5%/NaCl 0,9% et à 24 heures pour les solutions de témocilline diluées dans du NaCl 0,9%.

Conclusion : Ces nouvelles données de stabilité permettent l'amélioration de la prise en charge médicamenteuse, par la réalisation de perfusions continues pour les patients au sein des services de soins critiques et pour les patients éligibles à l'antibiothérapie par voie parentérale à domicile

MOTS CLES : Stabilité médicamenteuse, antibiothérapie, perfusion continue, soins intensifs, soins ambulatoires, diffuseur élastomérique

Co-directeurs de thèse	Intitulé du laboratoire	Nature
Dr VIGNERON Jean	Pharmacie Brabois Adultes CHU Nancy	Expérimentale ■
Pr DEMORE Béatrice	Laboratoire de Pharmacie Clinique, Faculté de Pharmacie de Nancy, Université de Lorraine	Bibliographique □ Thème 3

Thèmes

1 – Sciences fondamentales
3 – Médicament
5 – Biologie

2 – Hygiène/Environnement
4 – Alimentation – Nutrition
6 – Pratique professionnelle