



HAL
open science

Standardisation des doses (ou "Dose-Banding") des médicaments injectables : application à deux principes actifs l'aciclovir et l'infliximab

Lucie Sauvaget

► **To cite this version:**

Lucie Sauvaget. Standardisation des doses (ou "Dose-Banding") des médicaments injectables : application à deux principes actifs l'aciclovir et l'infliximab. Sciences pharmaceutiques. 2016. dumas-01310879

HAL Id: dumas-01310879

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01310879>

Submitted on 3 May 2016

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 Bordeaux

U.F.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Année 2016

Thèse n°48

Mémoire du DIPLOME d'ETUDES SPECIALISEES de PHARMACIE

Tenant lieu de THESE pour l'obtention du

DIPLOME d'ETAT de DOCTEUR en PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement à Bordeaux

Le 14 Avril 2016 par

Lucie SAUVAGET

Née le 20/09/1988 à Courbevoie (92)

**Standardisation des doses (ou « Dose-Banding ») des
médicaments injectables: Application à deux principes actifs
l'aciclovir et l'infliximab**

Directeur de Thèse

Madame le Docteur Aude BERRONEAU, Praticien Hospitalier

Membres du Jury

Mme S. CRAUSTE-MANCIET	Professeur des Universités, Praticien Hospitalier	Président
Mr A. DUPUIS	Maitre de conférences universitaires, Praticien Hospitalier	Juge
Mr F. POULLENOT	Praticien Hospitalier	Juge
Mr A. VENET	Praticien Hospitalier	Juge
Mr V. SERVANT	Assistant spécialiste	Juge

Remerciements

A Madame la Présidente du Jury

Le Professeur Sylvie Crauste-Manciet

Vous m'avez fait l'honneur d'avoir accepté de présider cette thèse.
Merci de m'avoir encadré tout au long de ces semestres.
Soyez assurée de mon respect le plus profond.
Je suis heureuse et particulièrement fière d'avoir pu apprendre à vos côtés.

A Madame la Directrice de thèse

Le Docteur Aude Berroneau

Tout a commencé grâce à toi et au travail que tu m'as confié sur Diana.
Je n'aurais pas cru que ce sujet me suivrait jusqu'au bout de mon internat, mais quelle chance !
Merci pour ton encadrement, ton calme et ton professionnalisme.
Je t'en suis extrêmement reconnaissante.

Aux membres du jury

Au Docteur Antoine Dupuis

Vous me faites l'honneur de participer à ce jury de thèse
Soyez assuré de ma profonde gratitude

Au Docteur Florian Poullenot

Je te remercie d'avoir aussi spontanément accepté de faire parti de ce jury de thèse.
Merci pour la confiance que toi et ton équipe portez aux pharmaciens.

Au Docteur Arnaud Venet

Ce fut un réel plaisir de travailler avec toi.
Je te remercie pour ta gentillesse, ton professionnalisme et toute l'aide que tu m'as apportée.
Merci de ton soutien

Au Docteur Vincent Servant

Mr S, il y a tellement à dire... Mais je commencerai par ceci : merci d'avoir accepté de participer au jury de thèse.

De tous les semestres passés à vos côtés dans la structure, je retiendrai plusieurs choses : ça ne serait pas pareil si vous n'étiez pas là, votre esprit vif ne chemine pas sur les rails de mon indifférence, et les cartons rouges régulent les esprits débordants! J'espère qu'on ne vous manquera pas trop, parce que vous par contre allez me manquer ! et n'oubliez pas... « A l'impossible, nul n'est tenu... »

Merci aux pharmaciens/médecins qui m'ont encadré au sein de leur service

Au Professeur Marie-Claude Saux

Au Professeur Dominique Breilh

Au Docteur Stéphane Pédeboscq

Au Docteur Françoise Haramburu

Au Docteur Philippe Dupire

Au Docteur Philippe Morlat

Veillez trouver ici l'expression de ma respectueuse considération.

A toutes les équipes avec lesquelles j'ai travaillé

Tout a débuté à Saint-André

A Vanessa, merci de m'avoir ouvert la porte... Probablement une des plus belles rencontres de ces 4 dernières années... (Grosse bise à Mansou et à Amaya)

Aux préparateurs de Saint-André ; Stéphanie, Delphine, Cécile et à Madame la Cadre

Aux pharmaciens : Constance (Tipex te remercie pour ton encadrement lors de son 1^{er} semestre, de ta gentillesse et tes conseils par la suite), Sophie D, Aimée.

A l'équipe de médecine interne et tout particulièrement au Professeur Philippe Morlat, Vous qui m'avez aidé comme peu l'ont fait. Recevez en ces lignes, l'expression de mon immense gratitude et de mon profond respect.

La pharmacoépidémiologie/le CRPV

Merci à Driss, Annie et Antoine pour votre encadrement durant les 6 mois de master

Un grand merci à toute l'équipe du CRPV ; Françoise, Ghada, Amélie, Anne, Hélène G

A tous, merci pour votre soutien dans les projets professionnels mais aussi personnels, et pour toutes les choses que j'ai apprises à vos côtés.

La PUI de Tahiti

Une des plus belles expériences que l'on peut, que l'on souhaite, vivre ! Un énorme merci à Jordane, à Valérie (nos sessions surf me manquent), à Patea & Fanny, à François et à toute l'équipe des préparateurs.

On reviendra un jour, on reviendra !

Haut-Lévêque

Aux préparateurs : Marinette (tu vois je suis pas rancunière !), Bruno, Adrien, Olivier, Vanessa, Emilie, Laurence, Ludivine, Vivi, Babeth, Corinne, Charline, Sophie... Vous êtes supers, vous faites partie des raisons pour lesquelles c'est agréable de venir travailler à HL !!

Aux aides : Laetitia, Sandrine alias Wesh-Wesh, Stéphane, Jessy

A Nadine et Jennyfer

A Lionel et Patrick

Aux pharmaciens : Michèle, Stéphanie, Sarah, Fabien, Marianne, Martine, Rachel.
Merci de la formation et des conseils que vous m'avez apporté tout au long de ces semestres.

Je remercie également Audrey Jourand et à Arnaud Venet pour vos conseils avisés mais aussi pour toute l'aide que j'ai pu recevoir de votre part.

A mes ami(e)s de longue date

Charline, Léa, Perrine

Charline, A tous les cailloux qu'on a regardé ensemble, à nos compétences en illusions d'optiques et à notre talent cinématographique caché... Merci d'être mon amie depuis si longtemps, merci pour tous ces moments partagés, merci de la confiance que tu m'accordes...

Léa. Je me rappellerais toujours ton arrivée au BS, et la première fois que je t'ai parlé. Il s'en est passé du temps depuis... et tu me fais toujours autant rire. Merci pour tous ces étés à l'île de Ré, merci, pour ces blagues et jeu de mots très recherchés, merci d'être là pour moi, merci d'être comme tu es.

Perrine, mon pépé, toi que je vois moins, mais avec qui rien ne change ! Quand on se retrouve c'est comme si on ne s'était pas quittées, et ca, je crois, que c'est une bien belle preuve d'amitié non ?

Sans oublier Fleur et ta passion pour le fromage qui nous offre de belles anecdotes,

A nos week-end bordelais annuels, toujours réussis !

A Mathieu, je t'ai retrouvé à Tahiti, et tu ne peux pas savoir comme ca m'a enchanté ! Tu ne changes pas, tu es toujours le copain que tu étais, tu nous manques à tous ici !

Aux autres de la bande : Alex, Sam, Sophie, Franck, Etienne, Hugues, Arnaud, Pierre...

Aux Copains Bordelais

Je vais essayer de faire court parce qu'il y en a des choses à dire...

A Caro & Pierre

Parce que vous avez le sens du sacrifice et que pour ça, on aime partir avec vous en we
Parce que Caro, ma sœur Goitschel, la new Carolyn, heureusement que tu as été là pendant cet internat et particulièrement cette dernière année. Que serais-je devenue sans toi ? Ces derniers semestres n'auraient pas été les mêmes... J'aimerais te dire ici tant de choses, mais je te remercierai juste de ton soutien, et de ton honnêteté.

A notre complicité

A Marine & Florian

Merci Marine pour ton soutien ces derniers mois et ton écoute. Tu es quelqu'un en qui j'ai toute ma confiance. Et je ne dis pas ça pour que tu nous invites à Anglet tout l'été !

A Paupau & Camille

Et si vous songiez à revenir vous installer à Bordeaux ? Franchement on a Sanofi et on a des HPLC... et de supers copains de bonne composition, tout pour vous rendre heureux !!! Paupau, on a Barnab' et ça je sais que c'est l'argument massue !

A Fanny & Maxime

Aux folles soirées rue Casteja... Cette période fut pour moi la plus belle de notre internat... Aux moments intenses de chants/guitare

A Paul & Soso

Mon couple amical préféré : quelle réussite, on a bien fait de partir à l'autre bout du monde !!!
Vous faites parti des gens que je n'aimerai pas perdre de vue...
Paul : on se retrouve tous les 4 à Bayonne, là où tout a commencé.
Sophie « à toi, à la façon que tu as d'être moi (ou l'inverse), à la vie, à l'amour, à l'éternel retour de la chance... » A notre amitié, aux chansons françaises, au Dick...

A Anne & Clément,

Aux soirées qu'on a vécu ensemble, à mon acolyte,
A toi Clément pour l'ambiance que tu mets partout où tu passes

A Bubu & Marie,

Petit mot spécial pour toi Bubu, tu as rythmé mes premières années d'internat, beaucoup s'en souviennent encore... et encore mieux que nous je pense ! il est loin le temps où tu venais tuer les souris au 8 rue de Cursol !

... Au Quadrouple...

A Laetitia, Cécile, Guillaume, Thomas G, Malory...

Merci pour tous les bons moments passés ensemble, on s'en souviendra longtemps et j'espère que les meilleurs sont devant nous !

A Nico & Julie, Gauthier & sa paupau, Maxime & Céline, Rémi & Marion, Thomas & Marie,

A toutes les équipes de cointernes passées et présente :

A Manon

Je te filerais mon filtre pour que t'arrêtes les « Teytade »,

A Carole

Merci pour la signalétique et tout ce que tu as apporté à la structure !
A ta modération, surtout quand tu prends l'exemple du carboplatine, à tes pieds sur terre et à tes tableaux trois entrées, sans oublier Maxou D

A Ruban & Carlito : rien à dire vous êtes mes chouchous

Bérangère, Morgane, Pierre, Tic (Antoine) & Tac (julien) (ou l'inverse ?), *Justine, Emilie, Anne-Sophie* : vous êtes tops, super dernier semestre passé à vos côtés

A Sybille : merci pour ton aide sur l'aciclo !

A Elina (tu nous manques, reviens ici tout de suite !), *Tomtom (El S******)*, *Marion, Barbara...*

A Antoine & Marine, à Nico & Tassa, à Chloé & Thomas, à cette famille que j'apprend à connaître à coups de « week-end » toujours plus réussis les uns que les autres.

Aux plus importants

A vous deux, Papa et Maman,

Vous qui me soutenez dans tout ce que je fais, vous qui êtes toujours là pour moi, vous que j'aime plus que tout. Cet aboutissement c'est grâce à vous.

A Thomas, mon petit frère, je suis si fière de toi, et de l'homme que tu es devenu. Tu me manques au quotidien

A mes grands-parents, merci de votre amour :

A Mamie et Papie et A Mamie Jo et Claude

Je suis si heureuse que vous soyez présents à ma thèse. C'est bon, elles sont finies mes études, « enfin !! » me direz-vous, et mamie, tu peux jeter ta liste, plus d'échéances !

A toute ma famille,

Merci à mes oncles, tantes et cousins, d'avoir fait le déplacement pour assister à ma soutenance, ça me touche énormément : Dominique & Sylvie, Alexis, Marcelline, Angéline, Philippe, René, Marie-Claude, Nicolas.

Et enfin,

Merci à toi, Louis, qui a été présent et plus qu'attentif, particulièrement durant ces derniers mois, et surtout si gentil. Merci à tes parents d'être présents pour partager ce moment qui compte pour moi.

A notre amour, à nos expériences (de folie) partagées, à tout ce que tu m'apportes, à notre vie que l'on construit doucement mais sûrement, à notre équilibre, à notre avenir...pour tout cela, merci.

SOMMAIRE

REMERCIEMENTS	3
SOMMAIRE.....	8
LISTE DES TABLEAUX	10
LISTE DES FIGURES	12
LISTE DES ABREVIATIONS	14
INTRODUCTION.....	17
PARTIE I : STANDARDISATION DES DOSES OU « DOSE-BANDING »	19
I. RATIONNEL DE L'INSTAURATION DE LA STANDARDISATION DES DOSES	19
I.1. Introduction	19
I.2. Fondements de l'utilisation de la surface corporelle dans les essais cliniques en cancérologie	21
I.3. Remise en cause de la surface corporelle pour le calcul de dose	23
I.3.1. Pour les cytotoxiques.....	23
I.3.2. Pour les anticorps monoclonaux	26
I.4. Nouvelles approches pour la détermination des doses	28
I.5. Concept du «Dose-Banding»	32
I.5.1. Détermination des bandes selon la surface corporelle	32
I.5.2. Détermination des bandes selon des doses calculées en fonction de la surface corporelle	32
I.5.3. Détermination des bandes selon une échelle logarithmique.....	33
I.5.4. Champs d'application du «Dose-Banding»	34
II. ETAT DES LIEUX SUR LA MISE EN ŒUVRE DU DOSE-BANDING.....	36
II.1. Etat des lieux international	36
II.1.1. Méthodologie de sélection des principes actifs standardisables.....	37
II.1.2. Méthodologie de détermination des doses standards	38
II.1.3. Expériences internationales	39
II.1.4. Avantages et inconvénients du « Dose-Banding ».....	44
II.2. Réglementation	47
II.2.1. Définitions des préparations injectables stériles	47
II.2.2. Exigences qualités de la fabrication de préparations injectables stériles	48
II.2.3. Contrôles libératoires des préparations stériles.....	51
II.2.4. Mise en œuvre d'un système documentaire pour les préparations hospitalières	53
PARTIE II : TRAVAUX PERSONNELS.....	55
I. CONTEXTE	55
I.1. Préparations magistrales stériles extemporanées.....	56
I.2. Préparations magistrales stériles anticipées.....	59
II. STANDARDISATION DES DOSES	60
II.1. Sélection des principes actifs éligibles	61

II.1.1.	Méthodologie.....	61
II.1.2.	Résultats	61
II.1.3.	Conclusion.....	70
II.2.	Sélection des doses standardisées.....	70
II.2.1.	Méthodologie.....	70
II.2.2.	Résultats	71
II.2.3.	Conclusion.....	82
III.	MISE EN ŒUVRE DU CONCEPT : APPLICATION A L'ACICLOVIR ET A L'INFLIXIMAB	85
III.1.	Introduction	85
III.2.	Standardisation des doses d'infliximab (Remicade®)	86
III.2.1.	Etapas préliminaires.....	86
III.2.2.	Mise en œuvre opérationnelle des préparations anticipées en série	88
III.3.	Standardisation de l'aciclovir	92
III.3.1.	Etapas préliminaires.....	92
III.3.2.	Mise en œuvre du circuit des préparations anticipées en lots	126
	CONCLUSION	135
	BIBLIOGRAPHIE.....	138
	ANNEXES	149

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : D'après la référence [16] : Etude de la corrélation entre la surface corporelle et la pharmacocinétique des anticancéreux.....	26
Tableau II : Représentation des doses standardisées à l'hôpital Saint-Louis et à l'Institut Curie [38].	40
Tableau III : Récapitulatif de la standardisation au niveau français.	41
Tableau IV : Récapitulatif de la standardisation de doses au niveau international.....	42
Tableau V : Résultats de l'enquête internationale sur la pratique du « »Dose-Banding» » [42].	43
Tableau VI : Délais minimum nécessaires à chacune des étapes de préparation des injectables stériles.....	58
Tableau VII : Nombre de préparations annuelles (> 500) réalisées par principes actifs (anticancéreux et anti-infectieux injectables) sur 2015.....	62
Tableau VIII : Données de stabilité de l'inflximab.....	66
Tableau IX : Stabilité de l'aciclovir. Tiré des données de Stabilis®	68
Tableau X : Les doses standards de l'oxaliplatine en fonction des intervalles de surfaces corporelles couverts pour la posologie 85 mg/m ²	73
Tableau XI : Les doses arrondies de l'oxaliplatine à la posologie de 75 mg/m ² et les intervalles de surfaces corporelles couverts.	74
Tableau XII : Doses standards d'irinotécan à la posologie de 180 mg/m ²	75
Tableau XIII : Doses standards de l'irinotécan correspondant à la posologie de 150 mg/m ²	75
Tableau XIV : Couverture des doses allant de 200 à 800 mg grâce à trois doses standards : 100, 300 et 500 mg.....	77
Tableau XV : Doses standards du 5-Fu continu correspondant à la posologie de 2400 mg/m ² . 78	
Tableau XVI : Doses standards de la gemcitabine correspondant à la posologie de 1000 mg/m ²	80
Tableau XVII : Répartition des doses par tranches de poids en 2015.....	86
Tableau XVIII : Souches des microorganismes d'essai appropriées pour les essais de fertilité des milieux de culture. Pharmacopée européenne. 8 ^{ème} Ed.....	96
Tableau XIX : Quantité à prélever pour essais de stérilité. Pharmacopée européenne, 8 ^{ème} Ed.	101
Tableau XX : Résultats de l'essai de fertilité sur les 6 souches bactériennes référencées dans la pharmacopée européenne	103
Tableau XXI : Résultats du dénombrement en surface sur gélose du Clostridium sporogenes.	104

Tableau XXII : Résultats du dénombrement en surface sur gélose du Staphylocoque aureus.	104
Tableau XXIII : Résultats du dénombrement en surface sur gélose du Candida albicans.....	104
Tableau XXIV : Résultats de l'essai d'applicabilité de l'essai de stérilité réalisé avec une solution d'aciclovir 5 mg/ml	106
Tableau XXV : Résultats de la détermination de la limite de détection de l'essai de stérilité réalisé pour une solution d'aciclovir 5 mg/ml.....	108
Tableau XXVI : Nombre minimal d'unités à examiner pour l'essai de stérilité. Pharmacopée Européenne. 8 ^{ème} Ed.....	111
Tableau XXVII : Caractéristiques des semi-automates type pousses seringues testés	116
Tableau XXVIII : Critères de sélection des pompes péristaltiques testées.....	120
Tableau XXIX : Répartition des doses prescrites standardisées entre le 01/10/2015 et le 29/02/2016.....	133
Tableau XXX : Exemple de production de poches filles d'aciclovir de différents dosages à partir d'une poche mère.....	134
Tableau XXXIV : Stabilité de l'oxaliplatine.....	150
Tableau XXXV : Stabilité de l'irinotécan.....	150
Tableau XXXVI : Stabilité du 5-fluorouracile.....	151
Tableau XXXVII : Stabilité de la gemcitabine.	152
Tableau XXXVII : Dilutions successives des souches pour l'essai d'applicabilité.....	155
Tableau XXXVII : Dilutions successives des souches pour la détermination de la limite de détection de la méthode.....	156

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Représentation schématique de la marge thérapeutique des médicaments [1].....	20
Figure 2 : Comparaison de la variabilité de l'AUC (A) et de la Cmax (B) de 1000 sujets après qu'ils aient reçu une dose fixe (barres noires) ou une dose ajustée selon le poids ou la surface corporelle (barres blanches). Selon Wang et al. [20]	29
Figure 3 : Schéma d'élaboration des bandes de doses, selon Plumridge et al [27].....	33
Figure 4 : Echelle logarithmique déterminée par Zavery et Marsh [28].....	34
Figure 5 : Evolution du nombre de préparations injectables stériles fabriquées au CHU de Bordeaux sur les 5 dernières années.	55
Figure 6 : Circuit de la préparation injectable d'anticancéreux.	57
Figure 7 : Circuit actuel des anti-infectieux injectables préparés à l'URC.....	57
Figure 8 : Délai moyen de réalisation de chaque étape du circuit de la préparation injectable stérile.	58
Figure 9 : Répartition des surfaces corporelles correspondantes aux doses préparées pour chaque principe actif d'HGE sur l'année 2015.	72
Figure 10 : Répartition des doses d'oxaliplatine préparées en 2015 (Saint-André et Haut-lévêque).....	73
Figure 11 : Répartition des doses d'irinotécan préparées en 2015 (Saint-André et Haut-lévêque).....	74
Figure 12 : Répartition des doses de 5-Fu en bolus préparées en 2015 (Saint-André et Haut-lévêque).....	76
Figure 13 : Répartition des doses de 5-Fu continu préparées en 2015 (Saint-André et Haut-lévêque).....	77
Figure 14 : Répartition des doses de gemcitabine préparées en 2015 (Saint-André et Haut-lévêque).....	79
Figure 15 : Répartition des doses d'infliximab (Remicade®) préparées en 2015 (Saint-André et Haut-lévêque).....	80
Figure 16 : Répartition des doses d'aciclovir préparées en 2015 (Haut-lévêque)	81
Figure 17 : Répartition des poids correspondant aux doses prescrites d'infliximab (Remicade®) en 2015	86
Figure 18 : Les principaux motifs de retours des poches de Remicade® recensés entre 2014 et 2015.....	89

Figure 19 : Marqueurs de la traçabilité de la chaîne du froid (entreprise JRI)	91
Figure 20 : Détection de la présence ou l'absence de micro-organismes dans les flacons de milieux de culture.....	98
Figure 21 : Principe de fonctionnement d'une pompe péristaltique	113
Figure 22 : Pompe Medimix Mini® (IMF).....	117
Figure 23 : Pompe volumétrique MibMix® (Hemedis).....	117
Figure 24 : Pompe volumétrique MedOC® (ICU medical).....	119
Figure 25 : Pompe péristaltique Repeater® (Baxa)	121
Figure 26 : Pompe péristaltique Vantage® P EZ (Verder)	122
Figure 27 : Pompe péristaltique 520UN (Watson-Marlow).....	122
Figure 28 : Conditionnement sous vide par la MultiVac®	124
Figure 29: Evolution de la température d'ébullition de l'eau en fonction de la pression [87]	125
Figure 30 : Nouveau circuit de préparation anticipée en lots de doses standards	127

LISTE DES ABREVIATIONS

Ac : Anticorps

ADN : Acide désoxyribonucléique

AMM : Autorisation de mise sur le marché

ANSM : Agence nationale de sécurité du médicament

ARS : Agence régionale de santé

ASC/AUC : Aire sous la courbe

ATP : Adénosine triphosphate

BHI : Brain heart infusion

BPP : Bonnes pratiques de préparation

CE : Communauté européenne

CH : Centre hospitalier

CHU : Centre hospitalo-universitaire

CIVAS : Central intravenous additive services

CLHP : Chromatographie liquide haute performance

Cmax : Concentration maximale

CNHIM : Centre national hospitalier d'information sur le médicament

DB : Dose banding

DHEP : Diéthylhexyl phtalate

DL10 : Dose létale 10%

DMT : Dose maximale tolérée

DS : Dose standard

FcRn : Neonatal Fc receptor

FEC : Fluorouracile, épirubicine, cyclophosphamide

FDA : Food and drug administration

FOLFOX : Oxalipatine, 5-fluorouracile

5-Fu : 5-fluorouracile

HDJ : Hôpital de jour

HEPA : Haut efficacité pour particules de l'air

HER : Anti-human epidermal growth factor

HGE : Hépto-gastro-entérologie

G5 : Glucose 5%

NaCl : Chlorure de sodium

NHS : National health service

NR : Non renseigné

PA : Principe actif

PE : Polyéthylène

PIC/S : Pharmaceutical inspection convention and pharmaceutical inspection co-operation scheme

POF : Polyoléfine

PP : Polypropylène

PPH : Préparateur en pharmacie hospitalière

Eau PPI : Eau pour préparation injectable

PUI : Pharmacie à usage intérieur

PVC : Polychlorure de vinyle

SC : Surface cutanée

SFPO : Société française de pharmacie oncologique

TMS : Troubles musculo-squelettique

TRA : Test de répartition aseptique

UCD : Unité commune de dispensation

UFC : Unité formant colonie

URC : Unité de reconstitution centralisée

ZAC : Zone à atmosphère contrôlée

INTRODUCTION

Les pharmacies à usage intérieur (PUI) des établissements de santé, sont chargées de la gestion, l'approvisionnement, la préparation, le contrôle, la détention et la dispensation des médicaments (article L5126-5 du code de la santé publique). La préparation de médicaments à l'hôpital répond à des besoins spécifiques auxquels l'industrie pharmaceutique ne satisfait pas. Ainsi sont préparés dans les PUI, des médicaments pour lesquels il n'existe pas de spécialités pharmaceutiques disponibles, ou pour lesquels les formes pharmaceutiques ne sont pas adaptées au patient (dosage), ou encore les médicaments présentant un risque pour l'environnement (médicaments toxiques) ou pour le patient (médicaments à haut risque d'erreur de manipulation).

Depuis les années 2000, les médicaments anticancéreux sont reconstitués et préparés dans des unités de reconstitution centralisée (URC) sous la responsabilité d'un pharmacien (Décret n° 2008-1121 du code de la sécurité sociale).

Les trois URC du centre hospitalo-universitaire (CHU) de Bordeaux assurent la fabrication des préparations injectables stériles telles que les chimiothérapies, les thérapies ciblées, les essais thérapeutiques ou encore certains anti-infectieux. En 2015, près de 80 000 préparations ont été réalisées.

Le CHU de Bordeaux connaît depuis quelques années de profondes restructurations. Le regroupement de l'hépatogastro-entérologie (HGE) sur un seul site est l'un des points phares de cette restructuration. Une augmentation de 25% de l'activité de préparations d'injectables stériles est prévue. Pourtant, les unités de fabrication fonctionnent au maximum de leurs capacités tant en matière d'équipement que de personnel. Ainsi, à moyens constants, les unités centralisées de préparations ne sont pas en mesure d'absorber ce surplus d'activité.

Une des solutions qui a été adoptée est la fabrication en temps déporté des préparations injectables stériles. Ceci implique la préparation de doses standards selon le concept du « Dose-Banding » et leur production en lots à l'aide de pompes péristaltiques.

Ce travail présente dans une première partie, l'argumentaire en faveur de la prescription de doses standards par rapport aux doses calculées selon la surface corporelle ou le poids, puis la réglementation qui encadre la production en lots.

La seconde partie décrit l'application du concept à notre pratique, avec la mise en place de nouvelles modalités de prescriptions et de préparations, illustrée par deux principes actifs pilotes : l'aciclovir et l'infliximab (Remicade®).

PARTIE I : STANDARDISATION DES DOSES OU « DOSE-BANDING »

I. RATIONNEL DE L'INSTAURATION DE LA STANDARDISATION DES DOSES

I.1. Introduction

Les anticancéreux sont répartis en plusieurs classes pharmacologiques : les cytotoxiques, les thérapies ciblées, l'hormonothérapie, et l'immunothérapie. Dans ce travail, pour les anticancéreux, seuls les cytotoxiques et les anticorps monoclonaux seront évoqués.

Un médicament est cytotoxique lorsque son rôle est de détruire la cellule engagée dans la division cellulaire. Les principales cibles des agents cytotoxiques sont l'ADN et le fuseau mitotique. Leur mécanisme d'action n'est pas spécifique aux cellules cancéreuses, ils agissent également sur les cellules saines, surtout celles au renouvellement rapide. Cela explique les effets indésirables fréquents des cytotoxiques. Les thérapies ciblées quant à elles, agissent sur une anomalie moléculaire spécifique aux cellules tumorales. Ainsi l'anomalie n'étant pas exprimée dans les cellules saines, elles ont pour cibles uniquement les cellules cancéreuses. La marge thérapeutique étroite des cytotoxiques est la conséquence de leur absence de spécificité d'action, contrairement aux thérapies ciblées.

La marge thérapeutique d'un médicament est définie comme une fenêtre dans laquelle, à une dose donnée, le médicament est efficace tout en n'étant pas toxique, ou le moins toxique possible. Ainsi un médicament a une marge thérapeutique étroite lorsque la frontière entre la dose efficace et la dose toxique est faible (figure 1). La difficulté à déterminer la posologie optimale individuelle d'un cytotoxique réside dans le fait d'administrer une dose efficace tout en minimisant le risque d'induire une toxicité trop importante.

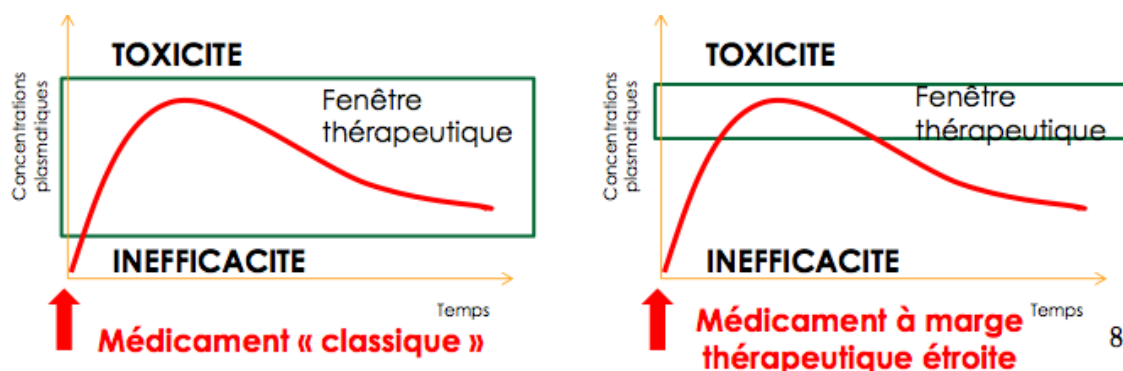


Figure 1 : Représentation schématique de la marge thérapeutique des médicaments [1].

Il existe par ailleurs, une grande variabilité interindividuelle de la réponse au traitement cytotoxique, que ce soit en termes d'efficacité ou de toxicité. La variabilité interindividuelle, mais aussi intraindividuelle peut, en partie (puisqu'il existe également une variabilité pharmacodynamique), être expliquée par la variabilité pharmacocinétique. Chaque individu possède ses propres capacités à métaboliser et éliminer un médicament, liées à des facteurs physiologiques, génétiques ou environnementaux. Ainsi, l'effet thérapeutique qu'aura un cytotoxique n'est pas prédit par la dose administrée, mais par l'exposition systémique au médicament (concentrations dans les liquides biologiques) [2].

En pharmacocinétique, l'exposition systémique à un médicament est représentée par l'aire sous la courbe (ASC= Dose/clairance). C'est pourquoi les doses sont adaptées à l'individu selon des paramètres qui lui sont propres, représentés empiriquement par la surface corporelle qui serait corrélée à certains paramètres pharmacocinétiques, notamment la clairance.

L'ajustement des doses de cytotoxiques selon la surface corporelle individuelle est issue de la théorie selon laquelle plus les patients ont une surface corporelle (SC) élevée, plus ils ont un volume de distribution et des capacités de métabolisation importants. Ainsi afin d'atteindre une exposition systémique optimale au médicament et similaire entre les individus, les doses de cytotoxiques sont calculées selon la SC [3].

Actuellement les premières doses de cytotoxiques à administrer à l'homme (« first-in-man ») sont déterminées lors de la phase I des essais cliniques, à partir des données précliniques animales. Pour la plupart des cytotoxiques, la posologie est exprimée en dose par m^2 . La formule permettant de calculer la surface corporelle a été déterminée à partir de 9 individus par Dubois & Dubois en 1916 [4]. L'intervalle de poids de ces personnes allant de 25 à 90

kg, elle ne s'applique pas à la pédiatrie [5]. Elle a depuis été controversée et d'autres formules permettant de calculer la surface corporelle ont été proposées, sans toutefois qu'aucune ne soit acceptée par la communauté médicale [6] [7].

Malgré la fiabilité scientifique contestée de la formule de Dubois & Dubois, l'unité de détermination des doses d'anticancéreux lors des essais cliniques, reste aujourd'hui encore la SC. D'autre part, nous allons voir par la suite, que la corrélation entre la SC et les paramètres pharmacocinétiques et donc l'exposition au médicament a, elle aussi, été contestée. Ainsi, dans une ère où la médecine personnalisée est de plus en plus promue, l'utilisation de la SC afin de déterminer la dose d'anticancéreux entraînant une réponse optimale, ne serait pas pertinente.

I.2. Fondements de l'utilisation de la surface corporelle dans les essais cliniques en cancérologie

Lors des premiers essais cliniques utilisant des principes actifs cytotoxiques, les doses à administrer étaient calculées selon le poids. Plusieurs études ont par la suite, montré que le poids n'était pas la variable la plus représentative des paramètres physiologiques et biologiques et donc de la cinétique du médicament dans l'organisme. C'est la surface corporelle qui permettait de mieux définir le métabolisme de base [8]. En effet, la consommation d'oxygène et la dépense énergétique étaient similaires entre différentes espèces mammifères et entre les individus d'une même espèce, lorsque ces paramètres étaient rapportés à la surface corporelle [8]. Il a été démontré depuis, qu'il existe effectivement une corrélation entre différents paramètres tels que le volume sanguin, les protéines plasmatiques et la fonction rénale, et la surface corporelle des mammifères.

Donald Pinkel [8], à la fin des années 50, a été le premier à montrer que le calcul des doses de **cytotoxiques** selon le poids apportait beaucoup de variabilités entre les différentes espèces animales et entre les enfants et les adultes. A partir des doses totales administrées à chaque espèce retrouvées dans la littérature, il a calculé les doses exprimées selon le poids moyen représentatif de chaque espèce et selon la surface corporelle calculée grâce à la formule de Meeh pour les animaux de laboratoires, et selon un nomogramme issu de la formule de Dubois pour les humains. Il a remarqué, pour 5 agents cytotoxiques, que les doses

exprimées par unité de surface corporelle étaient similaires entre toutes les espèces étudiées et pour les humains sans distinction d'âge, ce qui n'était pas le cas avec le poids.

Ainsi la surface corporelle était le paramètre physiologique le plus adapté pour exprimer le métabolisme mais également pour extrapoler les doses entre les mammifères. Cependant déjà à cette époque, Pinkel et son équipe avaient émis quelques réserves quant à l'utilisation de la surface corporelle pour le calcul des doses de chimiothérapies, qui ne permettait pas de s'affranchir des variabilités « de l'activité physique et chimique » entre les différentes espèces, mais également entre les individus d'une même espèce ou intraindividuellement [8].

C'est grâce à la corrélation entre les surfaces corporelles de plusieurs espèces que la détermination de la première dose administrable à l'homme dans les essais cliniques de phase I, est extrapolée à partir des données de toxicité chez l'animal dans les études précliniques [9]. En effet, la transposition des doses entre les espèces ou entre des individus d'une même espèce (enfants/adultes) en cancérologie, est possible grâce à la normalisation des doses selon la SC et l'utilisation d'échelles (dites allométriques) de conversion inter-espèces. La FDA (« *Food and drug administration* ») a publié un guide de recommandations, destiné à l'industrie pharmaceutique, afin de définir la dose maximale initiale à administrer à l'homme à partir de la dose animale. La dose exprimée en mg/kg administrée à l'animal peut être convertie en mg/m², selon un facteur propre à chaque espèce, le facteur Km (poids en kg divisé par la surface corporelle en m²). La formule permettant de calculer « l'équivalent homme » n'est applicable que lorsque les doses sont exprimées en SC et pour une même voie d'administration [9] [10].

Les travaux de Freireich (1966) et Schein (1970) ont montré que les doses létales observées chez 10% des rongeurs (DL10) étaient corrélées aux doses maximales tolérées chez les non rongeurs et chez les humains, toujours lorsque ces doses étaient exprimées selon la SC et administrées par la même voie [9] [10]. Ainsi Freireich et son équipe ont montré sur 18 anticancéreux, que les données animales prédisaient avec précision la dose maximale tolérée chez l'homme lorsque les doses étaient normalisées par la surface corporelle.

Conventionnellement pour les agents anticancéreux, la première dose administrée à l'homme correspond au 1/10^{ème} de la DL10 chez la souris. Du fait de la marge thérapeutique étroite des anticancéreux, cette première dose administrée dans les essais de phase I doit être basse afin d'éviter des toxicités graves. Lors de la phase I, un schéma d'escalade de doses est proposé

afin de déterminer la toxicité dose-limitante et donc la dose maximale tolérée (DMT), définie, en Europe, par une toxicité sévère (grade 3 pour les effets non hématologiques, et grade 4 pour les effets hématologiques) touchant plus de 33% des individus. Le palier de dose précédant la DMT correspond à la dose qui sera administrée lors des essais de phase II.

Malgré l'ajustement des doses à la surface corporelle, la variabilité des réponses thérapeutiques à un anticancéreux, retrouvée parmi les patients traités ou parfois même chez un même individu à différents moments de sa vie, est considérable. Bien qu'il ait été démontré que la surface corporelle était le paramètre physiologique corrélé au devenir du médicament dans l'organisme, il s'avèrerait qu'il ne permettrait pas de prédire les variabilités inter ou intra-individuelles.

C'est pourquoi depuis quelques années, l'utilisation de la surface corporelle pour déterminer la première dose à administrer à l'homme dans les essais cliniques mais également son utilisation en pratique clinique est controversée.

I.3. Remise en cause de la surface corporelle pour le calcul de dose

I.3.1. Pour les cytotoxiques

L'hétérogénéité de la réponse thérapeutique aux cytotoxiques entre les individus est la résultante d'une variabilité pharmacocinétique (notamment l'imprécision des doses administrées, la clairance, la pharmacogénétique, les facteurs environnementaux) et d'une variabilité pharmacodynamique que la SC ne permettrait pas de réduire. En effet, la variabilité interindividuelle pour la plupart des cytotoxiques est de l'ordre de 25 à 70%, malgré la normalisation par la surface corporelle [3]. D'autres facteurs peuvent impacter la pharmacocinétique et la pharmacodynamie et induire des variabilités de réponses au traitement tels que le statut de la maladie, les comorbidités, les comédications, l'expression et l'activité de certaines enzymes ou transporteurs impliqués dans le métabolisme du médicament, les résistances médicamenteuses, l'âge, le sexe, la fonction rénale [11] [12]. C'est à partir des années 90 que le calcul de doses de cytotoxiques selon la SC a commencé à être remis en cause.

Sawyer et Ratain soulignaient en 2001 [5], que malgré le fait que les données chez l'animal permettaient de déterminer la première dose à administrer à l'homme, aucune étude

n'avait prouvé l'utilité de continuer à utiliser la surface corporelle dans les schémas d'escalades de doses lors des phases II des essais cliniques. Les auteurs remettaient en cause la précision de cette formule, basée sur 9 patients, et dont la validité n'avait pas pu être redémontrée. Par ailleurs, ils précisait, après une revue de la littérature, que la relation entre la SC et la pharmacocinétique n'avait pas été étudiée dans les essais cliniques, pour la majorité des médicaments. L'utilisation de la SC comme « marqueur » des paramètres physiologiques impliqués dans le métabolisme et l'élimination des médicaments, tels que les fonctions hépatique et rénale et le volume de distribution ne serait donc pas justifiée [5].

Si la relation entre les paramètres pharmacocinétiques évoquant l'exposition systémique à l'anticancéreux (clairance plasmatique, volume de distribution, volume de distribution à l'état d'équilibre, concentration à l'état d'équilibre) et les mesures corporelles (poids, taille et SC) n'a pas été étudiée dans les essais cliniques, plusieurs équipes l'ont par contre analysée a posteriori, la plupart du temps à partir des données recueillies lors des phases I des essais cliniques.

Grochow et son équipe [13], ont calculé, en 1990, le coefficient de corrélation entre chacun des paramètres morphologiques et les paramètres pharmacocinétiques pour 9 agents cytotoxiques chez 287 patients. Parmi les 96 analyses, seulement 5 montraient une corrélation entre un paramètre morphologique et un paramètre pharmacocinétique et concernaient deux principes actifs dont le paclitaxel. Pour ce dernier, tous les paramètres pharmacocinétiques, y compris la clairance, étaient corrélés à la taille, mais ni au poids ni à la surface corporelle. Les variabilités interindividuelles d'exposition systémique n'étant pas réduites par la normalisation des doses par la SC, l'utilisation de doses fixes d'anticancéreux pourrait être une alternative qui n'introduirait pas de variabilités interindividuelles supplémentaires [13].

Gurney en 1996 [14], après avoir montré l'inexistence de corrélation entre les paramètres pharmacocinétiques et la SC pour 17 anticancéreux (sauf le docétaxel), a proposé une autre méthode de calcul de doses : une première dose fixe définie après avoir réévalué les essais cliniques de phase I/II et selon des données cliniques, puis une dose ajustée à partir de la dose fixe avant l'administration, selon des recommandations prédisant les capacités de métabolisme du médicament propres à l'individu. Une étude de population permettrait de proposer les ajustements de posologie à partir des doses fixes selon les paramètres pharmacocinétiques des patients. Enfin l'ajustement des doses pour les cures suivantes s'effectuerait selon la survenue ou non d'une toxicité cible définie à l'avance [14]. En 2002,

la réflexion de ce même auteur avait évolué et il s'interrogeait sur une méthode définissant trois doses fixes de départ correspondant aux capacités d'élimination des individus (faible, normale, et forte capacité d'élimination). L'évaluation de l'efficacité et de la toxicité permettrait ensuite d'ajuster les doses chez le patient [15].

Baker et al (2002) [12] ont également étudié rétrospectivement à partir des données des essais de phase I, entre 1991 et 2001, la relation qui pouvait exister entre la SC et la clairance de 33 anticancéreux, chez 1650 patients adultes. Pour 28 cytotoxiques, la dose calculée selon la SC n'était pas associée significativement à une réduction de la variation interindividuelle de la clairance du médicament. Les agents anticancéreux pour lesquels il existait une association significative étaient : le paclitaxel, le 5-fluorouracile, le témozolomide. La réduction relative de la variation interindividuelle de la clairance pour ces principes actifs se situait entre 15% et 35%, ce qui suggèrerait que seulement 1/3 de la variabilité globale de la clairance pouvait être expliqué par la surface corporelle. Le polymorphisme génétique pourrait, par exemple, expliquer les variations interindividuelles, notamment lorsqu'il concerne les transporteurs, ou les enzymes de métabolisation. Les auteurs recommandaient d'abandonner l'utilisation de doses calculées selon la SC dans les essais cliniques de phase I, mais de n'utiliser qu'une dose fixe basée sur une surface corporelle moyenne de 1,86 m² [12].

Une autre analyse de la littérature a également montré en 2002 que la normalisation de la dose par la SC ne permettait pas de réduire les variabilités interindividuelles induites par les paramètres pharmacocinétiques pour la plupart des cytotoxiques (tableau I) [16]. Une connaissance approfondie du profil pharmacocinétique du médicament permettrait de prédire les effets du cytotoxique (toxicité et efficacité) et donc d'individualiser au mieux la dose. C'est par exemple le cas pour le carboplatine, seul cytotoxique pour lequel la dose est individualisée selon un paramètre pharmacocinétique, la clairance plasmatique. D'autres variables d'ajustement ou méthodes ont été proposées pour administrer la dose optimale à chaque patient, tel que le dosage sanguin des cytotoxiques ou des stratégies de phénotypage ou génotypage (par exemple le phénotypage de l'enzyme dihydropyrimidine deshydrogénase responsable du métabolisme du 5-fluorouracile dans le foie). Les principes actifs pour lesquels il a été démontré dans la littérature que la SC ne permettait pas de réduire la variabilité interindividuelle, par exemple, le cisplatine, le topotécan et l'irinotécan, pourraient être administrés en dose fixe. L'ajustement de la posologie au cas par cas selon la toxicité survenue lors des administrations suivantes a été proposée [16].

Tableau I : D'après la référence [16] : Etude de la corrélation entre la surface corporelle et la pharmacocinétique des anticancéreux.

Established relationships between body-surface area and anticancer drug pharmacokinetics	
Drugs	Comments
Busulfan i.v.	No correlation between BSA and CL
Busulfan p.o.	BSA is a significant determinant of CL
Capacitabine	No influence of BSA on PK parameters
Cisplatin	No correlation between CL (free) and BSA
Cyclophosphamide	Negative correlation between body weight and CL when normalised to BSA
Docetaxel	The only potential clinically relevant effect on the decrease of CL are altered levels of liver enzymes
Doxorubicin	CL is not correlated with BSA
Eniluracil/5-FU	CL is correlated with BSA
Epirubicin	Normalisation of epirubicin dosage according to BSA appears not to reduce either PK and PD variability
Epirubicin	No correlation between BSA and any PK parameters or with the degree of neutropenia
Etoposide	CL is not correlated with BSA
Etoposide	Only serum creatinine correlated to CL (no BSA)
5-Fluorouracil	BSA has no significant influence on CL
Gemcitabine	Its PK are influenced by gender, BSA and duration of infusion
Irinotecan	BSA is not a predictor of CL or SN-38 PK
Ifosfamide	CL is not correlated with BSA
Methotrexate	Normalisation for weight or BSA does not affect interpatient variability
Paclitaxel	Significant relationship between clearance and height
Paclitaxel	Paclitaxel disposition is significantly related to BSA.
Temozolomide	CL increased with BSA in both gender
Temozolomide	Temozolomide should be individualised according to BSA
Topotecan	High inter and inpatient variability when the dose is administered using BSA
ZD 9331	BSA does not correlate with drug clearance

BSA, body surface area; CL, clearance; 5-FU, 5-fluorouracil; PK, pharmacokinetic; PD, pharmacodynamic; i.v., intravenous; p.o. orally.

Ainsi la SC n'étant pas un paramètre corrélé au métabolisme et à l'élimination du cytotoxique dans la plupart des cas, une conséquence importante de son utilisation pour calculer les doses, serait le sous ou surdosage de certains patients. Non seulement la population étudiée dans les essais cliniques n'est pas représentative de la population générale car le nombre de patients étudié est faible, mais en plus, les fonctions métaboliques et d'excrétions de certains patients ne sont pas forcément identiques à celles des patients inclus dans les essais cliniques. Il n'existe pas non plus, de formule de calcul de la surface corporelle actualisée pour les poids extrêmes (cachexie, obésité). En conséquence, la dose recommandée selon la SC ne serait pas adaptée à tous les individus susceptibles d'être traités [15].

I.3.2. Pour les anticorps monoclonaux

Tout comme les cytotoxiques, le calcul de la dose des anticorps monoclonaux (Ac) s'effectue, historiquement, grâce à la surface corporelle ou au poids de l'individu par

extrapolation des données animales. Cependant, les anticorps monoclonaux ont des caractéristiques pharmacocinétiques et pharmacodynamiques qui diffèrent des cytotoxiques du fait, principalement, de leurs mécanismes de distribution et d'élimination. La distribution tissulaire est faible à cause de leur haut poids moléculaire et de leur hydrophilie. L'élimination peut être réalisée par catabolisme non spécifique et/ou à la suite de la fixation sur l'antigène cible. Ces paramètres sont influencés par la structure de l'anticorps, l'expression du récepteur de la fraction Fc (FcRn), le niveau d'expression de la cible antigénique, l'influence des anticorps induits, et le statut de la maladie puisque la masse tumorale aurait également une influence sur la pharmacocinétique [17]. La variabilité pharmacocinétique interindividuelle des thérapies ciblées reposerait donc sur ces paramètres.

Ainsi la normalisation des doses selon la surface corporelle ou le poids ne permettrait pas de pallier les variabilités interindividuelles de réponses aux Ac puisqu'il n'existerait pas de corrélation entre ces paramètres et la SC. D'autre part, la transposition des doses animales précliniques à l'homme pour les thérapies ciblées ne serait pas la méthode la plus adaptée pour déterminer la dose individuelle optimale car il existe de nombreuses discordances entre les espèces concernant l'expression ou le renouvellement de la cible, l'affinité de l'anticorps pour la cible, et l'apparition d'anticorps induits [18]. Le poids ou la surface corporelle ne permettrait donc pas non plus de corriger ces divergences inter-espèces.

Que ce soit pour les anticorps ou les cytotoxiques, la détermination des doses calculées selon le poids ou la surface corporelle manque de précision. En effet, la prise des mesures morphologiques à l'aide de balances dont la calibration n'est pas réalisée, la réévaluation de ces mesures à chaque cycle qui n'est pas toujours systématique, le plafonnement de la surface corporelle à 2m^2 , et l'inexistence de formules actualisées de calcul de la SC adaptées à l'obésité par exemple, sont autant de critères qui participent à l'imprécision de la dose.

La succession d'approximations dans la détermination de la dose optimale à administrer à l'homme et les variabilités interindividuelles existantes dans la réponse thérapeutique aussi bien pour les cytotoxiques que pour les anticorps monoclonaux, devrait amener la communauté scientifique à s'interroger sur le bien-fondé de la méthodologie du choix des doses dans les essais cliniques. Cependant l'utilisation de la surface corporelle comme méthode de calcul de doses reste toujours d'actualité. Toutefois afin d'améliorer la qualité de

la fabrication de principes actifs anticancéreux et pour faire face à l'augmentation de la demande de préparation, une réflexion s'est engagée sur le calcul de doses.

I.4. Nouvelles approches pour la détermination des doses

La variabilité interindividuelle étant la résultante d'une variabilité pharmacocinétique entre les individus, et l'inexistence de corrélation entre les paramètres pharmacocinétiques et la surface corporelle pour la plupart des anticancéreux, font de cette dernière un mauvais indicateur de l'activité du médicament. Le calcul de la dose selon la SC ne permettrait donc pas d'uniformiser les réponses thérapeutiques au traitement entre les patients. L'utilisation de doses fixes pourrait être une alternative, selon l'hypothèse qu'elles n'entraînent pas d'augmentation de la variabilité par rapport aux doses calculées selon la SC. De plus, la fabrication de doses fixes, au sein des pharmacies hospitalières, engendrerait des économies et une amélioration de la qualité des préparations en réduisant les erreurs de manipulation.

Les doses fixes peuvent particulièrement être appliquées aux médicaments dont la marge thérapeutique est large, et/ou pour lesquels il n'existe qu'une faible variabilité interindividuelle de l'exposition systémique, et/ou une toxicité limitée. Les anticorps monoclonaux répondent à ces critères et sont donc de bons candidats aux doses fixes [3] [12] [19]. Une étude a comparé pour 12 Ac monoclonaux, l'utilisation de doses fixes versus doses calculées selon la SC/poids grâce à des modèles de pharmacocinétique/pharmacodynamie [20]. Les résultats diffèrent selon les Ac : pour certains la dose fixe est plus performante que la dose théorique pour éviter les variabilités interindividuelles, pour d'autres elle l'est moins (figure 2). Mais la variabilité moyenne de l'air sous la courbe (AUC) et de la concentration maximale dans l'organisme (C_{max}) pour les 12 Ac est similaire avec les deux approches (pour l'AUC: 42,4% pour les doses fixes contre 44,2% pour les doses calculées selon la SC ou le poids, et pour la C_{max} : 30,1% pour les doses fixes 30,3% pour les doses calculées selon la SC ou le poids). Les paramètres morphologiques (poids, SC) n'auraient donc que peu d'influence sur les paramètres pharmacocinétiques des Ac [20].

Toutefois, une autre étude a démontré que la variabilité de l'exposition entre les individus pour les Ac monoclonaux dépendait de l'impact du poids sur les paramètres pharmacocinétiques [19]. Si pour un Ac donné, le poids a peu d'impact sur la clairance et le volume de distribution, alors l'utilisation d'une dose fixe entraîne moins de variabilité qu'une

dose calculée selon le poids. Par contre si le poids a un fort impact sur les paramètres pharmacocinétiques, la dose calculée selon le poids sera plus adaptée. Pour la plupart des Ac, le poids n'a que peu d'impact, et l'utilisation d'une dose fixe entraînerait moins de variabilité interindividuelle que la dose calculée selon le poids. En règle générale, les variations entre les deux types de doses ne s'écartent pas de plus de 20% (figure 2).

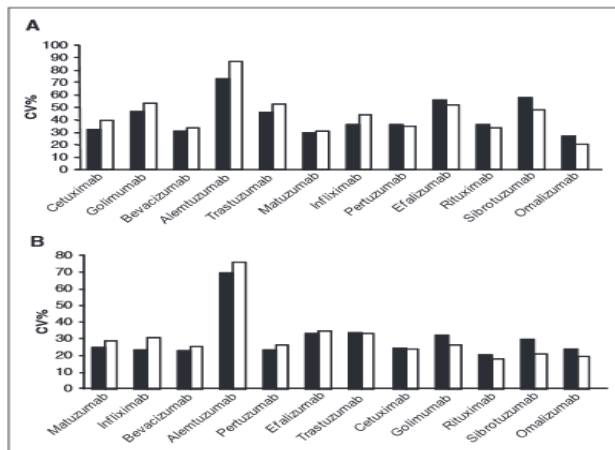


Figure 2 : Comparaison de la variabilité de l'AUC (A) et de la Cmax (B) de 1000 sujets après qu'ils aient reçu une dose fixe (barres noires) ou une dose ajustée selon le poids ou la surface corporelle (barres blanches). Selon Wang et al. [20]

L'administration de doses fixes devrait être privilégiée dans les essais cliniques de phase I. Des études approfondies sur l'influence du poids sur les paramètres pharmacocinétiques/pharmacodynamiques devraient également être mises en place afin de proposer une méthode de calcul de doses adaptée pour la suite des essais cliniques.

Cette stratégie a été appliquée au pertuzumab, anticorps monoclonal *anti-human epidermal growth factor* (HER). Lors de la première administration chez l'humain, le calcul de la dose a été réalisé en fonction du poids, puis lors de la phase II, les paramètres pharmacocinétiques ont été analysés dans deux groupes ; un groupe pour lequel les doses étaient calculées selon le poids et un groupe recevant une dose fixe de charge (840 mg) puis une dose d'entretien fixe également (420 mg) [21] [22]. La concentration plasmatique cible était atteinte chez plus de 90% de la population traitée par dose fixe. Il n'y avait pas de différences majeures en termes pharmacocinétiques entre les deux groupes, c'est pourquoi les doses fixes ont été privilégiées dans la suite de l'essai clinique [21] [22]. Ces résultats sont retrouvés dans l'étude de

Wang [20]: sur la figure 2, les coefficients de variation de l'AUC et de la C_{max} pour le pertuzumab sont moins importants en dose fixe qu'en dose calculée selon le poids. C'est également le cas pour d'autres anticorps : l'infliximab, le bévacizumab, l'alemtuzumab, le trastuzumab.

Une dose fixe par principe actif est une alternative intéressante notamment car sa fabrication et son administration sont simplifiées. Les erreurs liées à ces étapes du circuit du médicament sont réduites.

Récemment, le trastuzumab ainsi que le rituximab ont été commercialisés en dose fixe, injectable par voie sous-cutanée grâce à l'adjonction de hyaluronidase humaine recombinée.

L'administration par voie orale de cytotoxiques, par des contraintes galéniques, a amené à changer les posologies afin d'être au plus près du dosage de la forme galénique. Par exemple la capécitabine, précurseur du 5-fluorouracile, est administrée par voie orale. Le résumé des caractéristiques du produit définit des posologies en fonction de la surface corporelle. Cependant les doses ne peuvent pas être ajustées au milligramme près, les comprimés n'étant pas sécables. Ainsi des tableaux d'arrondis de doses sont disponibles dans les monographies. Plusieurs intervalles de surfaces corporelles ont été définis et correspondent à une dose de capécitabine et donc un nombre fixe de comprimés sachant que seulement deux dosages existent. Les arrondis proposés dans la monographie du médicament ne dépassent pas 5% de la dose théorique calculée selon la SC.

Ainsi l'arrivée sur le marché des doses fixes pour certains Ac ou anticancéreux administrés per os pourrait ouvrir de nouvelles perspectives de détermination de doses.

Les méthodes alternatives à la SC retrouvées dans la littérature : doses fixes, contrôle des paramètres pharmacocinétiques afin de prédire l'effet du médicament (AUC), étude du génotype (polymorphisme de certains gènes codant pour des enzymes de métabolisme, transporteurs), phénotypage d'enzymes ou de transporteurs impliqués dans le métabolisme, et le dosage plasmatique des anticancéreux (contrôle de l'exposition systémique), sont controversées [3] [23] [24].

Le calcul d'une dose selon l'AUC est seulement possible pour les cytotoxiques à élimination exclusivement rénale (carboplatine, pemetrexed), pour lesquels on peut prédire la clairance du médicament grâce aux caractéristiques du patient (âge, sexe, débit de filtration glomérulaire) [23]. Le génotypage, le phénotypage et le dosage en routine des concentrations

d'anticancéreux sont trop contraignants en pratique courante et des études supplémentaires permettraient de garantir l'intérêt clinique de ces tests pour l'instant non démontré. En effet, l'analyse génotypique et phénotypique ne concerne que peu de patients et toutes les voies métaboliques des cytotoxiques n'ont pas été explorées. En ce qui concerne le dosage plasmatique des anticancéreux, des études permettant d'établir une relation concentration sanguine/effet des anticancéreux devraient être réalisées pour une application en routine. Enfin, la mise en œuvre généralisée des doses fixes nécessiterait des études randomisées montrant une non-infériorité de la dose fixe par rapport à la dose calculée selon la SC [23].

Si l'administration d'une dose fixe pour les Ac n'entraîne pas d'augmentation de la variabilité interindividuelle de la réponse par rapport à une dose calculée selon un paramètre morphologique, ce n'est pas le cas pour les anticancéreux. Dans une étude pharmacocinétique plus récente [25], rétrospective, la clairance de 6 anticancéreux (cisplatine, docétaxel, paclitaxel, topotécan, doxorubicine, et irinotécan), a été étudiée dans le but de comparer la variabilité interindividuelle selon que les doses soient calculées selon la SC ou qu'elles soient fixes. Pour 4 des anticancéreux analysés (cisplatine, docétaxel, paclitaxel, et topotécan), la dose fixe entraînait plus de variabilités interindividuelles des paramètres pharmacocinétiques (AUC et clairance) que la dose calculée selon la surface corporelle [25].

En l'absence d'études démontrant la non-infériorité de la dose fixe par rapport à la dose calculée selon la SC, en termes de variabilité interindividuelle, une approche intermédiaire moins radicale se développe : la standardisation des doses ou « Dose-Banding ». Dans cette approche, le calcul des doses est toujours basé sur la surface corporelle, malgré le fait que cette mesure ne soit ni précise ni prédictive de l'activité d'un médicament. Cependant, aujourd'hui encore, la surface corporelle reste le paramètre utilisé dans les essais cliniques et constitue l'outil de calcul de référence de la dose d'anticancéreux qui figure dans les résumés des caractéristiques du produit. Tant qu'il n'existe pas d'alternative à la surface corporelle dont l'efficacité serait prouvée par des études de supériorité, le «Dose-Banding» constitue une option intéressante.

I.5. Concept du «Dose-Banding»

I.5.1. Détermination des bandes selon la surface corporelle

Ce nouveau concept est né au Royaume-Uni et plus particulièrement à Birmingham, à la fin des années 90 et a été décrit par Baker and Jones [26]. L'objectif du «Dose-Banding» était de proposer une seule dose par intervalles de surfaces corporelles définis. Ainsi ce sont les surfaces corporelles qui constituaient l'unité de détermination des bandes. La dose issue du concept ne devait pas s'éloigner de plus de 5% de la dose théorique calculée selon la SC. Les doses étaient ensuite préparées en seringues, et il était possible d'adjoindre au maximum deux seringues à administrer au patient pour obtenir une dose standardisée. Les seringues étaient préparées par le laboratoire Baxter. Le méthotrexate et le 5-fluorouracile ont été les premiers principes actifs à être standardisés (5 doses pour chaque principe actif) [26].

I.5.2. Détermination des bandes selon des doses calculées en fonction de la surface corporelle

C'est en 2000 que R.Plumridge et J.Sewell [27] ont proposé, après une revue de la littérature, une définition précise de ce nouveau concept :

« Le «Dose-Banding» est un système dans lequel, lorsqu'un accord entre les prescripteurs et les pharmacies est établi, les doses de cytotoxiques intraveineux calculées de façon individuelle, qui constituent des rangs ou bandes prédéfinis, sont arrondies à une dose standard prédéterminée. Le maximum de variation de l'ajustement entre la dose standard et chacune des doses constituant la bande est de 5%. Une gamme de seringues pré-remplies ou de préparations parentérales peuvent ensuite être utilisées de façon à administrer la dose standard ».

Afin de déterminer les intervalles de doses constituant une bande, Plumridge et Sewell [27] proposaient de définir pour chaque cytotoxique une largeur de bande, la dose standard correspondant au milieu de la bande (figure 3). Cette fois, les bandes n'étaient pas définies comme des gammes de SC mais comme des intervalles des doses calculées selon la SC ou tout autre paramètre morphologique correspondant à la posologie du principe actif. Le prescripteur pouvait calculer la dose théorique de son patient selon sa SC et voir à quelle

bande elle appartenait. La dose standardisée à administrer correspondant à la bande était ainsi rapidement identifiée.

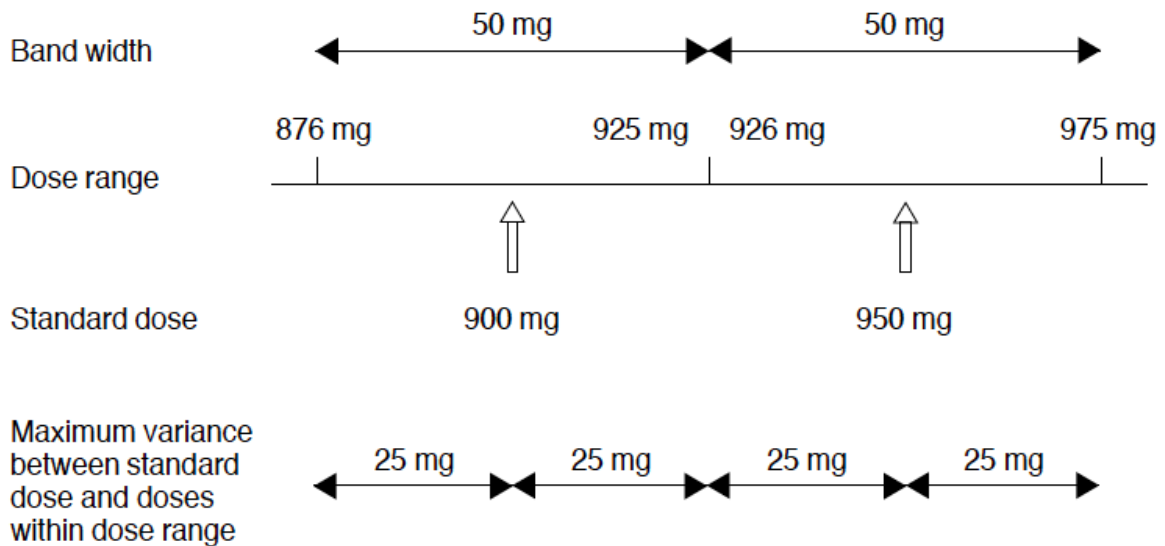


Figure 3 : Schéma d'élaboration des bandes de doses, selon Plumridge et al [27].

Prédétermination des bandes avec une largeur de bande de 50 mg. La posologie de ce cytotoxique est de 600 mg/m². Pour un patient de 1,60m², la dose calculée est de 960 mg et se situe donc dans la bande allant de 926 à 975 mg. La dose standard sera donc de 950 mg.

I.5.3. Détermination des bandes selon une échelle logarithmique

Une autre méthode de détermination des bandes a par la suite été proposée [28]. Une échelle logarithmique a été créée et permet de garantir une variation fixe entre chaque dose : 10,6% de réduction entre une dose donnée et la dose en dessous sur l'échelle logarithmique, et 11,8% d'augmentation entre une dose donnée et la dose au-dessus (figure 4). Ainsi cette échelle a l'avantage de pouvoir être utilisée en routine, pour tous les calculs de doses indifféremment du principe actif, et dans différents centres. En ce qui concerne la standardisation des doses, cette méthode permet de ne pas s'écarter de plus de 6% de la dose théorique, lorsque la dose calculée est arrondie à la dose la plus proche sur l'échelle logarithmique.

L'inconvénient majeur de l'échelle logarithmique est que les doses proposées ne sont pas adaptées aux méthodes de fabrication et notamment à la fabrication manuelle. Les

décimales ne peuvent pas être prélevées avec précision par les seringues de 50 ml par exemple.

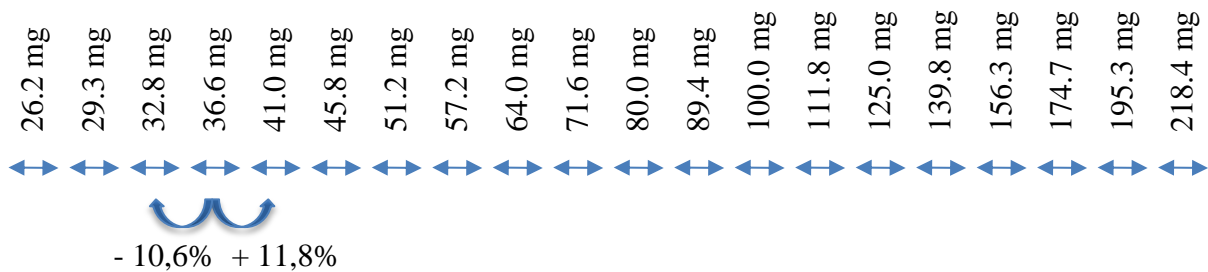


Figure 4 : Echelle logarithmique déterminée par Zavery et Marsh [28].

L'écart entre deux doses est fixe, et une dose peut être arrondie à la dose sur l'échelle la plus proche, sans qu'elles ne s'écartent de plus de 6%.

I.5.4. Champs d'application du «Dose-Banding»

La prescription des anticancéreux selon la surface corporelle de chaque individu entraîne la fabrication de nombreuses doses injectables au « milligramme près ». Chaque préparation est donc individualisée et est destinée à une administration extemporanée. Si le patient ne reçoit pas son traitement, il n'est pas possible de l'administrer à un autre patient et la préparation est jetée. Le «Dose-Banding» présente de nombreux avantages tels que l'anticipation des préparations si la stabilité des agents anticancéreux le permet et la fabrication des doses standards en lots [27]. Ce procédé de fabrication améliore la qualité des préparations par la diminution des erreurs de manipulation et une augmentation de la précision, et réduit les coûts grâce à la possible réattribution des poches non administrées et à une gestion optimisée des reliquats de flacons [27].

En revanche, la standardisation des doses ne s'applique pas à la pédiatrie, aux patients présentant des variations de poids trop importantes, aux essais cliniques, ni aux patients adultes ayant des poids extrêmes (cachexie/obésité). Tous les agents anticancéreux ne peuvent pas être standardisés ; des critères tels que la stabilité physico-chimique et la fréquence de prescription au sein de l'établissement doivent être pris en compte [29]. La sécurisation du circuit des anticancéreux et la sécurité du patient font également parties des critères de sélection d'un principe actif.

L'*Institute for Safe Medication Practices* [30] préconise la standardisation des doses et l'automatisation de la production de certains médicaments à marge thérapeutique étroite, dont les anticancéreux, afin de réduire les risques d'erreurs médicamenteuses. C'est pourquoi se développent les « Central Intravenous Additive Services » (CIVAS), services de fabrication centralisée de médicaments injectables prêts à l'emploi tels que les anti-infectieux, les antiémétiques, les anti-dououreux, ou encore le chlorure de potassium injectable. Les médicaments qui y sont fabriqués sont ceux pour lesquels il n'existe pas de forme adaptée (pédiatrie par exemple), ou qui présentent des risques d'erreurs lors de la manipulation ou de l'administration (ex : dilution, incompatibilité avec du PVC), ou des risques microbiologiques pour les voies d'administration à haut risque (intrathécale, intraoculaire) ou encore de toxicité pour le personnel. De plus, dans une logique de réduction des coûts, la fabrication de principes actifs onéreux dont la fabrication n'entraîne pas de risque pour le personnel ou l'environnement, peut également être centralisée. La centralisation nécessite du personnel et des équipements adaptés.

La préparation en série ou en lots des doses arrondies d'injectables engendre une réduction du temps de fabrication, d'acheminement aux services, et serait moins coûteuse en matériel et en flaconnage (notamment pour les formes non adaptées à la pédiatrie). La standardisation des doses de médicaments injectables stériles faciliterait également la robotisation de la fabrication afin d'améliorer encore la qualité des préparations en étant plus précis, reproductible, et plus rapide que l'humain [31].

Au vu des avantages qu'offre la standardisation des doses de médicaments injectables stériles, de nombreuses équipes en France et à l'échelle internationale ont mis en place une production basée sur ce concept du « Dose-Banding ».

II. ETAT DES LIEUX SUR LA MISE EN ŒUVRE DU DOSE-BANDING

II.1. Etat des lieux international

Depuis l'introduction du concept dans les années 1990, plus de 48 centres pratiquent le «Dose-Banding» au Royaume-Uni aujourd'hui [27] [32] [33]. Le concept s'est exporté et a été modifié de façon à s'adapter aux pratiques professionnelles des centres qui l'ont expérimenté. Ainsi, deux modèles de standardisation des doses sont actuellement les plus répandus [34]:

- le modèle anglais dans lequel les doses standards sont fixées de telle façon que le patient peut recevoir jusqu'à 3 seringues ou poches de chimiothérapies pour parvenir à la dose standard qui lui a été prescrite [27] [33] [35] [36].
- Le modèle français où l'administration de plusieurs seringues ou poches pour parvenir à la dose standard du patient a été jugée trop risquée. Une poche de chimiothérapie représente donc une dose standard et le patient ne reçoit qu'une injection par dose prescrite.

Il existe également plusieurs types de préparations des doses standardisées, décrits dans la littérature [37]:

- les préparations à l'avance en petits lots (sans prescription, constitution d'un stock)

C'est le cas pour l'institut Curie et l'hôpital Saint-Louis (Paris), l'hôpital Georges Pompidou (Paris), l'équipe de Dinne Leth-Miller au Danemark, l'équipe anglaise de Peter Jenkins, le centre hospitalier (CH) de Metz-Thionville, et le CH du Mans [38-43].

- les préparations à l'avance nominatives (avec prescription)

Les hôpitaux de Sens, et le CHU de Nancy ont publié des travaux sur leurs préparations à l'avance de doses standards prescrites [36] [44].

- les préparations extemporanées de doses standardisées.

C'est le cas, par exemple, pour les hôpitaux civils de Colmar [45].

II.1.1. Méthodologie de sélection des principes actifs standardisables

Les principaux critères de sélection des principes actifs éligibles à la standardisation de doses, retrouvés dans la littérature internationale, sont :

- Fréquence importante de prescription

La fréquence de prescription du principe actif doit être importante mais le nombre minimal de préparations réalisées par an et par principe actif est un critère d'éligibilité variant d'une équipe à l'autre. Il est fonction de l'activité globale de production. Par exemple, l'Institut Curie avec 32000 préparations réalisées par an et l'hôpital Saint-Louis avec 80000 préparations/an [38], ont fixé à 250 par an, le nombre minimal de préparations réalisées pour qu'un principe actif donné soit éligible à la standardisation. L'URC du CH du Mans [43] et celle du CHU de Nancy [42] ont fixé respectivement la limite à 500 et 520 préparations/an. La fréquence de prescription doit être importante afin d'assurer une rotation des lots de doses standards, et de faciliter les réattributions [46].

Les belges [46] raisonnent en nombre de poches de doses standards minimum délivré par semaine. Un principe actif est éligible si les doses standards qui ont été choisies sont dispensées au minimum 5 fois par semaine, afin d'assurer la rotation des lots.

- Stabilité physico-chimique du principe actif en solution

La stabilité physico-chimique étendue est un élément important pour créer des stocks de doses standardisées et est nécessaire pour assurer les contrôles libératoires. La plupart des équipes ont statué sur une stabilité physico-chimique supérieure à 14 jours [36] [38] [42] [43] [46].

- Coût

La réflexion quant au coût des principes actifs à standardiser n'est pas la même dans toutes les équipes. Certaines préfèrent standardiser les principes actifs peu onéreux

dans un premier temps (c'est le cas dans la plupart des équipes), puis si le « Dose-Banding » fonctionne correctement, standardiser ensuite les principes actifs onéreux. Cependant d'autres, comme celles de l'Institut Curie et de l'hôpital Saint-Louis en France [38], ou encore celles des hôpitaux de l'Utah, de l'Indiana, du Michigan et du Wisconsin aux Etats-Unis [47], ont mis en place une standardisation des principes actifs onéreux ou innovants. L'objectif est de démontrer l'intérêt de la standardisation des doses dans la réduction des pertes de reliquats de flacons ou de poches non administrées, afin de générer des économies.

- Principe actif long à préparer

Si la chimiothérapie est rapidement fabriquée, l'intérêt de la préparation à l'avance en doses standardisées est faible [42]. Au contraire, une préparation contraignante pour le personnel peut être un critère d'éligibilité à la production en lots de doses standardisées [46].

II.1.2. Méthodologie de détermination des doses standards

L'étape suivant la sélection des principes actifs éligibles au « Dose-Banding » est la détermination des doses standards grâce à l'analyse des données de prescription et de préparations des doses sur les années antérieures. Plusieurs critères de détermination des doses sont également retrouvés dans la littérature :

- Homogénéité de la répartition des doses produites

Les doses calculées selon la surface corporelle ne doivent pas être trop dispersées de façon à ce qu'un petit nombre de doses standards différentes couvrent un maximum de doses prescrites. En général, entre 3 et 5 doses standards doivent permettre de couvrir entre 50 et 60% minimum de la production totale du principe actif [38] [43] [48].

- Détermination de la variation maximale autorisée entre la dose théorique calculée selon la surface corporelle et la dose standard. Le modèle anglais [33] [35] définit une variation maximale de 5% tandis que quelques équipes augmentent cette variation à 10% maximum [38].

- Volume facile à prélever et correspondant dans la mesure du possible au volume des flacons commerciaux. Cela permet d'augmenter la précision si la préparation des

doses standards est manuelle, de diminuer les erreurs de manipulation, de diminuer les reliquats et de finalement générer des économies [38].

II.1.3. Expériences internationales

- En France

Les équipes de l'Institut Curie et de l'hôpital Saint-Louis [37] [38] à Paris ont travaillé sur la standardisation des doses de chimiothérapies (cytotoxiques et anticorps monoclonaux) à partir de 2007. Elles ont tout d'abord réalisé une étude de faisabilité en adaptant à leur pratique, le concept du « Dose-Banding » classique. Cette méthode de calcul de doses standards consiste à étudier la répartition des doses prescrites, sur un an, des principes actifs sélectionnés. Certaines doses sont plus prescrites que d'autres, les auteurs décident donc de fixer un intervalle de +/- 5% autour de ces doses. Pour les principes actifs (PA) qui ont plus de 5 doses qui apparaissent comme les plus prescrites, une variation de +/- 10% est acceptée afin d'avoir au maximum 5 doses arrondies standardisées couvrant un maximum de doses (> 60%). Ces doses correspondent à une surface corporelle comprise entre 1,4 et 2,2 m² ou un poids entre 45 et 100 kg. L'arrondi de dose est également discuté avec les cliniciens (généralement selon la toxicité et les protocoles). L'acceptation par le corps médical est une étape essentielle à la mise en place de la standardisation des doses. Pour l'équipe parisienne, la variation maximale a été fixée à 10% de la dose théorique [37] [38].

Le tableau II répertorie les principes actifs qui étaient standardisés sur les deux sites en 2011 ainsi que les doses arrondies déterminées, les volumes de prélèvements dans les flacons, les gammes de surfaces corporelles ou de poids ainsi que celles des doses calculées selon la surface corporelle, couverts par les doses arrondies [38]. D'autres principes actifs ont été standardisés depuis, comme l'irinotécan, le 5-Fu, le cyclophosphamide, l'épirubicine, le paclitaxel, la doxorubicine.

Aucune plainte n'a été enregistrée par les prescripteurs, le temps de mise à disposition des poches a été divisé par trois (20 minutes grâce aux doses standards), 100% des doses arrondies retournées à la pharmacie ont été réattribuées, contre 71% pour les doses non arrondies. La fabrication des doses standards concernent 36,7% de l'ensemble des préparations. La préparation à l'avance et en petits lots de ces doses est effectuée à l'aide d'un robot PharmaHelp®, que l'Institut Curie a qualifié avant de l'utiliser en routine [37].

Pour l'hôpital Saint-Louis, les doses sont préparées à l'avance en lots grâce à une pompe péristaltique BAXA Repeater®.

Tableau II : Représentation des doses standardisées à l'hôpital Saint-Louis et à l'Institut Curie [38].

Drug name	Dosage (mg/m ² or mg/kg)	Standard doses (mg)	Standard deviation (%)	Dose range (mg)	BSA (m ²) or Weight (kg)	Volume (ml)	Number of vials (big size)	Number of vials (all sizes)*
Gemcitabin	1,000	1,400	5	1,330–1,470	1.35–1.45	35	2	1 + 2 (no waste)
Gemcitabin		1,600	5	1,520–1,680	1.5–1.7	40	2	1 + 3 (no waste)
Gemcitabin		1,800	5	1,710–1,890	1.7–1.9	45	2	1 + 4 (no waste)
Gemcitabin	1,200				1.4–1.6			
Gemcitabin		2,000	5	1,900–2,100	1.6–1.75	50	2 (no waste)	
Gemcitabin	1,250				1.5–1.7			
Gemcitabin	1,200	2,200	5	2,100–2,310	1.75–1.9	55	3	2 + 1 (no waste)
Gemcitabin	1,250							
Docetaxel	75	120	10	108–132	1.45–1.75	12	2	1 + 2 (no waste)
Docetaxel	75	140	10	126–154	1.7–2.05	14	2	1 + 3 (no waste)
Docetaxel	100	160	10	144–176	1.45–1.75	16	2 (no waste)	
Docetaxel	100	180	10	162–198	1.6–2.0	18	3	2 + 1 (no waste)
Rituximab	375	600	10	540–660	1.45–1.75	60	2	1 + 1 (no waste)
Rituximab		700	10	630–770	1.7–2.05	70	2	1 + 2 (no waste)
Rituximab	Immunology	1,000	10			100	2 (no waste)	
Vinorelbine	30	40	10	36–44	1.2–1.45	4	1	0 + 4 (no waste)
Vinorelbine		50	10	45–55	1.5–1.8	5	1	1 + 0 (no waste)
Vinorelbine		60	10	55–66	1.8–2.2	6	2	1 + 1 (no waste)
Pemetrexed	500	800	6	750–850	1.5–1.7	32	2	1 + 3 (no waste)
Pemetrexed		900	5.5	850–950	1.7–1.9	36	2	1 + 4 (no waste)
Pemetrexed		1,000	5	950–1,050	1.9–2.1	40	2 (no waste)	

* First number = big vial size, second number = small vial size

Le centre hospitalier de Poissy, le CHU de Clermont-Ferrand, l'hôpital Henri Mondor à Paris, l'hôpital Georges Pompidou, l'hôpital de Sens, l'hôpital de Versailles ont également mis en place le « Dose-Banding » (tableau III) [39], [42], [44] [49], [50], [51].

Cette liste est probablement non exhaustive car la plupart de ces publications sont des communications affichées présentées lors de congrès. Le tableau suivant reprend les principes actifs standardisés et les modes de préparation adoptés.

Tableau III : Récapitulatif de la standardisation au niveau français.

Centres	Année	Molécules standardisées	Pourcentage de variation maximal autorisé	Mode de préparation
CH Versailles [51]	2014	Oxaliplatine, paclitaxel, rituximab	5%	préparation anticipée nominative à J-1 de DS
Hôpitaux civils de Colmar [45]	2009	cetuximab, rituximab, panitumumab, trastuzumab, bevacizumab	5%	préparation nominative extemporanée de DS
Hôpital Georges Pompidou (Paris) [39]	2015	5-Fu	non précisé	préparation automatisée (Medoc4) en lots de diffuseurs de 5-Fu en DS
Hôpital de Sens [44]	2015	Bortézomib	non précisé	préparation anticipée nominative
Hôpital Henri Mondor [50]	2013	Rituximab	5-10%	Préparation anticipée en lots de DS
Centre lutte contre cancer Clermont-Ferrand [49]	2015	paclitaxel	non précisé	Préparation hospitalière anticipée en DS
CHU de Nancy [42]	2011	Rituximab, bortezomib, azacitidine, vincristine, cyclophosphamide, bevacizumab	5%	« Dose-Banding » adapté : prescription anticipée et préparation anticipée de DS nominatives
CH du Mans [43]	2013	5-Fu, cyclophosphamide	5%	Préparation manuelle anticipée en lots de DS
CH de Metz-Thionville [36]	2010	5-Fu (bolus)	5%	Préparation anticipée semi-automatisée de lots de DS (Baxa Repeater®)

DS : doses standards ; 5-Fu : 5-fluorouracile

- Au niveau international

Des équipes au Danemark (Copenhague), en Suisse (CHU de Lausanne), en Ecosse (Edimbourg), au Canada (Juravinski), en Belgique (CHU de Dinant), en Australie et aux

Etats-Unis ont publié leurs travaux aboutissant à la mise en place de la standardisation de doses au sein de leur PUI [40] [47] [52-56].

Les principes actifs les plus standardisés sont le 5-fluorouracile (5-Fu), pour sa longue stabilité et sa fréquence élevée de prescription, le cyclophosphamide, le méthotrexate, la gemcitabine, l'épirubicine, la doxorubicine (tableau IV).

Tableau IV : Récapitulatif de la standardisation de doses au niveau international

Pays	Année de mise en place	Molécules standardisées	Pourcentage de variation maximal autorisé
Danemark (Copenhague)[40]	2005	Cyclophosphamide, Epirubicine, 5-Fu, carboplatine, gemcitabine	5-6%
Ecosse (Edimbourg)[53]	non renseigné	5-fu, cyclophosphamide, méthotrexate	5%
Canada (Juravinski)[54]	2006	5-Fu (et leucoveurine)	5%
Suisse (Lausanne)[52]	2012	5-Fu	5%
Allemagne (Freiburg)[57]	2012	5-Fu, gemcitabine, vincristine, Doxorubicine, irinotécan, Etoposide phosphate, fludarabine, bortézomib, rituximab	5%
Belgique (Dinant)[48]	2014	5-Fu	5%
Angleterre [32] [35] [41] [42] [58] [59]	début des années 90	5-Fu, Cyclophosphamide, méthotrexate, épirubicine, doxorubicine, vincristine, carboplatine	5%
USA (Utah, Michigan, Indiana, Wisconsin) [47]	2010	Infliximab, bévacizumab, cétuximab, rituximab, trastuzumab, gemtuzumab	10%
Australie (4 hôpitaux, Victoria) [56]	2010	oxaliplatine	10% (une dose standard à 150 mg pour SC comprises entre 1,77 et 1,94 m ² avec poso à 85 mg/m ²)

Une étude réalisée par une équipe du CHU de Nancy a rapporté, après une enquête sur la pratique du «Dose-Banding» dans le monde, les modalités d’instauration dans les hôpitaux (tableau V) [42]. Un questionnaire a été envoyé via la newsletter d’Infostab® (publiant Stabilis®) à près de 1850 abonnés. Parmi eux, 51 ont répondu, 61% d’entre eux préparent des anticancéreux à l’avance, 13% utilisent le concept du « Dose-Banding » et 16% prescrivent et préparent nominativement à l’avance des doses standardisées [42].

Tableau V : Résultats de l’enquête internationale sur la pratique du «Dose-Banding» » [42].

Pays	Ville	Variation maximale	Principes actifs
Angleterre	Bebington	7-8%	Anthracyclines, cyclophosphamide
Angleterre	Birmingham	5%	NR
Pays-Bas	Rotterdam	5-10%	Trastuzumab en palliatif et rituximab
Pays-Bas	Leeuwarden	10%	Marge thérapeutique large
Allemagne	Mayence	NR	Presque toutes les molécules onéreuses et/ou peu prescrites

DB : Dose-Banding ; NR : non renseigné

La standardisation des doses est particulièrement intéressante lorsque ces dernières sont fabriquées en avance et de façon semi-industrielle, c’est-à-dire en petits lots. En effet, cela permet de réorganiser totalement l’activité pour ne plus travailler en flux tendu journalier, mais par campagnes de production lors de plages horaires bien définies. La production anticipée par lots permet un stockage et une mise à disposition très rapide des préparations dès qu’une prescription est réalisée.

Les différentes expériences internationales ont permis de souligner les principaux avantages et inconvénients rencontrés avec la standardisation des doses.

II.1.4. Avantages et inconvénients du « Dose-Banding »

✓ Avantages

Les principaux avantages de la standardisation des doses, rapportés par les différentes équipes sont :

- Réduction du temps de dispensation [26],[27],[38],[58],[36]

Certains centres ont cependant connu des difficultés, comme c'est le cas pour les Canadiens et le CH de Metz-Thionville. Ils n'ont pas observé de gain de temps dans la préparation, ni de mise à disposition des traitements plus rapide dans les services. Cela vient probablement du choix des principes actifs à standardiser : faible nombre de prescriptions (5% de la production totale de l'URC) [43], ou du choix non judicieux du principe actif en raison de la rapidité de préparation sans standardisation [54]. Afin de réduire le temps de dispensation, il pourrait être préférable de standardiser impérativement le premier principe actif à administrer dans un protocole donné ou l'ensemble du protocole si cela est possible.

- Une amélioration de la qualité

Une meilleure organisation du temps de travail permet de lisser l'activité au sein des unités de pharmacotechnie, l'augmentation de la capacité de production des pharmacies, et la sécurisation du circuit entraînent une amélioration de la qualité des préparations. Par exemple, le centre hospitalier Georges Pompidou à Paris [39], a pu mettre en place des contrôles qualitatifs et quantitatifs, sur les préparations de 5-Fu en infuseurs, jusqu'alors inexistantes (pas de sites de prélèvement sur l'infuseur). En effet, la préparation d'infuseurs de 5-Fu à partir d'une poche mère permet de réaliser des contrôles analytiques sur la poche mère [39]. La préparation de doses standardisées permet également de réduire les erreurs de manipulation, ainsi que les erreurs de calcul de doses [33] [60]. L'utilisation d'un automate ou d'une pompe sécurise également le circuit en étant plus précis et plus reproductible sur les volumes prélevés.

- Réduction des coûts

La préparation en lots génère moins de reliquats et permet donc d'économiser des flacons, lorsque les doses standards ont été fixées de façon à correspondre au mieux au

flaconnage industriel [33] [35]. Le prélèvement de flacons entiers permet également de diminuer le risque d'erreur liées à la manipulation [38] [47] [48] [56]. La préparation de doses standards permet de faciliter la réattribution des poches non administrées d'un patient à un autre patient.

- Aucun retour négatif concernant une perte d'efficacité ou une augmentation des toxicités n'a été rapporté dans aucune des publications citées ci-dessus. L'équipe de Baker n'a pas observé d'aggravation de l'état de santé des patients ayant reçu des doses standards de cyclophosphamide, de méthotrexate et 5-Fu après 2 ans de recul [32]. Une étude anglaise a montré, avec un recul de 5 ans, qu'il n'y avait pas d'augmentation de la toxicité avec une variation de 5% maximum pour un protocole entier (FEC : cyclophosphamide, epirubicine, et 5-Fu) utilisé dans le cancer du sein [41].
- Une étude réalisée auprès des prescripteurs anglais en oncologie et en hématologie (1104 questionnaires envoyés) a montré que 81% des réponders (n=387) pensaient qu'il y avait un réel intérêt à utiliser le « Dose-Banding » pour rationaliser les doses d'anticancéreux et 63% sont confrontés à la standardisation de doses en pratique courante. Parmi ces derniers seulement 1% ne sont pas en accord avec ce système (pas de données cliniques sur le long terme, pas de possibilité d'étendre le « Dose-Banding » aux essais cliniques, conséquences importantes pour le patient en cas de sous-dosage). La mise en place de la standardisation des doses des thérapies ciblées serait possible pour 61% des médecins. Enfin 52% et 40% des prescripteurs acceptent un écart maximal par rapport à la dose théorique de 5 à 10% respectivement [58].

✓ Inconvénients

Les principaux inconvénients relevés par les équipes anglaises sont [33] :

- l'administration de plusieurs seringues (parfois jusqu'à 3) pour atteindre la dose standardisée peut occasionner des erreurs.
- Le « Dose-Banding » peut être parfois plus coûteux que la fabrication « traditionnelle » des anticancéreux. S'il est appliqué aux principes actifs onéreux, la quantité de doses

standards à préparer à l'avance doit être évaluée précisément pour ne pas induire de pertes faute de dispensation avant la date limite d'utilisation.

- Le pourcentage maximal de variation entre la dose ajustée et la dose théorique, ajoutée à l'imprécision de l'estimation de la SC dans le calcul des doses pourrait aboutir à une variation par rapport à la dose prévue jugée inacceptable [27].
- Certains oncologues peuvent avancer l'argument d'une perte de liberté de prescription, puisque les doses administrées ne sont plus celles calculées individuellement selon la SC [27].
- Le «Dose-Banding» ne s'applique pas aux essais cliniques, à la pédiatrie et aux personnes ayant des poids extrêmes (cachectiques, ou obèses), auxquels cas une individualisation des doses doit être faite.

La mise en place du «Dose-Banding» bouleverse les règles établies de la pharmacotechnie. En effet, la préparation anticipée en lots de doses arrondies ne correspond plus tout à fait à la définition de préparation magistrale. L'octroi du statut de préparations hospitalières n'est cependant pas validé par les autorités de santé au jour de la rédaction de cette thèse. Néanmoins une évolution serait attendue comme pour les mélanges standards de nutrition parentérale qui ont le statut de préparation hospitalière. De nombreuses modifications, notamment en ce qui concerne les contrôles sur produits finis, doivent être prises en compte.

Le prochain chapitre recense les aspects réglementaires des bonnes pratiques de préparation en partant sur l'hypothèse que la préparation par répartition des doses standardisées possède un statut de préparation hospitalière.

II.2. Réglementation

II.2.1. Définitions des préparations injectables stériles

Les préparations à l'avance de doses standardisées en lots à partir d'une solution mère correspondraient plus volontiers aux préparations hospitalières, selon les définitions fournies par les Bonnes Pratiques de Préparation (BPP).

La préparation magistrale est définie comme suit :

« tout médicament préparé selon une prescription médicale destinée à un malade déterminé en raison de l'absence de spécialité pharmaceutique disponible disposant d'une autorisation de mise sur le marché, de l'une des autorisations mentionnées aux articles L. 5121-9-1 et L. 5121-12, d'une autorisation d'importation parallèle ou d'une autorisation d'importation délivrée à un établissement pharmaceutique dans le cadre d'une rupture de stock d'un médicament, soit extemporanément en pharmacie, soit dans les conditions prévues à l'article L. 5125-1 ou à l'article L. 5126-2 ».

Selon le code de santé publique, la préparation hospitalière correspond:

« ... tout médicament, à l'exception des produits de thérapies génique ou cellulaire, préparé selon les indications de la pharmacopée et en conformité avec les bonnes pratiques mentionnées à l'article L. 5121-5, en raison de l'absence de spécialité pharmaceutique disponible ou adaptée disposant d'une autorisation de mise sur le marché, de l'une des autorisations mentionnées aux articles L. 5121-9-1 et L. 5121-12, d'une autorisation d'importation parallèle ou d'une autorisation d'importation délivrée à un établissement pharmaceutique dans le cadre d'une rupture de stock d'un médicament, par une pharmacie à usage intérieur d'un établissement de santé, ou par l'établissement pharmaceutique de cet établissement de santé autorisé en application de l'article L. 5124-9 ou dans les conditions prévues à l'article L. 5126-2. Les préparations hospitalières sont dispensées sur prescription médicale à un ou plusieurs patients par une pharmacie à usage intérieur dudit établissement. Elles font l'objet d'une déclaration auprès de l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé, dans des conditions définies par arrêté du ministre chargé de la santé. »

La préparation anticipée de doses standardisées non nominatives par répartition à partir d'une poche mère, correspondrait ainsi à cette dernière définition. Malgré cela, le statut de ce type

de préparation hospitalière, encore peu répandu en France, n'est pas clairement défini par les autorités de santé, et sa mise en application (procédures, contrôles) est sous la responsabilité du pharmacien hospitalier.

Selon les Bonnes Pratiques de Préparation, les pharmacies à usage intérieur (PUI) peuvent, sous réserve d'une autorisation préalable, effectuer des préparations hospitalières en « petites séries, destinées à un ou plusieurs malades en cas d'inexistence ou d'indisponibilité d'un médicament soumis à AMM (autorisation de mise sur le marché) ». La « petite » série étant fixée à 300 unités produites par lot. Ainsi, dans le cadre de notre activité de routine, et selon l'analyse, sur les deux dernières années de la production des cytotoxiques ou anti-infectieux les plus aptes à être standardisés, la production en série ne dépassera pas les 300 préparations par lots.

En 2013, nous avons reçu par l'inspecteur pharmacien général de santé publique de notre Agence Régionale de Santé (ARS), l'autorisation de réaliser des préparations hospitalières stériles, « compte-tenu de l'organisation centralisée, parfois à l'avance, du matériel et des locaux de qualité dédiés à cette activité. »

Ainsi au vu de ces éléments, nous avons considéré que la préparation à l'avance de doses standardisées à partir d'une poche mère suit la définition de préparation hospitalière et doit donc être conforme aux bonnes pratiques dédiées à ce type de préparation. Par conséquent, de nombreuses modifications dans le circuit de préparation et dans le système documentaire ont dû être apportées.

II.2.2. Exigences qualités de la fabrication de préparations injectables stériles

- Locaux, équipements et procédé de fabrication

La réglementation concernant la fabrication en elle-même des préparations hospitalières stériles ne diffère pas de celle des préparations magistrales stériles. En effet, afin de garantir le maintien de la stérilité, à partir des matières premières jusqu'à la préparation terminée, le procédé de fabrication dans notre unité de fabrication, est une préparation aseptique en système clos, sous isolateur (classe A) dans une zone à atmosphère contrôlée (ZAC) (classe C). La ZAC est définie comme des locaux ou équipement dont la qualité

microbiologique et particulaire est maîtrisée (annexe 1). La qualité de l'air de la ZAC est maintenue grâce à un flux d'air unidirectionnel qui la place en surpression par rapport aux locaux adjacents, et à un système de filtration haute efficacité pour les particules de l'air (HEPA).

La préparation aseptique en système clos est une préparation stérile, réalisée à partir de matières premières stériles prélevées et transférées dans un contenant final stérile, sans aucun contact avec l'environnement extérieur puisqu'elle est réalisée sous isolateur. Un isolateur est un système muni de filtres HEPA (en amont et en aval) assurant qu'il n'y ait aucun échange d'air non filtré ni de contaminants avec l'environnement extérieur. C'est donc une barrière physique étanche assurant la stérilité à l'intérieur de l'isolateur [61].

- Contrôles environnementaux

L'environnement doit satisfaire à un certain niveau d'empoussièrement pour réduire le risque de contamination particulaire et microbienne. Les contrôles environnementaux sont réalisés par différents prélèvements :

- ✓ L'aérobio-contamination (échantillons volumétriques d'air, boîtes de Pétri)
- ✓ Le contrôle microbiologique des surfaces (gélouses contact et/ou écouvillons)

Les contrôles environnementaux doivent être réalisés également en dehors de toute activité, après les opérations de validation, de maintenance, de nettoyage ou de désinfection.

- Test de remplissage aseptique

En plus des contrôles environnementaux, la validation du procédé de préparation aseptique est nécessaire et est décrit dans plusieurs référentiels (Bonnes pratiques de préparation, Pharmacopée européenne) [62] [63].

- ✓ Principe

Le test de remplissage aseptique (TRA), encore appelé « Media-fill Test », est une simulation de toutes les étapes de fabrication d'une préparation injectable stérile à l'aide d'un milieu de culture remplaçant le solvant et le principe actif. L'objectif est de montrer que le procédé de fabrication permet de garantir la stérilité du produit fini. Parallèlement, chaque opérateur doit

valider un TRA annuellement afin de vérifier que la manipulation aseptique sous isolateur est maîtrisée. Un contrôle environnemental est réalisé concomitamment au TRA.

✓ Réglementation

Afin de réaliser le TRA, nous nous sommes basés sur les recommandations du PIC/S destinées aux industriels [64]. Toutefois, elles ont été adaptées à la pratique hospitalière notamment en ce qui concerne la taille de l'échantillon nécessaire pour faire le test, et la fréquence de requalification du personnel. Pour les échantillons inférieurs à 3000 unités, le PIC/S recommande la réalisation du TRA sur la taille maximale du lot.

Corriol et al [61], dans les recommandations pour la préparation de mélanges de nutrition parentérale, préconisent que *« le nombre de poches remplies au cours du TRA est représentatif de l'activité quotidienne. La quantité moyenne reflète la production habituelle, la quantité maximale reflète une situation extrême pouvant se révéler plus intéressante en terme d'analyse de risques »*. Pour la qualification de performance d'un procédé, trois TRA sur une quantité de poches égale à la taille maximale des lots doivent être validés.

La requalification de performance d'un procédé de fabrication peut être réalisé par un seul TRA portant sur la taille maximale du lot.

✓ Fréquence

Les recommandations préconisent de réaliser cet essai pour valider un nouveau procédé aseptique, lors d'un changement majeur dans le procédé (matériel, anomalie majeure dans le résultat des contrôles environnementaux ou des essais de stérilité sur produit fini, d'arrêt prolongé des préparations), et pour valider un nouvel opérateur.

Les manipulateurs doivent revalider tous les ans le test de remplissage aseptique dans le cadre de la formation continue.

▪ Le personnel

Outre la validation du TRA afin de valider la manipulation aseptique, le personnel doit également être formé aux exigences en matière d'hygiène que requiert le travail en unité de reconstitution centralisée (URC). Ces exigences ont à la fois pour but de protéger l'environnement mais également le personnel. Le nombre de personne dans la ZAC doit être réduit au minimum.

Toutes ces actions sont obligatoires, pour toute préparation injectable stérile, afin d'assurer la qualité aseptique de la fabrication. Les contrôles libérateurs sont plus nombreux pour la préparation hospitalière stérile destinée à être stockées avant l'administration.

II.2.3. Contrôles libérateurs des préparations stériles

Les préparations hospitalières fabriquées à l'avance et destinées à être stockées doivent répondre à des exigences de qualité plus strictes. Aux conditions de fabrication, de contrôle et de dispensation d'une préparation magistrale stérile, s'ajoutent donc des contrôles de qualité supplémentaires sur produit fini, la rédaction d'un dossier de lot, la création d'espaces de stockage (dont la zone de quarantaine), et la réalisation d'une échantillonnage.

Plusieurs contrôles, recommandés par la Pharmacopée européenne, interviennent dans la préparation de médicaments stériles, qu'elle soit magistrale ou hospitalière. Les BPP, quant à elles, n'imposent aucune méthode de contrôles de la fabrication des préparations injectables stériles. Ainsi les pratiques diffèrent entre les centres.

La pharmacopée européenne préconise de réaliser pour les préparations parentérales un essai d'uniformité de teneur et un essai de détection des endotoxines bactériennes. Les BPP mentionnent toutefois que « *Les préparations injectables préparées à partir de matières premières non apyrogènes, à l'exclusion des spécialités pharmaceutiques stériles, font l'objet d'un essai des endotoxines bactériennes selon les exigences de la pharmacopée* ». Nous ne faisons donc pas d'essai de détection des endotoxines bactériennes pour les préparations injectables stériles.

- Essai de stérilité de la préparation injectable stérile

L'essai de stérilité est recommandé par la Pharmacopée européenne. Les BPP mentionnent que l'essai de stérilité s'applique sur un lot, et que la taille de ce dernier pour les préparations magistrales ne permet pas d'effectuer l'essai [62]. En effet, la méthode de référence décrite dans la pharmacopée européenne est destructrice et n'est donc pas applicable aux préparations magistrales stériles puisque chaque préparation constitue un lot en soit. En outre ces dernières sont destinées à être administrées dès leur fabrication, réduisant ainsi le

risque de contamination. Dans les BPP, cet essai est spécifique aux préparations hospitalières stériles et pour les préparations magistrales, c'est le pharmacien en charge de la libération qui évalue le risque associé à la stérilité de la préparation :

« L'essai de stérilité appliqué à la préparation terminée est considéré comme le dernier d'une série de contrôles permettant de garantir la stérilité. Les échantillons prélevés pour l'essai de stérilité sont représentatifs du lot dans les conditions prévues par la pharmacopée dans le cas de production en série. Pour les préparations magistrales dont la taille des lots ne permet pas de suivre les prescriptions de la Pharmacopée Européenne, le pharmacien en charge de la libération évalue le risque associé à la stérilité en prenant en compte, notamment, les différents paramètres critiques lui permettant d'avoir une garantie suffisante en vue de la libération de la préparation. »

Cependant, la définition du lot par Corriol et al [61], dans les recommandations pour la préparation des mélanges de nutrition parentérale, intègre le cas particulier des préparations magistrales. Ainsi ils distinguent un lot défini par le type de préparation, du lot défini par le mode de préparation.

La préparation de poches de même composition, destinées à plusieurs patients, par répartition à partir d'un mélange initial, constitue un lot. De même, si les poches sont fabriquées individuellement mais que les conditions de préparation sont homogènes (le procédé, les conditions de fabrication, et l'opérateur sont identiques pour toutes les poches), cela constitue également un lot de production. Ainsi un contrôle global de stérilité pourrait également être réalisé pour les préparations magistrales sur un échantillon représentatif du lot [61].

II.2.4. Mise en œuvre d'un système documentaire pour les préparations hospitalières

Un système d'assurance qualité est nécessaire afin de garantir la qualité du produit fini pour les préparations hospitalières stériles. Ce dernier passe par la création de documents de traçabilité de la préparation terminée de façon à pouvoir réagir si un problème survient.

- Création du dossier de lot

Selon les BPP, un dossier de lot contient « *toutes les informations, et documents relatifs aux matières premières mises en œuvre, à la préparation, à son étiquetage, à son contrôle, à sa libération (acceptation ou refus), à sa conservation, à sa dispensation, aux anomalies et à sa destruction éventuelle* ». Ce dossier doit être conservé au moins un an après la date de péremption du lot concerné.

- Echantillothèque

La préparation hospitalière de solutions injectables stériles nécessite de réaliser une échantillothèque. La quantité minimale conservée doit permettre de refaire tous les contrôles cités précédemment. Les échantillons doivent être gardés dans les mêmes conditions que la préparation, et pour une durée égale à celle de la préparation plus un an.

Les échantillons conservés doivent porter une étiquette avec le numéro du lot, le principe actif, le solvant, la date d'échantillonnage (qui correspond à la date de fabrication), la date limite d'utilisation de la préparation, et un numéro d'enregistrement dans l'échantillothèque. Chaque échantillon doit être mentionné dans un registre d'échantillonnage dans lequel est notée toute entrée et sortie d'échantillons, et en cas de sortie la cause et l'utilisation qui en est faite.

- Gestion des anomalies, réclamations et rappel de lot

Le pharmacien décide, après la validation des contrôles sur les préparations terminées de la libération du lot. Il est possible toutefois qu'une anomalie soit relevée a posteriori. Cette anomalie peut être matérielle (poche percée par exemple), ou due à la fabrication en elle-même (telle qu'un mauvais solvant ou un percuteur oublié). Dans ce cas le pharmacien analyse le problème, et si nécessaire, effectue un rappel de lot. La survenue d'effets indésirables ou d'un tout autre problème non prévu peut également amener le pharmacien à

réaliser un rappel de lot. Une fiche de liaison service de soin/pharmacie devra alors être remplie, et le lot détruit. Un certificat de destruction sera ajouté au dossier de lot.

Cet état des lieux a été nécessaire avant d'instaurer le « Dose-Banding », afin d'évaluer la faisabilité de la mise en place des contrôles et du système documentaire inhérents aux préparations hospitalières injectables stériles. La seconde partie de ce document est consacrée à la description de notre expérience de mise en œuvre de la standardisation des doses.

PARTIE II : TRAVAUX PERSONNELS

I. CONTEXTE

Depuis quelques années, l'activité de production des préparations injectables stériles est en constante augmentation. La production de cytotoxiques, d'anticorps monoclonaux, et d'anti-infectieux avoisinait les 68000 préparations en 2015 pour deux des trois hôpitaux du CHU de Bordeaux (Saint-André et Haut-Lévêque) (figure 5). L'activité du troisième site n'est pas prise en compte puisqu'elle concerne essentiellement l'oncologie pédiatrique que nous ne traiterons pas ici.

Malgré la progression de l'activité de préparation, les équipements ainsi que les effectifs sont équivalents depuis de nombreuses années. Les recommandations de la Société Française de Pharmacie Oncologique (SFPO) préconisent un préparateur en pharmacie hospitalière (PPH) pour 5000 préparations injectables stériles. Actuellement, nous avons un PPH pour 8300 préparations par an. Seulement 4 postes de préparations sous isolateurs sont dédiés à la fabrication de cytotoxiques et d'anticorps monoclonaux. Deux postes permettent la préparation centralisée de certains anti-infectieux. En raison du nombre insuffisant de préparateurs et d'équipement adéquat, la charge de travail est maximale. Un circuit de préparations anticipées a donc été élaboré afin d'alléger le travail en flux tendu.

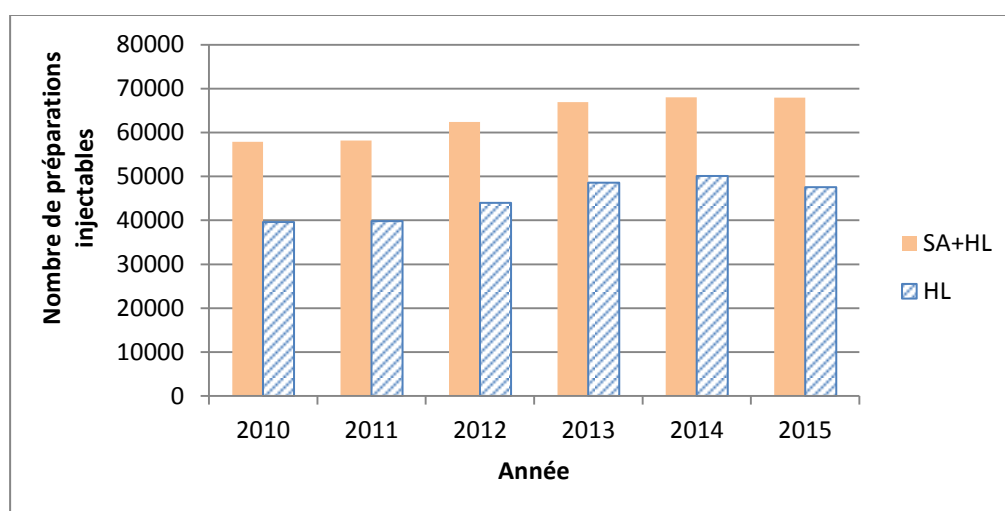


Figure 5 : Evolution du nombre de préparations injectables stériles fabriquées au CHU de Bordeaux sur les 5 dernières années.

SA : Saint-André, HL : Haut-Lévêque.

I.1. Préparations magistrales stériles extemporanées

L'unité de reconstitution centralisée prend en charge les préparations des cytotoxiques, des thérapies ciblées injectables, des essais thérapeutiques et de certains anti-infectieux. La fabrication centralisée de ces derniers a pour objectifs :

- de sécuriser la fabrication, notamment pour les préparations destinées à la pédiatrie (linézolide, ceftazidime, cefotaxime),
- de protéger le personnel et l'environnement : pour certains anti-infectieux dont la fabrication entraîne des risques, tels que le ganciclovir, le cidofovir,
- de réduire les coûts de production des anti-infectieux onéreux (caspofungine, daptomycine, mycafungine, l'amphotéricine B liposomale, et le voriconazole).

Les perfusions d'aciclovir destinées aux services d'onco-hématologie sont également préparées de façon centralisée, afin d'alléger la charge de travail des infirmiers et de sécuriser le circuit.

Le circuit des préparations magistrales stériles fabriquées de façon extemporanée est décrit sur la figure 6. Nous utilisons le logiciel CHIMIO™ de Computer Engineering pour la prescription, la fabrication et la dispensation de toutes les préparations magistrales stériles centralisées.

La principale divergence entre le circuit des cytotoxiques et des anticorps monoclonaux et celui des anti-infectieux réside dans la prescription puisque les médecins n'utilisent pas le logiciel pour les prescriptions d'anti-infectieux mais envoient des ordonnances papiers (figure 7).

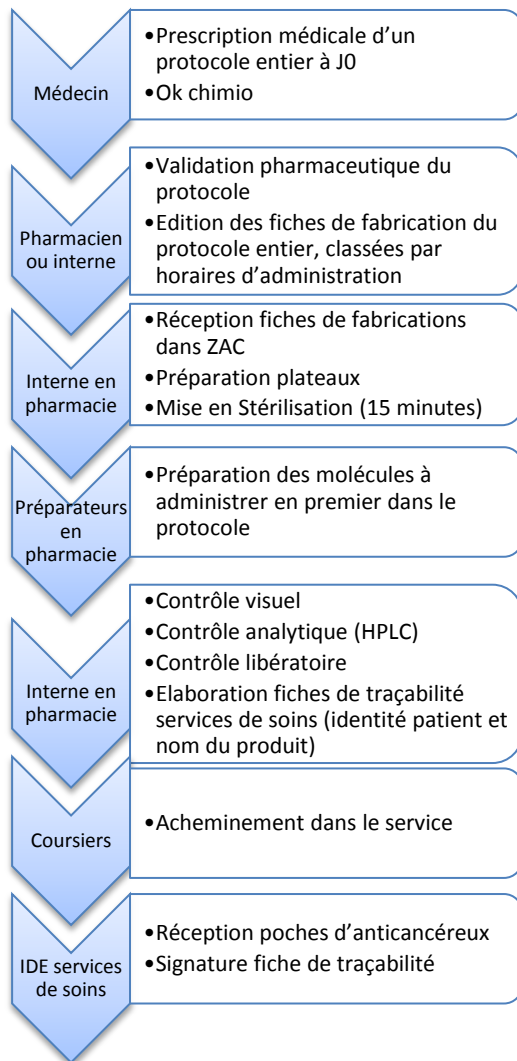


Figure 6 : Circuit de la préparation injectable d'anticancéreux.

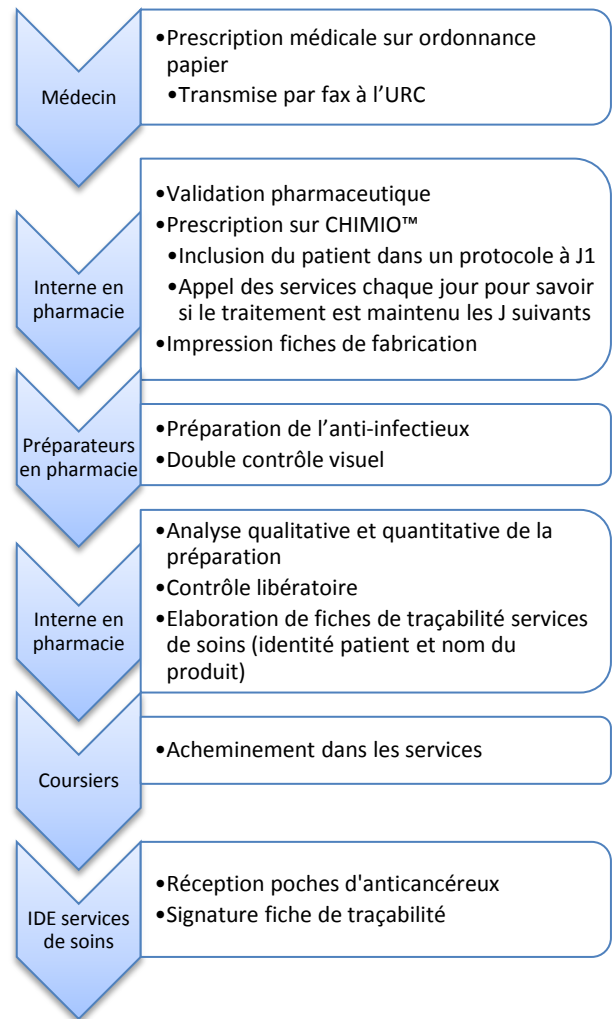


Figure 7 : Circuit actuel des anti-infectieux injectables préparés à l'URC

Le circuit de fabrication et d'acheminement des préparations injectables stérile est rythmé par le passage des navettes toutes les heures. La validation pharmaceutique est suivie de l'impression des fiches de fabrication de tous les principes actifs qui seront préparés à l'URC et qui constituent un même protocole à administrer à un patient. Le principe actif qui doit être administré en premier est fabriqué et envoyé dans le service en priorité. Les autres préparations sont envoyées dans le service aux navettes suivantes, suivant leur ordre d'administration au patient.

Ce fonctionnement en flux tendu aboutit à un temps minimal incompressible de préparation de 70 minutes (tableau VI).

Tableau VI : Délais minimum nécessaires à chacune des étapes de préparation des injectables stériles.

ETAPES de PREPARATION	DELAIS (min)
1-OK Etat demandé/validation pharmaceutique	10
2-Validation pharmaceutique senior	5
3-Préparation plateaux	5
4-Mise en stérilisation	15
5-Fabrication	5-15
6-Contrôle analytique (HPLC)	5
7-Libération/traçabilité/Colisage	5
8-Passage Coursier	15
TOTAL	70

Le délai moyen réel entre la prescription médicale et la mise à disposition de la préparation injectable stérile dans le service est de 155 minutes soit 2h35. Les résultats de l'étude réalisée sur un mois sont représentés sur la figure 8.

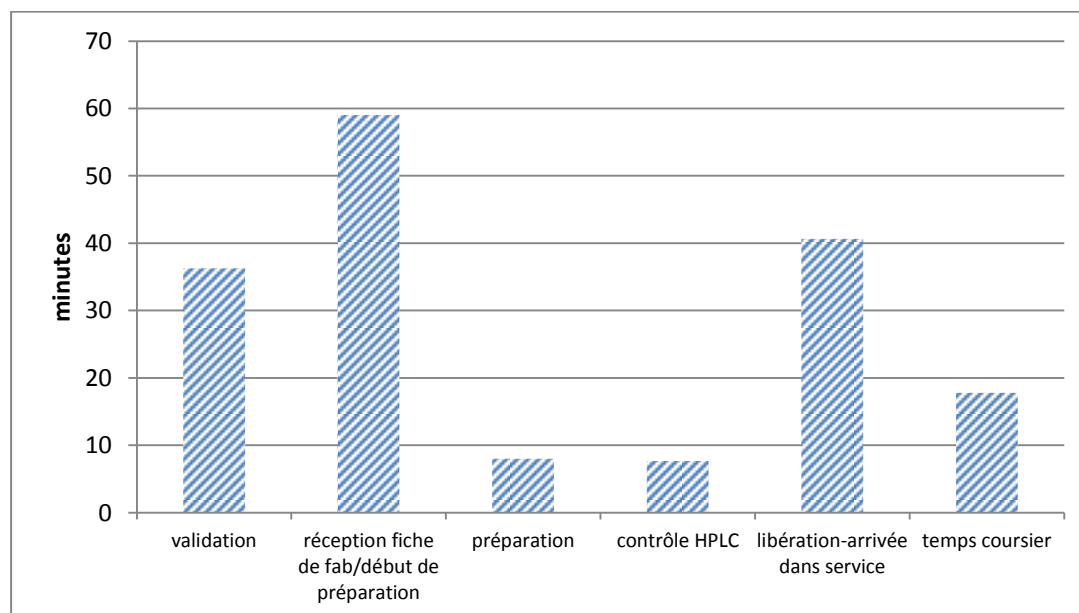


Figure 8 : Délai moyen de réalisation de chaque étape du circuit de la préparation injectable stérile.

L'étape la plus longue est le délai entre la réception de la fiche de fabrication dans la zone de préparation (zone à atmosphère contrôlée ou ZAC) et le début de la préparation (60 minutes).

Ce résultat est biaisé car seuls les principes actifs qui seront administrés en premier dans un protocole seront fabriqués en priorité, malgré la réception de l'ensemble des fiches de fabrications en même temps dans la ZAC.

Par exemple, un protocole de gastro-entérologie, le protocole FOLFOX comprend l'oxaliplatine qui est administré en premier sur 2 heures, le 5-Fu bolus est administré ensuite sur 30 minutes puis le 5-Fu continu, sur 48 heures. Les trois fiches de fabrications sont acheminées dans la ZAC à H0. Théoriquement l'oxaliplatine sera préparé en premier et envoyé à la prochaine navette. Les deux préparations de 5-Fu seront envoyées à la navette suivante. Pour le 5-Fu, le délai entre la réception de la fiche de fabrication dans la ZAC et le début de la préparation est donc allongé, non pas à cause d'un retard, mais à cause de l'organisation de l'activité rythmée par le passage des coursiers.

Le délai de validation est lui aussi biaisé, car l'organisation de la validation est également rythmée par les horaires de passage des coursiers et définie comme suit : validation des protocoles de H0 jusqu'à H+1, réception dans la ZAC des fiches de fabrications à H+1 des chimiothérapies pour lesquelles la libération théorique est prévue à H+2. Ainsi un protocole prescrit à H0 peut n'être amené dans l'URC qu'une heure après.

La préparation met en moyenne 18 minutes pour être acheminée jusqu'aux services. Notre hôpital est pavillonnaire avec de grandes distances entre les bâtiments et la pharmacie. Les résultats de l'étude montrent que le temps d'acheminement dans les services varie de 10 à 45 minutes.

Compte tenu du temps important entre la prescription et l'acheminement des préparations dans les services, un second circuit a été introduit: les préparations magistrales anticipées.

I.2. Préparations magistrales stériles anticipées

Ce second circuit est issu d'une demande particulière des médecins et équipes paramédicales des hôpitaux de jour (HDJ) d'hématologie qui souhaitent optimiser au mieux l'organisation de leur service. Les principes actifs constituant les protocoles d'onco-hématologie et dont la stabilité permet d'anticiper la préparation la veille pour une administration prévue au lendemain ont été sélectionnés : doxorubicine, vincristine, bléomycine, dacarbazine, vinblastine, rituximab, azacitidine, cyclophosphamide, cytarabine, étoposide, méthotrexate. Les médecins prescrivent la veille du jour d'administration, après

avoir eu l'assurance de la venue du patient et la confirmation que l'état général permet l'administration de la cure. Un questionnaire a été élaboré afin que l'interrogatoire téléphonique réalisé par une infirmière soit précis et exhaustif. Les préparations sont envoyées dans les HDJ la veille de l'administration.

Cette anticipation des prescriptions et des préparations de la veille pour le lendemain n'est pas suffisante pour lisser le flux d'activité quotidien et répartir de façon homogène la charge de travail. La plupart des préparations sont toujours réalisées sous la pression de l'heure de passage de la navette. Par ailleurs, une augmentation de 25% de l'activité est prévue dans le cadre du regroupement de tous les services d'hépatogastro-entérologie sur l'hôpital Haut-Lévêque. Face à ce surcroît d'activité et dans la continuité de la démarche d'anticipation des prescriptions, nous avons étudié la faisabilité de la standardisation des doses.

II. STANDARDISATION DES DOSES

Ainsi que décrit dans la première partie, le concept de « Dose-Banding » a été élaboré par Plumridge et son équipe dans les années 90 [27]. Il consiste à élaborer des intervalles de doses, appelées « bandes », et de définir une dose standard qui correspond au milieu de la bande. Dans le concept original, l'écart entre les doses situées aux bornes des intervalles et la dose standard est de 5% maximum. Depuis plus de 20 ans, des prescripteurs et des pharmaciens utilisent cette méthode de détermination des doses en Grande-Bretagne. Mais ce concept s'est exporté et est utilisé internationalement aujourd'hui.

L'application de la standardisation des doses à notre activité constitue une option intéressante afin de réorganiser l'activité journalière. En effet, la prescription de quelques doses arrondies par principe actif, et non plus de doses ajustées au milligramme près, permettrait l'organisation de campagnes de production anticipée et la création de stocks. Ainsi la fabrication en lots serait réalisée en amont de la prescription et permettrait de désengorger le flux de production quotidien. Nous avons donc étudié la faisabilité de l'instauration du « Dose-Banding » en priorité pour les principes actifs d'hépatogastro-entérologie en prévision du regroupement.

La méthode de détermination des doses standards a évolué selon les centres qui l'ont expérimentée. Pour la sélection des principes actifs éligibles à la standardisation mais également pour la fixation des doses standards, nous nous sommes basés principalement sur l'étude de faisabilité publiée par les équipes de l'Institut Curie et de l'hôpital Saint-Louis à Paris [38].

II.1. Sélection des principes actifs éligibles

II.1.1. Méthodologie

La première étape a été de déterminer les critères d'éligibilité d'un principe actif à la standardisation des doses. Une revue de la littérature a mis en avant deux critères communs à toutes les études : une production annuelle importante et une stabilité physico-chimique étendue.

Dans les études françaises, la cohorte de patients traités doit être importante pour faciliter les réattributions et la rotation des lots produits. Le nombre de préparations minimum par an nécessaire pour que le principe actif soit standardisable variait de 250 à 520 préparations par an.

La stabilité physico-chimique devait être supérieure à 14 jours. En effet, la production anticipée de doses standards possible grâce à l'utilisation du concept de « Dose-Banding », nécessite une stabilité étendue afin de réaliser les contrôles libératoires sur produit fini et de faciliter les réattributions si l'administration pour lequel la dose a été dispensée n'a pas eu lieu [36] [38] [43].

La sélection a donc constitué en l'analyse des données de production de tous les principes actifs injectables fabriqués de façon centralisée sur l'année 2015, et en l'évaluation des données de stabilité retrouvées dans la littérature.

II.1.2. Résultats

II.1.2.1. Analyse des données de production annuelle

Tous les principes actifs préparés dans nos unités de reconstitution centralisées ont été étudiés. Etant donné le volume d'activité de production élevé (68000 préparations/an), le seuil

minimal de 250 à 520 préparations/an issu de la bibliographie n'était pas assez sélectif. Nous avons donc fixé à 1500 préparations/an, la quantité minimale de production globale annuelle nécessaire pour qu'un principe actif soit éligible à la standardisation. Seuls ceux avec les plus importants volumes de préparations étaient ainsi ciblés.

Le tableau VII reprend les données de production des principes actifs pour lesquels le nombre de préparations par an est supérieur à 500.

Tableau VII : Nombre de préparations annuelles (> 500) réalisées par principe actif (anticancéreux et anti-infectieux injectables) sur l'année 2015

anticancéreux	Nombre de doses préparées
azacitidine	1663
bendamustine	825
bévacizumab	1751
bortézomib	2042
carboplatine	1490
cétuximab	1189
cisplatine	1199
cyclophosphamide	1644
cytarabine	3179
doxorubicine	872
étoposide base	1260
5-Fu	6425
gemcitabine	2086
infliximab (Rémicade®)	3133
irinotécan	2111
nivolumab	607
oxaliplatine	2098
paclitaxel	1485
pemetrexed	533
rituximab	2632
vincristine	874

anti-infectieux	Nombre de doses préparées
aciclovir	6901
amphotéricine B	797
caspofungine	2112
ceftazidime	1320
daptomycine	1161
ganciclovir	621
linézolide	2378
micafungine	833
voriconazole	672

Ainsi 14 principes actifs sont éligibles à la standardisation sur ce critère (surlignés en bleu sur le tableau VII) : l'azacitidine, le bevacizumab, le bortezomib, le cyclophosphamide, la cytarabine, le 5-Fu, la gemcitabine, l'inflximab, l'irinotécan, l'oxaliplatine, le rituximab, l'aciclovir, la caspofungine, et le linezolide.

Le principe actif le plus préparé est l'aciclovir avec 6901 préparations sur l'année 2015.

II.1.2.2. Analyse des données de stabilité

- Démarche globale

Pour la plupart des médicaments, les laboratoires ne diffusent pas de données de stabilité supérieure à la stabilité microbiologique du produit. Ainsi la stabilité d'un médicament dans son contenant d'administration, renseignée dans les résumés des caractéristiques des produits, est minimale et ne dépasse généralement pas les 24 heures. Dans la mesure où les préparations sont réalisées sous isolateur, donc de façon aseptique, cette stabilité microbiologique peut être étendue. Pour la sélection des principes actifs éligibles à la standardisation, nous nous sommes seulement intéressés à la stabilité physico-chimique et le cas échéant, à la stabilité biologique. La stabilité physico-chimique est définie comme la conservation qualitative et quantitative du principe actif dans le temps. La stabilité biologique doit être étudiée pour les anticorps monoclonaux et plus précisément la stabilité conformationnelle de la protéine dans le temps et la formation d'éventuels agrégats doivent être analysées [65].

Les bases de données telles que le site Stabilis[®], ou encore les données du CNHIM fournissent des éléments d'orientation en faveur ou non d'une extension de stabilité. Cependant une analyse approfondie des études princeps ayant fourni ces résultats est indispensable.

La méthode employée dans l'étude princeps est étudiée et plus spécifiquement :

- les techniques analytiques séparatives utilisées pour évaluer la stabilité physico-chimique et le cas échéant, la stabilité biologique du principe actif (par exemple la chromatographie liquide haute performance, ou l'électrophorèse capillaire)

- l'analyse de la limpidité, la recherche des particules visibles et non visibles, l'analyse du pH, et la coloration d'une solution
- la recherche et analyse semi-quantitative des produits de dégradation, d'agrégats pour les anticorps monoclonaux
- la réalisation de dégradations forcées selon plusieurs conditions (oxydation, variation de température et de pH, réaction de photolyse)
- la méthodologie statistique employée
- la limite maximale de dégradation

Classiquement la limite maximale de dégradation est de 10%, mais elle doit être adaptée en fonction du principe actif étudié [66] [67]. Pour certains principes actifs une variation de 10% par rapport à la concentration initiale peut entraîner des conséquences cliniques pour le patient telles qu'une diminution de l'efficacité ou une toxicité. Pour les médicaments à marge thérapeutique étroite, la limite maximale de dégradation est généralement fixée à 5% [67].

La méthode doit être méthode indicatrice de stabilité (ou « stability-indicating ») c'est-à-dire qu'elle doit être assez sensible pour mettre en évidence des produits de dégradation en faible quantité mais également assez résolutive pour différencier les produits de structure proche [67].

Les résultats d'une étude de stabilité peuvent être extrapolés à une autre spécialité ou un générique si les facteurs suivant sont identiques :

- La composition en excipients. L'extrapolation des données d'un générique à un autre ne peut être réalisée que si la formulation est identique. La forme galénique peut également impacter la stabilité.
- La concentration finale : il faut être au plus proche de la concentration finale mentionnée dans les études.
- Le solvant de reconstitution/dilution doit être identique
- Les conditions environnementales de conservation (abris de la lumière, température) doivent être similaires

- Le matériau du contenant final doit également être identique entre les spécialités comparées:

Deux types de réactions contenants-contenu peuvent être observées. Une réaction du contenu vers le contenant lors de laquelle le principe actif se fixe sur le matériau (adsorption, perméation) diminuant la dose de principe actif (PA) administrée à l'homme.

La seconde réaction correspond au transfert contenant vers contenu lors duquel il y a un relargage, au contact du PA, d'un produit chimique toxique dans la préparation. Le polychlorure de vinyle (PVC) était généralement associé à un plastifiant, le DHEP qui au contact de certains PA se dissout dans la préparation. Le DHEP, de la famille des phtalates est toxique pour l'homme (hépatotoxicité, accumulation cardiaque, rénale et pulmonaire, reprotoxicité, effets carcinogènes et mutagènes) ; c'est pourquoi ce plastifiant a maintenant été remplacé par d'autres, non toxiques.

Cependant il reste un phénomène d'adsorption important avec le PVC, c'est pourquoi d'autres matériaux plus inertes lui sont préférés, tel que le polypropylène (PP), ou le polyéthylène (PE). Ces deux derniers présentent des avantages certains puisqu'ils possèdent une grande inertie chimique (adsorption, absorption très réduite), une faible perméabilité (anti-oxygènes qui retardent l'oxydation thermique) et ne relarguent pas de plastifiants [68].

Actuellement nous utilisons des poches Viaflo® de Baxter en polyoléfine. Ces poches sont composées de multicouches de polyoléfines co-extrudés : une couche extérieure en polypropylène formant une barrière à la vapeur d'eau, une couche intermédiaire en polyamide permettant une résistance mécanique et une barrière aux gaz, et enfin une couche intérieure en polyéthylène. Le PE réduit au minimum les interactions entre le plastique et la solution.

Les données de stabilité des principes actifs utilisés en onco-hématologie, ayant répondu au premier critère de sélection, n'ont pas été étudiées puisque la priorité a été donnée à la standardisation des principes actifs d'hépto-gastro-entérologie.

Les données extraites de Stabilis® et des dossiers du CNHIM ont, quant à elles, fourni les premiers éléments de réponse concernant la stabilité des autres principes actifs sélectionnés (annexe 2). Dans les conditions de dilution et de conservation utilisées en routine, et selon la composition en excipients, l'oxaliplatine serait stable 14 jours minimum, l'irinotécan, le 5-Fu en bolus, et la gemcitabine, 28 jours. L'analyse des études principes est cependant indispensable pour extrapoler ces données à notre utilisation en routine. Les données

disponibles dans la littérature ne permettent pas d'étendre la stabilité du bevacizumab, puisqu'aucune des études dont les conditions correspondent à notre utilisation, n'a évalué la stabilité conformationnelle de l'anticorps monoclonal. Ainsi, pour le moment, le bevacizumab n'est pas éligible à la standardisation.

Ce travail étant axé sur la standardisation des doses d'aciclovir et d'infliximab, une analyse de la littérature pour ces deux principes actifs a été réalisée selon la démarche décrite ci-dessus afin d'étendre ou non leur stabilité.

- Application à l'infliximab

La monographie du Remicade® indique que la stabilité physico-chimique est de 24 heures. Les données sont très peu nombreuses dans la littérature (tableau VIII).

Tableau VIII : Données de stabilité de l'infliximab (Remicade®).

Principe actif	Contenant	Concentrations	Diluant	Température (°C)	Abris de la lumière	Jours	Source
Remicade®	PVC	0,4 mg/ml	NaCl	4	NR	14	[69]
	PP	NR	NaCl	2-8	oui	1	données labo
	POF	NR	NaCl	2-8	oui	1	données labo
		0,7 et 1,6 mg/ml	NaCl	4 et 22	NR	30	[70]
	Verre	10 mg/ml	Formulation pour collyre	4 et -20	NR	45	[71]

PVC : polychlorure de vinyle ; PP : polypropylène ; POF : polyoléfine ; NaCl : chlorure de sodium ; NR : non renseigné

En pratique, une seule étude pourrait correspondre à notre activité selon les conditions de dilution et de conservation, celle réalisée par Guirao et son équipe [70]. Le dosage des protéines a été effectué à l'aide d'une méthode colorimétrique par spectrophotomètre et la détection d'une fragmentation ou la formation d'agrégats a été analysée par chromatographie en phase liquide à haute performance (CLHP) d'exclusion sur gel (ou d'exclusion stérique). L'agrégation a également été mesurée par turbidimétrie UV, et la méthode de diffusion dynamique de la lumière « *dynamic light scattering* » a été utilisée pour évaluer la taille des agrégats solubles. Au vu des différents résultats, les auteurs concluent que l'infliximab dilué

dans du NaCl 0,9% dans des poches en POF, aux concentrations 0,7 et 1,6 mg/ml, est stable au moins un mois à 4°C et à température ambiante.

Cette étude n'a pas été publiée dans une revue, et cette référence n'est tirée que d'une publication affichée lors d'un congrès en 2009. De plus, l'activité biologique de l'anticorps n'a pas été analysée.

La stabilité physique et biologique (test Elisa) ainsi que l'innocuité in vitro de la formulation pour collyre à 10 mg/ml ont été évaluées [71]. L'infliximab, qu'il soit conservé à -20°C ou à 4°C est stable pendant 45 jours.

La stabilité biologique de l'infliximab a été démontrée par un test Elisa, pendant 14 jours à 0,4 mg/ml dans des poches en PVC conservées à 4°C [69].

Une autre étude a été récemment publiée et concerne la stabilité du Remsima®, un biosimilaire du Remicade®.

Un biosimilaire est la copie d'un médicament de référence issue de la biotechnologie. Ainsi, comme les médicaments « biologiques » sont fabriqués à partir de cellules ou d'organismes vivants (ou dérivés de ceux-ci), le biosimilaire ne peut pas être strictement identique au médicament de référence. Le code de la santé publique définit le biosimilaire comme suit : « *Tout médicament biologique de même composition qualitative et quantitative en substance active et de même forme pharmaceutique qu'un médicament biologique de référence mais qui ne remplit pas les conditions prévues (...) pour être regardé comme une spécialité générique en raison de différences liées notamment à la variabilité de la matière première ou aux procédés de fabrication et nécessitant que soient produites des données précliniques et cliniques supplémentaires dans des conditions déterminées par voie réglementaire* » (article L5121-1-15).

Ainsi des études reprenant la qualité du biosimilaire (propriétés physico-chimiques et biologiques) ainsi que les données de sécurité et d'efficacité (pharmacodynamie, toxicologie, tolérance) doivent être mises en place pour que le biosimilaire puisse recevoir une autorisation de mise sur le marché [72].

L'étude de stabilité effectuée pour le Remsima®, a suivi les recommandations du *National Health Service* (NHS) définissant les critères nécessaires pour réaliser une étude de stabilité sur les thérapies ciblées. Ainsi cette étude peut être considérée comme robuste car outre le fait d'avoir analysé la stabilité physico-chimique, l'équipe de Young [73] a également étudié

l'évolution dans le temps de l'activité biologique du Remsima®. Les concentrations étudiées sont 0,60 mg/ml, 0,84 mg/ml et 1,88 mg/ml. Le Remsima® est dilué, de façon aseptique, dans des poches Freeflex® en POF de NaCl 0,9% et conservé entre 2 et 8°C. Les auteurs ont conclu que le Remsima® dilué dans son contenant d'administration pouvait être conservé 7 jours à 4°C. Sa stabilité physico-chimique ainsi que son intégrité conformationnelle sont préservées. Les auteurs indiquent que selon le résumé des caractéristiques du produit, la taille, la forme pharmaceutique, et la composition en excipients du Remsima® sont les mêmes que celles du Remicade®.

Selon le NHS, les données de stabilité ne peuvent pas être extrapolées entre un biosimilaire et son princeps [65]. Toutefois les données du Remsima® viennent conforter les résultats des études précédemment décrites de stabilité du Remicade®.

Toutes ces données convergent en faveur de la stabilité du Remicade®, que nous avons décidé d'étendre à 7 jours.

- Application à l'aciclovir

Le tableau IX reprend les données de stabilité de l'aciclovir.

Tableau IX : Données de stabilité de l'aciclovir.

Principe actif	Contenant	Laboratoire	Concentrations	Diluant	Température	Abris de		Références	
						la	Jours		
Aciclovir	PVC	Zovirax®	1,7,10 mg/ml	G5 ou NaCl	4°C	oui	35	[74]	
					23°C	oui	21		
					7				
	PP	Mapox®	5mg/ml	NaCl	5°C	oui	37	[75]	
					25°C	NR	37		
					2-8°C	NR	28		dossier
					25°C	NR	28		technique
									Freeflex®
POF	Zovirax® et Hospira	5mg/ml	NaCl	-20°C	Oui	90	[76]		
				2-8°C	NR	21			

PVC : polychlorure de vinyle ; PP : polypropylène ; POF : polyoléfine ; NaCl : chlorure de sodium 0,9% ; G5 : glucose 5% ; NR : non renseigné

L'étude de Dewulf et al [76] a démontré que seule la condition de conservation à 4°C sans congélation et uniquement pour le générique Hospira (5mg/ml) permet une stabilité de 21 jours (90% de la concentration initiale). Pour les autres conditions testées (congélation pendant 3 mois puis stockage à 4°C, ou stockage à 4°C pour le Zovirax® (5mg/ml) sans congélation) il reste moins de 90% de la concentration initiale après 15 jours de stockage.

Dans l'étude de Zhang et son équipe [74], la formation de cristaux est le critère limitant la stabilité dans le temps. En effet les concentrations testées, 1 mg/ml, 7 mg/ml et 10 mg/ml ne diminuent pas lorsqu'elles sont conservées à 4°C (G5% ou NaCl) pendant 35 jours (>90% de la concentration initiale). Par contre, seule la concentration à 1 mg/ml, quelles que soient les conditions de conservation (4°C ou température ambiante, G5% ou NaCl) n'entraîne pas de précipités. La formation de cristaux est observable pour les deux autres concentrations, à plus ou moins long terme en fonction des conditions de stockage. L'aciclovir, aux concentrations les plus élevées, précipiterait à plus long terme lorsqu'il est dilué dans du G5% et conservé à température ambiante (cristaux observables après 28 jours).

Enfin la dernière étude, de Das Gupta montre que le froid entraîne la formation de cristaux mais que les solutions à 5 mg/ml peuvent être conservés 37 jours sans perte d'aciclovir à température ambiante [75].

Les données de stabilité décrites ci-dessus sont discordantes sur les conditions de conservations optimales pour ne pas observer de précipités et pour conserver la stabilité chimique au-delà de 14 jours.

Le dossier technique Freeflex® de Fresenius mentionne une stabilité étendue à 28 jours lorsque les poches d'aciclovir à 5mg/ml sont conservées à température ambiante ou à +4°C (annexe 3). L'excipient utilisé dans l'étude est identique à celui contenu dans la spécialité Zovirax® (hydroxyde de sodium). Cette donnée de stabilité pourrait donc être appliquée à nos solutions d'aciclovir préparées à la même concentration puisque les poches Freeflex® sont en polyoléfine.

Toutefois, une étude de stabilité de l'aciclovir a été mise en place afin de déterminer les conditions optimales de conservation et la durée maximale de stabilité. Les résultats de cette étude ne sont pas présentés ici car elle est toujours en cours de réalisation.

II.1.3. Conclusion

Ainsi sur les 14 principes actifs dont la production excédait 1500 préparations pour l'année 2015, 6 premiers PA ont été sélectionnés. Afin de répondre à notre premier objectif de couvrir l'augmentation d'activité pour l'HGE, la standardisation des principes actifs de gastro-entérologie est privilégiée. L'aciclovir, par la quantité conséquente de préparations réalisées par an est cependant un principe actif de choix pour la standardisation.

Les principes actifs sélectionnés sont donc :

- Le 5-Fu
- L'oxaliplatine
- L'irinotécan
- La gemcitabine
- L'infliximab (Rémicade®)
- L'aciclovir

L'étape suivante est la détermination des doses standards par l'analyse des prescriptions.

II.2. Sélection des doses standardisées

Un groupe pluridisciplinaire composé de médecins et de pharmaciens a été constitué afin de déterminer les principes actifs prioritaires pour la standardisation et les doses standards les plus pertinentes. Dans un premier temps, les méthodologies de détermination des doses standardisées retrouvées dans la littérature ont été analysées.

II.2.1. Méthodologie

La méthode de sélection de doses standards a été élaborée à partir de celle des équipes de l'Institut Curie et de l'hôpital Saint-Louis [38]. Les critères de sélection des doses à standardiser sont les suivants :

- Afin que la production en lots soit rentable, 5 doses standardisées maximum peuvent être déterminées par principe actif.

- La variation maximale entre une dose standard et la dose théorique calculée selon la SC doit être de 10%.
- Le profil des doses prescrites sur une année doit être homogène de façon à ce qu'il n'y ait pas d'écart trop important entre les doses extrêmes. L'objectif est que 80% minimum de la production annuelle soit couverte avec 5 doses standards maximum.
- Les volumes de prélèvement de la dose standard doivent être précis et correspondre, si possible, au volume total du flaconnage commercial.

La production annuelle des doses de chaque principe actif sélectionné a été analysée dans le but d'évaluer s'il répondait aux critères définis ci-dessus.

Seules les posologies les plus fréquemment utilisées en routine ont été retenues dans l'analyse des doses. Ont été exclues de l'étude les doses correspondantes aux essais cliniques ainsi que les préparations effectuées dans le cadre d'une sous-traitance.

Dès qu'une fréquence de prescription plus élevée pour une dose donnée était observée, un intervalle de doses était calculé autour d'elle, de façon à ce que les bornes ne s'écartent pas de plus de 10% de cette dose qui devenait alors la dose standard. Il en était de même pour toutes les doses correspondant à des pics de production. La détermination des doses standardisées était ensuite modulée pour que les intervalles ne se chevauchent pas, et de façon à ce que les volumes à prélever dans les flacons commerciaux soient simples s'ils sont prélevés manuellement afin d'obtenir un maximum de précision mais également pour générer moins de reliquats.

II.2.2. Résultats

Les données de prescriptions ont été présentées en réunions multidisciplinaires. La répartition des doses pour chaque principe actif montre que la dose la plus prescrite est celle correspondant à la posologie maximale plafonnée à 2 m². Le deuxième pic de production observable pour chaque principe actif correspondrait à une réduction de 20% de cette dose maximale plafonnée. L'analyse de la répartition des surfaces corporelles correspondantes aux doses prescrites a confirmé cette hypothèse (figure 9). En effet, la seconde dose la plus préparée après la dose à 2 m² n'est pas due à une fréquence plus élevée de la surface corporelle correspondante dans la population, mais à la réduction de dose de 20%.

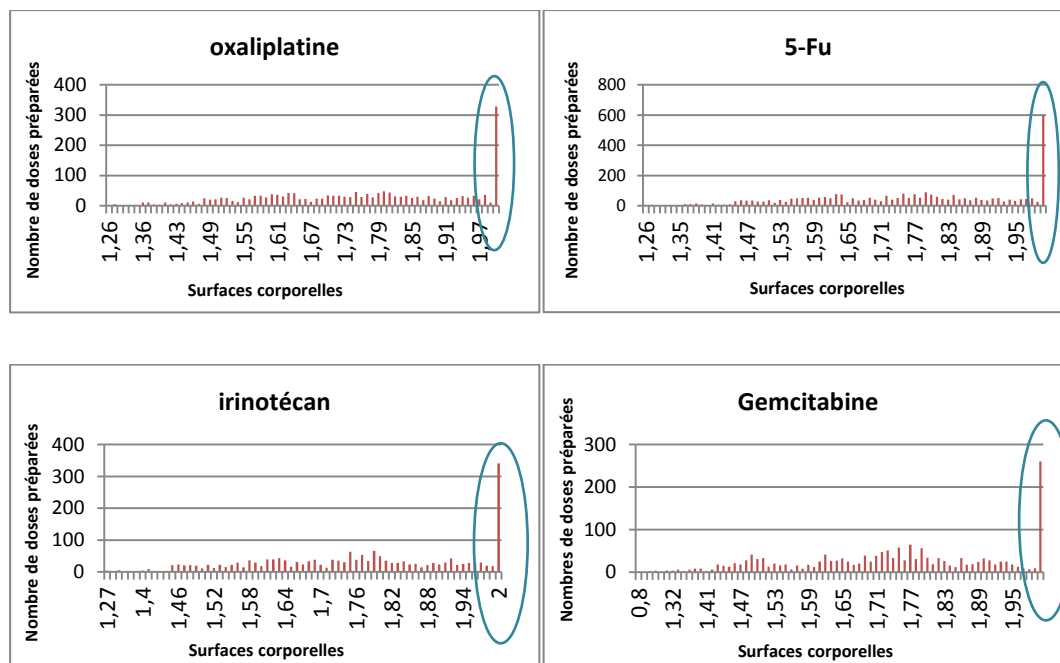


Figure 9 : Répartition des surfaces corporelles correspondantes aux doses préparées pour chaque principe actif d'HGE sur l'année 2015.

La variation maximale de 10% n'a pas été approuvée par tous les prescripteurs. Ainsi la variation maximale pour les principes actifs dédiés à l'oncologie digestive a été établie à 5%.

Les données de prescriptions ayant servi de support pour la discussion entre médecins et pharmaciens afin de déterminer les doses standards, sont présentées ici.

- Oxaliplatine

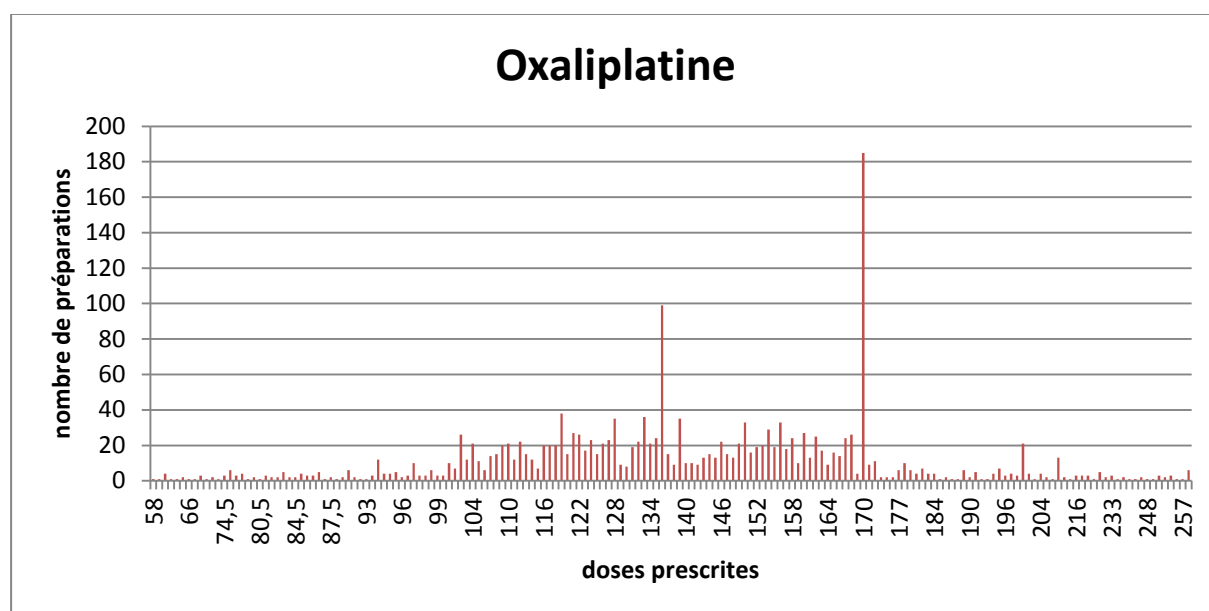


Figure 10 : Répartition des doses d'oxaliplatine préparées en 2015 (Saint-André et Haut-lévèque)

Avec 1899 préparations pour l'HGE en 2015, l'oxaliplatine est un principe actif de choix pour la standardisation.

La répartition des prescriptions est homogène puisqu'elles sont concentrées entre 100 et 170 mg. On retrouve sur la figure 10, deux doses dont le nombre de préparations est bien supérieur aux autres doses. La première correspond à la surface corporelle plafonnée à 2m^2 pour la posologie usuelle de l'oxaliplatine, 85 mg/m^2 . La seconde dose la plus préparée, 136 mg, correspond en réalité à la réduction de 20% de la dose maximale.

Les tableaux X et XI indiquent les doses standards validées, les écarts maximaux retrouvés ainsi que les volumes de prélèvement dans les flacons.

Tableau X : Les doses standards de l'oxaliplatine en fonction des intervalles de surfaces corporelles couverts pour la posologie 85 mg/m^2

surface corporelle	Intervalle de doses couvertes (mg)	dose standard (mg)	écart maximum borne inférieure	écart maximum borne supérieure	Volumes de prélèvement dans flacons (ml)
1,5-1,68	127-143	135	5,9%	5,5%	27
1,69-1,87	144-159	150	4,2%	5,7%	30
1,88-2	160-170	170	6%	0%	34

La posologie inférieure à 85 mg/m² utilisée en pratique clinique est 75 mg/m². Les trois doses standards retrouvées pour cette posologie réduite sont : 115, 135 et 150 mg.

Tableau XI : Les doses arrondies de l'oxaliplatine à la posologie de 75 mg/m² et les intervalles de surfaces corporelles couverts.

surface corporelle	Intervalle de doses couvertes (mg)	dose standard (mg)	écart maximum borne inférieure	écart maximum borne supérieure	Volumes de prélèvement dans flacons (ml)
1,5-1,67	112-125	115	2%	8%	23
1,68-1,9	126-143	135	7%	5,5%	27
1,91-2	144-159	150	4,2%	5,7%	30

Les doses 135 mg et 150 mg étant retrouvées dans les deux paliers de posologies, seulement 4 doses standardisées sont nécessaires pour couvrir un maximum de prescriptions (environ 80% de la production) : 115 mg, 135 mg, 150 mg, 165 mg.

- Irinotécan

L'irinotécan pour l'ensemble du CHU représentait 1943 prescriptions pour les indications d'HGE. La figure 11 montre la répartition des doses préparées en 2015.

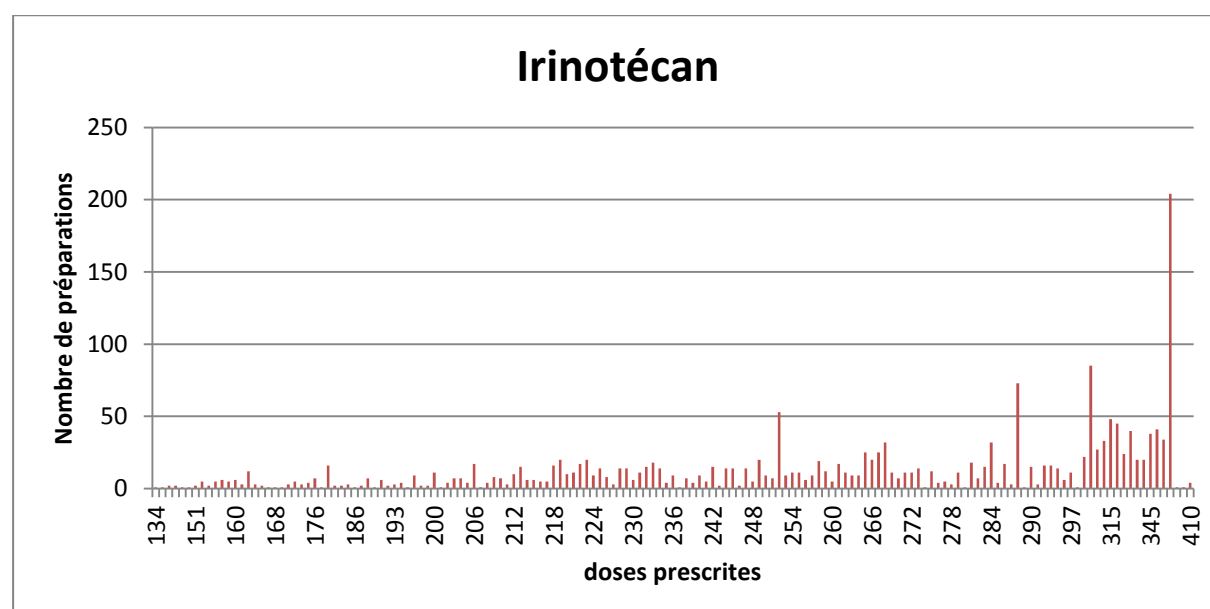


Figure 11 : Répartition des doses d'irinotécan préparées en 2015 (Saint-André et Haut-lévêque)

La posologie la plus utilisée pour l'irinotécan en HGE est 180 mg/m^2 . Le principal pic de production correspond à la dose de 360 mg. A partir de cette observation plusieurs doses standards ont été établies : 280, 320 et 360 mg (tableau XII).

Tableau XII : Doses standards d'irinotécan à la posologie de 180 mg/m^2 .

surface corporelle	Intervalle de doses couvertes (mg)	dose standard (mg)	écart maximum borne inférieure	écart maximum borne supérieure	Volumes de prélèvement dans flacons (ml)
1,5-1,66	270-299	280	4%	6,4%	14
1,67-1,88	300-340	320	6,6%	5,8%	16
1,89-2	341-360	360	5,6%	0%	18

De même, le palier inférieur à 180 mg/m^2 , soit 150 mg/m^2 , correspond à deux doses standards 240 et 280 mg/m^2 (tableau XIII).

Tableau XIII : doses standards de l'irinotécan correspondant à la posologie de 150 mg/m^2 .

surface corporelle	Intervalle de doses couvertes (mg)	dose standard (mg)	écart maximum borne inférieure	écart maximum borne supérieure	Volumes de prélèvement dans flacons (ml)
1,5-1,73	225-260	240	7%	7,6%	12
1,74-2	261-299	280	7,6%	6,7%	14

Quatre doses ont donc été choisies : 240 mg, 280 mg, 320 mg, 360 mg. Elles permettent de couvrir 80,5% des doses préparées en 2015.

- 5-fluorouracile

Pour le 5-fluorouracile (5-Fu) utilisé en HGE, il convient de distinguer l'administration en bolus à la dose de 400 mg/m^2 , de l'administration en continu sur 48 heures, à l'aide d'une pompe Rythmic®, à la posologie de 2400 mg/m^2 . Il existe d'autres posologies, notamment pour des administrations en continu sur 4 ou 5 jours, qui ne seront pas traitées car les volumes de production sont trop faibles.

✓ 400 mg/m²:

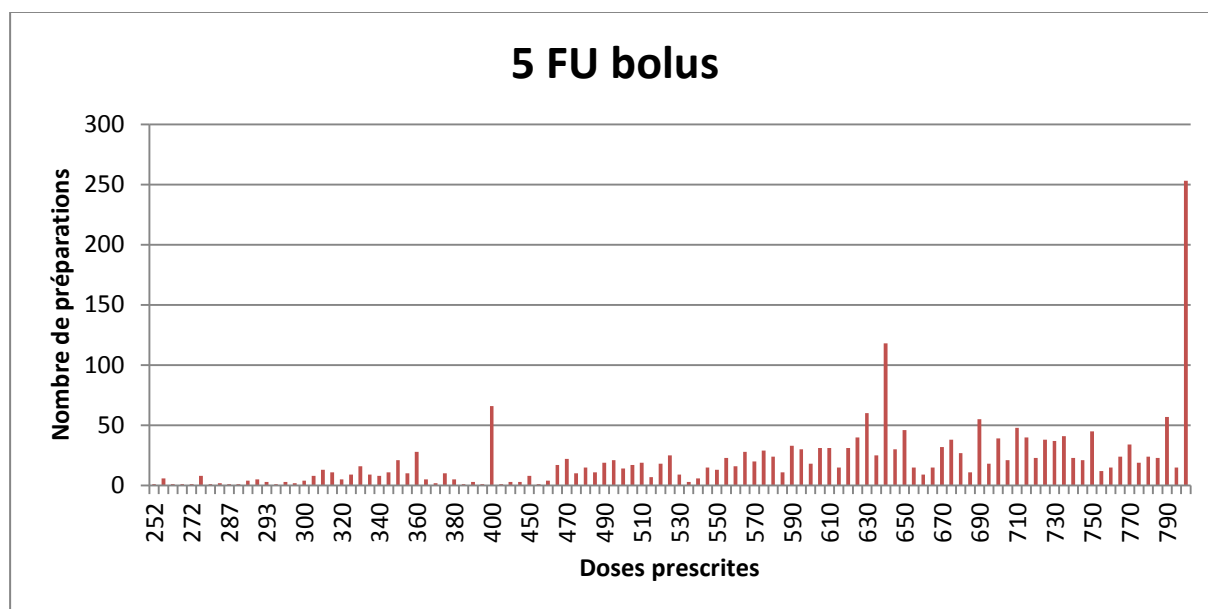


Figure 12 : Répartition des doses de 5-Fu en bolus préparées en 2015 (Saint-André et Haut-lévèque)

En 2015, 2299 préparations de bolus de 5-Fu à la posologie de 400 mg/m² ont été réalisées. La population est homogène et 3 pics sont visibles sur le graphique ci-dessus (figure 12). Un à 400 mg (66 prescriptions), un à 640 mg (118 prescriptions) et un à 800 mg (253 prescriptions). Il existe des doses inférieures à 400 mg, donc à moins d'1 m² de surface corporelle correspondant probablement à des réductions de doses, fréquentes avec le 5-Fu, pouvant aller jusqu'à 50%. Le taux de préparation important de la dose 640 mg correspond à la réduction de 20% effectuée sur la dose plafonnée à 2 m².

La variation maximale d'environ 5% entraîne un nombre de doses standards supérieur à 5 pour le bolus de 5-Fu. Il a donc été convenu, afin de se rapprocher au plus près de la dose théorique, de ne fabriquer que trois doses permettant de couvrir, par l'administration possible de deux poches, la majeure partie des doses prescrites (tableau XIV). Ces trois doses sont : 100 mg, 300 mg, 500 mg.

Tableau XIV : Doses standards du 5-Fu bolus et doses couvertes par l'adjonction possible de plusieurs poches.

Doses couvertes \ Doses standards	Doses standards			Nombre total de poches à administrer
	100 mg	300 mg	500 mg	
800 mg		X	X	2
700 mg	XX		X	3
600 mg	X		X	2
500 mg			X	1
400 mg	X	X		2
300 mg		X		1
200 mg	XX			2

L'administration en Y de deux poches simultanément n'entraîne pas de manipulations supplémentaires par rapport à la perfusion d'une seule poche.

La dose de 700 mg ne peut être administrée qu'à l'aide de trois doses standards (tableau XIV). Cette situation est plus à risque d'entraîner des erreurs d'administration.

✓ 2400 mg/m²

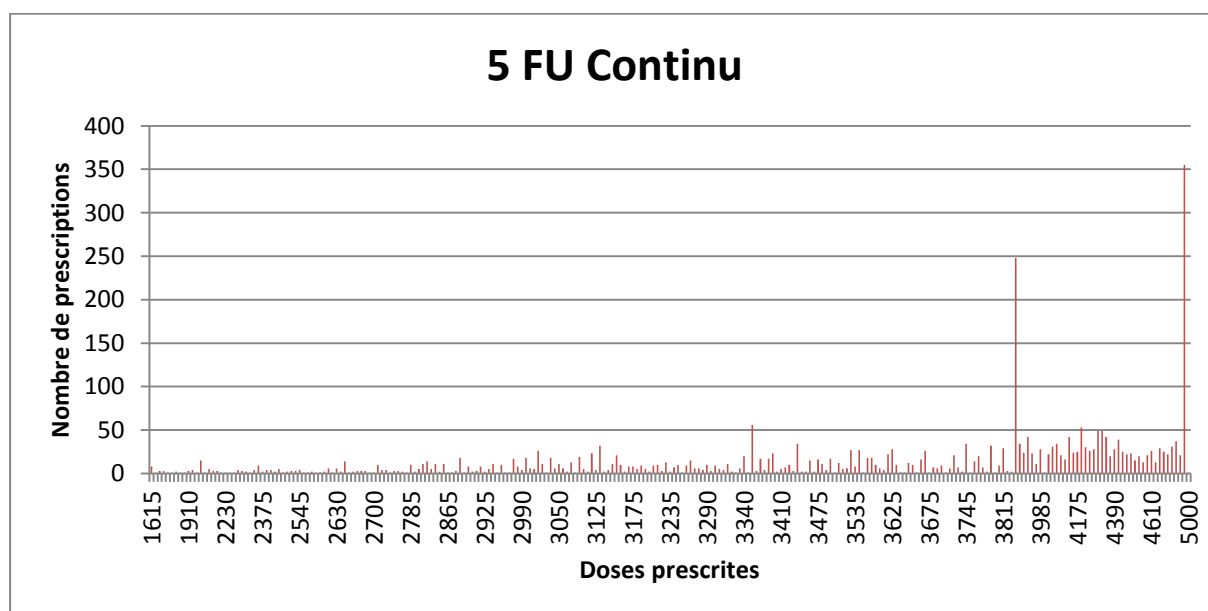


Figure 13 : Répartition des doses de 5-Fu continu préparées en 2015 (Saint-André et Haut-lévêque)

Le 5-Fu en continu sur 48 heures représente 3254 prescriptions sur l'année 2015. La plupart des doses sont regroupées entre 3800 et 4800 mg (figure 13).

De même que sur les précédents graphiques, un second pic est observable à 3840 mg et correspond à la réduction de 20% de la dose totale.

Quatre doses arrondies pour le 5-Fu continu sur 48 heures (2400 mg/m^2) couvrent les surfaces corporelles allant de 1,5 à 2 m^2 (tableau XV). Ce sont les doses 3800, 4300 et 4800 mg.

Tableau XV : Doses standards du 5-Fu continu correspondant à la posologie de 2400 mg/m^2 .

surface corporelle	Intervalle de doses couvertes (mg)	dose standard (mg)	écart maximum borne inférieure	écart maximum borne supérieure	Volumes de prélèvement dans flacons (ml)
1,5-1,66	3600-4000	3800	6%	5%	76
1,67-1,89	4001-4560	4300	7%	5,7%	86
1,9-2	4561-4800	4800	5%	0%	96

Une dose supplémentaire de 3200 mg [4% ; 7,2%] a été choisie également afin de couvrir les réductions de doses de 20% [3072 mg ; 3450 mg]. Ces 4 doses couvrent 85% de la production annuelle.

Toutes les doses proposées pour le 5-Fu, correspondent à un volume arrondi de prélèvement dans le flacon de spécialité.

- Gemcitabine

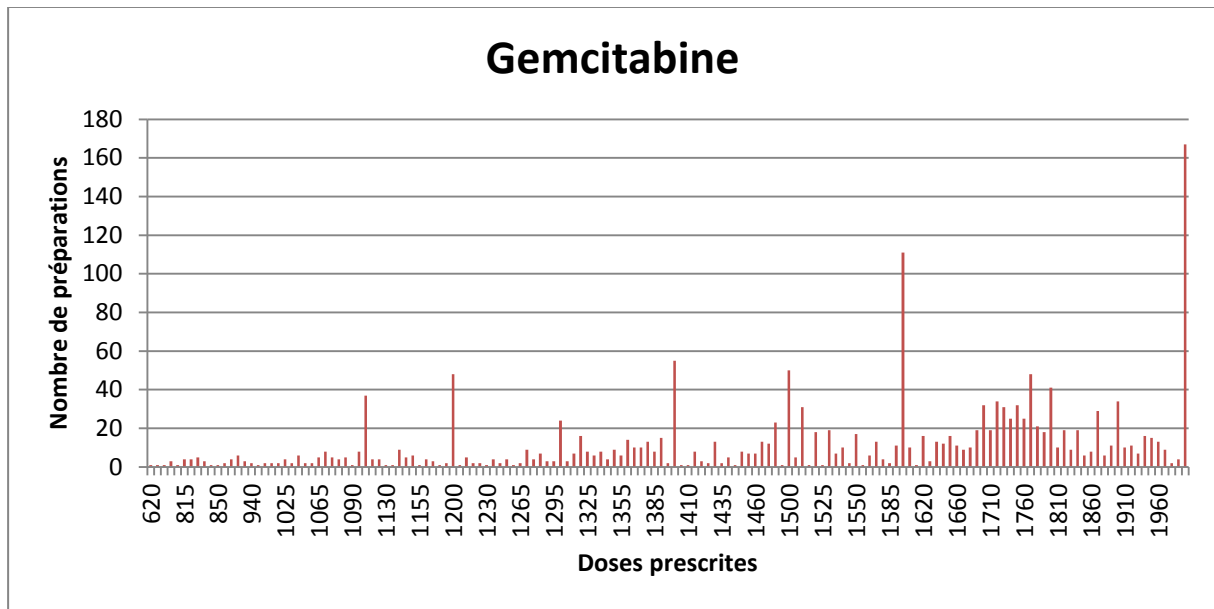


Figure 14 : Répartition des doses de gemcitabine préparées en 2015 (Saint-André et Haut-lévêque)

Avec 1762 préparations réalisées en 2015, la gemcitabine constitue un principe actif de choix pour la standardisation. L'extraction de données présentée sur la figure 14 ne tient pas compte des doses préparées pour la pneumologie, bien que la majorité des prescriptions soit faite à une posologie identique de celle de l'HGE. Le taux le plus important de préparations réalisées correspond à la dose maximale plafonnée à 2 m². Le second pic représente la réduction de 20% de cette dose plafonnée. La plupart des doses prescrites se situent entre 1500 et 2000 mg. Bien que certaines doses inférieures à 1500 mg présentent une fréquence de prescription plus importante que les autres (3 pics visibles), cette dernière ne dépasse pas 60 prescriptions/an. Compte tenu de ce faible taux de prescription, la standardisation de ces doses n'est pas une priorité.

Quatre doses de gemcitabine sont nécessaires pour couvrir plus de 80% des prescriptions (tableau XVI).

Tableau XVI : Doses standards de la gemcitabine correspondant à la posologie de 1000 mg/m².

surface corporelle	Intervalle de doses couvertes (mg)	dose standard (mg)	écart maximum borne inférieure	écart maximum borne supérieure	Volumes de prélèvement dans flacons (ml)
1,5-1,69	1500-1699	1600	7%	5,8%	42,1
1,7-1,89	1700-1899	1800	6%	5,2%	47,4
1,9-2	1900-2000	2000	5%	0%	52,6

Une dose supplémentaire de 1400 mg [9% ; 6,7%] a été choisie afin de couvrir les possibles réductions de doses entre 1280 et 1500 mg. Nous couvrons ainsi 85% des prescriptions.

- Infliximab (Remicade®)

Le Remicade® compte parmi les principes actifs dont les volumes de prescriptions sont les plus importants avec 3155 préparations en 2015. Ces données ne tiennent pas compte du biosimilaire (Inflectra®) référencé à la fin de l'année 2015, et dont les volumes de prescriptions sont très minoritaires à l'heure actuelle. Ce dernier est réservé aux patients naifs d'infliximab.

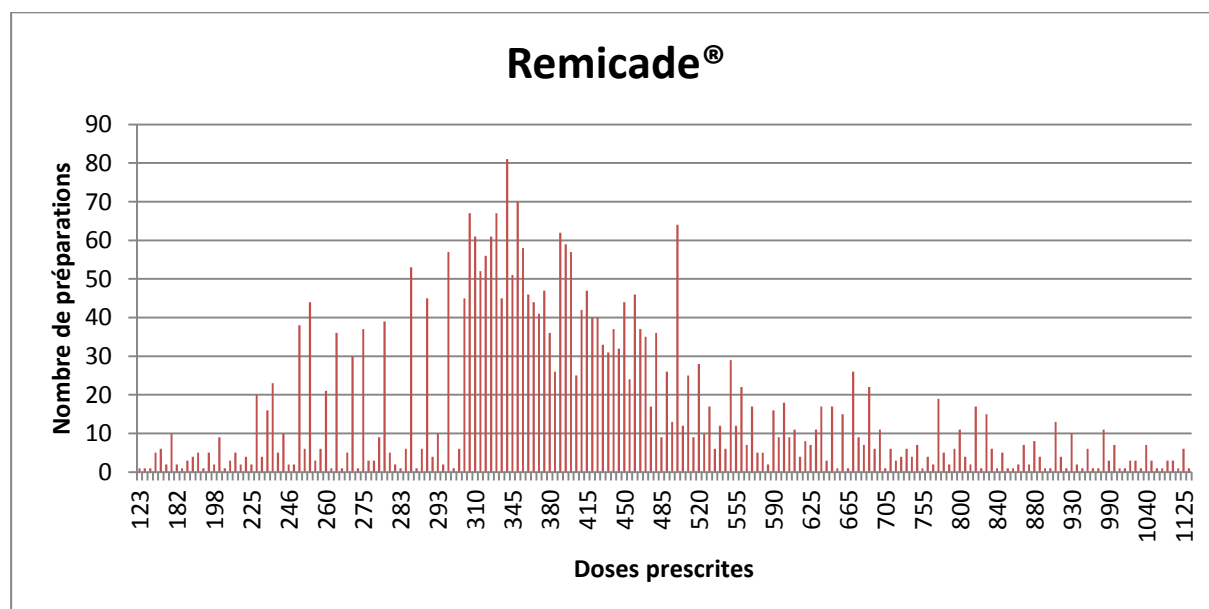


Figure 15 : Répartition des doses d'infliximab (Remicade®) préparées en 2015 (Saint-André et Haut-lévêque)

La répartition est homogène, la majorité des prescriptions se situent entre 250 et 550 mg (figure 15).

Collégalement, 5 doses s'écartant au maximum de 10% des doses situées aux bornes des intervalles, ont été retenues :

- 250 mg [227 ; 274]
- 300 mg [275 ; 324]
- 350 mg [325 ; 374]
- 400 mg [375 ; 450] arrondi à 11,1%
- 500 mg [451 ; 555] arrondi à 10,8%

Ces 5 doses couvrent 80,5% des doses prescrites.

▪ Aciclovir

En onco-hématologie, l'aciclovir est utilisé en curatif mais aussi en préventif chez des patients séropositifs pour le virus herpès simplex, ou le virus varicelle zona. Différentes posologies peuvent être utilisées : 5, 10, ou 15 mg/kg. Ce qui explique la répartition hétérogène des doses, allant de 300 mg à 1000 mg (figure 16). Seul l'hôpital Haut-Lévêque centralise la préparation de l'aciclovir (pour les services d'onco-hématologie) au niveau de l'URC.

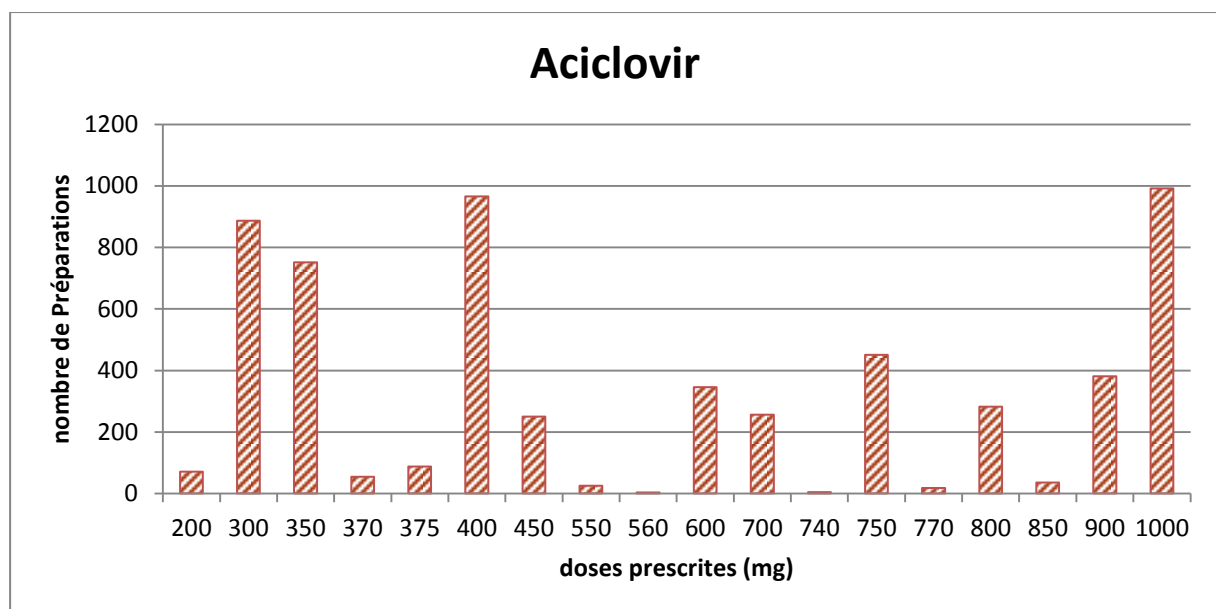


Figure 16 : Répartition des doses d'aciclovir préparées en 2015 (Haut-lévêque)

Une variation de 10% maximum entraîne plus de 5 doses standards pour couvrir plus de 80% de la production (figure 16). Ainsi, puisqu'il n'existe pas de résistance connue à l'aciclovir, et que ce médicament à une marge thérapeutique large, le groupe de réflexion a statué sur une variation de 15% maximum par rapport à la dose théorique.

Cinq doses ont donc été établies :

- 300 mg [261 ; 352]
- 400 mg [348 ; 470]
- 600 mg [522 ; 705]
- 800 mg [696 ; 941]
- 1000 mg [870 ; 1176]

Les doses de 250 et 500 mg, correspondant au flaconnage commercial ne sont pas préparées par la pharmacie. C'est pour cela qu'elles n'apparaissent pas sur le graphique 16. Les intervalles se chevauchent afin de laisser le choix au prescripteur de la dose arrondie qu'il veut attribuer. Ces 5 doses permettent de couvrir la totalité des prescriptions.

II.2.3. Conclusion

Un tel projet nécessite une collaboration étroite entre l'équipe médicale et l'équipe pharmaceutique. C'est pourquoi la création de groupes de travail fait partie intégrante de l'instauration du concept de « Dose-Banding ».

Etant donné le nombre important de préparations réalisées chaque année sur le centre hospitalier de Bordeaux, et son augmentation constante, l'instauration du « Dose-Banding » s'est révélé être une solution indispensable pour l'amélioration des circuits de préparation. La constitution d'un stock de doses standardisées favorise la rapidité de mise à disposition des préparations dans les services de soins, et notamment les HDJ. Le temps d'attente des patients s'en trouve grandement diminué et l'organisation de la rotation des lits des HDJ est optimisée [26] [27] [33] [35] [38] [58].

La fabrication des doses de préparations injectables stériles de façon individualisée, c'est-à-dire au milligramme près, ne permet pas de créer de stock. En effet, les différents graphiques présentés ci-dessus montrent que les doses individualisées constituent un large panel. De plus, ces doses individuelles ne peuvent pas être réattribuées. La préparation de moins de 5 doses standards par principe actif est l'atout majeur du « Dose-Banding » pour la constitution de stocks.

Le choix des doses standards a été guidé par la fixation de l'écart maximal autorisé entre la dose standardisée et la dose théorique calculée selon la surface corporelle. La variation maximale exposée dans le concept original du « Dose-Banding » et utilisée par beaucoup d'équipes, est de 5% [27] [33] [35] [40] [48] [52-54] [57]. Ce pourcentage de variation correspond en statistiques, à l'écart non significatif entre deux valeurs. De plus, les doses de chimiothérapies per os sont calculées avec cette même variation [33] [35].

Un écart de 10% permet cependant de fabriquer moins de doses arrondies pour couvrir tout de même plus de 80% de la cohorte de patients traités. Dans la littérature, plusieurs équipes ont déjà appliqué cet écart et notamment aux anticorps monoclonaux [42] [47]. Les équipes de l'Institut Curie et de l'hôpital Saint-Louis acceptaient un écart maximal de 10% lorsque plus de 5 doses standards étaient nécessaires. Les doses théoriques de docétaxel, de rituximab et de vinorelbine étaient arrondies à 10% maximum de façon à correspondre à l'une des 3 ou 4 doses standards déterminées [38]. Une dose standard d'oxaliplatine (85 mg/m^2) de 150 mg appliquée à une bande de surfaces corporelles allant de 1,77 à 1,94 m^2 correspondant donc à une variation de 9%, a été expérimentée par une équipe australienne [56].

Le groupe pluridisciplinaire a fixé à 5% la variation maximale de la standardisation des cytotoxiques. Leur marge thérapeutique étant étroite, l'écart de 5% est plus acceptable cliniquement. Des études analysant l'impact clinique (efficacité et toxicité) d'une dose standard comparée à une dose théorique calculée selon la surface corporelle sont nécessaires afin de faire évoluer le concept.

L'équipe de Chatelut [25] a réalisé une étude pharmacocinétique afin d'évaluer si l'utilisation de doses standardisées entraînait ou non plus de variabilités interindividuelles que les doses calculées selon la surface corporelle. Pour cela, 6 anticancéreux ont été analysés : le cisplatine, le docétaxel, la doxorubicine, l'irinotécan, le paclitaxel et le topotécan chez 1012 adultes traités. Les doses standards ont été déterminées selon 3 valeurs de surface corporelle,

1,55, 1,80 et 2,05 m² retrouvées dans l'étude de Pouliquen [38]. Les écarts maximums entre les doses théoriques et les doses standardisées pouvaient aller de -14% à 22%. Le paramètre pharmacocinétique étudié était l'aire sous la courbe (AUC) représentant l'exposition plasmatique au médicament. Les AUC correspondant à chaque « type » de doses (standardisées, ou calculées selon la surface corporelle) ont été calculées grâce aux valeurs individuelles de clairance des médicaments et comparées aux AUC cibles de chacun des principes actifs. L'AUC cible de chaque cytotoxique a été calculé par le rapport de la posologie en mg/m² correspondant au protocole standard le plus utilisé, et sur la valeur moyenne de la clairance du médicament (L.h-1.m-2) chez les individus de l'étude traités.

Les résultats montrent que la variabilité interindividuelle pharmacocinétique est similaire que la dose soit calculée selon la surface corporelle ou selon la méthode du « Dose-Banding » pour tous les cytotoxiques. Les auteurs émettent cependant des réserves pour l'utilisation en « Dose-Banding » de l'irinotécan, du 5-Fu, et du carboplatine. Il existe une variabilité interindividuelle importante quelle que soit la méthode de détermination de doses utilisées, pour l'irinotécan. Le 5-Fu présente une cinétique non linéaire due à la saturation de son métabolisme hépatique par saturation de l'enzyme dihydropyrimidine déshydrogénase. Une modification de dose même minime peut alors induire de grandes variations d'AUC. La dose de carboplatine étant calculée selon le débit de filtration glomérulaire, le « Dose-Banding » devrait être basé sur des « bandes » de clairance rénale plutôt que sur la surface corporelle [25].

Les doses standards définies lors des réunions pluridisciplinaires sont amenées à évoluer selon la pratique clinique. Les prescriptions de doses standards seront évaluées avec quelques mois de recul, afin de distinguer les doses les plus préparées qui mériteraient donc d'être stockées.

Lorsque les principes actifs possèdent une marge thérapeutique large, il peut être judicieux d'appliquer un arrondi de dose supérieur à 5%. Les intérêts sont multiples : la réduction importante des coûts induits par la perte des préparations d'anticorps monoclonaux non administrées [47], la fabrication de maximum trois doses standards, la diminution du risque d'erreur de dispensation. Deux principes actifs, l'infliximab (Remicade®) et l'aciclovir, pour lesquels un écart respectif de 10 et 15% a été déterminé, sont les principes actifs pilotes de l'instauration des doses standardisées au CHU de Bordeaux.

III. MISE EN ŒUVRE DU CONCEPT : APPLICATION A L'ACICLOVIR ET A L'INFLIXIMAB

III.1. Introduction

Deux types de préparation de doses standards ont été mis en place. Le premier concerne les principes actifs peu onéreux tels que l'aciclovir. La préparation à l'avance, non nominative, est réalisée **en lots** de doses standards, et est destinée à être stockée. Puis dans un second temps elle est attribuée à un patient lorsqu'une prescription est réalisée. La préparation s'apparente donc à une préparation hospitalière.

Le second type de préparation concerne les principes actifs onéreux et/ou ceux pour lesquels une fabrication en lots n'est pas possible du fait d'une stabilité courte. Préparer en lots des principes actifs onéreux engendre un risque, non négligeable financièrement, de surestimer les quantités à fabriquer en avance et donc de jeter ces préparations si elles ne sont pas administrées avant la date limite de conservation qui reste courte. Ainsi la fabrication des doses arrondies de principes actifs onéreux est dite « **en série** ». Elle consiste à préparer les doses arrondies, les unes à la suite des autres, en avance, sur des plages horaires où le flux d'activité est moindre. La préparation reste une préparation magistrale anticipée de dose standardisée.

L'aciclovir et le Remicade® appartiennent respectivement à l'un des deux modes de fabrication de doses standards décrits ci-dessus. C'est pourquoi ces deux principes actifs ont été retenus comme principes actifs pilotes de la mise en place du « Dose-Banding » au CHU de Bordeaux.

III.2. Standardisation des doses d'infliximab (Remicade®)

III.2.1. Etapes préliminaires

III.2.1.1. Evaluation de la répartition du poids des patients traités

En se basant sur l'hypothèse que les 5 doses standards retenues (250, 300, 350, 400 et 500 mg) couvrent la plupart des patients traités par Remicade® à la posologie de 5 mg/kg, les prescripteurs ont proposé d'ajouter deux doses et donc deux poches pour couvrir la posologie de 10 mg/kg. Pour cela une analyse de la répartition des poids des patients traités a été réalisée afin de s'assurer que les 5 doses standards, si elles sont additionnées entre elles, permettraient de couvrir les patients traités à la posologie de 10 mg/kg (figure 17, tableau XVII).

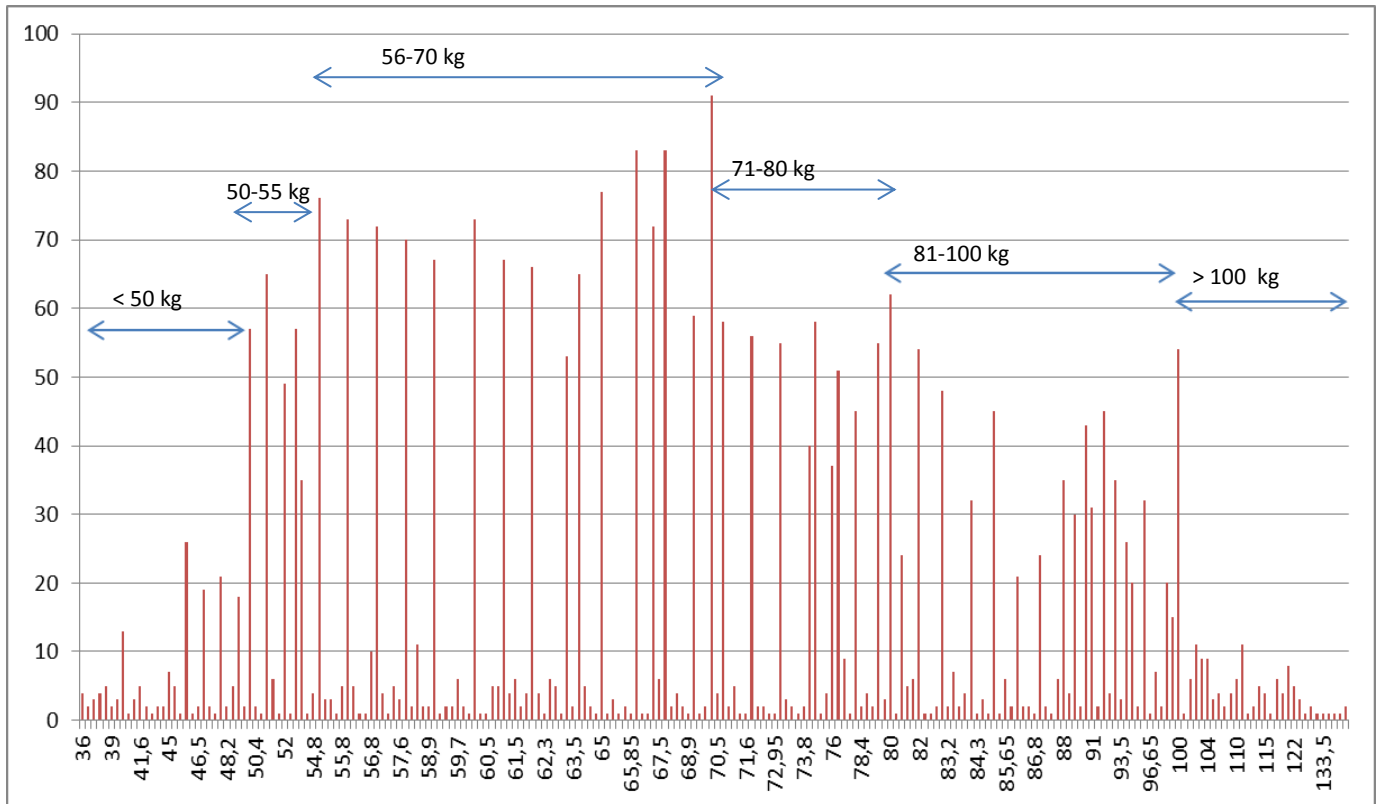


Figure 17 : Répartition des poids correspondant aux doses prescrites d'infliximab (Remicade®) en 2015

Tableau XVII : Répartition des doses par tranches de poids en 2015

Tranches de poids	< 50	50-55	56-70	71-80	81-100	>100
Nombre de doses préparées (n=3151)	164	355	1227	570	720	115

La figure 17 et le tableau XVII montrent que 96,4% des doses prescrites correspondaient en 2015 à des poids inférieurs à 100 kg. Pour le protocole 5 mg/kg, la dose standard maximale proposée correspond à 100 kg. Ainsi l'utilisation de ces doses standardisées est bien représentative de la population.

L'administration de deux poches de Remicade® afin d'atteindre les doses plus élevées correspondant au protocole 10 mg/kg permettrait effectivement de couvrir les prescriptions de tous les patients tout en ne fabriquant que cinq doses arrondies.

Cependant, une difficulté informatique se pose : le logiciel informatique CHIMIO™ ne permet pas d'attribuer deux préparations pour couvrir une dose à un même patient. Une demande d'évolution a été déposée auprès de l'éditeur Computer Engineering. Cette demande souligne que le logiciel devra également gérer l'attribution du bon nombre d'unités communes de dispensation (UCD) au séjour du patient.

En effet, le Remicade® étant un principe actif onéreux, la pharmacie doit justifier les dépenses induites par la fabrication de poches de Remicade® tous les mois auprès de l'agence régionale de santé (ARS) par la transmission du FICHCOMP (fichier comportant les informations d'activité relatives aux spécialités pharmaceutiques onéreuses).

Chaque spécialité possède un code UCD et le FICHCOMP relie le nombre d'UCD administré au séjour de chaque patient. L'ARS rembourse les hôpitaux sur les informations transmises par le FICHCOMP.

A l'heure actuelle nous n'avons pas trouvé de solution dégradée sur le logiciel pour attribuer au patient deux préparations pour une dose, et comptabiliser correctement le nombre d'UCD utilisées.

III.2.1.2. Procédé de fabrication

La détermination des doses standards n'est que la première étape vers une réorganisation complète du circuit de prescription, de fabrication et de dispensation. Dans le but d'accélérer la mise à disposition dans les services, un nouveau mode de préparation a été mis en place : la préparation anticipée en série.

L'objectif de ce mode de préparation est de rassembler la fabrication de toutes les doses, sur une plage horaire définie. Il est nécessaire d'avoir des prescriptions anticipées afin de savoir

quelles doses arrondies préparer. Ces dernières sont donc prescrites et préparées à l'avance les unes à la suite des autres, manuellement. La fabrication en série n'entraîne pas de validation microbiologique spécifique ou de contrôles libératoires supplémentaires par rapport à ceux déjà effectués sur les préparations magistrales.

III.2.2. Mise en œuvre opérationnelle des préparations anticipées en série

III.2.2.1. Circuit du Remicade® avant la standardisation des doses

Le Remicade® est essentiellement administré en hôpital de jour (HDJ). Les contraintes d'organisation que rencontrent les HDJ, notamment parce qu'il y a une succession de plusieurs patients par lit dans une même journée, ont entraîné la mise en place d'une anticipation des prescriptions et de la validation pharmaceutique.

Les prescriptions étaient faites la veille du jour d'administration de la cure si la confirmation téléphonique de présence du patient avait été obtenue. Mais pour des raisons de stabilité, nous n'anticipons pas la préparation. Ainsi les poches de Remicade® des patients programmés le matin étaient préparées dès l'ouverture de l'URC. Leur acheminement par la première navette entraînait leur disponibilité dans le service à 10h. Les HDJ recevaient les préparations des patients programmés l'après-midi, à 13h. Deux plages de préparations extemporanées étaient effectives, le matin avant 9h30 et le midi entre 11h30 et 12h30. Cette organisation a été bénéfique pour les HDJ car elle réduisait les retards d'administration et le temps d'attente des patients. La gestion des lits était optimisée et plus de patients pouvaient être traités par jour. Mais au-delà du fait que la fabrication était tout de même réalisée en flux tendu, d'autres inconvénients ont été rencontrés.

Le patient était appelé dans la semaine précédant l'administration de la cure, afin de confirmer le rendez-vous mais aucune question d'ordre médicale n'était posée. L'état général du patient était donc évalué le jour de l'administration de la cure bien que la prescription ait été réalisée la veille et la préparation de la poche effectuée. Cela constituait un des motifs de retour des préparations à la pharmacie les plus fréquemment retrouvés (figure 18).

Sur l'ensemble des années 2014 et 2015, 95 poches de Remicade® ont été renvoyées à la pharmacie et 64% d'entre elles ont été jetées. Les autres ont pu être réattribuées si, pour un autre patient, la même dose était prescrite. Les raisons de la non-administration étaient

diverses mais la figure 18 montre que 27% des retours étaient dus à l'absence des patients et 15,8% à une altération de l'état général diagnostiquée le jour de l'administration de la cure.

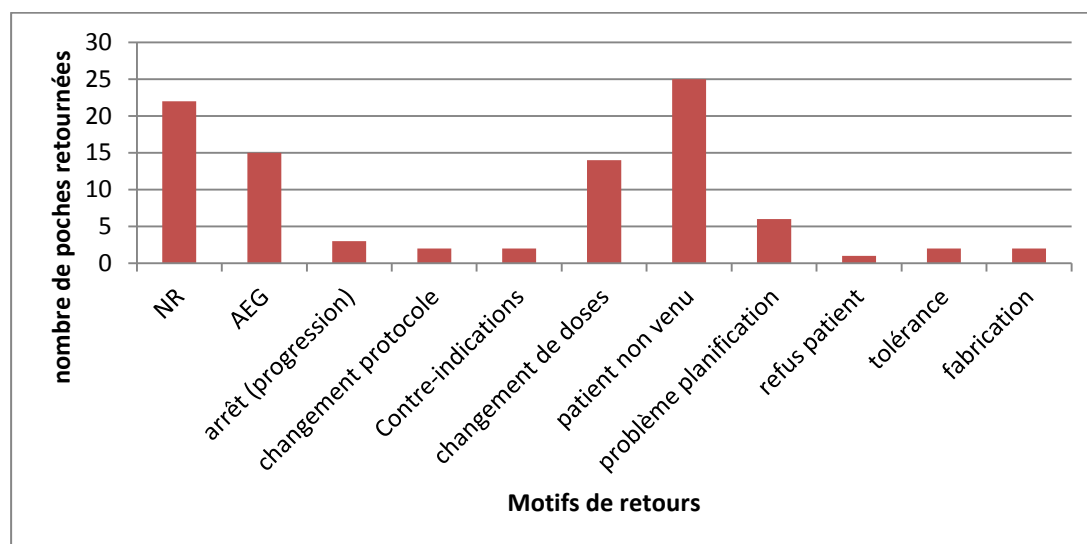


Figure 18 : Les principaux motifs de retours des poches de Remicade® recensés entre 2014 et 2015.

Le flacon de 100 mg de Remicade® coûte 443,5 euros. Ainsi le montant des poches jetées sur les deux ans était de 144 337 euros. Ce chiffre est sous-estimé puisque les retours des poches à la pharmacie ne sont pas systématiquement tracés. L'amélioration de la gestion du circuit du Remicade® tant au plan organisationnel (mieux prévoir les venues des patients) que pharmaceutique (faciliter les réattributions) est devenue une priorité.

Le nombre de Remicade® effectué sur l'année 2015 pour la gastro-entérologie du seul hôpital Haut-Lévêque s'élevait à 1931 préparations. Avec le regroupement de l'HGE, le nombre de préparations s'élèverait prévisionnellement à 2500 préparations par an. La seule anticipation des prescriptions n'est plus adaptée pour absorber cette activité supplémentaire.

III.2.2.2. Circuit des préparations anticipées en série

- Objectif

Le Remicade® étant un principe actif onéreux avec une stabilité très courte, il n'est pas possible de l'intégrer dans le circuit de préparation anticipée en lots. Le risque principal de préparer en lots les principes actifs coûteux est d'engendrer des pertes masquant les

bénéfices d'une telle production. C'est pourquoi, une alternative, la préparation manuelle anticipée et en série, a été mise en place.

- Prescription et dispensation

La stabilité, même si elle est étendue à 7 jours, reste courte par rapport à celle définie dans les critères de sélection d'une molécule standardisable (> 14 jours). C'est en partie pour cela que le circuit qui a été proposé aux services de soins correspond à une préparation en série de prescriptions nominatives. Dans un premier temps, l'anticipation des prescriptions est relativement courte puisque les médecins prescrivent à J-2 de la venue des patients. La confirmation du rendez-vous est réalisée à J-3.

La prescription est réalisée sur le logiciel CHIMIO™. De nouveaux protocoles ont été créés en mode « multi-lignes de dose » pour proposer une dose arrondie aux prescripteurs lorsque le poids du patient est renseigné. Des intervalles de poids rattachés à une dose standard sont enregistrés dans le protocole si bien que le patient se voit attribuer directement la dose arrondie correspondant à son poids.

La fabrication des poches a lieu à J-1, en fin de journée de production lorsque l'activité est moindre. Les préparations sont envoyées dans le service à J-1.

- Contrôles

Le nouveau procédé de fabrication en série du Remicade® correspond toujours à la définition de préparation magistrale puisque chaque dose est préparée poche par poche de façon manuelle. Les contrôles sont donc les mêmes que ceux effectués actuellement sur les préparations magistrales à savoir : un double contrôle visuel des étapes de fabrication, un contrôle libérateur (étiquetage, conformité avec la fiche de fabrication). Le contrôle analytique qualitatif et quantitatif sur les préparations d'anticorps monoclonaux et notamment sur l'inflximab, est en cours de développement.

- Indicateurs de la chaîne du froid

Le circuit de distribution des préparations stériles nécessite le maintien et une traçabilité de la chaîne du froid rigoureux. En cas de non administration d'une dose standard envoyée dans un service, les conditions de stockage et de transport doivent être garanties de

manière à pouvoir réattribuer la préparation. Ceci est particulièrement vrai pour les préparations d'infliximab qui ne sont pas stables à température ambiante.

Des indicateurs d'excursion de température sont donc positionnés sur l'emballage secondaire au moment de la dispensation (figure 19). L'indicateur coloré progresse en fonction du temps passé à plus de 8°C.



Figure 19 : Marqueurs de la traçabilité de la chaîne du froid (entreprise JRI)

Progression de l'indicateur coloré bleu en fonction du nombre d'heures passées à température ambiante.

III.2.2.3. Avantages et inconvénients de la préparation en série

La préparation nominative anticipée en série offre l'avantage de lisser le flux de préparation des poches de Remicade® sur plusieurs jours. Les préparateurs ne travaillent plus dans le stress de l'envoi des poches de Remicade® rythmé par les navettes.

La préparation à la chaîne optimise la gestion des reliquats en regroupant la fabrication à un même moment de la journée. L'arrondi de dose permet également de diminuer les reliquats et génère ainsi des économies [77]. Avec la prescription de seulement cinq doses standards et l'extension de la stabilité à 7 jours, la réattribution des poches retournées est facilitée. Une réduction des pertes financières est attendue. Pour que les préparations puissent être réattribuées, le maintien de la préparation dans les bonnes conditions de conservation est primordial. C'est pour cela que la traçabilité de la chaîne du froid est réalisée à l'aide d'indicateurs colorimétriques d'excursion de température.

Enfin la disponibilité des préparations dans les services la veille des administrations est un atout majeur de ce mode de production. Cela permet également d'optimiser l'organisation journalière en HDJ.

Mais ce mode de fonctionnement n'est avantageux (en temps et en économies réalisées) pour la pharmacie, que s'il n'y a pas trop de retours et de réattributions à gérer. L'extension de la stabilité à 7 jours reste malheureusement trop courte pour pouvoir, à l'avenir, envisager de fabriquer les poches de Remicade® en lots, selon le même principe que l'aciclovir.

Enfin, la montée en charge des prescriptions du biosimilaire du Remicade®, l'Inflectra®, sera à prendre en compte dans quelques mois. L'organisation au sein de l'URC devra probablement être réévaluée afin d'inclure la standardisation des doses d'Inflectra®.

III.3. Standardisation de l'aciclovir

III.3.1. Etapas préliminaires

III.3.1.1. Procédé de fabrication

L'aciclovir, avec 6900 poches fabriquées pour l'année 2015, est le principe actif le plus préparé dans notre URC.

Les anti-infectieux préparés à l'URC sont ceux pour lesquels il existe un risque pour le personnel (anti-infectieux tératogènes, cancérigènes par exemple), ou un risque de conséquences graves pour le patient s'il y a une erreur dans la préparation (notamment pour la pédiatrie), ou encore parce qu'ils sont onéreux. La préparation centralisée de ce type de médicament permet une sécurisation de la fabrication et une diminution des coûts. L'aciclovir n'entre dans aucune de ces catégories mais à raison de 3 injections par jour et en considérant le nombre élevé de patients traités, sa fabrication centralisée est devenue une nécessité pour les services d'onco-hématologie.

Le nombre élevé de prescription fait de l'aciclovir un candidat idéal à la standardisation des doses. Même si sa stabilité physico-chimique dans le temps est controversée dans la littérature, les données fournies par certains laboratoires (stabilité dans les poches Freeflex®

de Fresenius) permettraient d'étendre la stabilité. L'aciclovir est le principe actif qui a été choisi pour expérimenter la production anticipée en lots.

La fabrication anticipée en lots de doses standards consiste à définir des campagnes de production anticipée lors desquelles une poche mère d'une concentration donnée d'un principe actif, est préparée dans un premier temps, puis répartie en poches filles grâce à un semi automate d'aide à la fabrication. La préparation des doses arrondies n'est plus induite par une prescription. Dans ce mode de fabrication, des stocks de doses standards sont constitués, augmentant ainsi la rapidité de dispensation. Ainsi c'est l'état des stocks qui entraîne la production d'un lot. Un réel gain de temps est attendu, ainsi qu'une nette amélioration de l'organisation et de la qualité de la production.

III.3.1.2. Validation de la fabrication aseptique

La production anticipée en lots à l'aide d'un semi-automate d'aide à la fabrication ne peut être réalisée sans la mise en place de contrôles libérateurs supplémentaires à ceux déjà existants ou la modification de la fréquence de ces derniers.

III.3.1.2.1. Contrôles environnementaux

Les contrôles environnementaux sont réalisés à l'intérieur des isolateurs et dans la zone à atmosphère contrôlée par différents prélèvements :

- ✓ Evaluation de l'aérobio-contamination :
 - Sédimentation passive sur boîte de Pétri (90 mm) pendant 4 heures minimum et en activité, dans l'isolateur
 - Comptage particulaire à l'intérieur des isolateurs et dans la ZAC est réalisé deux fois par an, par deux entités distinctes, un contrôleur externe ou l'entreprise commercialisant les isolateurs, et le service d'hygiène hospitalière.
 - Biocollection réalisée par l'hygiène hospitalière afin d'effectuer le comptage microbiologique (sédimentation active) dans la pièce et dans l'isolateur, en activité, une fois par an.

✓ Contrôle microbiologique des surfaces :

- Gélose (Count Tact®) appliquée directement sur la surface si celle-ci est plane dans l'isolateur.
- Empreintes de gants et l'écouvillonnage des manchettes dans les isolateurs.

La mise en place de préparations à l'avance de doses standards destinées à être stockées entraîne une modification de la fréquence des contrôles environnementaux. La sédimentation passive est réalisée pendant la fabrication du lot, les empreintes des gants sont faites à la fin de fabrication du lot et un contrôle microbiologique des surfaces par contact, comme décrit ci-dessus, est effectué toutes les semaines. Les résultats de ces contrôles environnementaux sont intégrés dans le dossier de lot.

III.3.1.2.2. Test de répartition aseptique

Les procédés de préparation doivent être validés par le test de remplissage aseptique (TRA) afin d'être entièrement conformes à la réglementation en vigueur. L'utilisation d'un semi-automate d'aide à la fabrication constitue un changement majeur dans le mode de production. Le nouveau processus de fabrication à l'aide d'une pompe doit satisfaire au TRA. Parallèlement, chaque opérateur renouvelle tous les ans, en l'absence de changement majeur dans le procédé de fabrication, un TRA dont l'objectif est de valider la manipulation manuelle en conditions aseptiques.

✓ Les prérequis

Le test de remplissage aseptique est effectué à l'aide d'un milieu de culture qui remplace le principe actif et reprend toutes les étapes de la fabrication. La réalisation de la simulation doit être faite dans des conditions jugées défavorables, appelées « *worst-case* ». Des situations défavorables pertinentes avec l'activité ont été définies, par exemple : fabrication en temps limité, problèmes divers qui peuvent survenir lors de la manipulation (un flacon manquant par exemple, ou une tubulure à changer), TRA effectué avant la stérilisation générale.

L'introduction d'une pompe dans le processus de fabrication permet de reconstituer des flacons s'il y a lieu, et de fabriquer une poche mère en prélevant le contenu des flacons et

en complétant au volume requis, grâce au solvant. Le volume maximal de la poche mère ne dépasse pas les 3 litres pour que l'homogénéisation soit possible manuellement sous les isolateurs. La poche mère est répartie en poches filles toujours à l'aide de la pompe. Toutes ces étapes doivent être simulées grâce à un conditionnement de milieu de culture adapté.

Des flacons vides stériles sont indispensables ainsi qu'un volume suffisant de milieu de culture pour fabriquer une poche mère de 3 litres.

Le laboratoire JCE commercialise le Klerkit® qui comprend 1 flacon de 50 mL de tryptone soja, une poche stérile de 100 mL et 1 ampoule de 10 mL du même milieu, 3 flacons vides stériles de 20 mL. Ce kit n'est pas adapté à notre utilisation en « Dose-Banding ». Il est cependant utilisé pour la qualification annuelle des opérateurs.

Le laboratoire VWR commercialise quant à lui, des poches de 3 litres de milieux de culture.

Les flacons vides stériles ne sont pas disponibles sur le marché pour une utilisation hospitalière. L'alternative a été l'achat de flacons en verre vides ainsi que des septums et bagues en acier dans le but de les assembler grâce à une pince à sertir puis de les stériliser en autoclave.

✓ Déroulement du TRA dans le cadre du « Dose-Banding »

Les recommandations du PIC/S [64] préconisent de réaliser le test sur un nombre suffisant de préparations pour valider l'analyse. Pour une production inférieure à 3000 unités, la simulation doit être faite sur un lot égal au lot maximal de production habituel. Ainsi le TRA est réalisé en simulant la campagne de production du principe actif dont la manipulation est la plus complexe. Les conditions les plus défavorables et les situations les plus représentatives de la production habituelle sont recherchées.

Les critères permettant de sélectionner un principe actif dont la fabrication sera simulée peuvent être :

- reconstitution d'une poudre puisqu'on rajoute une étape de préparation supplémentaire par rapport au flacon prêt-à-l'emploi
- grand nombre de flacons pour fabriquer la poche mère
- le plus grand volume de poche mère
- le plus grand nombre de poches filles.

Le procédé de fabrication par répartition sera validé en simulant une campagne de production de doses standards d'aciclovir, principe actif répondant aux critères précédents.

La pharmacopée européenne recommande de réaliser un test de fertilité sur tous les lots de milieu de culture commercialisés pour réaliser des TRA. Ce test constitue le témoin positif et son objectif est de montrer que le milieu de culture permet la croissance de micro-organismes en moins de 3 jours pour les bactéries, et en moins de 5 jours pour les moisissures et les levures. Selon la pharmacopée européenne, la charge microbienne à inoculer doit être inférieure à 100 UFC (unité formant colonie). Les souches à utiliser sont mentionnées dans le tableau XVIII [63].

Tableau XVIII : Souches des microorganismes d'essai appropriées pour les essais de fertilité des milieux de culture. Pharmacopée européenne. 8^{ème} Ed.

Bactéries aérobies	
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538, CIP 4.83, NCTC 10788, NCIMB 9518, NBRC 13276
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633, CIP 52.62, NCIMB 8054, NBRC 3134
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 9027, NCIMB 8626, CIP 82.118, NBRC 13275
Bactérie anaérobie	
<i>Clostridium sporogenes</i>	ATCC 19404, CIP 79.3, NCTC 532, ATCC 11437, NBRC 14293
Moisissures et levures	
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231, IP 48.72, NCPF 3179, NBRC 1594
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	ATCC 16404, IP 1431.83, IMI 149007, NBRC 9455

Pour éviter toute contamination, le test de fertilité ne sera pas réalisé dans les isolateurs de travail mais sous un poste de sécurité microbiologique.

Un opérateur effectuera le TRA sur un lot entier de production et selon les recommandations, trois jours de suite afin de valider initialement le processus de fabrication aseptique avec le semi-automate. Aucune contamination microbiologique ne doit être détectée après incubation pendant 7 jours à 20-25°C puis pendant 7 autres jours à 30-35°C [64].

✓ Fréquence

Afin de valider le procédé de répartition aseptique à l'aide du semi-automate d'aide à la fabrication, un TRA, est réalisé puis en l'absence de modifications importantes, l'essai sera à renouveler tous les ans.

La validation de la manipulation manuelle en conditions aseptiques est renouvelée tous les ans pour chaque opérateur.

✓ Ressources documentaires

Une procédure transversale ainsi que les modes opératoires représentatifs des pratiques de chaque URC ont été conçus. Une grille d'évaluation des pratiques professionnelles est nécessaire lors du déroulement du TRA. Un document d'enregistrement retrace la bonne marche de toutes les étapes du TRA ainsi que les résultats du TRA fournis par l'hygiène hospitalière. Les résultats des contrôles environnementaux effectués concomitamment au TRA doivent également être mentionnés sur un document d'enregistrement.

III.3.1.2.3. Essai de stérilité par microbiologie rapide

Les préparations stériles fabriquées en lots et destinées à être stockées avant l'administration doivent satisfaire à l'essai de stérilité décrit par la Pharmacopée européenne.

▪ Principe de l'essai de stérilité

La méthode de choix de la Pharmacopée européenne destinée à garantir la stérilité de la préparation injectable est la filtration sur membrane. Le temps d'incubation minimum nécessaire à la détection de microorganismes à croissance lente est de 14 jours. Or la plupart des principes actifs standardisables ont une durée de stabilité ne dépassant pas 30 jours. Une mise en quarantaine de 14 jours compliquerait le circuit de la préparation en lots, puisque les préparations devraient alors être dispensées et administrées en 14 jours. Dans ces conditions, nous travaillerions en flux tendu et la réattribution en cas de non administration pourrait être compromise.

La pharmacopée européenne mentionne une méthode alternative, l'ensemencement direct, qui présente beaucoup d'avantages pour le milieu hospitalier. Tout d'abord le délai d'incubation ne dépasse pas 5 jours. Ensuite, l'ensemencement direct n'est pas un essai destructeur contrairement à la filtration sur membrane. Une partie de l'échantillon est prélevée et ensemencée en système clos, dans des flacons contenant un milieu de culture. La totalité de l'échantillon n'est pas prélevée, et ce dernier peut donc être gardé et ré-analysé si besoin.

Plusieurs méthodes de détection microbiologique rapide sont disponibles sur le marché. Millipore commercialise Rapid Milliflex Detection System®, un système permettant la détection du dégagement d'adénosine triphosphate (ATP) par bioluminescence. Il existe également une méthode de détection laser par cytométrie en phase solide (scan RDI) dénombant les microorganismes viables. Enfin deux laboratoires commercialisent deux systèmes similaires de détection du dégagement de CO₂, le BACTEC® de Becton Dickinson et le BacT/ALERT® de Biomérieux [67].

Des automates BacT/ALERT® sont déjà disponibles sur le centre hospitalier. La faisabilité de la mise en place en routine d'un essai de stérilité sur les préparations hospitalières stériles via la méthode d'ensemencement direct et la détection par BacT/ALERT® a été étudiée.

Le BacT/ALERT® est un automate de lecture en continu, qui détecte toutes les 10 minutes l'émission de CO₂ et donc la diminution du pH liées à la multiplication des microorganismes grâce au virage d'un indicateur coloré reflétant la lumière. L'indicateur coloré est présent dans le fond des flacons de milieux de culture (figure 20). L'information est ensuite transmise à un logiciel de traitement, et c'est le taux de CO₂ produit par rapport à la quantité de CO₂ à l'instant T₀ qui détermine s'il y a une multiplication de microorganismes ou non. Si après 5 jours, le taux de CO₂ ne change pas significativement, l'échantillon est négatif.

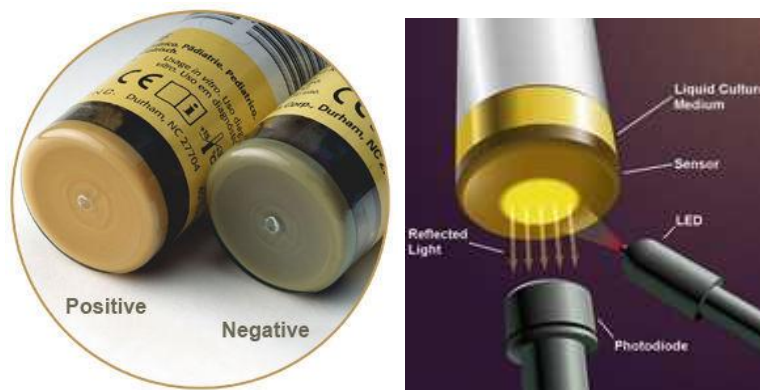


Figure 20 : Détection de la présence ou l'absence de micro-organismes dans les flacons de milieux de culture

L'automate est capable de détecter les bactéries, les mycobactéries, les champignons et les levures. Il existe deux types de flacons de milieux de culture : anaérobie et aérobie. Ils sont incubés à 37°C dans l'automate.

- Application aux préparations d'aciclovir

La disponibilité des automates BacT/ALERT® sur site nous a permis de mettre en œuvre des tests de validation de la méthode de microbiologie rapide sur les préparations d'aciclovir. Plusieurs essais décrits par la Pharmacopée européenne ont été réalisés: un essai de fertilité, un essai d'applicabilité, et la recherche de la limite de détection.

- ✓ Matériel et Méthode

- *Préparation des souches microbiennes et dénombrement sur géloses*

La pharmacopée européenne recommande d'utiliser les 6 souches mentionnées dans le tableau XVIII pour valider la méthode de mise en place d'un essai de stérilité. Ainsi des bactéries aérobies et anaérobies, des levures et des moisissures ont été sélectionnées.

Le laboratoire Eurofins commercialise les souches bactériennes sous forme de pastilles lyophilisées et conservées à -20°C. Chaque souche et chaque lot sont fournis avec un certificat d'analyse mentionnant la quantité moyenne d'unités formant des colonies (UFC) par pastille. Le diluant de reconstitution mentionné sur le certificat est le tryptone sel. Après vérification auprès du laboratoire, nous avons utilisé du milieu BHI (*Brain Heart Infusion*) pour la reconstitution des souches. Cela est possible si l'utilisation des solutions est immédiate après la reconstitution. Le diluant utilisé était le BHI également. Les solutions de concentrations théoriques connues sont obtenues après plusieurs dilutions successives.

Les dilutions réalisées ont été dénombrées, avant l'injection dans les solutions d'aciclovir, par ensemencement en surface sur gélose afin de connaître précisément la quantité de microorganismes contenue dans chaque suspension. Seules trois souches ont fait l'objet d'un dénombrement sur gélose : le Staphylocoque aureus, le Clostridium sporogenes, et le Candida albicans. Pour cela, 200 µl de chaque dilution préparée, ont été étalées en râteau sur différents types de géloses, en triplicat:

- gélose trypticase soja permettant la détection du Staphylocoque aureus
- gélose au sang Schaedler permettant de détecter le Clostridium sporogenes
- gélose Sabouraud pour détecter la croissance du Candida albicans.

Elles ont été mises à l'étuve à 33°C pendant 24 heures (géloses trypticase soja et géloses au sang) ou 5 jours pour les géloses Sabouraud. Les géloses au sang Schaedler étaient conservées dans un milieu anaérobie.

- *Essai de fertilité*

Des témoins positifs ont été réalisés en duplicat sur chacune des 6 souches afin de satisfaire à l'essai de fertilité (tableau XVIII). La pharmacopée européenne recommande d'ensemencer le milieu nutritif liquide (flacons pour hémocultures BacT/ALERT®) avec un petit nombre de microorganismes (maximum 100 UFC). Pour les tests de fertilité, la quantité ensemencée dans les milieux de culture, était comprise entre 10 et 30 UFC. Les temps d'incubation devaient respecter les délais de pousse des microorganismes, soit 3 jours maximum pour les bactéries et 5 jours pour les moisissures et levures, à 37°C.

- *Préparation des solutions d'aciclovir et ensemencement*

L'aciclovir (Zovirax®) à la concentration de 5 mg/ml, était préparé manuellement dans des conditions aseptiques, sous isolateur, dans des poches vides afin de mimer au mieux la répartition d'une poche mère en poches filles et d'être au plus près de la concentration cible. Le solvant de reconstitution et de dilution était le NaCl 0,9%. Le volume final des poches était de 200 ml ce qui correspond à la dose standard la plus élevée (1000 mg). Pour faciliter la réalisation de l'essai d'applicabilité de la méthode, l'aciclovir était ensuite réparti en seringues de 10 ml. Pour les autres essais, ce sont les poches de 200 ml qui étaient ensemencées par les microorganismes.

La quantité minimale de préparation d'aciclovir ensemencée à injecter dans le flacon de milieu de culture est définie dans le tableau XIX extrait de la Pharmacopée européenne. Pour une solution dont le volume final est supérieur à 100 ml, 10% du volume et pas moins de 20 ml sont nécessaires pour l'ensemencement. Sachant que le volume médian des préparations standardisées d'aciclovir sera d'environ 100 ml, nous avons décidé d'injecter 10 ml par flacons d'hémocultures (aérobie et anaérobie). Ce volume est en accord avec les données publiées dans la littérature [78-80].

Les flacons de milieux de culture ensemencés sont placés dans l'automate BacT/ALERT® pendant 5 jours maximum, à 37°C.

Tableau XIX : Quantité à prélever pour essais de stérilité. Pharmacopée européenne, 8^{ème} Ed.

Quantité par récipient	Quantité minimale de préparation à utiliser pour chaque milieu, sauf exception justifiée et autorisée
<i>Liquides</i>	
- < 1 mL	Contenu total de chaque récipient
- 1-40 mL	La moitié du contenu de chaque récipient, mais pas moins de 1 mL
- > 40 mL mais ≤ 100 mL	20 mL
- >100 mL	10 pour cent du contenu du récipient, mais pas moins de 20 mL
<i>Liquides antibiotiques</i>	1 mL

- *Essai d'applicabilité*

L'essai de stérilité ne peut pas être réalisé si la molécule possède des propriétés antimicrobiennes. La première étape de la validation de la méthode a donc été de réaliser l'essai d'applicabilité de la Pharmacopée européenne, afin de démontrer que l'aciclovir à la concentration de 5 mg/ml utilisée en routine, malgré ses propriétés antivirales, n'inhibe pas la croissance microbologique [81].

Plusieurs types de microorganismes, bactéries, champignons doivent être étudiés, afin de vérifier que tous les types de germes peuvent être détectés s'ils sont présents dans les solutions. Les 6 souches recommandées par la Pharmacopée européenne (tableau XVIII) ont donc été testées.

La pharmacopée européenne stipule qu'une quantité inférieure à 100 UFC doit êtreensemencée pour effectuer l'essai d'applicabilité. Environ 7 et 30 UFC ont donc étéensemencées dans 10 ml de solution d'aciclovir à 5mg/ml. Ces quantités, largement inférieures à 100 UFC et assez éloignées l'une de l'autre, ont été choisies afin d'orienter la méthodologie de la suite des essais et notamment pour apporter une estimation sur les quantités de microorganismes à ensemercer pour rechercher la limite de détection de la méthode.

Les dilutions successives qui ont été réalisées à partir des pastilles reconstituées, peuvent être retrouvées en annexe 4.

Chaque ensemencement d'une quantité donnée de microorganisme a été réalisé en triplicat afin d'assurer la répétabilité de la méthode [82]. Une coloration de Gram sur un échantillon prélevé dans le flacon de milieu de culture après 5 jours d'incubation à 37°C dans l'automate, vérifiait que la positivité du test était bien induite par le microorganisme ensemencée. La mise en culture n'était réalisée qu'en cas d'examen direct incohérent.

- *Détermination de la limite de détection de la méthode*

Le seuil de détection de la méthode est défini par la plus petite quantité de microorganisme présente dans une solution que l'automate est capable de détecter, sans faux négatifs. Cela correspond à évaluer la sensibilité de la méthode. Jimenez et al [82], mentionnent que pour valider la limite de détection, les microorganismes doivent être détectés dans les échantillons pharmaceutiques à moins de 5 UFC/ml. Dans la littérature, la limite de détection de l'automate BacT/ALERT® est inférieure à 1 UFC/ml [82-84]. Nous avons étudié quelle était cette limite de détection pour les solutions d'aciclovir à 5 mg/ml.

Seulement trois souches ont été sélectionnées pour cet essai : *Staphylococcus aureus* (aérobie), *Clostridium sporogenes* (anaérobie) et *Candida albicans* (levure). Les quantités de microorganismes à ensemercer ont été choisies en fonction de la littérature et de la limite de détection déterminée pour les nutriments parentéraux, déjà expérimentée dans notre service (seuil de détection aux alentours de 0,05 UFC/ml). Ainsi les poches d'aciclovir de 200 ml étaient ensemençées par chacune des dilutions suivantes : 100 UFC/ml, 50 UFC/ml et 10 UFC/ml, de façon à avoir une concentration finale approximative en microorganismes de 0,5 UFC/ml, 0,25 UFC/ml et 0,05 UFC/ml. Les dilutions sont retrouvées en annexe 5. Chaque ensemençement était réalisé en triplicat. Après 5 jours d'incubation dans l'automate, un échantillon de chaque flacon de milieu de culture était prélevé et une coloration de Gram était systématiquement réalisée.

- *Essai de stérilité*

Le contrôle de stérilité permet de détecter la présence de faux positifs et donc une possible contamination accidentelle.

Trois poches d'aciclovir ont été soumises à l'essai de stérilité. Le prélèvement, dans chacune des poches, de 20 ml injectés dans un flacon aérobie (10 ml) et un flacon anaérobie (10 ml) a permis de réaliser le contrôle de stérilité.

- *Reproductibilité*

La reproductibilité de la méthode est validée lorsque les solutions d'aciclovir sont préparées selon le même procédé qu'en routine, et trois jours de suite avec des manipulateurs différents.

Trois poches préparées par jour sont analysées et deux fois 10 ml de chaque poche sont injectés dans un flacon d'hémoculture aérobie et un anaérobie.

✓ Résultats

- *Test de fertilité*

Les milieux sont fertiles pour les bactéries aérobies et anaérobies, ainsi que pour les moisissures et les levures (tableau XX). Aucun faux négatif n'a été observé malgré la faible quantitéensemencée (entre 10 et 30 UFC).

Les bactéries poussent en moins de 5 heures tandis que les champignons sont détectés entre 1 et 2 jours d'incubation en milieu nutritif.

Tableau XX : Résultats de l'essai de fertilité sur les 6 souches bactériennes référencées dans la Pharmacopée européenne

TEST DE FERTILITE	MILIEU ENSEMENCE	QUANTITE ENSEMENCEE EN UFC	EN RESULTATS	TEMPS DE DETECTION (moyenne des deux flacons)
C. SPOROGENES	ANAEROBIE	10-30	positif	en 4h35
S. AUREUS	AEROBIE	10-30	positif	en 3h50
B. SUBTILIS	AEROBIE	10-30	positif	en 3h47
P. AERUGINOSA	AEROBIE	10-30	positif	en 4h15
C. ALBICANS	AEROBIE	10-30	positif	en 26h
A. BRASILIENSIS	AEROBIE	10-30	positif	en 30h

UFC : unité formant des colonies

- *Dénombrement des microorganismes sur géloses*

Les résultats concernant le dénombrement en surface sur géloses du Staphylocoque aureus, du Clostridium sporogenes et du Candida albicans sont répertoriés dans les tableaux ci-dessous (tableaux XXI, XXII et XXIII). Les suspensions de microorganismesensemencées sur gélose correspondent aux dilutions réalisées dans l'essai de détermination de la limite de détection avant l'ensemencement dans les poches d'aciclovir (annexe 4). Ainsi la dilution à 100 UFC/ml après injection d'un millilitre dans la poche de 200 ml d'aciclovir correspond à une concentration finale de 0,5 UFC/ml, et la dilution à 50 UFC/ml correspond à 0,25 UFC/ml.

Tableau XXI : Résultats du dénombrement en surface sur gélose du Clostridium sporogenes.

Dilutions	quantité théorique d'UFC/200µL	nombre d'UFC observés			moyenne	écart-type
Dilution 1 : 400 UFC/ml	80	74	96	88	86	11
Dilution 2 : 100 UFC/ml	20	26	31	28	28	3
Dilution 3: 50 UFC/ml	10	16	15	13	15	2

Tableau XXII : Résultats du dénombrement en surface sur gélose du Staphylocoque aureus.

Dilutions	quantité théorique d'UFC/200µL	nombre d'UFC observés			moyenne	écart-type
Dilution 1 : 200 UFC/ml	40	39	32	46	39	7
Dilution 2 : 100 UFC/ml	20	16	17	15	16	1
Dilution 3: 50 UFC/ml	10	6	7	12	8	3

Tableau XXIII : Résultats du dénombrement en surface sur gélose du Candida albicans.

Dilutions	quantité théorique d'UFC/200µL	nombre d'UFC observés			moyenne	écart-type
Dilution 1 : 100 UFC/ml	20	16	14	9	13	4
Dilution 2 : 50 UFC/ml	10	7	0	8	8	4

Le nombre d'UFC moyen observé par gélose est similaire à la quantité théorique attendue pour les ensemencements de Clostridium sporogenes et de Staphylocoque aureus (tableau XXI et XXII).

Les résultats représentés sur le tableau XXIII montrent que seule la suspension la moins diluée (dilution 1) a pu être dénombrée sur les trois géloses. Les quantités théoriques calculées à partir du certificat d'analyse sont proches de celles réellement observées sur les géloses.

- *Essai d'applicabilité*

L'automate a détecté la présence de microorganismes dans tous les flacons ensemencés en moins de 5 jours (tableau XXIV). Les concentrations finales de microorganismes ensemencés dans 10 ml d'aciclovir étaient 0,7 et 3 UFC/ml. En ce qui concerne les bactéries, le délai de positivité est inférieur à 20 heures quelle que soit la dilution ensemencée. Bien que certains délais de détection n'aient pas été relevés sur l'automate (« NR » dans le tableau XXIV) toutes les analyses se sont positivées entre 2 et 4 jours pour le *Candida albicans* et l'*Aspergillus brasiliensis*.

Pour les bactéries, les délais de positivité sont proches indifféremment de la dilution. Ce résultat ne peut pas être appréhendé pour le *Candida albicans* et l'*Aspergillus brasiliensis* puisqu'il n'a pas été possible de différencier les flacons en fonction des deux dilutions ensemencées. Les délais exacts n'ayant pas été relevés, nous ne pouvons pas conclure sur un possible impact de la dilution sur le délai de détection.

Toutes les colorations de Gram étaient représentatives du microorganisme ensemencé excepté pour l'*Aspergillus* pour lequel la coloration de Gram n'a pas mis en évidence de microorganismes. Les filaments d'*Aspergillus* étaient cependant visibles à l'œil nu dans les flacons d'hémocultures.

Quatre lames sur 6 ont montré la présence de microorganismes de type levures pour les ensemencements de *Candida*. Aucun microorganisme n'était détecté sur les deux autres lames.

Il est possible, vu les faibles concentrations ensemencées, que nous n'ayons pas réussi à prélever les champignons dans les flacons d'hémocultures pour les colorations de Gram. Il est plus difficile de prélever à l'aiguille, des champignons que des bactéries puisque les champignons forment des colonies plus grosses et généralement visibles à l'œil nu.

Les résultats des colorations de Gram montrent également qu'il n'y a pas eu de contamination croisée lors de la préparation des solutions d'aciclovir ni lors des ensemencements sous hotte à flux d'air unidirectionnel.

Tableau XXIV : Résultats de l'essai d'applicabilité de l'essai de stérilité réalisé avec une solution d'aciclovir 5 mg/ml

TEST D'APPLICABILITE	MILIEU ENSEMENCE	QUANTITE ENSEMENCEE EN UFC	RESULTATS coloration GRAM	DELAI DE DETECTION		
				heures	moyenne	écart type
C. SPOROGENES	ANAEROBIE	7-30	bacille gram +	17h00	19h54	4h39
				17h30		
				18h26		
				17h28		
				19h50		
				29h10		
S. AUREUS	AEROBIE	7-30	cocci gram + en amas	16h50	16h23	36 min
				17h		
				16h		
				16h10		
				16h50		
				15h28		
B. SUBTILIS	AEROBIE	7-30	bacille gram +	11h	11h22	36 min
				11h25		
				11h45		
				11h24		
				11h		
				10h40		
P. AERUGINOSA	AEROBIE	7-30	bacille gram -	18h35	17h17	46 min
				16h35		
				17h14		
				17h04		
				16h55		
				NR		
C. ALBICANS	AEROBIE	7-30	présence de levures sur 4 lames/ sur les 2 autres lames aucun microorganisme détecté	46h	/	/
				NR		
				NR		
				NR		
				NR		
				NR		
A. BRASILIENSIS	AEROBIE	7-30	aucun microorganisme détecté/présence à l'œil nu	48h	48h20	1h32
				47h		
				50h		
				NR		
				NR		
				NR		

NR : non renseigné

- *La limite de détection de la méthode*

La limite de détection correspond à l'inoculum d'un microorganisme le plus dilué pour lequel tous les ensemencements se révèlent positifs. Pour déterminer précisément la limite de détection il donc est nécessaire d'avoir une dilution entraînant au moins un faux négatif. Ainsi le seuil de détection se situe entre cette dilution et la dernière dilution pour laquelle tous les résultats sont positifs. Deux inoculums de concentrations différentes ont été ensemencés dans des poches de 200 ml d'aciclovir de façon à évaluer les concentrations en microorganismes suivantes : 0,5 UFC/ml et 0,25 UFC/ml.

Le tableau XXV reprend les résultats de la détermination de la limite de détection pour trois microorganismes : Staphylocoque aureus, Clostridium sporogenes, et Candida albicans.

Tous les flacons d'hémocultures ont été contrôlés positifs pour le Clostridium sporogenes et le Staphylocoque aureus. La limite de détection est donc inférieure ou égale à la concentration de 0,25 UFC/ml.

L'automate n'a pas détecté de microorganisme au bout de 5 jours, pour un des trois flacons ensemencé par la suspension la moins diluée de Candida albicans (0,5 UFC/ml). La limite de détection se situe donc entre 0,7 UFC/ml et 0,5 UFC/ml, puisque l'essai d'applicabilité a montré que tous les flacons d'hémocultures ont été analysés comme positifs par l'automate, quelle que soit la dilution ensemencée (7 UFC/10ml ou 30 UFC/10 ml).

Les colorations de Gram ont permis d'identifier quel type de germe était présent dans chaque flacon d'hémoculture, et les résultats sont cohérents pour le Clostridium et le Staphylocoque. Pour le Candida, comme lors de l'essai d'applicabilité, seulement une seule coloration a mis en évidence des levures sur 3 hémocultures positives. Sur les autres lames, aucun autre microorganisme n'a été détecté, démontrant qu'il n'y a pas eu de contamination croisée. Outre le fait que le Candida albicans soit un microorganisme plus gros qu'une bactérie, les quantités ensemencées sont tellement faibles que cela peut expliquer que la coloration de Gram ne révèle rien malgré des hémocultures revenues positives.

Enfin, plus la dilution est importante, plus le délai de détection augmente, et ce, pour tous les microorganismes testés.

Tableau XXV : Résultats de la détermination de la limite de détection de l'essai de stérilité réalisé pour une solution d'aciclovir 5 mg/ml.

LIMITE DE DETECTION	MILIEU ENSEMENCE	CONCENTRATION FINALE	RESULTATS coloration GRAM	DELAI DE DETECTION				
				heures	minutes	moyenne	médiane	écart type
C. SPOROGENES	ANAEROBIE	0,5 UFC/ml	bacille gram +	20h20	1220	19h33	19h50	57 min
				19h50	1190			
				18h30	1110			
		19h50		1190	20h20	19h50	70 min	
		21h40		1300				
		19h30		1170				
S. AUREUS	AEROBIE	0,5 UFC/ml	cocci gram + en amas	15h20	920	15h	15h	18 min
				14h45	885			
				15h	900			
		15h50		950	15h53	15h50	6 min	
		15h50		950				
		16h		960				
C. ALBICANS	AEROBIE	0,5 UFC/ml	sur trois échantillons détectés positifs, une seule coloration de Gram a révélé la présence de microorganisme type levure	90h	5400	85h	85h	7h43
				80h	4800			
				négatif	négatif			
		83h		4980	/	/	/	
		négatif		négatif				
		négatif		négatif				

Min : minutes ; UFC : unité formant des colonies

- Essai de stérilité

Aucune contamination n'a été détectée par l'automate BacT/ALERT® lors de l'essai de stérilité. Il n'y a donc pas eu de faux positifs ou de contamination croisée accidentelle lors de la fabrication des poches ou lors de l'ensemencement.

✓ Discussion

L'aciclovir ne possède pas de propriétés antimicrobiennes, même lorsque des quantités très faibles de microorganismes sont ensemencées (0,7 UFC/ml et 3 UFC/ml). La croissance des 6 souches de microorganismes n'a pas été inhibée par la solution d'aciclovir à 5 mg/ml et a été détectée par l'automate BacT/ALERT® dans tous les flacons de milieux de cultures. La répétabilité de la méthode est confirmée.

La méthode est également spécifique puisqu'elle permet de détecter toutes les souches de microorganismes testées comme l'essai de fertilité l'a démontré, et les analyses sur les témoins négatifs lors de l'essai de stérilité n'ont pas mis de microorganismes en évidence.

Les dilutions effectuées pour l'essai d'applicabilité ont permis d'orienter le choix des quantités à ensemercer pour la détermination de la limite de détection de la méthode. Des concentrations plus faibles que 0,7 UFC/ml étaient nécessaires pour déterminer le seuil de détection puisqu'aucun faux négatif n'avait été retrouvé lors de l'essai d'applicabilité. C'est pourquoi des concentrations finales à 0,5 UFC/ml et 0,25 UFC/ml ont été choisies.

Le dénombrement des dilutions préparées à partir des pastilles lyophilisées était une étape essentielle pour l'interprétation des résultats de la limite de détection. Nous avons montré que les quantités théoriques calculées à partir des certificats d'analyse correspondaient aux quantités observées après les dilutions successives et le dénombrement sur gélose pour les trois germes sélectionnés (*Candida albicans*, *Staphylocoque aureus* et *Clostridium sporogenes*).

La limite de détection pour les trois microorganismes sélectionnés est inférieure à 1 UFC/ml (\leq à 0,25 UFC/ml pour *Staphylocoque aureus* et *Clostridium sporogenes* et compris entre 0,7 et 0,5 UFC/ml pour *Candida albicans*).

Les faux négatifs observés lors de la détermination de la limite de détection de la méthode ne sont pas dû à une infertilité des souches sélectionnées dans le milieu de culture comme le démontre l'essai de fertilité mais à la limite de sensibilité de la méthode atteinte pour le *Candida albicans*.

Les colorations de Gram ont confirmé la présence des microorganismes ensemercés. Aucune contamination croisée accidentelle n'a été détectée et la mise en culture n'a jamais été réalisée puisque les examens directs étaient cohérents. La plupart des colorations de Gram réalisées pour détecter les champignons (*Candida albicans* et *Aspergillus brasiliensis*) ne montraient aucun microorganisme. Cela peut être dû aux difficultés de récupération de ces microorganismes en raison de leur dispersion dans le milieu de culture ou à la faible quantité ensemençée [78].

La méthode est donc sensible puisque de très faibles concentrations de microorganismes sont détectables par le BacT/ALERT®. De plus, les limites de détection

pour les 3 souches testées sont similaires à celles mentionnées dans la littérature (< 1 UFC/ml) [80] [82] [84].

Bien que nous n'ayons pas comparé l'ensemencement direct à la méthode de référence de la Pharmacopée, la méthode BacT/ALERT® serait plus performante que la filtration stérilisante [78]. En effet, une seule température d'incubation (entre 35 et 37°C) permet de détecter les microorganismes qui se développent habituellement à des températures moindres (20-25°C) tels que les levures et autres champignons. De plus, BacT/ALERT® permet une détection plus rapide que la méthode de référence [78] [83]. Si une non-conformité est relevée, la mise en place d'actions correctives ou préventives est plus rapide. L'essai de stérilité permet d'améliorer la sécurité et la qualité des préparations injectables stériles dispensées.

Un autre avantage notable est que les flacons de milieux de culture sont en dépression ce qui permet de minimiser les risques d'exposition du personnel lors de la manipulation. Une fois les flacons enregistrés et introduits dans l'automate, aucune extraction ou manipulation supplémentaire ne sont nécessaires, réduisant ainsi le risque accidentel de contamination croisée de l'échantillon. Ainsi la facilité d'utilisation de l'automate est un réel atout. La non-destruction de l'échantillon testé et la lecture des résultats en 5 jours maximum sont des avantages non négligeables pour la réalisation de cet essai par microbiologie rapide en routine hospitalière.

Une des limites générale du test de stérilité est que cette méthode ne garantit pas l'absence totale de germes dans la préparation. En effet, certains germes à croissance lente ne sont pas détectés après 5 jours d'incubation avec les milieux classiques utilisés avec le BacT/ALERT® [82] [85]. De plus, un essai de stérilité négatif effectué à J0 ne garantit pas le maintien de la stabilité microbiologique de la préparation au cours du temps. C'est pourquoi l'essai de stérilité est considéré comme le dernier d'une série de contrôles permettant de garantir la stérilité [62]. Il est donc incontournable de s'assurer du caractère aseptique de la fabrication par les contrôles environnementaux et le TRA annuel, et de conserver la préparation dans un conditionnement capable de maintenir cet état de stérilité tout au long de la durée de stabilité physico-chimique. C'est pour cela que l'URC s'est dotée d'un appareil de conditionnement sous vide appelée MultiVac®.

La validation de la reproductibilité de la méthode sera mise en œuvre dès que le semi-automate d'aide à la fabrication sera disponible.

De plus, afin d'évaluer la stabilité microbiologique dans le temps, trois poches d'aciclovir fabriquées par le semi-automate pourraient être testées à J0, J7, J14, J21 et J30. A chaque contrôle, 10 ml seraient injectés dans un flacon d'hémoculture aérobie et un anaérobie. Les prélèvements devront être réalisés dans un environnement contrôlé afin qu'il n'y ait pas de contamination croisée.

Enfin la taille de l'échantillon à analyser à partir d'un lot de production doit être déterminée. La pharmacopée européenne définit la taille de l'échantillon à analyser en fonction du lot produit (tableau XXVI).

Tableau XXVI : nombre minimal d'unités à examiner pour l'essai de stérilité. Pharmacopée Européenne. 8^{ème} Ed.

Nombre d'unités dans le lot*	Nombre minimal d'unités à examiner par milieu, sauf exception justifiée et autorisée**
<i>Préparations parentérales</i> - nombre de récipients ≤ 100 - 100 < nombre de récipients ≤ 500 - nombre de récipients > 500	10 pour cent des récipients, avec un minimum de 4 10 récipients 2 pour cent des récipients, avec un maximum de 20 (10 dans le cas des préparations parentérales de grand volume)

Etant donné que la poche mère ne dépassera pas 3 litres, le nombre de poches filles ne dépassera pas les 100 unités. Ainsi 10% des poches filles, avec un minimum de 4 devront subir un essai de stérilité. Le lot doit être le plus homogène possible, afin d'estimer que le risque microbiologique est le même pour toutes les préparations réalisées. Le procédé d'homogénéisation des poches filles sera validé. Parmi le lot de poches filles, la première et la dernière, issues de la répartition, ainsi que deux autres fabriquées au milieu de la production du lot peuvent être destinées à l'essai de stérilité. Ainsi les résultats seront représentatifs du lot.

✓ Conclusion

Les différents essais effectués afin d'évaluer la faisabilité de l'ensemencement direct comme essai de stérilité ont montré que la détection par l'automate BacT/ALERT®, est spécifique, sensible, et répétable. La validation de la méthode pour l'aciclovir, qui sera réalisée lorsque les préparations pourront être fabriquées grâce à la pompe péristaltique, aura pour objectif de démontrer la reproductibilité de la méthode. Cet essai de stérilité par ensemencement direct doit être validé pour chaque cytotoxique ou anticorps monoclonal dont la production sera réalisée en lots grâce au semi-automate d'aide à la fabrication.

III.3.1.3. Choix du matériel

III.3.1.3.1. Semi-automates d'aide à la fabrication

La fabrication de préparations injectables stériles en lots n'est rentable que lorsque le processus est automatisé. En effet, la fabrication manuelle d'une poche mère vide puis sa répartition manuelle en poches filles est extrêmement longue et induit une fatigue excessive chez les préparateurs. En outre la fabrication en lots est probablement moins précise lorsqu'elle est manuelle comparativement à l'utilisation d'un semi-automate.

Une étude réalisée à l'hôpital Saint-Louis à Paris a montré qu'un lot de production manuel de 20 poches entraînait chez les préparateurs plus de troubles musculo-squelettiques (TMS), plus de fatigue après la campagne de production et requérait plus de concentration que cette même production mais réalisée à l'aide d'un semi-automate. Les préparateurs interrogés estimaient à 14 le nombre minimal de poches à fabriquer en lots au-delà duquel un semi-automate est indispensable [86]. C'est pourquoi, avec le processus de standardisation, l'acquisition d'un semi-automate d'aide à la fabrication est indispensable.

▪ Définitions

✓ Pompes volumétriques type « pousse-seringues »

Comme leur nom l'indique les pompes volumétriques type « pousse-seringues » sont constituées d'une unité centrale comprenant des pousse-seringues contrôlés par une motorisation. Selon les modèles il peut y avoir un ou plusieurs canaux de seringues permettant un remplissage simultané de plusieurs poches. Les seringues utilisées sont captives

du modèle ainsi que les tubulures puisqu'elles se positionnent sur les seringues. Les tubulures sont munies de valves anti retours permettant de sécuriser le remplissage aseptique.

✓ Les pompes péristaltiques à galets

La pompe péristaltique est une pompe volumétrique et est composée d'une tête de pompe et d'un moteur. Ce sont les galets présents dans la tête de pompe qui entraînent l'aspiration d'une solution. En effet la rotation des galets provoque un écrasement de la tubulure insérée sur les galets. Derrière le point d'écrasement, lorsque la tubulure reprend sa forme initiale, un phénomène de dépression est créé ce qui permet le remplissage de la tubulure. La solution « emprisonnée » entre deux galets est ensuite poussée vers la sortie de la tubulure grâce à la rotation (figure 23).

L'avantage de ce type de pompe est que la solution n'entre en contact qu'avec l'intérieur de la tubulure contrairement aux pompes à seringues où la solution passe par une seringue, une valve anti-retour et une tubulure.

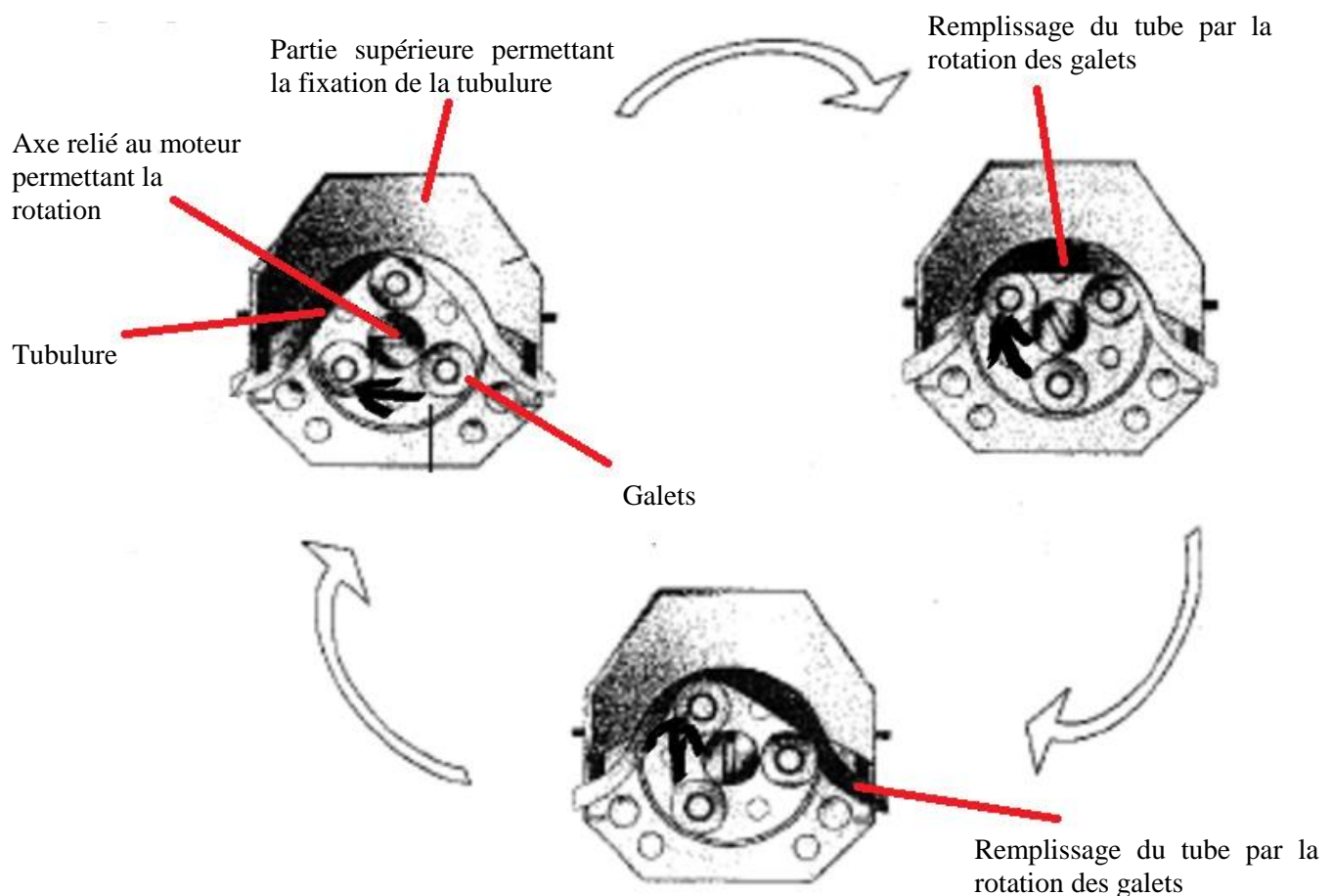


Figure 21 : Principe de fonctionnement d'une pompe péristaltique

Une étude de marché a été réalisée afin de trouver le semi-automate d'aide à la fabrication le plus adapté à l'activité sous isolauteur.

- Critères de sélection

La première étape a été de déterminer les critères de sélection afin que l'analyse de tous les semi-automates qui allaient nous être présentés soit identique. Il convient cependant de distinguer les pompes volumétriques type pousse-seringues et les pompes péristaltiques. Puisque leur mode de fonctionnement diffère certains critères ne sont pas transposables. Le cahier des charges est le suivant :

- ✓ Fonctionnalités

- La pompe doit permettre la reconstitution en série de flacons de poudre ou de lyophilisat et la préparation en série de mélanges de solutions injectables.
- La pompe doit permettre de s'adapter au prélèvement et au remplissage à partir et vers différents conditionnements : flacons, seringues, poches, dispositifs portables (type diffuseurs).
- le pompage doit pouvoir être réalisé dans les 2 sens (fonction reverse)
- Le pilotage de la distribution des volumes à distance à l'aide d'une pédale à pied est souhaité.
- La pompe doit pouvoir utiliser les tubulures de transfert stériles marquée CE (communauté européenne) compatibles avec le prélèvement à partir de flacons ou de poches (site trocart) et pouvoir distribuer la solution dans les différents contenants potentiels (poches, seringue, dispositifs portables) par un site luer-lock.
- La gamme de volumes pouvant être traitée par le système doit être étendue des petits volumes inférieurs à 1 ml aux grands volumes jusqu'à 10 litres.
- Des débits élevés de l'ordre de 250 ml/minute doivent pouvoir être atteint pour les solutions aqueuses.
- Le volume minimum pouvant être prélevé par la pompe doit être de l'ordre de 0,1 à 0,2 ml.

- La précision attendue doit être comprise entre 1 et 2 % pour les gammes de volume supérieures à 1 ml. Pour les volumes inférieurs à 1 ml, une précision inférieure ou égale à 5 % est souhaitée.

- La calibration doit être mémorisable.

✓ Compatibilité avec l'environnement de production

- La pompe doit pouvoir être utilisée en isolateur, stérilisée par vaporisation d'acide peracétique. Celle-ci doit être résistante au traitement de stérilisation et pouvoir être introduite dans un sas de stérilisation de la marque JCE (compatibilité dimensionnelle). Les dimensions du sas sont : 180 mm en hauteur, 430 mm en longueur, et 335 mm de profondeur.

- Le poids de la pompe doit être de préférence inférieur à 5 kg afin de permettre son déplacement aisé par les manipulateurs dans l'isolateur.

✓ Programmation

-La possibilité de pouvoir enregistrer plusieurs présélections de séquences de production en série (par vitesse adaptée à la viscosité, enregistrement des volumes)

- Un pilotage informatique de cette programmation est fortement souhaité.

Les tableaux suivants comparent les caractéristiques des différentes pompes péristaltiques et des différentes pompes type pousse-seringues qui nous ont été présentés (tableaux XXVII et XXVIII).

▪ Les pompes volumétriques type pousses-seringues testées

Tableau XXVII : Caractéristiques des semi-automates type pousses seringues testés

Critères à évaluer		MedOC 4xx VMC (ICU medical)	MIBMIX® (Hemedis)	MEDIMIX Mini® IMF
Format du semi-automate	<i>dimensions (largeur/profondeur/hauteur) mm</i>	293x170x330	410x180x370	280x205x50
	<i>encombrement sous isolateur</i>	important	important	faible
	<i>installation</i>	flexible (verticale/horizontal)	flexible (verticale/horizontal)	horizontal
	<i>poids</i>	10 kg	16 kg	3,5 kg
	<i>taille compatible avec le sas de stérilisation</i>	oui	non	oui
	<i>nombre de ports pour seringues</i>	4 (50 mL)	4 (50/10/2 mL)	1
Matériau	<i>Corps du système</i>	acier inoxydable	acier inoxydable	aluminium anodisé
	<i>Pousse-seringues</i>	aluminium anodisé	acier inoxydable	aluminium anodisé
	<i>Décontamination acide peracétique/peroxyde d'hydrogène</i>	pas d'études de compatibilité	possible si traitement en téflon	NR
Consommable	<i>seringues</i>	captif	deux fournisseurs possibles	captif
	<i>tubulures</i>	captif	non captif	captif
Pilotage	<i>clavier</i>	pad tactile mobile	pad tactile mobile	intégré, tactile
	<i>commande à pied</i>	oui	oui	non
	<i>logiciel</i>	non intelligent	intelligent	non
Calibration		annuelle	NR	NR
Installation de l'appareillage	<i>emboîtement des seringues</i>	difficile	facile	facile
	<i>présence d'une potence</i>	oui	oui	non
	<i>temps moyen</i>	NR	10 minutes	rapide
Manipulation	<i>utilisation du logiciel</i>	simple	simple	très simple
	<i>manipulation du clavier</i>	difficulté rencontrée avec gants	facile	facile
	<i>enregistrement des programmes</i>	oui	oui	oui
	<i>purge</i>	manuelle	automatique	automatique
	<i>reconstitution flacons</i>	manuelle	tubulures adaptée	automatique
	<i>détection du volume manquant</i>	capteur de vide	capteur de vide sur chambre à air	non
	<i>débit maximum de remplissage (par seringue)</i>	200 ml/minutes	250 mL/minutes	220 mL/minutes
	<i>remplissage plusieurs seringues simultanément</i>	simultané ou séquentiel	simultané ou séquentiel	non
Précision (fournisseur)	<i>petits volumes</i>	< 5ml: 1%	> 5ml: 3%	5-10 ml : < 3%
	<i>grands volumes</i>	> 5ml: 3%	> 10 ml: 1%	> 10 ml: < 1%
Volume minimum prélevé		0,1 ml	0,1 ml	1 ml (0,1 ml en option)
Options	<i>balance</i>	impression d'étiquettes	impression d'étiquettes	non
	<i>interface avec le logiciel CHIMIO</i>	en cours d'étude	peuvent étudier l'interface	peuvent étudier l'interface
Tarif	<i>automate</i>	25000 euros	22760 euros	NR
	<i>1 kit de consommable</i>	20-30 euros	40 euros	NR
Commentaire		/	/	mode d'emploi clair

NR : non renseigné, surlignage bleu : non compatible avec le sas de stérilisation, surlignage jaune : compatible

Deux pompes type pousse-seringues ont été testées: la Medimix® Mini (IMF) (figure 22) et la Mibmix® (Hemedis) (figure 23).



Figure 22 : Pompe Medimix Mini® (IMF)



Figure 23 : Pompe volumétrique MibMix® (Hemedis)

Pour chacune d'entre elles, la précision et la manipulation ont été évaluées en dehors des isolateurs. Une stérilisation par l'acide per-acétique et le peroxyde d'hydrogène n'était pas possible sur une pompe déposée pour évaluation.

Pour la pompe Medimix® Mini (IMF), la précision a été évaluée à l'aide de 6 volumes de NaCl 0.9%: 1, 3, 5, 10, 20, 50 ml. Les prélèvements étaient réalisés en triplicat et l'appareil a été réglé en débit maximal. Nous avons retrouvé une précision inférieure à 1% pour les

volumes supérieurs à 20 ml et une précision inférieure à 3% pour les volumes compris entre 3 et 10 ml. Cependant la pompe n'est pas précise sur le volume de 1 ml, l'écart par rapport à la valeur théorique étant de 6% en moyenne. Ces résultats sont en accord avec les informations du fournisseur.

Les caractéristiques les plus intéressantes sont le format et le poids de la pompe assurant la possibilité de déplacement sous l'isolateur. Ces critères sont très importants car l'isolateur étant un système clos, un nettoyage approfondi des surfaces est réalisé régulièrement. La pompe doit donc être déplaçable facilement.

Le principal inconvénient, malgré le fait que la résistance à l'acide per-acétique et au peroxyde d'hydrogène n'est pas démontrée, est qu'il n'y a pas de sécurité bloquant la fabrication si la poche à prélever est vide.

Le semi-automate Mibmix® (Hemedis) est beaucoup plus imposant que la pompe décrite ci-dessus. Il ne rentre pas dans le sas de décontamination de l'isolateur. Nous avons testé une campagne de production d'aciclovir, c'est-à-dire la répartition d'une poche mère en poches filles dont le volume final correspondait à la dose la plus élevée soit 1000 mg ($V_f=200$ mL). Le plus long est le montage des seringues, des tubulures et des capteurs de vide. Le remplissage simultané des poches filles à l'aide des 4 seringues est très rapide. A la vitesse intermédiaire il fallait une 1 minute pour remplir 3 poches de 200 ml. Sur ce gros volume, la précision était conforme aux données industrielles ($< 1\%$). Les principaux avantages étaient la rapidité de répartition ainsi qu'un logiciel simple d'utilisation présent sur une tablette sans fil tactile. L'inconvénient était les dimensions non adaptées au sas de l'isolateur sans compter que la décontamination par l'acide peracétique n'était pas possible sur la pompe sans traitement au téflon supplémentaire. Ce semi-automate n'a donc pas été retenu.

La pompe MedOC® n'a pas été testée (figure 24). Sa présentation a montré que la manipulation n'était pas aisée et aucune étude de compatibilité avec l'acide per-acétique ou le peroxyde d'hydrogène n'a été réalisée. Elle n'a donc pas été retenue.



Figure 24 : Pompe volumétrique MedOC® (ICU medical)

Le coût de revient des pompes volumétriques type « pousse-seringues » ainsi que celui du matériel captif est trop élevé. Sur les trois pompes type pousse-seringues qui ont été analysées, seule la pompe Medimix® Mini (IMF) aurait pu convenir à la production en lots sous isolateur. Le problème principal résidait dans le fait que la confirmation qu'elle supporte la stérilisation à l'acide peracétique n'a pas été obtenue.

▪ Les pompes péristaltiques testées

Tableau XXVIII : Critères de sélection des pompes péristaltiques testées

Critères à évaluer	REPEATER® (Baxa)	SmartPump® (Verder)	Watson Marlow
<i>dimensions (largeur/profondeur/hauteur)</i>	210x324x248	291x252x168	276x409x158
Format du semi-automate			
<i>encombrement sous isolateur</i>	modéré	faible	importante
<i>installation</i>	verticale	verticale	verticale
<i>poids</i>	10,95 kg	4,5 kg	10,7 kg
<i>taille compatible avec le sas de stérilisation</i>	non compatible	oui	oui
Matériau			
<i>Corps du système</i>	NR	Noryl®/polyuréthane	polyester/acier inoxydable
<i>tête de pompe</i>	NR	inox/acétal/ polyamide/nylatron®	polycarbonate/acier inoxydable/PPS
<i>Décontamination acide peracétique/peroxyde d'hydrogène</i>	compatibilité au peroxyde d'hydrogène	possible si peinture téflon+ joints étanches*	oui (pompe étanche)
Consommable			
<i>tubulures</i>	captif	non captif	non captif
Pilotage			
<i>clavier</i>	intégré, non tactile	intégré, non tactile	intégré, non tactile
<i>commande à pied</i>	oui	oui	oui
<i>logiciel</i>	non intelligent	Intelligent (nombre infini de programmes)	Pas de logiciel ?
<i>écran</i>	peu d'informations	peu d'informations : débit, vitesse, volume	peu d'informations
Calibration	dès que la pompe a été mise hors tension	Calibration nécessaire si changements de condition	avant chaque utilisation
Installation de l'appareillage			
<i>mise en place de la tubulure</i>	facile	facile	facile
<i>présence d'une potence</i>	non	non	non
<i>temps d'installation</i>	rapide	rapide	rapide
Manipulation			
<i>utilisation du logiciel</i>	facile	Facile (clé USB)	Pas de logiciel
<i>manipulation du clavier</i>	facile	Pilotage par logiciel, sinon touches faciles	facile
<i>enregistrement des programmes</i>	logiciel	Infini par logiciel	50 programmes
<i>purge</i>	automatique	automatique	automatique
<i>reconstitution flacons</i>	oui	oui	oui
<i>détection du volume manquant</i>	non	non	NR
<i>débit maximum remplissage</i>	13,5 ml/sec (810 ml/minutes)	270 ml/minutes	NR pour le type de tubulure utilisé en pratique hospitalière
<i>répartition en poches filles</i>	manuelle ou à intervalles réguliers	manuelle, ou à intervalles réguliers. Programmation de lots avec décompte	/
<i>retour anti-gouttes</i>	oui	oui	/
<i>fonction reverse</i>	oui	oui	/
Précision (fournisseur)			
<i>petits volumes</i>	0,2 ml-1 ml : 10%-2%	< 1 ml : < 5%	/
<i>grands volumes</i>	> 2 ml : 1%	> 1 ml : 1%	+/-0,5%
Volume minimum prélevé	0,2 ml	0,1 ml	NR

NR : non renseigné, surlignage bleu : non compatible avec le sas de stérilisation, surlignage jaune : compatible

Tableau XXVIII (suite) : Critères de sélection des pompes péristaltiques testées

Critères à évaluer	REPEATER® (Baxa)	SmartPump® (Verder)	Watson Marlow	
Options	<i>balance</i>	non	non	
	<i>interface avec le logiciel CHIMIO</i>	non	non	
	<i>autre option</i>	/	contrôle à distance par ordinateur/programmation d'applications	/
Tarif	<i>pompe</i>	environ 8000 euros	3000 euros	8000-10000 euros
	<i>1 kit de consommable</i>	NR	NR	NR
Commentaires	absence d'enregistrement des données	* décontamination acide peracétique possible si pas de condensation mais vaporisation type brouillard/ tête de pompe interchangeable	détecteur de fuites	

NR : non renseigné

Les pompes péristaltiques conviennent parfaitement à la répartition d'une poche mère en poches filles (tableau XXVIII). De plus, leur faible coût par rapport aux pompes type pousse-seringues est un atout non négligeable. Nous avons donc évalué plusieurs pompes péristaltiques : la pompe Repeater® (Baxa) (figure 25), la pompe Vantage P® (Verder) (figure 26) et la pompe 520UN® de chez Watson Marlow (figure 27).



Figure 25 : Pompe péristaltique Repeater® (Baxa)



Figure 26 : Pompe péristaltique Vantage® P EZ (Verder)



Figure 27 : Pompe péristaltique 520UN (Watson-Marlow)

La pompe Baxa n'est pas compatible ni avec l'acide peracétique, ni avec les dimensions du sas de stérilisation de l'isolateur.

Les deux autres pompes offrent l'avantage d'être compatibles avec l'acide per-acétique. Pour la pompe Verder, cette compatibilité est obtenue après un traitement du corps de la pompe au téflon et l'application de joints étanches sur la partie « connectique ». La pompe Watson-Marlow possède un revêtement étanche ainsi qu'un boîtier étanche protégeant la connectique.

Notre choix s'est orienté vers la pompe Verder, parce qu'elle répond entièrement au cahier des charges qui a été élaboré.

Les avantages attendus de l'utilisation d'un semi-automate d'aide à la fabrication de lots sont la diminution de la fatiguabilité et des TMS des préparateurs s'ils réalisent une production en lots, une augmentation de l'homogénéité de manipulation permettant ainsi d'augmenter la précision et donc la sécurisation de la production. Nous attendons également

un gain de temps significatif dans la production des lots, puisque la pompe choisie peut travailler à un débit de 250 ml/minutes.

Lorsque la pompe sera disponible une étude comparative entre la réalisation d'un lot manuellement et à l'aide de la pompe pourra être réalisée. De même une qualification opérationnelle devra être effectuée avant son utilisation en routine.

- Qualification opérationnelle du semi-automate

La qualification opérationnelle de la pompe est indispensable. La vitesse optimale à appliquer en fonction de chaque viscosité des différentes solutions utilisées devra être recherchée. L'analyse de la précision, l'exactitude, la répétabilité et la reproductibilité pour deux solvants de viscosité différente (par exemple, l'eau PPI et le glucose 30%) devra être réalisée pour plusieurs volumes de prélèvements (par exemple un < 5 mL et un > 20 mL). Le volume et la vitesse de calibration optimale devront également être étudiés.

La programmation sur le logiciel de tous les types de préparations réalisées à l'aide la pompe devra être faite.

La qualification microbiologique du procédé de fabrication utilisant le semi-automate sera réalisée grâce à un test de remplissage aseptique.

L'acquisition de pompes n'est que le premier pas vers un processus majeur d'automatisation de la production. En effet, l'objectif à court terme est de développer la robotique.

III.3.1.3.2. Conditionnement sous vide

- Objectif du conditionnement sous vide

La conditionneuse sous vide MultiVac® (figure 28) permet, comme son nom l'indique de créer un vide entre l'emballage primaire et l'emballage secondaire. La mise sous vide permet de détecter d'éventuelles micro-fuites, d'assurer le maintien de la stérilité de la poche de solution et de garder cette poche dans un environnement maîtrisé. Comme ces préparations sont destinées à être stockées avant l'administration, le maintien du vide est un marqueur de bonne conservation de la solution excluant toute altération du contenant et du contenu.



Figure 28 : Conditionnement sous vide par la MultiVac®

- Qualification de la conditionneuse

Si un vide poussé lors du conditionnement est appliqué à la poche, la formation de bulles dans la solution est observable. En effet, une baisse de pression entraîne une réduction de la température d'ébullition (figure 29). Ainsi pour une pression inférieure à 10 mBar, le point d'ébullition de l'eau se situe aux alentours de 0°C.

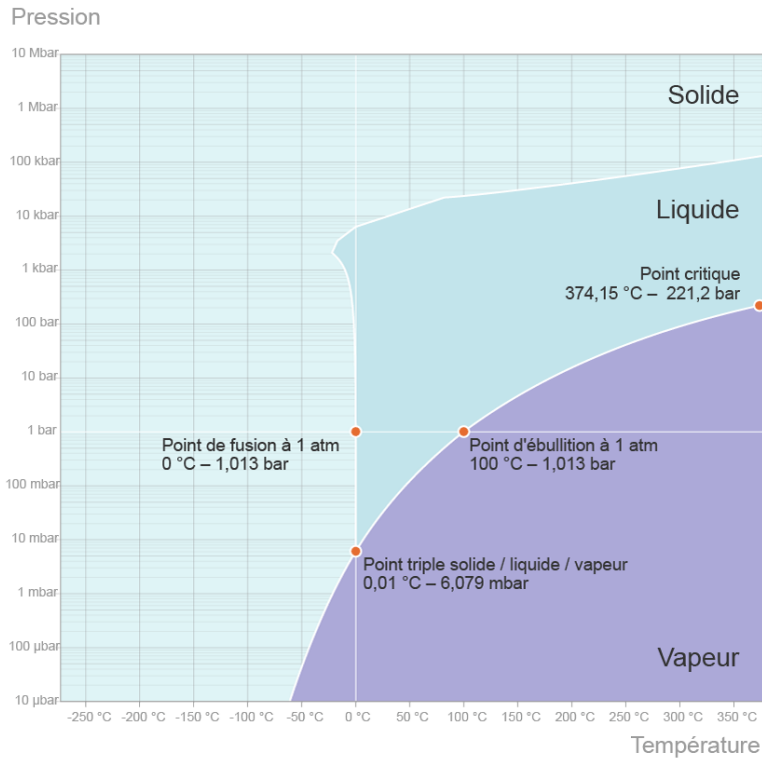


Figure 29: Evolution de la température d'ébullition de l'eau en fonction de la pression [87]

Le vide poussé entraîne un refroidissement des solutions injectables stériles et pose le problème du maintien de la stabilité physico-chimique au froid. L'objectif de la qualification de l'appareil est donc de trouver la pression optimale à appliquer afin d'obtenir un emballage sous vide adéquat. Les données de stabilité physico-chimique au froid pour chaque principe actif dont la préparation sera emballée sous vide devront être étudiées. D'autres tests seront réalisés avant de l'utiliser en routine tels que la vérification du maintien du vide jusqu'à la date limite d'utilisation de la préparation, ou encore la qualification microbiologique.

Le protocole de qualification microbiologique peut être extrapolé du protocole de test de l'intégrité des seringues du NHS [88]. Le principe du test est de réaliser un remplissage aseptique avec du milieu de culture en mimant tout le processus de fabrication (« Media-fill Test) mais aussi le procédé d'emballage. L'emballage secondaire est ensuite trempé dans un bain de bactérie (*Escherichia coli* par exemple) puis incubé 14 jours à 30-35°C. Le milieu de culture contenu dans la poche de solution doit ensuite être mis en culture et le conditionnement sous vide répond à cet essai si aucune pousse de bactérie n'est observée.

Enfin, un test de soudure doit également être appliqué et effectué de manière régulière afin de vérifier l'intégrité de la soudure. Du bleu de méthylène peut être déposé le long du scellage et l'application d'une pression permettrait de vérifier qu'il n'y ait pas de « cheminées » dans la soudure laissant passer le colorant.

Du matériel spécifique est également nécessaire pour l'étape de fabrication : la réalisation de campagne de production de lots exige des équipements adéquats. Le paragraphe suivant est un état des lieux concernant les semi-automates d'aide à la fabrication disponibles ainsi que les principales caractéristiques intéressants une production en lots hospitalière.

III.3.2. Mise en œuvre du circuit des préparations anticipées en lots

III.3.2.1. Détermination du circuit des préparations anticipées produites en lots

L'aciclovir, par son faible coût et ses quantités importantes de production, est le principe actif pilote de l'instauration d'un nouveau circuit de préparation : la production anticipée par campagnes de production.

Le déroulement d'une production en lots consiste en la fabrication d'une poche mère. Elle est ensuite répartie en poches filles, à l'aide d'un semi-automate d'aide à la fabrication. Chaque lot produit correspond à une dose arrondie. La fabrication n'est pas conditionnée par la prescription, mais par l'état des stocks. La figure 30 reprend ce nouveau circuit.

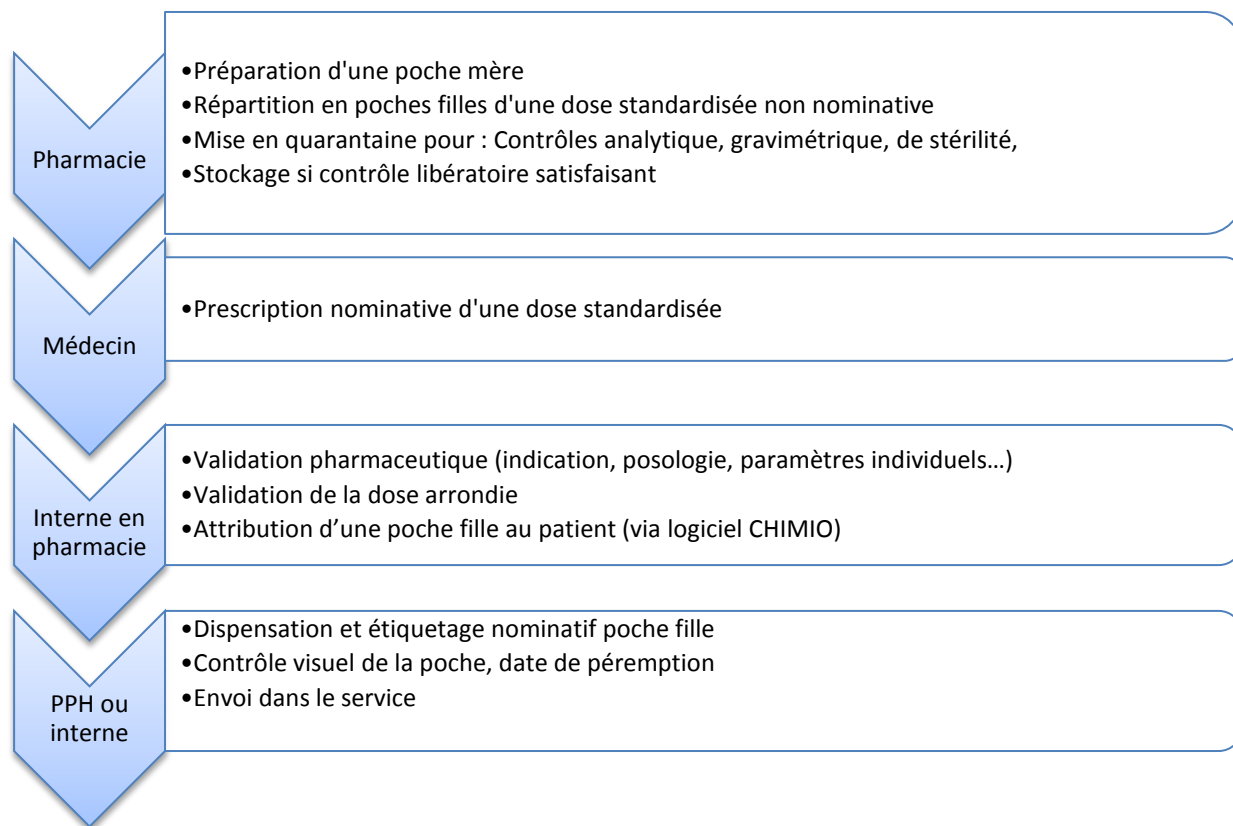


Figure 30 : Nouveau circuit de préparation anticipée en lots de doses standards

III.3.2.2. Informatisation du circuit

Le logiciel CHIMIO™ peut être doté d'un module appelé « doses standards ». Ce module a été conçu pour faciliter la gestion de la préparation de doses standards mais aussi celle des prescriptions.

Ainsi dans le cas d'une production en lots, lorsqu'une prescription est réalisée, le logiciel propose automatiquement la dose arrondie prédéfinie correspondant au poids du patient. Le médecin a donc le choix entre la dose exacte calculée selon le poids, ou la dose standardisée.

La prescription est ensuite validée pharmaceutiquement, et une dose préparée à l'avance en lots, peut être dispensée sans étape de préparation ni de contrôle analytique.

Les campagnes de productions doivent être prévues et du personnel doit y être dédié. La répartition des poches mères en poches filles nécessite du matériel adéquat et notamment un logiciel assurant la traçabilité de toutes les étapes de fabrication.

Le module « Doses standards » du logiciel CHIMIO™ (Computer Engineering) permet d'enregistrer les étapes de fabrication des poches filles. La fabrication de la poche mère n'est pas intégrée dans le module. La fabrication des poches filles est gérée par le module standardisation sans toutefois prendre en compte le concept de fabrication en lots: un numéro d'ordonnancier indépendant est attribué à chaque poche fille. En revanche, le numéro d'ordonnancier de la poche mère sera tracé sur les fiches de fabrication des poches filles.

L'étiquette apposée sur les poches filles suit les règles d'étiquetage de l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament (ANSM).

Après fabrication, les poches filles sont automatiquement mises en quarantaine sur le logiciel. Elles ne sont pas attribuées à un patient tant que le pharmacien n'a pas autorisé leur libération informatiquement. Une fois cette étape effectuée, elles rentrent en stock informatique et peuvent être attribuées aux patients dès lors que la dose arrondie correspondante est prescrite. Une étiquette nominative est apposée sur le suremballage avant l'envoi dans le service.

La dispensation d'une dose standard stockée sera beaucoup plus rapide. Une diminution considérable du délai de mise à disposition dans les services est attendue.

Le glissement du statut de la préparation magistrale vers la préparation hospitalière induit de nombreux changements dans le circuit de préparation et notamment au niveau des contrôles à effectuer.

III.3.2.3. Contrôles libératoires

Les contrôles libératoires pour les préparations hospitalières stériles diffèrent des préparations magistrales par leur nombre et leur fréquence plus importants. Un essai de stérilité ainsi qu'un contrôle gravimétrique sur les poches filles sont les contrôles supplémentaires nécessaires pour garantir la qualité d'une préparation hospitalière stérile. Tous les contrôles libératoires sont décrits ci-dessous.

Les contrôles de la fabrication concernent toutes les étapes du circuit, de la prescription au contrôle du produit fini lors de la dispensation. La première étape est donc la validation pharmaceutique de la prescription. Puis la fabrication de la préparation est doublement contrôlée.

- Le contrôle visuel

Toutes les étapes de fabrication d'une préparation magistrale stérile sont contrôlées visuellement. Une personne détachée de la préparation évalue visuellement en temps réel toutes les étapes de la préparation réalisée par le préparateur et leur conformité avec la fiche de fabrication (reconstitution de flacons, volumes prélevés, poches de solvant, flacons et numéro de lots, étiquette nominative).

La fabrication en lots à l'aide d'une pompe n'est pas adaptée au double contrôle visuel. La programmation du semi-automate sera contrôlée, mais il n'est pas possible d'évaluer visuellement le volume prélevé. Les contrôles analytiques et gravimétriques seront donc indispensables.

- Le contrôle analytique

Le contrôle analytique qualitatif et quantitatif est réalisé à l'aide d'une chromatographie liquide à haute performance (HPLC). Chaque préparation magistrale est contrôlée par HPLC, grâce à un prélèvement d'environ 300 µL dans des micro-tubes. Actuellement ne sont pas contrôlés par HPLC, les anticorps monoclonaux et certains cytotoxiques pour lesquels la méthode de contrôle n'a pas été mise en place (par exemple le pemetrexed ou les vincalcalcoïdes). Le pourcentage de ressemblance du spectre obtenu par rapport aux données de la bibliothèque permet de valider le principe actif, et la préparation peut être libérée si la variation de la concentration mesurée par rapport à la concentration théorique ne dépasse pas 15%.

En ce qui concerne les préparations hospitalières stériles, le contrôle analytique ne sera réalisé que sur la poche mère puisque la fabrication en lots consiste en une répartition de la poche mère en poches filles. Le procédé d'homogénéisation sera validé en effectuant un contrôle analytique sur toutes les poches filles. Un contrôle gravimétrique a été ajouté pour les préparations hospitalières stériles.

- Le contrôle gravimétrique

La qualité de la répartition en poches filles sera contrôlée par gravimétrie. Chaque poche fille sera pesée, et dans un premier temps, compte tenu du procédé de fabrication nous considérons que le volume d'une poche fille ne devra pas s'écarter de plus de 5% du volume théorique.

- L'essai de stérilité

L'essai de stérilité par microbiologie rapide tel qu'il a été décrit fait partie des contrôles libérateurs.

- Le contrôle de dispensation et la traçabilité de la chaîne du froid

La dispensation nominative des poches représente la dernière étape du contrôle. Les points de contrôles sont mentionnés dans l'annexe 6.

Des indicateurs d'excursion de température seront positionnés sur la poche au moment de la dispensation.

III.3.2.4. Les ressources documentaires des préparations hospitalières stériles

La mise en place de préparations fabriquées en lots exige la création d'un dossier de lot contenant toutes les informations et documents relatifs à la préparation.

- Le document d'enregistrement

Le document d'enregistrement doit répertorier toutes les preuves des activités effectuées et des résultats obtenus. Doivent être mentionnés toutes les étapes de la préparation, la personne les ayant réalisées, et les résultats des contrôles effectués.

La fiche de fabrication du logiciel CHIMIO™ fait état:

- du principe actif, de la dose prescrite, de son conditionnement et de son numéro de lot
- du solvant utilisé
- du mode opératoire
- de la durée et des modalités de conservation de la préparation terminée

- du numéro d’ordonnancier
- de l’étiquetage de la préparation terminée (nom du produit, dose, solvant utilisé et volume final, n° d’ordonnancier, durée et modalités de conservation)
- du nom du prescripteur ainsi que celui des pharmaciens ayant validé la prescription, du nom du préparateur ainsi que celui qui a contrôlé visuellement la préparation
- enfin, les résultats du contrôle analytique sont mentionnés

Ainsi une partie des informations nécessaires à la traçabilité sont comprises sur la fiche de fabrication éditée par le logiciel.

Les fiches de fabrication de la poche mère et des poches filles constituent les documents d’enregistrement. Avec le logiciel, chaque poche fille a un numéro d’ordonnancier distinct. Mais les fiches de fabrication des poches filles sont rattachées à celle de la poche mère: le numéro de lot de la spécialité tracé pour la fabrication des poches filles est le numéro d’ordonnancier de la poche mère.

Cependant, afin de satisfaire aux exigences des BPP, il est nécessaire d’introduire sur les fiches de fabrications, une liste de contrôles préliminaires et de contrôles sur produit fini.

Ainsi sur la fiche de fabrication de la poche mère, les items suivant doivent être contrôlés:

- Nombre d’unités théoriques fabriquées à partir de la poche mère
- Etiquetage/conditionnement de la poche mère
- Dosage analytique : qualitatif et quantitatif (pourcentage de ressemblance avec la bibliothèque)

Sur la fiche de fabrication des poches filles :

- Nombre d’unités préparées à partir de la poche mère
- Caractères : aspect visuel des poches filles/conditionnement/étiquetage
- Résultats du contrôle gravimétrique

Ces contrôles sont réalisés au niveau de l'URC, une fois la préparation terminée. Dans un second temps, un essai de stérilité est effectué sur un nombre prédéterminé de poches filles. Les poches filles sont mises en quarantaine dans l'attente des résultats. Des fiches de liaison entre l'URC et les laboratoires d'analyses (bactériologie pour les essais de stérilité et le laboratoire de contrôle pour les autres contrôles) sont nécessaires. L'essai de stérilité étant le dernier de la série de contrôles, la date de réception de la fiche de liaison de l'essai de stérilité correspond à la date de libération du lot, si tous les contrôles sont conformes.

- Le bulletin de contrôles

Le bulletin de contrôles reprend tous les contrôles effectués sur la poche mère et les poches filles. Il est accompagné de tous les documents attestant des résultats. Ainsi les informations retrouvées sont :

- Les caractères visuels des poches filles : couleur, viscosité, étiquetage, conditionnement (conformes/non conforme)
- L'identification du principe actif : Spectre, temps de rétention, pourcentage de ressemblance avec la bibliothèque, comparaison au spectre témoin (les spectres témoins et de la poche testée doivent être présents dans le dossier de lot)
- Le résultat du contrôle de teneur sur la poche mère
- Le résultat du contrôle gravimétrique sur les poches filles
- Le résultat de l'essai de stérilité

- Traçabilité de l'attribution au patient

L'attribution au patient d'une poche fille est réalisée grâce au logiciel CHIMIO™, via le module « standardisation ». Ainsi lorsqu'une prescription est réalisée, le pharmacien peut attribuer une poche fille au patient. Le numéro de lot attribué à chaque patient est retrouvé informatiquement. La traçabilité est exclusivement informatique.

- L'échantillothèque

L'objectif de l'échantillonnage est de conserver un volume minimal représentatif du lot afin de refaire tous les contrôles cités. Les échantillons doivent être conservés dans les conditions optimales pour maintenir leur stabilité. Ainsi, le nombre de poches filles échantillonnées par lots produits, dépend de leur volume et de celui nécessaire pour refaire des contrôles. L'essai de stérilité entraîne la mobilisation de plusieurs poches filles du lot. C'est le facteur déterminant la quantité de préparations à échantillonner.

III.3.2.5. Application de la production de doses standards d'aciclovir

La mise en application de la standardisation pour l'aciclovir a été réalisée avant l'acquisition de la pompe péristaltique et du module informatique. Les objectifs étaient de sensibiliser les médecins à la prescription de doses standardisées et d'évaluer avec quelques mois de recul les doses standards les plus prescrites. Une fiche d'aide à la prescription a été fournie aux médecins afin de faciliter la prescription de doses standards puisque le module « standardisation » n'était pas disponible.

L'évaluation des prescriptions des doses arrondies après 4 mois a retrouvé la répartition présentée dans le tableau XXIX.

Tableau XXIX : Répartition des doses prescrites standardisées entre le 01/10/2015 et le 29/02/2016

Dose (mg)	Nombre de doses préparées	Nombre de doses préparées/semaine
300	920	44
400	1360	65
600	125	6
800	354	17
1000	769	37

Sur la période d'octobre 2015 à Février 2016, 139 doses non standardisées ont été produites soit 3,7% de la production totale d'aciclovir.

Ainsi sur les 5 doses standardisées choisies, seulement 3 ont une fréquence de prescription élevée : 300, 400 et 1000 mg. Le nombre de prescription par semaine est important puisque en moyenne une cinquantaine de poches sont fabriquées pour chacune de ces trois doses.

La fabrication semi-automatisée de lots de doses standards n'étant pas opérationnelle, les préparations de doses arrondies d'aciclovir suivaient le même circuit que celui des préparations magistrales. Cependant ces informations sont indispensables à l'organisation des campagnes de production en lots.

Par exemple, le tableau XXX reprend les quantités de poches mères de 3 litres d'aciclovir à 5 mg/ml à fabriquer par campagne de fabrication, afin de produire deux semaines de stocks de poches filles. La dose de 1000 mg est contraignante à fabriquer puisque 8 poches mères sont nécessaires pour fabriquer 100 poches filles. Une campagne de production de lots de 50 poches filles par semaine semblerait plus appropriée.

L'évaluation du temps de production n'est pas possible sans la pompe péristaltique. Cette donnée est cependant primordiale afin de statuer sur l'organisation des campagnes de production.

Tableau XXX : Exemple de production de poches filles d'aciclovir de différents dosages à partir d'une poche mère

Dose standard	300 mg	400 mg	1000 mg
Volume final poche fille	60 mL	80 mL	200 mL
Nombre moyen de poches/campagne	100	100	100
Nombre de poche mère de 3L	2	/	4
Nombre de poche mère de 2L	/	4	4
Nombre de poches filles/lot*	50	50	15 (mère 3L)/ 10 (mère 2L)

**Une poche mère représente un lot.*

L'ensemble de ce circuit, ainsi que les nouvelles méthodes de contrôles décrites concernent l'aciclovir mais également tous les cytotoxiques dont la stabilité physico-chimique est supérieure à 14 jours. Ce nouveau mode de fabrication permet d'améliorer la sécurisation du circuit : d'une part grâce aux contrôles libérateurs supplémentaires qui ont été instaurés, et d'autre part grâce à l'homogénéisation de la fabrication par pompe péristaltique permettant d'augmenter la précision des doses fabriquées mais également de diminuer les erreurs de manipulations.

CONCLUSION

Depuis la découverte des premiers cytotoxiques, après la seconde guerre mondiale, les doses d'anticancéreux sont calculées selon la surface corporelle ou le poids. Pour les cytotoxiques, la surface corporelle a détrôné le poids dans les années 50, puisqu'elle semblait plus adaptée pour prédire l'activité physiologique et entraînait moins de variabilité interindividuelle [8]. Le rationnel scientifique de l'utilisation de la surface corporelle pour prédire l'activité d'un cytotoxique n'a cependant pas été prouvé et a même été de nombreuses fois controversé. Plusieurs études ont montré que la surface corporelle n'était pas corrélée aux paramètres pharmacocinétiques pour la plupart des anticancéreux, et qu'elle ne permettrait donc pas de pallier les variabilités inter ou intraindividuelle [5] [12] [13] [15] [16].

D'autres méthodes de détermination des doses ont été proposées, comme l'étude du polymorphisme génotypique dans l'expression de certaines enzymes impliquées dans le métabolisme, le dosage plasmatique des anticancéreux, ou encore le contrôle des paramètres pharmacocinétiques. Mais elles sont difficilement applicables en pratique, notamment parce que le bénéfice clinique n'a pas été démontré [3].

Faute de méthodes de calcul de doses plus précises que les paramètres morphologiques et facilement applicables en routine, la surface corporelle ou le poids sont aujourd'hui encore les paramètres de référence utilisés dans les essais cliniques.

La centralisation des préparations d'anticancéreux est obligatoire dans les centres de référence en cancérologie. Avec l'augmentation de l'incidence des cancers et le développement perpétuel de nouveaux traitements anticancéreux, l'activité de préparation dans les URC augmente considérablement depuis quelques années. Les pharmacies doivent faire face à l'augmentation de la charge de travail, bien souvent à effectifs et moyens constants. Les unités de fabrication du CHU de Bordeaux ne dérogent pas à ce constat avec 80 000 préparations réalisées en 2015. C'est pourquoi, le concept du « Dose-Banding » développé depuis plus de 20 ans au Royaume-Uni a été mis en place.

Le «Dose-Banding» est un concept dans lequel les doses calculées selon un paramètre morphologique (SC ou poids) sont réparties en bandes, ou intervalles, et à chaque bande est attribuée une dose dite standard. Dans le concept original, défini par Plumridge dans les

années 2000, la variation maximale entre les doses situées aux bornes de l'intervalle et la dose standard était de 5% [27]. Ainsi, en accord avec les médecins, 5 doses standards maximum par principes actifs sont déterminées et permettent de couvrir une proportion importante de patients.

Depuis quelques années, cette méthode de calcul de doses est utilisée internationalement. De nombreux avantages ont été relevés tels que la réduction du temps d'attente des patients, une réduction des coûts, une amélioration de l'organisation de l'activité au sein des unités de production permettant de réduire les erreurs de manipulation, de réduire le stress, d'apporter plus de précision aux préparations délivrées. Cela est possible par la fabrication anticipée, si possible en lots, de doses arrondies. Aucun retour négatif en ce qui concerne une perte d'efficacité ou une augmentation de la toxicité n'a été retrouvé dans la littérature.

L'objectif de ce travail a été d'étudier la faisabilité de l'application du « Dose-Banding » à deux principes actifs pilotes : l'inflximab (Remicade®) et l'aciclovir. L'élaboration d'un groupe de réflexion pluridisciplinaire est indispensable pour l'instauration du concept au sein d'un établissement. En s'appuyant sur la méthodologie publiée de l'Institut Curie et de l'hôpital Saint-Louis, des critères d'éligibilité de principes actifs standardisables ainsi que des critères de détermination des doses ont été établis [38]. L'écart maximum admis entre la dose standard et les doses situées aux bornes de l'intervalle est de +/- 5% pour les cytotoxiques, +/-10% pour le Remicade® et +/- 15% pour l'aciclovir. Ce sont les propriétés pharmacocinétiques, et plus précisément la marge thérapeutique qui ont conditionnées la détermination de la variation maximale. Les points primordiaux à analyser pour standardiser un principe actif sont : les volumes de production annuelle, le coût et la stabilité physico-chimique. Ce sont ces deux derniers éléments qui déterminent l'appartenance à l'un des deux circuits de préparation anticipée que nous avons établis :

- La production en lots en amont des prescriptions (cas de l'aciclovir)
- La préparation en série de doses prescrites (cas du Remicade®)

La production en lots exige un procédé semi automatisé qui augmente le rendement et la précision des préparations. Elle exige également une qualité irréprochable des conditions de conservation : la conditionneuse sous vide permet de maintenir la stérilité qui aura été évaluée par un essai de stérilité effectué sur produit fini.

En effet, la fabrication en lots impose des contrôles supplémentaires à ceux réalisés sur une préparation magistrale stérile et notamment un essai de stérilité. La validation de la méthode de microbiologie rapide BacT/ALERT® pour les préparations d'aciclovir a été accomplie. Cette méthode d'ensemencement direct a été choisie en raison d'un réel gain de temps, et d'une précision et sensibilité similaire aux autres techniques.

La limite principale au développement du « Dose-Banding » est le peu de données bibliographiques retrouvées dans la littérature. L'absence d'études cliniques évaluant la non-infériorité du « Dose-Banding » par rapport au calcul de doses selon la surface corporelle est un frein à l'augmentation de la variation maximale au-delà de 5%. La stabilité physico-chimique peut être limitante pour certains principes actifs. Des études de stabilités conformes aux différentes réglementations sont nécessaires [65] [66] [89]. La congélation pourrait également être une alternative intéressante à mettre en place [90] [91].

La dernière limite que nous avons rencontrée concerne la résistance des matériaux constituant les semi-automates d'aide à la fabrication, à la stérilisation par mélange d'acide peracétique et de peroxyde d'hydrogène. Cette technique de stérilisation sous isolateur est peu employée au niveau international. Les fournisseurs rencontrent des difficultés à certifier que les pompes ne se détérioreraient pas à l'exposition répétée au mélange.

Ce travail résume les différents circuits mis en place pour la standardisation de l'aciclovir et du Remicade®. Le « Dose-Banding » appliqué à ces deux principes actifs n'est pas courant puisque seule une publication mentionne la standardisation du Remicade® dans la littérature [47]. La production en lots ou en série allait débiter lors de la rédaction de ce mémoire, et un retour d'expérience sur ces deux principes actifs sera nécessaire. Les doses standards pour 4 cytotoxiques ont été établies en concertation pluridisciplinaire (oxaliplatine, irinotécan, gemcitabine et 5-fluorouracile) et leur production en lots sera effective dès que l'aciclovir aura permis d'optimiser le circuit.

La prochaine étape du processus d'automatisation de la production est l'acquisition de robots. Deux robots seront installés d'ici 2017, leur qualification entrera dans le cadre d'un partenariat d'innovation. C'est une évolution importante qui positionnera le CHU de Bordeaux comme l'un des pionniers en la matière.

BIBLIOGRAPHIE

1. Caty-Villa C. Les interactions médicamenteuses. [Internet]. [cité 2016 mars 27]; Disponible sur: <http://slideplayer.fr/slide/492808/>
2. Puisset F. Variabilité interindividuelle pharmacocinétique et pharmacodynamique en oncologie : application au docetaxel et à la vinorelbine (175 pages). Thèse Doctorat : pharmacologie, Toulouse, 2007. [Internet]. [cité 2016 févr 13]; Disponible sur: http://thesesups.ups-tlse.fr/79/1/Puisset_Florent.pdf
3. Mathijssen RHJ, de Jong FA, Loos WJ, van der Bol JM, Verweij J, Sparreboom A. Flat-fixed dosing versus body surface area based dosing of anticancer drugs in adults: does it make a difference? *Oncologist* 2007;12:913-23.
4. Du Bois D, Du Bois EF. A formula to estimate the approximate surface area if height and weight be known. 1916. *Nutrition* 1989;5:303-13.
5. Sawyer M, Ratain MJ. Body surface area as a determinant of pharmacokinetics and drug dosing. *Invest New Drugs* 2001;19:171-7.
6. Gehan EA, George SL. Estimation of human body surface area from height and weight. *Cancer Chemother Rep* 1970;54:225-35.
7. Mitchell D, Strydom NB, van Graan CH, van der Walt WH. Human surface area: comparison of the Du Bois formula with direct photometric measurement. *Pflüg. Arch* 1971;325:188-90.
8. Pinkel D. The use of body surface area as a criterion of drug dosage in cancer chemotherapy. *Cancer Res* 1958;18:853-6.
9. Reagan-Shaw S, Nihal M, Ahmad N. Dose translation from animal to human studies revisited. *FASEB J* 2008;22:659-61.
10. Guidance for Industry. Estimating the Maximum Safe Starting Dose in Initial Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers. FDA, 2005. [Internet]. [cité 2015 déc 31]; Disponible sur: <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/.../Guidances/UCM078932.pdf>

11. Kaestner SA, Sewell GJ. Chemotherapy dosing part I: scientific basis for current practice and use of body surface area. *Clin Oncol R Coll Radiol* 2007;19:23-37.
12. Baker SD, Verweij J, Rowinsky EK, Donehower RC, Schellens JHM, Grochow LB, et al. Role of body surface area in dosing of investigational anticancer agents in adults, 1991-2001. *J Natl Cancer Inst* 2002;94:1883-8.
13. Grochow LB, Baraldi C, Noe D. Is dose normalization to weight or body surface area useful in adults? *J Natl Cancer Inst* 1990;82:323-5.
14. Gurney H. Dose calculation of anticancer drugs: a review of the current practice and introduction of an alternative. *J Clin Oncol* 1996;14:2590-611.
15. Gurney H. How to calculate the dose of chemotherapy. *Br J Cancer* 2002;86:1297-302.
16. Felici A, Verweij J, Sparreboom A. Dosing strategies for anticancer drugs: the good, the bad and body-surface area. *Eur J Cancer* 2002;38:1677-84.
17. Paintaud G. [Pharmacokinetics (PK) of mAbs]. *Med Sci Paris* 2009;25:1057-62.
18. Wang W, Wang EQ, Balthasar JP. Monoclonal antibody pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Clin Pharmacol Ther* 2008;84:548-58.
19. Bai S, Jorga K, Xin Y, Jin D, Zheng Y, Damico-Beyer LA, et al. A guide to rational dosing of monoclonal antibodies. *Clin Pharmacokinet* 2012;51:119-35.
20. Wang DD, Zhang S, Zhao H, Men AY, Parivar K. Fixed dosing versus body size-based dosing of monoclonal antibodies in adult clinical trials. *J Clin Pharmacol* 2009;49:1012-24.
21. Ng CM, Lum BL, Gimenez V, Kelsey S, Allison D. Rationale for fixed dosing of pertuzumab in cancer patients based on population pharmacokinetic analysis. *Pharm Res* 2006;23:1275-84.
22. Garg A, Quartino A, Li J, Jin J, Wada DR, Li H, et al. Population pharmacokinetic and covariate analysis of pertuzumab, a HER2-targeted monoclonal antibody, and evaluation of a fixed, non-weight-based dose in patients with a variety of solid tumors. *Cancer Chemother Pharmacol* 2014;74:819-29.

23. Chatelut E, Puisset F. The scientific basis of body surface area-based dosing. *Clin Pharmacol Ther* 2014;95:359-61.
24. Gao B, Klumpen H-J, Gurney H. Dose calculation of anticancer drugs. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2008;4:1307-19.
25. Chatelut E, White-Koning ML, Mathijssen RH, Puisset F, Baker SD, Sparreboom A. Dose banding as an alternative to body surface area-based dosing of chemotherapeutic agents. *Br J Cancer* 2012;107:1100-6.
26. Baker JP, Jones SE. Rationalisation of chemotherapy services in the University Hospital Birmingham National Health Science Trust. *J Oncol Pharm Pr*. 1998;4:10-4.
27. Plumridge RJ, Sewell GJ. Dose-banding of cytotoxic drugs: a new concept in cancer chemotherapy. *Am J Health Syst Pharm* 2001;58:1760-4.
28. Zavery B, Marsh G. Could logarithmic dosing change the way cytotoxics are prescribed? *Clinical Pharm*. 2011;(3):116-117 [Internet]. [cité 2016 janv 6]; Disponible sur: http://www.pharmaceutical-journal.com/files/rps-pjonline/pdf/cp201104_viewpoint-116.pdf
29. Hennebicq S, Secretan PH, Carrez L, Hecq JD. [Standard doses applied to preparations of injectable drugs and their reconstitution in the hospital: methodology and implementation]. *J Pharm Belg* 2014;42-54.
30. Institute for Safe Medication Practices (ISMP). List of High-Alert medications in acute care setting. [Internet]. [cité 2016 janv 6]; Disponible sur: <http://www.ismp.org/tools/highalertmedications.pdf>
31. Hecq J-D. Centralized intravenous additive services (CIVAS): the state of the art in 2010. *Ann Pharm Fr* 2011;69:30-7.
32. Baker JP, Jones SE. Rationalisation of chemotherapy services in the University Hospital Birmingham National Health Science Trust. *J Oncol Pharm Pr*. 1998;4:10-4.
33. Gillian A. Cancer Network Pharmacists Forum. Dose-Banding Toolkit: How to implement Dose-Banding of chemotherapy. 2008 [Internet]. [cité 2015 déc 16]; Disponible sur: http://www.bopawebsite.org/contentimages/publications/Toolkit_Ver_3.0_FINAL.pdf
34. Pérez Huertas P, Cueto Sola M, Escobar Cava P, Borrell García C, Albert Marí A,

López Briz E, et al. [Applying dose banding to the production of antineoplastic drugs: a narrative review of the literature]. *Farm Hosp* 2015;39:210-6.

35. Williamson S, Polwart C. North of England Cancer Network (NHS). Guidelines for the dose-banding of cancer chemotherapy. 2013 [Internet]. [cité 2015 déc 18]; Disponible sur: http://www.nescn.nhs.uk/wp-content/uploads/2012/11/NECN-dose-banding-guidelines-version-1_5.pdf

36. Faure S. Les préparations hospitalières de médicaments anticancéreux à doses standardisées (concept de « dose-banding »): une nouvelle technique de fabrication au CHR de Metz-Thionville. Thèse d'exercice en Pharmacie. Nancy, 2010 [Internet]. [cité 2015 déc 15]; Disponible sur: http://docnum.univ-lorraine.fr/public/SCDPHA_T_2010_FAURE_SIDONIE.pdf

37. Hurgon A. Préparation des cytotoxiques en séries. Séminaire Maitrise universitaire d'études avancées en pharmacie hospitalière (MAS). CHUV, 2014. [Internet]. [cité 2015 déc 14]; Disponible sur: http://files.chuv.ch/internet-docs/pha/enseignement/pha_seminaire_mas_2014_hurgon.pdf

38. Pouliquen A-L, Escalup L, Jourdan N, Cottu P, Faure P, Madelaine-Chambrin I. Dose standardisation of anticancer drugs. *Int J Clin Pharm* 2011;33:221-8.

39. Fouque J, Belhabib G, Verrière B, Aboudagga H, Prognon P, Havard L. Evaluation de la préparation par campagne de diffuseurs de 5-fluorouracil à partir d'une solution mère. Congrès du Gerpac, Presqu'île de Ponant - La Grande Motte, 2012. [Internet]. [cité 2016 mars 12]; Disponible sur: https://www.scribd.com/embeds/108998235/content?start_page=1&view_mode=slideshow&access_key=key-23zv0znpe1kuy0u5dqiy

40. Leth-Miller D. Dose-banding of gemcitabine. Practice Research & innovation. Disponible sur <http://archive.eahp.eu/content/download/25375/165741/file/PRI52.pdf>.

41. Jenkins P, Wallis R. Dose-rounding of adjuvant chemotherapy for breast cancer: an audit of toxicity. *J Oncol Pharm Pr.* 2010;16:251-5.

42. Loboda C. Standardisation des doses d'anticancéreux : enquête européenne et extension du concept aux services d'Hépatogastroentérologie, de pneumologie et de

neurologie du CHU de Nancy. Thèse d'exercice; DES de pharmacie hospitalière, Nancy, 2014. [Internet]. [cité 2015 déc 15]; Disponible sur: http://docnum.univ-lorraine.fr/public/BUPHA_T_2014_LOBODA_CAROLINE.pdf

43. Loison G. Mise en place des doses standards de chimiothérapie au centre hospitalier du Mans. Thèse d'exercice; DES de pharmacie hospitalière. Le Mans, 2013. 2013 [Internet]. [cité 2015 déc 15]; Disponible sur: <http://dune.univ-angers.fr/fichiers/20043628/2013PDEPH1615/fichier/1615F.pdf>

44. Meunier F, Faye K, Ménard M, Cobzaru O, Torner-Aupecle P, Clément I et al. Optimisation de l'organisation en URC par anticipation et impact pharmaco-économique: exemple d'une molécule onéreuse. Congrès de la SFPO, Nantes, 2015 [Internet]. [cité 2016 mars 7]; Disponible sur: <http://www.sfpo.com/wp-content/uploads/2015/10/posters/poster-58.pdf>

45. Kaatz O, Lemarignier C, Ancel M, Roncalez D. Une expérience de standardisation de dose : Application aux anticorps monoclonaux. Congrès du GERPAC, Presqu'Île de Giens. 2009 [Internet]. [cité 2016 mars 7]; Disponible sur: <http://www.gerpac.eu/spip.php?article134>

46. Hennebicq S, Secretan PH, Carrez L, Hecq JD. Présentation d'une démarche d'aide et de réflexion pour la mise en place de doses standards appliquée aux préparations et reconstitution d'injectables en milieu hospitalier. Journal de Pharmacie de Belgique 96, 42-54. [Internet]. [cité 2016 mars 27]; Disponible sur: https://www.researchgate.net/profile/Laurent_Carrez/publication/262145142_Standard_doses_applied_to_preparations_of_injectable_drugs_and_their_reconstitution_in_the_hospital_methodology_and_implementation/links/53d7a6950cf2a19eee7fcadc.pdf

47. Winger BJ, Clements EA, DeYoung JL, O'Rourke TJ, Claypool DL, Vachon S, et al. Cost savings from dose rounding of biologic anticancer agents in adults. *J Oncol Pharm Pr.* 2011;17:246-51.

48. Soumoy L, Pirlot C, Decosta L, Gillet P, Hecq J-D. Etude préliminaire pour l'implémentation d'un dose-banding de chimiothérapie anticancéreuse. *J Pharm Belg* 2015;3:24-35.

49. Descombes L, Chennell P, Chevrier R, Doly M. Impact de deux processus de préparations anticipées et du contrôle analytique sur le temps de dispensation au sein d'un

centre de lutte contre le cancer. *Pharm Hosp Clin* 2015;50:259-65.

50. Paul M. Standardisation des doses de chimiothérapie à Henri Mondor. *OncoNews*, la lettre CAHPP. 2011(4) [Internet]. [cité 2016 mars 7]; Disponible sur: http://www.cahpp.fr/wp-content/uploads/2011/09/Onco-News-4_Sept11-A4.pdf
51. Callanquin M, Loubière A, Pichard C, Rousselot P, Cadot C. Mise en place de la préparation anticipée nominative d'anticancéreux à doses standards arrondies. *Pharm Hosp Clin* 2014; 49:307-341.
52. Martignoni S, Podilsky G, Gay B, Pannatier A. Interest of dose banding in the preparation of 5-FU infusors in ambulatory care. European association of hospital pharmacists (Eahp). Paris, 2013. [Internet]. [cité 2015 déc 16]; Disponible sur: http://files.chuv.ch/internet-docs/pha/recherche/pha_poster_2013_eahp_dose_banding_smar.pdf
53. MacLean F, Macintyre J, McDade J, Moyes D. Dose banding of chemotherapy in the Edinburgh Cancer Centre. *Pharm. J.* 2003;270:691-3.
54. Hirte HW, Kagoma S, Zhong L, Collins I, Burns D, Rand C, et al. Dose banding of chemotherapy doses at the Juravinski Cancer Centre. *ASCO Meet. Abstr.* 2006;24:6099.
55. Soumoy L, Pirlot C, Decoster C, Leonard N, Gillet P, Hecq JD. PP-014 Preliminary study to implement dose banding in a teaching hospital. *Eur J Hosp Pharm* 2014;21:A127-A127.
56. Field K, Zelenko A, Kosmider S, Court K, Ng L-L, Hibbert M, et al. Dose rounding of chemotherapy in colorectal cancer: an analysis of clinician attitudes and the potential impact on treatment costs. *Asia Pac J Clin Oncol* 2010;6:203-9.
57. Reinhardt H, Trittler R, Wohrl S, Grob B, Kleber M, Kaiser S et al.. Dose-banding of chemotherapy agents and its implications for hematology-oncology practice. Congrès ADKA. Hambourg 2014 [Internet]. [cité 2015 déc 18]; Disponible sur: http://www.adka.de/solva_docs/ADKAPosterHamburg2014_reinhardt.pdf
58. Kaestner SA, Sewell GJ. A national survey investigating UK prescribers' opinions on chemotherapy dosing and « dose-banding ». *Clin Oncol R Coll Radiol* 2009;21:320-8.

59. Kaestner S, Sewell G. Dose-banding of carboplatin: rationale and proposed banding scheme. *J Oncol Pharm Pr.* 2007;13:109-17.
60. Kaestner SA, Sewell GJ. Chemotherapy dosing part II: alternative approaches and future prospects. *Clin Oncol R Coll Radiol* 2007;19:99-107.
61. Corriol O, Crauste-Manciet S, Arnaud P, Brion F, Brossard D, Causse R, et al. Recommandations pour la préparation des mélanges de nutrition parentérale. *Nutr. Clin. Métabolisme* 2005;19:30-55.
62. Bonnes pratiques de préparation, Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé. 2007 [Internet]. [cité 2015 nov 30]; Disponible sur: http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/a5d6ae4b3d5fdee013ca463462b7b296.pdf
63. Pharmacopée Européenne. Edition 8.7 [Internet]. [cité 2015 déc 10]; Disponible sur: <http://online6.edqm.eu/ep807/>
64. Recommendation of the validation of aseptic processes. PIC/S 2011 [Internet]. [cité 2016 mars 6]; Disponible sur: http://www.picscheme.org/pdf/26_pi007-6recommendationonasepticprocesses.pdf
65. Santillo M, Barnes A, Douris G, Goddard W, Hiom S, Jackson M, et al. A Standard Protocol for Deriving and Assessment of Stability. Part 2: Aseptic Preparations (Biopharmaceuticals). NHS Pharmaceutical Quality Assurance Committee. 2012 [Internet]. mAbstalk.com [cité 2016 mars 3]; Disponible sur: <http://mabstalk.com/a-standard-protocol-for-deriving-and-assessment-of-stability/>
66. Bardin C, Astier A, Vulto A, Sewell G, Vigneron J, Trittler R, et al. Guidelines for the practical stability studies of anticancer drugs: a European consensus conference. *Ann Pharm Fr* 2011;69:221-31.
67. Guide méthodologique des études de stabilité des préparations. SFPC et GERPAC. 1ère Ed. 2013.
68. Gibaud S. Les polymères et leur chimie. Laboratoire de pharmacie clinique et biotechnique. Nancy [Internet]. [cité 2016 janv 28]; Disponible sur: <http://www.pharmclin.uhp->

nancy.fr/gibaudcours/Les%20polymeres%20et%20leur%20chimie.pdf

69. Ikeda R, Vermeulen LC, Lau E, Jiang Z, Saha S, Reichelderfer M, et al. Stability of infliximab in polyvinyl chloride bags. *Am J Health Syst Pharm* 2012;69:1509-12.

70. Guirao S, Paul M, Jaccoulet E, Morand K, Astier A. Stabilité de l'infliximab en solutions diluées. Congrès de l'APHIF, Paris. 2009. [Internet]. [cité 2016 mars 12]; Disponible sur: <http://www.stabilis.org/FichesBiblio/3317.pdf>

71. Robert M-C, Spurr-Michaud S, Frenette M, Young D, Gipson IK, Dohlman CH. Stability and in vitro toxicity of an infliximab eye drop formulation. *Int J Pharm Compd* 2014;18:418-26.

72. Moreau A, Demolis P, Cavalié P. Les médicaments biosimilaires Etat des lieux. Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé. 2013 [Internet]. [cité 2016 janv 30]; Disponible sur: http://www.anism.sante.fr/var/anism_site/storage/original/application/6187b427efca64d2a15e496ff691158e.pdf

73. Young BL, Khan MA, Chapman TJ, Parry R, Connolly MA, Watts AG. Evaluation of the physicochemical and functional stability of diluted REMSIMA(®) upon extended storage- A study compliant with NHS (UK) guidance. *Int J Pharm* 2015;

74. Zhang Y, Trissel LA, Martinez JF, Gilbert DL. Stability of acyclovir sodium 1, 7, and 10 mg/mL in 5% dextrose injection and 0.9% sodium chloride injection. *Am J Health Syst Pharm* 1998;55:574-7.

75. Das Gupta V, Pramar Y, Bethea C. Stability of acyclovir sodium in dextrose and sodium chloride injections. *J Clin Pharm Ther* 1989;14:451-6.

76. Dewulf J, Galanti L, Godet M, Gillet P, Jamart J, Hecq J-D. Long-term stability of acyclovir in 0.9% NaCl infusion polyolefin bags at 5±3°C after freeze-thaw treatment: A generic product versus the brand name. *Ann Pharm Fr* 2015;73:108-13.

77. Kaestner S, Sewell G. Pharmacoeconomic aspects of dose-banding [Internet]. *Hosp. Pharm. Eur.* [cité 2016 mars 13]; Disponible sur: <http://www.hospitalpharmacyeurope.com/featured-articles/pharmacoeconomic-aspects-dose-banding>

78. Bugno A, Lira RS, Oliveira WA, Almodovar AAB, Saes DPS, Pinto T de JA. Application of the BacT/ALERT 3D system for sterility testing of injectable products. *Braz J Microbiol* 2015;46:743-7.
79. Sarakbi I, Heeb R, Thiesen J, Krämer I. Viability of Selected Microorganisms in Non-Cytotoxic Aseptic Preparations. *Pharm Technol Hosp Pharm* [Internet] 2016 [cité 2016 mars 16];0. Available from: <http://www.degruyter.com/view/j/pthp.ahead-of-print/pthp-2015-0007/pthp-2015-0007.xml?format=INT>
80. Parveen S, Kaur S, David SAW, Kenney JL, McCormick WM, Gupta RK. Evaluation of growth based rapid microbiological methods for sterility testing of vaccines and other biological products. *Vaccine* 2011;29:8012-23.
81. Essai de Stérilité (2.6.1). Pharmacopée européenne. 8ème Edition.
82. Jimenez L, Rana N, Amalraj J, Walker K, Travers K. Validation of the BacT/ALERT(R) 3D System for Rapid Sterility Testing of Biopharmaceutical Samples. *PDA J Pharm Sci Technol* 2012;66:38-54.
83. Quatremare E. Nutrition parentérale et maîtrise du risque microbiologique: validation d'une méthode alternative pour l'essai de stérilité des mélanges nutritifs « à la carte ». Thèse d'exercice; DES de pharmacie Hospitalière. Rouen, 2014 [Internet]. [cité 2016 févr 28]; Disponible sur: <http://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01118532/document>
84. Pigué C, Jeannot J-L, Jumas-Bilak E, Florent M. O019 Contrôle microbiologique des mélanges de nutrition parentérale «à la carte»: comparaison d'un milieu diphasique pour hémoculture, de l'automate Bact/Alert® et de l'essai de stérilité selon la pharmacopée européenne. *Nutr. Clin. Métabolisme* 2007;21, Supplement 2:40-1.
85. Jimenez. Optimisation de la production biopharmaceutique par le système BacT/ALERT 3D. *Salles Propres* 2012;81:34-40.
86. Moine M, Ménard C, Sankhare D, Ventroux G, Breteau V, Faure P, et al. Préparation manuelle ou semi-automatisée de petits lots : quelle est la préférence du préparateur ? Congrès du GERPAC, presque île de Giens. 2015 [Internet]. [cité 2016 mars 8]; Disponible sur: <http://www.gerpac.eu/spip.php?article1222>
87. L'ébullition de l'eau est uniquement liée à sa température. 2012 [Internet]. *Connaiss.*

Énerg. [cité 2016 mars 1]; Disponible sur: <http://www.connaissancedesenergies.org/l-ebullition-de-l-eau-est-uniquement-liee-a-sa-temperature-121113>

88. Sizer T, Rhodes J, Hiom S, Oldcorne M, Musker L, Shaw J et al. Protocols for the integrity testing of syringes. NHS Pharmaceutical Quality Assurance Committee. 2nd Ed. 2013 [Internet]. [cité 2016 mars 1]; Disponible sur: <http://www.pasg.nhs.uk/downloads.php?did=266>

89. Vigneron J, Astier A, Trittler R, Hecq JD, Daouphars M, Larsson I, et al. SFPO and ESOP recommendations for the practical stability of anticancer drugs: an update. *Ann Pharm Fr* 2013;71:376-89.

90. Hecq J-D, Godet M, Jamart J, Galanti L. Microwave freeze-thaw technique of injectable drugs. A review from 1980 to 2014. *Ann Pharm Fr* 2015;73:436-41.

91. Hecq J-D, Vanbeckbergen D, Jamart J, Galanti L. Physico-chemical analysis of several injectable drug in ready-to-use infusion after microwave freeze-thaw treatment and final storage at 5±3°C. *Ann Pharm Fr* 2011;69:270-6.

92. Stabilis®. Stabilité et compatibilité des médicaments. [Internet]. [cité 2016 mars 23]; Disponible sur: <http://www.stabilis.org/>

93. Eiden C, Philibert L, Bekhtari K, Poujol S, Malosse F, Pinguet F. Physicochemical stability of oxaliplatin in 5% dextrose injection stored in polyvinyl chloride, polyethylene, and polypropylene infusion bags. *Am J Health Syst Pharm* 2009;66:1929-33.

94. Junker A, Roy S, Desroches M-C, Moussay C, Berhounne M, Bellanger A, et al. Stability of oxaliplatin solution. *Ann Pharmacother* 2009;43:390-1.

95. André P, Cisternino S, Roy A-L, Chiadmi F, Schlatter J, Agranat P, et al. Stability of oxaliplatin in infusion bags containing 5% dextrose injection. *Am J Health Syst Pharm* 2007;64:1950-4.

96. Thiesen J, Krämer I. Physicochemical stability of irinotecan injection concentrate and diluted infusion solutions in PVC bags. *J Oncol Pharm Pr.* 2000;6:115-21.

97. Vincke BJ, Verstraeten AE, El Eini DID, McCarthy TM. Extended stability of 5-fluorouracil and methotrexate solutions in PVC containers. *Int J Pharm* 1989;54:181-9.

98. Galanti L, Lebitasy MP, Hecq J-D, Cadrobbi J, Vanbeckbergen D, Jamart J. Long-term stability of 5-Fluorouracil in 0.9% sodium chloride after freezing, microwave thawing, and refrigeration. *Can J Hosp Pharm* 2009;62:34-8.
99. Stiles ML, Allen LV, Tu YH. Stability of fluorouracil administered through four portable infusion pumps. *Am J Hosp Pharm* 1989;46:2036-40.
100. Northcott M, Allsopp MA, Powell H, Sewell GJ. The stability of carboplatin, diamorphine, 5-fluorouracil and mitozantrone infusions in an ambulatory pump under storage and prolonged « in-use » conditions. *J Clin Pharm Ther* 1991;16:123-9.
101. Stiles ML, Allen LV, Prince SJ. Stability of deferoxamine mesylate, floxuridine, fluorouracil, hydromorphone hydrochloride, lorazepam, and midazolam hydrochloride in polypropylene infusion-pump syringes. *Am J Health Syst Pharm* 1996;53:1583-8.
102. Rochard E, Chapelle G, Bouquet S, Barthes D, Courtois PH. Stability of fluorouracil and cytarabine in ethylvinylacetate containers. *J Pharm Clin* 1990;9:31-5.
103. Rochard EB, Barthes DM, Courtois PY. Stability of fluorouracil, cytarabine, or doxorubicin hydrochloride in ethylene vinylacetate portable infusion-pump reservoirs. *Am J Hosp Pharm* 1992;49:619-23.
104. Xu Q, Zhang Y, Trissel LA. Physical and chemical stability of gemcitabine hydrochloride solutions. *J Am Pharm Assoc Wash* 1999;39:509-13.
105. Beitz C, Bertsch T, Hannak D, Schrammel W, Einberger C, Wehling M. Compatibility of plastics with cytotoxic drug solutions—comparison of polyethylene with other container materials. *Int J Pharm* 1999;185:113-21.

ANNEXES

ANNEXE 1

Les caractéristiques particulières et les recommandations inhérentes aux zones à atmosphère contrôlée.

Tableau 1 : Caractéristiques particulières des différentes zones d'atmosphère contrôlée.

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

Tableau 2 : Recommandations pour la surveillance microbiologique des zones d'atmosphère contrôlée en activité.

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

ANNEXE 2

Les données de stabilité extraites de Stabilis® [92]

Tableau XXXI : Stabilité de l'oxaliplatine.

molécule	Contenant	laboratoire	concentrations	diluant	température	abris de la lumière	jours	source	niveau de preuve selon Stabilis
oxaliplatine	PP	Kabi	0,1mg/ml	G5	2 -8	non précisé	28	données labo AMM	NR
					25				
	PE/PP	NP	0,2 mg/ml	G5	20	oui ou non	14	[93]	A
	PE/PP	NP	1,3mg/ml		4	oui	14		A
	PE/PP	NP		G5	20	oui ou non	14		A
	PE/PP	NP			4	oui	14		A
	POF	NP	0,25mg/ml	G5	25	oui ou non	90	[94]	C
					4	oui	90		C
		NP	0,7 mg/ml	G5	20-24	oui ou non	30	[95]	A
					3-7	oui	30		A

Tableau XXXII : Stabilité de l'irinotécan.

molécule	Contenant	laboratoire	concentrations	diluant	température	abris de la lumière	jours	source	niveau de preuve selon Stabilis
irinotécan	PVC/PE	Pfizer (Campto)	NP mais dilution poche 250 ml	Nacl ou G5	5-30	oui	28	Données labo : AMM	NR
						non	3		
	PVC	NR	0,4 à 2,8 mg/ml	Nacl ou G5	2-8	oui	28	[96]	A
					25	oui	28		
	PP	Kabi	0,4 à 2,8 mg/ml	Nacl ou G5	2-8	NP	84	données labo	NR
					15-25	NP	84		

Tableau XXXIII : Stabilité du 5-fluorouracile.

molécule	Contenant	laboratoire	concentrations	diluant	température	abris de la lumière	jours	source	niveau de preuve selon Stabilis
5-Fu	PVC		5mg/ml	Nacl	2-8	oui	91	[97]	A
	PVC	Fluracedyl, Teva Pharma Belgium	8 mg/ml	Nacl	-20	oui	79	[98]	A+
					5	oui	28		
	PVC	NR	50 mg/ml	pur	25	oui	7	[99]	A+
					37	oui	7		A+
	PVC	5-Fluorouracil, Sigma Chemical Co, Poole, UK	25 mg/ml	pur	37	oui	14	[100]	A
	4	oui	14						
	PP	NR	50 mg/ml	pur	30	NP	21	[101]	B
	PP	labo Kabi	50 mg/ml	pur	25	NP	28	données labo Fresenius pour Freeflex	
	EVA		10 mg/ml	Nacl ou G5	25	oui	28	[102]	A
					35	oui	28		
					4	oui	28		
					50 mg/ml	pur	25		
	EVA		10 mg/ml	Nacl ou G5	22	oui	28	[103]	A
					35	oui	28		
50 mg/ml			pur	22	oui	28			
				35	oui	28			

Tableau XXXIV : stabilité de la gemcitabine.

molécule	Contenant	laboratoire	concentrations	diluant	température	abris de la lumière	jours	source	niveau de preuve selon Stabilis	
Gemcitabine	PVC	Gemzar Lilly	0,1 & 10 mg/ml	NaCl ou G5	23	oui ou non	35	[104]	A+	
					4	oui	35			
			0,1 & 10 & 38 mg/ml	NaCl ou G5	32	oui	7			
		Gemcirena Fresenius	0,1 & 10 mg/ml	NaCl	15-25	NR		86	Données labo	
		Ebewe Pharma France	0,1 et 25 mg/ml	NaCl ou G5	2-8	oui		35	Données labo	
		Ebegemcit® Lyo Ebewe	0,1 & 25 mg/ml	NaCl ou G5	20-25	non		14		
		Actavis	2 mg/ml	NaCl	25	non		28	Données labo	
					5	oui		28		
			5,2 mg/ml	NaCl	25	non		28	Données labo	
					5	oui		28		
	NR	7,5 & 25 mg/ml	NaCl	25	oui ou non		27	*	A	
	PP	Ebewe Pharma France	0,1 et 25 mg/ml	NaCl ou G5	2-8	oui		35	Données labo	
		Ebegemcit® Lyo Ebewe	0,1 & 25 mg/ml	NaCl ou G5	20-25	non		14		
		Fresenius dossier Freeflex	2 & 30 mg/ml	NaCl	25	NR		7	Données labo	
		Gemzar Lilly	38 mg/ml	NaCl	23	oui ou non		35	[105]	A+
	PE	Gemcirena Fresenius	0,1 & 10 mg/ml	NaCl	15-25	NR		86	Données labo	
		Ebewe Pharma France	0,1 et 25 mg/ml	NaCl ou G5	2-8	oui		35	Données labo	
		Ebegemcit® Lyo Ebewe	0,1 & 25 mg/ml	NaCl ou G5	20-25	non		14		
		Actavis	2 mg/ml	NaCl	25	non		28	Données labo	
					5	oui		28		
			5,2 mg/ml	NaCl	25	non		28		
5					oui		28			
NR		5,12 mg/ml	NaCl	23	oui		48		A	

* Ponton JL et al. The stability of (lyophilized) gemcitabine in 0.9% sodium chloride injection. EJHP ; 1: 23-25. 2002

ANNEXE 3

Stabilité de l'aciclovir, dossier Freeflex® (Fresenius)

Principe actif : Aciclovir (sodium)

Spécialité : Mapox ® 250 mg

Laboratoire : Fresenius-Praxis-Fresenius AG, Bad Homburg, Germany

Forme pharmaceutique : Poudre pour usage parentéral

Conditions de conservation : Température ambiante -Conservation au froid (2 – 8°C)

Protocole :

1 – Dilution

Solvant	Concentration	Température
NaCl 0,9 %	5 mg/ml	Température ambiante et de 2 à 8°C

2 – Chromatographie liquide haute performance (CLHP) / Paramètres :

Pompe : Hewlett Packard 1100 (pompe à gradient)

Détecteur : Hewlett Packard 1100 (détection à barette de diodes)

Analyseur Intégrateur : ChemStation (Hewlett Packard)

Colonne : Nucleosil 5 RP 18 ; 5 µm

Phase mobile : Tampon dihydrogénophosphate de sodium (pH3.0) 95
Acétonitrile 5
0,1 % acide n-decane sulfonique, sel de sodium

3 – Résultats

Température	Concentration	T ₀ *	T ₁	T ₇	T ₁₄	T ₂₁	T ₂₈
T.A.	5 mg/ml	100,00%	100,97%	101,61%	101,15%	100,36%	101,72%
2-8°C	5 mg/ml	100,00%	100,83%	100,93%	110,62%	100,06%	100,93%

* T en jours

4 – Résumé / Conclusion

Concentration	Température	Stabilité dans FreeFlex®	Stabilité dans le verre
5 mg/ml	T.A.	28 jours	28 jours
5 mg/ml	2-8°C	28 jours	28 jours

ANNEXE 4

Tableau XXXV : Dilutions successives des souches pour l'essai d'applicabilité

souches	Reconstitution des souches			1ère dilution				2ème dilution			
	UFC/billes	volume initial de BH/bille(mL)	Concentration initiale (UFC/ml)	Dilution	volume de solution mère à prélever (mL)	compléter à	Concentration finale (UFC/mL)	Dilution	volume de solution mère à prélever (mL)	compléter à	Concentration finale (UFC/mL)
B.subtilis	15000	8	1875	1/50	0,1	5	37,5	1/5	1	5	7,5
P.aeruginosa	1500	8	187,5	1/5	1	5	37,5	1/5	1	5	7,5
C.albicans	15000	8	1875	1/50	0,1	5	37,5	1/5	1	5	7,5
A.niger	4000	8	500	1/16	0,3	5	30	1/4	1	5	7,5

souches	Reconstitution des souches			1ère dilution				2ème dilution				3ème dilution			
	UFC/billes	volume initial de BH/bille(mL)	Concentration initiale (UFC/ml)	Dilution	volume de solution mère à prélever (mL)	compléter à	Concentration finale (UFC/mL)	Dilution	volume de solution mère à prélever (mL)	compléter à	Concentration finale (UFC/mL)	Dilution	volume de solution mère à prélever (mL)	compléter à	Concentration finale (UFC/mL)
C.sporogenes	128000	8	16000	1/50	0,1	5	320	1/10	0,5	5	32	1/4	1	4	8
S.aureus	38000	8	4750	1/25	0,2	5	190	1/5	1	5	38	1/5	1	5	7,6

ANNEXE 5

Tableau XXXVI : Dilutions successives des souches pour la détermination de la limite de détection de la méthode

souches	Reconstitution des souches			1ère dilution (100 UFC/ml)				2ème dilution (50 UFC/ml)			
	UFC/billes	volume initial de BH/bille(mL)	Concentration initiale (UFC/ml)	Dilution	volume de solution mère à prélever (mL)	compléter à	Concentration finale (UFC/mL)	Dilution	volume de solution mère à prélever (mL)	compléter à	Concentration finale (UFC/mL)
C.albicans	15000	8	1875	1/20	0,3	6	94 UFC/ml	1/2	2,5	5	47 UFC/ml

souches	Reconstitution des souches			1ère dilution				2ème dilution (100 UFC/ml)				3ème dilution (50 UFC/ml)			
	UFC/billes	volume initial de BH/bille (mL)	Concentration initiale (UFC/ml)	Dilution	volume de solution mère à prélever (mL)	compléter à	Concentration finale (UFC/mL)	Dilution	volume de solution mère à prélever (mL)	Compléter à	Concentration finale (UFC/mL)	Dilution	volume de solution mère à prélever (mL)	compléter à	Concentration finale (UFC/mL)
C.sporogenes	128000	8	16000	1/40	0,1	4	400	1/4	2	8	100	1/2	2,5	5	50
S.aureus	38000	8	4750	1/24	0,25	6	198	1/2	3	6	100	1/2	2,5	5	50

ANNEXE 6

Les points de contrôles libératoires (Etiquettes collées sur les fiches de fabrication)

<p><u>Contrôle visuel en cours de fabrication :</u></p> <ul style="list-style-type: none">- préparateur : visa.....- solvant de reconstitution (nature et volume) conforme : <input type="checkbox"/> + visa.....- dispositifs conforme : <input type="checkbox"/> + visa.....- solvant de dilution (nature et volume) conforme : <input type="checkbox"/> + visa.....- étiquette collée / contre-étiquette conforme : <input type="checkbox"/> + visa.....- présence dispositif sécurisé (oui/non) : + visa.....- solvant à RETIRER (nature et volume) conforme (oui/N.A) : + visa.....- principe actif (nature/lot) conforme : <input type="checkbox"/> + visa.....- principe actif (volume mesuré simple/multiple à détailler) :ml + visa.....- solvant à AJOUTER (nature et volume) conforme : (oui/N.A) : + visa.....- Points spécifiques de la préparation (cocher le ou les items requis)<ul style="list-style-type: none">o filtre à fournir : <input type="checkbox"/> + visa.....o purge RYTHMIC : <input type="checkbox"/> + visa.....o Arbre abraxane : <input type="checkbox"/> + visa.....o filtration de la préparation : <input type="checkbox"/> + visa.....o UTXmg : <input type="checkbox"/> + visa.....o xylocaïne : <input type="checkbox"/> + visa.....o N.A : <input type="checkbox"/> + visa.....	<p><u>Contrôle analytique du produit fini :</u></p> <ul style="list-style-type: none">- résultat contrôle quantitatif (%) :% + visa.....- résultat contrôle qualitatif (molécule) : + visa..... <p><u>Contrôles organoleptiques du produit fini :</u></p> <ul style="list-style-type: none">- absence de modification de coloration, de précipité : <input type="checkbox"/> + visa.....- absence de fuite : <input type="checkbox"/> + visa..... <p><u>Libération finale :</u></p> <ul style="list-style-type: none">- réconciliation fiche de fabrication/produit fini : <input type="checkbox"/> + visa.....- libération de la préparation : <input type="checkbox"/> + visa.....
--	--

SERMENT DE GALIEN

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

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

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

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

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

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

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