



HAL
open science

Prévention de la contamination particulaire lors de l'administration parentérale d'une émulsion nutritive : étude de 3 filtres

Michel Faber

► **To cite this version:**

Michel Faber. Prévention de la contamination particulaire lors de l'administration parentérale d'une émulsion nutritive : étude de 3 filtres. Sciences pharmaceutiques. 1995. dumas-01871400

HAL Id: dumas-01871400

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01871400>

Submitted on 10 Sep 2018

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

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

AVERTISSEMENT

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

Il n'a pas été réévalué depuis la date de soutenance.

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

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

Contact au SID de Grenoble :
bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

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

<http://www.cfcopies.com/juridique/droit-auteur>

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



115 016033 9

UNIVERSITE JOSEPH FOURIER - GRENOBLE I

SCIENCES, TECHNOLOGIE, MEDECINE

U.F.R. de PHARMACIE
Domaine de la Merci - La TRONCHE

ANNEE : 1995

N° D'ORDRE : 7004

**MEMOIRE DU DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES DE
PHARMACIE HOSPITALIERE ET DES COLLECTIVITES**

Soutenu le 8 février 1995

par

Michel FABER

[Données à caractère personnel]

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

**THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT DE
DOCTEUR EN PHARMACIE**

*Prévention de la contamination particulière lors de
l'administration parentérale d'une émulsion
nutritive : étude de 3 filtres*

JURY

Président : - Monsieur CALOP J.

Professeur

Membres : - Monsieur MORTHA G.

Maître de Conférences

- Monsieur FORONI L.

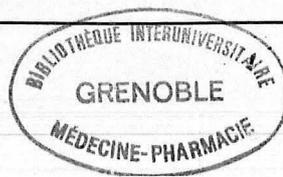
Docteur en Pharmacie

- Monsieur TROUILLER P.

Docteur en Pharmacie

- Madame ROCHAT-GONTHIER M.H.

Professeur



UNIVERSITE JOSEPH FOURIER - GRENOBLE I
SCIENCES, TECHNOLOGIE, MEDECINE

U.F.R. de PHARMACIE
Domaine de la Merci - La TRONCHE

ANNEE : 1995

N° D'ORDRE : 7004

**MEMOIRE DU DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES DE
PHARMACIE HOSPITALIERE ET DES COLLECTIVITES**

Soutenu le 8 février 1995

par

Michel FABER

[Données à caractère personnel]

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

**THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT DE
DOCTEUR EN PHARMACIE**

*Prévention de la contamination particulière lors de
l'administration parentérale d'une émulsion
nutritive : étude de 3 filtres*

JURY

Président : - Monsieur CALOP J.

Professeur

Membres : - Monsieur MORTHA G.

Maître de Conférences

- Monsieur FORONI L.

Docteur en Pharmacie

- Monsieur TROUILLER P.

Docteur en Pharmacie

- Madame ROCHAT-GONTHIER M.H.

Professeur



Remerciements...

à Monsieur le Professeur Calop,

qui m'a accueilli dans son service et m'a fait l'honneur de présider ce jury.

à Monsieur Gérard Mortha,

qui m'a encadré tout au long de ce travail avec compétence et disponibilité.

à Monsieur Luc Foroni,

qui m'a guidé avec efficacité et apporté un soutien permanent.

à Monsieur Patrice Trouiller,

qui m'a proposé ce sujet et a permis sa réalisation.

à Madame le Professeur M.H. Rochat,

qui a toujours su me conseiller et m'encourager avec gentillesse.

et à tous mes amis

qui m'ont apporté 🍏🎵🎶🎷🎸🎹🎺🎻🎼🎤🎧🎧 et ☺ voire ☹,
sans oublier 🌴🌴 ni 🏠👤👤👤👤👤👤👤👤.

Qu'ils trouvent ici l'expression de mes remerciements et le témoignage de ma reconnaissance.

SOMMAIRE

SOMMAIRE :

INTRODUCTION

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

1.Généralités sur la nutrition parentérale

- 1.1.Mélanges utilisés
- 1.2.Procédés de fabrication
 - 1.2.1.Filtration stérilisante
 - 1.2.2.Transvasement à col ouvert
 - 1.2.3.Transfert stérile par pression positive
- 1.3.Schémas d'administration

2.Quelle contamination particulière?

- 2.1.Définition
- 2.2.Caractéristiques générales des contaminants
- 2.3.Contamination de l'émulsion étudiée
- 2.4.Pathogénicité de la contamination

3.Filtration

- 3.1.Filtration des solutions injectables
- 3.2.Filtration des émulsions nutritives parentérales
- 3.3.Microfiltration du lait
- 3.4.Discussion

4.Stabilité

MATERIEL ET METHODES

1.Matériel

- 1.1.Choix du mélange étudié
- 1.2.Choix du schéma d'administration
- 1.3.Choix des filtres à tester

2.Méthodes

- 2.1.Etude du colmatage de la membrane filtrante
- 2.2.Etude de la contamination particulière avant/après filtration
 - 2.2.1.Principe
 - 2.2.2.Mode opératoire
- 2.3.Etude de la stabilité de l'émulsion avant/après filtration
 - 2.3.1.Principe
 - 2.3.2.Mode opératoire

RESULTATS

- 1.Etude de la perméabilité et du colmatage de la membrane filtrante**
- 2.Etude de la contamination particulaire avant/après filtration**
- 3.Etude de la stabilité de l'émulsion avant/après filtration**

DISCUSSION

- 1.Perméabilité et colmatage des membranes filtrantes**
- 2.Efficacité de la filtration**
- 3.Stabilité de l'émulsion**

CONCLUSION

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

classées par ordre d'apparition dans le texte
classées par ordre alphabétique

ANNEXES

ANNEXE 1
ANNEXE 2

TABLE DES MATIERES

LISTE DES ILLUSTRATIONS

INTRODUCTION

INTRODUCTION

La nutrition parentérale consiste à apporter des éléments nutritifs aux malades par voie intraveineuse lorsque la voie naturelle est déficiente.

Les mélanges nutritifs, notamment utilisés dans le cadre de la Nutrition à Domicile, et préparés sous la responsabilité du pharmacien hospitalier se présentent sous forme d'émulsions huile dans eau.

La présence de contaminants particuliers inertes a été mise en évidence et l'impact de ces particules sur l'organisme est potentiellement dangereux.

C'est donc dans un souci d'amélioration de la qualité des prestations pharmaceutiques hospitalières que nous avons entrepris l'étude de trois filtres visant à limiter la contamination particulaire des émulsions nutritives lors de leur perfusion aux malades.

Trois objectifs ont été fixés pour cette étude :

il s'agissait

-d'une part d'évaluer la faisabilité de l'opération de filtration en mesurant le colmatage des filtres par les particules ou la phase huileuse de l'émulsion.

-d'autre part d'évaluer l'efficacité de cette filtration en mesurant la contamination particulaire avant et après la filtration

-et enfin de vérifier la stabilité de l'émulsion.

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Généralités sur la nutrition parentérale

1.1. Mélanges utilisés

La nutrition parentérale permet d'assurer des apports nutritifs, à visée énergétique, plastique et hydrique, par voie intraveineuse.

Si elle est utilisée comme source exclusive d'alimentation dans toutes les circonstances pathologiques qui interdisent l'abord digestif (chirurgie gastroduodénale, cancers digestifs, occlusions intestinales), elle peut être aussi prescrite en complément d'une alimentation orale ou encore couplée à une nutrition par sonde entérale lorsque le patient est dénutri, en hypercatabolisme (infection sévère, insuffisant respiratoire, grand brûlé...), insuffisant hépatique ou rénal, immunodéprimé (SIDA), ou en période pré-opératoire.

L'indication va conditionner la durée de la nutrition parentérale (court, moyen ou long terme, voire à vie) et le type de mélange utilisé.

Chaque mélange est prescrit pour un patient donné à un moment donné; sa composition, tant quantitative que qualitative est de ce fait spécifique :

-D'un point de vue quantitatif, le volume du mélange nutritif perfusé quotidiennement au malade est déterminé en fonction de l'apport liquidien nécessaire (en tenant compte de l'apport liquidien des perfusions annexes : antibiotiques...) et en fonction de l'osmolarité maximale compatible avec la voie d'abord parentérale choisie (centrale ou périphérique). En règle générale ce volume est compris entre 1 et 3 litres pour des patients adultes et il est contenu dans une poche plastique en Ethyl-Vinyl-Acetate.

-D'un point de vue qualitatif, ces mélanges peuvent se présenter sous forme :

- de solutions : mélanges binaires. Ces solutions peuvent comporter du glucose, des acides aminés, des électrolytes, des vitamines, des oligo-éléments.



-d'émulsions : mélanges ternaires.

Aux éléments précédents est ajoutée une émulsion huile de soja/eau (20% Poids/Volume), l'émulsifiant étant de la lécithine d'oeuf.

Outre les éléments liés aux besoins spécifiques de chaque patient, d'autres critères de choix peuvent motiver l'utilisation préférentielle d'un de ces mélanges :

-L'habitude de prescription fait qu'aux Etats-Unis les mélanges les plus utilisés sont les solutions : si l'état du patient nécessite l'apport de lipides, ceux-ci, sous forme d'une émulsion, sont administrés de manière indépendante de la solution.

L'avantage tient au fait que la stabilité de l'émulsion est garantie : en effet, dans les mélanges ternaires, différents éléments tels que glucose, acides aminés ou certains électrolytes peuvent modifier la stabilité de l'émulsion.

-Le développement de la Nutrition à Domicile fait préférer l'administration de mélanges ternaires. En effet, l'administration simultanée dans une même poche de tous les éléments nutritifs permet de diminuer le nombre de manipulations à risque potentiel pour le patient (risque infectieux principalement lors du branchement/débranchement de la perfusion). De plus, l'émulsion lipidique permet de diminuer l'osmolarité globale du mélange. S'ils sont plus faciles à utiliser, ils nécessitent par contre un contrôle rigoureux de la stabilité de l'émulsion après l'ajout des autres composants potentiellement déstabilisateurs.

1.2.Procédés de fabrication

Les différentes techniques envisageables pour la préparation de mélanges nutritifs doivent être appliquées dans le respect des normes en vigueur (1-3).

Le choix entre l'une ou l'autre de ces techniques dépend de nombreux facteurs : flexibilité de la méthode, formation du personnel, quantités à fabriquer, locaux, personnel et budget disponibles...

Trois grands types de procédés de fabrication existent :

- filtration stérilisante
- transvasement à col ouvert
- technique de transfert stérile

1.2.1.Filtration stérilisante

Cette technique consiste en la préparation d'un mélange binaire aqueux dans un conteneur en acier inoxydable sous une atmosphère de classe B (classe B : le nombre de particules de taille supérieure à $0,5 \mu\text{m}$ doit être inférieur ou égal à $400000/\text{m}^3$ et le nombre de particules de taille supérieure à $5 \mu\text{m}$ doit être inférieur à $2500/\text{m}^3$). Après fermeture hermétique de ce conteneur, la mise sous pression d'azote de ce récipient permet le transfert de la solution vers la poche en EVA : la présence d'un filtre $0,22 \mu\text{m}$ sur la tubulure reliant le conteneur à la poche permet la stérilisation de la solution.

Du fait de la taille des globules lipidiques ($0,5 \mu\text{m}$) le passage à travers ce filtre $0,22 \mu\text{m}$ est impossible : la préparation de mélanges ternaires nécessite donc l'utilisation d'une tubulure secondaire sans filtre permettant l'ajout des lipides par transfert stérile sous pression positive d'azote.

La filtration stérilisante, qui nécessite la dépyrogénéation du matériel avant utilisation, permet donc d'éliminer les particules provenant des solutions aqueuses mais pas des émulsions.

1.2.2. Transvasement à col ouvert

C'est une méthode qui permet la fabrication des mélanges nutritifs sous un isolateur en PVC ou sous une hotte à flux laminaire de classe A (classe A : moins de 4000 particules de taille supérieure à $0,5 \mu\text{m}$ par m^3 et aucune particule de taille supérieure à $5 \mu\text{m}$) dans une pièce de classe B. On l'utilise lorsque le contenant final est un flacon.

1.2.3. Transfert stérile par pression positive

C'est la technique utilisée actuellement au Centre Hospitalier Universitaire de Grenoble pour la fabrication des mélanges nutritifs destinés aux adultes.

A partir de solutions de glucose, d'acides aminés et des émulsions lipidiques stériles et apyrogènes fournies par l'industrie pharmaceutique dans des flacons, on effectue des opérations de transfert en système clos afin que la stérilité et l'apyrogénicité du mélange final soient préservées.

Ces mélanges sont préparés au sein de l'unité de nutrition parentérale du CHU de Grenoble dans des locaux comportant un pré-sas, un sas et la salle de fabrication. Cette salle, dont l'empoussièrement est contrôlé par la filtration continue de l'air et par le maintien d'une surpression par rapport aux autres pièces, correspond à la classe B.

La fabrication est effectuée sous une hotte à flux laminaire de classe A par des manipulateurs portant bottes, pyjama, calot, masque, sarrau et gants stériles.

Les bouchons des flacons de glucose, d'acides aminés, d'émulsion lipidique et de certains électrolytes et oligo-éléments sont décontaminés par contact avec de l'alcool iodé (1mn) puis ils sont perforés par le perceur de la ligne de transfert, l'autre extrémité de cette ligne étant reliée à la poche. Le transfert du contenu des flacons s'effectue par mise sous pression (1,8 bars), le gaz pulseur étant de l'azote filtré à $0,45 \mu\text{m}$.

Les solutions et émulsions sont filtrées au niveau de la ligne de transfert flacon-poche par un filtre dont le seuil de coupure est $25 \mu\text{m}$.

L'ajout de solutions non conditionnées en flacon ne peut s'effectuer avec la même technique : certains électrolytes et vitamines se présentent sous forme d'ampoule en verre; ces ampoules sont ouvertes à l'aide d'une compresse imbibée d'alcool iodé, le volume prescrit de la solution est prélevé grâce à une seringue et une aiguille puis est transféré directement dans la poche.

Enfin, la poche est purgée, étiquetée et stockée à $+4^\circ\text{C}$.

Des contrôles bactériologiques (germes aérobies et anaérobies) et physico-chimiques (osmolarité, pH, concentration en Na, K) sont effectués statistiquement sur chaque lot de fabrication.

1.3.Schémas d'administration

Les mélanges nutritifs parentéraux sont administrés au patient à l'aide d'une tubulure de perfusion qui relie la poche à l'abord veineux du patient :

-abord veineux périphérique : cette voie n'est utilisée que pour une nutrition de brève durée, employant de faibles volumes et débits, et nécessitant l'utilisation de mélanges dont l'osmolarité est basse (< 800 mOsm/l).

-abord veineux central : c'est l'abord le plus classique pour l'administration d'une nutrition parentérale. Le cathéter est relié à la veine sous clavière ou à la jugulaire interne et la technique de tunnellisation (trajet sous-cutané) permet de diminuer le risque infectieux en éloignant le point de pénétration veineux du point de sortie du cathéter. Dans ces conditions, le cathéter peut être conservé de manière prolongée sans changements, améliorant ainsi la qualité de vie des patients sous nutrition parentérale de longue durée.

Le débit de perfusion peut être assuré de deux façons différentes :

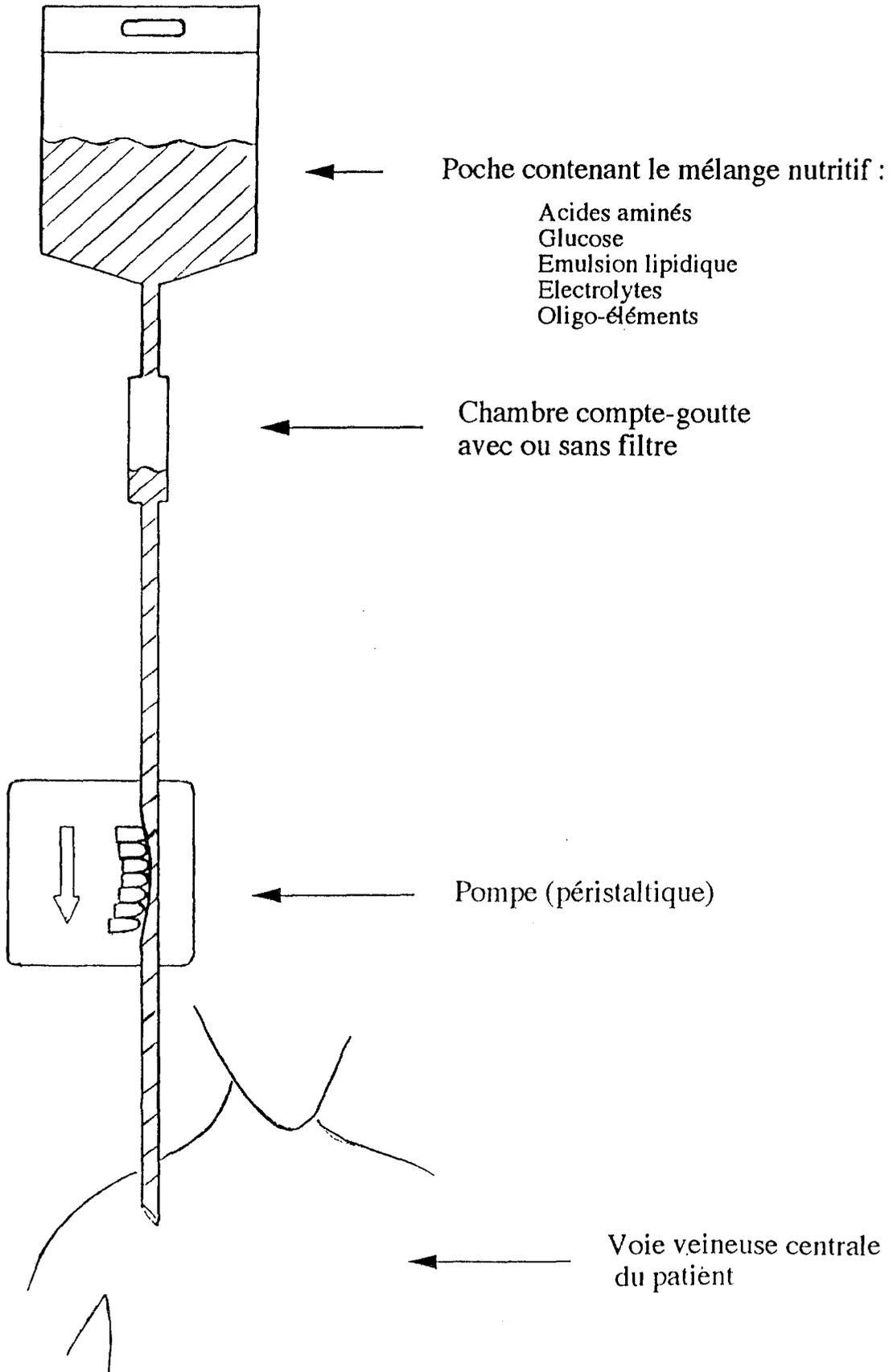
-administration par gravité : le débit est limité par une mollette qui exerce une pression plus ou moins importante sur la tubulure : le contrôle du débit s'effectue par comptage du nombre de gouttes/unité de temps au niveau de la chambre compte goutte : cette méthode simple nécessite une certaine habitude et le débit est assez approximatif.

-administration par pompe : le débit est régulé grâce à une pompe, péristaltique ou à piston, qui permet d'assurer un débit précis et différentes autres fonctions (alarmes, programmation de modification de débit...). C'est ce dernier type qui est utilisé dans le cadre de la Nutrition à Domicile car il est plus fiable et apporte donc une meilleure sécurité.

Le schéma général utilisé pour l'administration de la nutrition parentérale à domicile est présenté page suivante (schéma 1) :

ADMINISTRATION DE LA NUTRITION PARENTERALE :

Schéma 1



2. Quelle contamination particulière ?

2.1. Définition :

Les contaminants particuliers des préparations injectables sont des substances étrangères inertes, mobiles, insolubles et non intentionnellement présentes dans les solutions parentérales (4)(5).

2.2. Caractéristiques générales des contaminants

De nombreuses études ont porté durant ces trente dernières années sur la contamination particulière des solutions injectables : la nature, l'origine et la taille des particules généralement retrouvées dans ces solutions à usage parentéral sont présentées dans le tableau suivant (d'après Akers (6) et Childs (in-7)) :

tableau 1 : Caractéristiques générales des contaminants

Nature	Origine	Taille (en μm)
débris de verre	fabrication / ouverture de l'ampoule relargage chimique	1 à 100
fragments de métal	tuyauterie / aiguille des seringues	2 à 50
morceaux de caoutchouc	percutage des bouchons des flacons	1 à 100
fibres de cellulose	compressees tissées	10 à 20
talc	gants talqués	1

Deux principales origines peuvent être différenciées :

-Origine exogène, c'est-à-dire liée au milieu ambiant, au personnel, aux impuretés des matières premières, à la qualité du conditionnement primaire, au procédé de fabrication.

-Origine endogène, liée à l'apparition de particules étrangères sans manipulation (précipitats, agrégats, particules issues d'interactions contenus/contenants).

L'évaluation du nombre de contaminants est très fortement liée à la méthode utilisée : les valeurs limites données par les normes existantes se rapportent à différentes techniques d'évaluation de la contamination.

Ces normes prennent en considération :

-le nombre de particules

-la taille des particules

-le volume des solutés à injecter au patient : le tableau 2 présente différentes normes existantes concernant les solutés de grand volume (> 100 ml) :

tableau 2 : Contamination particulaire : normes

Normes	Taille	Nombre	Méthode
Pharmacopée Américaine USP XXII 1990	> 10 μm > 25 μm	< 50/ml < 5/ml	Filtration-observation microscopique
Pharmacopée Japonaise 11ème édition 1988	> 10 μm > 25 μm	< 20/ml < 2/ml	Filtration-observation microscopique
Note Propharmacopée Française N°73 1980	> 10 μm	< 50/ml OU < 1000/ml < 100/ml < 50/ml	Filtration-observation microscopique Interception d'un faisceau lumineux

2.3. Contamination de l'émulsion étudiée

Une étude menée par Foroni (8) a permis de caractériser les particules inertes (nombre, taille et nature) mises en évidence dans les mélanges nutritifs ternaires préparés au laboratoire de nutrition parentérale du CHU de Grenoble.

Bien que la nature et l'origine de la contamination n'aient pas pu être déterminées avec certitude dans tous les cas, il semble que cette contamination soit fortement liée au procédé de fabrication : les mesures de contamination retrouvée au niveau du mélange final sont présentées dans le tableau suivant :

tableau 3 : Contamination particulaire de l'émulsion étudiée

taille des particules	nombre de particules par ml résultats cumulés			
	> 5 μm	> 10 μm	> 25 μm	> 50 μm
mélange nutritif ternaire complet (écart - type)	38	10,9 (0,2)	3,1 (0,9)	0,8 (0,3)

2.4. Pathogénicité de la contamination

Bien que la contamination reste inférieure aux valeurs fixées par les différentes normes, il semble important de la limiter pour deux raisons :

-d'une part les mélanges nutritifs sont très souvent administrés au long cours, ce qui signifie que la charge particulaire globale reçue par le patient est importante.

-d'autre part les conséquences néfastes de la contamination de l'organisme par ces particules inertes, longtemps inconnues, commencent à être mieux établies : les atteintes les plus citées dans la littérature sont la granulomatose (9)(10), les thromboses (9), les phlébites (11), les embolies (10) et les nodules du poumon (10).

L'effet des particules mises en cause est notamment fonction de leur taille :

- supérieure à $7\mu\text{m}$: elles sont arrêtées au niveau du système vasculaire pulmonaire
- de 2 à $5\mu\text{m}$: on les retrouve au niveau du foie, des reins, de la moelle osseuse...
- inférieure à $2\mu\text{m}$: leur action pathogène n'est pas démontrée.

La principale défense de l'organisme pour lutter contre cette contamination particulaire est le système réticulo-endothélial qui met en jeu différentes cellules dont les cellules macrophagiques qui participent au processus inflammatoire.

La prévention de la contamination particulaire doit s'effectuer à tous les stades de la fabrication, de la préparation et de l'administration des mélanges nutritifs parentéraux : la filtration de ces mélanges lors de leur administration fait donc partie d'un ensemble de mesures visant à améliorer la qualité des produits perfusés aux malades.

3.Filtration

3.1.Filtration des solutions injectables

De nombreuses études ont été menées sur la filtration des solutions injectables afin d'améliorer la qualité particulaire et d'assurer la stérilité des injections (11-16).

Ces études ont montré l'intérêt de la présence d'un filtre 0,22 μm lors de l'administration de tout type de solutions injectables (11), et notamment des mélanges nutritifs binaires dans l'efficacité de la prévention de la contamination qu'elle soit bactérienne (12)(13), ou particulaire (14-16).

Cependant, l'utilisation de ces filtres 0,22 μm nécessite certaines précautions : en effet, il a été montré que ces filtres pouvaient retenir certains oligo-éléments (17); bien que cette rétention soit sans conséquence sur le plan clinique car quantitativement peu importante, elle doit inciter à la prudence quant à la possibilité de rétention d'autres molécules, dont des médicaments.

3.2. Filtration des émulsions nutritives parentérales

Le diamètre moyen des globules lipidiques de l'émulsion utilisée pour la préparation des mélanges ternaires est de $0,35 \mu\text{m}$ et 99,8% des globules ont un diamètre inférieur à $1 \mu\text{m}$ (18).

Cependant, certains auteurs ont montré que, lors de son administration, le mélange ternaire final, après ajouts des autres constituants et stockage, comporte des globules dont la taille a augmenté, le diamètre moyen se situant alors aux alentours du demi-micron, 99% des particules ayant une taille inférieure à $2 \mu\text{m}$ (19). De même, lors d'une autre étude, les plus grosses particules huileuses retrouvées avaient une taille de $8,75 \mu\text{m}$ (20).

Dans ces conditions, la filtration, dont le but est de limiter la contamination en particules inertes, doit laisser passer l'ensemble de la matière grasse, sans altérer la qualité granulométrique de l'émulsion et avec un colmatage du filtre restreint.

La filtration de ces émulsions nutritives à usage parentéral a fait l'objet d'études menées par Rubin :

-Celui-ci a montré le rôle des lipides dans le colmatage des filtres $5 \mu\text{m}$ des cathéters (21) : le colmatage de ces filtres est plus fréquent et plus rapide à apparaître lorsque les mélanges nutritifs contiennent des lipides; il apparaît entre 37 et 206 jours de perfusion d'émulsion au lieu d'au moins 306 jours avec les solutions nutritives. Le retentat a été analysé : les lipides en composent 99,5%, les 0,5% restant étant essentiellement formés de particules provenant de la précipitation de sels de K, Na, Ca, Mg, Zn ou de particules relarguées par le contenant (matières plastiques).

-Par ailleurs il a montré que l'utilisation d'un filtre de $5 \mu\text{m}$ sur une ligne de perfusion lors de l'administration de mélanges nutritifs ternaires permettait de limiter fortement la contamination particulaire et améliorait la qualité galénique de l'émulsion par rétention au niveau du filtre des globules lipidiques de fort diamètre (22)(23) :

9 émulsions dont la composition différait de par les quantités des constituants autres que lipidiques (glucose, acides aminés, électrolytes, vitamines, oligo-éléments) ont été filtrées dans les conditions habituelles d'administration de ce type de mélange.

Le débit était maintenu à 120ml/h pendant 24h, permettant la filtration des 3 litres d'émulsion contenus dans des poches en E.V.A.

La filtration n'a aucunement modifié la stabilité de l'émulsion, principalement contrôlée par l'évolution de la répartition de la taille des globules lipidiques par Coulter Counter :

cette mesure a montré une diminution significative du nombre de globules lipidiques de diamètre supérieur à $5 \mu\text{m}$.

L'analyse du retentat au microscope optique a montré la présence de gros globules lipidiques, de précipités et de particules solides dont la taille, évaluée grâce au Coulter, était supérieure à $5 \mu\text{m}$.

A notre connaissance, aucune autre étude n'a été entreprise sur ce sujet et différentes raisons peuvent être invoquées pour tenter d'expliquer ce relatif manque d'études :

-L'utilisation des mélanges ternaires assez peu développée aux USA.

-La connaissance encore imparfaite de la pathogénicité réelle de la contamination particulière.

-La pluridisciplinarité du problème : la filtration relève du Génie des Procédés, l'émulsion pharmaceutique de la Pharmacie galénique et la nutrition de la Médecine.

Une des conséquences du faible nombre de travaux effectués en ce domaine est la diversité des tubulures qui sont actuellement utilisées pour l'administration de mélanges nutritifs ternaires par voie parentérale :

- tubulures sans filtre
- tubulures avec filtre de $100 \mu\text{m}$
- tubulures avec filtre de $25 \mu\text{m}$
- tubulures avec filtre de $15 \mu\text{m}$
- unité filtrante $1,2 \mu\text{m}$

Afin de pallier ce manque d'information sur la filtration des émulsions nutritives parentérales, nous nous sommes tournés vers l'industrie laitière : en effet, si la filtration des émulsions est appliquée dans de nombreux autres domaines (industrie pétrolière, dépollution des eaux et traitement des effluents, photographie, agro-alimentaire...), c'est le lait, en tant que matériau, qui semblait se rapprocher le plus des émulsions nutritives parentérales du fait de sa composition et de son but nutritif; seule la voie d'administration (orale/parentérale) et les caractéristiques des procédés mis en oeuvre (volumes et débits traités...) diffèrent.

3.3. Microfiltration du lait

Dans l'industrie laitière, la filtration est un procédé très utilisé et de nombreux travaux portent sur la nanofiltration, l'ultrafiltration et la microfiltration.

Le lait est une émulsion complexe huile/eau, dont la composition globale qualitative et quantitative est relativement voisine de celle des mélanges nutritifs parentéraux, comme le montre le tableau 4 (d'après (24) et (25)) :

tableau 4 : Comparaison composition lait de vache / mélange nutritif parentéral

Constituants (pour 1000ml)	Lait de vache	Mélange nutritif parentéral
Protéines	35g dont caséine (micelles) 80% protéines solubles 20%	35g acides aminés solubles 100%
Glucides	50g lactose (disaccharide)	164g glucose (monosaccharide)
Lipides	35g	47g (huile de soja)
Acides gras (en % des TG)		
C 16:0 acide palmitique	26%	10%
C 18:0 acide stéarique	15%	3%
C 18:1 acide oléique	30%	26%
C 18:2 acide linoléique	2,4%	50%
C 18:3 acide linoléique	0,8%	9%
Valeur énergétique	690 kcal	1266 kcal

Cependant, les différences de structure des globules lipidiques vont entraîner des différences des caractéristiques granulométriques de l'émulsion : alors que l'émulsion utilisée dans les mélanges parentéraux se compose de gouttelettes d'huile de soja émulsionnée dans une phase aqueuse à l'aide d'agents émulsifiants (lécithine d'oeuf purifiée), les globules lipidiques du lait ont une structure complexe :

-une membrane externe qui joue un rôle majeur dans la stabilité du globule : toute interaction entre le globule gras et d'autres composants se fait au départ par son intermédiaire. Cette membrane, qui est composée de lipides (principalement des phospholipides, sphingolipides et triglycérides) et de protéines (xanthine oxydase, butyrophylène et glycoprotéine B) serait en partie formée à partir de la membrane plasmique des cellules sécrétrices de la glande mammaire

-un coeur interne quasiment exclusivement composé de triglycérides (97%).

Ainsi, la matière grasse laitière se trouve rassemblée sous forme de globules ayant des dimensions extrêmes comprises entre 0,1 et 20 μm mais qui généralement ont un diamètre compris entre 2 et 12 μm (26).

En outre, le lait comporte des micelles de caséines dont les plus grosses ont un diamètre de 0,3 μm (26).

La microfiltration est habituellement définie grâce au diamètre des particules contenues dans le fluide à traiter, ou le diamètre des pores des membranes utilisées : 0,1 à 10 μm environ.

Les applications de la microfiltration dans l'industrie laitière sont nombreuses : elle est principalement utilisée dans un but de séparation des constituants de produits laitiers : les constituants ainsi séparés sont fonction des conditions de filtration (caractéristiques de la membrane filtrante, pressions appliquées...) et du produit laitier à filtrer (lait entier, écrémé, lactosérum, babeurre...).

Dans ce cadre, la microfiltration sur membrane en flux tangentiel connaît un essor important car elle permet de fractionner des constituants dont la taille peut varier de quelques nanomètres au micromètre. Les membranes en céramique présentent une résistance chimique, mécanique et thermique intéressante (25).

-L'écémage du lait entier cru peut être réalisé par cette technique en utilisant une membrane Ceraver en céramique (alumine) de structure multicanal et ayant un diamètre moyen de pores de 1,8 μm (27).

Dans cette étude, la surface de la membrane filtrante était de 0,179 m^2 , la pression moyenne transmembranaire variait entre 0,65 et 1 bar, la vitesse tangentielle de l'ordre de 5 m/s, le débit moyen étant de 850 $\text{l}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$. Cette filtration a permis de retenir 98% de la matière grasse et seulement 1,2% de la caséine.

Le décolmatage rapide de la membrane était assuré par fermeture d'une vanne côté perméat provoquant une contre-pression au niveau des tubes membranaires.

-Un même type de membrane a été mis en oeuvre afin de diminuer la flore contaminante des laits crus (28)(29). Le diamètre moyen des pores était de $1,4 \mu\text{m}$ et ce filtre était intégré dans le procédé "Bactocatch" (technologie permettant de maintenir une pression transmembranaire uniforme en tout point de la membrane par contrepression dynamique côté microfiltrat).

La pression transmembranaire était de $0,55 \text{ bar}$, la vitesse tangentielle de $7,6 \text{ m/s}$ et le débit de $680 \text{ l.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$.

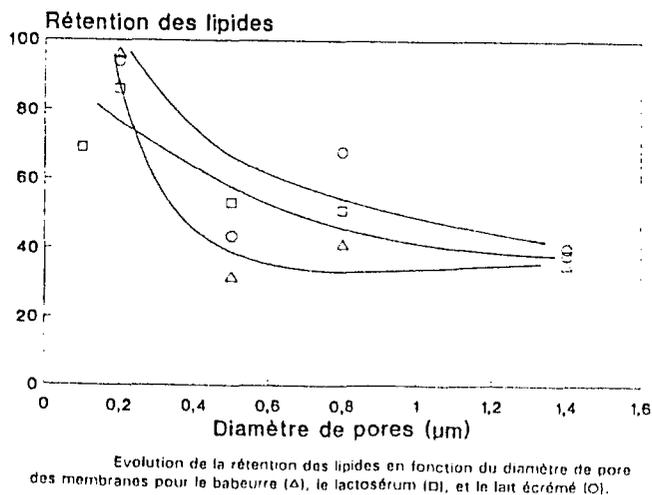
Dans ces conditions la membrane en alumine permettait de retenir $99,9\%$ des bactéries.

-Le traitement du lait écrémé sur membrane de microfiltration (pores de diamètre $0,2 \mu\text{m}$) a conduit à la séparation de deux liquides (30)(31) : un microfiltrat délipidé et un retentat riche en caséine micellaire. Les conditions opératoires étaient : surface du filtre $0,158 \text{ m}^2$; vitesse tangentielle 6 m/s ; débit $100 \text{ l.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$ et pression transmembranaire $0,9 \text{ bar}$.

-La microfiltration du lait et de ses dérivés a fait l'objet d'une thèse (25) : le comportement des lipides lors des étapes de microfiltration sur des membranes en céramiques dont les diamètres moyens de pores étaient de $0,1 \mu\text{m}$, $0,2 \mu\text{m}$, $0,5 \mu\text{m}$ et $0,8 \mu\text{m}$ a été étudié. Les conditions utilisées étaient : vitesse tangentielle 6 m/s , pression transmembranaire $0,7 \text{ bar}$, décolmatage séquentiel toutes les 2 minutes.

Cette étude a montré notamment l'évolution de la rétention des lipides en fonction du diamètre de pore des membranes pour le babeurre, le lactosérum et le lait écrémé, représentée sur la figure 1 : d'après Surel (25) :

figure 1 : Evolution de la rétention des lipides en fonction du diamètre de pore des membranes



3.4. Discussion

Les nombreuses différences (but de la filtration, conditions opératoires et composition de l'émulsion...) rendent difficile une application directe de la technologie de microfiltration laitière aux mélanges nutritifs ternaires.

Cependant, il semble que la séparation finale obtenue grâce à l'utilisation des membranes 1,8 et 1,4 μm se rapproche des contraintes imposées par les mélanges ternaires : les particules de 2 à 12 μm (globules lipidiques du lait) sont retenues alors que les micelles de caséines sont quasiment intégralement retrouvées dans le microfiltrat. L'émulsion des mélanges parentéraux étant plus fine (taille moyenne des globules 0,35 μm , soit une taille comparable aux micelles de caséines), elle pourrait ne pas être modifiée par la filtration tandis que les particules inertes seraient retenues : la prudence s'impose, les conditions de filtration, comparées dans le tableau 5 de la page suivante, étant tout de même très différentes.

La filtration tangentielle va favoriser la rétention des globules lipidiques tout en diminuant le colmatage. Une filtration non tangentielle, seul procédé utilisable lors de l'administration des mélanges nutritifs ternaires parentéraux, risque donc d'augmenter le colmatage, d'autant plus que la surface du filtre et la pression transmembranaire sont limitées, même s'il est vrai que le volume à filtrer est réduit.

tableau 5 : Conditions différentielles de filtration des émulsions : lait/mélange parentéral

Filtration des émulsions nutritives		Ecrémage du lait entier dans l'industrie laitière	Filtration des émulsions nutritives lors de leur administration parentérale
Objectifs	Séparer différents constituants :	-retenir les globules lipidiques (2 à 12 μm) -laisser passer les micelles de caséine (0,3 μm)	-retenir les particules inertes (1 à 500 μm) -laisser passer les globules lipidiques (0,5 μm)
Filtre	Nature	minérale : céramique (alumine)	polymère synthétique : polyamides, polysulfones
	Seuils de coupure	1,4 à 1,8 μm	1,2 à 100 μm
	Surface	2.10 ⁻¹ m ²	10 ⁻⁴ à 10 ⁻³ m ²
	Perméabilité à l'eau en l.h ⁻¹ .m ⁻² .bar ⁻¹	1,5.10 ³	10 ⁵ à 2.10 ⁶
Conditions de filtration	Type	tangentielle	non tangentielle
	Utilisation	continue	usage unique
	Volume à filtrer	> 1000 l	< 3 l
	Débit spécifique de filtration : l.h ⁻¹ .m ⁻²	800	180 à 1400
	Pression transmembranaire	0,5 à 1 bar	< 0,3 bar
	Reynolds* (pore)	10 ⁻⁵	1,5.10 ⁻⁵ à 8.10 ⁻³

* Remarque : le nombre adimensionnel de Reynolds, indiqué dans ce tableau, caractérise le régime hydraulique d'écoulement du fluide à travers les capillaires du filtre; il quantifie le rapport des forces d'entraînement inertielle aux forces de viscosité du liquide; les valeurs obtenues sont caractéristiques d'un régime d'écoulement laminaire. Les calculs et interprétations de ces résultats sont précisés plus avant dans le texte (voir partie Discussion p. 70 et annexe 2 p.92).

4. Stabilité

Le risque lié à la perfusion d'une émulsion déstabilisée est l'embolie graisseuse; cette toxicité due à l'augmentation du diamètre globulaire est certaine; même si le seuil toxique n'est pas clairement établi, il semble que ce risque augmente considérablement lorsque les globules huileux ont un diamètre supérieur à 5 μm environ (32).

C'est pourquoi de nombreuses études se sont attachées à mieux connaître les facteurs influençant la stabilité des émulsions nutritives afin de déterminer avec sécurité la nature et la quantité des ajouts non déstabilisants (33-38), ainsi que l'évolution de la stabilité de l'émulsion en fonction du temps pour mieux connaître la durée de conservation maximale de ces mélanges (19)(20)(39)(40).

Les mécanismes de l'instabilité de l'émulsion font intervenir la notion de tension interfaciale : cette tension, qui correspond à la différence entre les tensions superficielles des deux liquides (équation d'Antonoff) caractérise les effets de surface; l'énergie de cohésion s'oppose à la dispersion des molécules.

Pour atteindre son énergie minimale, le système tend donc à diminuer sa surface de contact par fusion des particules dispersées jusqu'à séparation complète des deux phases.

Une meilleure stabilité de l'émulsion sera donc obtenue en diminuant cette tension interfaciale (ajout de tensioactifs : lécithine de l'oeuf purifiée dans l'Intralipide®).

Plusieurs formes d'instabilité des émulsions plus ou moins interdépendantes peuvent être différenciées : le crémage, la floculation et la coalescence (41) :

-Le crémage : ce phénomène a pour origine la différence de densité entre la phase dispersée et la phase continue; il tend à faire remonter les globules lipidiques en surface : ce processus réversible est d'autant plus important que le diamètre des globules est important et que la viscosité de la phase aqueuse dispersante est faible : la loi de Stokes en donne la vitesse (V en $\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$):

$$V = \frac{2 \cdot g \cdot r^2 (\rho_1 - \rho_2)}{9 \cdot \mu}$$

g = accélération de la pesanteur ($\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$)

r = rayon de la particule dispersée (cm)

ρ_1 et ρ_2 = masses volumiques respectives des phases dispersées et dispersantes ($\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$)

μ = viscosité du liquide dispersant (poise).

L'ajout de glycérol dans l'émulsion nutritive parentérale augmentant la viscosité permet de diminuer le crémage : c'est donc un élément favorisant la stabilité de l'émulsion.

-La floculation correspond à l'association de plusieurs globules en agrégats. La conservation du film interfacial rend possible la réversibilité de la floculation.

La stabilité de l'émulsion dépend notamment des forces de répulsion inter-globules, dont la mesure du potentiel zeta (différence de potentiel entre le plan de glissement de la couche de contre-ions adsorbée à la surface du globule et le sein de la solution) par micro-électrophorèse est un indicateur : la diminution de la charge portée en surface des globules (-30 à -50mV), visualisée par la diminution du potentiel zeta, peut survenir lors de nombreux ajouts favorisant la floculation (33) :

-glucose (par diminution du pH)

-acides aminés : lorsque le point iso-électrique des acides aminés considérés est supérieur au pH du mélange, les acides aminés sont chargés positivement et ils s'adsorbent en surface des globules lipidiques, assurant ainsi un effet protecteur contre la floculation.

Au contraire, lorsque le point iso-électrique des acides aminés ajoutés est inférieur au pH du mélange, les acides aminés sont chargés négativement : il y a alors répulsion entre les acides aminés (cystine, aspartate, glutamate) et les globules lipidiques, accélérant le phénomène de coalescence.

-électrolytes, notamment les cations bivalents Ca^{++} et Mg^{++} .

-La coalescence correspond à la fusion irréversible et intime de deux gouttelettes ayant déjà floculé : la coalescence se traduit par une augmentation de la taille des globules, une diminution de leur nombre total et une diminution de la surface interfaciale. Elle se manifeste dans trois cas :

-absence de film interfacial

-film interfacial inadéquat

-rupture du film interfacial (causes chimiques, physiques, ou électriques).

En dehors des méthodes conductimétriques, l'évaluation de la stabilité de l'émulsion repose principalement sur le comptage particulaire (méthode permettant de déterminer la taille des globules, leur nombre et leur répartition), l'examen microscopique et la centrifugation (42).

La filtration d'une émulsion peut potentiellement entraîner une altération de sa stabilité, l'augmentation de la probabilité de chocs entre les globules lipidiques au passage de la membrane de filtration pourrait favoriser le phénomène de floculation.

Par ailleurs, les nouvelles contraintes mécaniques auxquelles sont soumis les globules lipidiques lors de la filtration pourraient provoquer une coalescence par rupture du film interfacial.

Il est donc nécessaire de s'assurer de la bonne conservation des caractéristiques granulométriques de l'émulsion après une opération de filtration. Cependant, cette filtration étant opérée lors de l'administration du mélange, il ne semble pas impératif, en première approche de contrôler la durée de stabilité de l'émulsion après filtration.

MATERIEL & METHODES

MATERIEL ET METHODES

1. Matériel

1.1. Choix du mélange étudié :

Compte tenu du nombre de composants des préparations nutritives parentérales et de la multiplicité des formules liée à l'individualisation de la thérapeutique, il nous a paru nécessaire de limiter l'étude à une formule donnée qui corresponde à une alimentation parentérale exclusive d'un patient sous nutrition parentérale à domicile à long terme : en effet, le volume total reçu par ce patient sera important, justifiant ainsi la prévention de la contamination particulière.

Notre choix s'est donc porté sur un mélange ternaire complet (glucose, acides aminés et émulsion lipidique), supplémenté en électrolytes et en oligo-éléments : 2140ml/2400kcal; cette émulsion finale est contenue dans une poche en Ethyl-Vinyl-Acétate (Stedim 235®).

La composition exacte du mélange est présentée dans le tableau 6, page suivante :

tableau 6 : Composition du mélange étudié

Type d'apport	Dénomination	Composition	Quantité	
Protéines	Azonutril®	acides aminés purs	14,8g	500ml
		EPPI*	qsp 100ml	
Glucides	Glucose 30%	glucose	30g/100ml	750ml
	Glucose 50%	glucose	50g/100ml	250ml
Lipides	Intralipide 20%®	huile de soja	20g	500ml
		lécithine d'oeuf purifiée	1,2g	
		glycérol	2,25g	
		EPPI*	qsp 100ml	
Electrolytes	KCl 10%	chlorure de potassium	10g	30ml
		EPPI*	qsp 100ml	
	Phocytan®	glucose-1-phosphate disodique,		30ml
		4 H ₂ O	12,54g	
		EPPI*	qsp 100ml	
	Ionitan®	sodium	50mmol	40ml
		potassium	48mmol	
		calcium	4mmol	
		magnésium	2mmol	
		chlorure	79mmol	
		acétate	10mmol	
		sulfate	2mmol	
		lactate	4mmol	
phosphate		2,7mmol		
EPPI*		qsp 40ml		
Oligo-éléments	Nonan®	fer	0,018mmol	40ml
		cuiivre	0,007mmol	
		manganèse	0,018mmol	
		zinc	0,061mmol	
		fluor	0,076mmol	
		cobalt	0,025mmol	
		iode	0,012mmol	
		sélénium	0,507mmol	
		molybdène	0,260mmol	
EPPI*	qsp 40ml			

* EPPI : Eau Pour Préparation Injectable

1.2.Choix du schéma d'administration

Pour les mêmes raisons qui ont guidé notre choix du type de mélange, nous avons choisi le schéma d'administration utilisé dans le cadre de la nutrition à domicile : le mélange est perfusé grâce à une pompe qui assure un débit constant tout au long de l'administration :

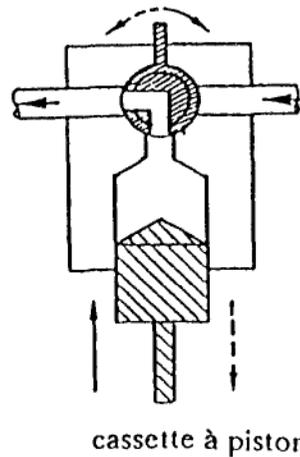
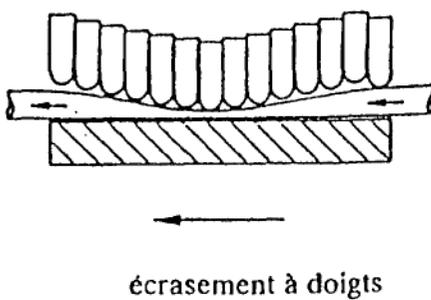
-trois pompes péristaltiques ont été testées; le principe de l'action de ces pompes est l'écrasement d'une portion linéaire de la tubulure de perfusion par des doigts mécaniques assurant ainsi une progression péristaltique du contenu dans la tubulure. La différence entre le débit affiché et le débit réel est inférieure à 5% sur 24 heures (43).

-une pompe à piston a également été utilisée : le principe est de délivrer un volume constant de fluide grâce au mouvement de va et vient d'un piston : la vitesse du piston dans une cassette calibrée détermine le débit assuré par la pompe : la précision est meilleure, l'erreur sur le débit étant inférieure à 3% sur une durée nettement supérieure à 24 heures (44).

L'inconvénient majeur de ce type de mécanisme est le flux aval qui est irrégulier, cette discontinuité étant inhérente aux phases de remplissage et d'éjection du fluide dans la cassette.

Le schéma 2 suivant indique le principe des mécanismes des pompes : d'après (44) :

Schéma 2 : Principe des mécanismes des pompes



Le tableau 7 suivant présente les principales caractéristiques des pompes utilisées :

tableau 7 : Principales caractéristiques des pompes

Désignation	Gemini PC-1®	VIP II®	591 Star Flow®	Life Care Model 4®
Distributeur	IMED	B.D./VIAL	IVAC	ABBOTT
Type	Pompe à perfusion à réglage de débit (norme AFNOR S90-250)			
Mécanisme	Péristaltique linéaire à doigts			à cassette, à piston
Tubulure	Spécifique	Spécifique	Spécifique	Spécifique
Débits	1 à 999 ml/h par palier de 1 ml et de 0,1 à 99,9ml/h par palier de 0,1ml	1 à 999 ml/h par palier de 1 ml	1 à 999 ml/h par palier de 1 ml	1 à 999 ml/h par palier de 1 ml
Précision	+/- 5%			+/- 3%
Pression maxi	0,69 à 1,7 bar			0,3 à 1 bar

L'extrémité de la tubulure de perfusion était branchée sur une poche identique à celle contenant le mélange à filtrer (Stedim 235® en EVA), qui permettait le recueil de l'émulsion filtrée.

1.3.Choix des filtres à tester

Différents éléments ont orienté notre décision vers l'étude de 3 filtres :

-même si certaines tubulures ne comportent pas de filtre, la majorité des tubulures actuellement préconisées pour l'administration des mélanges nutritifs à l'aide de pompes intègrent un filtre au niveau de la chambre compte goutte. Cependant, le seuil de coupure de ces filtres est différent en fonction des fabricants : 100, 25 ou 15 μm .

Il nous semblait donc intéressant d'étudier le comportement du filtre dont le seuil de coupure est 15 μm , puisque c'est le plus fin actuellement intégré à une tubulure.

-Par ailleurs, l'étude bibliographique a montré l'intérêt d'un filtre 5 μm .

Nous avons donc souhaité comparer les performances d'un filtre de même nature que le filtre 15 μm avec nos conditions d'utilisation (type de mélange, débit,...) et avec nos méthodes d'évaluation.

Le filtre 5 μm étudié était aussi intégré au niveau de la chambre compte goutte de la tubulure, donc en amont de la pompe.

-Enfin, une unité filtrante 1,2 μm a fait l'objet d'une récente commercialisation. Elle est préconisée par son fabricant lors de l'administration des émulsions nutritives.

Ce filtre, dont le seuil de coupure est proche du diamètre moyen de l'émulsion se rapproche de ceux utilisés dans la microfiltration du lait (1,4 et 1,8 μm).

Il était donc nécessaire d'en vérifier les caractéristiques et de comparer ses aptitudes à celles des deux autres filtres.

Cette unité s'adapte à l'extrémité de toute tubulure, au niveau de la jonction avec le cathéter du patient. Le filtre est donc placé en aval de la pompe.

Les principales caractéristiques des filtres étudiés sont rassemblées dans le tableau 8 de la page suivante :

tableau 8 : Principales caractéristiques des filtres

Membranes filtrantes	"15 μm "	"5 μm "	"1,2 μm "
Nature	Polyamide / cerclage en ABS		Polysulfone
Seuil de coupure	15 μm	5 μm	1,2 μm
Surface	1,29.10 ⁻⁴ m ²		10 ⁻³ m ²
Épaisseur	40 μm	80 μm	180 μm
Porosité	Non mesurée		68% *
Position de la membrane	en amont de la pompe		en aval

* note : porosité mesurée par porosimétrie au mercure (voir annexe 1 p.91)

2.Méthodes

2.1.Etude du colmatage de la membrane filtrante : 1^{er} objectif

La filtration est réalisée à température ambiante, le colmatage étant évalué par mesure de la perte de charge lors de la filtration de deux fluides :

- eau
- émulsion nutritive

L'installation permettait de suivre le colmatage des filtres en faisant varier deux paramètres :

- débit de filtration : de 0 à 999 ml/heure
- volume perfusé : de 0 à 2000 ml

Deux dispositifs différents ont été mis en place pour évaluer la perte de charge transmembranaire en fonction de la disposition du filtre par rapport à la pompe :

- Filtres en amont de la pompe (membranes 15 et 5 μm) : schéma 3 page suivante

Le dispositif permettant de mesurer la perte de charge comporte une tubulure secondaire branchée sur la ligne de perfusion principale.

Un tube en U est raccordé à la partie supérieure d'un récipient hermétiquement clos; la partie inférieure de ce récipient étant remplie d'émulsion dans laquelle plonge l'extrémité de la tubulure secondaire.

Le filtre étant placé en amont de la pompe, l'émulsion est aspirée à travers le filtre.

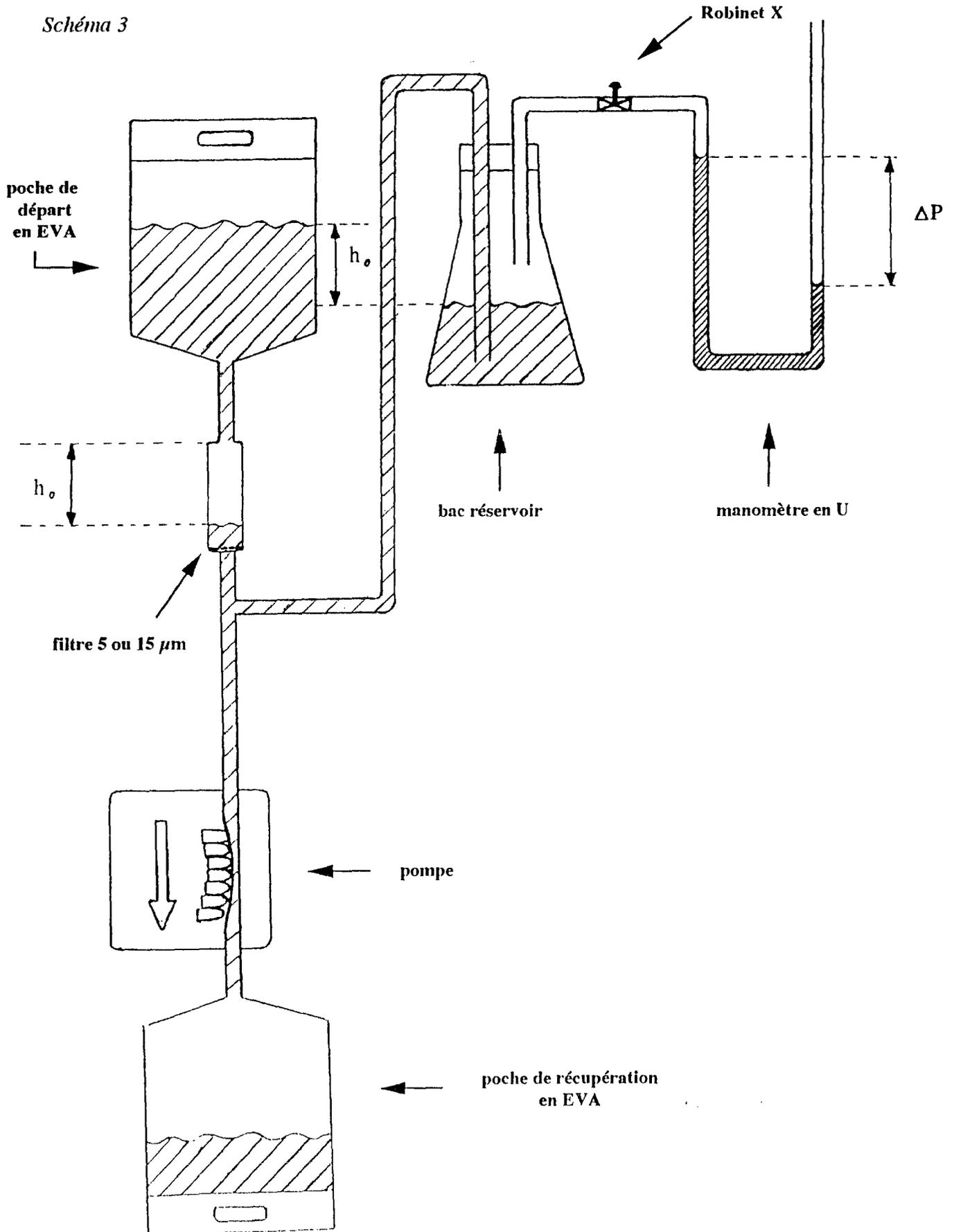
La perte de charge étant nulle lorsque le débit est nul, il est nécessaire, avant la mise en route de la perfusion, d'ajuster les niveaux des deux branches du tube en U en ouvrant momentanément le robinet X.

Puis lors de la perfusion, la dépression qui résulte du colmatage du filtre est égale à la différence de niveau du liquide dans les deux branches du tube en U.

METHODE DE MESURE DE LA PERTE DE CHARGE

filtres 15 μm et 5 μm en amont de la pompe

Schéma 3



-Filtre en aval de la pompe (membrane $1,2 \mu\text{m}$) : schéma 4 page suivante

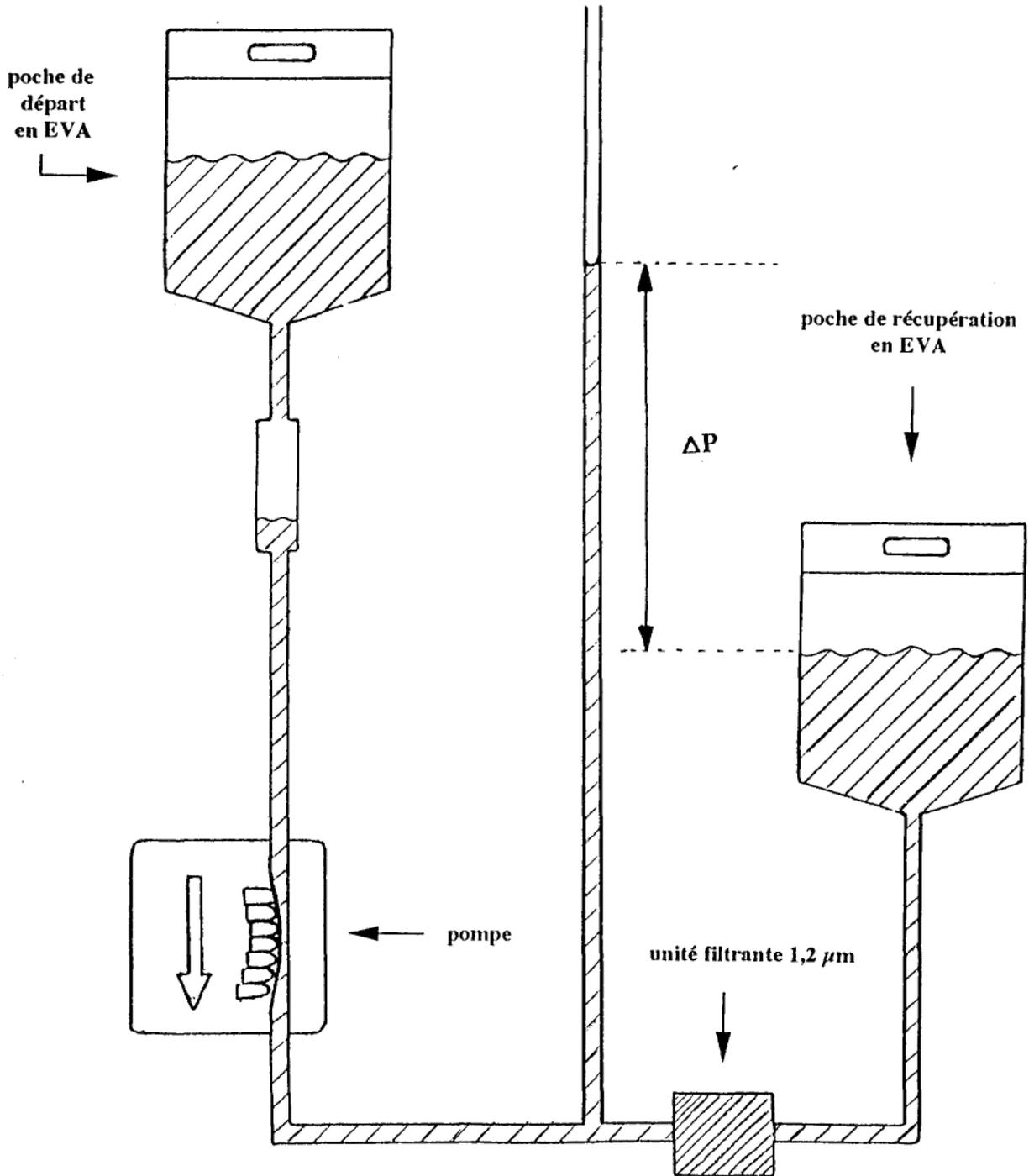
Le dispositif de mesure de la perte de charge est composé d'une tubulure secondaire branchée entre le filtre et la pompe.

Cette tubulure, maintenue verticalement, permettait de mesurer la pression transmembranaire par lecture de la différence de hauteur de liquide entre cette tubulure secondaire et le niveau supérieur de la poche de réception de l'émulsion.

METHODE DE MESURE DE LA PERTE DE CHARGE

filtre 1,2 μm en aval de la pompe

Schéma 4



2.2. Etude de la contamination particulaire avant/après filtration : 2^{ème} objectif

La méthode de mesure de la contamination particulaire choisie est la filtration-observation microscopique car c'est la méthode de référence adoptée par différentes Pharmacopées (Etats-Unis, Japon, France). D'autres techniques existent mais elles ne peuvent pas détecter des contaminants contenus dans une émulsion (variation de conductivité, interception d'un rayon lumineux, mirage optique...).

2.2.1. Principe

Le principe consiste à filtrer le fluide contaminé sur une membrane quadrillée dont le seuil de coupure est choisi afin de retenir les particules contaminantes.

Cette opération de filtration est réalisée sous hotte à flux laminaire en suivant une procédure précise pour prévenir tout apport de contaminants atmosphérique.

Un contrôle périodique à l'aide d'une solution aparticulaire permet de valider les conditions de manipulation.

La membrane est examinée au microscope optique éclairé en lumière incidente. Les particules recueillies par la membrane sont comptées et classées en fonction de leur taille à l'aide d'un micromètre oculaire.

Cette méthode permet la détection de particules supérieures à 5 μm .

2.2.2. Mode opératoire

Les manipulations sont effectuées sous une hotte à flux laminaire de classe A. Le matériel qui est mis sous la hotte est préalablement lavé minutieusement et rincé avec de l'eau filtrée à 0,45 μm . Le manipulateur doit revêtir une coiffe, un vêtement de protection et des gants non talqués.

Les membranes utilisées pour retenir les contaminants sont des membranes filtrantes en acétate de cellulose de diamètre 47 mm et de seuil de coupure 0,8 μm quadrillées à fond blanc.

La membrane est placée sur un support de filtration après rinçage à l'eau aparticulaire.

Un blanc est réalisé en filtrant 20 ml d'eau aparticulaire (eau ayant préalablement été filtrée par une membrane 0,2 μm).

La filtration est réalisée grâce à une trompe à vide qui crée une dépression, aspirant ainsi le liquide à travers la membrane.

La membrane est ensuite retirée et mise à sécher dans une boîte de Pétri pendant 24 heures avant d'être lue sous le microscope.

Ce blanc est effectué en début de manipulation, puis tous les 10 échantillons et en fin de manipulation : il permet de valider la manipulation, les particules retenues provenant uniquement du matériel et du manipulateur; cette contamination est donc fonction de la qualité du rinçage du matériel et de la dextérité du manipulateur. La manipulation est validée si cette contamination est inférieure à 5 particules de plus de 25 μm par ml. Dans le cas où cette valeur seuil est dépassée, les conditions de manipulations ne sont pas satisfaisantes : l'ensemble du matériel doit donc être à nouveau rincé.

Les résultats du blanc sont traités comme bruit de fond et sont donc soustraits des résultats des échantillons.

Par ailleurs un témoin est réalisé dans les mêmes conditions que les échantillons d'émulsion : l'eau est perfusée dans les mêmes conditions (pompe péristaltique à débit 180 ml/h, eau recueillie dans une poche en EVA, prélèvement de 100 ml après 20 retournements de la poche...). Seule différence : l'eau est filtrée lors de la perfusion avec une membrane 0,2 μm afin de ne pas apporter des contaminants autres que ceux liés aux conditions opératoires.

Les contaminants mis en évidence par ce témoin reflètent la contamination inhérente aux conditions opératoires : le résultat doit donc être retranché au résultat de l'échantillon.

Chaque échantillon d'émulsion nutritive à contrôler est soigneusement mélangé (20 retournements) et l'embout externe de la poche est nettoyé à l'aide d'eau filtrée.

100 ml d'émulsion sont ensuite filtrés à travers une nouvelle membrane 0,8 μm .

Cette membrane est ensuite retirée de son support et déposée dans une boîte de Pétri sous le flux laminaire afin qu'elle sèche.

Entre chaque échantillon, l'ensemble du matériel de filtration (support du filtre, entonnoir, pinces...) est rincé.

Le comptage est réalisé au microscope optique, grossissement 125x, préalablement calibré à l'aide d'un micromètre oculaire, sous le flux laminaire, la membrane étant éclairée par une lumière incidente.

Les particules sont comptées et classées en 2 classes :

-de 5 à 15 μm

-supérieure à 15 μm

L'analyse a portée sur 30 échantillons :

-15 poches ont ainsi été analysées avant la filtration.

-4 mesures après filtration 15 μm

-4 mesures après filtration 5 μm

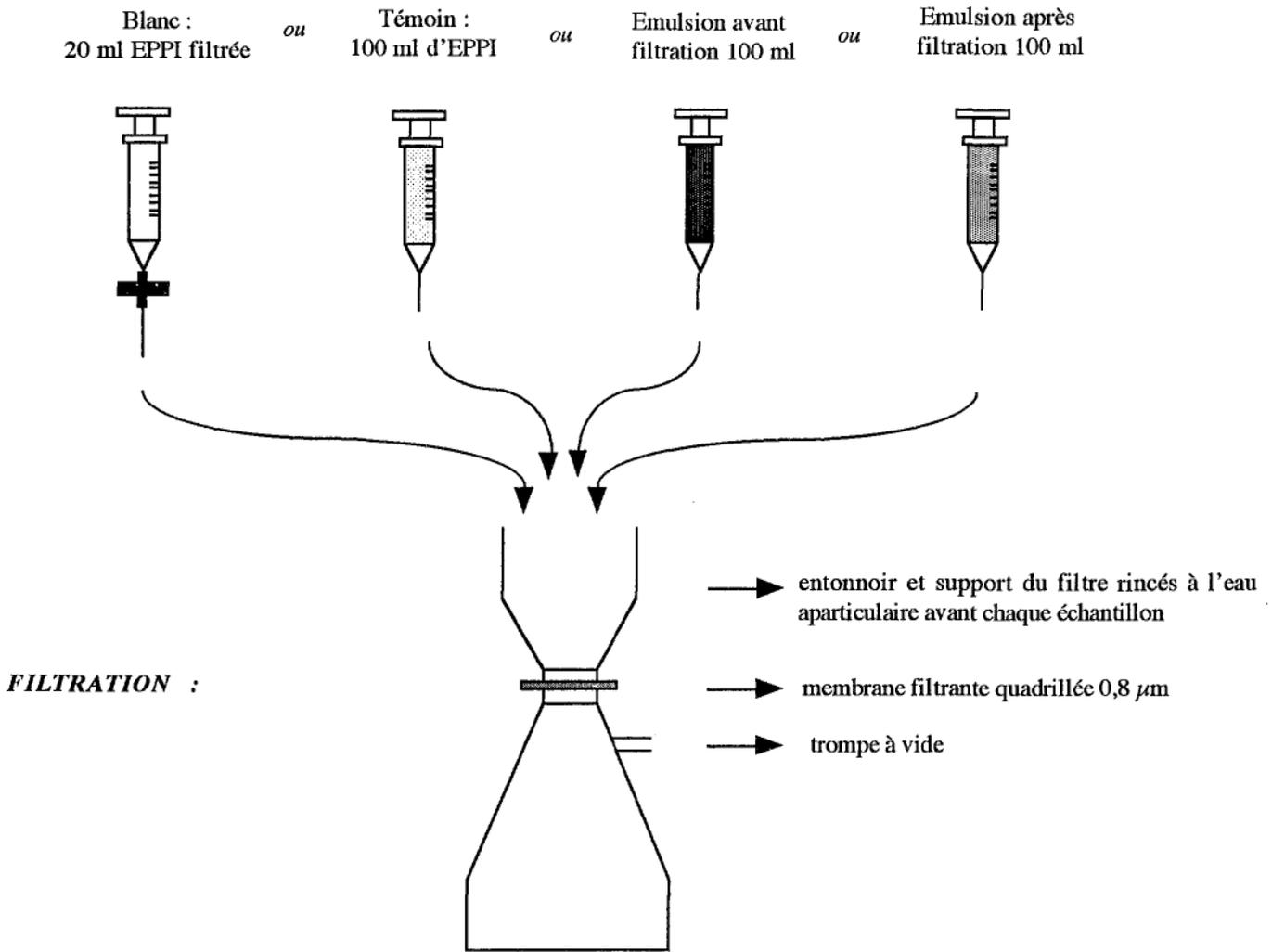
-7 mesures après filtration 1,2 μm

L'ensemble du protocole est schématisé sur la page suivante : (schéma 5)

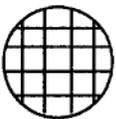
PROTOCOLE EXPERIMENTAL : COMPTAGE PARTICULAIRE

FILTRATION-OBSERVATION MICROSCOPIQUE

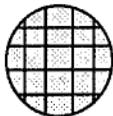
Schéma 5



OBSERVATION MICROSCOPIQUE :



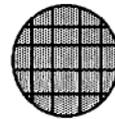
Blanc :
Valide la qualité de la manipulation (matériel et manipulateur)



Témoin :
EPPI ayant subie les mêmes conditions que les échantillons (perfusion...)



Emulsion avant filtration :
Echantillon d'émulsion avant perfusion



Emulsion après filtration :
Echantillon d'émulsion après filtration "15, 5 ou 1,2 µm"

note : EPPI = Eau Pour Préparation Injectable

2.3. Etude de la stabilité de l'émulsion avant/après filtration : 3^{ème} objectif

2.3.1.Principe

La méthode d'évaluation de la stabilité de l'émulsion choisie est le suivi de l'évolution de la taille des globules lipidiques : en effet, l'augmentation de la taille des globules lipidiques, synonyme d'un phénomène de coalescence, est un marqueur précoce de la déstabilisation de l'émulsion.

La répartition granulométrique des globules de fort diamètre de l'émulsion a été déterminée à l'aide d'un compteur électronique à variation de résistance : Coulter Counter TA II-PCA®.

Le principe de cet appareil, qui permet de déterminer le nombre et la dimension des globules après les avoir dispersés dans un liquide conducteur, s'appuie sur la détection volumétrique par impédance.

L'organe détecteur est un micro-orifice incorporé à un tube qui plonge dans l'émulsion à analyser. De chaque côté du tube à orifice, se trouvent deux électrodes de platine immergées dans le liquide, entre lesquelles est appliqué un courant continu.

Le passage d'un globule déplace un volume d'électrolyte égal au volume propre du globule lipidique. Il y a ainsi variation de la résistance entre les deux électrodes et production d'une impulsion de tension dont l'amplitude est proportionnelle au volume du globule.

C'est une méthode couramment utilisée pour évaluer la stabilité d'une émulsion (19)(32)(39)(42), ces auteurs ayant montré que la dilution nécessaire au comptage des globules lipidiques ne modifiait ni le diamètre moyen des gouttelettes ni le degré de dispersion de l'émulsion.

Le principe et l'ensemble de l'appareil sont présentés sur le schéma 6 de la page suivante :

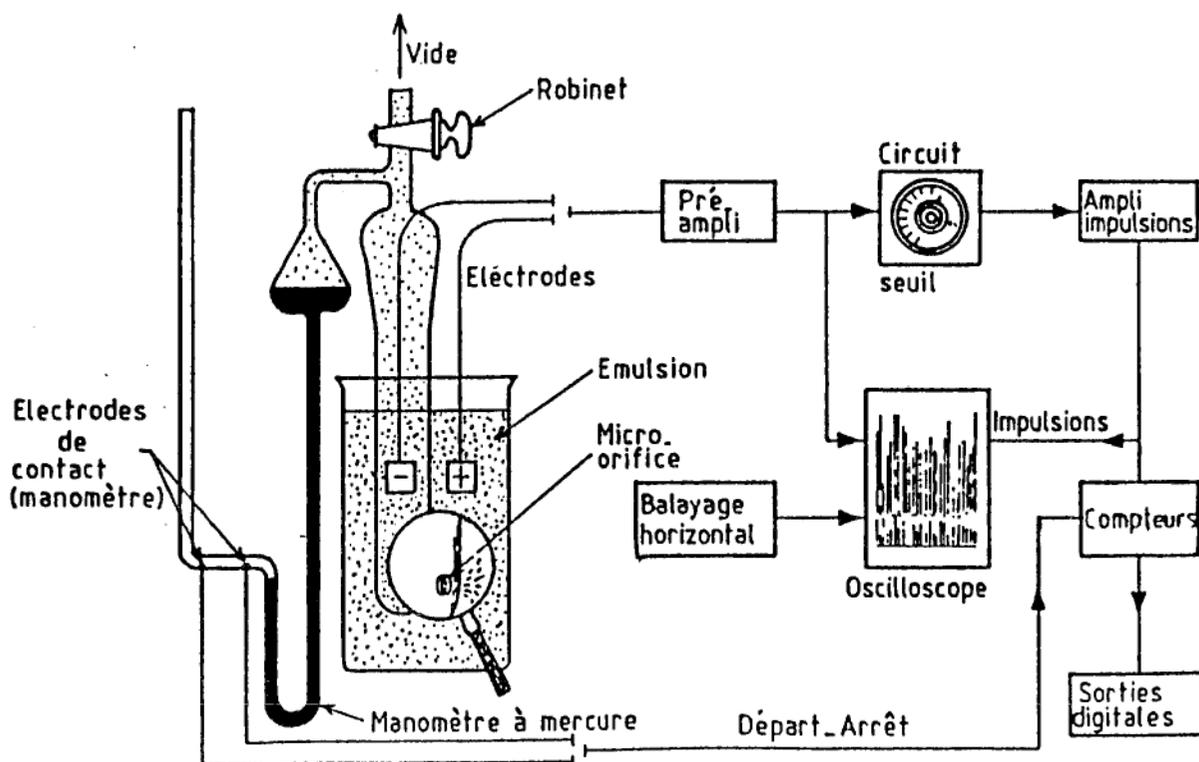
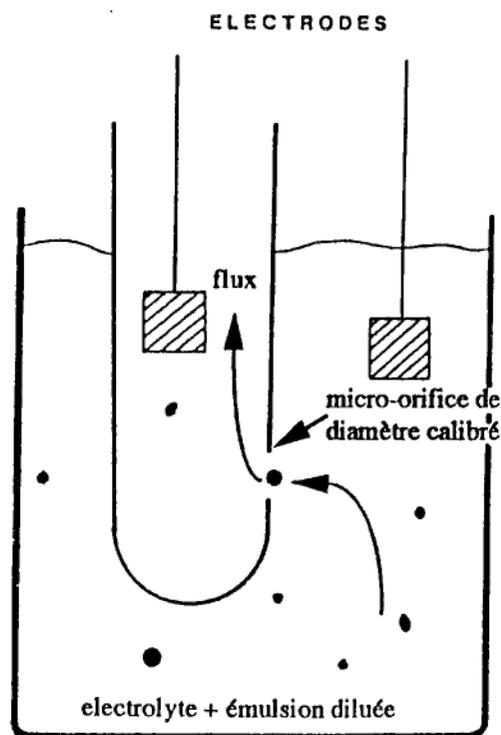
MESURE DE LA STABILITE DE L'EMULSION

REPARTITION DE TAILLE DES GLOBULES LIPIDIQUES

MESURE PAR VARIATION DE RESISTANCE :

Schéma 6

Principe et schéma général
du Coulter Counter®



2.3.2.Mode opératoire

2.3.2.1.Conditions opératoires

Le Coulter® est muni d'un tube orifice de 50 μm , permettant de dénombrer les globules de taille comprise entre 0,63 et 24,96 μm répartis, comme l'indique le tableau ci-dessous, en 16 classes granulométriques, de progression géométrique de raison 1,26 :

Canaux	Classe granulométrique (diamètre en μm)
1	0,63 - 0,79
2	0,79 - 1,00
3	1,00 - 1,26
4	1,26 - 1,59
5	1,59 - 2,00
6	2,00 - 2,52
7	2,52 - 3,17
8	3,17 - 4,00
9	4,00 - 5,04
10	5,04 - 6,35
11	6,35 - 8,00
12	8,00 - 10,08
13	10,08 - 12,70
14	12,70 - 16,00
15	16,00 - 20,16
16	20,16 - 24,96

L'émulsion est diluée au 1/50000ème dans une solution d'Isoton II® filtré

Le volume prélevé par échantillon pour le comptage est de 50 μl .

Avant utilisation, l'appareil a été étalonné à l'aide de billes monodimensionnelles en latex d'un diamètre connu de 2 μm .

2.3.2.2. Protocole expérimental

Les poches à analyser sont agitées 20 fois par retournement.

L'ensemble des manipulations concernant la dilution des échantillons est réalisé sous une hotte à flux laminaire avec un maximum de précaution pour limiter la contamination en particules inertes étrangères.

100 ml environ d'émulsion sont versés dans un bécher.

On prélève 0,5 ml d'émulsion à l'aide d'une seringue que l'on transfère dans un bécher contenant 10 ml d'Isoton® filtré (unité filtrante Millex HV® 0,45 µm Millipore).

L'homogénéisation est obtenue par ultra-sons pendant 1mn 30.

De cette première dilution, on prélève 20 µl avec une pipette SOCOREX 20 µl ® que l'on transfère dans la cuve d'analyse contenant 50 ml d'Isoton® filtré.

Après 1mn 30 d'ultra-sons, la cuve est placée dans le Coulter® pour l'analyse.

Pour chaque échantillon, l'analyse comporte 7 mesures consécutives : les deux premières mesures ne sont pas relevées, les 5 mesures consécutives suivantes sont retenues, la moyenne de ces 5 mesures a été considérée comme représentative de l'échantillon analysé.

En début et en fin de manipulation on effectue toujours un blanc avec de l'Isoton® filtré, afin de s'assurer que la contamination par des particules étrangères est aussi faible que possible. De la même façon, 5 mesures consécutives sont prises en compte sur les 7 mesures effectuées en début de manipulation. La moyenne de ces 5 mesures est soustraite au comptage de l'échantillon analysé.

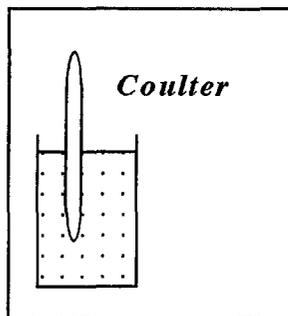
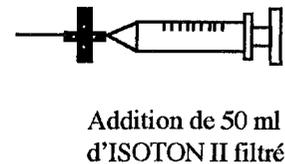
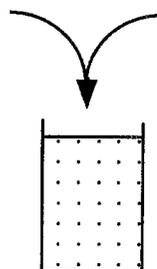
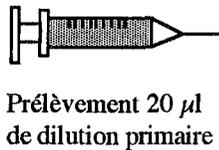
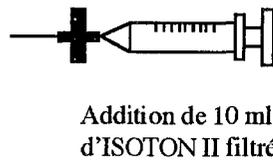
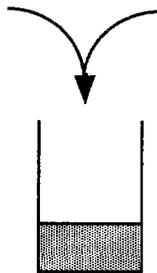
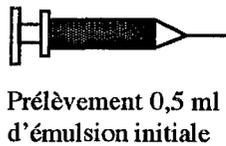
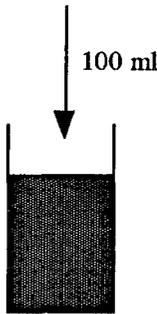
L'ensemble de la procédure est résumé sur la page suivante : schéma 7

PROTOCOLE EXPERIMENTAL : STABILITE DE L'EMULSION

REPARTITION DE LA TAILLE DES GLOBULES LIPIDIQUES PAR COULTER

Schéma 7

Emulsion à analyser après
homogénéisation par retournement (20x)



Analyse au Coulter :

- * tube orifice 50 µm
- * volume prélevé 50 µl
- * 16 canaux
- * 7 mesures successives par échantillon
- * 5 dernières mesures retenues

Exploitation des résultats :

* Prise en compte des témoins

RESULTATS

RESULTATS

1. Etude de la perméabilité et du colmatage de la membrane filtrante

Pour effectuer ces mesures de perte de charge, les débits assurés par les pompes ont été contrôlés et se sont révélés conformes aux indications des constructeurs et aux normes en vigueur :

tableau 9 : Contrôle des débits des pompes

Pompe	Débit affiché en ml/h	Débit contrôlé en ml/h	
		émulsion ($\Delta\%$)	eau ($\Delta\%$)
B.D. VIAL VIP II®	180	177 (-1,7%)	178 (-1,1%)
IVAC 591 Star Flow®	180	182 (+1,1%)	181 (+0,6%)
ABBOTT Life Care Model 4®	180	184 (+2,2%)	NC
IMED Gemini PC-1®	180	181 (+0,6%)	NC

Les résultats des mesures de perte de charge en fonction du débit d'eau (évaluation de la perméabilité des membranes filtrantes) sont présentés sur les figures 2 et 3 de la page 53:

Les mesures de perte de charge de la figure 2 ont été obtenues en utilisant les 3 pompes péristaltiques; en effet la pompe Abbott, à piston, débitant un flux discontinu, la lecture de la perte de charge n'est pas aisée (ce mécanisme engendre deux pressions : une haute et une basse) : de ce fait seules les expériences effectuées avec les pompes péristaltiques ont été retenues.

Pour chaque filtre, trois séries de mesures ont été menées (une série par pompe). Les valeurs obtenues avec les différentes pompes étant très proches, seule la moyenne de ces valeurs a été représentée sur la figure 2.

Les mêmes expériences ont été conduites sous un débit variable d'émulsion. Pour les mêmes raisons que précédemment, la pompe Abbott n'a pas été

utilisée et pour chaque filtre, les valeurs retenues correspondent à la moyenne des 3 essais menés en parallèle avec les 3 pompes péristaltiques.

Ces essais ont été effectués en début de filtration afin de minimiser l'augmentation de la perte de charge liée au phénomène de colmatage de la membrane filtrante : la perte de charge a donc été mesurée sur un volume d'émulsion débité le plus faible possible (inférieur à 20 ml); ce phénomène parasite intervient essentiellement avec la membrane 1,2 μm qui est la plus sujette à se colmater.

La même échelle de perte de charge et de débit a été choisie pour représenter ces deux expériences (figures 2 et 3) afin de mieux visualiser la modification de perméabilité des membranes filtrantes en fonction du fluide filtré.

ETUDE DE LA PERMEABILITE DES MEMBRANES FILTRANTES

Filtres 15 μm , 5 μm et 1,2 μm

figure 2

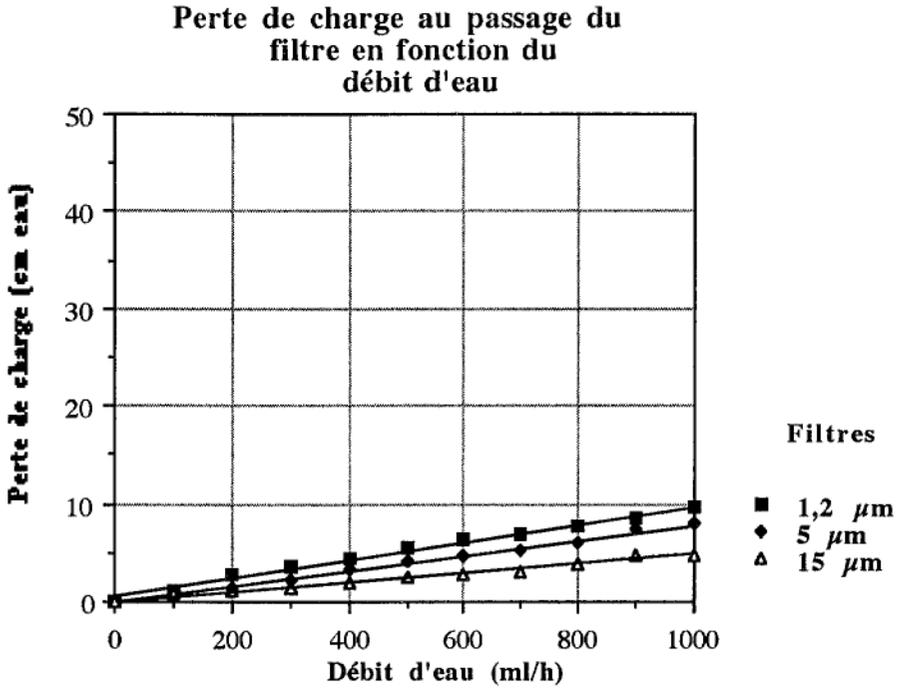
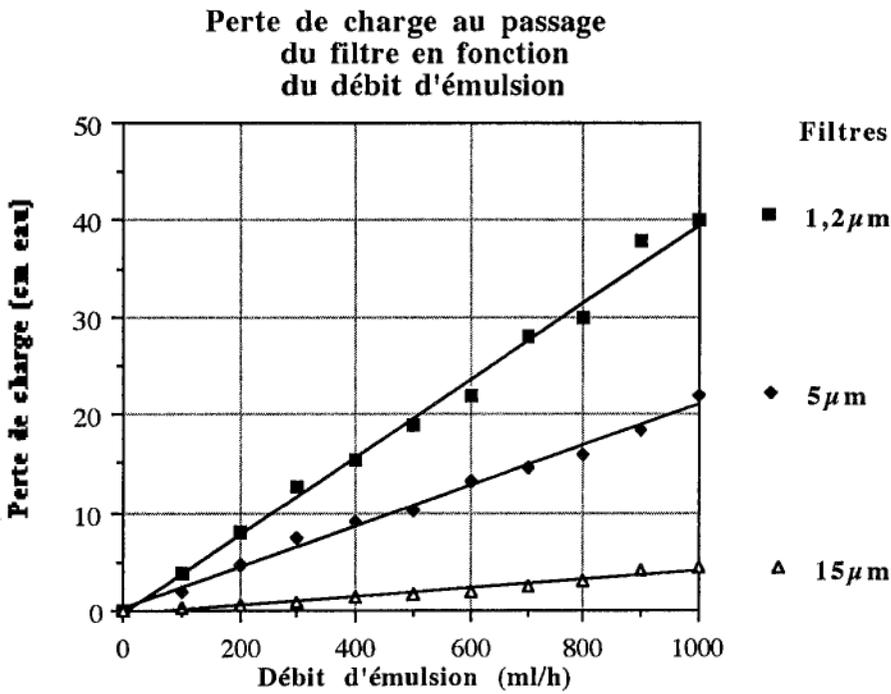


figure 3



Le colmatage des membranes filtrantes $5 \mu\text{m}$ et $1,2 \mu\text{m}$ a été apprécié par mesure de l'évolution de la perte de charge en fonction du volume d'émulsion filtré à deux débits différents (figures 4 et 5 des pages suivantes).

Le filtre $1,2 \mu\text{m}$ provoque une augmentation importante de la perte de charge, synonyme de colmatage : ce colmatage a même stoppé la filtration par la mise en "alarme occlusion" des pompes lorsque le débit d'émulsion était de 999 ml/h et pour un volume perfusé compris entre 500 et 1500 ml (les pressions de mise en alarme étant fonction de la pompe utilisé : de 300 à 1000 cm d'eau).

Comme le montrent les figures 4 et 5, cette augmentation de pression s'effectue en deux parties :

- 250 premiers ml filtrés : l'augmentation est très rapide, l'allure de la courbe est logarithmique (coefficient de corrélation $r = 0,991$) : figures 4 bis et 5 bis

- à partir de 250 ml filtrés : l'augmentation de la perte de charge devient une fonction linéaire du volume d'émulsion filtré (droite de régression : coefficient de corrélation $r = 0,988$) : figure 4

Par contre, le colmatage lié à la présence du filtre $5 \mu\text{m}$ reste limité : en effet, même sous un débit d'émulsion élevé, les pertes de charge enregistrées sont restées très inférieures aux pressions maximales des pompes.

ETUDE DU COLMATAGE DES MEMBRANES FILTRANTES

Filtres 1,2 μm et 5 μm

Débit constant 180 ml/h

figure 4

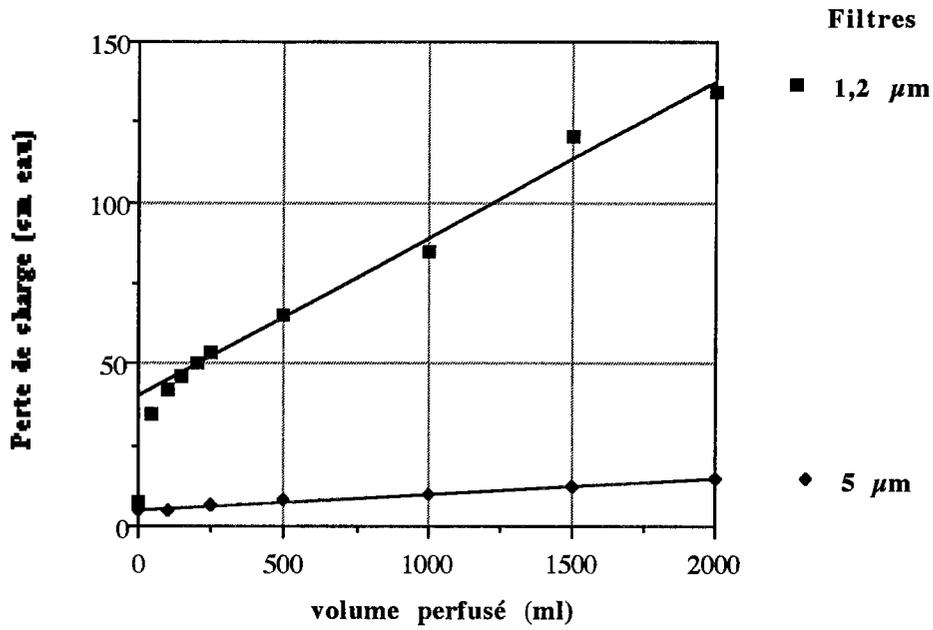
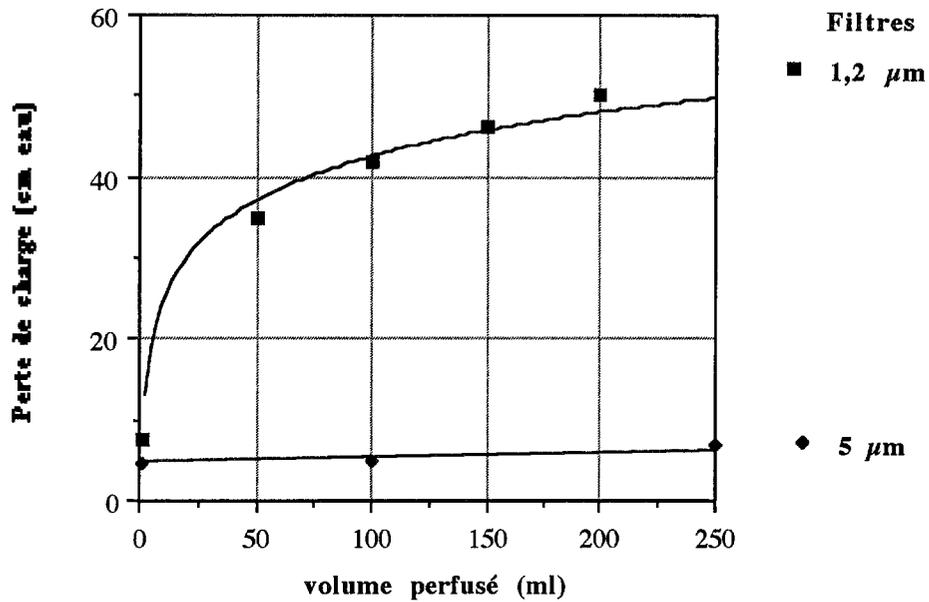


figure 4 bis



ETUDE DU COLMATAGE DES MEMBRANES FILTRANTES :
Filtres 1,2 μm et 5 μm
Débit constant 999 ml/h

figure 5

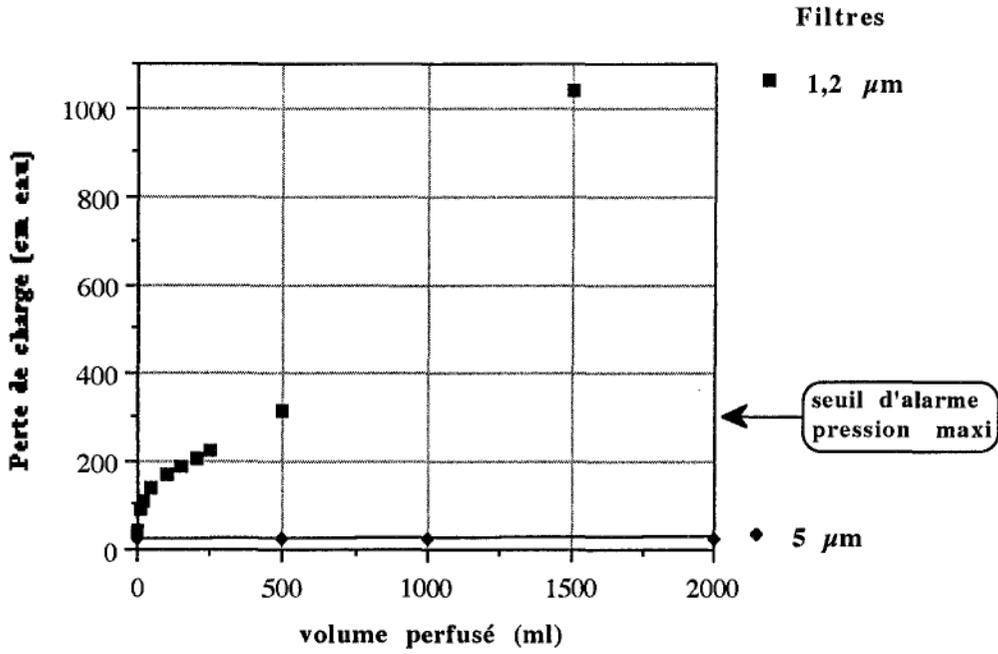
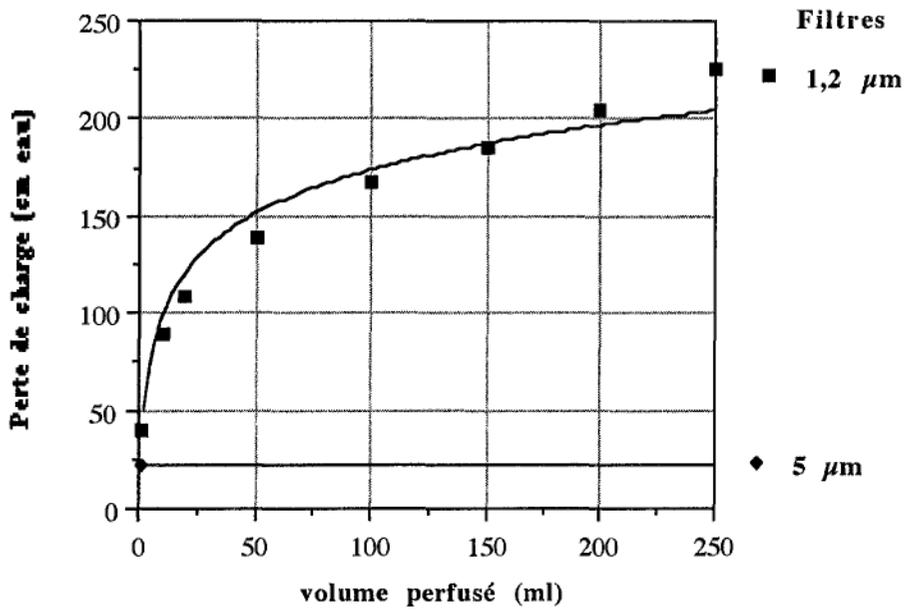


figure 5 bis



2. Etude de la contamination particulaire avant / après filtration

La charge en particule de l'émulsion a été mesurée avant et après l'opération de filtration : les résultats de contamination des mélanges avant filtration figurent dans le tableau 10 suivant :

tableau 10 : Contamination particulaire de l'émulsion avant filtration

Emulsion avant filtration	Classe des particules	
	5 à 15 μm	> 15 μm
nombre moyen de particules / 100 ml (nombre d'échantillons = 15)	44	38
écart-type	24	23

Les mesures comparatives des contaminations avant/après les opérations de filtration sont présentées dans les pages suivantes (figures 6 à 8 et tableaux 11 à 13).

Présentation des résultats :

Le but de ces expériences étant d'évaluer l'efficacité de la filtration, tous les comptages effectués après filtration sont rapportés à la contamination particulaire initiale de l'émulsion : les résultats sont donc présentés sous forme de pourcentage de particules non retenues par le filtre.

Même si la contamination particulaire initiale de l'émulsion est variable (tableau précédent : écart-type = 24), ce calcul est représentatif de l'efficacité de la filtration (taux de filtration) dans la mesure où la contamination particulaire initiale des poches d'émulsion est faible et donc ne peut modifier l'efficacité de la rétention des particules.

figures :

Sur chacune des figures 6 à 8 nous avons représenté la moyenne, effectuée sur n poches, des comptages particulières, avant et après filtration, rapportés à 100 particules comptées au départ, et répartis en deux classes granulométriques (5 à 15 μm et > 15 μm). Pour ces mêmes poches, est représentée la quantité moyenne de contaminants non retenus par le filtre pour 100 particules présentes avant la filtration.

exemple : figure 6

Pour 100 particules comptées avant filtration 54 sont comprises entre 5 et 15 μm , 46 sont de taille supérieure à 15 μm . 4 poches ont été analysées, l'écart-type de la répartition est de 16,4.

Après filtration 15 μm , sur les 100 particules de départ, il ne reste plus, en moyenne sur les 4 poches analysées après filtration, que 11,5 particules (dont 9,9 sont de taille supérieure à 15 μm et 1,6 sont de taille comprise entre 5 et 15 μm).

Exploitation statistique (tableaux 11 à 13) :

Il s'agit de comparer les moyennes de deux séries de mesures appariées (avant/après filtration) de faible effectif (n=4 à 7)

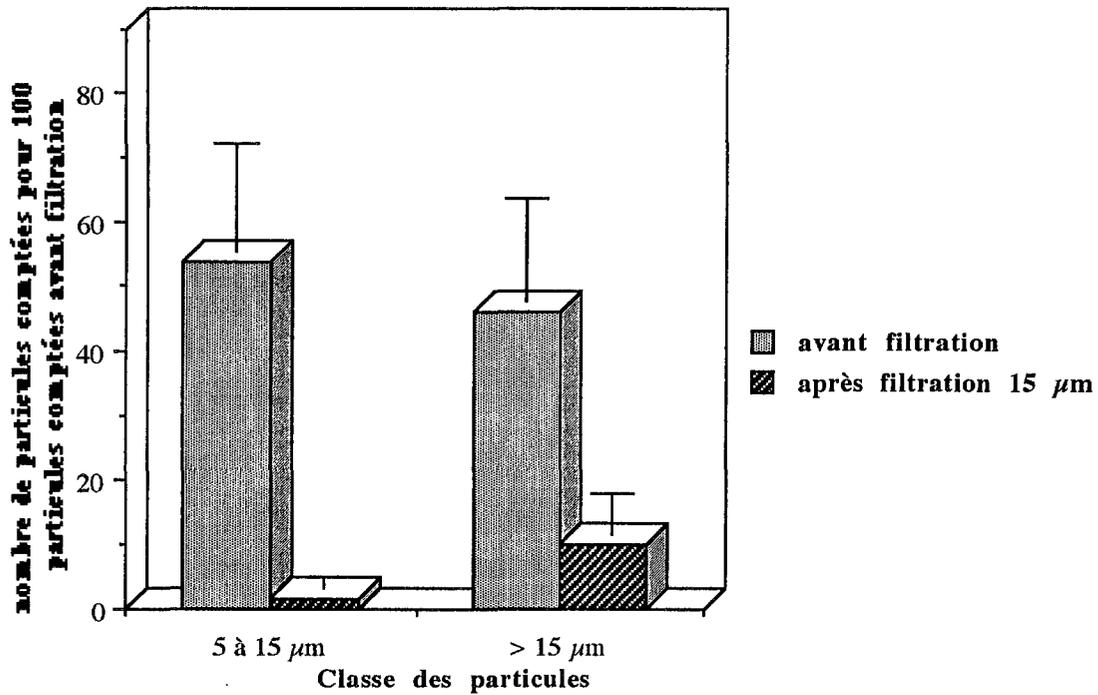
Pour cela on forme pour chaque paire la différence des 2 mesures et on compare la moyenne des différences à 0 par le rapport $t = \frac{\bar{m}}{\frac{s}{\sqrt{n}}}$ où m et s désignent la moyenne et

l'écart-type estimés sur l'échantillon des n différences (45).

Le seuil de signification choisi correspond à un risque $\alpha=0,05$ (5%)

CONTAMINATION PARTICULAIRE DE L'EMULSION
avant / après filtration 15 μm

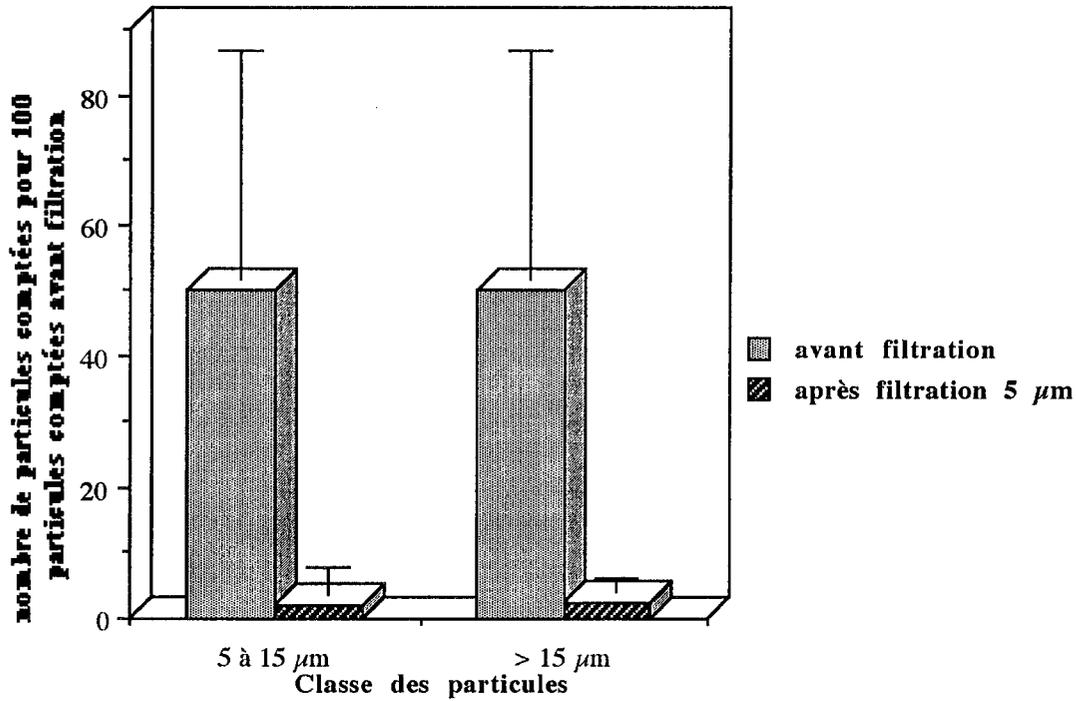
figure 6



CONTAMINATION PARTICULAIRE AVANT / APRES FILTRATION 15 μm	Classe des particules			
	5 à 15 μm		> 15 μm	
	avant filtration	après filtration	avant filtration	après filtration
nombre moyen de particules pour 100 particules comptées avant filtration (4 échantillons d'émulsion)	54	1,6	46	9,9
écart-type	16,4	1,7	16,4	6,2

CONTAMINATION PARTICULAIRE DE L'EMULSION
avant / après filtration 5 μm

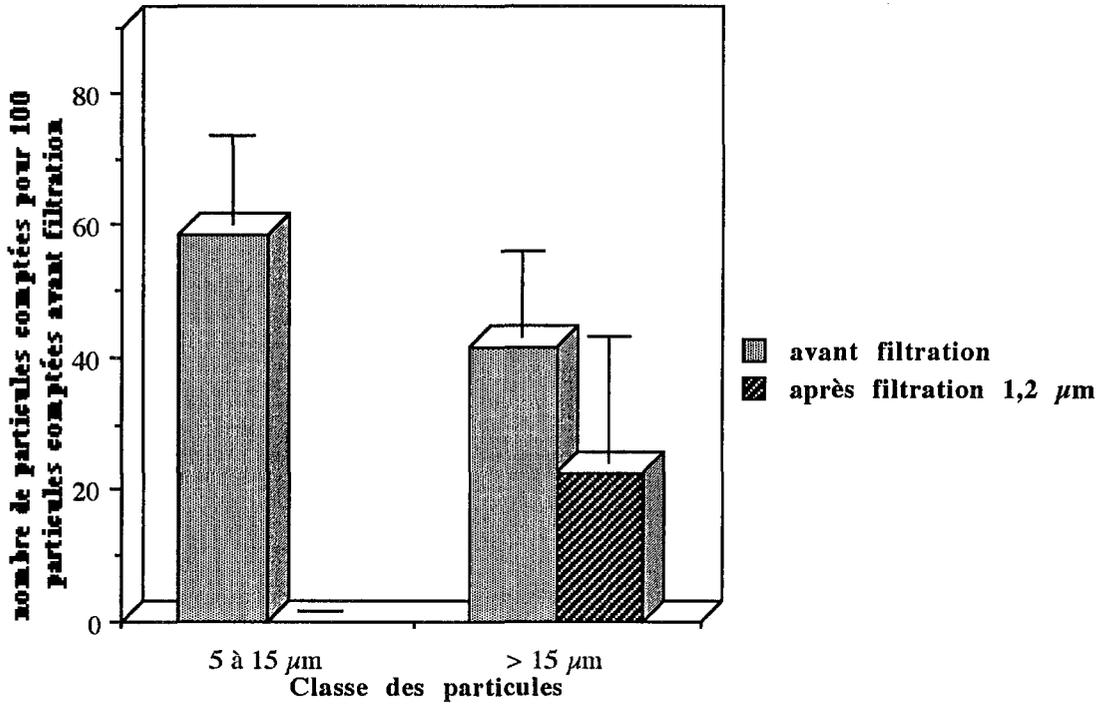
figure 7



CONTAMINATION PARTICULAIRE AVANT / APRES FILTRATION 5 μm	Classe des particules			
	5 à 15 μm		> 15 μm	
	avant filtration	après filtration	avant filtration	après filtration
nombre moyen de particules pour 100 particules comptées avant filtration (4 échantillons d'émulsion)	50	2,13	50	2,25
écart-type	34,99	3,92	34,99	2,06

**CONTAMINATION PARTICULAIRE DE L'EMULSION
avant / après filtration 1,2 μm**

figure 8



CONTAMINATION PARTICULAIRE AVANT / APRES FILTRATION 1,2 μm	Classe des particules			
	5 à 15 μm		> 15 μm	
	avant filtration	après filtration	avant filtration	après filtration
nombre moyen de particules pour 100 particules comptées avant filtration (7 échantillons d'émulsion)	58,6	0	41,4	22,4
écart-type	13,2	0	13,2	19,24

Tableau 11 : Efficacité de la filtration 15 μm : Test de Student

FILTRATION 15 μm	Classe des particules					
	5 à 15 μm			> 15 μm		
	avant	après	Δi	avant	après	Δi
Emulsion n°1	53,5	1,16	52,34	46,5	18,6	27,9
Emulsion n°2	71	1,22	69,78	29	4,9	24,1
Emulsion n°3	32	0	32	68	6	62
Emulsion n°4	60	4	56	40	10	30
m = moyenne des différences			52,53			36
s = écart-type des différences			15,61			17,5
t			6,73			4,11
Seuil de signification : 0,05 (probabilité)	Différence significative (p = 0,0034)			Différence significative (p = 0,013)		

Tableau 12 : Efficacité de la filtration 5 μm : Test de Student

FILTRATION 5 μm	Classe des particules					
	5 à 15 μm			> 15 μm		
	avant	après	Δi	avant	après	Δi
Emulsion n°1	0	0	0	100	5	95
Emulsion n°2	66	0	66	34	0	34
Emulsion n°3	54	8	46	46	2	44
Emulsion n°4	80	0,5	79,5	20	2	18
m = moyenne des différences			47,88			47,75
s = écart-type des différences			34,76			33,27
t			2,75			2,87
Seuil de signification : 0,05 (probabilité)	Différence significative (p = 0,035)			Différence significative (p = 0,032)		

Tableau 13 : Efficacité de la filtration 1,2 μm : Test de Student

FILTRATION 1,2 μm	Classe des particules					
	5 à 15 μm			> 15 μm		
	avant	après	Δi	avant	après	Δi
Emulsion n°1	68	0	68	32	39	-7
Emulsion n°2	43	0	43	57	8	49
Emulsion n°3	56	0	56	44	23	21
Emulsion n°4	66	0	66	34	13	21
Emulsion n°5	44	0	44	56	56	0
Emulsion n°6	79	0	79	21	0	21
Emulsion n°7	54	0	54	46	18	28
m = moyenne des différences			58,6			19
s = écart-type des différences			13,2			18,4
t			11,75			2,73
Seuil de signification : 0,05 (probabilité)	Différence significative (p = 0,0001)			Différence significative (p = 0,02)		

3. Etude de la stabilité de l'émulsion avant / après filtration

Des mesures de la répartition de la taille des globules lipidiques de l'émulsion ont été effectuées avant et après la filtration afin d'évaluer l'évolution de la stabilité galénique de l'émulsion : 7 échantillons ont été analysés avant l'opération de filtration.

La répartition des globules de fort diamètre était la suivante :

tableau 14 : Répartition des globules lipidiques de fort diamètre avant la filtration

Emulsion avant filtration	Taille des globules lipidiques	
	> 1 μm	> 2 μm
nombre moyen de globules pour 1000 comptés (nombre d'échantillons = 7)	9,70	0,14
écart-type	2,70	0,08

La répartition des globules lipidiques mesurée avant et après la filtration de l'émulsion est présentée sur les pages suivantes (figures 9 à 11) :

Présentation des résultats :

Nous avons regroupé les résultats des mesures de comptage des globules lipidiques en deux classes granulométriques (> 1 μm et > 2 μm) afin de détecter une possible augmentation du nombre de ces gros globules, conséquence d'une déstabilisation de l'émulsion.

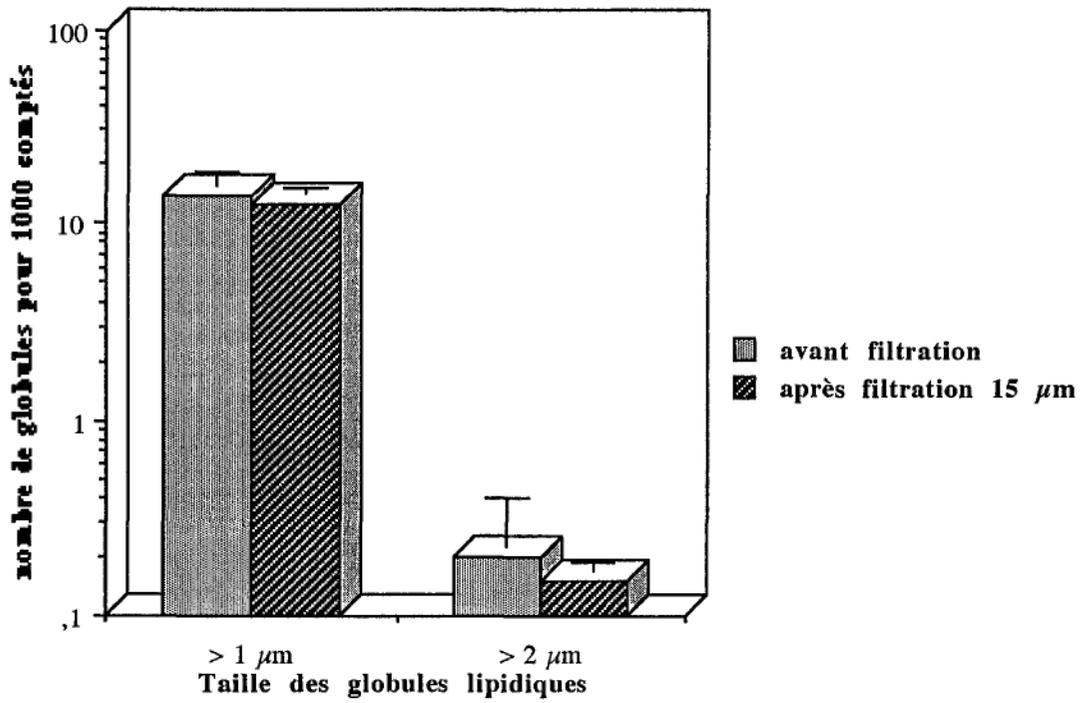
Pour chaque poche d'émulsion analysée, sur les 7 mesures effectuées avant l'opération de filtration et après la filtration, seules les 5 dernières mesures consécutives ont été retenues. La moyenne de ces 5 comptages effectués sur n poches est présentée sur les figures 9 à 11, avant et après filtration.

Une échelle logarithmique a été choisie afin de mieux visualiser une éventuelle évolution du nombre de gros globules lipidiques.

Pour chaque mesure, la valeur retenue a été rapportée à 1000 globules comptés.

REPARTITION DE TAILLE DES GLOBULES LIPIDIQUES
avant / après filtration 15 μm

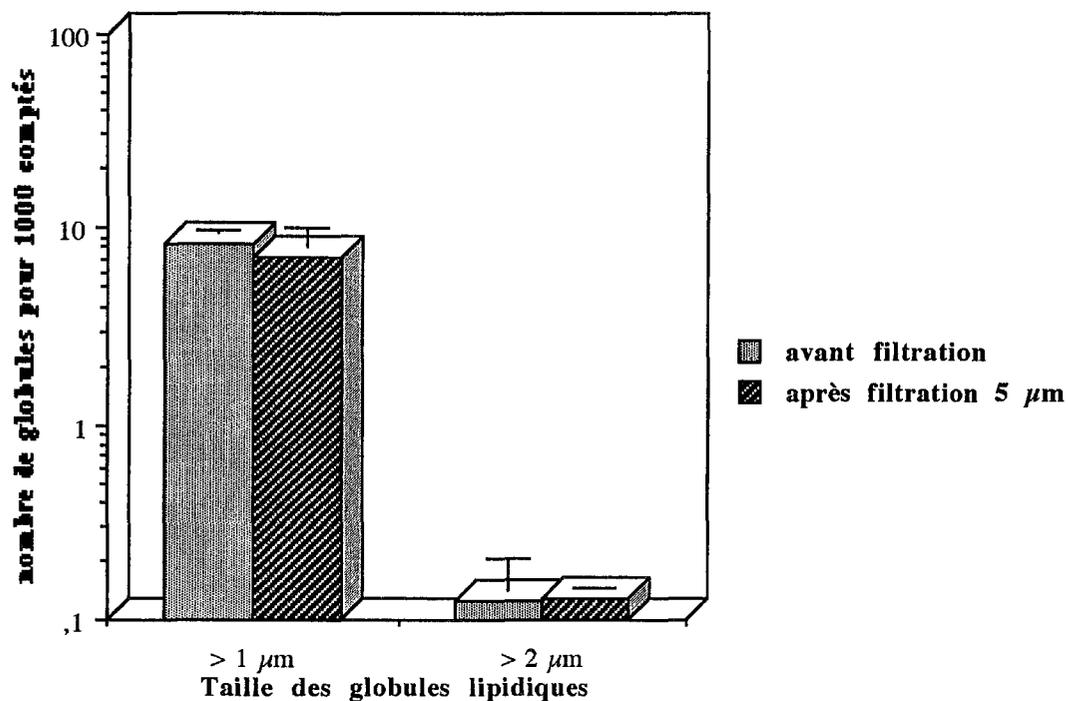
figure 9



REPARTITION DES GLOBULES AVANT / APRES FILTRATION 15 μm	Taille des globules lipidiques			
	> 1 μm		> 2 μm	
	avant filtration	après filtration	avant filtration	après filtration
nombre de globules pour 1000 comptés (n = 2)	14	12,7	0,20	0,15
écart-type	2,12	0,8	0,15	0,014

**REPARTITION DE TAILLE DES GLOBULES LIPIDIQUES
avant / après filtration 5 μm**

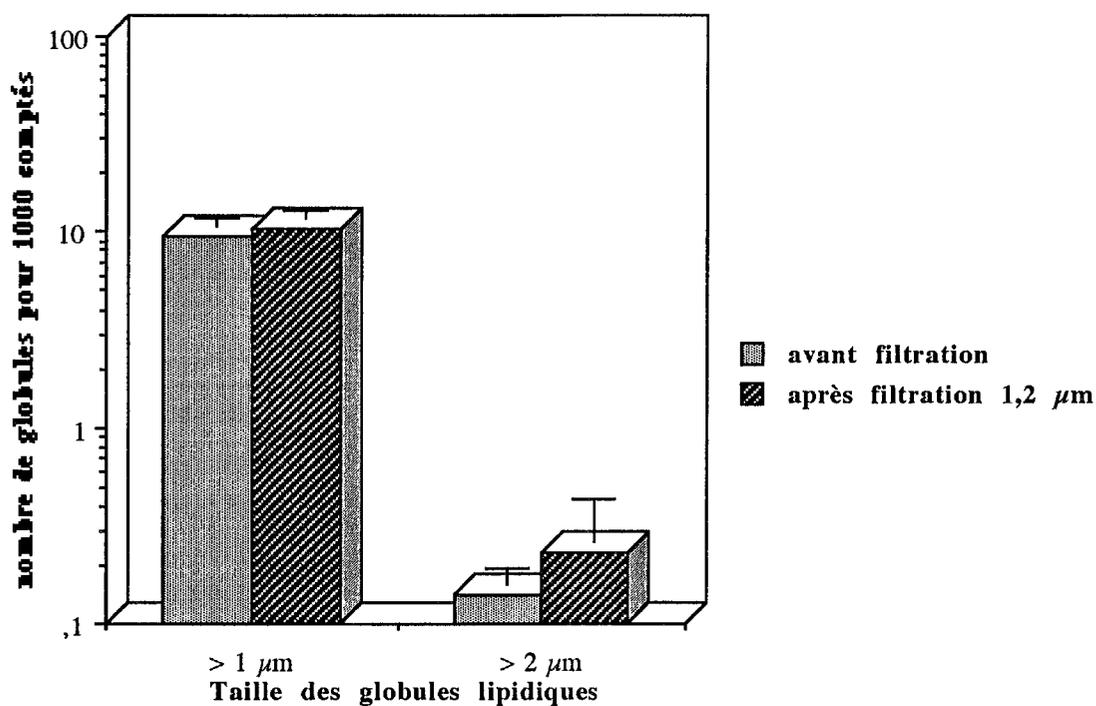
figure 10



REPARTITION DES GLOBULES AVANT / APRES FILTRATION 5 μm	Taille des globules lipidiques			
	> 1 μm		> 2 μm	
	avant filtration	après filtration	avant filtration	après filtration
nombre de globules pour 1000 comptés (n = 2)	8,33	7,12	0,124	0,129
écart-type	0,27	1,86	0,059	0,001

**REPARTITION DE TAILLE DES GLOBULES LIPIDIQUES
avant / après filtration 1,2 μm**

figure 11



REPARTITION DES GLOBULES AVANT / APRES FILTRATION 1,2 μm	Taille des globules lipidiques			
	> 1 μm		> 2 μm	
	avant filtration	après filtration	avant filtration	après filtration
nombre de globules pour 1000 comptés (n = 3)	9,37	10,37	0,14	0,23
écart-type	1,13	1,14	0,03	0,15

DISCUSSION

DISCUSSION

1. Perméabilité et colmatage des membranes filtrantes

L'analyse des courbes "perte de charge-débit" met en évidence le comportement newtonien de l'émulsion : une variation linéaire de la perte de charge en fonction du débit est observée (fig.2 et fig.3)

La perméabilité B des filtres est calculable à partir de la loi de Darcy (46) :

$$u = \frac{B \cdot \Delta P}{L}$$

u : vitesse du liquide en fût vide à travers le filtre
B : perméabilité ($m^2 \cdot Pa^{-1} \cdot s^{-1}$)
 ΔP : perte de charge (Pa)
L : épaisseur du filtre (m)

et

$$u = \frac{Q}{S}$$

Q : débit volumique du liquide ($m^3 \cdot s^{-1}$)
S : section du filtre (m^2)

Selon Carman (47), la perméabilité est fonction de la nature du liquide et de celle du filtre

$$B = \frac{B_0}{\eta}$$

B_0 : perméabilité spécifique du filtre (m^2)
 η : viscosité du liquide (Pa.s)

Ce qui conduit à : $B = \frac{Q \cdot L}{S \cdot \Delta P}$ et à $B_0 = \frac{Q \cdot L \cdot \eta}{S \cdot \Delta P}$, formules qui ont permis de calculer les perméabilités à partir des mesures de perte de charge établies en fonction du débit de filtration. Le tableau 15 regroupe les valeurs de B calculées pour l'eau et l'émulsion en fonction de la membrane filtrante testée.

Par ailleurs, le nombre de Reynolds a été estimé à partir des données des expériences de mesure de la perte de charge en fonction du débit et des formules suivantes :

le filtre étant assimilé à un milieu poreux, on peut écrire :

$$Re_p = \frac{\rho \cdot u_p \cdot d_p}{\eta}$$

Re_p : Reynolds de pore

ρ : masse volumique du fluide

u_p : vitesse du fluide dans les pores

d_p : diamètre des pores (équivalent au diamètre hydraulique moyen)

η : viscosité du fluide

avec
$$u_p = \frac{u_o \cdot \tau}{\varepsilon} \quad (1)$$

u_o : vitesse du liquide en fût vide

τ : tortuosité

ε : porosité

or
$$u_o = \frac{Q}{S}$$

Q : débit volumique du liquide

S : section du filtre

et l'expression de la perméabilité donnée par Kozeny-Carman permet de connaître ε :

$$B_o = \frac{d_c^2 \cdot \varepsilon}{16 \cdot k} \quad \text{soit} \quad \varepsilon = \frac{16 \cdot k \cdot B_o}{d_c^2}$$

B_o : perméabilité spécifique

d_c : diamètre moyen des capillaires

k : constante de Kozeny

donc en reportant dans (1) on obtient :

$$u_p = \frac{Q}{S} \cdot \tau \cdot \frac{d_c^2}{16 \cdot k \cdot B_o}$$

or, par définition $k = k_o \cdot \gamma \cdot \tau^2$

$k_o = 2$

γ : facteur de circularité des pores

($\gamma = 1$ pour des pores circulaires)

l'expression du Reynolds de pore devient donc :
$$Re_p = \frac{\rho \cdot Q}{\eta \cdot S} \cdot \frac{d_c^3}{32 \cdot \tau \cdot B_o}$$

Comme on l'a vu plus haut, la loi de Darcy permet de poser :
$$\frac{Q}{S} = \frac{B_o \cdot \Delta P}{\eta \cdot L}$$

on obtient finalement :
$$Re_p = \frac{\rho}{\eta^2} \frac{\Delta P}{L} \frac{d_c^3}{32 \cdot \tau} \quad (2)$$

On remarque l'incidence du diamètre de pore sur le Reynolds (Re_p est fonction du cube du diamètre des pores, comme le montre la formule (2)), incidence qui est illustrée par les valeurs calculées du Reynolds avec nos différents filtres et qui figurent dans le tableau 15.

Ces valeurs confirment le régime laminaire ($Re_p \ll 1$), légitimant ainsi l'application de la loi de Darcy dans l'analyse des courbes "perte de charge-débit".

La valeur obtenue avec le filtre 1,2 μm est proche de celle que nous avons estimée pour le filtre 0,8 μm utilisé par Surel (25) pour la microfiltration du lait de vache (10^{-5} environ, le détail du calcul de l'estimation figure en annexe 2), ce qui traduit l'analogie des conditions d'écoulement au niveau du filtre entre ces deux utilisations, ces utilisations présentant pourtant de nombreuses différences (voir bibliographie).

tableau 15 : Perméabilité à l'eau et à l'émulsion des membranes filtrantes

Membranes filtrantes	"15 μm "	"5 μm "	"1,2 μm "
Seuil de coupure	15 μm	5 μm	1,2 μm
Section : S	1,29.10 ⁻⁴ m ²		10 ⁻³ m ²
Epaisseur : L	40 μm	80 μm	180 μm
Porosité	Non mesurée		68%
Perméabilité à l'eau à 20°C			
-en l.h ⁻¹ .m ⁻² .bar ⁻¹	16,46.10 ⁵	9,89.10 ⁵	1,05.10 ⁵
-B en m ² .Pa ⁻¹ .s ⁻¹	18,29.10 ⁻¹¹	21,98.10 ⁻¹¹	5,25.10 ⁻¹¹
-spécifique B ₀ en m ²	2,09.10 ⁻¹³	2,51.10 ⁻¹³	0,60.10 ⁻¹³
Perméabilité à l'émulsion 20°C			
-en l.h ⁻¹ .m ⁻² .bar ⁻¹	16,46.10 ⁵	3,60.10 ⁵	0,25.10 ⁵
-B en m ² .Pa ⁻¹ .s ⁻¹	18,29.10 ⁻¹¹	7,99.10 ⁻¹¹	1,27.10 ⁻¹¹
-spécifique B ₀ en m ²	2,09.10 ⁻¹³	0,91.10 ⁻¹³	0,15.10 ⁻¹³
Reynolds (pores)= Re_p estimé	833.10 ⁻⁵	54,8.10 ⁻⁵	1,63.10 ⁻⁵

Dans le cas du filtre 15 μm , les pertes de charge au passage du filtre sont identiques que l'on perfuse de l'eau ou de l'émulsion; la viscosité de l'eau et de l'émulsion à phase continue aqueuse (95%) étant voisine, cela traduit l'inexistence d'interaction entre le filtre et l'émulsion. Aucun colmatage ne pourra apparaître, le comportement de l'émulsion vis-à-vis du filtre étant identique à celui de l'eau.

Par contre pour le filtre 5 μm et pour le filtre 1,2 μm , on a interaction entre le filtre et les globules lipidiques puisque les pertes de charge enregistrées sous un débit d'émulsion sont respectivement 2,7 et 4 fois plus importantes que sous un même débit d'eau.

Si cette interaction se traduit par un colmatage restreint dans le cas du filtre 5 μm , les pertes de charge restent quasiment constantes quels que soient les volumes et les débits imposés (fig.4 et fig.5), le colmatage est très net avec le filtre 1,2 μm : la pompe peut être mise en "alarme occlusion" si le débit demandé et le volume perfusé sont élevés (en fonction des pompes utilisés, le seuil de pression déclenchant l'alarme d'occlusion varie entre 300 et 1000 cm d'eau : la perfusion de 3 litres d'émulsion sous un débit de 200 ml/h engendrerait, en fin de perfusion une pression d'environ 300 cm d'eau).

Même si en usage courant (volume 2 litres, débit 180 ml/h) et pour ce mélange, le colmatage ne perturbe pas la perfusion de l'émulsion (la perte de charge en fin de perfusion étant comprise entre 30 et 60% de la pression seuil d'alarme) il faut noter qu'il est susceptible d'être modifié, et vraisemblablement augmenté, en cas de déstabilisation de l'émulsion (durée de stockage augmentée, autre composition du mélange).

Une approche du comportement du filtre 1,2 μm peut être tentée si l'on considère que le dépôt graisseux s'effectue en profondeur et si l'on assimile le filtre à des capillaires creux de diamètre identique : la mesure de taille des pores effectuée par porosimétrie au mercure (courbe en annexe 1) montre une distribution relativement gaussienne de la taille des pores, centrée sur 2,5 μm .

Comme on l'a vu plus haut, la loi de Darcy exprime la relation linéaire entre le débit et la perte de charge : $Q = \frac{B_o}{\eta} \cdot S \cdot \frac{\Delta P}{L}$ dans laquelle B_o , la perméabilité spécifique, peut-être exprimée par la relation de Kozeny-Carman :

$$B_o = \frac{\epsilon \cdot d_c^2}{16 \cdot k}$$

d_c : diamètre moyen des capillaires

k : constante de Kozeny

ϵ : porosité (fraction volumique d'espace poreux)

La porosité ϵ à un instant donné de la filtration est :

$$\epsilon = \frac{V_c}{V_{\text{filtre}}} \quad \begin{array}{l} V_c : \text{volume total poreux} \\ V_{\text{filtre}} : \text{volume du filtre} \end{array}$$

Le volume total poreux représente le volume total des capillaires constituant le filtre, et pour des capillaires cylindriques V_c s'exprime par :

$$V_c = \frac{\pi \cdot d_c^2}{4} \cdot n \cdot L_c \quad \begin{array}{l} n : \text{nombre de capillaire} \\ L_c : \text{longueur moyenne des capillaires} \end{array}$$

Si l'on suppose que le colmatage s'effectue par graissage en profondeur du filtre sur la totalité de son épaisseur, la réduction du volume poreux est due à la diminution du diamètre des capillaires :

$$\frac{V_c}{V_{c_0}} = \frac{\epsilon}{\epsilon_0} = \frac{d_c^2}{d_{c_0}^2} \quad \begin{array}{l} V_{c_0} : \text{volume des capillaires initiaux} \\ \epsilon_0 : \text{porosité initiale} \\ d_{c_0} : \text{diamètre des capillaires initiaux.} \end{array}$$

En définissant par s le degré de saturation du volume poreux par graissage on a :

$$s = \frac{V_g}{V_{c_0}} = \frac{V_{c_0} - V_c}{V_{c_0}} = 1 - \frac{d_c^2}{d_{c_0}^2} \quad \text{où } V_g \text{ est le volume graisseux déposé}$$

il vient :

$$\frac{d_c^2}{d_{c_0}^2} = 1 - s \quad (1)$$

Par ailleurs, la diminution de la perméabilité s'exprime par la fraction :

$$\frac{B}{B_0} = \frac{\epsilon \cdot d_c^2}{\epsilon_0 \cdot d_{c_0}^2} = \left(\frac{d_c}{d_{c_0}} \right)^4 \quad (2)$$

soit, en combinant les relations (1) et (2) :

$$s = 1 - \sqrt{\frac{B}{B_0}}$$

et par la loi de Darcy :

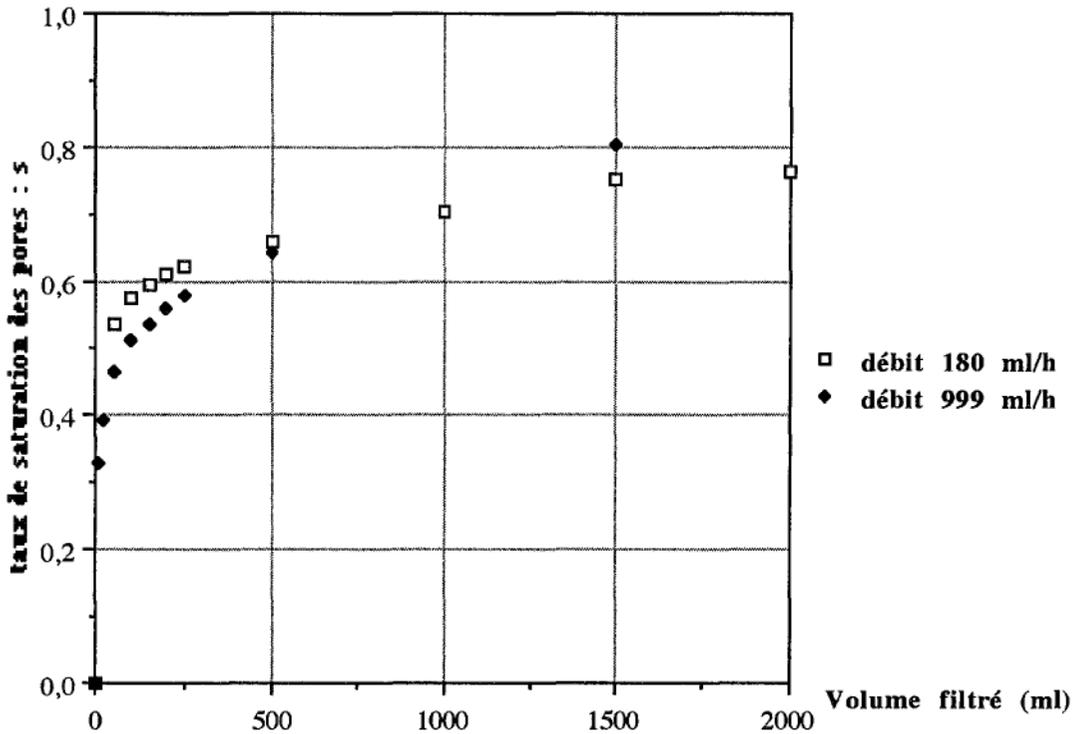
$$s = 1 - \sqrt{\frac{Q/\Delta P}{(Q/\Delta P)_0}}$$

MODELISATION DU COLMATAGE

Filtre 1,2 μm

figure 12

Taux de saturation des pores
en fonction du volume filtré
débits : 180 ml/h et 999 ml/h



L'évolution de s en fonction du volume filtré, reportée sur la figure 12 ci-dessus, pour les deux débits étudiés, montre que la saturation du filtre intervient rapidement, c'est-à-dire à faible volume de filtration, puis évolue lentement vers un palier de saturation. Par ailleurs on observe aux faibles volumes une saturation plus rapide pour les faibles débits de filtration, ce qui tendrait à montrer l'influence des conditions hydrodynamiques et du temps de passage de l'émulsion à travers le filtre sur la cinétique de dépôt des globules lipidiques.

2. Efficacité de la filtration

Avant filtration, la contamination particulaire est très inférieure aux limites imposées par les différentes pharmacopées sur la contamination particulaire des mélanges de grand volume :

44 particules/100 ml comprises entre 5 et 15 μm

39 particules/100 ml supérieures à 15 μm

alors que les pharmacopées les plus sévères exigent moins de 20 particules de taille supérieure à 10 μm par ml soit 2000 particules/100 ml .

Si cette faible contamination particulaire initiale est un élément positif puisqu'elle reflète les bonnes conditions de préparation de ces mélanges nutritifs, elle pose le problème du bruit de fond important de la méthode de contrôle de la contamination particulaire choisie : en effet, même si le plus grand soin est pris lors de la mise en oeuvre de la filtration-observation microscopique (manipulations sous hotte, gants, nombreux blancs...), une contamination parasite est toujours possible à de nombreux moments lors des différentes manipulations; de ce fait une faible charge en particules inertes à mesurer sera plus sensible à ces artefacts qu'une contamination initiale élevée.

Afin d'augmenter le nombre de particules à compter, et donc de diminuer l'incidence d'une contamination externe, nous avons filtré un volume important d'émulsion (100 ml) : ce volume est le volume le plus important qui puisse être filtré dans nos conditions de manipulation (dépression permettant la filtration à travers le filtre 0,8 μm créée par une trompe à vide), un volume supérieur d'émulsion entraînant le colmatage du filtre 0,8 μm et donc l'impossibilité de continuer l'expérience en cours.

Par ailleurs, la lecture au microscope optique est obligatoirement subjective et dépend donc de l'observateur : c'est pourquoi cette méthode nous est apparue plus adaptée à une mesure comparative (avant/après) de la contamination qu'à une mesure absolue de la charge en particule d'un fluide.

Nous avons donc toujours lu les filtres 0,8 μm de façon appariée (lecture du filtre 0,8 μm ayant retenu les contaminants de l'émulsion initiale puis lecture du filtre 0,8 μm ayant retenu les particules restant dans l'émulsion après l'opération de filtration 15 μm , 5 μm , ou 1,2 μm) afin de diminuer l'incidence de la subjectivité sur les résultats du comptage.

La filtration-observation microscopique s'est révélée une méthode délicate à mettre en oeuvre et peu adaptée à la mesure d'une contamination faible. Elle ne permet pas non plus la détection de particules de taille inférieure à $5 \mu\text{m}$. Cependant c'est la seule méthode utilisable pour la détection et le comptage de particules contenues dans une émulsion.

D'un point de vue de l'efficacité, comme le montre les figures 6 à 8 et les tableaux 11 à 13, les 3 filtres s'avèrent performants, la contamination étant significativement diminuée après l'opération de filtration dans les trois cas et pour les deux classes granulométriques retenues (test de Student apparié : $p < 0,05$).

Particules de 5 à 15 μm :

L'efficacité des filtres est comprise entre 96 et 100%. Compte tenu de la méthode et du nombre d'essais effectués, on n'a pu mettre en évidence une différence significative entre les 3 filtres.

Particules $>15 \mu\text{m}$:

Si l'efficacité du filtre $5 \mu\text{m}$ (96%) est logiquement supérieure (test de Student non apparié : $p < 0,05$) à celle du filtre $15 \mu\text{m}$ (79%), les filtres $1,2 \mu\text{m}$ se sont montrés nettement moins performants (46%) et d'une grande variabilité sans qu'une explication puisse être apportée. L'hypothèse de l'altération du filtre, conséquence de la surpression imposée par le colmatage ne semble pas pouvoir être retenue : en effet elle n'explique pas l'inefficacité sélective de ce filtre sur les particules de plus de $15 \mu\text{m}$, le filtre restant par ailleurs très efficace sur les particules comprises entre 5 et $15 \mu\text{m}$. La très grande variabilité des résultats de ce filtre ne trouve pas non plus d'explication, la contamination initiale des poches testées avec ce filtre étant comparable à celle des autres émulsions.

3. Stabilité de l'émulsion :

L'utilisation du Coulter pour évaluer l'évolution de la répartition granulométrique des globules lipidiques de forte taille s'est révélée fiable à condition de respecter scrupuleusement le protocole expérimental établi : en effet, les essais préalables ont montré la variabilité des résultats en fonction des conditions d'analyse, notamment en fonction de la qualité des réactifs utilisés pour la dilution et en fonction du mode de préparation de la dilution.

La dilution est une étape déterminante qui conditionne la validité de la mesure : elle doit être effectuée rigoureusement dans les mêmes conditions pour tous les échantillons. L'homogénéisation restant toujours délicate, le passage aux ultra-sons nous a semblé le moyen le plus efficace pour obtenir une bonne qualité d'homogénéisation : les quelques essais préliminaires effectués avec homogénéisation par retournements successifs ne sont pas avérés satisfaisants.

Par ailleurs, la filtration du liquide de dilution (ISOTON®) s'est révélée nécessaire, permettant de diminuer fortement le bruit de fond lié à sa contamination particulière.

Comme le montrent les figures 9 à 11, la filtration de l'émulsion par un filtre de 15 μm , 5 μm ou 1,2 μm n'entraîne pas de modification significative du nombre de globules lipidiques de gros diamètre, et ce dans les deux classes granulométriques étudiées (> 1 et $> 2 \mu\text{m}$).

Ces résultats confirment les études menées par Rubin (22) qui montraient la stabilité équivalente de l'émulsion avant et après filtration par une membrane 5 μm , les mesures étant effectuées après 4 heures et 24 heures de stockage.

CONCLUSION

CONCLUSION

Cette étude a permis de mettre en évidence l'intérêt de la présence d'un filtre sur la tubulure de perfusion des émulsions nutritives afin de limiter la contamination particulaire : en effet, même si la charge initiale en particules inertes de l'émulsion étudiée s'est révélée très faible, il est nécessaire de la limiter du fait du volume total important reçu par le patient au cours de sa vie et de la connaissance encore imparfaite des conséquences néfastes de cette contamination sur l'organisme.

La filtration de l'émulsion lors de son administration s'est avérée possible avec les 3 membranes filtrantes testées dans les conditions usuelles d'administration par pompe : cependant, si le colmatage du filtre 15 μm est nul et celui du filtre 5 μm restreint, le filtre 1,2 μm doit être utilisé avec prudence lors de l'administration de grands volumes ou à de forts débits, le colmatage devenant alors très important et pouvant interrompre la perfusion.

D'un point de vue de l'efficacité de la filtration, le filtre 5 μm limite de façon plus importante la contamination particulaire que le filtre 15 μm . Le filtre 1,2 μm s'est révélé très efficace sur la filtration des particules de 5 à 15 μm , mais moins efficace sur les particules de plus de 15 μm .

Par ailleurs, ces travaux ont montré que la filtration ne modifiait pas la qualité granulométrique de l'émulsion : aucune déstabilisation de l'émulsion n'a été décelée après les opérations de filtration.

En conclusion, le filtre 5 μm semble le mieux adapté à l'émulsion nutritive étudiée, son utilisation n'induisant que très peu de colmatage tout en limitant la contamination particulaire. Les faibles pertes de charge enregistrées avec ce filtre permettent même d'envisager son utilisation lors d'une administration par gravité, ce qui étendrait considérablement son domaine d'application. Cependant, les conditions particulières d'écoulement liées à l'administration par gravité nécessitent qu'une étude spécifique soit menée avant de pouvoir envisager cette nouvelle perspective.

***REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES***

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES
classées par ordre d'apparition dans le texte

- (1) Anonyme
Bonnes Pratiques de Fabrication
Ministère de la santé et de l'action humanitaire, 1993.
- (2) Anonyme
Bonnes Pratiques de Préparations Officinales
Ministère des affaires sociales et de l'emploi. Ministère chargé de la santé et de la famille. Direction de la Pharmacie et du médicament, 1988; n°88/7 bis.
- (3) Anonyme
Guide C.E.E. de Bonnes Pratiques de Fabrication Pharmaceutique.
Commission des communautés européennes. Direction générale du marché intérieur et des affaires industrielles, 1987.
- (4) Freeman J.E.
Subvisible particle detection
Conference on quality control in pharmaceutical industries,
Bruxelles, 1985.
- (5) Montanari L.
Contamination particulaire des produits parentéraux : méthode de détermination et standards officiels
Congrès A3P Bordeaux, 1989.
- (6) Akers M.J.
Parenteral quality control
New York : Marcel Decker, 1985.
- (7) Le Hir A.
Abrégé de pharmacie galénique
5ème édition Paris : Masson, 1986.
- (8) Foroni L., Rochat M.H., Trouiller P., Calop J.
Particle Contamination in a Ternary Nutritional Admixture
J Parenter Sci Technol 1993;47(6):311-4.
- (9) Beeg D.I.R.
Why worry about particles? - The consequences
Conference on quality control in pharmaceutical industries,
Bruxelles, 1985.
- (10) Marshall L., Lloyd G.M.
Intravenous Fluid Filtration
Care of the critically ill, January/february 1987;3(1).
- (11) Falchuk K.H., Peterson L., Mc Neil B.J.
Microparticulate - induced phlebitis - Its prevention by in-line filtration.
N Engl J Med 1985;312(2):78-82.
- (12) Horibe K., Mashima Y., et al.
Evaluation of the endotoxin retention capabilities of inline intravenous filters
J P E N 1990;14(1):56-9.

- (13) Richards C.
Use of endotoxin retentive intravenous filters with pediatric total parenteral nutrition solution
J Clin Pharm Ther 1990;15:53-8.
- (14) Quercia R.A.
Particulate matter contamination associated with automated compounding of TPN solutions
Am J Hosp Pharm 1988;(45):2324-5.
- (15) Schneider P.J.
Should in-line filters be used when administering TPN solutions?
Infusion Mar/Apr. 1982;(6):66-7.
- (16) Stein R.L.
Use of in-line filters and infusion pumps with TPN solutions
Am J Hosp Pharm 1980;(37):1616-7.
- (17) Gallet M., Leflon P., Krim G., Leke L.
Perfusion, filtre et oligo-éléments
Arch Fr Pediatr 1990;47:69-70.
- (18) Anonyme
Dossier technique Intralipide
Documents Kabivitrum.
- (19) Deitel M., Friedman K.L., et al.
Emulsion stability in a total nutrient admixture for total parenteral nutrition
J Am Coll Nutr 1992;11(1):5-10.
- (20) Harrie K.R., Jacob M., et al.
Comparison of total nutrient admixture stability using two intravenous fat emulsions, Soyacal and Intralipid 20%
J P E N 1986;10(4):381-7.
- (21) Rubin M., Bilik R., et al.
Catheter obstruction : analysis of filter content of Total Nutrient Admixture
J P E N 1989;13(6):641-3.
- (22) Rubin M, Bilik R., et al.
Use of a 5 μ m filter in administering "all-in-one" mixtures for Total Parenteral Nutrition
Clin Nutr (Edimb.) 1985;4:163-8.
- (23) Rubin M., Bilik R., et al.
The clinical importance of using the 5 micron filter with total nutrient admixture.
7th European Society of Parenteral and Enteral Nutrition Congress
Paris, 15-17 septembre 1986.
- (24) Anonyme
Dossier du C.N.I.M.H. nov-déc. 1983;IV(6):247.
- (25) Surel O.
Lipides et microfiltration : contribution à la compréhension des mécanismes de transfert
Thèse de doctorat d'Université, Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Rennes, 1993.

- (26) Alais C.
Sciences du lait. Principes des techniques laitières
4ème édition Paris : Sepaic, 1984.
- (27) Piot M., Vachot J.C., et al.
Ecrémage et épuration bactérienne du lait cru par microfiltration sur membrane en flux tangentiel
Tech Lait Market 1987;(1016):42-6.
- (28) Trouvé E., Maubois J.L., Piot M. et al.
Rétention de différentes espèces microbiennes lors de l'épuration du lait par microfiltration en flux tangentiel
Lait 1991;(71):1-13.
- (29) Madec M.N., Mejean S., Maubois J.L.
Retention of *Listeria* and *Salmonella* cells contaminating skim milk by tangential membrane microfiltration ("Bactocatch" process)
Lait 1992;(72):327-32.
- (30) Fauquant J., Maubois J.L., Pierre A.
Microfiltration du lait sur membrane minérale
Technique Laitière 1988;(1028):21-3.
- (31) Pierre A., Fauquant J., et al.
Préparation de phosphocaséinate natif par microfiltration sur membrane
Lait 1992;(72):461-74.
- (32) Mathot F., Paris P., Jaminet F.
Les émulsions lipidiques dans les mélanges de nutrition parentérale
Pharmakon 1982;(49):9-24.
- (33) Koycha M., Rochat M.H., Verain A.
Stabilité physico-chimique des émulsions : application aux mélanges destinés à la nutrition parentérale
J Pharm Belg 1988;43(6):413-24.
- (34) Rattenbury J.M., Timmins J.G., et al.
Identification of the cause of separation (creaming) of lipid emulsions in intravenous infusion
J Pediatr Gastroenterol Nutr 1989;(8):491-5.
- (35) Washington C., Ferguson J.A., Irwin S.E.
Computational prediction of the stability of lipid emulsions in total nutrient admixtures
J Pharm Sci 1993;82(8):802-12.
- (36) Tripp M.G., Menon S.K., Mikrut B.A.
Stability of total nutrient admixtures in a dual-chamber flexible container
Am J Hosp Pharm 1990;47(11):2496-503.
- (37) Sayeed F.A., Tripp M.G., et al.
Stability of total nutrient admixtures using various intravenous fat emulsions
Am J Hosp Pharm 1987;44(10):2271-80.
- (38) Barat A.C., Harrie K., Jacob M., et al.
Effect of amino-acid solutions on total nutrient admixture stability
J P E N 1987;11(4):384-8.

- (39) Bettner F.S., Stennett J.
Effects of pH, temperature, concentration, and time on particle counts in lipid-containing Total Parenteral Nutrition Admixtures
J P E N 1986;10(4):375-80.
- (40) Parry V.A., Harrie K.R., McIntosh-Lowe N.L.
Effect of various nutrient ratios on the emulsion stability of total nutrient admixtures
Am J Hosp Pharm 1986;43(12):3017-22.
- (41) Tadros F.T., Vincent B.
Emulsion stability : in Encyclopedia of emulsion technology. volume 1.
New York : Paul Becher, 1983:129-285.
- (42) Wermelinger T.
Notation globale des émulsions injectables, définition, méthodologie et exemples d'application
Congrès A3P Bordeaux, 1988.
- (43) Anonyme
Pompes à perfusion à réglage de débit, pompes à comptage de gouttes et pompes accélératrices de perfusion
AFNOR juillet 1990, S 90-250, 32 pages.
- (44) Cazalaa J.B., Denizet E., Fougère S., et al.
Les pompes à perfusion : description, utilisation et critères de choix sur le marché français en 1988
Agressologie 1988;29(12):795-805.
- (45) Schwartz D.
Méthodes statistiques à l'usage des médecins et des biologistes
3ème édition Paris : Flammarion Medecine Sciences, 1969:161-2.
- (46) Darcy, M.P.G.
Les fontaines publiques de la ville de Dijon.
Paris : Victor Dalmont, 1856.
- (47) Carman, P.C.
J Soc Chem Ind, Lond. (Trans.)1938;57:225.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES
classées par ordre alphabétique

- (6) Akers M.J.
Parenteral quality control
New York : Marcel Decker, 1985.
- (26) Alais C.
Sciences du lait. Principes des techniques laitières
4ème édition Paris : Sepaic, 1984.
- (1) Anonyme
Bonnes Pratiques de Fabrication
Ministère de la santé et de l'action humanitaire, 1993.
- (2) Anonyme
Bonnes Pratiques de Préparations Officinales
Ministère des affaires sociales et de l'emploi. Ministère chargé de la santé et de la famille. Direction de la Pharmacie et du médicament, 1988; n°88/7 bis.
- (3) Anonyme
Guide C.E.E. de Bonnes Pratiques de Fabrication Pharmaceutique.
Commission des communautés européennes. Direction générale du marché intérieur et des affaires industrielles, 1987.
- (18) Anonyme
Dossier technique Intralipide
Documents Kabivitrum.
- (24) Anonyme
Dossier du C.N.I.M.H. nov-déc. 1983;IV(6):247.
- (43) Anonyme
Pompes à perfusion à réglage de débit, pompes à comptage de gouttes et pompes accélératrices de perfusion
AFNOR, juillet 1990; S 90-250, 32 pages.
- (38) Barat A.C., Harrie K., Jacob M., et al.
Effect of amino-acid solutions on total nutrient admixture stability
J P E N 1987;11(4):384-8.
- (9) Beeg D.I.R.
Why worry about particles? - The consequences
Conference on quality control in pharmaceutical industries,
Bruxelles, 1985.
- (39) Bettner F.S., Stennett J.
Effects of pH, temperature, concentration, and time on particle counts in lipid-containing Total Parenteral Nutrition Admixtures
J P E N 1986;10(4):375-80.
- (47) Carman, P.C.
J Soc Chem Ind, Lond. (Trans.)1938;57:225.

- (44) Cazalaa J.B., Denizet E., Fougère S., et al.
Les pompes à perfusion : description, utilisation et critères de choix sur le marché français en 1988
Agressologie 1988;29(12):795-805.
- (46) Darcy, M.P.G.
Les fontaines publiques de la ville de Dijon.
Paris : Victor Dalmont, 1856.
- (19) Deitel M., Friedman K.L., et al.
Emulsion stability in a total nutrient admixture for total parenteral nutrition
J Am Coll Nutr 1992;11(1):5-10.
- (11) Falchuk K.H., Peterson L., Mc Neil B.J.
Microparticulate - induced phlebitis - Its prevention by in-line filtration.
N Engl J Med 1985;312(2):78-82.
- (30) Fauquant J., Maubois J.L., Pierre A.
Microfiltration du lait sur membrane minérale
Technique Laitière 1988;(1028):21-3.
- (8) Feroni L., Rochat M.H., Trouiller P., Calop J.
Particle Contamination in a Ternary Nutritional Admixture
J Parenter Sci Technol 1993;47(6):311-4.
- (4) Freeman J.E.
Subvisible particle detection
Conference on quality control in pharmaceutical industries,
Bruxelles, 1985.
- (17) Gallet M., Leflon P., Krim G., Leke L.
Perfusion, filtre et oligo-éléments
Arch Fr Pediatr 1990;47:69-70.
- (20) Harrie K.R., Jacob M., et al.
Comparison of total nutrient admixture stability using two intravenous fat emulsions, Soyacal and Intralipid 20%
J P E N 1986;10(4):381-7.
- (12) Horibe K., Mashima Y., et al.
Evaluation of the endotoxin retention capabilities of inline intravenous filters
J P E N 1990;14(1):56-9.
- (33) Koycha M., Rochat M.H., Verain A.
Stabilité physico-chimique des émulsions : application aux mélanges destinés à la nutrition parentérale
J Pharm Belg 1988;43(6):413-24.
- (7) Le Hir A.
Abrégé de pharmacie galénique
5ème édition Paris : Masson, 1986.
- (29) Madec M.N., Mejean S., Maubois J.L.
Retention of Listeria and Salmonella cells contaminating skim milk by tangential membrane microfiltration ("Bactocatch" process)
Lait 1992;(72):327-32.

- (10) Marshall L., Lloyd G.M.
Intravenous Fluid Filtration
Care of the critically ill, January/february 1987;3(1).
- (32) Mathot F., Paris P., Jaminet F.
Les émulsions lipidiques dans les mélanges de nutrition parentérale
Pharmakon 1982;(49):9-24.
- (5) Montanari L.
Contamination particulière des produits parentéraux : méthode de détermination et standards officiels
Congrès A3P Bordeaux, 1989.
- (40) Parry V.A., Harrie K.R., McIntosh-Lowe N.L.
Effect of various nutrient ratios on the emulsion stability of total nutrient admixtures
Am J Hosp Pharm 1986;43(12):3017-22.
- (31) Pierre A., Fauquant J., et al.
Préparation de phosphocaséinate natif par microfiltration sur membrane
Lait 1992;(72):461-74.
- (27) Piot M., Vachot J.C., et al.
Ecrémage et épuration bactérienne du lait cru par microfiltration sur membrane en flux tangentiel
Tech Lait Market 1987;(1016):42-6.
- (14) Quercia R.A.
Particulate matter contamination associated with automated compounding of TPN solutions
Am J Hosp Pharm 1988;(45):2324-5.
- (34) Rattenburry J.M., Timmins J.G., et al.
Identification of the cause of separation (creaming) of lipid emulsions in intravenous infusion
J Pediatr Gastroenterol Nutr 1989;(8):491-5.
- (13) Richards C.
Use of endotoxin retentive intravenous filters with pediatric total parenteral nutrition solution
J Clin Pharm Ther 1990;15:53-8.
- (21) Rubin M., Bilik R., et al.
Catheter obstruction : analysis of filter content of Total Nutrient Admixture
J P E N 1989;13(6):641-3.
- (22) Rubin M, Bilik R., et al.
Use of a 5 μ m filter in administering "all-in-one" mixtures for Total Parenteral Nutrition
Clin Nutr (Edimb.) 1985;4:163-8.
- (23) Rubin M., Bilik R., et al.
The clinical importance of using the 5 micron filter with total nutrient admixture.
7th European Society of Parenteral and Enteral Nutrition Congress
Paris, 15-17 septembre 1986.

- (37) Sayeed F.A., Tripp M.G., et al.
Stability of total nutrient admixtures using various intravenous fat emulsions
Am J Hosp Pharm 1987;44(10):2271-80.
- (15) Schneider P.J.
Should in-line filters be used when administering TPN solutions?
Infusion Mar/Apr. 1982;(6):66-7.
- (45) Schwartz D.
Méthodes statistiques à l'usage des médecins et des biologistes
3ème édition Paris : Flammarion Medecine Sciences, 1969:161-2.
- (16) Stein R.L.
Use of in-line filters and infusion pumps with TPN solutions
Am J Hosp Pharm 1980;(37):1616-7.
- (25) Surel O.
Lipides et microfiltration : contribution à la compréhension des mécanismes de transfert
Thèse de doctorat d'Université, Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Rennes, 1993.
- (41) Tadros F.T., Vincent B.
Emulsion stability : in Encyclopedia of emulsion technology. volume 1.
New York : Paul Becher, 1983:129-285.
- (36) Tripp M.G., Menon S.K., Mikrut B.A.
Stability of total nutrient admixtures in a dual-chamber flexible container
Am J Hosp Pharm 1990;47(11):2496-503.
- (28) Trouvé E., Maubois J.L., Piot M. et al.
Rétention de différentes espèces microbiennes lors de l'épuration du lait par microfiltration en flux tangentiel
Lait 1991;(71):1-13.
- (35) Washington C., Ferguson J.A., Irwin S.E.
Computational prediction of the stability of lipid emulsions in total nutrient admixtures
J Pharm Sci 1993;82(8):802-12.
- (42) Wermelinger T.
Notation globale des émulsions injectables, définition, méthodologie et exemples d'application
Congrès A3P Bordeaux, 1988.

ANNEXES

ANNEXE 1

Mesure de porosimétrie :

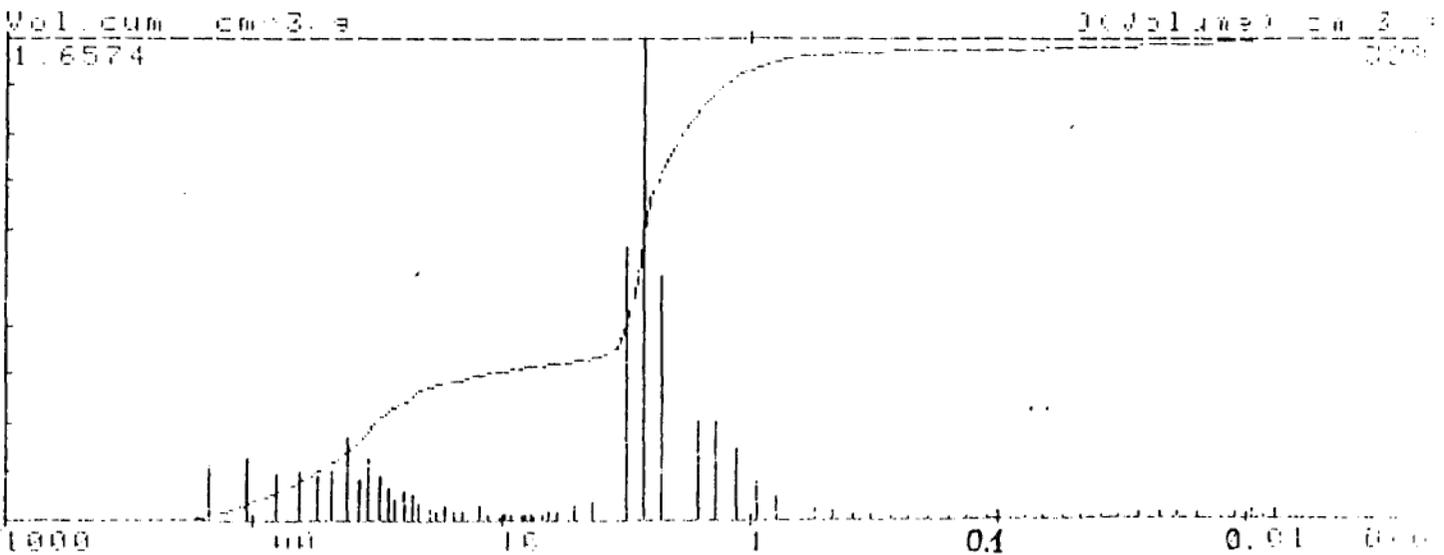
Ces mesures ont été effectuées sur des échantillons de filtre 1,2 μm afin de déterminer un certain nombre de caractéristiques de ce filtre (porosité, diamètre moyen...).

L'appareil utilisé était un porosimètre au mercure : Micromeritics Pore Sizer 9300®.

L'analyse des courbes obtenues ci-dessous (volume différentiel et volume cumulé en fonction du diamètre des pores) montre une distribution gaussienne, centrée sur 2,5 μm : en effet, il semble raisonnable de considérer le volume détecté dont le diamètre équivalent des pores correspondant serait compris entre 50 et 100 μm comme des artefacts liés à la méthode (compression initiale du filtre par le mercure) et aux échantillons des filtres (filtres légèrement déchirés sur leur bordure lors de leur désolidarisation de leur support).

Principales caractéristiques du filtre 1,2 μm obtenues par cette mesure :

volume apparent	2,4352 cm^3/g
densité apparente	0,41
densité vraie	1,29
facteur de porosité :	68,1%
volume poreux	1,657 cm^3/g
surface poreuse	13,145 m^2/g



ANNEXE 2

Estimation du Re_p dans le cas de la microfiltration du lait :

Les conditions décrites par Surel (p. 52-53 et tableaux 15-18-19-20 de la thèse référencée (25)) nous donnent :

$$d_c = 0,8 \mu\text{m}$$

$$R_m = L/B_o = 5,27 \cdot 10^{10} \text{ m}^{-1}$$

$$\Delta P = 0,5 \cdot 10^5 \text{ Pa}$$

$$Q/S = 2,22 \cdot 10^{-4} \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$$

La loi de Darcy permet de connaître η :
$$\eta = \frac{B_o \cdot S \cdot \Delta P}{Q \cdot L} = \Delta P \cdot \frac{1}{Q/S} \cdot \frac{1}{L/B_o}$$

soit $\eta = 4,27 \cdot 10^{-3} \text{ Pa} \cdot \text{s}$

Par ailleurs, on peut estimer B_o à partir de la relation de Kozeny-Carman : $B_o = \frac{\epsilon \cdot d_c^2}{16 \cdot k}$

en prenant $\epsilon = 0,8$

$$d_c^2 = 6,4 \cdot 10^{-13} \text{ m}^2$$

$$k = 5$$

on obtient $B_o = 6,4 \cdot 10^{-15}$ d'où $L = R_m \cdot B_o = 350 \mu\text{m}$

ce qui permet de calculer la valeur approximative du Reynolds de pore à partir de la formule établie page 72 :

$$Re_p = \frac{\rho}{\eta^2} \cdot \frac{\Delta P}{L} \cdot \frac{d_c^3}{32 \cdot \tau}$$

En prenant $\rho = 1000 \text{ kg/m}^3$

$$d_c = 0,8 \cdot 10^{-6} \text{ m}$$

$$\tau = 1,58$$

soit $Re_p = 8 \cdot 10^{-5}$

On peut donc estimer que le nombre de Reynolds de pore est compris entre 10^{-4} et 10^{-5} lors de la microfiltration du lait avec des membranes dont le seuil de coupure est de l'ordre du micron.

**TABLE DES
MATIERES**

TABLE DES MATIERES :

SOMMAIRE	3
INTRODUCTION	6
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	8
1.Généralités sur la nutrition parentérale	9
1.1.Mélanges utilisés	9
1.2.Procédés de fabrication	11
1.2.1.Filtration stérilisante	11
1.2.2.Transvasement à col ouvert	12
1.2.3.Transfert stérile par pression positive	12
1.3.Schémas d'administration	13
2.Quelle contamination particulière?	15
2.1.Définition	15
2.2.Caractéristiques générales des contaminants	15
2.3.Contamination de l'émulsion étudiée	17
2.4.Pathogénicité de la contamination	18
3.Filtration	19
3.1.Filtration des solutions injectables	19
3.2.Filtration des émulsions nutritives parentérales	20
3.3.Microfiltration du lait	22
3.4.Discussion	25
4.Stabilité	27
MATERIEL ET METHODES	30
1.Matériel	31
1.1.Choix du mélange étudié	31
1.2.Choix du schéma d'administration	33
1.3.Choix des filtres à tester	35

2.Méthodes	37
2.1.Etude du colmatage de la membrane filtrante	37
2.2.Etude de la contamination particulaire avant/après filtration	41
2.2.1.Principe	41
2.2.2.Mode opératoire	41
2.3.Etude de la stabilité de l'émulsion avant/après filtration	45
2.3.1.Principe	45
2.3.2.Mode opératoire	47
2.3.2.1.Conditions opératoires	47
2.3.2.2.Protocole expérimental	48
RESULTATS	50
1.Etude de la perméabilité et du colmatage de la membrane filtrante	51
2.Etude de la contamination particulaire avant/après filtration	57
3.Etude de la stabilité de l'émulsion avant/après filtration	64
DISCUSSION	69
1.Perméabilité et colmatage des membranes filtrantes	70
2.Efficacité de la filtration	76
3.Stabilité de l'émulsion	78
CONCLUSION	79
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	81
classées par ordre d'apparition dans le texte	82
classées par ordre alphabétique	86
ANNEXES	90
ANNEXE 1	91
ANNEXE 2	92
TABLE DES MATIERES	93
Liste des illustrations	96

LISTE DES ILLUSTRATIONS :

<i>page</i>	<i>n° illustration</i>	<i>Titre</i>
14	schéma 1	Administration de la nutrition parentérale
15	tableau 1	Caractéristiques générales des contaminants
16	tableau 2	Contamination particulaire : normes
17	tableau 3	Contamination particulaire de l'émulsion étudiée (bibliographie)
22	tableau 4	Comparaison composition lait de vache / mélange nutritif parentéral
24	figure 1	Evolution de la rétention des lipides en fonction du diamètre de pore des membranes
26	tableau 5	Conditions différentielles de filtration des émulsions : lait /mélange parentéral
32	tableau 6	Composition du mélange étudié
33	schéma 2	Principe des mécanismes des pompes
34	tableau 7	Principales caractéristiques des pompes
36	tableau 8	Principales caractéristiques des filtres
38	schéma 3	Méthode de mesure de la perte de charge : filtres 15 μm et 5 μm
40	schéma 4	Méthode de mesure de la perte de charge : filtre 1,2 μm
44	schéma 5	Protocole expérimental : comptage particulaire
46	schéma 6	Principe et schéma général du Coulter Counter®
49	schéma 7	Protocole expérimental : stabilité de l'émulsion
51	tableau 9	Contrôle des débits des pompes
53	figure 2	Perte de charge au passage du filtre en fonction du débit d'eau
53	figure 3	Perte de charge au passage du filtre en fonction du débit d'émulsion
55	figures 4/4bis	Perte de charge en fonction du volume d'émulsion perfusé (débit = 180 ml/h)
56	figures 5/5bis	Perte de charge en fonction du volume d'émulsion perfusé (débit = 999 ml/h)
57	tableau 10	Contamination particulaire de l'émulsion avant filtration
59	figure 6	Contamination particulaire de l'émulsion avant / après filtration 15 μm

<i>page</i>	<i>n°illustration</i>	<i>Titre</i>
60	figure 7	Contamination particulaire de l'émulsion avant / après filtration 5 μm
61	figure 8	Contamination particulaire de l'émulsion avant / après filtration 1,2 μm
62	tableau 11	Efficacité de la filtration 15 μm : test de Student
62	tableau 12	Efficacité de la filtration 5 μm : test de Student
63	tableau 13	Efficacité de la filtration 1,2 μm : test de Student
64	tableau 14	Répartition des globules lipidiques de fort diamètre avant filtration
66	figure 9	Répartition de taille des globules lipidiques avant / après filtration 15 μm
67	figure 10	Répartition de taille des globules lipidiques avant / après filtration 5 μm
68	figure 11	Répartition de taille des globules lipidiques avant / après filtration 1,2 μm
72	tableau 15	Perméabilité à l'eau et à l'émulsion des membranes filtrantes
75	figure 12	Taux de saturation des pores en fonction du volume filtré débits : 180 ml/h et 999 ml/h



CONCLUSION

Cette étude a permis de mettre en évidence l'intérêt de la présence d'un filtre sur la tubulure de perfusion des émulsions nutritives afin de limiter la contamination particulaire : en effet, même si la charge initiale en particules inertes de l'émulsion étudiée s'est révélée très faible, il est nécessaire de la limiter du fait du volume total important reçu par le patient au cours de sa vie et de la connaissance encore imparfaite des conséquences néfastes de cette contamination sur l'organisme.

La filtration de l'émulsion lors de son administration s'est avérée possible avec les 3 membranes filtrantes testées dans les conditions usuelles d'administration par pompe : cependant, si le colmatage du filtre 15 μm est nul et celui du filtre 5 μm restreint, le filtre 1,2 μm doit être utilisé avec prudence lors de l'administration de grands volumes ou à de forts débits, le colmatage devenant alors très important et pouvant interrompre la perfusion.

D'un point de vue de l'efficacité de la filtration, le filtre 5 μm limite de façon plus importante la contamination particulaire que le filtre 15 μm . Le filtre 1,2 μm s'est révélé très efficace sur la filtration des particules de 5 à 15 μm , mais moins efficace sur les particules de plus de 15 μm .

Par ailleurs, ces travaux ont montré que la filtration ne modifiait pas la qualité granulométrique de l'émulsion : aucune déstabilisation de l'émulsion n'a été décelée après les opérations de filtration.

En conclusion, le filtre 5 μm semble le mieux adapté à l'émulsion nutritive étudiée, son utilisation n'induisant que très peu de colmatage tout en limitant la contamination particulaire. Les faibles pertes de charge enregistrées avec ce filtre permettent même d'envisager son utilisation lors d'une administration par gravité, ce qui étendrait considérablement son domaine d'application. Cependant, les conditions particulières d'écoulement liées à l'administration par gravité nécessitent qu'une étude spécifique soit menée avant de pouvoir envisager cette nouvelle perspective.

Vu, le doyen de la Faculté

J. ROCHAT

Le Président du jury



VU ET PERMIS D'IMPRIMER
Le PRESIDENT DE L'UNIVERSITE
J. FOURIER GRENOBLE I
Sciences, Technologie, Médecine

D. BLOCH



FABER Michel

Prévention de la contamination particulaire lors de l'administration parentérale d'une émulsion nutritive : étude de 3 filtres

MEMOIRE de DES de PHARMACIE HOSPITALIERE ET DES COLLECTIVITES
THESE pour le DIPLOME D'ETAT de DOCTEUR EN PHARMACIE
GRENOBLE 1995

L'administration parentérale de mélanges nutritifs de grands volumes pendant une période prolongée présente un risque lié à la contamination particulaire de ces mélanges. L'action néfaste de ces particules sur l'organisme nécessite qu'on limite cette contamination par l'utilisation d'un filtre sur la ligne de perfusion.

L'étude a porté sur 3 filtres de 15, 5 et 1,2 μm .

Ont été étudiés pour chaque filtre :

- La perméabilité et le colmatage par mesure de la perte de charge sous différents débits d'eau et d'émulsion et en fonction du volume perfusé : seul le filtre 1,2 μm se colmate lors du passage de l'émulsion, ce qui peut, dans certaines conditions perturber la perfusion.
- L'efficacité de la filtration, qui a été vérifiée par comptage particulaire par la méthode de filtration-observation microscopique. Les 3 filtres réduisent de manière significative la contamination particulaire du mélange.
- Les éventuelles modifications des caractéristiques de l'émulsion qui ont été recherchées par l'analyse de la répartition de la taille des globules lipidiques par Coulter Counter TA II $\text{\textcircled{R}}$: aucune modification n'a été notée de ce point de vue.

En conclusion le filtre de 5 μm semble le mieux adapté à l'émulsion étudiée, son utilisation n'induisant pas de colmatage tout en limitant efficacement la contamination particulaire.

Mots clés : Nutrition parentérale totale, mélange nutritif ternaire, émulsion lipidique, filtration, filtre.

Jury

Président : - Monsieur CALOP J.

Professeur

Membres : - Monsieur MORTHA G.

Maître de Conférences

- Monsieur FORONI L.

Docteur en Pharmacie

- Monsieur TROUILLER P.

Docteur en Pharmacie

- Madame ROCHAT-GONTHIER M.H.

Professeur

Date de la soutenance : 8 février 1995