



**HAL**  
open science

# Nutritions parentérales pédiatriques standard : étude de stabilité de mélanges binaires et ternaires destinés à la néonatalogie

Bérangeère Dessane

► **To cite this version:**

Bérangeère Dessane. Nutritions parentérales pédiatriques standard : étude de stabilité de mélanges binaires et ternaires destinés à la néonatalogie. Sciences du Vivant [q-bio]. 2018. dumas-02382869

**HAL Id: dumas-02382869**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02382869>**

Submitted on 27 Nov 2019

**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.

## **Mémoire du DIPLOME d'ETUDES SPECIALISEES de PHARMACIE**

Option Pharmacie Hospitalière - Pratique et Recherche

Conformément aux dispositions de l'arrêté du 04 octobre 1988 tenant lieu de

### **THESE D'EXERCICE**

Pour l'obtention du

### **DIPLOME d'ETAT de DOCTEUR en PHARMACIE**

Présentée et soutenue publiquement à Bordeaux

Le 21 septembre 2018 par

**Bérangère DESSANE**

Née le 06/05/1990 à Maisons-Laffitte (78)

**NUTRITIONS PARENTERALES PEDIATRIQUES STANDARD :  
ETUDE DE STABILITE DE MELANGES BINAIRES ET TERNAIRES  
DESTINES A LA NEONATOLOGIE**

Directeur de Thèse  
Monsieur le Docteur Arnaud VENET

Jury

Présidente : Madame le Professeur Sylvie CRAUSTE-MANCIET

Membres : Monsieur le Professeur Antoine DUPUIS

Madame le Docteur Lucie BOUCHOUD

Monsieur le Docteur Olivier TANDONNET

Monsieur le Docteur Vincent SERVANT

# Remerciements

## Aux membres du jury

*A madame la Professeur Sylvie Crauste-Manciet,*

Vous me faites l'honneur de présider ce jury de thèse,  
Merci de m'avoir transmis votre passion pour la pharmacotechnie et de m'avoir sortie de nombreuses fois de ma zone de confort.  
Soyez assurée de mon profond respect.

*A monsieur le Professeur Antoine Dupuis,*

Par l'honneur que vous me faites de participer à ce jury, soyez assuré de ma profonde gratitude.

*A madame le Docteur Lucie Bouchoud,*

Vous avez accepté de juger ce travail, soyez assurée de mes remerciements les plus sincères et de ma profonde considération.

*A monsieur le Docteur Olivier Tandonnet,*

Je vous remercie de votre implication dans ce projet ainsi que d'avoir spontanément accepté de faire partie de ce jury de thèse.

*A monsieur le Docteur Vincent Servant,*

Merci d'avoir accepté de juger ce travail, de m'avoir laissé la latitude nécessaire pour pouvoir mener à bien ce projet et pour les conseils que vous m'avez prodigués. J'espère que vous continuerez à commenter mes chaussures !

*A monsieur le Docteur Arnaud Venet,*

Je te remercie pour ta disponibilité, pour tes conseils, pour tes réponses à mes très (trop) nombreuses questions, et surtout pour tes multiples relectures ! Ton professionnalisme et ta gentillesse sont des exemples pour moi. J'ai beaucoup appris en travaillant avec toi. Je te suis très reconnaissante d'avoir accepté de diriger ce travail.

**A toutes les personnes qui ont rendu ce projet possible,**

*A ma super dernière assistante Bénédicte Raspaud,*

Merci pour les heures passées sur kitperf, kitpharma et en réunion avec Monsieur Elleau pour les mettre au point ! Sans toi j'aurais été perdue en nutrition ! Merci de m'avoir appris tant de choses et merci aussi pour tes raspages !

*Aux préparateurs de l'équipe de technie de Pellegrin,*

Parce que sans vous je n'aurais rien eu à analyser ! Je vous remercie pour le temps que vous m'avez accordé, pour votre entière coopération sur ce projet et pour l'intérêt que vous avez porté tout au long de l'étude ! J'espère que cela continuera ainsi !

*Au laboratoire de biochimie du CHU de Bordeaux : les docteurs Mesli et Richard ainsi que toutes les techniciennes et tous les techniciens de laboratoire,*

Je vous remercie d'avoir accepté de m'aider sur ce projet et de me permettre de rendre un travail le plus complet possible.

*Au laboratoire de contrôle de la pharmacie : Laurence, Qandil et Simon,*

Je vous remercie pour tout le temps que vous avez accordé à mes dosages en plus d'assurer la routine ! Merci pour le transfert du matériel qui me manquait quand j'étais déjà en mode « prélèvement ».

*Au laboratoire ChemBioPharm, surtout Geoffrey, Sébastien, Marc, Koffi et Alexandra,*

Pour m'avoir permis de bloquer le nanosizer pendant mes analyses et pour m'avoir fait rire quand j'étais à bout ! Merci Geoffrey pour la formation sur le mastersizer et l'après-midi dépannage ! J'étais contente de pouvoir revenir vous voir après mon master !

**A toutes les équipes avec lesquelles j'ai eu la chance de travailler,**

*A l'équipe de Haut-Lévêque,*

Pharmaciens, préparateurs, aides, magasiniers et secrétaires ; je ne vais pas tous vous citer vous êtes trop nombreux ! Vous m'avez découvert jeune interne et vu grandir. Je vous remercie pour l'année et demie passée ensemble ! Vous m'avez beaucoup appris et certains d'entre vous sont devenus des amis - n'est-ce pas Emilie !

*A l'équipe de la PDMS,*

Brubru, Sylvie et les chefs (Monsieur Philip, Isabelle, Aurélie, Caroline, Sami, Bénédicte, Marie) vous êtes géniaux ne changez pas ! J'ai eu l'impression d'être en famille tout en apprenant énormément ! Et contre toute attente, j'ai adoré les dispositifs médicaux !

*A l'équipe de la pharmacie des Hôpitaux Universitaires de Genève,*

Merci pour ce dernier semestre d'internat ! Vous m'avez fait découvrir beaucoup de choses ! Sandrine et Laura, vous formez un binôme hyper cool sur le projet PharmEd et j'ai été contente de vous rejoindre pendant 6 mois ! Merci Sara d'avoir fait ton inter-CHU avec moi, ce qui nous aura permis de bien visiter la Suisse ensemble !

**A mes amis et co-internes,**

*Aux plus vieux,*

Les Julies, Kévin et Romain, parce qu'on a bien changé depuis l'école primaire ou le collège mais finalement on est toujours tous les 5 ! A tous nos week-ends, nos soirées, nos debriefs des grandes nouvelles... ! Et merci aussi aux pièces rapportées pour leur compréhension ! Merci d'être tous là, j'espère que cela continuera longtemps mais de toute façon nous avons arrêté de compter les années sinon cela ferait trop peur !

*A Lucie,*

Mon petit Lu ! Je te remercie d'être toujours là et de me changer de mon univers tellement scientifique. Je suis très fière de te compter parmi mes amis et j'espère que tu réussiras tous tes projets !

*A Clémence,*

Je te remercie pour toutes nos années de fac passées ensemble que ce soit au tutorat ou en TD ! Merci de rester toi et de toujours me donner des conseils avisés. Promis je viendrai voir ton nouvel appartement à Lyon !

*A Gabie,*

Qui aurait cru au lycée que tu serais dans mes remerciements de thèse ! Je vais faire court parce qu'il y a trop de choses à dire ... la fac, le concours, la prépa, Rungis (les 2 fois), l'internat qu'on a réussi à faire dans la même ville, les sushis, les heures au téléphone et les textos (je pense que le chiffre est vertigineux !). Alors je te dis juste merci pour tout et je te souhaite le meilleur pour la Bretagne ! Attention je vais vite débarquer !

*A mes premières co-internes Barbara et Emilie,*

Parce qu'on est si différentes mais qu'on se complète tellement bien ! Je suis heureuse d'avoir commencé mon internat avec vous et finalement qu'on le termine ensemble (même si Barbara tu passes ta thèse une semaine avant nous) ! Je vous souhaite le meilleur que ce soit en médecine ou dans le nord-ouest !

*Au groupe qu'on forme toutes les 4,*

Il va falloir instaurer les week-ends maintenant que les découvertes mensuelles de nouveaux restaurants vont devenir impossibles ! On peut même mettre une clause escape game mais garder les restaurants !

*A ma team boulie,*

Coincoin, Princesse, Bébé et Millou, nous nous sommes bien trouvés et on a formé une joyeuse petite famille ! Parce que j'ai eu pas mal de co-internes mais peu comme vous, ce semestre à la PDMS fera partie de mes meilleurs souvenirs d'internat ! On retourne quand au Taste-and-Go ?

*A Guillaume Bouguéon,*

Guigui-bougui dit chef, je te remercie pour tes conseils avisés et pour tes informations précieuses (heureusement que tu étais là pour récupérer mes résultats oubliés) ! J'ai été contente de travailler avec toi sur ton projet de thèse de sciences ! Je te souhaite beaucoup de bonheur pour votre prochaine grande étape avec Anne-Sophie !

*A tous les autres internes et externes avec lesquels j'ai pu travailler ou pas,*

Hélène, Nico (et Solène parce que tu es presque interne !), Cécilou, Manon, Thomas, Chacha vert, Aasfa, et j'en oublie beaucoup... Et ce qui sont devenus chefs ou ceux qui sont devenus internes, sachez que vous avez tous contribué à faire de mon internat ce qu'il a été et je vous en remercie !

**A ma famille,**

*A mes grands-mères et à la mémoire de mes grands-pères,*

J'espère vous avoir rendu fiers.

*A mes oncles et tantes, cousins et cousines,*

Je vous remercie pour vos encouragements aussi divers soient-ils !

*A mes sœurs,*

Claire et Adélaïde merci pour votre présence. A notre complicité qui est tellement essentielle pour moi ! Je remercie Olivier et Benjamin de vous supporter au quotidien (parce que je sais ce que c'est) ! Même si je suis la seule blonde que Maman ait pu sauver, je sais que vous êtes des kinder : brunes à l'extérieur mais blondes à l'intérieur !

*A mes neveux et filleul Aurélien et Romain,*

*A vous Papa et Maman,*

Vous m'avez toujours soutenue dans tous mes choix et vous êtes toujours là pour moi. Merci Papa de m'avoir aiguillé vers la pharmacie même involontairement. Merci Maman de m'avoir toujours dit que j'avais le droit de me tromper.

Je vous dédie ce travail, je suis sûre que ça vous fait très plaisir car après 10 ans d'études j'ai fini ! Enfin presque !!

# Sommaire

Abréviations.....	10
Figures.....	12
Tableaux.....	14
Table des annexes .....	16
Introduction.....	17
Généralités .....	19
1.1    La prématurité .....	19
1.1.1    Définition.....	19
1.1.2    Epidémiologie .....	19
1.1.3    Physiopathologie.....	20
1.2    Les besoins nutritionnels du prématuré.....	20
1.2.1    Energie .....	21
1.2.2    Eau .....	21
1.2.3    Electrolytes .....	23
1.2.4    Protéines.....	23
1.2.5    Glucides.....	25
1.2.6    Lipides .....	26
1.2.7    Sels minéraux.....	27
1.2.8    Oligo-éléments.....	28
1.2.9    Vitamines .....	29
1.2.10    Résumé des besoins nutritionnels d'un prématuré .....	30
1.3    La nutrition parentérale en néonatalogie .....	30
1.3.1    Définition de la nutrition parentérale .....	30
1.3.2    Les différents types de mélanges de nutrition parentérale.....	31
1.3.2.1    Les mélanges industriels.....	32
1.3.2.2    Les mélanges « à la carte » ou individualisés .....	33

1.3.2.3	Les mélanges standardisés.....	33
1.3.3	Choix du type de mélange nutritionnel.....	35
1.4	La standardisation.....	35
1.4.1	Situation en France.....	35
1.4.1.1	Le rapport IGAS.....	35
1.4.1.2	Les recommandations de la HAS.....	36
1.4.2	Situation à l'étranger.....	38
1.4.3	Situation au CHU de Bordeaux.....	39
1.4.3.1	Le circuit des NP.....	39
1.4.3.2	Le projet de standardisation.....	40
1.5	Stabilité des mélanges de nutrition parentérale.....	42
1.5.1	La stabilité chimique.....	43
1.5.2	La stabilité physique.....	43
1.5.2.1	La formation de précipités.....	44
1.5.2.2	L'émulsion lipidique.....	44
1.5.3	La stérilité.....	46
2	Objectifs du travail, matériels et méthodes.....	47
2.1	Objectifs du travail.....	47
2.2	Matériels.....	47
2.2.1	Formules des mélanges étudiés.....	47
2.2.2	Choix de la présentation des NPS.....	48
2.2.3	Fabrication.....	49
2.3	Méthodes.....	51
2.3.1	Méthodologie des études de stabilité des préparations hospitalières ...	51
2.3.2	Organisation de l'étude.....	52
2.3.2.1	Schéma.....	52
2.3.2.2	Production des poches de NPS.....	52



2.3.3	Aspect macroscopique.....	54
2.3.3.1	Inspection visuelle : contamination particulaire visible.....	54
2.3.3.2	Crémage.....	54
2.3.4	Stabilité chimique.....	55
2.3.4.1	Dosage des électrolytes et sels minéraux .....	55
2.3.4.2	Mesure du pH.....	56
2.3.4.3	Mesure de l'osmolalité.....	56
2.3.4.4	Dosage des vitamines .....	57
2.3.4.5	Dosage des acides aminés .....	57
2.3.5	Stabilité physique.....	58
2.3.5.1	Analyse granulométrique.....	58
2.3.5.2	Potentiel zêta.....	60
2.3.6	Essai de stérilité.....	61
2.3.7	Analyse statistique .....	62
3	Résultats.....	63
3.1	Aspect macroscopique .....	63
3.1.1	Inspection visuelle.....	63
3.1.2	Crémage .....	64
3.2	Stabilité chimique .....	65
3.2.1	Osmolalité .....	65
3.2.2	pH .....	66
3.2.3	Electrolytes .....	67
3.2.4	Sels minéraux .....	68
3.2.5	Vitamines .....	70
3.2.6	Acides aminés.....	73
3.3	Stabilité physique .....	74
3.3.1	Analyse granulométrique .....	74

3.3.1.1	Smoflipid® et Numetah G13% E®.....	74
3.3.1.2	Mélanges étudiés .....	75
3.3.2	Potentiel zêta .....	78
3.3.3	Analyse du crémage .....	79
3.4	Stérilité .....	80
4	Discussion.....	81
4.1	Formules standard .....	81
4.2	Etude de stabilité.....	81
4.2.1	L'osmolalité et le pH.....	81
4.2.2	Les électrolytes et sels minéraux .....	82
4.2.3	Les acides aminés .....	83
4.2.4	Les vitamines .....	83
4.2.5	Stabilité de l'ELI .....	85
4.2.6	Stérilité .....	86
4.3	Réflexion sur le circuit .....	86
5	Conclusion .....	89
	Annexes.....	90
	Bibliographie.....	133
	Serment de Galien.....	141
	Résumé .....	142

## Abréviations

AA	Acides Aminés
AMM	Autorisation de Mise sur le Marché
AIO	All-In-One : tout-en-un
ASPEN	American Society of Parenteral and Enteral Nutrition
BPP	Bonnes Pratiques de Préparation
Ca <sup>2+</sup>	Calcium
CHU	Centre Hospitalier Universitaire
DLU	Date Limite d'Utilisation
DMG	Diamètre Moyen des Globules lipidiques
ELBW	Extremely Low Birth Weight : extrême petit poids de naissance
ELI	Emulsion Lipidique
EPP	Evaluation des Pratiques Professionnelles
EPPI	Eau Pour Préparation Injectable
ESPEN	European Society of Parenteral and Enteral Nutrition
ESPGHAN	European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition
EVA	Ethylène Vinyl Acétate
GERPAC	Groupe d'Evaluation et de Recherche sur la Protection en Atmosphère Contrôlée
HAS	Haute Autorité de Santé
HPLC	Chromatographie Liquide Haute Performance
ICH	Internationale Conference of Harmonisation
IGAS	Inspection Générale des Affaires Sociales
K <sup>+</sup>	Potassium
LBW	Low Birth Weight : petit poids de naissance
LCT	Triglycérides à chaîne longue
MCT	Triglycérides à chaîne moyenne
Mg <sup>2+</sup>	Magnésium
MP-AES	Spectrométrie d'absorption atomique par plasma micro-ondes
Na <sup>+</sup>	Sodium
NP	Nutrition Parentérale
NPI	Nutrition Parentérale Individualisée
NPP	Nutrition Parentérale Pédiatrique
NPS	Nutrition Parentérale Standard
OE	Oligo-éléments
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
pdi	Indice de Polydispersité
PSM	Poste de Sécurité Microbiologique
PTAF	Percentage of fat globule : pourcentage de globules lipidiques
PUI	Pharmacie à Usage Intérieure

SA	Semaine d'Aménorrhée
SFPC	Société Française de Pharmacie Clinique
URC	Unité de Reconstitution Centralisée
VLBW	Very Low Birth Weight : très petit poids de naissance
ZAC	Zone à Atmosphère Contrôlée

## Figures

Figure 1 : changement de la composition corporelle en fonction de l'âge (11).....	22
Figure 2 : risque septique des différents mélanges de nutriments parentéraux et leur supplémentation tiré de (32) .....	38
Figure 3 : circuit des nutriments parentéraux au CHU de Bordeaux .....	39
Figure 4 : déstabilisation d'une émulsion lipidique de type huile dans eau .....	46
Figure 5 : plan de l'unité de reconstitution centralisée .....	49
Figure 6 : montage de l'automate BAXA EM2400 ® prêt pour la production .....	50
Figure 7 : photographie du MP-AES 4200 .....	55
Figure 8 : schéma de la diffraction laser en fonction de la taille des particules rencontrées.....	58
Figure 9 : photographie du Mastersizer 2000 avec le module hydro SM .....	59
Figure 10 : photographies d'une poche binaire (gauche) et d'une poche ternaire (droite) à J28 .....	63
Figure 11 : photographies du crémage à J28 (gauche) et à J56 (droite) .....	64
Figure 12 : variations de l'osmolalité par rapport à J0 .....	65
Figure 13 : variation des mesures du pH par rapport à J0.....	66
Figure 14 : variation des dosages du sodium par rapport à J0 .....	67
Figure 15 : variation des dosages du potassium par rapport à J0 .....	68
Figure 16 : variation des dosages du calcium par rapport à J0 .....	69
Figure 17 : variation des dosages du magnésium par rapport à J0 .....	70
Figure 18 : variation de la concentration de la vitamine E par rapport à J0 .....	71
Figure 19 : variation de la concentration en vitamine C par rapport à J0.....	72
Figure 20 : variation de la concentration en vitamine B1 par rapport à J0.....	72
Figure 21 : variation de la concentration totale en acides aminés par rapport à celle de J0.....	73
Figure 22 : variation de la concentration en méthionine par rapport à J0 .....	74
Figure 23 : distribution des globules lipidiques du Smoflipid® obtenue avec le Mastersizer 2000 .....	75
Figure 24 : distribution des globules lipidiques du Numetah G13% E® obtenue avec le Mastersizer 2000 .....	75
Figure 25 : diamètre moyen des globules lipidiques (nm).....	76

Figure 26 : pourcentage de globules > 1 $\mu\text{m}$ dans la formule « Croisière » (% et écart-type).....	77
Figure 27 : pourcentage de globules > 1 $\mu\text{m}$ dans la formule « Intermédiaire » (% et écart-type) .....	78
Figure 28 : variation du potentiel zêta par rapport à J0 .....	79

## Tableaux

Tableau 1 : apports hydriques recommandés chez le prématuré .....	22
Tableau 2 : apports en sodium recommandés chez le prématuré .....	23
Tableau 3 : apports en potassium recommandés chez le prématuré .....	23
Tableau 4 : répartition des acides aminés et apports recommandés si énoncés par les sociétés savantes internationales .....	24
Tableau 5 : apports recommandés en calcium, phosphore et magnésium chez le prématuré .....	28
Tableau 6 : apports en OE recommandés chez le prématuré .....	28
Tableau 7 : apports vitaminiques recommandés chez le prématuré.....	29
Tableau 8 : apports moyens recommandés chez le prématuré en phase de croissance .....	30
Tableau 9 : différents types de mélanges de nutrition parentérale (adapté de (31)).	31
Tableau 10 : spécialités disposant d'une AMM chez le prématuré et commercialisées en France en 2018 et leur composition .....	32
Tableau 11 : formulation des mélanges de NPS étudiés .....	48
Tableau 12 : répartition de la production par type d'analyses.....	53
Tableau 13 : moyennes des concentrations en calcium à J0 et J56 et pourcentage de variation des formules « Croisière sans lipide » et « Intermédiaire sans lipide » .....	64
Tableau 14 : valeurs minimale, maximale et moyenne de l'osmolalité des différentes formules.....	65
Tableau 15 : valeurs minimale, maximale et moyenne du pH des poches de la série 3 .....	66
Tableau 16 : valeurs minimale, maximale et moyenne du sodium des différentes formules.....	67
Tableau 17 : valeurs minimale, maximale et moyenne du potassium des différentes formules.....	67
Tableau 18 : valeurs minimale, maximale et moyenne du calcium des différentes formules.....	68
Tableau 19 : valeurs minimale, maximale et moyenne du magnésium des différentes formules.....	69
Tableau 20 : moyenne du pourcentage de détection des vitamines pour les deux formulations.....	70

Tableau 21 : résumé des caractéristiques granulométriques du Smoflipid® et du Numetah G13% E®.....	74
Tableau 22 : mesures de DMG de la formule « Croisière » à J0, J28 et J56 après stockage au froid et après 24h à température ambiante .....	76
Tableau 23 : mesures de DMG de la formule « Intermédiaire » à J0, J28 et J56 après stockage au froid et après 24h à température ambiante .....	77
Tableau 24 : résultats de l'analyse granulométrique du crémage de la formule « Croisière » .....	79
Tableau 25 : résultats de l'analyse granulométrique du crémage de la formule « Intermédiaire ».....	80



## Table des annexes

Annexe 1 : choix du mélange de nutrition parentérale en fonction du risque septique tiré de (32) .....	90
Annexe 2 : formules des mélanges de nutrition parentérale standardisés de la HAS .....	91
Annexe 3 : protocole de préparation des échantillons pour le dosage des vitamines	92
Annexe 4 : planning de l'étude de stabilité .....	96
Annexe 5 : résultats des mesures de l'osmolalité et analyses statistiques .....	97
Annexe 6 : résultats des mesures du pH.....	101
Annexe 7 : résultats des dosages de sodium et analyses statistiques .....	103
Annexe 8 : résultats des dosages de potassium et analyses statistiques .....	107
Annexe 9 : résultats des dosages de calcium et analyses statistiques.....	111
Annexe 10 : résultats des dosages de magnésium et analyses statistiques .....	115
Annexe 11 : résultats des dosages des vitamines.....	119
Annexe 12 : résultats des dosages des acides aminés .....	121
Annexe 13 : résultats de l'analyse du diamètre moyen des globules lipidiques et analyses statistiques .....	127
Annexe 14 : résultats de l'analyse du pourcentage de globules lipidiques > 1 µm .	129
Annexe 15 : résultats de l'analyse du potentiel zêta et analyse statistique .....	131

## Introduction

La nutrition parentérale (NP) est une technique de nutrition artificielle par voie intraveineuse. De nombreux médecins et scientifiques se sont penchés sur la perfusion intraveineuse et la nutrition depuis le 18<sup>ème</sup> siècle mais il a fallu attendre les années 1960 et l'apparition des premiers solutés industriels pour voir émerger la NP. Cette technologie n'a cessé d'évoluer depuis et a permis de sauver de nombreuses vies, notamment chez les nouveau-nés prématurés.

La NP est un processus complexe et à risque faisant intervenir différents corps de métiers qui nécessite des connaissances médicales et nutritionnelles, des dispositifs médicaux adaptés et un savoir-faire pharmaceutique. On distingue quatre grandes étapes dans ce processus : la prescription, la fabrication, le contrôle et l'administration.

En janvier 2015, le ministère de la santé français par le biais d'un rapport sur l'évaluation des pratiques en matière de NP pédiatrique rédigé après une enquête de l'inspection générale des affaires sociales (IGAS) a émis 41 recommandations sur l'intégralité du circuit des NP. La première de ces recommandations concernait la mise en place d'un nombre limité de formules de NP standard (NPS) prêtes à l'emploi destinées aux services prenant en charge les nouveau-nés à terme ou prématurés et qui devaient être élaborées par la Haute Autorité de Santé (HAS). En attendant ces formules qui ont été rendues publiques en juillet 2018, de nombreux centres hospitaliers ont mis en place leurs propres NPS. En effet, les NPS permettent une sécurisation et une homogénéisation de la prise en charge nutritionnelle des nouveau-nés.

Après une analyse du circuit des NP au Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Bordeaux et l'introduction des dernières formules industrielles destinées à la néonatalogie, le projet de standardisation des NP destinées aux prématurés de petit poids (moins de 1,5 kg) a vu le jour. Mené conjointement entre la pharmacie et les pédiatres des unités de néonatalogie, il a permis d'établir quatre formules standard locales avec et sans lipides. Pour limiter le risque infectieux inhérent à la NP, il a été décidé de réaliser des poches mono-compartmentées tout-en-un où tous les composants sont mélangés au moment de la fabrication ; y compris les lipides, les vitamines et les oligo-éléments (OE).

L'IGAS préconise que les établissements de santé fixent les dates limites d'utilisation des préparations de NP en réalisant des études de stabilité physico-chimique et de stérilité (recommandation 33). Des études de stabilité de NPS ont été menées par d'autres équipes mais trop courtes ou sous un autre format que le tout-en-un, elles ne correspondaient pas au modèle souhaité par le CHU de Bordeaux. C'est pourquoi avant la mise à disposition de ces formules et comme recommandé par l'IGAS une étude de stabilité devait être réalisée.

## Généralités

### 1.1 La prématurité

#### 1.1.1 Définition

La néonatalogie est une spécialité de pédiatrie qui s'intéresse à la médecine du nouveau-né, né à terme ou prématurément, jusqu'à l'âge de 1 mois. Les enfants nés prématurément constituent la plus large population prise en charge dans les unités de néonatalogie.

La première définition de la prématurité donnée par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) était fondée sur le poids de naissance des nouveau-nés et distinguait les petits poids de naissance (< 2500g) ou Low Birth Weight (LBW), les très petits poids de naissance (<1500g) ou Very Low Birth Weight (VLBW) et les extrêmes petits poids de naissance (<1000g) ou Extremely Low Birth Weight (ELBW).

Cette définition ne permettait pas de différencier une naissance prématurée d'un retard de croissance in utero avec naissance à terme alors qu'à poids de naissance égal, la maturation des organes est différente en fonction de l'âge fœtal (1). L'OMS a donc modifié sa définition (2). Le terme d'une grossesse est fixé à 41 semaine d'aménorrhée (SA) et avec cette nouvelle définition, toute naissance avant la 37<sup>ème</sup> SA révolue est considérée comme prématurée. Cela recouvre 3 catégories de prématurité :

- L'extrême prématurité (inférieur à 28 SA)
- La grande prématurité (de 28 SA à 31 SA + 6 jours)
- La prématurité moyenne voire tardive (de 32 SA à 36 SA + 6 jours)

Cependant les deux facteurs sont pris en compte lors de l'évaluation du pronostic du nouveau-né prématuré et de la mise en place de la stratégie thérapeutique.

#### 1.1.2 Epidémiologie

L'augmentation de l'incidence des naissances prématurées dans le monde a motivé l'OMS à inscrire leurs prises en charge, et notamment la survie, dans son programme mondial 2016-2030 « Actualisation de la stratégie mondiale pour la santé de la femme, de l'enfant et de l'adolescent ». En 2005, on estimait que plus d'un bébé sur 10

naissait avant la 37<sup>ème</sup> SA dans le monde, soit plus de 13 millions de naissances alors qu'en 2010, près de 15 millions de naissances prématurées ont été recensées dans le monde, soit 11,1% des naissances vivantes (3).

La France n'est pas épargnée par cette augmentation (4) ; si le taux de naissance prématurée vivante n'a pas progressé entre 2010 et 2016 (6%), les résultats de l'enquête nationale périnatale montrent par contre une augmentation de la fréquence des enfants de petit poids pour l'âge gestationnel (5).

### 1.1.3 Physiopathologie

La grande fragilité des prématurités est liée à l'immatunité des différents organes. Dès la fin du premier trimestre de grossesse l'ébauche des principaux organes est terminée. Une naissance prématurée vient interrompre le processus de maturation permettant l'acquisition des fonctions physiologiques caractéristiques de chaque organe. Le degré d'immatunité des organes qui en résulte conditionne les principales comorbidités du prématuré.

Les systèmes respiratoire et cardio-vasculaire déterminent largement l'évolution de l'enfant mais l'immatunité du tractus gastro-intestinal ainsi que la composition corporelle des prématurés les fragilisent un peu plus. En effet, un prématuré ne possède que très peu de réserves énergétiques (6) ; aussi des apports nutritionnels insuffisants peuvent péjorer son évolution à très court terme. Une alimentation précoce et adaptée aux besoins du nouveau-né est la base d'une prise en charge adéquate. La qualité de cette prise en charge nutritionnelle conditionne son devenir à court, moyen et long terme car elle permet le développement et la maturation des différents organes ainsi qu'une croissance harmonieuse (7).

## 1.2 Les besoins nutritionnels du prématuré

Les nouveau-nés prématurés possèdent des réserves endogènes limitées qui s'épuisent très vite. C'est pourquoi il est recommandé de mettre en place un support nutritionnel le plus rapidement possible dans les 48 premières heures de vie (8). Du fait de leur immatunité, ils ont des besoins nutritionnels élevés.

Trois phases post-natales importantes sont observées dans le métabolisme d'un prématuré :

- La phase initiale : phase immédiate après la naissance où il y a perte de poids post-natale et oligurie allant de quelques heures à quelques jours.
- La phase intermédiaire : partant du poids minimum, elle dure jusqu'au retour au poids de naissance entre 7 à 10 jours après la naissance.
- La phase de croissance/stabilisation : phase de prise de poids.

Les recommandations européennes sur les besoins nutritionnels des prématurés sont émises par l'European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition (ESPGHAN) conjointement avec l'European Society of Parenteral and Enteral Nutrition (ESPEN).

### 1.2.1 Energie

L'apport énergétique doit permettre de couvrir toutes les dépenses : métabolisme de base, thermogénèse alimentaire, activité physique et croissance.

L'apport recommandé est de 110 à 120 kcal/kg/j sans jamais être inférieur à 50-60 kcal/kg/j (9). Il est réalisé par trois types de nutriments : les glucides (1g = 4 kcal), les lipides (1g = 9 kcal) et les protéines (1g = 4 kcal).

Les nouvelles recommandations de l'ESPGHAN publiées en juin 2018 élargissent cet apport énergétique moyen (90-120 kcal/kg/j) et modifient l'apport minimal du premier jour de vie qui ne devrait jamais être inférieur à 45-55 kcal/kg/j.

L'objectif de prise en poids de la phase de stabilisation est également défini à 17-20 g/kg/j pour éviter un retard de croissance (10).

### 1.2.2 Eau

Principal facteur limitant de la nutrition chez les prématurés, l'apport hydrique est extrêmement important. Un nouveau-né à terme est composé de 75% d'eau et cette proportion augmente chez le prématuré pour atteindre 90 % (Figure 1).

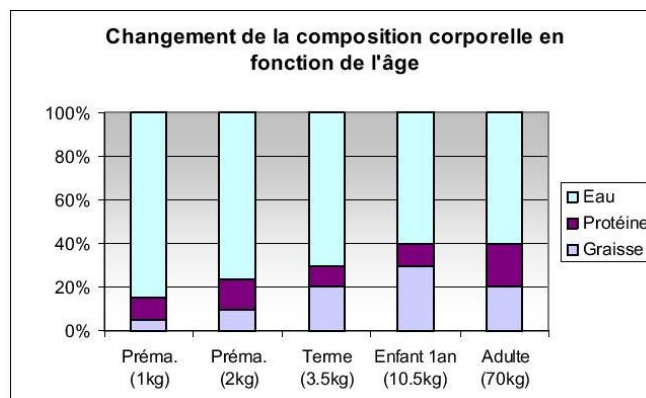


Figure 1 : changement de la composition corporelle en fonction de l'âge (11)

L'apport hydrique doit couvrir les besoins de base, les pertes insensibles (transpiration) ainsi que les pertes hydriques pulmonaire, rénale et fécale. Chez le prématuré ces pertes sont d'autant plus importantes que la peau, les reins et les poumons sont immatures.

Les recommandations de 2005 définissaient uniquement deux catégories de prématurés (< 1,5 kg et > 1,5 kg) alors que les nouvelles recommandations en définissent trois : < 1 kg, 1-1,5 kg et > 1,5 kg.

Le Tableau 1 résume l'apport hydrique en fonction du jour de vie recommandé par l'ESPGHAN en 2018. Il est à adapter à l'état clinique et biologique du patient.

Tableau 1 : apports hydriques recommandés chez le prématuré

<b>Apports hydriques journaliers recommandés chez le prématuré en ml/kg/j</b>					
	<b>J1</b>	<b>J2</b>	<b>J3</b>	<b>J4</b>	<b>J5</b>
Prématuré < 1 kg	80 - 100	100 - 120	120 - 140	140 - 160	160 - 180
Prématuré 1 kg – 1,5 kg	70 - 90	90 - 110	110 - 130	130 - 150	160 – 180
Prématuré > 1,5 kg	60 - 80	80 - 100	100 - 120	120 - 140	140 - 160

### 1.2.3 Electrolytes

Le sodium (Na<sup>+</sup>) et le potassium (K<sup>+</sup>) sont étroitement liés au bilan hydrique et jouent un grand rôle dans l'homéostasie des volumes cellulaires.

Les recommandations de l'ESPGHAN de 2005 préconisaient d'attendre la première diurèse survenant dans les 24 premières heures de vie avant d'instaurer un apport en électrolytes ou de les introduire dès une perte de poids avoisinant les 6 % du poids de naissance sans jamais dépasser 3 jours sans supplémentation.

Les recommandations 2018 stipulent que l'apport en électrolytes peut être réalisé dès le premier jour si l'apport en acides aminés (AA) et en énergie est conforme aux recommandations (12).

Les apports recommandés en 2018 sont résumés dans les tableaux ci-dessous :

Tableau 2 : apports en sodium recommandés chez le prématuré

<b>Apports recommandés en sodium exprimés en mmol/kg/j</b>				
	<b>J1-2</b>	<b>J3</b>	<b>J4-5 et phase intermédiaire</b>	<b>Phase de croissance</b>
Prématuré < 1,5 kg	0 - 2 (max 3)	0 - 5 (max 7)	2 - 5 (max 7)	3 - 5 (max 7)
Prématuré > 1,5 kg	0 - 2 (max 3)	0 - 3	2 - 5	3 - 5

Tableau 3 : apports en potassium recommandés chez le prématuré

<b>Apports recommandés en potassium exprimés en mmol/kg/j</b>				
	<b>J1-3</b>	<b>J4-5</b>	<b>Phase intermédiaire</b>	<b>Phase de croissance</b>
Prématuré < 1,5 kg	0 - 3	2 - 3	1 - 3	2 - 5
Prématuré > 1,5 kg	0 - 3	2 - 3	1 - 3	1 - 3

### 1.2.4 Protéines

L'apport protidique est essentiel chez le nouveau-né car les protéines font partie des composants structurels et fonctionnels majeurs de nos cellules. En NP, il est réalisé sous la forme d'AA qui sont les composants des protéines.



Certains de ces AA sont essentiels car le corps humain n'est pas capable de les synthétiser. D'autres sont dit « semi-essentiels » car ils peuvent être synthétisés à partir d'AA essentiels ou de précurseurs dans une certaine limite. Parmi ces AA « semi-essentiels », plusieurs deviennent essentiels chez le prématuré à cause de l'immaturité enzymatique qui empêche leur synthèse.

Plusieurs AA semi-essentiels sont commentés dans les recommandations 2018 de l'ESPGHAN (13) pour préciser leurs rôles et les apports recommandés (cystéine, tyrosine, glutamine, taurine et arginine).

Le tableau ci-dessous présente la répartition des AA (6).

Tableau 4 : répartition des acides aminés et apports recommandés si énoncés par les sociétés savantes internationales

AA essentiels	AA semi-essentiels	AA non essentiels
Histidine	Arginine	Alanine
Isoleucine	Cystéine	Acide aspartique
Leucine	Glutamine	Asparagine
Lysine	Glycine	Acide glutamique
Méthionine	Proline	
Phénylalanine	Tyrosine	Sérine
Thréonine		
Tryptophane	Taurine	
Valine		

La taurine n'est pas au sens strict un AA mais dérive de la cystéine. Elle est indispensable à la maturation neuronale de l'enfant et à la formation des acides biliaires primaires qui permettent la métabolisation des lipides.

L'apport en AA n'est pas pris en compte dans l'apport énergétique car ils doivent servir exclusivement au maintien des organes et à la croissance de l'enfant. L'adaptation des besoins en AA est communément réalisée par le suivi de la balance calorico-azotée. Un gramme d'AA apporte 0,16 g d'azote. Pour un prématuré, ce rapport doit être compris entre 140 et 210 kcal/g d'azote.

$$\text{Balance calorico-azotée} = \frac{\text{total calories glucides+lipides}}{\text{gramme d'azote}}$$

Un apport inférieur à la normale indique un déséquilibre de l'apport énergétique total. Il y a alors une consommation protéique à des fins énergétiques par oxydation des AA ; ce qui peut conduire à des hyperammoniémies et à des acidoses métaboliques. Un apport de 1 à 1,5 kcal/kg/j permet d'obtenir une balance azotée neutre ; au-delà, le rapport calorico-azoté est positif. Les apports recommandés pour un prématuré sont de l'ordre de 2 à 2,5 g/kg/j avec un des paliers de progression de 0,5 à 1 g/kg/j sans dépasser 4 g/kg/j.

Les recommandations ESPGHAN 2018 (13) modifient la prise en charge du prématuré : la supplémentation en AA doit être débutée le plus rapidement possible après la naissance à 1,5 g/kg/j pour assurer la couverture des besoins anaboliques. L'apport moyen doit être compris entre 2,5 et 3,5 g/kg/j, en assurant un apport énergétique non protéique d'au minimum 65 kcal/kg/j. Tout apport supérieur à 3,5 kcal/kg/j doit être réservé au cadre des essais cliniques.

#### 1.2.5 Glucides

Amenés par le glucose, les glucides ou hydrates de carbone représentent 60 à 75 % des apports énergétiques non protéiques des nouveau-nés dans la NP. L'ensemble des cellules de l'organisme les utilisent comme source d'énergie car ils sont facilement mobilisables.

L'apport en glucose est guidé par la balance entre les besoins énergétiques, la supplémentation en macronutriments et l'apport en glucose des médicaments administrés aux enfants. Si l'enfant est malade, la gravité de sa pathologie entre également dans le choix de l'apport en glucides.

Les apports en glucose recommandés pour un prématuré sont de l'ordre de 6 à 12 g/kg/j avec des valeurs maximales à ne pas dépasser fixées à 18-20 g/kg/j. L'augmentation par palier de 1 à 2 g/kg/j est nécessaire pour éviter l'apparition d'une intolérance.

Les recommandations 2018 affinent les apports recommandés en précisant que, pour le premier jour de vie ou pour une situation pathologique aiguë, l'apport doit être

compris entre 6 et 12 g/kg/j. L'apport journalier cible est de 12-14 g/kg/j (minimum : 5 g/kg/j et maximum : 17 g/kg/j) et l'augmentation par palier est toujours préconisée (14).

### 1.2.6 Lipides

L'apport énergétique des lipides est important (1 g = 9 kcal) pour un volume réduit. L'énergie libérée par leur bêta-oxydation est directement liée à l'apport glucidique. Si celui-ci est élevé alors les lipides seront stockés et le glucose principalement utilisé comme source énergétique. Dans le cadre d'une NP totale, les lipides doivent représenter 25 à 40 % de l'apport calorique non protéique.

Parallèlement à l'énergie libérée, les lipides apportent aussi des acides gras essentiels à chaînes longues (acide linoléique et acide  $\alpha$ -linoléique) qui sont des constituants fondamentaux des membranes cellulaires.

Les spécialités lipidiques utilisées en NP sont des émulsions de triglycérides en phase aqueuse stabilisées par des phospholipides (généralement lécithine d'œuf ou de soja). On distingue 3 générations d'émulsions lipidiques intraveineuses (ELI) dont les plus anciennes, à base d'huile de soja, sont majoritairement composées de triglycérides à chaînes longues (LCT) polyinsaturés (ex. Intralipide®). Ces ELI étant liées à un trop fort apport en acides gras polyinsaturés, une 2<sup>ème</sup> génération d'ELI (ex. Médialipide®) a été développée pour diminuer les effets indésirables associés aux LCT. A base d'huile d'olives, de coco ou de palme elles apportent des LCT et des triglycérides à chaînes moyennes (MCT). Les MCT présentent l'avantage d'être métabolisés plus rapidement sans favoriser la synthèse de précurseur de l'inflammation. Ils augmentent également la stabilité de l'ELI (15). Une troisième génération d'émulsions à base d'huile de poisson riche en oméga 3 est apparue plus récemment mais ces ELI doivent être utilisées en combinaison avec d'autres types d'huiles. Ainsi le Smoflipid®, un mélange composé de MCT et d'huiles de soja, olives et poisson est arrivé sur le marché. Certaines études ne montrent pas d'effets bénéfiques cliniques de cette dernière ELI (16–20) alors que d'autres prouvent qu'elle diminuerait les pathologies inflammatoires du prématuré liées au stress oxydatif (21) comme la dysplasie broncho-pulmonaire (22), la rétinopathie du prématuré (23).

L'introduction des lipides dans la NP est actuellement préconisée dès la naissance si l'état clinique le permet ou au plus tard 48 heures après celle-ci (1,24–26). L'apport initial doit être compris entre 1 et 2 g/kg/j pour atteindre un maximum de 3-4 g/kg/j par palier d'augmentation de 0,5-1 g/kg/j.

Les nouvelles recommandations ne modifient pas les apports en lipides mais précisent que le choix de l'ELI doit se porter en premier sur une émulsion à 20 % composée de différents types d'huiles (25). Elles fixent également l'apport d'acide linoléique à 0,25 g/kg/j ; toutes les émulsions lipidiques à 20 % en contiennent une quantité suffisante pour couvrir cette dose journalière.

Un apport en carnitine doit être associé à l'administration de lipides. En effet, la carnitine présente dans le lait maternel est le seul transporteur utilisable par les acides gras à longue chaîne pour traverser la membrane mitochondriale interne où se produit la bêta-oxydation. Sa posologie habituelle est de maximum 20 mg/kg/j. L'American Society for Parenteral and Enteral Nutrition (ASPEN) recommandait sa supplémentation depuis 2012 (27) et la révision des recommandations ESPGHAN (25) l'intègre dans son chapitre sur la prise en charge lipidique des prématurés.

### 1.2.7 Sels minéraux

Le calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ ), le phosphore (P) et le magnésium ( $\text{Mg}^{2+}$ ), minéraux indispensables à la croissance des nouveau-nés, sont majoritairement utilisés au niveau du squelette. Un déficit entraîne un défaut de minéralisation osseuse et à terme un rachitisme chez l'enfant.

Les besoins phospho-calciques sont dépendants de l'âge et diminuent au cours de la vie ; les nouveau-nés prématurés ont les besoins les plus importants. Le rapport entre les deux minéraux ( $\text{Ca}^{2+}:\text{P}$ ) est de 1,67 dans l'os et de 1,3 pour le reste du corps. Les recommandations ESPGHAN 2005 préconisait un apport permettant un ratio molaire  $\text{Ca}^{2+}:\text{P}$  de 1,3 (1,7 pour le ratio massique) pour garantir une minéralisation osseuse optimale (6). Les nouvelles recommandations affinent le ratio molaire à 0,8-1 dans les premiers jours de NP du prématuré, afin de diminuer le risque d'hypophosphatémie. Une fois la phase de stabilisation atteinte, le ratio molaire augmente pour atteindre 1,3 (28).

Le  $Mg^{2+}$  est également indispensable à l'homéostasie calcique et assure le maintien de la densité osseuse.

Les apports recommandés sont synthétisés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 5 : apports recommandés en calcium, phosphore et magnésium chez le prématuré

<b>Apports recommandés en <math>Ca^{2+}</math>, P et <math>Mg^{2+}</math> en mmol/kg/j (mg/kg/j)</b>			
<b>Age</b>	<b><math>Ca^{2+}</math></b>	<b>P</b>	<b><math>Mg^{2+}</math></b>
Premiers jours de vie	0,8 - 2 (32- 80)	1 - 2 (31 - 62)	0,1 - 0,2 (2,5 - 5)
Phase de croissance	1,6 - 3,5 (100 - 140)	1,6 - 3,5 (77 - 108)	0,2 - 0,3 (5 - 7,5)

### 1.2.8 Oligo-éléments

Ce sont des nutriments présents en faible quantité dans l'organisme mais dont la carence est redoutée en cas de NP prolongée car ils sont impliqués dans de nombreux processus métaboliques. Les recommandations ESPGHAN 2018 donnent les apports nécessaires en OE pour le prématuré (29).

Le tableau ci-dessous résume les besoins en OE des prématurés.

Tableau 6 : apports en OE recommandés chez le prématuré

<b>OE</b>	<b>Apports recommandés exprimés en <math>\mu g/kg/j</math></b>
Chrome	0,2
Cuivre	40
Iode	1-10
Manganèse	< 1
Molybdène	1-5
Sélénium	7
Zinc	400-500

La seule spécialité disposant d'une autorisation de mise sur le marché (AMM) pour la supplémentation en OE chez le prématuré en France est Junimin®. Elle remplace l'ancienne formulation Oligoélément pédiatrique® Aguetant.

Le fer fait également partie des OE mais une supplémentation par voie entérale est à privilégier si possible dès lors que la NP dépasse trois semaines. Si le statut martial

de l'enfant le nécessite, un apport de 200-250  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$  est recommandé chez le prématuré (29) en Y de la NP.

### 1.2.9 Vitamines

Les nouveau-nés ont des réserves corporelles en vitamines très faibles. Ainsi dès l'instauration de la NP, une supplémentation vitaminique quotidienne doit être mise en place à l'exception de la vitamine K qui peut être apportée de façon hebdomadaire. Les vitamines D et K sont normalement produites par l'organisme mais l'immaturation enzymatique des prématurés limite leur synthèse.

Les posologies optimales de vitamines n'ont pas clairement été établies, les recommandations suivantes sont basées sur des avis d'experts. De plus, le dosage systématique des vitamines n'est pas préconisé en routine ; ce monitoring peut être réalisé dans les cas de NP à long terme.

Tableau 7 : apports vitaminiques recommandés chez le prématuré

<b>Apports vitaminiques recommandés chez le prématuré</b>	
<b>Vitamines liposolubles</b>	
Vitamine A (rétinol)	700-1500 UI/kg/j (227-455 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$ )
Vitamine D (calciférol)	80-400 UI/kg/j
Vitamine E (tocophérol)	2,8-3,5 mg/kg/j (maximum 11 mg/j)
Vitamine K	10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$
<b>Vitamines hydrosolubles</b>	
Vitamine B1 (thiamine)	0,35-0,5 mg/kg/j
Vitamine B2 (riboflavine)	0,15-0,2 mg/kg/j
Vitamine B3 ou PP (nicotinamide)	4-6,8 mg/kg/j
Vitamine B5 (acide pantothénique)	2,5 mg/kg/j
Vitamine B6 (pyridoxine)	0,15-0,2 mg/kg/j
Vitamine B8 (biotine)	5-8 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$
Vitamine B9 (acide folique)	56 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$
Vitamine B12 (cobalamine)	0,3 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$
Vitamine C (acide ascorbique)	15-25 mg/kg/j

### 1.2.10 Résumé des besoins nutritionnels d'un prématuré

Le tableau suivant résume les différentes posologies des composants d'une NP pour un prématuré.

Tableau 8 : apports moyens recommandés chez le prématuré en phase de croissance

<b>Apports moyens recommandés chez le prématuré en phase de croissance</b>	
Volume	140-180 ml/kg/j
Energie	110-120 kcal/kg/j
Protéines	2,5-3,5 g/kg/j
Glucides	12-14 g/kg/j (maximum 17 g/kg/j)
Lipides	3-4 g/kg/j
Na <sup>+</sup>	4-5 mmol/kg/j
K <sup>+</sup>	2-5 mmol/kg/j
Ca <sup>2+</sup>	1,6-3,5 mmol/kg/j (100-140 mg/kg/j)
P	1,6-3,5 mmol/kg/j (77-108 mg/kg/j)
Mg <sup>2+</sup>	0,2-0,3 mmol/kg/j (5-7,5 mg/kg/j)

## 1.3 La nutrition parentérale en néonatalogie

Si l'alimentation orale doit toujours être privilégiée, elle ne peut pas être instaurée chez tous les nouveau-nés *a fortiori* chez les prématurés (30). A partir de 32 SA, la plupart des bébés sont capables de coordonner les actions de succion, déglutition, respiration ce qui rend la nutrition entérale possible (31). En dessous de 32 SA, elle est envisageable uniquement par sonde nasogastrique. Cependant l'introduction précoce et l'augmentation rapide de la nutrition entérale ne peuvent pas toujours être réalisées. La nutrition parentérale apparaît alors comme la solution pour maintenir l'apport nutritionnel (32).

### 1.3.1 Définition de la nutrition parentérale

La nutrition parentérale (NP) est définie comme une technique de nutrition artificielle qui a pour objectif de « fournir les apports nécessaires pour restaurer ou maintenir un état de nutrition optimal en cas de nutrition entérale impossible, contre-indiquée ou insuffisante pour satisfaire la totalité des besoins de l'enfant ou de l'adulte et pour éviter

les conséquences cliniques d'une malnutrition ou d'une dénutrition » (33). C'est un mélange complexe destiné à être administré par voie veineuse centrale (32,34,35).

Les nutriments nécessaires à une NP totale sont l'eau, les protéines, les glucides, les lipides, les électrolytes et sels minéraux, les OE ainsi que les vitamines hydrosolubles et liposolubles. L'adjonction de lipides dans la poche de NP entraîne la formation d'une nutrition dite ternaire, sinon la NP est binaire.

La NP pédiatrique (NPP) est différente de la NP de l'adulte car elle s'adresse à des organismes en développement. Chez l'enfant, en plus du maintien des fonctions métaboliques de base, la NP doit couvrir les besoins anaboliques de la croissance et du développement psychomoteur. De plus, elle doit être adaptée aux troubles métaboliques secondaires liés à certaines situations pathologiques. La prématurité représente d'ailleurs la première indication de la NPP en France avec 82 % des prescriptions réalisées par les services de néonatalogie (36).

### 1.3.2 Les différents types de mélanges de nutrition parentérale

On distingue 3 catégories de mélanges nutritifs :

- Les spécialités pharmaceutiques avec autorisation de mise sur le marché (AMM) appelées mélanges ou poches industriels
- Les mélanges « à la carte » ou individualisé (NPI)
- Les mélanges standardisés (NPS)

Tableau 9 : différents types de mélanges de nutrition parentérale (adapté de (31))

	3 types de mélanges de NP		
	Industriels	Standardisés	Individualisés
Formules	Prédéfinies / non personnalisées ⇒ Formules fixes		A définir / personnalisées ⇒ Formules à la carte
Fabricants	Industries pharmaceutiques	Pharmacie à usage intérieur (PUI) Ou Sous-traitance à un établissement pharmaceutique avec autorisation de fabrication (façonnier)	



## 1.3.2.1 Les mélanges industriels

Ce sont des spécialités pharmaceutiques avec AMM ; leur fabrication est assurée par un établissement pharmaceutique industriel en respectant les Bonnes Pratiques de Fabrication.

Les spécialités de NP avec AMM disponibles sont peu nombreuses ; on compte 5 formules ayant une indication pour les prématurés en 2018. Le mélange NP 100 Prématuré AP-HP® est le premier à avoir obtenu une AMM en 2004. L'AP-HP développe quelques années plus tard la gamme Pediaven® dans laquelle on retrouve 3 spécialités : Pediaven NN1®, Pediaven NN2® et Pediaven NN S/OE® qui est une formule sans OE pour les prématurés présentant une intolérance digestive. Ces 4 mélanges sont des NP binaires.

Le dernier mélange disposant d'une AMM chez le prématuré, mis sur le marché en 2016, est un mélange ternaire commercialisé par Baxter : le Numetah G13 % E®.

Tableau 10 : spécialités disposant d'une AMM chez le prématuré et commercialisées en France en 2018 et leur composition

	<b>Pediaven NN1®</b>	<b>Pediaven NN2®</b>	<b>NP 100 Prématuré AP-HP®</b>	<b>Pediaven S/OE®</b>	<b>Numetah G13% E®</b>
<b>Pour 100 ml</b>					
AA (g)	1,5	1,7	2	2	3,1
Glucides (g)	10	10	15	15	13,3
Lipides (g)	-	-	-	-	2,5
Energie totale (g)	46	47,2	68	68	91
K <sup>+</sup> (mmol)	-	1,7	2	2	2,1
Na <sup>+</sup> (mmol)	0,5	2	2	2	2,2
Ca <sup>2+</sup> (mmol)	0,9	0,8	0,9	0,9	1,3
Phosphate (mmol)	-	0,9	1,1	1,1	1,3
Mg <sup>2+</sup> (mmol)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Vitamines	-	-	-	-	-
OE	+	+	-	-	-
Type de solution	Binaire	Binaire	Binaire	Binaire	Ternaire

Ces mélanges avec AMM présentent l'avantage d'une sécurité bactérienne et physico-chimique optimale en l'absence de supplémentation dans la poche. Or, ces supplémentations sont nécessaires chez la plupart des patients. De plus, ces poches ne sont pas flexibles en cas de modifications des recommandations internationales sur les apports ; une industrie met environ 10 ans avant d'obtenir une AMM. Elles peuvent également présenter un risque lors de l'utilisation car les nutriments sont séparés dans 2 ou 3 compartiments qu'il faut mélanger extemporanément avant d'administrer la NP. Si cette étape est oubliée, l'enfant manquera d'un nutriment essentiel à sa croissance.

#### 1.3.2.2 Les mélanges « à la carte » ou individualisés

Lorsque la prescription est individualisée, on parle de nutrition « à la carte » (NPI) car elle répond aux besoins nutritionnels spécifiques d'un enfant. C'est une préparation magistrale qui est réalisée en raison de « l'absence de spécialité pharmaceutique disponible ou adaptée disposant d'une autorisation de mise de le marché » (37). Selon la définition des préparations magistrales, les NPI sont des médicaments préparés de manière extemporanée selon une prescription médicale destinée à un malade déterminé. Elles sont fabriquées quotidiennement en respectant les Bonnes Pratiques de Préparation (BPP) (38) par les unités de reconstitution centralisée (URC) des pharmacies à usage intérieur (PUI) des établissements de santé ou par des façonniers en sous-traitance des PUI. Le délai entre la prescription et l'administration varie de quelques heures à trois jours pour les week-ends (36).

Elles ont l'avantage de ne nécessiter aucune supplémentation mais sont soumises au risque d'erreurs ou d'oublis au cours des différentes étapes du processus (prescription, fabrication, administration). Elles présentent également une moindre sécurité microbiologique et une durée de conservation courte.

#### 1.3.2.3 Les mélanges standardisés

La standardisation de la NP a été envisagée comme alternative aux mélanges « à la carte » dans le but d'homogénéiser et de simplifier la prise en charge nutritionnelle des prématurés au vu du nombre de spécialités disposant d'une AMM dans cette indication ; et de diminuer le risque infectieux inhérent à cette prise en charge par

rapport aux NPI. Les mélanges standards de NP (NPS) sont destinés à être administrés à des enfants pour lesquels une NPI n'est pas nécessaire ou disponible à un moment donné et où une poche avec AMM ne couvrent pas les besoins nutritionnels.

Ce sont des préparations hospitalières qui sont fabriquées par les URC des PUI selon les BPP (38) en raison de l'absence d'une spécialité avec AMM satisfaisante (37). Les formules sont définies en fonction des pratiques courantes de NPI et en accord avec les recommandations édictées par les sociétés savantes nationales et internationales pour répondre aux besoins nutritifs du plus grand nombre de prématurés ou d'enfants hospitalisés. Cependant leur composition varie d'un établissement à un autre car il n'existe pas de recommandations officielles pour les formules et chaque centre fait en fonction des pratiques habituelles.

Une étude de la littérature nous montre que plusieurs travaux se sont intéressés à la comparaison de l'efficacité clinique et de la tolérance biologique de ces mélanges standardisés par rapport aux mélanges industriels ou aux NPI. Une étude française de 2015 montre que les NPS de deux centres hospitaliers sont plus proches des recommandations d'apports hydro-électrolytique et protéino-énergétique que les poches avec AMM (39). Plusieurs études ont comparé les NPS aux NPI. Même si les plus anciennes prônent la NPI (40–42) ; une majorité prouvent que la NPI n'apporte pas d'avantages cliniques ou biologiques (43) voire mettent en évidence une supériorité de la NPS (44–46). Ces études concluent que la majorité des enfants peuvent être pris en charge par une NPS.

La révision des recommandations européennes, parue en juin 2018, consacre un volet entier à la standardisation. Dans ce chapitre, l'ESPGHAN préconise l'utilisation des mélanges de NPS pour la majorité des nouveau-nés à terme ou prématurés, y compris les VLBW. La NPI doit être utilisée uniquement dans le cas où les besoins nutritionnels de l'enfant ne peuvent pas être couverts par une NPS ; c'est-à-dire pour des patients très malades et/ou métaboliquement instables (47).

Ce type de poche permet d'harmoniser les pratiques et de diminuer les risques d'erreurs et d'oublis. Un changement de formulation est plus rapide que pour une poche avec AMM mais elles nécessitent toutefois une supplémentation pour certains patients. La sécurité bactérienne est augmentée par rapport au NPI si les poches sont

administrées après obtention d'un contrôle libératoire microbiologique conforme. Des études de stabilité réalisées sur les mélanges de NPS permettent de déterminer une durée de conservation plus longue que pour les NPI.

### 1.3.3 Choix du type de mélange nutritionnel

Le choix du type de NP se fait en premier lieu avec l'état clinique du patient puis en fonction des mélanges disponibles dans l'établissement. Le délai pour obtenir la NP est également à prendre en compte dans la décision.

Les spécialités industrielles avec AMM sont à privilégier compte tenu de leur niveau de sécurité (stabilités physico-chimique et microbiologique).

Si les besoins nutritionnels de certains patients ne peuvent pas être couverts par ce type de NP, les NPS doivent alors être la seconde intention de prise en charge.

Dans les deux premiers cas, si une supplémentation directement dans la poche est nécessaire, elle doit être réalisée par la PUI et non pas par les unités de soins pour diminuer le risque infectieux. Les préparations acquièrent alors le statut de préparation magistrale. Les NPS peuvent uniquement être supplémentées en vitamines et en OE (Annexe 1).

Enfin, dans des situations nécessitant des apports spécifiques (retrait d'un élément d'une poche ou situation pathologique instable) la NPI est alors le dernier recours à utiliser.

## 1.4 La standardisation

### 1.4.1 Situation en France

#### 1.4.1.1 Le rapport IGAS

À la suite des décès de trois nourrissons sous NPP au Centre Hospitalier de Chambéry en 2013, le ministère des affaires sociales et de la santé a demandé à l'IGAS de mener une mission sur la NPP. Cette enquête a été réalisée en 2014 et a recueilli les pratiques de 188 établissements de santé en France publics et privés.

Le rapport « Evaluation des pratiques en matière de nutrition parentérale pédiatrique » rédigé à la suite de cette enquête met en lumière les risques liés à la NPP (36). Au terme de l'analyse de pratiques professionnelles, la mission de l'IGAS a émis 41 recommandations pour l'amélioration de la qualité et de la sécurité de la prise en charge nutritionnelle des enfants. Ces recommandations sont classées en quatre grands axes :

- L'harmonisation et la hiérarchisation des prescriptions de NP
- L'amélioration de la qualité des processus de prescriptions et d'administration
- L'amélioration de la maîtrise des risques au cours de la préparation des NP
- La réorganisation de l'offre territoriale en matière de préparation de NP

Dans son rapport, l'IGAS recommande d'avoir recours aux poches de NPS lorsque les poches avec AMM ne répondent pas aux besoins de l'enfant. En revanche, il préconise également d'établir un nombre limité de ce type de formules qui doivent être validées et inscrites au formulaire national de la pharmacopée française et dont la réflexion doit se faire sous l'égide de la HAS.

Ce rapport donne également la répartition des différents types de prescriptions de NP. Seuls 22% des prescriptions de NPP correspondent aux poches avec AMM. Ce chiffre tombe à 18 % pour les maternités de type III (36). Plus de la moitié (53 %) de l'ensemble des NPP sont des NPI avec une prédominance pour les services soignant des prématurés ; ce pourcentage augmente jusqu'à 57 % pour les maternités de grade III. Les NPS représentaient quant à elles 20 % des prescriptions de NPP en 2013 en France. Ces chiffres augmentent légèrement pour les services de néonatalogie, soins intensifs et réanimation pédiatrique (23 %) pour atteindre 25 % dans les maternités de grade III. En revanche, le taux de prescription reste stable quel que soit l'âge gestationnel du prématuré. (36)

#### 1.4.1.2 Les recommandations de la HAS

En juin 2018 pour répondre à la demande du rapport de l'IGAS, la HAS a élaboré des recommandations de bonnes pratiques sur la nutrition parentérale en néonatalogie. Ces recommandations ont pour objectifs principaux de définir des critères d'orientation

sur le choix de NP à prescrire en fonction de l'état de santé de l'enfant ; de recours à la NPI et de proposer un nombre limité de formules de NPS.

Dans ces recommandations, la HAS valide l'initiation précoce de la NP ainsi que le bénéfice de commencer la supplémentation en protéines et en lipides dans les 6 heures après la naissance.

Une partie de ce texte revient sur les différentes formulations industrielles disponibles sur le marché français en comparant leurs apports aux apports théoriques recommandés par l'ESPGHAN en 2005. Il en ressort que toutes les poches doivent être supplémentées en macro- et micronutriments. Toutes les formulations nécessitent l'ajout de vitamines et de protéines et lorsqu'elles sont binaires, l'ajout de lipides. Ensuite, en fonction de la phase post-natale les poches doivent être supplémentées en glucides, en  $\text{Ca}^{2+}$  ou encore en OE (32).

La HAS préconise l'utilisation des NPS versus poches avec AMM pour les prématurés stables car elles permettent de répondre aux apports en macro- et micronutriments recommandés par l'ESPGHAN tout en ayant un coût plus faible.

Elle préconise également les NPS versus NPI car les NPS permettent, pour le prématuré stable, une augmentation des apports énergétiques, protéique et phosphocalcique tout en diminuant la perte de poids et en s'écartant au minimum des recommandations européennes. En revanche, la NPI reste la solution prioritaire pour les prématurés instables et les extrêmes prématurés (< 26 SA).

Ces recommandations mettent également l'accent sur le risque infectieux lié à la NP. Les poches avec AMM sont les moins à risque et sont donc à privilégier en première intention ; viennent ensuite les NPS puis les NPI. La supplémentation est fortement déconseillée car elle engendre un risque septique élevé, majoré lorsqu'elle est faite directement dans la poche (Figure 2).

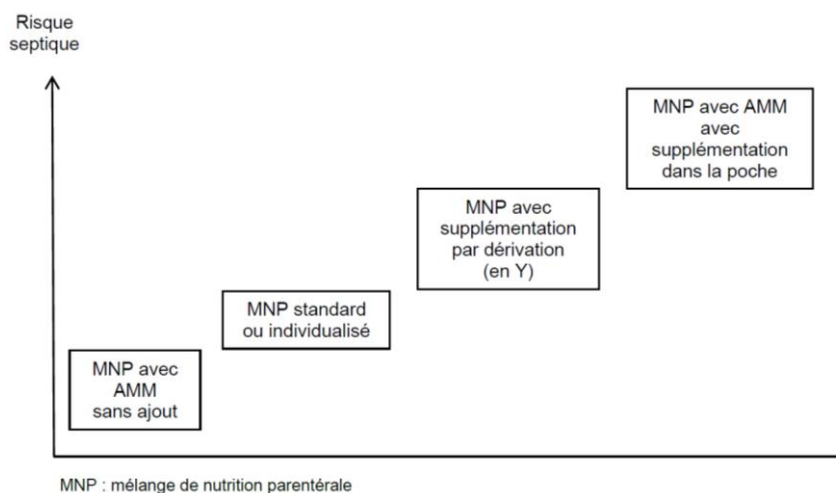


Figure 2 : risque septique des différents mélanges de nutriments parentéraux et leur supplémentation tiré de (32)

Dans ce texte, la HAS établit 12 formules standard (Annexe 2) classées en fonction de la phase de croissance et des pathologies des nouveau-nés qui devront être inscrites au formulaire national de la pharmacopée française après la réalisation de l'étude de stabilité.

#### 1.4.2 Situation à l'étranger

Si la France a tardé à émettre des recommandations sur la standardisation des NPP (juillet 2018), d'autres pays ont envisagé cette solution il y a quelques années. En effet, l'ASPEN a émis ses recommandations concernant la standardisation depuis 2007. La société savante allemande préconise la standardisation depuis 2009 et les recommandations australiennes, néo-zélandaises et anglaises datent de 2014. L'ESPGHAN a, quant à elle, publiée en juin 2018 ses propres recommandations.

Cependant, la démarche de standardisation a commencé avant la sortie des différents textes. Une étude menée par la pharmacie des Hôpitaux Universitaires de Genève en 2010 (48) montre qu'un tiers des 51 hôpitaux européens interrogés disposent déjà de NPS pour la néonatalogie même si la majorité de ces poches devaient être supplémentées. Les hôpitaux interrogés concernaient l'Espagne, la Belgique, l'Angleterre, l'Allemagne, la Suisse et la France.

## 1.4.3 Situation au CHU de Bordeaux

## 1.4.3.1 Le circuit des NP

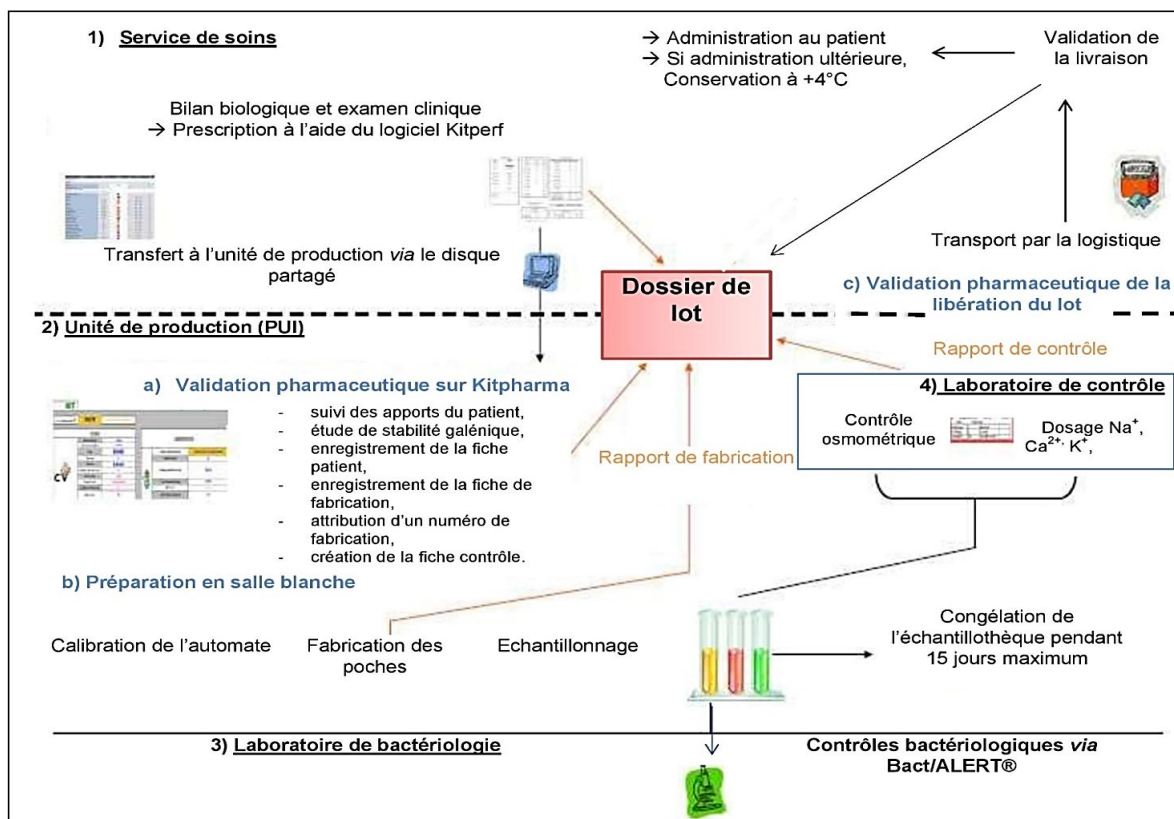


Figure 3 : circuit des nutriments parentéraux au CHU de Bordeaux

Au CHU de Bordeaux jusqu'en 2015, l'unité de production de la PUI assurait la préparation d'environ 8 000 NPI dont 86 % de NP ternaires par an. Activité exclusivement à destination de la pédiatrie (gastro-entérologie, cardiologie, réanimation) et de néonatalogie (réanimation et soins intensifs), elle a diminué avec la sortie du rapport de l'IGAS. En effet, les pédiatres du CHU ont réalisé un travail d'harmonisation des pratiques entre les différents services prescripteurs de NPP pour limiter la NPI et privilégier les mélanges de NP avec AMM mis à leur disposition (Pediaven® NN1 et NN2, Numetah G13 % E). En 2017, les NPI représentent 6 500 préparations. Cette mise à disposition a permis une diminution de 20 % de la production de NPI alors que les naissances ont augmenté de 1,7 % entre 2015 et 2017 au CHU.

La production des poches de NPI, en circuit fermé automatisé, est assurée 5 jours sur 7. Les prescriptions sont fabriquées le jour même à l'exception de la production



anticipée qui concerne les NPI du vendredi (prescrites et préparées le jeudi) et du week-end (prescrites et préparées le vendredi). Il n'y a pas d'astreinte pharmaceutique sur cette activité la nuit et le week-end ; aucune préparation n'est donc réalisée en dehors des horaires d'ouverture de l'URC. Les mélanges industriels Pediaven® et Numetah® sont proposés en alternative à la production d'une NPI sur les périodes de fermeture.

Les données de la prescription, informatisée grâce au logiciel Kitperf, sont retranscrites dans le logiciel Kitpharma qui permet une validation pharmaceutique clinique et physico-chimique. Ce dernier est interfacé avec l'automate de fabrication. Kitperf et Kitpharma sont deux progiciels « maison » et ne font donc pas partie des logiciels d'aide à la prescription certifiés par la HAS.

L'étape de fabrication a été paramétrée pour que les éléments soient ajoutés dans l'ordre le plus favorable à la stabilité du mélange. L'étape de contrôle comprend :

- Un contrôle gravimétrique de chaque poche (tolérance de 5 %).
- Un contrôle analytique avec dosage des électrolytes ( $\text{Na}^+$  et  $\text{K}^+$ ) et sels minéraux ( $\text{Ca}^{2+}$ , P,  $\text{Mg}^{2+}$ ) ainsi que la mesure de l'osmolalité sont réalisés au laboratoire de contrôle de la PUI sur chaque poche produite (tolérance 10 %).
- Un contrôle microbiologique statistique correspondant à 10 % de la production journalière est effectué via la méthode BacT/Alert® (49) sur des poches « contrôle » réalisées à différents temps de la production puis analysé au laboratoire de bactériologie du CHU de Bordeaux ; les résultats sont connus *a posteriori* de l'administration chez les patients.
- Un échantillon de toutes les poches fabriquées est congelé à  $-20^\circ\text{C}$  et conservé dans l'échantillothèque pendant 15 jours.

Après réconciliation du dossier de lot et validation pharmaceutique, le transport est assuré jusqu'au service prescripteur par l'unité de logistique du CHU dans des glacières dédiées à chaque service.

#### 1.4.3.2 Le projet de standardisation

A la suite du rapport de l'IGAS, une instruction de la DGOS relative à la gestion des risques liée à l'activité de NPP est parue le 20 mars 2015 (50). Elle impose notamment

que la préparation des poches à l'hôpital soit sous responsabilité pharmaceutique et rappelle que cette activité nécessite une organisation hautement spécialisée. Cette instruction recommande de mener des évaluations des pratiques professionnelles (EPP) sur les thèmes prioritaires du rapport.

C'est dans ce contexte qu'une EPP a été réalisée au sein de l'URC du CHU de Bordeaux sous la forme d'une AMDEC qui portait sur l'étude du processus de production des NPP. Menée de mai 2015 à janvier 2016, l'étude a classé le processus de production en 9 grandes étapes pour lesquelles ont été mis en évidence des modes de défaillances. Les modes de défaillance ont été reliés à des causes de défaillances et hiérarchisés en fonction de leur degré de criticité. L'étude démontre que le facteur humain est la principale cause de défaillance (51,3 %) et que l'étape de validation pharmaceutique est celle comportant le plus grand nombre de modes de défaillances (51).

Afin de se mettre en conformité avec les recommandations de l'IGAS et de diminuer les risques liés à l'étape de validation pharmaceutique, un projet de standardisation des NPP à destination des prématurés a débuté en 2017. Ce projet réunissait l'URC et les cliniciens des services prenant en charge des prématurés (réanimation pédiatrique, réanimation et soins intensifs de néonatalogie) (52). En effet, les cliniciens ont pointé les lacunes des poches avec AMM pour la prise en charge des prématurés de moins de 1,5 kg (VLBW et ELBW) et la nécessité de mettre en place des formules standard pour cette population.

Lors de l'élaboration du projet, il a été décidé de réaliser des formules avec et sans lipides pour permettre la prise en charge de la majorité des enfants prématurés. Deux solutions sont disponibles pour réaliser l'apport des lipides. L'une d'elles consiste à séparer les lipides de la formulation binaire soit en produisant une seringue de lipide à part, soit en réalisant la préparation dans une poche bi-compartmentée. La deuxième solution est de fabriquer des poches mono-compartmentées.

Contrairement au système de poche binaire avec seringue de lipides en dérivation, les poches de NP ternaires (mono- ou bi-compartmentées) sont considérées comme des systèmes tout-en-un ou 3-en-1 retrouvés sous le terme de « all-in-one » (AIO) dans la littérature (53,54). Les poches bi-compartmentées présentent le même risque d'erreur que les poches avec AMM, c'est-à-dire l'oubli de mélange des différents nutriments

avant administration. Si de nombreux centres ont mis en place des formules standard ternaires, peu ont choisi le modèle 3-en-1 en poche mono-compartmentée en raison du contact direct de l'ELI avec les autres composants de la NP. En effet, l'ELI est considérée comme le point critique de la stabilité des NP ternaires.

Cependant ces AIO facilitent et sécurisent l'administration notamment au niveau du risque infectieux en diminuant le nombre de manipulations lors de la pose (53,55) et sont bien tolérés chez les enfants (56). Des études ont démontré que le reconditionnement d'ELI en seringue réalisé par un automate présentait un risque de contamination bactérienne, même lorsqu'il était réalisé dans les meilleures conditions (circuit fermé et zone d'atmosphère contrôlée classe A/ISO 5) (32,57). De plus, même si les seringues 3 pièces (corps de la seringue, piston et joint de piston) sont constituées de matériaux plastiques relativement inertes (polypropylène, polyéthylène...), les industriels ajoutent de l'huile de silicone comme lubrifiant pour permettre une utilisation plus confortable. Il existe donc un risque d'interaction contenant-contenu et de relargage de ce silicone dans l'ELI (58,59).

### 1.5 Stabilité des mélanges de nutrition parentérale

Il existe deux types de stabilité : la stabilité chimique et la stabilité physique ou galénique. La température, le pH, la présence d'oxygène, la lumière et le conditionnement font partie des principaux facteurs pouvant influencer la stabilité d'une préparation.

En NP, la complexité des mélanges expose à un risque élevé d'incompatibilités et des difficultés à obtenir une stabilité à long terme. Ces difficultés sont dues à la possibilité de dégradations ou d'interactions des nombreux éléments entrant dans la composition d'une NP.

Cette stabilité se complique davantage lorsque l'ajout de composants externes à la NP est nécessaire. C'est pourquoi les ajouts de médicament directement dans la poche sont à limiter au maximum et ne sont pas permis sans une étude de stabilité préalable ; d'autant plus qu'ils engendrent un risque de contamination microbiologique élevé (60–62).

### 1.5.1 La stabilité chimique

La stabilité chimique des différents composants des mélanges de NP a été plusieurs fois étudiée. Elle est liée à la dégradation irréversible de plus de 10 % de la concentration par rapport à la valeur initiale (63,64) et est due aux réactions entre les différents constituants d'une NP (hydrolyse, oxydation, réduction...). Ces réactions chimiques sont affectées par les conditions environnementales.

Les vitamines sont les composants de NP les plus instables chimiquement (65,66) car elles se dégradent rapidement durant le stockage (66,67) sous l'influence de la lumière (A, E, K, B2 et B6) (68) et de l'oxygène (C) (69,70). Pour augmenter leur stabilité, il est recommandé d'ajouter les vitamines à l'ELI (71). Si les OE ne sont pas sujets aux dégradations chimiques ; ils sont les catalyseurs certaines réactions de dégradation des vitamines (66,70) et favorisent la peroxydation lipidique (72).

Les électrolytes et les sels minéraux sont très stables chimiquement mais ils interviennent dans la stabilité galénique des NP, en particulier le  $\text{Ca}^{2+}$  et le P (63).

Le glucose peut être dégradé selon la réaction de Maillard ; réaction chimique qui se fait entre le sucre et les AA. Cette réaction est dépendante de la température et du temps. Bien connue dans le milieu agro-alimentaire, elle entraîne un jaunissement de la solution de NP (visible uniquement sur les poches binaires) (63,73) mais dont les effets physiologiques ne sont pas encore connus même si les produits formés pourraient avoir un rôle antioxydant (74). En plus de subir une dégradation via la réaction de Maillard, certains AA sont également sensibles à l'oxygène (75).

### 1.5.2 La stabilité physique

La complexité des mélanges de NP implique un risque d'incompatibilités entre les différents nutriments qui peut conduire à la formation de précipités ou si on parle de nutrition ternaire, à une déstabilisation de l'émulsion.

### 1.5.2.1 La formation de précipités

La précipitation phospho-calcique est la plus fréquente et la plus redoutée. C'est un phénomène bien connu en NP qui intervient pour des concentrations élevées en  $\text{Ca}^{2+}$  et en P. Les sels organiques de ces minéraux, un pH acide et une concentration élevée en AA et en glucose comptent parmi les facteurs qui permettent de diminuer le risque d'apparition du précipité (63,76–80). Dans les mélanges binaires, l'apparition de ce précipité est facilement détectable par des moyens optique ou électronique mais dans les mélanges ternaires sa détection devient très compliquée.

Il existe également un risque de précipitation des OE notamment avec les phosphates ou les AA, dépendant de leur concentration. Ce phénomène est rarement mis en évidence (63,66) et peu étudié pour le moment.

Pour contrer ce phénomène de précipitation, il est recommandé de filtrer les NP lors de l'administration grâce à un filtre 1,2-1,5  $\mu\text{m}$  pour les NP ternaires et 0,22  $\mu\text{m}$  pour les NP binaires ce qui permet d'arrêter les précipités même invisible à l'œil nu (81). Il existe toutefois un risque que le précipité se reforme en aval du filtre.

### 1.5.2.2 L'émulsion lipidique

La stabilité galénique d'une ELI, facteur déterminant pour la stabilité de la NP, est difficilement prévisible car cette dernière est thermodynamiquement instable. Les gouttelettes ont tendance à vouloir se rapprocher pour fusionner afin de diminuer leur énergie de surface. C'est pourquoi la lécithine d'œuf, émulsifiant, est ajoutée aux ELI pour accroître leur stabilité en conférant aux gouttelettes d'huile une charge de surface négative qui permet une répulsion électrostatique entre gouttelettes voisines.

Différents facteurs qui influent respectivement sur les charges en présence dans le mélange et sur le degré d'ionisation de la solution, sont à prendre en compte pour la stabilité galénique d'une ELI (15,82–85). Cette stabilité est basée sur trois grandes caractéristiques que seule la pharmacopée américaine USP spécifie dans son chapitre <729> de (83,86) :

- Un pH neutre ou légèrement basique de la phase aqueuse (pH compris entre 6 et 9)

- Un diamètre moyen des globules huileux faible ( $\leq 500$  nm) ne devant jamais dépasser les  $5 \mu\text{m}$  avec un pourcentage de globules lipidiques ayant un diamètre moyen supérieur à  $5 \mu\text{m}$  (PTAF5)  $\leq 0,05\%$
- Un potentiel zêta de l'ordre de  $-40$  mV ; il représente la répulsion électrostatique entre les globules

Les électrolytes ainsi que les sels minéraux ont un effet néfaste sur la stabilité des ELI. En effet, les interactions entre l'ELI et les ions varient selon la charge et la quantité en présence. Le Critical Agregation Number (CAN) (84,86) calculé comme ci-après :

$$\text{CAN} = a + 64 b + 729 c$$

où a, b et c représentent respectivement les concentrations milli-molaires des cations mono-, di- et trivalents, quantifie la valeur limite fixée à  $200$  mmol/l au-delà de laquelle le risque d'instabilité devient important. Ce sont les ions  $\text{Ca}^{2+}$  et  $\text{Mg}^{2+}$  qui sont les plus grands pourvoyeurs de déstabilisation.

Le glucose joue aussi un rôle déstabilisateur par neutralisation du potentiel zêta en acidifiant le pH ; les solutés de glucose ayant un pH avoisinant 5. Le facteur de dilution est aussi à prendre en compte puisqu'une trop grande dilution entraîne une diminution de la répulsion électrostatique et expose les globules à une action accrue des cations. A l'inverse, les solutions d'AA présentent un pH neutre et jouent donc un rôle de tampon, stabilisateur de l'émulsion. Ils exercent également un rôle protecteur de l'ELI en contrant les cations par encombrement stérique (85). Ce sont les proportions respectives de l'ELI, de cations, de glucose et d'acides aminés qui conditionnent la stabilité d'un mélange ternaire.

L'instabilité physique de l'ELI se manifeste de plusieurs manières. La séparation des phases aqueuse et huileuse est le phénomène le visible. Lorsqu'une couche blanche opaque apparaît à la surface de l'émulsion, on parle de crémage. Les globules sont alors remontés à la surface mais peuvent être remis en suspension par simple retournement (85). Lorsqu'ils ne peuvent plus être remis en suspension, le phénomène de coalescence signant la rupture de l'ELI (82) s'est mis en place.

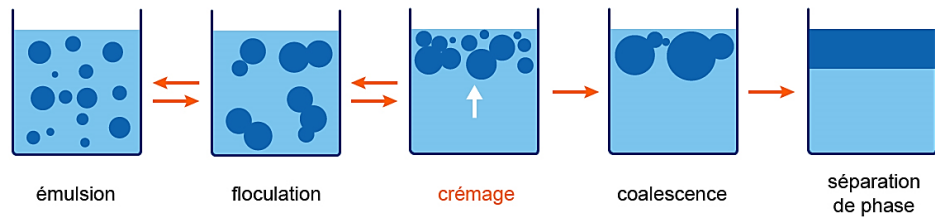


Figure 4 : déstabilisation d'une émulsion lipidique de type huile dans eau

Cependant, toutes les déstabilisations ne sont pas visibles à l'œil nu et l'absence de ces phénomènes ne signent pas obligatoirement la stabilité de l'émulsion. Pour s'assurer de la stabilité d'une ELI il faut conduire une analyse granulométrique.

L'utilisation d'ELI contenant un mélange de MCT et de LCT permet une meilleure stabilité de l'émulsion dans les systèmes AIO (87,88).

### 1.5.3 La stérilité

La stérilité est un point essentiel de la stabilité des NP. Elle est assurée par le respect d'un ensemble de conditions et de paramètres allant de la qualification des installations et des équipements à la qualité des matières premières et des articles de conditionnement ainsi qu'à la validation des procédés de préparation et à la formation du personnel.

## 2 Objectifs du travail, matériels et méthodes

### 2.1 Objectifs du travail

Ce travail a pour but de déterminer la stabilité des formules de NPS définies par les pédiatres prenant en charge des nouveau-nés prématurés afin de fixer la date limite d'utilisation des poches en accord avec les résultats physico-chimiques et microbiologiques.

### 2.2 Matériels

#### 2.2.1 Formules des mélanges étudiés

Les formules des mélanges de NPS ont été développées conjointement entre les pédiatres des services de néonatalogie et la pharmacie en suivant les recommandations internationales édictées par l'ESPGHAN en 2005. Après plusieurs réunions, il a été convenu en janvier 2018 de quatre formules standard : deux binaires et deux ternaires.

La formule binaire « Concentrée » est destinée aux prématurés pour J0 et J4 et plus et la formule « Standard » aux prématurés de J1 à J3. La formule « Intermédiaire » est destinée aux premiers jours de vie alors que la formule « Croisière » prend le relais en phase de croissance.

Les apports des formules pour 100 ml sont résumés dans le tableau suivant. Les poches ont un volume total de 230 ml pour les binaires et de 330 ml pour les ternaires avec un volume de purge de 30 ml dans les deux cas.



Tableau 11 : formulation des mélanges de NPS étudiés

	<b>Standard</b>	<b>Concentrée</b>	<b>Intermédiaire</b>	<b>Croisière</b>
Age	J1 à J3	J0 et J4 et plus	Premiers jours	Phase de croissance
Eau (ml)	100	100	100	100
Protides (g)	2,2	3	2,8	2,5
Glucides (g)	7,3	10	9	10
Lipides (g)	-	-	1,5	2
Na <sup>+</sup> (mmol)	2,9	3,2	2	2,6
K <sup>+</sup> (mmol)	2,2	3	1,5	1,4
Ca <sup>2+</sup> (mg)	60	70	50	48
P (mg)	45	45	40,3	40
Mg <sup>2+</sup> (mg)	5	6	4,6	4,4
Ca <sup>2+</sup> :P	1,3	1,6	1,2	1,2
OE	Oui	Oui	Oui	Oui
Vitamines (ml)	1	1	1	1
Zinc (ml)	0,2	0,2	0,2	0,2
Carnitine (ml)	0,1	0,1	0,1	0,1
Cal	38	52	60,5	68
CAN (mmol/l)	66	84	49,5	54
Type	Binaire	Binaire	Ternaire	Ternaire

Les formules correspondent de manière générale à certaines formules proposées par la HAS.

### 2.2.2 Choix de la présentation des NPS

Les poches bi-compartmentées n'étant pas disponibles au marché du CHU de Bordeaux et nécessitant une double connexion de la poche à l'automate de fabrication, cette option a été éliminée.

En plus des raisons de sécurité microbiologique, l'option « seringue de lipides » n'a pas été retenue car la pharmacie voulait minimiser les changements au niveau du processus de fabrication des NP et n'avait pas les moyens humains nécessaires pour réaliser un nouveau type de production.

Malgré les risques d'instabilité, le choix s'est donc porté sur les poches mono-compartimentées pour la simplicité de production, d'utilisation et la diminution du risque microbiologique (32,56).

Après discussion avec les pédiatres et dans l'objectif d'éviter les suppléments dans la poche ou les branchements en dérivation, il a été décidé de mettre les vitamines et les OE directement dans la poche de NPS.

### 2.2.3 Fabrication

L'unité de production de NP se compose d'une Zone à Atmosphère Contrôlée (ZAC) de classe B, équipée d'une hotte à flux d'air laminaire horizontale et d'un Poste de Sécurité Microbiologique (PSM) de type IIb permettant l'obtention d'une classe A. Un sas d'habillage classé C est attenant à la ZAC. L'unité est complétée par une zone administrative où se trouvent les bureaux de validation et la zone de décontamination des produits.

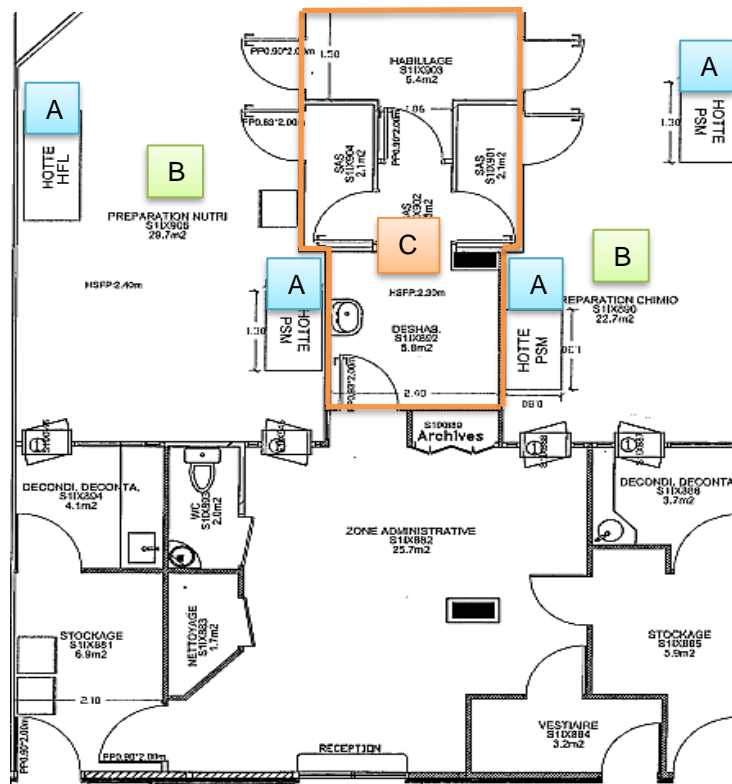


Figure 5 : plan de l'unité de reconstitution centralisée

La fabrication des NP dans le respect des BPP (38) est automatisée grâce à l'automate BAXA® Exacta-Mix 2400 qui est placé dans une hotte à flux d'air laminaire horizontale (HFL sur la Figure 5). Le montage de l'automate est réalisé quotidiennement pour relier les flacons de solutés par des tubulures de différents diamètres au corps de l'automate : une pompe péristaltique, qui assure le remplissage des poches en prélevant le volume nécessaire conformément à la formule de NPS. Chaque poche fabriquée subit un contrôle gravimétrique grâce à la balance de précision couplée à l'automate. Le contrôle est conforme lorsque la pesée après ajout d'un soluté et celle de la poche finale ne diffèrent pas de plus de 5% de la masse théorique.



Figure 6 : montage de l'automate BAXA EM2400 ® prêt pour la production

Les matières premières utilisées pour fabriquer les NPS de l'étude sont les mêmes que celles qui permettent la fabrication des NPI en routine. Une seule référence par type de solutés est disponible pour les mélanges de NPP :

- Eau pour préparation injectable (EPPI) (B.Braun), solution pour perfusion
- Vaminolact® (Fresenius Kabi)
- Glucose 30 % (B.Braun)
- Chlorure de sodium 20 % (AP-HP)
- Chlorure de potassium 10 % (AP-HP)
- Sulfate de magnésium 10 % (AP-HP)

- Gluconate de calcium 10 % (AP-HP)
- Phocytan® 0,33 mmol/ml (Aguettant)
- Smoflipid® 200 mg/ml, émulsion pour perfusion (Fresenius Kabi) (huile de soja raffinée, triglycérides à chaîne moyenne, huile d'olive raffinée, huile de poisson riche en oméga 3)
- Cernevit® (Baxter)
- Junimin® (Aguettant)
- Zinc injectable 1 mg/ml (Aguettant)
- Lévocarnil® 1 g/5 ml (Alfasigma)

Les NPS sont conditionnées dans des poches monocouches d'Éthylène Vinyl Acétate (EVA) Baxter emballées dans un champ stérile. Le suremballage se fait hors du flux laminaire, en classe B, dans des sachets stériles. Pour l'étude, elles ont été placées dans des sachets anti-UV décontaminés par une solution biocide et suremballées dans un sachet plastique.

## 2.3 Méthodes

### 2.3.1 Méthodologie des études de stabilité des préparations hospitalières

L'International Conference of Harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use (ICH) a édicté des règles internationales pour la conduite d'études de stabilité sur principe actif. Ces règles datant de 2003 ont été adaptées dans les différentes législations mondiales mais étaient destinées aux études de stabilité réalisées par les industriels. Elles représentaient une base méthodologique essentielle pour le développement d'un médicament mais nécessitaient d'être adaptées à la pratique hospitalière.

Le guide méthodologique des études de stabilité des préparations (64), rédigé en 2013 par la Société Française de Pharmacie Clinique (SFPC) et le Groupe d'Evaluation et de Recherche sur la Protection en Atmosphère Contrôlée (GERPAC), constitue un outil méthodologique pour la réalisation d'études de stabilité de préparation hospitalière. Il fixe la variation maximale autorisée à  $\pm 10\%$  de la valeur initiale à J0.

L'étude de stabilité présentée dans ce travail s'est basée sur ce guide méthodologique pour interpréter les résultats obtenus.

## 2.3.2 Organisation de l'étude

### 2.3.2.1 Schéma

L'étude de stabilité a débuté en février 2018 et a été conduite sur 56 jours pour chaque campagne de production ; soit deux mois et demi au total. Les points de prélèvement ont été définis à J0, J3, J7, J14, J21, J28 et J56 (Annexe 4).

Pour chacun des jours d'analyses, les dosages ont été réalisés à deux temps. Le temps « t » correspondait au jour du prélèvement de l'échantillon, après sa sortie du réfrigérateur à 4°C et le temps « t+24h ambient » (abrégé en t+24) pour lequel le prélèvement était laissé 24 heures à température ambiante (23-28°C) sans être mis à l'abri de la lumière. Ce temps « t+24h ambient » permettait de mimer l'état du mélange de NPS à la fin de l'administration au patient en conditions réelles des services de soins.

### 2.3.2.2 Production des poches de NPS

Dans la partie sur le nombre d'essais, le guide méthodologique recommande d'effectuer l'étude de stabilité sur un lot unique de fabrication pour ne pas apporter de variabilité liée à la fabrication elle-même. Chaque lot devrait comprendre un minimum de trois unités et il est préférable de fabriquer une unité pour chaque temps de prélèvement. Cependant, s'il n'est pas possible de sacrifier une unité pour chaque temps il est alors autorisé de se limiter à une unité pour tous les temps. Dès lors, il faudra réduire au maximum le volume prélevé et réaliser l'essai trois fois sur des préparations de lots différents.

C'est cette deuxième option qui a été retenue pour réaliser l'étude de stabilité des 4 formules de NPS car l'option avec les poches sacrificielles pour chaque temps nécessitait la fabrication de 168 poches de NPS (42 poches par formules). Ce surplus d'activité ne pouvait pas être absorbé par l'URC.

Soixante poches ont donc été fabriquées pour la totalité de l'étude. Les quatre formules de mélange de NPS ont été produites en série lors de trois campagnes de production réparties sur trois semaines (planning en Annexe 4).

Une campagne se déroulait sur 2 jours ; la première journée regroupait la majeure partie de la production. Toutes les formules de NPS étaient fabriquées en quatre exemplaires. Trois poches de chaque formule (n = 3) ont été analysées à tous les temps de l'étude et la quatrième, analysée à J0 et à J56, a servi de témoin pour l'étude de stérilité.

La présence de lipides masquant l'apparition d'un précipité dans les poches de mélanges ternaires, des poches binaires spéciales ont été fabriquées. Ces poches binaires, appelées « intermédiaire sans lipide » et « croisière sans lipide », reprenaient la composition des formules « intermédiaire » et « croisière » sans l'apport lipidique. Ce dernier était compensé par une augmentation du volume d'eau pour respecter la concentration des différents composants. Elles ont été analysées à J0 et à J56 pour ne pas perturber la formation d'un éventuel précipité.

Ces poches sans lipides ont également été fabriquées à un exemplaire par formule lors du deuxième jour de chaque campagne de production pour l'étude de stabilité des AA et des vitamines.

Chaque série était donc composée de 20 poches de NPS et pour chaque formule, neuf poches ont été analysées sur l'ensemble de l'étude.

Tableau 12 : répartition de la production par type d'analyses

Jour de production	Lundi		Jeudi
<b>Formules</b>	Standard Concentrée Croisière Intermédiaire	Croisière sans lipide Intermédiaire sans lipide	Croisière sans lipide Intermédiaire sans lipide
<b>Nombre de poches pour chaque formule</b>	1, 2 et 3	4	1
<b>Utilisation</b>	Dosages	Stérilité	Biochimie : dosages vitamines et acides aminés

### 2.3.3 Aspect macroscopique

#### 2.3.3.1 Inspection visuelle : contamination particulaire visible

La pharmacopée européenne définit la contamination particulaire des préparations injectables et des préparations pour perfusion comme des particules étrangères, non dissoutes et mobiles autres que des bulles de gaz et qui se trouvent involontairement dans ces solutions.

L'essai a été adapté de la monographie 2.9.20. de la pharmacopée européenne 9.0 (89). Il est conforme lorsqu'aucune particule n'est visible en suspension. Le mirage sur fond blanc a été réalisé sous PSM IIb lors du prélèvement des échantillons.

L'essai a été réalisé à tous les jours d'analyse et sur toutes les poches. La comparaison à J0 des poches « intermédiaire sans lipide » et « croisière sans lipide » a permis de suivre l'apparition d'un macroprécipité phospho-calcique.

Le mirage a également permis la vérification macroscopique de la coloration et de l'aspect de l'émulsion lipidique.

#### 2.3.3.2 Crémage

Trois tubes de 5 ml pour chaque poche de mélanges ternaires ont été prélevés à J0. Les tubes ont été stockés à 4°C pendant la durée de l'étude sans être bougés pour permettre la surveillance de l'apparition d'un phénomène de crémage voire de coalescence. La couche surnageante de crème a été mesurée et le « pourcentage de crémage » calculé en rapportant cette mesure à la hauteur du mélange dans le tube (85).

L'analyse granulométrique du crémage a été réalisée sur les tubes de la série 3 en sacrifiant un tube par poche à J28 et à J56 (soit trois tubes par formules et par jour) et chaque phase a été analysée. A J56, le dernier tube a été analysé après avoir été remélangé.

## 2.3.4 Stabilité chimique

### 2.3.4.1 Dosage des électrolytes et sels minéraux

Les dosages des électrolytes  $\text{Na}^+$  et  $\text{K}^+$  ainsi que celles des sels minéraux  $\text{Ca}^{2+}$  et  $\text{Mg}^{2+}$  ont été réalisés à l'aide d'un spectromètre d'émission atomique par plasma micro-ondes (MP-AES) 4200 (Agilent Technologies, Santa Clara, Californie, Etats-Unis).

L'appareil muni d'une torche à plasma permet l'excitation des atomes à doser qui pour retrouver leur état stable (désexcité) émettent un rayonnement électromagnétique d'une longueur d'onde qui leur est caractéristique. Ce rayonnement est mesuré par le spectromètre et permet de quantifier les différents électrolytes et sels minéraux. Cette méthode permet la détection des éléments jusqu'au ppm.



Figure 7 : photographie du MP-AES 4200

Les échantillons ont été dilués au centième avec de l'EPPI avant d'être analysés. Une modification de  $\pm 10\%$  de la valeur de  $J_0$  a été considérée comme le signe d'une instabilité chimique.

Les mesures du  $\text{Ca}^{2+}$  ont également permis de surveiller l'apparition d'un microprécipité phospho-calcique ; une diminution de la concentration étant le signe d'une précipitation (86,90).



#### 2.3.4.2 Mesure du pH

La déstabilisation d'un mélange de NP peut être à l'origine des modifications du pH. Ces modifications, que ce soit une acidification ou une alcalinisation, peuvent à leur tour entraîner des réactions chimiques entre les différents composants des NP. On sait par exemple qu'une alcalinisation de la solution favorise la réaction de Maillard alors que l'ELI n'est stable que pour une gamme de pH allant de 6 à 9.

Les mesures ont été réalisées grâce à une microélectrode en verre (Fisherbrand, Fisher Scientific SAS, Illkirch Graffenstaden, France) reliée au pH-mètre FiveEasy® (Mettler-Toledo, Columbus, USA). L'appareil corrige les pH en fonction de la température fixée dans les paramètres d'analyse ; elle correspondait à la température de la pièce d'analyse. La microélectrode est étalonnée avec une solution de pH à 7 et les valeurs mesurées sont corrigées en fonction de la valeur lue pour l'étalon.

Les mesures ont été réalisées en triplicata sur la série 3.

#### 2.3.4.3 Mesure de l'osmolalité

L'osmolalité donne le nombre de milliosmoles pour 1 kg d'eau. Elle est le reflet de la composition qualitative et quantitative d'un mélange de NP, chacune des espèces du mélange apportant sa propre osmolalité. Le glucose est le nutriment qui possède la plus forte osmolalité. Son suivi permet donc de statuer sur la stabilité du glucose.

L'appareil utilisé pour la mesure est l'osmomètre cryoscopique Loeser TYP15® (Fisher Scientific SAS, Illkirch Graffenstaden, France). Il mesure l'abaissement du point cryoscopique de la solution à analyser. L'échantillon de 200 µl a préalablement été dilué au centième avec de l'EPPI.

C'est une méthode simple, rapide et fiable qui permet de mesurer l'osmolalité d'une solution et de suivre son évolution. Une variation de plus de 10 % signe une instabilité des mélanges.

#### 2.3.4.4 Dosage des vitamines

Six vitamines ont été suivies au cours de l'étude : A, E, C, B1, B2 et B6. Le laboratoire de biochimie du CHU de Bordeaux a accepté de participer à l'étude ; ce sont les techniciens de laboratoire qui ont réalisé les dosages à J0, J1, J3, J7, J28 et J56 sur les 3 séries. A chaque temps de l'étude, un prélèvement était amené et congelé pour être analysé lors des séries de dosage. Les méthodes utilisées pour la préparation des échantillons (Annexe 3) et pour le dosage sont les mêmes que celles utilisées sur les échantillons de sang humain. Pour vérifier la capacité de dosage des différentes vitamines dans les mélanges de NP, le pourcentage de détection a été calculé à J0 en comparant la valeur obtenue à la valeur théorique dans le mélange.

Les vitamines ont été dosées par chromatographie liquide haute performance (HPLC) couplée à un détecteur UV/visible pour les vitamines A, C et E et couplé à un fluoromètre pour la vitamine B1, B2 et B6. Après l'étape de déprotéinisation, seuls les échantillons utilisés pour le dosage de la vitamine B1 ont dû être dilués au 1/200<sup>ème</sup> avant analyse car la concentration faisait saturer le détecteur.

Il a été nécessaire d'analyser des mélanges binaires car la présence de lipides dans l'échantillon aurait pu engendrer un phénomène de colmatage des colonnes de chromatographie sur des appareils de routine. Il a été décidé d'analyser les poches binaires « intermédiaire sans lipide » et « croisière sans lipide ».

#### 2.3.4.5 Dosage des acides aminés

Dix-sept AA ont été suivis pendant l'étude de stabilité. Ils ont été dosés par le laboratoire de biochimie du CHU de Bordeaux par chromatographie échangeuse de cations. Parmi les AA entrant dans la composition du Vaminolact®, seuls la cystéine et l'acide aspartique n'ont pas été dosés. La cystéine n'a pas été suivie car dans le Vaminolact® elle est présente sous forme de couple cystéine/cystine (2 cystéines couplées par un pont disulfure) alors que la méthode de dosage est capable de détecter uniquement la cystéine sous forme libre. Toute rupture du pont disulfure par réduction aurait alors conduit à des variations fictives de la concentration en cystéine.

Le traitement des échantillons consistait en une déprotéinisation et une dilution au 1/50<sup>ème</sup>.

Chaque séquence de chromatographie durant 180 minutes, les dosages n'ont été réalisés que sur les séries 1 et 3 pour ne pas avoir plusieurs analyses à réaliser le même jour et saturer l'appareil. Les échantillons analysés à J0, J7, J28 et J56 ont été prélevés à partir des poches utilisées pour le dosage des vitamines pour la même raison ; les appareils de mesure étant ceux utilisés pour la routine, nous ne pouvions pas nous permettre de colmater une colonne.

## 2.3.5 Stabilité physique

### 2.3.5.1 Analyse granulométrique

L'analyse granulométrique permet d'étudier la stabilité de l'ELI ; seuls les mélanges ternaires ont été analysés. Deux appareils ont été utilisés pour ce suivi.

Le premier appareil est un granulomètre par diffraction laser Mastersizer 2000 (Malvern Instrument SA, Worcestershire, United Kingdom). La mesure par diffraction laser est réalisée par un faisceau laser qui passe à travers un échantillon de particules dispersées et dont l'intensité de la lumière diffusée est mesurée en fonction de l'angle de diffraction. Les grosses particules diffractent la lumière suivant de petits angles et les petites particules diffractent de faibles intensités en grands angles. Les intensités diffusées sont ensuite analysées pour calculer la taille des particules.

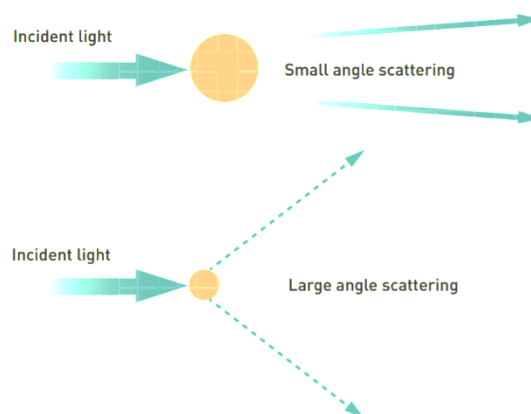


Figure 8 : schéma de la diffraction laser en fonction de la taille des particules rencontrées

Le Mastersizer 2000 permet d'obtenir des répartitions des particules allant de 0,2 à 2000  $\mu\text{m}$ . Il a servi à obtenir les pourcentages de globules lipidiques ayant un diamètre moyen supérieur à 1  $\mu\text{m}$  (PTAF1) et supérieur à 5  $\mu\text{m}$  (PTAF5) (82).

L'échantillon à analyser est injecté dans le module de dispersion en voie liquide de faible volume Hydro SM (Malvern) rempli d'eau ultrapure exempte de particules jusqu'à obtention d'une saturation correcte du détecteur. Le module était réglé entre 2000 et 2100 tours/minute.

Les mesures de chaque échantillon sont effectuées trois fois et la moyenne est créée grâce au logiciel d'acquisition des données.



Figure 9 : photographie du Mastersizer 2000 avec le module hydro SM

Le Mastersizer 2000 a également été utilisé pour obtenir les données granulométriques du Smoflipid® ainsi que du Numetah G13E® ; pour ces mesures un seul échantillon a été étudié.

En revanche la stabilité du diamètre moyen des globules lipidiques (DMG) a été étudiée avec le Zetasizer Nano ZS (Malvern Instrument SA, Worcestershire, United Kingdom) qui ne permet pas de mesurer une gamme aussi large de taille de particules mais qui est plus précis en dessous de 1  $\mu\text{m}$  (82).

Cet appareil fonctionne sur le principe de la diffusion dynamique de la lumière (DLS). Les particules de petite taille, qui effectuent des mouvements incessants et aléatoires (mouvement brownien), diffusent la lumière à une vitesse inversement proportionnelle

à leur taille : plus elles sont petites, plus elles diffusent rapidement. La vitesse du mouvement brownien étant liée à la température, son contrôle est essentiel pour obtenir des mesures précises. Pour mesurer la vitesse de diffusion, on observe l'émission de lumière produite par l'illumination des particules par un laser.

Les échantillons étaient dilués au 1/1000<sup>ème</sup> avec de l'eau ultrapure exempte de particules, avant d'être analysés en triplicata. La moyenne des trois mesures était réalisée grâce au logiciel d'acquisition des données Zetasizer Software™. Les données notées ont été la taille (DMG) moyenne ainsi que l'indice de polydispersité (pdi). Le pdi doit être inférieur à 0,2 pour signer une analyse correcte.

Les résultats ont été comparés aux normes données par la pharmacopée américaine USP <729> : DMG < 500 µm et PTAF5 < 0,05 %.

#### 2.3.5.2 Potentiel zêta

Le potentiel zêta ou charge des particules est mesuré sur des échantillons préalablement dilués au 1/1000<sup>ème</sup> avec de l'eau ultrapure exempte de particule grâce au Zetasizer Nano ZS (Malvern).

Le principe de cette mesure repose sur la mobilité électrophorétique des particules. En effet, les particules chargées migrent vers une électrode quand un champ magnétique est appliqué. La vitesse à laquelle elles se déplacent est proportionnelle à l'intensité du champ et à leur potentiel zêta. L'appareil détermine un champ magnétique à appliquer en fonction de la nature de l'échantillon et peut alors mesurer la vitesse de migration en réalisant une électrophorèse par laser. De cette mesure, le logiciel de d'acquisition des données extrapole la valeur du potentiel.

Les mesures ont été réalisées 3 fois par échantillons et la moyenne de ces mesures a été calculée grâce au Zetasizer Software™.

La zone de d'instabilité d'une émulsion se situe entre -25 et +25 mV (60,91). De manière générale, une NP présente un potentiel zêta se situant aux alentours de -40 mV (82) qui correspond à la valeur fixée dans l'USP <729>.

### 2.3.6 Essai de stérilité

La 8<sup>ème</sup> édition de la Pharmacopée Européenne précise les conditions de réalisation de l'essai de stérilité ainsi que le nombre d'unités à analyser en fonction de la taille du lot produit. Si le lot est inférieur à 100 unités, alors 10 % du lot doit être analysé avec un minimum de quatre unités.

La Pharmacopée demande que les unités soient filtrées sur membrane de porosité 0,45 µm. Ces membranes sont ensuite incubées dans des milieux aérobies et anaérobies pendant 14 jours. Cet essai est long et coûteux et des travaux ont été menés pour valider une méthode de microbiologie non inférieure à celle préconisée par la Pharmacopée mais plus efficiente surtout en termes de délai de résultats.

Le système BacT/Alert® (Biomérieux, Marcy-L'étoile, France) est basé sur une détection colorimétrique automatisée. Les micro-organismes présents dans le milieu produisent du CO<sub>2</sub> en phase de croissance qui induit une diminution du pH du milieu de culture. Ce changement de pH est responsable d'un virage colorimétrique irréversible qui est lu à intervalle de temps régulier. Des travaux ont montré que ce système initialement prévu pour les hémocultures est non inférieure à l'essai de stérilité de la Pharmacopée Européenne(92). Il répond donc au chapitre 5.1.6 qui précise comment développer des méthodes alternatives pour le contrôle qualité microbiologique et permet de rendre les résultats en 5 jours (49,93,94). Cette technique avait été également validée au CHU de Bordeaux et est utilisée en routine.

Le suivi de la stérilité a été réalisé par ensemencement direct de flacons d'hémoculture BacT/Alert® aérobie et anaérobie. Les flacons ont été envoyés au laboratoire de bactériologie du CHU de Bordeaux pour incubation pendant 5 jours à 37°C. L'essai a été réalisé à 2 temps : J0 et J56 pour chaque série. A J0, les poches d'une même formule ont été « poolées » (4 ml par poche) et le prélèvement injecté dans les flacons d'hémoculture. A J56, l'analyse a été réalisé sur un pool de chacune des poches qui avaient été fabriquées pour cet essai et non ouvertes pendant l'étude. Ces poches ont été conservées dans des conditions similaires à la possible conservation des poches de NPS en routine.

Les résultats sont conformes si les analyses reviennent négatives à J5 de l'ensemencement.

### 2.3.7 Analyse statistique

Une analyse statistique de différents paramètres mesurés (électrolytes, sels minéraux, osmolarité, analyse granulométrique et potentiel zêta) a été basée sur une analyse descriptive (moyennes et écart-types) et des tests paramétriques. Les neuf poches par formule permettent d'obtenir un nombre d'échantillons suffisant pour faire un test de Student d'égalité des moyennes pour des échantillons appariés qui compare les moyennes de deux jours d'analyse différents.

Les hypothèses du test de Student étaient :

- $H_0$  : le temps n'a pas d'influence sur les résultats (la différence des moyennes est nulle ;  $d_{\mu} = 0$ )
- $H_1$  : le temps a une influence sur les résultats (la différence des moyennes n'est pas nulle ;  $d_{\mu} \neq 0$ )

La limite de significativité a été fixée à 5%.

Le but de l'analyse étant de vérifier que l'on ne dépasse pas les 10 % de variation et pour ne pas démontrer des différences qui n'ont pas d'impact clinique, seule l'intervalle de la variation maximale ( $IC_{VM}$ ) tolérable de la moyenne de J0 a été comparée à l'intervalle de confiance de la différence des moyennes ( $IC_{95\mu}$ ). Si  $IC_{95\mu}$  est compris dans  $IC_{VM}$  ou qu'il contient 0, alors il n'y a pas de différence significative entre les deux jours d'analyse. La VM est calculée comme ci-après :  $VM = 0,1 \times \mu_i$  où  $\mu_i$  est la moyenne à  $J_i$ . J28 et J56 ont été comparés à J0 ainsi que chacun de ces J à leur J+24.

L'analyse statistique des mesures du pH, des dosages des vitamines et des AA a reposé sur une analyse descriptive car le nombre d'échantillons pour ces paramètres était trop faible pour réaliser des tests statistiques.

Aucun test statistique n'a été réalisé pour évaluer l'essai de stérilité. La date de péremption a été validée microbiologiquement en cas d'absence de croissance microbienne.

Les analyses ont été effectuées avec le logiciel XLstat.

### 3 Résultats

#### 3.1 Aspect macroscopique

##### 3.1.1 Inspection visuelle

Deux des ingrédients entraînent une coloration des poches de NPS : le Cernevit®, responsable de la couleur jaune très visible sur les mélanges binaires et le Smoflipid® dont l'aspect lactescent atténue la coloration des mélanges ternaires.

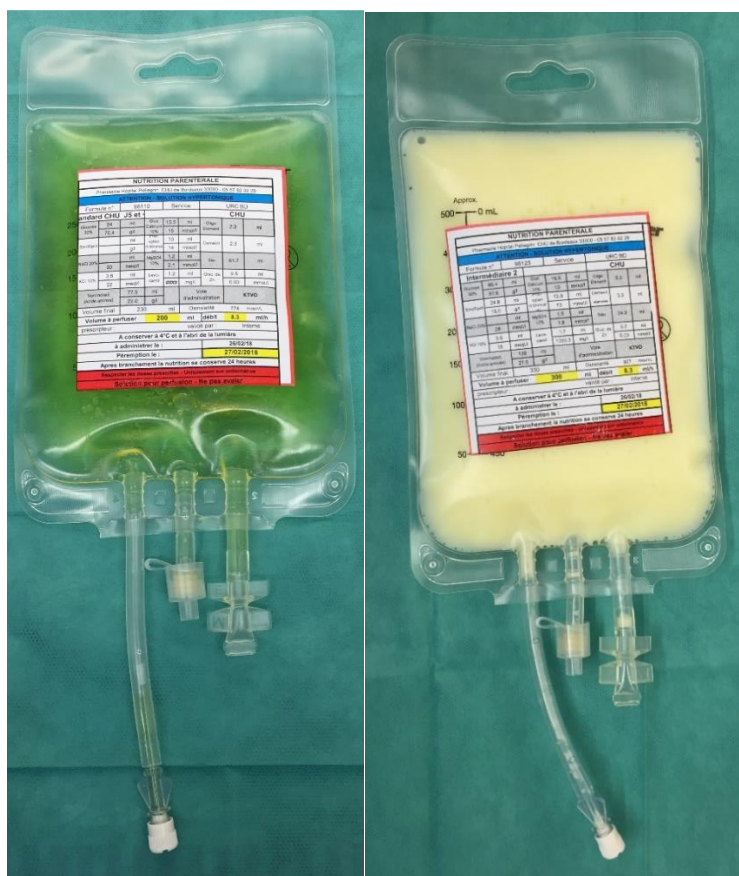


Figure 10 : photographies d'une poche binaire (gauche) et d'une poche ternaire (droite) à J28

Aucune particule visible non dissoute n'a été mise en évidence par l'observateur pour l'ensemble des poches à tous les temps de l'étude. Il n'y a pas eu de formation de précipité phospho-calcique visible à l'œil nu. Cette donnée est validée pour les poches de NPS ternaire par la variation des concentrations en  $\text{Ca}^{2+}$  des poches « Croisière sans lipide » et « Intermédiaire sans lipide » utilisées pour la surveillance de l'apparition d'un précipité phospho-calcique.



Tableau 13 : moyennes des concentrations en calcium à J0 et J56 et pourcentage de variation des formules « Croisière sans lipide » et « Intermédiaire sans lipide »

Calcium (mmol/l)	J0	J56	Variation par rapport à J0
« Croisière sans lipide »	11,6	12,2	+ 5,7 %
« Intermédiaire sans lipide »	11,9	12,8	+ 7,7 %

Aucun changement de couleur notable n'a été observé.

### 3.1.2 Crémage

La hauteur moyenne du mélange dans le tube est de  $5,89 \pm 0,09$  cm.

Dès J7, on note l'apparition d'un anneau blanc surnageant à la surface des tubes réalisés pour le crémage. Cet anneau ne recouvre cependant pas la totalité de la surface du tube et n'est donc pas mesurable. A J14, cette couche a grandi et recouvre l'intégralité de la surface des tubes mais reste trop fine pour être mesurée. A J28, la couche de lipides mesure 1 mm de haut (soit 0,17 % de hauteur de crémage) et on voit apparaître une phase limpide au fond du tube. Enfin à J56, la couche de lipides a doublé pour atteindre presque les 2 mm (soit 0,34 % de hauteur de crémage) et la phase limpide a également augmenté.

Ce phénomène est réversible à tous les temps de l'étude après trois retournements successifs des tubes.



Figure 11 : photographies du crémage à J28 (gauche) et à J56 (droite)

Les couches de crémage ont été analysées d'un point de vue granulométrique à J28 et à J56 ainsi que les émulsions après avoir été remélangées à J56. Les résultats sont donnés dans le paragraphe 3.3.3 de ce travail. Une fois remélangé, le crémage ne se reforme pas dans les 24 heures suivantes mais met quelques jours à réapparaître.

### 3.2 Stabilité chimique

#### 3.2.1 Osmolalité

L'ensemble des résultats obtenus pour les dosages des osmolalités des mélanges de NPS ainsi que les analyses statistiques sont présentés en Annexe 5.

Tableau 14 : valeurs minimale, maximale et moyenne de l'osmolalité des différentes formules

Osmolalité (mOsm/l)	Minimum	Maximum	Moyenne
« Standard »	731	800	740,2
« Concentrée »	1000	1065	1036,7
« Croisière »	942	1036	1006,5
« Intermédiaire »	924	979	943,7

Les osmolalités des 4 formulations sont restées stables pendant l'intégralité de l'étude (Figure 12). Les osmolalités obtenues à J28 et à J56 ne diffèrent pas statistiquement de celles de J0 ; tout comme les osmolalités obtenues après 24 heures à température ambiante qui ne diffèrent pas des osmolalités mesurées après conservation au réfrigérateur.

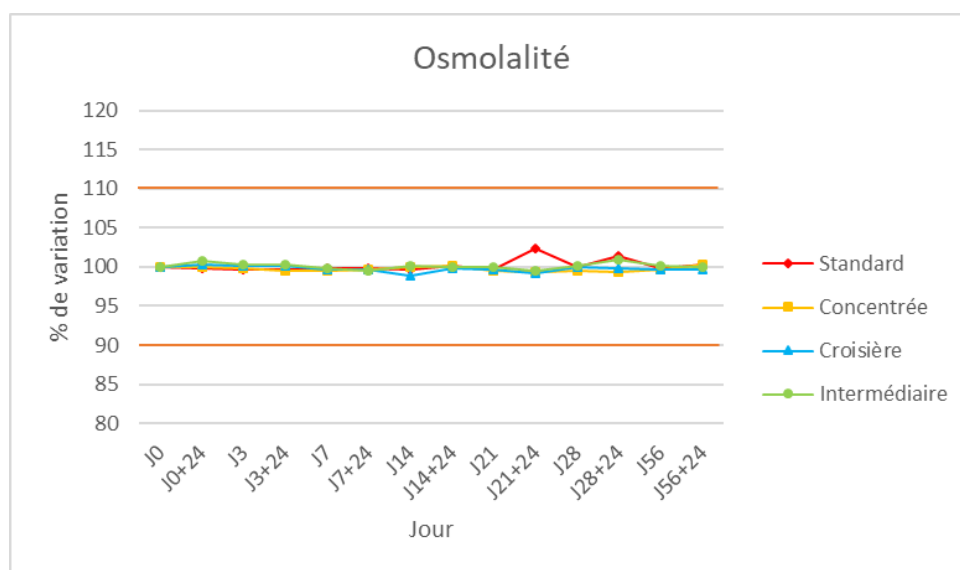


Figure 12 : variations de l'osmolalité par rapport à J0

### 3.2.2 pH

Le pH de la série 3 est resté stable pendant les 56 jours de l'étude pour les 3 poches de chaque formule.

Le Tableau 15 résume les valeurs minimales, maximales et moyennes de chaque type de poche. Les données exactes sont présentées en Annexe 6.

Tableau 15 : valeurs minimale, maximale et moyenne du pH des poches de la série 3

pH	Minimum	Maximum	Moyenne
« Standard »	6,41	6,80	6,58
« Concentrée »	6,33	6,63	6,49
« Croisière »	6,35	6,66	6,49
« Intermédiaire »	6,32	6,57	6,46

Les variations des mesures par rapport à J0 n'excèdent pas  $\pm 10\%$ , ce qui témoigne de la stabilité du paramètre.

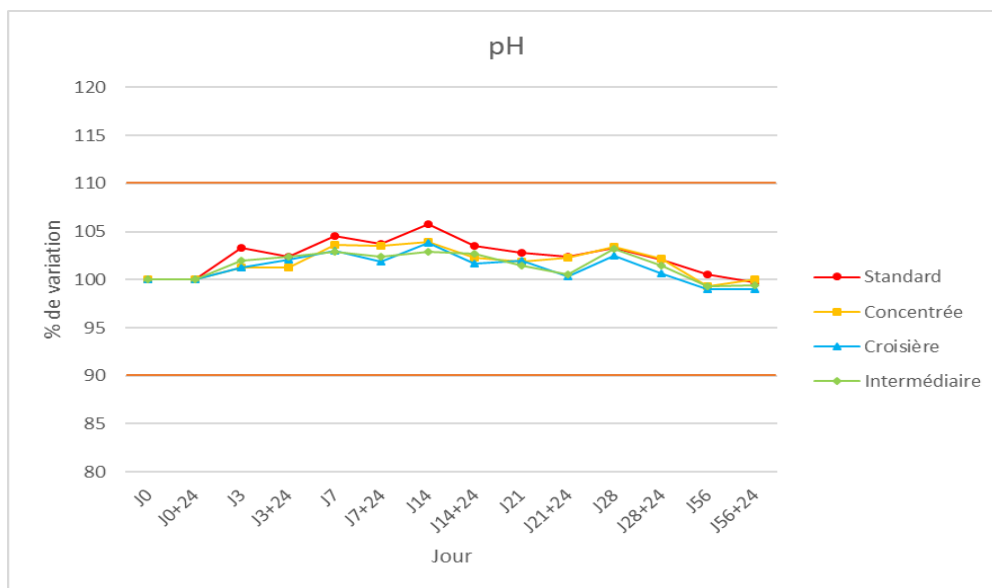


Figure 13 : variation des mesures du pH par rapport à J0

### 3.2.3 Electrolytes

Les résultats des dosages ainsi que les analyses statistiques sont présentés en Annexe 7 pour Na<sup>+</sup> et en Annexe 8 pour K<sup>+</sup>.

Tableau 16 : valeurs minimale, maximale et moyenne du sodium des différentes formules

Sodium (mmol/l)	Minimum	Maximum	Moyenne
« Standard »	26,4	32,6	29,7
« Concentrée »	29,2	35,5	32,7
« Croisière »	25	31,1	27,9
« Intermédiaire »	24,1	30,6	27,6

Les concentrations en Na<sup>+</sup> et K<sup>+</sup> sont restées stables pendant la durée de l'étude (Figure 14 et Figure 15).

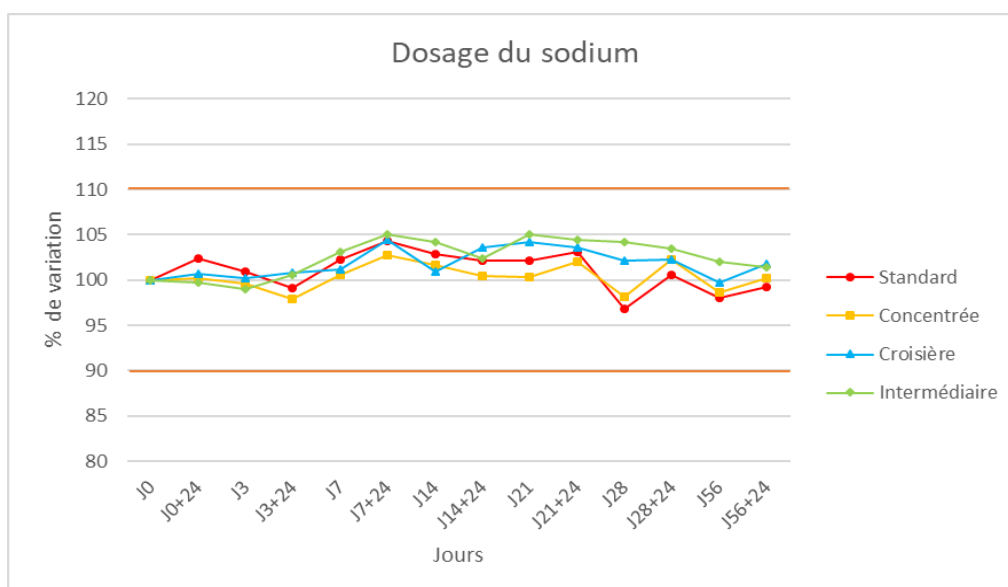


Figure 14 : variation des dosages du sodium par rapport à J0

Tableau 17 : valeurs minimale, maximale et moyenne du potassium des différentes formules

Potassium (mmol/l)	Minimum	Maximum	Moyenne
« Standard »	19,2	23,4	21,4
« Concentrée »	26	33,8	29,8
« Croisière »	12,7	16	14,4
« Intermédiaire »	12,7	15,8	14,5

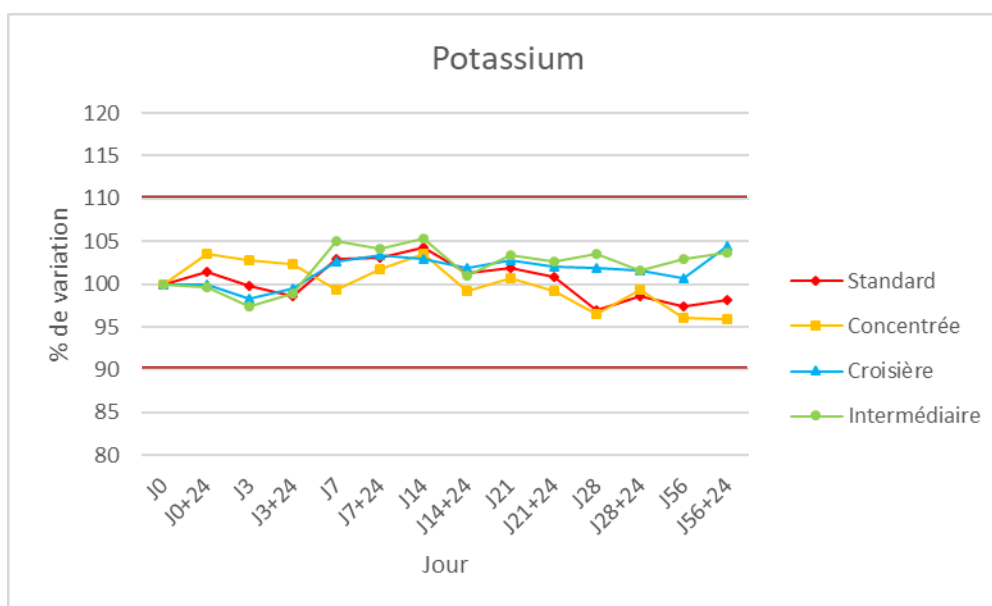


Figure 15 : variation des dosages du potassium par rapport à J0

De même, l'analyse statistique n'a pas montrée de différences significatives entre J0 et J28 et J56. Aucune différence n'est à noter pour les concentrations après stockage au réfrigérateur et après 24 heures à température ambiante.

### 3.2.4 Sels minéraux

Les résultats des dosages et des analyses statistiques sont présentés en Annexe 9 pour  $\text{Ca}^{2+}$  et en Annexe 10 pour  $\text{Mg}^{2+}$ .

Tableau 18 : valeurs minimale, maximale et moyenne du calcium des différentes formules

Calcium (mmol/l)	Minimum	Maximum	Moyenne
« Standard »	13,1	16,41	14,7
« Concentrée »	15,7	19,1	17
« Croisière »	11,2	13,5	12
« Intermédiaire »	11,2	14	12,4

Les concentrations en  $\text{Ca}^{2+}$  se sont avérées stables au cours du temps quelle que soit la condition de conservation (Figure 16). Ces résultats sont étayés par l'analyse statistiques d'intervalle de confiance de la différence des moyennes qui ne montre

aucune différence entre les concentrations à J0, J28 et J56 ainsi qu'entre la concentration après stockage à 4°C et après 24 heures à température ambiante.

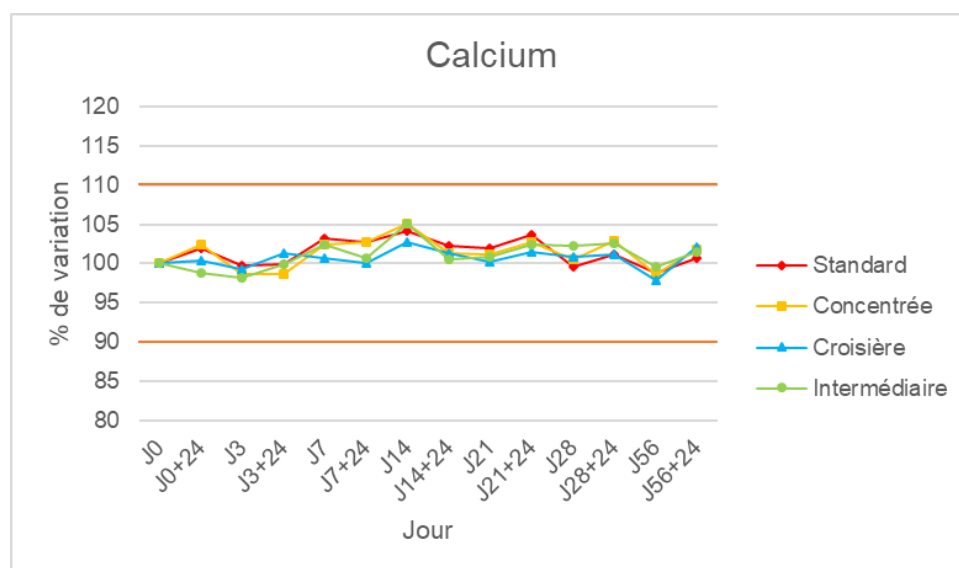


Figure 16 : variation des dosages du calcium par rapport à J0

Tableau 19 : valeurs minimale, maximale et moyenne du magnésium des différentes formules

Magnésium (mmol/l)	Minimum	Maximum	Moyenne
« Standard »	1,7	2,2	1,9
« Concentrée »	1,8	2,5	2,2
« Croisière »	1,4	2	1,7
« Intermédiaire »	1,6	2	1,7

Les concentrations en  $Mg^{2+}$  sont restées dans l'intervalle de stabilité admis à  $\pm 10\%$  de la valeur de J0 mais une tendance à la hausse est observée à partir de J28 (Figure 17).

Les analyses statistiques ne retrouvent aucune différence entre J0, J28 et J56. Il existe des différences entre J28 et J28+24 pour les formules « Concentrée » et « Intermédiaire » ainsi qu'entre J56 et J56+24 pour la formule « Croisière ».

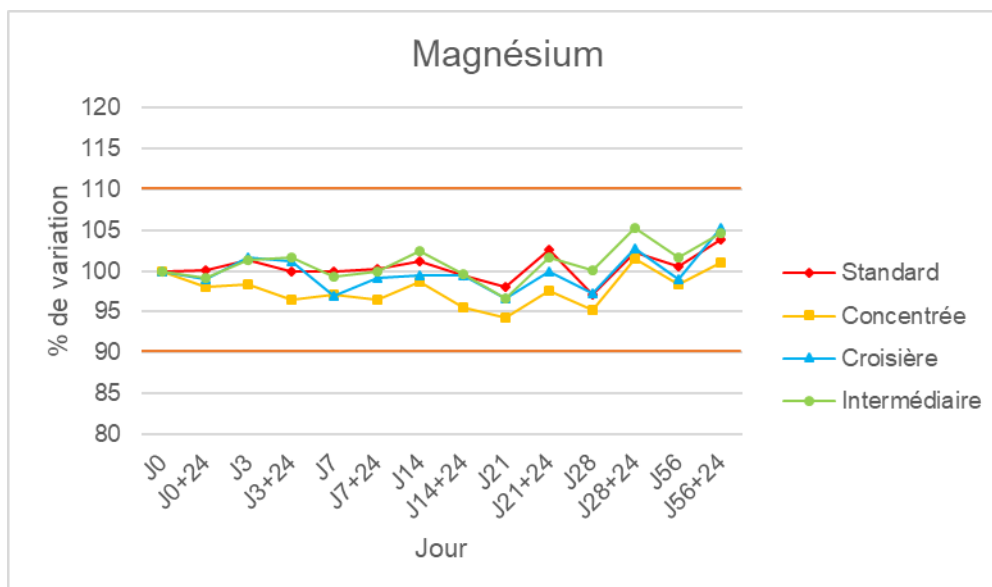


Figure 17 : variation des dosages du magnésium par rapport à J0

### 3.2.5 Vitamines

Le pourcentage moyen d'extraction des vitamines par les méthodes de dosage appliquées dans cette étude pour les deux formulations testées sont présentés dans le Tableau 20.

Tableau 20 : moyenne du pourcentage de détection des vitamines pour les deux formulations

Vitamines	Concentration théorique dans le Cernevit®	Concentration mesurée moyenne à J0	Pourcentage moyen d'extraction
Vitamine A (µmol/l)	7300	0	0
Vitamine E (µmol/l)	35	37,7	107,6
Vitamine C (µmol/l)	1400	1117,9	79,9
Vitamine B1 (nmol/l)	26000	21540,6	82,8
Vitamine B2 (nmol/l)	22000	1032,4	4,7
Vitamine B6 (nmol/l)	54000	900,1	1,7

La vitamine A n'est pas détectée au cours des analyses. Les vitamines B2 et B6 sont détectées en trop faible pourcentage pour être utilisées dans cette étude.

Seuls les résultats des dosages des vitamines E, C et B1 ont été exploités et sont présentés en Annexe 11.

Les concentrations en vitamine E sont restées stables pendant les 7 premiers jours de l'étude. Il y a ensuite une perte de plus de 60 % de la teneur en vitamine E pour les deux formulations à J28 (63,2 % pour la formule « Croisière sans lipide » ; 60,8 % pour la formule « Intermédiaire sans lipide ») mais cette perte diminue à J56 pour atteindre 38,9 % pour la formule « Croisière sans lipide » et 30,7 % pour la formule « Intermédiaire sans lipide ».

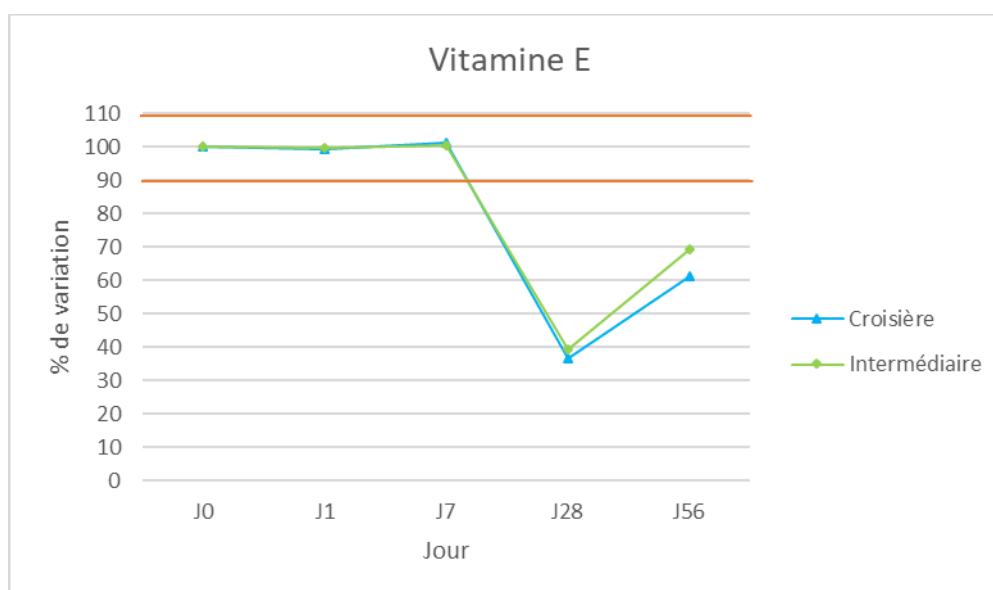


Figure 18 : variation de la concentration de la vitamine E par rapport à J0

La concentration en vitamine C n'est pas stable. Une perte de 15 % de la teneur en vitamine C est observée dès J1. La concentration chute de plus de 50 % à J7 pour devenir presque indétectable à partir de J28.



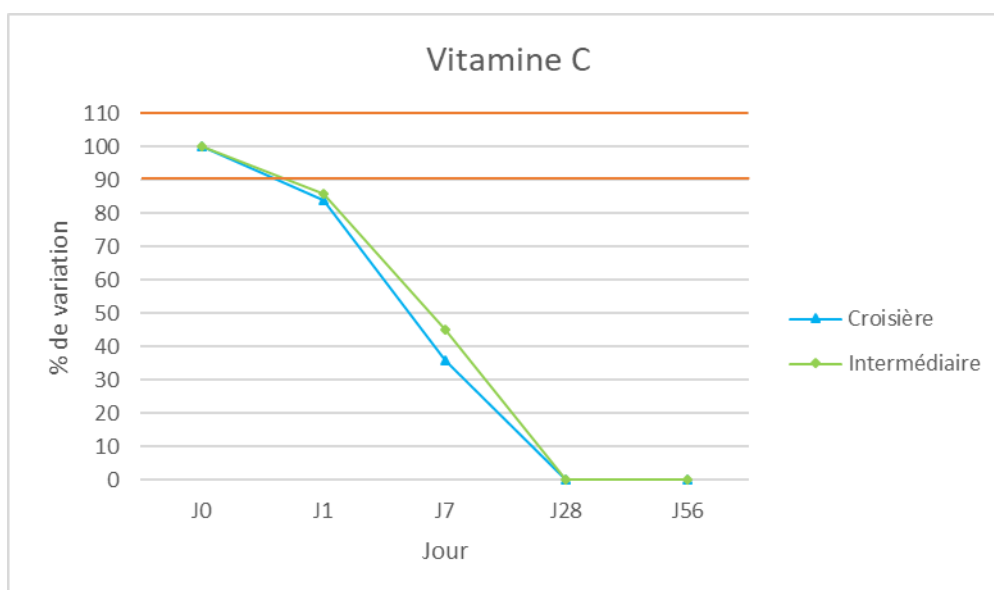


Figure 19 : variation de la concentration en vitamine C par rapport à J0

Les concentrations en vitamine B1 sont restées stables au cours de l'étude. La chute de la concentration commence à s'amorcer à J56 ; jour pour lequel la concentration résiduelle en vitamine B1 se rapproche de la limite inférieure de 10 % fixée pour garantir la stabilité d'un composé (Figure 20).

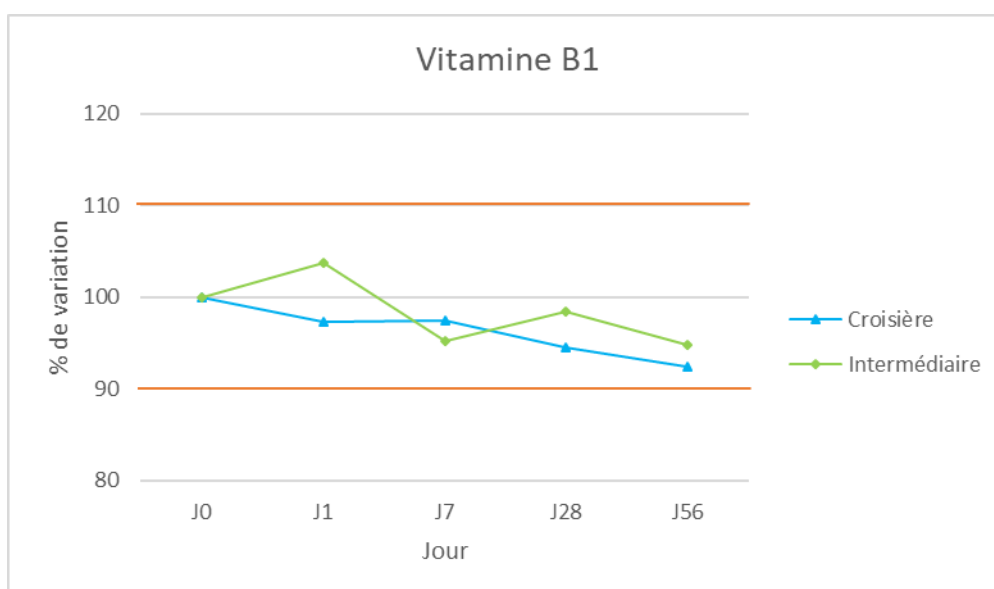


Figure 20 : variation de la concentration en vitamine B1 par rapport à J0

### 3.2.6 Acides aminés

Les résultats des dosages des AA sont présentés en Annexe 12.

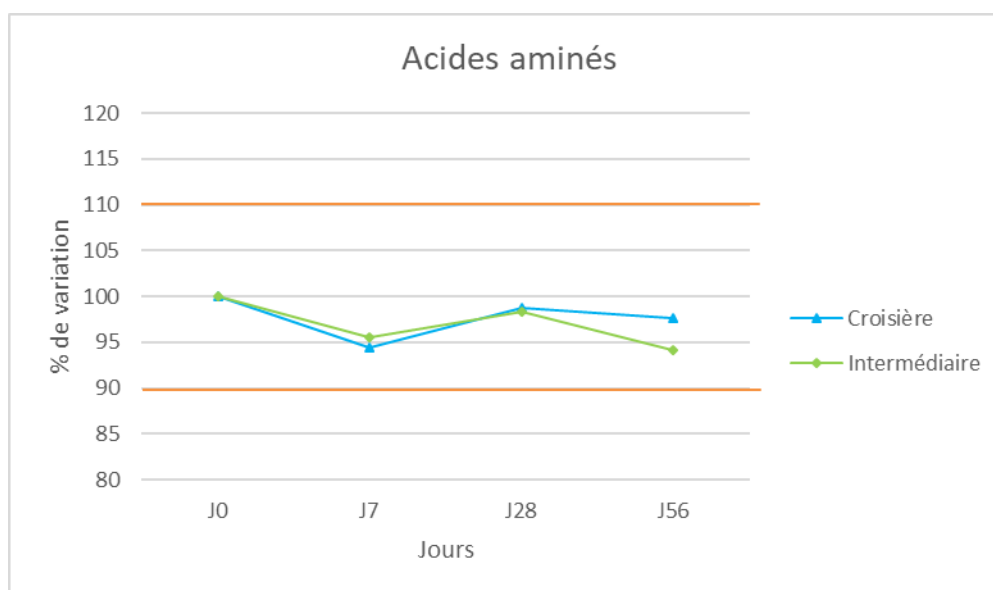


Figure 21 : variation de la concentration totale en acides aminés par rapport à celle de J0

Les courbes représentées dans la Figure 21 montrent la variation des quantités totales en AA contenues dans les poches « Intermédiaire sans lipide » et « Croisière sans lipide » par rapport à J0 aux différents temps de l'analyse. La concentration totale en AA est restée stable pour les deux formulations testées.

Cependant, l'analyse des concentrations de chaque acide aminé a montré que la méthionine est stable uniquement pendant une semaine (Figure 22). Une perte de 16,15 % est observée à J28 (« Croisière sans lipide » : 16,4 % ; « Intermédiaire sans lipide » : 15,9 %). Elle atteint 24,45 % à J56 (« Croisière sans lipide » : 24,1 % ; « Intermédiaire sans lipide » : 24,8 %).

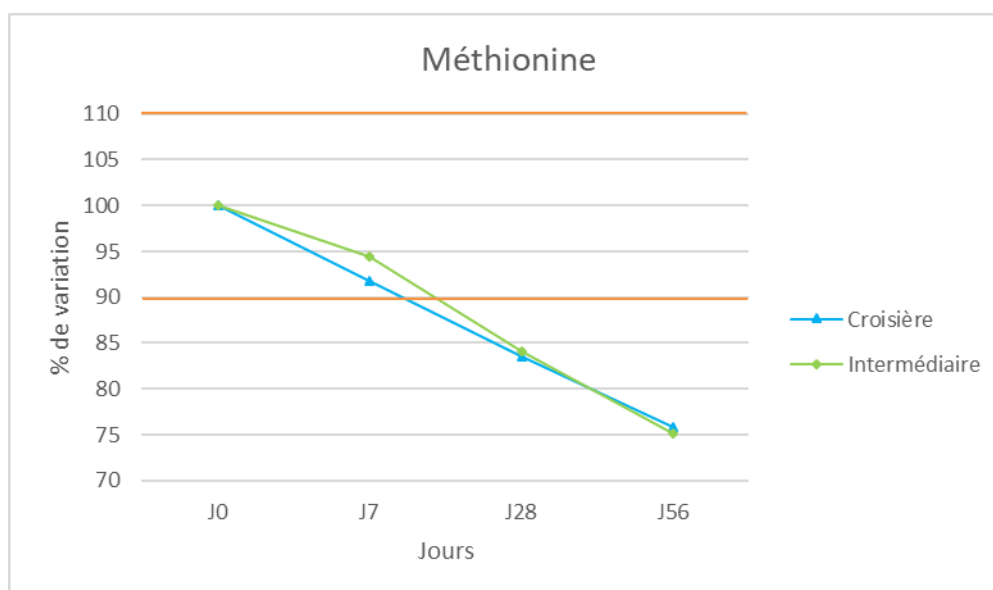


Figure 22 : variation de la concentration en méthionine par rapport à J0

### 3.3 Stabilité physique

#### 3.3.1 Analyse granulométrique

##### 3.3.1.1 Smoflipid® et Numetah G13% E®

Le résumé des caractéristiques granulométriques du Smoflipid® (Figure 23) et du Numetah G13% E® (Figure 24) obtenus avec le Mastersizer 2000 sont présentés dans le Tableau 21.

Tableau 21 : résumé des caractéristiques granulométriques du Smoflipid® et du Numetah G13% E®

	DMG (nm)	PTAF1 (%)	PTAF5 (%)
<b>Smoflipid®</b>	279	0,66	0
<b>Numetah G13% E®</b>	238	0	0

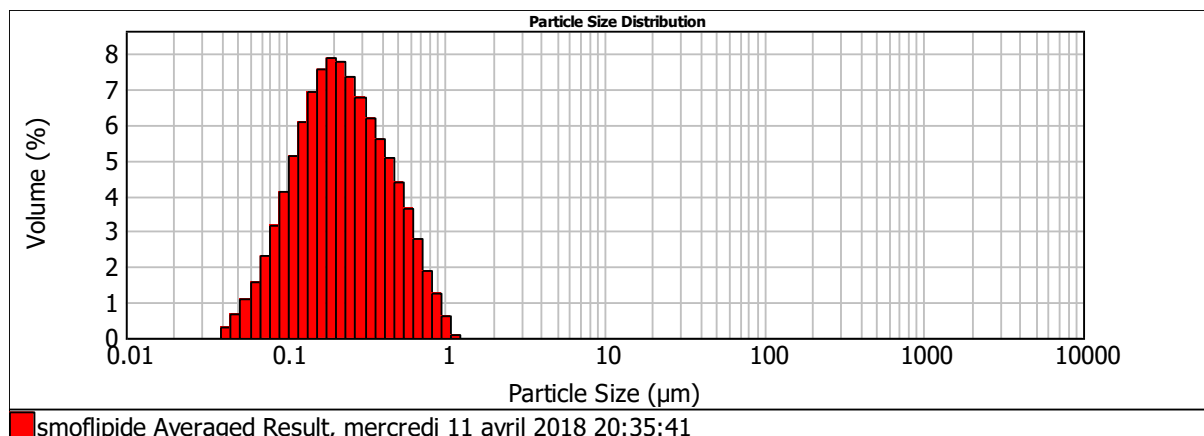


Figure 23 : distribution des globules lipidiques du Smoflipid® obtenue avec le Mastersizer 2000

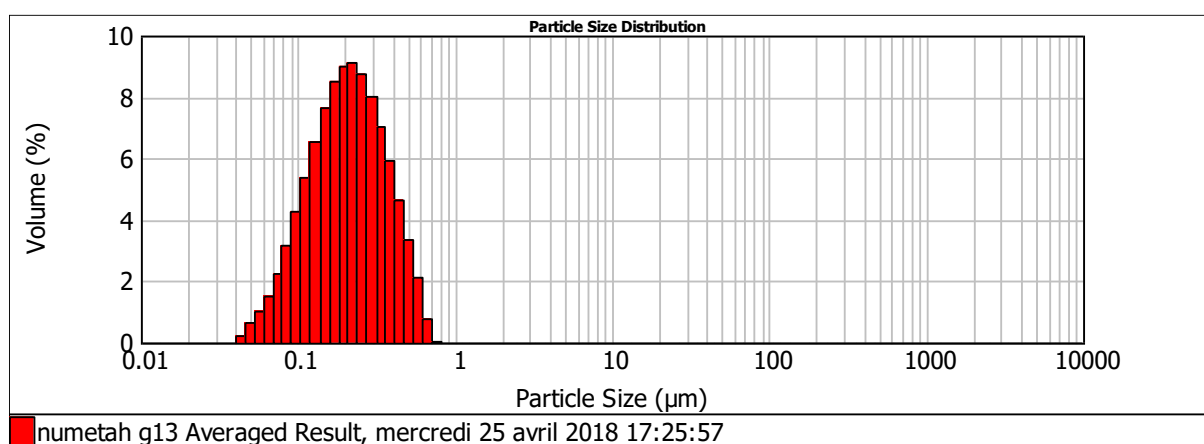


Figure 24 : distribution des globules lipidiques du Numetah G13% E® obtenue avec le Mastersizer 2000

### 3.3.1.2 Mélanges étudiés

Les mélanges ternaires ne présentent pas de modification visuelle au cours de l'étude malgré l'observation du phénomène de crémage.

Les mesures du DMG et du PTAF1 de tous les échantillons sont présentées respectivement en Annexe 13 et en Annexe 14. Le Mastersizer 2000 a eu un problème technique le 2 mars, il n'y a donc pas de résultats pour le PTAF1 de la série 3 ce jour-là (J3+24 série 3).

Les DMG sont dans les normes de l'USP <729> tout au long de l'étude dans tous les échantillons (Figure 25).

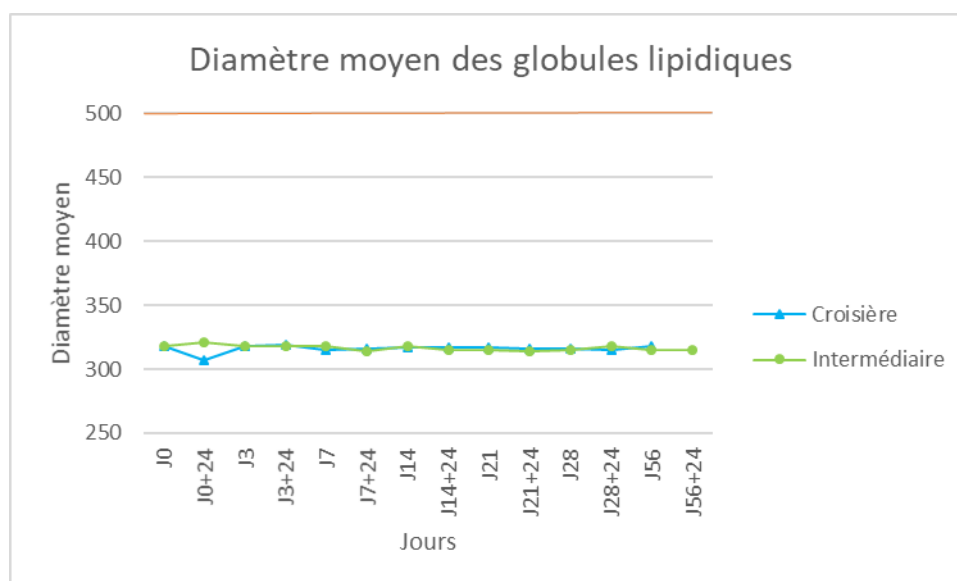


Figure 25 : diamètre moyen des globules lipidiques (nm)

Pour la formule « Croisière », le DMG sur la totalité de l'étude est de  $316,1 \pm 3,9$  nm avec un pdi de moyen de 0,017. Les principaux points d'intérêt sont résumés dans le Tableau 22. L'analyse statistique n'a pas montré de différence significative entre J0, J28 et J56 ainsi qu'entre chaque temps après stockage au froid et après 24 heures à température ambiante.

Tableau 22 : mesures de DMG de la formule « Croisière » à J0, J28 et J56 après stockage au froid et après 24h à température ambiante

Jour	J0	J0+24	J28	J28+24	J56	J56+24
<b>DMG (nm)</b>	315,3	318,1	316,2	315,9	315,2	318,0
<b>Ecart-type</b>	3,6	6,9	2,0	2,9	2,1	2,7
<b>Variation à J0</b>	100,0	100,9	100,3	100,2	100,0	100,9

Le PTAF1 moyen de la formule « Croisière » est de 0,66 % (min 0,184 % ; max 1,014 %). La Figure 26 montre l'évolution du PTAF1 au cours de l'étude. Le PTAF5 est nul pendant toute la durée de l'étude pour tous les échantillons.

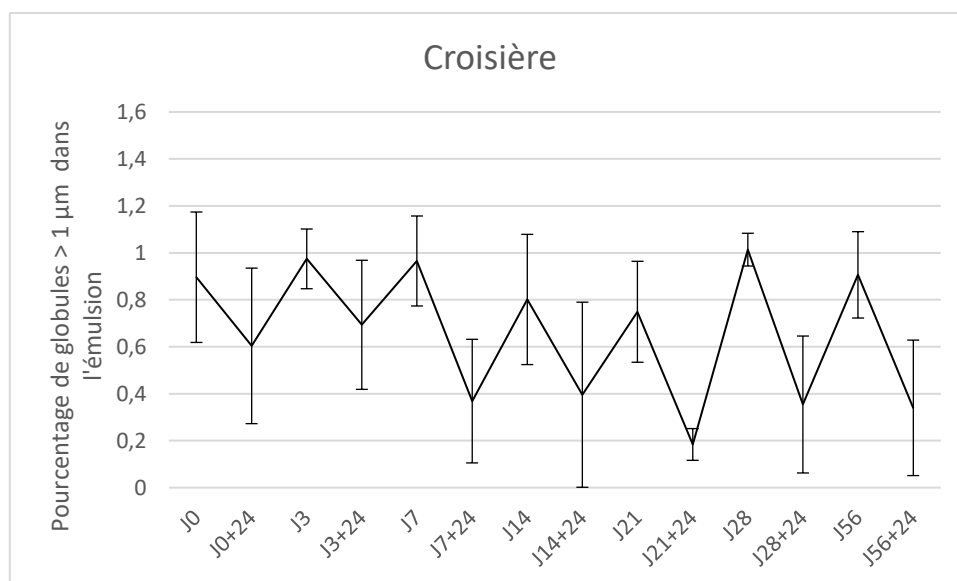


Figure 26 : pourcentage de globules > 1 µm dans la formule « Croisière » (% et écart-type)

Pour la formule « Intermédiaire », le DMG de l'étude est de  $316,5 \pm 3,6$  nm avec un pdi moyen de 0,019. Les principaux points d'intérêt sont présentés dans le Tableau 23. L'analyse statistique n'a pas montré de différence entre J0, J28 et J56 ni entre chaque jour et après 24 heures à température ambiante.

Tableau 23 : mesures de DMG de la formule « Intermédiaire » à J0, J28 et J56 après stockage au froid et après 24h à température ambiante

Jour	J0	J0+24	J28	J28+24	J56	J56+24
<b>DMG (nm)</b>	317,5	320,7	315,4	317,7	315,2	314,6
<b>Ecart-type</b>	3,9	3,3	2,6	2,2	2,4	2,0
<b>Variation à J0</b>	100,0	101,0	99,3	100,0	99,3	99,1

Le PTAF1 moyen de la formule « Intermédiaire » est de 0,65 % (min 0,2238 % ; max 1,0565 %). La Figure 27 montre l'évolution du PTAF1 au cours de l'étude. Le PTAF5 est nul pendant toute la durée de l'étude pour tous les échantillons.

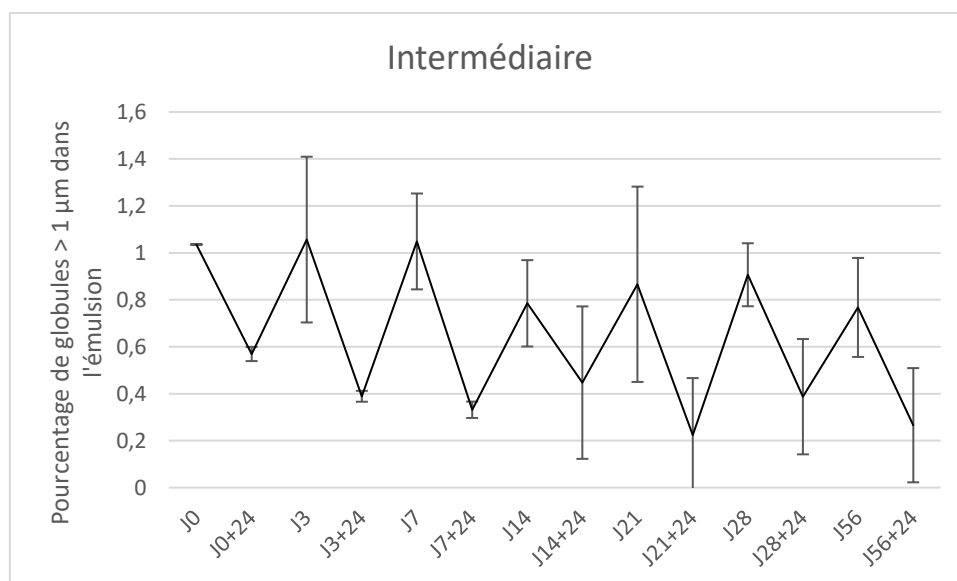


Figure 27 : pourcentage de globules > 1 µm dans la formule « Intermédiaire » (% et écart-type)

### 3.3.2 Potentiel zêta

Les résultats des mesures des potentiels zêta ainsi que l'analyse statistiques sont présentés en Annexe 15.

Le potentiel zêta moyen au cours de l'étude est de -34,7 mV (min -35,8 mV ; max -33,7 mV) pour la formule « Croisière » et de -34,9 mV (min -36 mV ; max -33,4 mV) pour la formule intermédiaire. Il est resté stable pour tous les échantillons à tous les temps d'analyse (Figure 28).

Les valeurs de potentiel zêta sont plus faibles que celles données dans l'USP <729>.

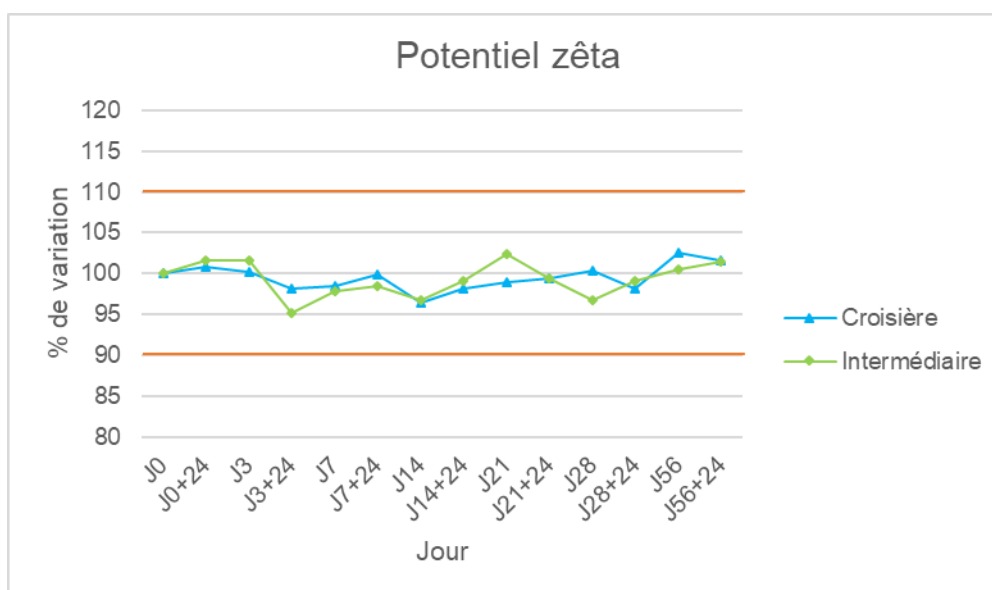


Figure 28 : variation du potentiel zêta par rapport à J0

### 3.3.3 Analyse du crémage

Les différentes couches des tubes de crémage ont été analysées avec le Mastersizer 2000. La première couche est la couche surnageante du crémage où les globules de lipides se sont accumulés. La deuxième couche est la phase intermédiaire et la troisième couche, la phase limpide.

Des résultats ont pu être obtenus uniquement pour les couches 1 et 2 ainsi que pour le remélange (Tableau 24 et Tableau 25). La couche 3 ne contient pas de globules lipidiques.

Tableau 24 : résultats de l'analyse granulométrique du crémage de la formule « Croisière »

« Croisière »	Jour	DMG (nm)	PTAF1 (%)	PTAF5 (%)
<b>Couche 1</b>	J28	394	1,88	0
	J56	370	1,21	0
<b>Couche 2</b>	J28	312	0,052	0
	J56	297	0	0
<b>Remélange</b>	J56	335	0,59	0



Tableau 25 : résultats de l'analyse granulométrique du crémage de la formule « Intermédiaire »

« Intermédiaire »	Jour	DMG (nm)	PTAF1 (%)	PTAF5 (%)
<b>Couche 1</b>	J28	387	1,85	0
	J56	346	0,35	0
<b>Couche 2</b>	J28	311	0	0
	J56	295	0	0
<b>Remélange</b>	J56	343	0,50	0

Aucun PTAF5 n'est retrouvé dans les différentes de crémage. Les résultats respectent les normes de l'USP <729>.

### 3.4 Stérilité

Trente flacons d'hémoculture BacT/Alert® (15 aérobies et 15 anaérobies) ont été mis en culture pendant l'étude. Ils étaient répartis en 24 flacons pour la stérilité à J0 et 6 flacons pour la stérilité à J56. Tous les prélèvements sont revenus négatifs.

## 4 Discussion

### 4.1 Formules standard

Les recommandations de la HAS ont été publiées après le travail de cette thèse. Ainsi les formules étudiées ici ont été mises au point avant de connaître les formules nationales. Cependant, la comparaison des formules du CHU de Bordeaux à celles émises par la HAS (Annexe 2) montre des ressemblances de formulation.

En effet, si l'apport vitaminique est majoré pour les formules du CHU de Bordeaux ; les deux formules ternaires locales sont très proches des formules HAS. La formule « Croisière » correspond exactement à la formule HAS « Premend-L » destinée à la phase de stabilisation alors que la formule « Intermédiaire » diffère uniquement au niveau de son apport lipidique de la formule « Premgo-L » de la phase intermédiaire (« Croisière » : 15 g/L ; « Premgo-L » : 10 g/L).

En revanche, les différences sont plus notables en ce qui concerne les formules binaires. La formule « Standard » montre des similitudes avec la formule « Premstart 30 » de la HAS malgré un apport en électrolytes ( $\text{Na}^+$  et  $\text{K}^+$ ) bien supérieur ainsi qu'une concentration en protéines se rapprochant de la « Premstart 20 ». De même, la formule « Intermédiaire » ressemble à la formule « Premgo » avec un apport en électrolytes supérieur. Cependant, les indications des formules binaires du CHU de Bordeaux sont identiques à celles de la HAS (32).

### 4.2 Etude de stabilité

L'étude de la stabilité physico-chimique des quatre mélanges de NPS a permis de valider la stabilité de la majorité des composants après conservation au froid puis après 24 heures à température ambiante.

#### 4.2.1 L'osmolalité et le pH

L'osmolalité ainsi que le pH n'ont pas présenté de variations significatives au cours de l'étude. De plus, le pH acide compris entre 6 et 7 permet de se situer dans la zone de

stabilité des ELI (entre 6 et 9) sans favoriser la formation d'un précipité phosphocalcique (pH basique).

Le dosage du glucose n'ayant pas été réalisé, les résultats de la stabilité de l'osmolalité sur 56 jours nous permettent d'extrapoler sur sa stabilité au cours de l'étude. En effet, le glucose est le composé le plus osmotique présent dans une NP donc si sa concentration avait présenté des variations au-delà des normes admises cela aurait impacté les valeurs de l'osmolalité. De plus, d'autres études sur la stabilité des NP n'ont pas mis en évidence de phénomène de déstabilisation du glucose (11,95,96). Il serait cependant intéressant d'avoir les données exactes des concentrations au cours du temps.

#### 4.2.2 Les électrolytes et sels minéraux

Les électrolytes se sont montrés stables pendant les 56 jours tout comme le  $\text{Ca}^{2+}$ . Seule l'analyse statistique des dosages du  $\text{Mg}^{2+}$  montre des variations très légèrement supérieures à la limite validée de 10 %. Ces différences ne sont observées que pour trois couples J-J+24. Cela pourrait être dû soit à une légère évaporation entraînant une concentration des électrolytes soit à la faible teneur en  $\text{Mg}^{2+}$  présente dans les différents mélanges. En effet, lors de la qualification du MP-AES le coefficient de variation de l'exactitude de la méthode de dosage pour les faibles concentrations en  $\text{Mg}^{2+}$  était compris entre 7 et 10 %. Malgré ces variations, nous considérons que le  $\text{Mg}^{2+}$  a été stable pendant la totalité de l'étude.

Ces résultats correspondent aux conclusions des différents travaux publiés sur la stabilité chimique des NPP. Ce sujet a déjà été étudié sur des périodes de temps généralement plus courtes (95–98), une étude a été conduite pendant 3 mois (99).

Néanmoins, l'étude pourrait être complétée avec une étude de la stabilité du phosphore. En effet, même si aucun précipité n'a été mis en évidence visuellement, ce qui est corroboré par la stabilité de la concentration en  $\text{Ca}^{2+}$ , la stabilité de la concentration en phosphore étayerait un peu plus cette observation. Elle n'a pas pu être réalisée car la limite de détection du MP-AES pour le phosphore est trop proche de la concentration présente dans les poches de NPS. Les résultats n'auraient pas été contributifs.

#### 4.2.3 Les acides aminés

Le suivi de l'aminogramme a prouvé que la concentration globale en AA est stable pendant l'étude. Cependant, une étude plus détaillée de chaque élément nous montre que la méthionine ne présente pas une stabilité sur la totalité de l'étude. La concentration en méthionine chute de 16,15 % à J28 et 24,45 % à J56. C'est en effet un des AA les plus sensibles à la photo-oxydation (63). Cette perte supérieure aux normes de stabilité conduit à la conclusion d'instabilité de la méthionine qui rejoint les conclusions obtenues par le laboratoire de biochimie lors d'une étude de stabilité des AA pour la technique de dépistage néonatal (tâche de sang sur papier buvard). La méthionine était alors le seul acide aminé à s'être dégradé significativement après 1 an de stockage à +4°C. Aucune donnée de dose journalière en méthionine n'a été retrouvée dans la littérature. La seule donnée disponible est tirée des recommandations ESPGHAN 2018 qui donne un apport quotidien en méthionine et cystéine à respecter (47 mg/kg/jour) mais il ne différencie pas les 2 AA (13). Cette donnée ne permet donc pas de savoir si, malgré la dégradation supérieure aux normes des études de stabilité, l'apport reste suffisant pour un prématuré. De plus la forme couplée cystéine/cystine présente dans la solution d'AA utilisée pour préparer les NPS et la méthode de dosage n'ont pas permis l'étude de la cystéine.

Pour pouvoir conclure sur ce point, une méthode de dosage spécifique au dosage de la cystéine présente dans la solution de Vaminolact® sous forme couplée cystéine/cystine devrait être développée. Ainsi, la concentration en cystéine pourrait être suivie dans les mélanges de NPS et une conclusion clinique sur la dégradation de la méthionine devrait pouvoir être apportée.

#### 4.2.4 Les vitamines

Les vitamines sont parmi les composés les plus instables qui peuvent être mis dans une NPP. Pour cette raison, elles sont souvent ajoutées de manière extemporanée dans la poche ou en dérivation. Pour éviter toute supplémentation des poches, nous avons décidé de les mettre dans la composition initiale. Il semblait donc important de pouvoir étudier leur profil de stabilité.

Cette étude préliminaire a été réalisée avec les méthodes utilisées par le laboratoire de biochimie sur les prélèvements sanguins des patients de l'hôpital. Seules des solutions d'une constitution proche de celle du sérum pouvaient être analysées ; ces dosages ont donc été réalisés sur des mélanges binaires. Cependant des études ont démontré que la stabilité des vitamines, et notamment celles liposolubles, était améliorée par la présence de lipides (67). De plus, les méthodes de préparation des échantillons sont adaptées au sang et non au milieu complexe de la NP avec des vitamines de synthèse. Toutes les vitamines dosées en routine au CHU de Bordeaux n'ont pas pu être exploitées car les techniques d'extraction présentaient des résultats trop faibles. C'est le cas pour les vitamines A, B2 et B6.

Parmi les vitamines dosées, seule la vitamine B1 a présenté une stabilité de deux mois. La vitamine E présente une plus forte dégradation à J28 qu'à J56. Il est intéressant de noter que ce profil est identique pour tous les échantillons. Il faudrait refaire l'analyse sur de nouvelles poches pour voir si cette tendance se confirme car la vitamine E est considérée comme stable dans de nombreuses conditions malgré sa sensibilité à l'oxydation (63,65). En dépit de sa dégradation qui ne permet plus de considérer la vitamine E comme stable, les concentrations à J56 restent acceptables pour couvrir l'apport journalier recommandé compris entre 2,8 et 3,5 mg/kg/jour (3,22 mg pour la poche « Croisière sans lipide » ; 3,77 mg pour la poche « Intermédiaire sans lipide »).

La vitamine C, très sensible à l'oxydation, est la vitamine la plus labile (63). Elle serait également sensible à la présence de certains OE qui catalysent des réactions d'oxydation (65). Dans notre étude, elle n'est plus stable dès J1. Cependant, comme pour la vitamine E, sa concentration permet de couvrir les apports journaliers jusqu'à J7 mais cela correspond presque à l'intégralité de la quarantaine microbiologique. Il reste 22,6 mg à J7 dans la poche « Croisière sans lipide » et 30,3 mg dans la poche « Intermédiaire sans lipide ». Il sera toutefois nécessaire de la supplémenter après J7.

Les mélanges de NPS ont été conditionnés dans des poches monocouches d'EVA qui sont très perméables à l'air. Le passage à des poches multicouches permettrait de diminuer le passage de l'oxygène et donc de réduire les phénomènes d'oxydation (11,63,65,68–70,100).

Dans tous les cas, pour conclure sur la stabilité des vitamines dans les NPS, une étude avec des méthodes adaptées au dosage des formes synthétiques des vitamines dans un milieu complexe (binaire et ternaire) devrait être réalisée.

#### 4.2.5 Stabilité de l'ELI

Malgré les risques de déstabilisation dans des systèmes 3-en-1 mono-compartimentés, l'ELI n'a pas présenté d'évolution négative au cours de l'étude.

L'analyse granulométrique a montré une stabilité de la taille des globules lipidiques. S'ils ont un diamètre moyen supérieur à celui du Smoflipid® lorsqu'ils sont mélangés aux macro- et micronutriments ; ils ne dépassent jamais la limite des 500 µm fixée par la Pharmacopée américaine USP <729>. De plus, la taille moyenne des globules des deux formules ternaires n'a pas évolué au-delà de la norme  $\pm 10\%$  pendant l'étude. Cependant, ce paramètre ne signe pas à lui seul la stabilité de l'ELI.

Pour s'assurer de cette stabilité, l'évolution du PTAF5 est importante à prendre en compte (83,101). En effet, il est le principal facteur déterminant de cette stabilité et est resté nul tout au long de l'étude. Même s'il n'existe pas de valeur limite pour le PTAF1, les valeurs moyennes obtenues pour les formules « Croisière » et « Intermédiaire » sont équivalentes à celle obtenue pour le Smoflipid® seul.

Les potentiels zêta des différentes formules sont tous restés inférieurs à la limite de -25 mV sans évolution de  $\pm 10\%$  signant la stabilité de ce paramètre essentiel pour une stabilité générale de l'ELI. En revanche, la monographie <729> de l'USP fixe la stabilité d'une ELI à -40 mV alors que le potentiel moyen de chacune des formules se rapprochent des -35 mV.

L'unique déstabilisation mise en évidence pendant cette étude est l'apparition d'un phénomène de crémage à partir du 14<sup>ème</sup> jour qui tend à augmenter avec le temps mais dont l'impact est minime car les globules lipidiques n'ont pas encore fusionné (82). En effet, ce phénomène s'est montré réversible après trois retournements des tubes (85) et l'analyse granulométrique des phases créées n'a pas mis en évidence d'augmentation inquiétante de la taille des globules lipidiques notamment dans la phase de crème. Cependant, les analyses ne peuvent être réalisées uniquement que

sur des échantillons dilués ce qui peut avoir une influence sur les résultats en présence d'un phénomène de floculation-crémage. Elle ne masquerait toutefois pas la coalescence (82). De plus, une fois remélangé l'émulsion retrouve des caractéristiques équivalentes à celles de J0 et le crémage ne réapparaît pas dans les 24 heures suivantes.

L'ELI dans un système 3-en-1 peut donc être considérée comme stable physiquement pendant 56 jours.

Au cours de ce travail, seule la stabilité physique de l'ELI été analysée. Une étude de la peroxydation des lipides, signe de la stabilité chimique de l'ELI serait intéressante à réaliser. D'autant plus que les NPS contiennent de OE qui peuvent favoriser cette instabilité chimique (72).

#### 4.2.6 Stérilité

Le nombre d'échantillons analysés pour vérifier l'absence de croissance microbologique dans les différents de mélanges de NPS étudiés n'est pas suffisant pour conclure de manière systématique sur la stérilité.

L'étude a cependant démontré que si les poches n'étaient pas contaminées au moment de leur fabrication alors il n'y avait pas de contamination microbologique au cours de la conservation. La méthode d'obtention des résultats microbiologiques Bact/Alert® impose donc une quarantaine de 5 jours afin de vérifier l'absence de contamination au moment de la production des NPS.

### 4.3 Réflexion sur le circuit

La mise en place de formules standard oblige à repenser différentes étapes du circuit des NPP dans notre centre.

La première étape concerne la prescription médicale qui ne se fera plus de manière nominative mais par type de formule et volume nécessaire à l'enfant. Le progiciel de prescription Kitperf a donc été mis à jour avec le concours des équipes médicales pour permettre cette prescription « à la formule ».

Ensuite, la fabrication est une des grandes étapes à modifier. Une première étude sur le dimensionnement de la production a été réalisée mais elle ne tenait compte que des deux formules binaires. Toutefois, elle prévoyait la production d'une centaine de poches par campagne de production (52).

Deux possibilités existent pour réaliser les campagnes de production. La première méthode consiste à réaliser une poche mère du mélange de NPS puis à la répartir en poches filles. Cette technique permet de s'assurer de l'homogénéité du lot et de réduire les contrôles physico-chimiques (seule la poche mère est analysée) et microbiologiques (analyse au début et à la fin de la répartition en poches filles). Néanmoins, si l'un des contrôles n'est pas conforme alors toute la production doit être jetée. Cette méthode implique également un changement de processus de fabrication pour notre équipe sur un poste dont l'ergonomie de travail n'a pas été pensée pour la réalisation de poches de plusieurs litres et dont l'étape de mélange pourrait engendrer des troubles musculosquelettiques.

La seconde option est de réaliser une production en série. Cette option présente l'avantage d'être plus similaire au processus de fabrication des NPI et d'être plus souple, notamment sur le dimensionnement de la production. Cependant, chaque poche serait indépendante et nécessiterait un contrôle physico-chimique et microbiologique. Pour diminuer le nombre de contrôles microbiologiques, la même technique que celle déjà utilisée actuellement (à savoir des contrôles à différents temps de la production représentant 10 % de la taille de la série) pourrait être conservée (86). Une autre méthode consisterait à prélever un faible volume de chaque poche et à « pooler » ces prélèvements dans les Bact/Alert® pour tester toutes les poches mais limiter le nombre de contrôles envoyés au laboratoire de microbiologie ; cette méthode devrait être validée avant d'être mise en place.

Un des changements les plus importants et les plus sécurisants du nouveau circuit sera l'étape de quarantaine de 5 jours. En effet, grâce à la standardisation les résultats de microbiologie seront connus avant que les poches ne soient administrées. Ce contrôle *a priori* implique la mise en place d'une chambre froide de quarantaine distincte de celle utilisée pour les poches libérées après obtention d'un contrôle libérateur conforme. Pour séparer les deux circuits, la chambre froide de quarantaine pourrait être installée à l'intérieur de la ZAC. Les poches seraient ainsi stockées en



attendant de recevoir l'accord pour la libération. Une fois libérées, les poches sortiraient de la ZAC pour être placées dans la chambre froide de stockage avant d'être délivrées aux unités de soin. Pour faciliter la gestion de la quarantaine, la pharmacie a demandé la création d'un patient fictif « nutrition parentérale » sur le logiciel médical du CHU afin que les résultats puissent être rendus informatiquement et consultables plus facilement.

Un autre point critique est la mise à disposition aux services de néonatalogie. Si le système de dotation dans les unités semble le plus pratique, il engendre des risques quant à la gestion des péremptions et à la rotation du stock ainsi qu'à la conservation dans de bonnes conditions au sein des unités de soin. Si ce système est retenu, il faudra instaurer des passages des préparateurs dans les unités pour gérer ce stock sensible. Une autre solution serait de garder le stock à la pharmacie et de fournir sur demande les poches. Puisqu'un service de garde est disponible et que la pharmacie peut approvisionner les services 24 heures sur 24, cela ne réduirait pas la disponibilité de NPS. En revanche, le temps de mise à disposition serait plus long en comparaison au système de dotation.

## 5 Conclusion

L'aspect nutritionnel de la prise en charge des prématurés est essentiel pour concourir à leur bon développement. Dans un même temps, la NPP est une technologie complexe. En effet, il existe des risques inhérents à cette pratique au niveau de la prescription, de la fabrication et de l'administration ; la complication la plus redoutée étant celle d'origine infectieuse. Dans ce contexte, des recommandations nationales et internationales préconisent de mettre en place des NPS. En effet, la standardisation est un des leviers qui permet une prise en charge homogène et sécuritaire des prématurés.

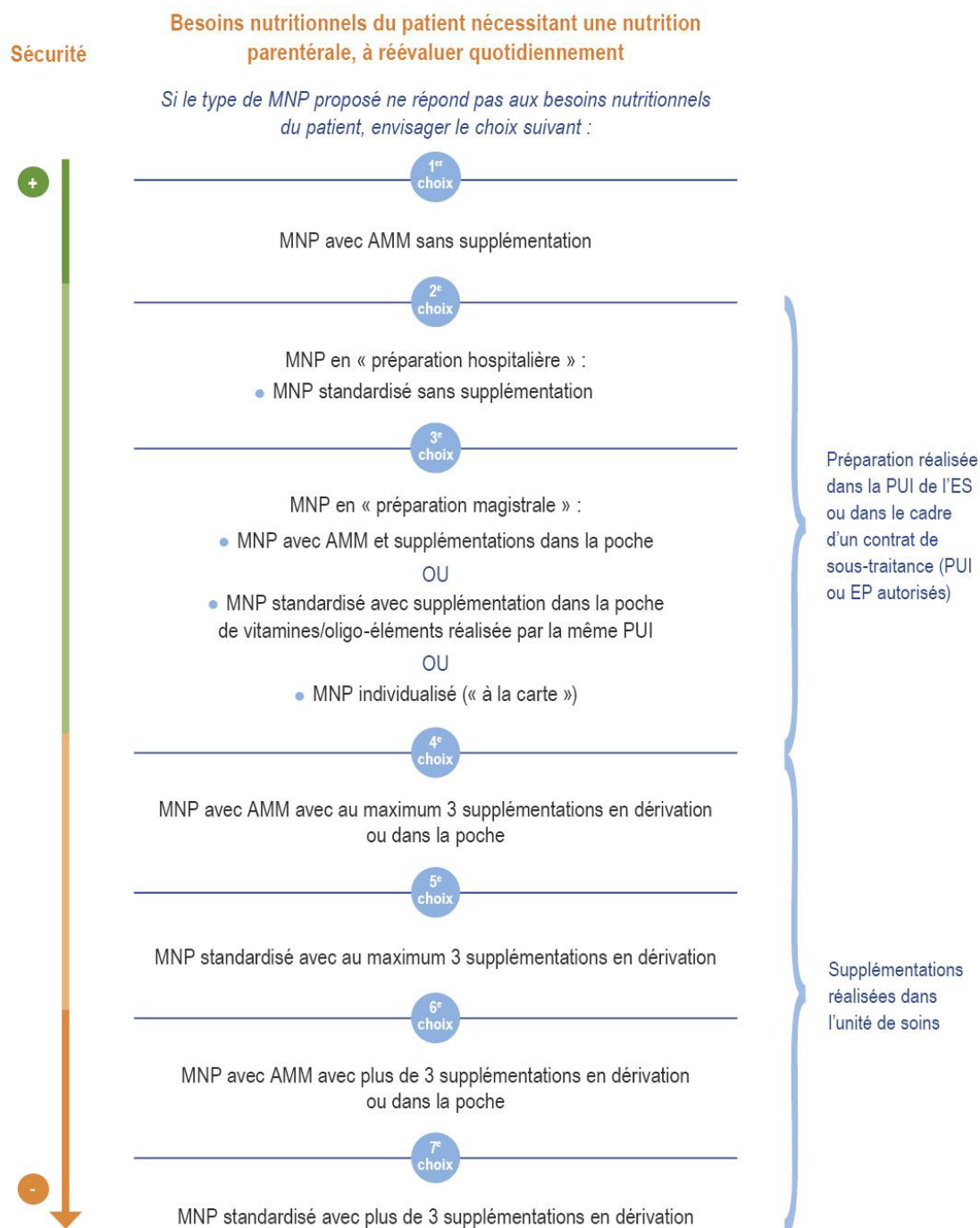
Ce projet a eu pour objectif d'étudier la stabilité physico-chimique de 4 formules de NPS définies par les pédiatres néonatalogistes du CHU de Bordeaux. Pour cela, les stabilités chimique et physique ainsi que la stérilité ont été étudiées pendant 56 jours avec conservation des poches au froid (+4°C) et après 24 heures à température ambiante. Au terme de l'étude, les résultats montrent une stabilité de la majorité des composés analysés hormis les vitamines C et E et la méthionine. L'ELI, point critique de la stabilité, n'a pas montré d'évolution défavorable au cours des deux mois d'étude. Une date de péremption fixée à 28 jours semble raisonnable sous réserve de l'absence de contamination microbiologique lors de la fabrication. Il faudra cependant supplémenter l'enfant en vitamine C car sa dégradation est trop rapide pour maintenir un apport suffisant par rapport aux recommandations.

La mise à disposition de ces formules standardisées permettra de répondre de manière adaptée aux besoins de la majorité des prématurés qui ne sont pas couverts par les poches avec AMM. Cela augmentera également la qualité de la prise en charge avec une standardisation et une sécurisation du circuit des NPP grâce au contrôle libératoire complet des poches *a priori*. La réflexion sur le circuit doit toutefois être poursuivie pour permettre d'améliorer le plus possible la prise en charge des nouveau-nés prématurés. Une nouvelle étude de dimensionnement de la production devra également être menée une fois la méthode de fabrication choisie.

La ressemblance des formules locales aux formules nationales permettra une transition plus facile lorsque les formules de la HAS seront inscrites au formulaire national de la Pharmacopée ; tant pour les services qui seront habitués à prescrire des NPS que pour la pharmacie qui aura déjà mis en place leur circuit.

## Annexes

## Annexe 1 : choix du mélange de nutrition parentérale en fonction du risque septique tiré de (32)




AMM : autorisation de mise sur le marché ; EP : établissement pharmaceutique ; ES : établissement de santé ; MNP : mélange de nutrition parentérale ; PUI : pharmacie à usage intérieur.

## Annexe 2 : formules des mélanges de nutrition parentérale standardisés de la HAS

Ces formules ont été établies par un groupe de travail mandaté par la DGOS et la DGS, sous réserve des résultats des études de stabilité pouvant conduire à leur modification.

	Phase initiale					Phase intermédiaire		Phase de stabilisation				
	Premstart 20	Premstart 30	Termstart	Asphystart	Metabstart	Premgo	Premgo-L	Premend	Premend-L	Premconc	Premconc-L	Termgo
<b>Mélanges de nutrition parentérale</b>	Prématuré, modérément protéinée	Prématuré, hautement protéinée	Nouveau-né à terme, standard	Nouveau-né à terme, asphyxique	Nouveau-né à terme, métabolique	Prématuré, sans alimentation entérale, sans lipides	Prématuré, sans alimentation entérale, avec lipides	Prématuré, sans alimentation entérale, sans lipides	Prématuré, sans alimentation entérale, avec lipides	Prématuré, avec alimentation entérale, sans lipides, concentrée	Prématuré, avec alimentation entérale, avec lipides, concentrée	Nouveau-né à terme, standard
<b>Posologie (ml/kg/j)</b>	80-120	80-120	60-80	40-80	60-80	80-120	80-120	120-135	120-160	80-110	80-120	80-135
<b>Volume de la poche (ml)</b>	250	250	500	500	500	300	300	300	300	300	300	500
<b>Glucides (g/L)</b>	80	80	100	160	100	100	90	120	100	150	130	120
<b>Lipides (g/L)</b>	0	0	0	0	0	0	10	0	20	0	25	0
<b>Protéines (g/L)</b>	20	30	13	10	0	30	27,5	30	25	38	35	25
<b>Sodium (mmol/L)</b>	12	15	12	10	15	22,5	20	32	26	40	36	20
<b>Potassium (mmol/L)</b>	0	15	12	0	10	16	14,5	17	14	22	20	15
<b>Calcium (mmol/L)</b>	10	13	12	10	10	13,5	12,5	14	12	18	16	10
<b>Phosphore (mmol/L)</b>	6	13	6	5	12	14,5	13	16	13	20	18	10
<b>Magnésium (mmol/L)</b>	2	2	2	2	2	2,1	1,9	2,2	1,8	2,7	2,5	2
<b>Chlore (mmol/L)</b>	≤ 10	≤ 10	≤ 10	≤ 10	≤ 10	15	15	20	20	30	30	15
<b>Zinc (ml/L)</b>	4	4	3,2	3,2	3,2	3	2,7	3	2,5	3,6	3,3	3,2
<b>Oligo-éléments (solution pédiatrique Aguettant) (ml/L)</b>	8	8	8	8	8	6,66	6,66	6,66	6,66	6,66	6,66	8
<b>Vitamines (Cernevit®) (ml/L)</b>	5	5	2,5	2,5	2,5-	4,2	4,2	4,2	4,2	4,2	4,2	2,5

## Annexe 3 : protocole de préparation des échantillons pour le dosage des vitamines

	Entité d'application : GHP- PTMP - HPLC		EN_LAB_17_59	
	Emetteur : PBP - P2A - CHI		Ind : 0.2	
DOCUMENT D'ENREGISTREMENT			Page : 1/1	
<b>DOSAGE DES VITAMINES AE SUR SERUM OU PLASMA</b>				

Produits	Référence	Solution pur	Localisation	Solution de travail	Localisation	Stabilité
Calibrant Chromsystem	34004	1 ml H <sub>2</sub> O	-20°C Pièce 02 HX 613	Aliquot de 100 µl	-80°C Pièce 02 HX 608	3 mois à -80°C
Control Chromsystem	Level I 0036 Level II 0037	2 ml H <sub>2</sub> O				
BHT	Sigma B1378			Tiroir Absorption Pièce 02 HX 610		
Hexane	Biosolve 08290601			Placard à solvant sous la hotte Absorption Pièce 02 HX 610		cf fournisseur
Ethanol	VWR 20821.296					
Méthanol	Biosolve 001368 780 1BS					
Acétate de tocophérol à 1,057 mmol/l	Fluka 95250	25 mg QSP 50 ml MeOH	Frigo +4°C Pièce 02 HX 608	Aliquot de 1,5 ml	-20°C Pièce 02 HX 613	6 mois à -20°C
Phase 35 % Eau / MeOH		35 ml H <sub>2</sub> O milliQ QSP 1L de MeOH		Filtrer sous vide sur membrane millipore GVWP 0.22 µm		2 jours
Colonne vit AE	Hypersil C18			Tiroir Pièce 02 HX 613		
Echantillons				-20°C Pièce 02 HX 613		2 semaines

Pour chaque série, traiter les échantillons et 2 Cal et les 2 niveaux de contrôles (CT1 et CT2) de la même manière :

Préparer extemporanément les solutions suivantes :

**Solution d'Hexane + BHT :**

Dans 1 tube à hémolyse en verre préparer

**5 mg** de BHT  
+ **5 ml** d'hexane

Dans une fiole jaugée de 50 ml à bouchon rodé :

reprendre **1 ml** de la solution précédente  
QSP **50 ml** avec de l'hexane (→ solution à 20 mg/l de BHT)

**Mélange Standard interne Hexane BHT:**

Dans une fiole jaugée de 50 ml mélanger :

Acétate de tocophérol à 1,057 mmol/l ..... **1 ml**  
Ethanol..... **9 ml**  
Solution Hexane BHT à 20 mg/l ..... **40 ml**

Introduire dans un vial :

- **100 µl** d'échantillon (les échantillons seront préalablement centrifugés afin de récupérer le surnageant)
- **750 µl** de mélange Standard interne Hexane BHT

**Agiter au Vortex 5 minutes**

**Centrifuger 2 minutes à 12000 tours/minute.**

Prélever **200 µl** du surnageant dans un tube à hémolyse en verre.


Evaporer sous azote à température ambiante durant 10 minutes minimum

Reprendre le résidu sec par **300 µl** de méthanol.

**Agiter au Vortex 1 minute.**

Les échantillons sont prêts. Transférer le mélange dans un flacon pour HPLC.

Se reporter au mode opératoire de la machine pour lancer les analyses.

 <b>CHU</b> Hôpitaux de Bordeaux	Entité d'application : GHP- PTMP - HPLC Emetteur : PBP - P2A - CHI	EN_LAB_17_59 9
	DOCUMENT D'ENREGISTREMENT	Ind : 0.2 Page : 1/1
<b>DOSAGE DE LA VITAMINE C DANS LE SERUM OU LE PLASMA</b>		

Produits	Référence	Solution pur	Localisation	Solution de travail	Localisation	Stabilité
Calibrant Chromsystem	65003	0,5 ml H <sub>2</sub> O	-20°C Pièce 02 HX 613	Aliquot de 100 µl	-80°C Pièce 02 HX 608	2 mois à -80°C
Control Chromsystem	Level I 0075 Level II 0076	0,5ml H <sub>2</sub> O				
Etalon Chromsystem	65044			Frigo +4°C	Pièce 02 HX 608	cf fournisseur
Phase C Chromsystem	65001			Placard Phase Pièce 02 HX613		cf fournisseur
Colonne	65100			Tiroir Pièce 02 HX613		
Echantillons				-80°C Pièce 02 HX 608		1 sem

Pour chaque série, traiter les échantillons et 2 Cal et les 2 niveaux de contrôles (CT1 et CT2) de la même manière, dans un vial introduire :


- 100µl de sérum ou plasma (centrifugés au préalable)
- 100µl d'étalon

### VORTEXER

Laisser déprotéiniser 10 min à +4 °C

Centrifuger 5 min à 12000 trs/min

Les échantillons sont prêts. Transférer le surnageant dans un flacon pour HPLC.  
Se reporter au mode opératoire de la machine pour lancer les analyses.

	Entité d'application : GHP- PTMP - HPLC		EN_LAB_17_58
	Emetteur : PBP - P2A - CHI		1 Ind : 0.3
DOCUMENT D'ENREGISTREMENT			Page : 1/1
<b>DOSAGE DES VITAMINES B1/B6 SUR SANG TOTAL</b>			

Produits	Référence	Solution pur	Localisation	Solution de travail	Localisation	Stabilité
Calibrant Chromsystem	52003	1 ml H2O	-20°C Pièce 02 HX 613	Aliquot de 200 µl	-80°C Pièce 02 HX 608	3 mois à -80°C
Control Chromsystem	Level I 0165 Level II 0167	2 ml H2O				
Etalon interne Chromsystem	52004			Tiroir Absorption Pièce 02 HX 610		cf fournisseur
Réactif précipitant Chromsystem	52005					cf fournisseur
Tp neutralisation Chromsystem	52006					cf fournisseur
Tp Dérivatisation 1 Chromsystem	52007	300 µl H2O	Tiroir Absorption Pièce 02 HX 610	+ 6 ml de Dérivatisation2	Extemporément	1semaine à +4°C
Tp Dérivatisation 2 Chromsystem	52008			Tiroir Absorption Pièce 02 HX 610		cf fournisseur
Phase A Chromsystem	52001			Placard Phase Pièce 02 HX 613		cf fournisseur
Phase B Chromsystem						cf fournisseur
Colonne B1/B6	52100			Tiroir Pièce 02 HX 613		
Echantillons				-20°C Pièce 02 HX 613		2 sem

Pour chaque série, traiter les échantillons et 2 Cal et les 2 niveaux de contrôles (CT1 et CT2) de la même manière, dans un vial introduire :

- 100µl d'étalon interne
- 300µl réactif de précipitation
- 200µl de sang total

**VORTEXER 30 secondes**

**Centrifugation 5 min à 12000 trs/min**

Préparer extemporément la solution de dérivation : si la série n'est pas longue proportion 1 : 20 ; soit 50 µl de R1 avec 1 ml de R2 (sinon cf tableau).

Attention le R1 contient du cyanure (KCN).

Puis dans un autre vial introduire :

- 250µl de tampon de neutralisation
- 100µl de solution de dérivation préparée précédemment (mélange R1+R2)
- 250µl de surnageant

**VORTEXER brièvement**


**INCUBER 25 min à 60 ± 1°C au Bain-Marie.**

**Laisser refroidir au moins 10 min entre +2 et +8°C ou dans la glace.**

**Centrifuger 2 min à 12000 trs/min.**

Les échantillons sont prêts. Transférer le surnageant dans un flacon pour HPLC.

Se reporter au mode opératoire de la machine pour lancer les analyses.

	Entité d'application : GHP- PTMP - HPLC	EN_LAB_17_58
	Emetteur : PBP - P2A - CHI	2
DOCUMENT D'ENREGISTREMENT		Ind : 0.4
		Page : 1/1
<b>DOSAGE DE LA VITAMINE B2 SUR SANG TOTAL</b>		

Produits	Référence	Solution pur	Localisation	Solution de travail	Localisation	Stabilité
Calibrant Chromsystem	37008	1 ml H2O	-20°C Pièce 02 HX 613	Aliquot de 200 µl	-80°C Pièce 02 HX 608	3 mois à -80°C
Control Chromsystem	Level I 0034 Level II 0035	2 ml H2O				
Tp extraction Chromsystem	37005			Tiroir Absorption Pièce 02 HX 610		cf fournisseur
Réactif de précipitation Chromsystem	37007					cf fournisseur
Tp neutralisation Chromsystem	37099					cf fournisseur
Phase B2 Chromsystem	37011			Placard Phase Pièce 02 HX 613		cf fournisseur
Colonne vit C	37110			Tiroir Pièce 02 HX 613		
Echantillons				-20°C Pièce 02 HX 613		2 sem

Pour chaque série, traiter les échantillons et 2 Cal et les 2 niveaux de contrôles (CT1 et CT2) de la même manière, dans un vial introduire :

- 200µl de sang total
- 200µl de tampon d'extraction
- 400µl de réactif de précipitation

**VORTEXER 30 secondes**  
**Centrifugation 10 min à 9000 x g**

Puis dans un autre vial introduire :

- 100µl de tampon de neutralisation
- 500µl de surnageant

**VORTEXER**

Les échantillons sont prêts. Transférer le mélange dans un flacon pour HPLC.  
Se reporter au mode opératoire de l'automate pour lancer les analyses.



## Annexe 4 : planning de l'étude de stabilité

Lundi	Mardi	Mercredi	Jeudi	Vendredi
12/02	13/02	14/02	15/02	16/02
production série 1 J0	J0 + 24h		production biochimie J3 J0vit et J0aa	J3+24h J1vit
19/02	20/02	21/02	22/02	23/02
production série 2 J7 J0	J7+24h J0 + 24h		production biochimie J3 J7vit et J7aa J0vit et J0aa	J3+24h J1vit
26/02	27/02	28/02	01/03	02/03
production série 3 J14 J7 J0	J14+24h J7+24h J0 + 24h		production biochimie J3 J7vit et J7aa J0vit et J0aa	J3+24h J1vit
05/03	06/03	07/03	08/03	09/03
J21 J14 J7	J21+24h J14+24h J7+24h		J7 vit et J7aa	
12/03	13/03	14/03	15/03	16/03
J28 J21 J14	J28+24h J21+24 J14+24h		J28vit et J28aa	
19/03	20/03	21/03	22/03	23/03
J28	J28+24h		J28vit et J28aa	
26/03	27/03	28/03	29/03	30/03
J28	J28+24h		J28vit et J28aa	
Lundi de Pâques 02/04	03/04	04/04	05/04	06/04
09/04	10/04	11/04	12/04	13/04
J56	J56+24h		J56vit	J56aa
16/04	17/04	18/04	19/04	20/04
J56	J56+24h		J56vit	
23/04	24/04	25/04	26/04	27/04
J56	J56+24h		J56vit	J56aa

## Annexe 5 : résultats des mesures de l'osmolalité et analyses statistiques

Mesures de l'osmolalité de la formule « Standard » aux différents temps (mOsm/l)															
Jour		J0	J0+24	J3	J3+24	J7	J7+24	J14	J14+24	J21	J21+24	J28	J28+24	J56	J56+24
Série 1	1	739,0	739,0	733,0	733,0	741,0	738,0	737,0	743,0	733,0	739,0	738,0	737,0	740,0	742,0
	2	741,0	736,0	737,0	734,0	738,0	736,0	741,0	741,0	737,0	737,0	741,0	736,0	738,0	745,0
	3	736,0	737,0	736,0	740,0	738,0	738,0	734,0	738,0	739,0	738,0	738,0	743,0	738,0	747,0
Série 2	4	737,0	743,0	733,0	740,0	734,0	737,0	734,0	736,0	739,0	739,0	734,0	759,0	731,0	736,0
	5	737,0	734,0	738,0	738,0	738,0	737,0	733,0	736,0	735,0	733,0	737,0	771,0	734,0	735,0
	6	736,0	736,0	738,0	738,0	734,0	738,0	736,0	737,0	741,0	734,0	733,0	777,0	735,0	739,0
Série 3	7	739,0	737,0	740,0	733,0	738,0	738,0	739,0	738,0	731,0	792,0	751,0	738,0	743,0	744,0
	8	744,0	739,0	734,0	736,0	737,0	738,0	737,0	750,0	738,0	800,0	739,0	740,0	745,0	734,0
	9	742,0	742,0	737,0	735,0	739,0	737,0	738,0	741,0	737,0	798,0	738,0	742,0	739,0	753,0
Moyenne		739,0	738,1	736,2	736,3	737,4	737,4	736,6	740,0	736,7	756,7	738,8	749,2	738,1	741,7
Ecart-type		2,8	2,9	2,4	2,8	2,2	0,7	2,6	4,5	3,2	30,1	5,2	15,7	4,4	6,3
Variation à J0		100,0	99,9	99,6	99,6	99,8	99,8	99,7	100,1	99,7	102,4	100,0	101,4	99,9	100,4

Analyse statistique de l'osmolalité de la formule « Standard »					
	J0-J28	J0-J56	J0-J0+24	J28-J28+24	J56-J56+24
IC <sub>VM</sub>	[-73,9 ; +73,9]		[-73,9 ; +73,9]	[-73,88 ; +73,88]	[-73,81 ; +73,81]
Différence des moyennes d <sub>μ</sub>	0,222	0,889	0,889	-10,444	-3,556
IC <sub>95μ</sub>	[-3,693 ; 4,137]	[-1,525 ; 3,303]	[-1,730 ; 3,508]	[-25,261 ; 4,372]	[-8,855 ; 1,744]

Mesures de l'osmolalité de la formule « Concentrée » aux différents temps (mOsm/l)															
Jour		J0	J0+24	J3	J3+24	J7	J7+24	J14	J14+24	J21	J21+24	J28	J28+24	J56	J56+24
Série 1	1	1038	1042,0	1040,0	1033,0	1036,0	1041,0	1038,0	1049,0	1037,0	1036,0	1033,0	1055,0	1047,0	1039,0
	2	1037	1039,0	1036,0	1030,0	1037,0	1033,0	1044,0	1046,0	1036,0	1038,0	1032,0	1044,0	1031,0	1037,0
	3	1033	1045,0	1041,0	1027,0	1033,0	1035,0	1043,0	1048,0	1038,0	1034,0	1033,0	1065,0	1038,0	1038,0
Série 2	4	1034	1033,0	1026,0	1031,0	1034,0	1035,0	1038,0	1033,0	1031,0	1023,0	1029,0	1009,0	1033,0	1042,0
	5	1039	1030,0	1031,0	1040,0	1044,0	1040,0	1029,0	1028,0	1029,0	1036,0	1035,0	1000,0	1028,0	1041,0
	6	1039	1043,0	1038,0	1035,0	1034,0	1028,0	1045,0	1030,0	1044,0	1031,0	1031,0	1014,0	1030,0	1030,0
Série 3	7	1051	1041,0	1049,0	1036,0	1035,0	1035,0	1034,0	1050,0	1027,0	1030,0	1029,0	1028,0	1031,0	1042,0
	8	1043	1044,0	1039,0	1039,0	1033,0	1034,0	1042,0	1048,0	1031,0	1032,0	1035,0	1037,0	1037,0	1058,0
	9	1041	1043,0	1041,0	1037,0	1027,0	1042,0	1036,0	1043,0	1030,0	1031,0	1048,0	1041,0	1042,0	1062,0
Moyenne		1039,4	1040,0	1037,9	1034,2	1034,8	1035,9	1038,8	1041,7	1033,7	1032,3	1033,9	1032,6	1035,2	1043,2
Ecart-type		5,341	5,2	6,5	4,3	4,5	4,4	5,3	8,8	5,4	4,4	5,7	21,7	6,3	10,2
Variation à J0		100	100,1	99,9	99,5	99,6	99,7	99,9	100,2	99,4	99,3	99,5	99,3	99,6	100,4

Analyse statistique de l'osmolalité de la formule « Concentrée »					
	J0-J28	J0-J56	J0-J0+24	J28-J28+24	J56-J56+24
IC <sub>VM</sub>	[-104 ; +104]		[-104 ; +104]	[-103,39 ; +103,39]	[-103,52 ; +103,52]
Différence des moyennes d <sub>μ</sub>	5,556	4,222	-0,556	1,333	-8
IC <sub>95μ</sub>	[-0,363 ; 11,474]	[-2,553 ; 10,998]	[-5,742 ; 4,631]	[-14,982 ; 17,648]	[-15,373 ; -0,627]

<b>Mesures de l'osmolalité de la formule « Croisière » aux différents temps (mOsm/l)</b>															
<b>Jour</b>		J0	J0+24	J3	J3+24	J7	J7+24	J14	J14+24	J21	J21+24	J28	J28+24	J56	J56+24
<b>Série 1</b>	1	1004,0	1009,0	1018,0	1014,0	1006,0	1010,0	1006,0	1012,0	1000,0	991,0	1017,0	1036,0	1006,0	1007,0
	2	1014,0	1008,0	1016,0	1000,0	999,0	1005,0	1008,0	1017,0	1005,0	1002,0	1008,0	1035,0	1000,0	1001,0
	3	1021,0	1013,0	1011,0	1006,0	1012,0	1006,0	1008,0	1007,0	1001,0	996,0	1010,0	1028,0	1012,0	1006,0
<b>Série 2</b>	4	1009,0	1010,0	1008,0	1019,0	1005,0	1009,0	985,0	999,0	1002,0	1007,0	1008,0	1004,0	996,0	990,0
	5	1010,0	1003,0	999,0	1000,0	999,0	1005,0	1004,0	990,0	1008,0	1007,0	1001,0	1005,0	1002,0	1001,0
	6	1006,0	1002,0	1007,0	1021,0	1005,0	1011,0	1000,0	998,0	999,0	1004,0	1001,0	1005,0	994,0	1000,0
<b>Série 3</b>	7	1011,0	1029,0	1009,0	1005,0	1007,0	1009,0	1006,0	1016,0	1006,0	1005,0	1006,0	1011,0	1014,0	1026,0
	8	1000,0	1007,0	1019,0	1012,0	1005,0	1004,0	1011,0	1011,0	1015,0	1000,0	1018,0	1002,0	1024,0	1007,0
	9	1005,0	1028,0	1010,0	1011,0	1009,0	994,0	955,0	1012,0	1012,0	995,0	1003,0	942,0	1008,0	1007,0
<b>Moyenne</b>		1008,9	1012,1	1010,8	1009,8	1005,2	1005,9	998,1	1006,9	1005,3	1000,8	1008,0	1007,6	1006,2	1005,0
<b>Ecart-type</b>		6,2	9,9	6,2	7,6	4,2	5,1	17,9	9,2	5,5	5,7	6,2	28,2	9,5	9,6
<b>Variation à J0</b>		100,0	100,3	100,2	100,1	99,6	99,7	98,9	99,8	99,6	99,2	99,9	99,9	99,7	99,6

<b>Analyse statistique de l'osmolalité de la formule « Croisière »</b>										
	J0-J28		J0-J56		J0-J0+24		J28-J28+24		J56-J56+24	
<b>IC<sub>VM</sub></b>	[-104 ; +104]		[-104 ; +104]		[-104 ; +104]		[-103,39 ; +103,39]		[-103,52 ; +103,52]	
<b>Différence des moyennes d<sub>μ</sub></b>	0,889		2,667		-3,222		0,444		1,222	
<b>IC<sub>95μ</sub></b>	[-6,696 ; 8,473]		[-6,700 ; 12,034]		[-11,814 ; 5,370]		[-19,641 ; 20,530]		[-5,043 ; 7,488]	

Mesures de l'osmolalité de la formule « Intermédiaire » aux différents temps (mOsm/l)															
Jour		J0	J0+24	J3	J3+24	J7	J7+24	J14	J14+24	J21	J21+24	J28	J28+24	J56	J56+24
Série 1	1	939,0	961,0	940,0	948,0	953,0	937,0	940,0	944,0	944,0	932,0	945,0	967,0	938,0	939,0
	2	940,0	951,0	941,0	946,0	948,0	942,0	944,0	953,0	935,0	938,0	951,0	972,0	952,0	948,0
	3	940,0	968,0	941,0	944,0	953,0	938,0	937,0	938,0	939,0	938,0	947,0	979,0	948,0	934,0
Série 2	4	953,0	941,0	939,0	956,0	931,0	944,0	948,0	934,0	945,0	949,0	938,0	937,0	937,0	941,0
	5	953,0	945,0	949,0	952,0	936,0	949,0	950,0	931,0	937,0	949,0	942,0	940,0	931,0	932,0
	6	948,0	934,0	949,0	952,0	938,0	941,0	944,0	932,0	939,0	941,0	942,0	947,0	941,0	961,0
Série 3	7	939,0	958,0	943,0	938,0	935,0	931,0	944,0	953,0	942,0	938,0	943,0	942,0	949,0	947,0
	8	935,0	941,0	949,0	938,0	940,0	935,0	941,0	950,0	938,0	934,0	949,0	946,0	945,0	941,0
	9	936,0	951,0	958,0	937,0	934,0	924,0	944,0	946,0	958,0	928,0	943,0	938,0	954,0	942,0
Moyenne		942,6	950,0	945,4	945,7	940,9	937,9	943,6	942,3	941,9	938,6	944,4	952,0	943,9	942,8
Ecart-type		6,9	10,9	6,2	7,0	8,3	7,4	3,9	8,8	6,9	7,1	4,0	16,1	7,7	8,6
Variation à J0		100,0	100,8	100,3	100,3	99,8	99,5	100,1	100,0	99,9	99,6	100,2	101,0	100,1	100,0

Analyse statistique de l'osmolalité de la formule « Intermédiaire »										
	J0-J28		J0-J56		J0-J0+24		J28-J28+24		J56-J56+24	
IC <sub>VM</sub>	[-94,26 ; +94,26]		[-94,26 ; +94,26]		[-94,26 ; +94,26]		[-94,44 ; +94,44]		[-94,39 ; + 94,39]	
Différence des moyennes d <sub>μ</sub>	-1,889		-1,333		-7,444		-7,556		1,111	
IC <sub>95μ</sub>	[-9,656 ; 5,879]		[-11,880 ; 9,213]		[-19,341 ; 4,452]		[-18,082 ; 2,971]		[-6,493 ; 8,715]	

## Annexe 6 : résultats des mesures du pH

<b>Mesures du pH de la série 3 de la formule « Standard » aux différents temps</b>															
<b>Jour</b>		J0	J0+24	J3	J3+24	J7	J7+24	J14	J14+24	J21	J21+24	J28	J28+24	J56	J56+24
<b>Série 3</b>	7	6,31	6,31	6,67	6,65	6,64	6,63	6,84	6,68	6,58	6,55	6,64	6,57	6,46	6,44
	8	6,51	6,51	6,68	6,63	6,76	6,70	6,76	6,65	6,63	6,60	6,64	6,50	6,46	6,45
	9	6,46	6,46	6,57	6,47	6,76	6,68	6,79	6,64	6,62	6,59	6,64	6,61	6,47	6,34
<b>Moyenne</b>		6,43	6,43	6,64	6,58	6,72	6,67	6,80	6,65	6,61	6,58	6,64	6,56	6,46	6,41
<b>Ecart-type</b>		0,10	0,10	0,06	0,10	0,07	0,03	0,04	0,02	0,03	0,03	0,00	0,06	0,01	0,06
<b>Variation à J0</b>		100,00	100,00	103,34	102,38	104,52	103,76	105,78	103,51	102,79	102,38	103,35	102,05	100,57	99,74

<b>Mesures du pH de la série 3 de la formule « Concentrée » aux différents temps</b>															
<b>Jour</b>		J0	J0+24	J3	J3+24	J7	J7+24	J14	J14+24	J21	J21+24	J28	J28+24	J56	J56+24
<b>Série 3</b>	7	6,41	6,41	6,47	6,52	6,63	6,60	6,67	6,53	6,49	6,59	6,56	6,42	6,33	6,47
	8	6,39	6,39	6,50	6,44	6,61	6,62	6,54	6,48	6,49	6,41	6,60	6,61	6,33	6,34
	9	6,34	6,34	6,40	6,44	6,61	6,59	6,69	6,56	6,52	6,59	6,64	6,54	6,34	6,34
<b>Moyenne</b>		6,38	6,38	6,46	6,46	6,61	6,61	6,63	6,53	6,50	6,53	6,60	6,52	6,33	6,38
<b>Ecart-type</b>		0,04	0,04	0,05	0,05	0,01	0,02	0,08	0,04	0,01	0,10	0,04	0,10	0,01	0,08
<b>Variation à J0</b>		100,00	100,00	101,24	101,29	103,65	103,57	103,93	102,31	101,91	102,34	103,46	102,21	99,27	100,05

<b>Mesures du pH de la série 3 de la formule « Croisière » aux différents temps</b>															
<b>Jour</b>		J0	J0+24	J3	J3+24	J7	J7+24	J14	J14+24	J21	J21+24	J28	J28+24	J56	J56+24
<b>Série 3</b>	7	6,41	6,41	6,47	6,52	6,63	6,60	6,67	6,53	6,49	6,59	6,56	6,42	6,33	6,47
	8	6,39	6,39	6,50	6,44	6,61	6,62	6,54	6,48	6,49	6,41	6,60	6,61	6,33	6,34
	9	6,34	6,34	6,40	6,44	6,61	6,59	6,69	6,56	6,52	6,59	6,64	6,54	6,34	6,34
<b>Moyenne</b>		6,38	6,38	6,46	6,46	6,61	6,61	6,63	6,53	6,50	6,53	6,60	6,52	6,33	6,38
<b>Ecart-type</b>		0,04	0,04	0,05	0,05	0,01	0,02	0,08	0,04	0,01	0,10	0,04	0,10	0,01	0,08
<b>Variation à J0</b>		100,00	100,00	101,28	102,07	103,06	101,92	103,83	101,67	102,01	100,30	102,50	100,64	99,01	99,01

<b>Mesures du pH de la série 3 de la formule « Intermédiaire » aux différents temps</b>															
<b>Jour</b>		J0	J0+24	J3	J3+24	J7	J7+24	J14	J14+24	J21	J21+24	J28	J28+24	J56	J56+24
<b>Série 3</b>	7	6,39	6,39	6,49	6,48	6,62	6,51	6,53	6,58	6,45	6,43	6,60	6,49	6,33	6,32
	8	6,33	6,33	6,49	6,55	6,52	6,56	6,56	6,55	6,49	6,48	6,51	6,48	6,32	6,33
	9	6,37	6,37	6,49	6,53	6,52	6,47	6,55	6,47	6,41	6,29	6,59	6,41	6,31	6,32
<b>Moyenne</b>		6,36	6,36	6,49	6,52	6,55	6,52	6,55	6,54	6,45	6,40	6,57	6,46	6,32	6,32
<b>Ecart-type</b>		0,03	0,03	0,00	0,04	0,06	0,05	0,02	0,06	0,04	0,10	0,05	0,04	0,01	0,01
<b>Variation à J0</b>		100,00	100,00	102,02	102,40	102,91	102,41	102,89	102,74	101,43	100,56	103,20	101,48	99,32	99,37

## Annexe 7 : résultats des dosages de sodium et analyses statistiques

Dosages du sodium de la formule « Standard » au différents temps (mmol/l)															
Jour		J0	J0+24	J3	J3+24	J7	J7+24	J14	J14+24	J21	J21+24	J28	J28+24	J56	J56+24
Série 1	1	28,4	29,5	31,0	29,1	29,4	30,3	28,7	27,7	31,6	29,9	27,3	30,3	28,8	30,7
	2	29,6	30,9	29,9	31,4	29,6	30,9	29,9	29,3	30,3	30,2	26,4	29,0	29,5	29,1
	3	28,5	29,5	30,9	29,0	30,2	30,4	29,9	29,0	31,2	29,8	26,8	29,1	29,9	30,5
Série 2	4	29,3	29,6	27,1	29,0	28,4	29,4	30,2	32,2	28,5	29,7	28,5	28,8	29,2	28,1
	5	28,9	30,6	27,1	29,0	28,7	30,0	30,9	32,6	28,6	32,6	28,9	29,9	28,9	27,7
	6	28,6	30,7	27,4	28,8	28,6	30,6	30,6	30,8	28,9	29,3	29,0	29,6	29,4	28,6
Série 3	7	29,5	29,8	30,2	28,0	31,5	30,6	29,5	28,9	30,8	29,2	29,6	29,0	27,2	28,2
	8	30,7	29,3	32,4	29,3	32,2	32,1	30,4	29,7	29,7	30,1	29,7	30,1	27,8	29,9
	9	30,9	30,6	30,9	28,4	31,6	31,4	31,8	29,7	30,5	31,8	29,9	30,0	28,6	29,7
Moyenne		29,4	30,1	29,7	29,1	30,0	30,6	30,2	30,0	30,0	30,3	28,5	29,5	28,8	29,2
Ecart-type		0,9	0,6	2,0	1,0	1,4	0,8	0,9	1,6	1,1	1,2	1,3	0,6	0,9	1,1
Variation à J0		100,0	102,4	101,0	99,1	102,2	104,3	102,8	102,1	102,2	103,1	96,9	100,5	98,1	101,2

Analyse statistique du sodium de la formule « Standard »					
	J0-J28	J0-J56	J0-J0+24	J28-J28+24	J56-J56+24
IC <sub>VM</sub>	[-2,94 ; +2,94]		[-2,94 ; +2,94]	[-2,85 ; +2,85]	[-2,88 ; +2,88]
Différence des moyennes d <sub>μ</sub>	0,920	0,564	-0,691	-1,071	-0,352
IC <sub>95μ</sub>	[0,076 ; 1,764]	[-0,621 ; 1,750]	[-1,505 ; 0,122]	[-2,038 ; -0,104]	[-1,331 ; 0,627]



Dosages du sodium de la formule « Concentrée » au différents temps (mmol/l)															
Jour		J0	J0+24	J3	J3+24	J7	J7+24	J14	J14+24	J21	J21+24	J28	J28+24	J56	J56+24
Série 1	1	33,0	33,1	32,6	31,7	30,1	33,6	31,9	31,3	33,7	34,5	30,8	30,9	32,4	33,4
	2	31,8	32,2	33,8	32,0	32,7	34,2	30,6	31,3	34,0	33,6	31,3	32,4	33,9	33,1
	3	32,4	32,0	33,1	31,8	32,2	34,2	32,4	32,5	34,4	33,8	29,3	34,5	33,0	34,6
Série 2	4	33,2	33,1	31,1	31,0	31,1	31,7	34,8	34,0	29,7	32,3	31,0	35,5	31,7	31,2
	5	33,4	32,7	29,9	33,7	31,1	32,0	33,6	33,2	31,2	32,1	32,6	33,9	32,4	31,6
	6	34,0	32,5	29,2	30,6	32,2	31,7	34,0	35,0	30,9	32,1	33,8	33,0	31,9	31,4
Série 3	7	30,6	34,3	33,7	32,2	35,1	34,4	32,6	33,4	33,0	33,3	33,1	32,8	31,5	32,4
	8	32,3	31,6	34,6	32,1	35,0	34,9	32,8	32,1	33,7	33,6	32,7	33,6	31,3	32,3
	9	32,7	32,7	34,2	32,2	35,5	34,9	35,5	32,0	33,8	33,9	33,5	33,4	31,3	34,2
Moyenne		32,6	32,7	32,5	31,9	32,8	33,5	33,1	32,8	32,7	33,3	32,0	33,3	32,2	32,7
Ecart-type		1,0	0,8	1,9	0,9	2,0	1,3	1,5	1,3	1,7	0,9	1,5	1,3	0,9	1,2
Variation à J0		100,0	100,2	99,6	97,9	100,5	102,8	101,6	100,5	100,3	102,0	98,2	102,2	98,6	100,3

Analyse statistique du sodium de la formule « Concentrée »										
	J0-J28		J0-J56		J0-J0+24		J28-J28+24		J56-J56+24	
IC <sub>VM</sub>	[-3,26 ; +3,26]		[-3,26 ; +3,26]		[-3,2 ; +3,2]		[-3,2 ; +3,2]		[-3,22 ; +3,22]	
Différence des moyennes d <sub>μ</sub>	0,599		0,451		-0,079		-1,330		-0,533	
IC <sub>95μ</sub>	[-0,749 ; 1,946]		[-0,586 ; 1,488]		[-1,215 ; 1,057]		[-2,967 ; 0,307]		[-1,513 ; 0,447]	

Dosages du sodium de la formule « Croisière » au différents temps (mmol/l)															
Jour		J0	J0+24	J3	J3+24	J7	J7+24	J14	J14+24	J21	J21+24	J28	J28+24	J56	J56+24
Série 1	1	28,2	27,7	28,6	27,1	27,5	29,0	27,2	27,3	28,5	28,5	27,4	27,3	28,4	28,2
	2	28,0	26,4	27,1	28,0	27,7	27,6	26,8	27,8	29,7	29,5	27,0	27,7	28,5	28,3
	3	26,9	28,2	27,6	27,6	26,9	28,5	26,4	27,2	29,0	28,0	25,0	27,4	28,7	27,8
Série 2	4	27,6	28,0	25,9	26,9	26,9	28,2	29,8	31,1	27,0	27,4	28,2	28,4	27,2	25,9
	5	26,5	28,0	25,6	31,0	26,9	27,7	30,4	30,3	27,2	28,2	29,0	28,5	27,7	26,7
	6	26,2	27,3	25,4	28,4	26,4	27,6	30,6	29,0	27,0	28,2	28,7	29,0	27,0	30,0
Série 3	7	27,3	27,5	28,9	27,0	30,1	30,3	25,1	27,5	29,4	28,1	28,9	28,2	26,1	29,3
	8	27,9	27,2	28,6	25,9	28,8	29,5	26,3	27,0	29,5	28,7	28,2	27,9	26,8	27,7
	9	27,7	27,8	29,3	26,6	28,2	29,1	26,1	27,9	29,3	28,6	29,4	27,6	25,2	27,0
Moyenne		27,4	27,6	27,4	27,6	27,7	28,6	27,6	28,3	28,5	28,4	28,0	28,0	27,3	27,9
Ecart-type		0,7	0,5	1,5	1,5	1,2	0,9	2,1	1,4	1,1	0,6	1,4	0,6	1,2	1,3
Variation à J0		100,0	100,7	100,2	100,9	101,2	104,5	101,0	103,5	104,2	103,6	102,2	102,3	99,7	101,8

Analyse statistique du sodium de la formule « Croisière »										
	J0-J28		J0-J56		J0-J0+24		J28-J28+24		J56-J56+24	
IC <sub>VM</sub>	[-2,74 ; +2,74]		[-2,74 ; +2,74]		[-2,8 ; +2,8]		[-2,73 ; +2,73]			
Différence des moyennes d <sub>μ</sub>	-0,601		0,088		-0,196		-0,022		-0,589	
IC <sub>95μ</sub>	[-1,836 ; 0,635]		[-0,943 ; 1,120]		[-0,978 ; 0,587]		[-0,901 ; 0,857]		[-1,913 ; 0,735]	

<b>Dosages du sodium de la formule « Intermédiaire » au différents temps (mmol/l)</b>															
<b>Jour</b>		J0	J0+24	J3	J3+24	J7	J7+24	J14	J14+24	J21	J21+24	J28	J28+24	J56	J56+24
<b>Série 1</b>	1	27,3	24,76	26,6	27,7	26,9	27,7	27,2	26,5	28,793	28,231	26,6	25,8	28,9	28,7
	2	27,8	28,5	26,9	25,5	27,8	28,2	26,5	27,2	29,014	28,677	28,7	27,2	29,1	27,9
	3	27,1	27,3	27,4	27,2	27,01	27,9	26,5	27,3	28,197	28,763	26,2	27,02	29	28,6
<b>Série 2</b>	4	26,4	27,6	24,9	30,6	27,3	28,206	29,7	28,56	27,4	27,3	29,5	29,1	27,6	26,7
	5	26,6	27,8	25,3	27,2	26,7	26,912	29,3	29,646	27,3	27,7	28,6	28,6	27,6	27,3
	6	25,4	27,4	24,09	26,3	26,5	27,748	29,3	28,089	27,3	27,3	29	28,9	28	26,1
<b>Série 3</b>	7	27,3	26,162	28,896	26,6	29,6	28,829	28,15	26,5	29,2	28,5	27,8	27,9	25,7	26,7
	8	26,8	26,174	27,783	26,15	29,8	29,063	26,7	27,1	28,8	28,5	28,8	28,4	25,4	26,8
	9	28,1	26,305	28,514	26,8	28,7	30,349	29,5	27,6	28,9	28,5	27,7	28,2	26,3	27,5
<b>Moyenne</b>		27,0	26,9	26,7	27,1	27,8	28,3	28,1	27,6	28,3	28,2	28,1	27,9	27,5	27,4
<b>Ecart-type</b>		0,8	1,1	1,7	1,5	1,3	1,0	1,4	1,0	0,8	0,6	1,1	1,1	1,4	0,9
<b>Variation à J0</b>		100,0	99,7	99,0	100,5	103,1	105,0	104,2	102,4	105,0	104,4	104,2	103,4	102,0	101,5

<b>Analyse statistique du sodium de la formule « Intermédiaire »</b>										
	J0-J28		J0-J56		J0-J0+24		J28-J28+24		J56-J56+24	
<b>IC<sub>VM</sub></b>	[-2,7 ; +2,7]		[-2,7 ; +2,7]		[-2,7 ; +2,7]		[-2,81 ; +2,81]		[-2,75 ; +2,75]	
<b>Différence des moyennes d<sub>μ</sub></b>	-1,128		-0,539		0,083		0,198		0,144	
<b>IC<sub>95μ</sub></b>	[-2,390 ; 0,134]		[-1,825 ; 0,747]		[-1,093 ; 1,259]		[-0,332 ; 0,728]		[-0,730 ; 1,019]	

## Annexe 8 : résultats des dosages de potassium et analyses statistiques

Dosages du potassium de la formule « Standard » au différents temps (mmol/l)															
Jour		J0	J0+24	J3	J3+24	J7	J7+24	J14	J14+24	J21	J21+24	J28	J28+24	J56	J56+24
Série 1	1	20,8	20,8	21,9	21,1	21,4	22,4	21,9	20,5	22,6	21,1	20,6	21,8	20,8	21,7
	2	21,7	21,8	21,1	22,5	21,5	22,4	22,9	21,6	21,9	21,4	20,0	21,2	21,3	21,0
	3	20,9	21,0	22,0	21,0	21,9	22,2	22,8	21,6	22,8	21,4	19,2	21,3	21,4	22,0
Série 2	4	21,3	21,7	20,0	20,6	21,4	21,1	21,4	22,8	20,1	21,3	20,5	20,2	21,1	20,5
	5	20,6	21,8	19,3	20,7	21,4	21,3	21,7	22,7	20,7	23,0	20,7	20,7	20,5	20,2
	6	20,0	21,9	20,0	20,0	21,2	21,9	21,5	21,1	20,9	20,7	20,6	20,5	20,5	20,4
Série 3	7	21,6	21,8	21,8	20,8	22,7	21,8	22,2	21,0	22,5	20,8	21,6	20,8	20,1	20,4
	8	22,3	21,5	23,0	21,5	23,3	22,5	22,3	21,6	21,7	21,4	21,2	21,4	20,3	21,2
	9	22,8	22,5	22,5	21,1	22,8	22,3	23,4	21,6	22,3	22,4	21,6	21,4	20,8	20,9
Moyenne		21,3	21,6	21,3	21,0	22,0	22,0	22,2	21,6	21,7	21,5	20,7	21,0	20,8	20,9
Ecart-type		0,9	0,5	1,3	0,7	0,8	0,5	0,7	0,7	0,9	0,7	0,8	0,5	0,4	0,6
Variation à J0		100,0	101,5	99,8	98,6	102,9	103,1	104,3	101,3	101,9	100,8	96,9	98,6	97,3	98,1

Analyse statistique du potassium de la formule « Standard »										
	J0-J28		J0-J56		J0-J0+24		J28-J28+24		J56-J56+24	
IC <sub>VM</sub>	[-2,13 ; +2,13]		[-2,13 ; +2,13]		[-2,13 ; +2,13]		[-2,07 ; +2,07]		[-2,08 ; +2,08]	
Différence des moyennes d <sub>μ</sub>	0,660		0,569		-0,313		-0,371		-0,164	
IC <sub>95μ</sub>	[0,018 ; 1,302]		[-0,206 ; 1,344]		[-0,932 ; 0,307]		[-1,088 ; 0,346]		[-0,586 ; 0,258]	

Dosages du potassium de la formule « Concentrée » au différents temps (mmol/l)															
Jour		J0	J0+24	J3	J3+24	J7	J7+24	J14	J14+24	J21	J21+24	J28	J28+24	J56	J56+24
Série 1	1	29,6	33,1	32,6	31,7	26,0	30,6	30,2	29,0	31,4	30,9	27,9	27,9	28,7	29,4
	2	28,8	32,2	33,8	32,0	28,1	31,2	32,2	28,8	30,5	29,4	27,7	29,0	30,3	29,3
	3	29,6	32,0	33,1	31,8	28,1	31,2	30,6	29,7	31,3	30,6	26,0	30,8	29,2	30,8
Série 2	4	28,6	29,8	29,2	29,4	29,6	29,2	31,9	30,2	27,4	29,4	28,2	31,4	27,7	27,4
	5	28,8	29,7	28,3	31,6	29,5	29,3	30,5	29,4	29,0	28,7	29,9	29,9	28,3	27,6
	6	29,4	29,8	27,4	28,0	30,7	30,2	30,7	31,4	28,2	29,0	30,5	29,4	28,0	27,7
Série 3	7	33,0	31,9	29,8	30,2	31,9	29,9	29,6	30,0	30,3	29,2	29,9	29,0	29,0	27,9
	8	30,5	29,2	31,2	30,7	31,8	31,3	30,5	29,2	31,2	29,6	29,2	30,2	28,6	28,6
	9	30,3	30,2	30,5	29,7	31,2	30,2	31,8	28,9	30,9	29,7	29,7	29,3	28,3	28,9
Moyenne		29,8	30,9	30,7	30,6	29,7	30,4	30,9	29,6	30,0	29,6	28,8	29,7	28,7	28,6
Ecart-type		1,4	1,4	2,2	1,4	2,0	0,8	0,9	0,8	1,5	0,7	1,4	1,0	0,8	1,1
Variation à J0		100,0	103,5	102,7	102,4	99,4	101,7	103,5	99,3	100,6	99,2	96,4	99,4	96,1	95,9

Analyse statistique du potassium de la formule « Concentrée »										
	J0-J28		J0-J56		J0-J0+24		J28-J28+24		J56-J56+24	
IC <sub>VM</sub>	[-2,98 ; +2,98]		[-2,98 ; +2,98]		[-2,98 ; +2,98]		[-2,88 ; +2,88]		[-2,87 ; +2,87]	
Différence des moyennes d <sub>μ</sub>	1,063		1,222		-1,038		-0,881		0,056	
IC <sub>95μ</sub>	[-0,180 ; 2,307]		[-0,154 ; 2,598]		[-2,388 ; 0,311]		[-2,401 ; 0,639]		[-0,625 ; 0,736]	

Dosages du potassium de la formule « Croisière » au différents temps (mmol/l)															
Jour		J0	J0+24	J3	J3+24	J7	J7+24	J14	J14+24	J21	J21+24	J28	J28+24	J56	J56+24
Série 1	1	14,5	14,0	14,6	14,1	14,7	15,2	14,8	13,9	14,9	14,3	13,8	14,3	14,7	14,8
	2	14,5	13,3	13,6	14,4	14,8	14,4	14,6	14,5	15,3	14,7	13,4	14,4	14,7	14,4
	3	14,0	14,0	14,0	14,3	14,4	14,9	14,3	13,9	14,6	14,2	13,5	13,9	14,8	14,4
Série 2	4	14,7	14,8	13,1	13,4	14,4	14,5	15,1	15,6	13,4	14,2	14,7	14,7	14,6	14,4
	5	14,0	14,5	12,9	15,2	14,2	14,3	15,1	14,8	13,5	14,3	14,6	14,2	14,5	14,5
	6	13,9	13,9	12,7	13,5	14,0	13,8	15,3	13,8	13,3	14,3	15,0	14,4	14,3	16,0
Série 3	7	13,8	14,3	14,8	14,1	15,2	15,3	13,9	14,6	15,3	14,8	15,1	14,6	13,7	15,3
	8	14,3	13,9	14,5	13,8	14,8	14,9	14,2	14,2	15,3	14,5	14,6	14,7	13,8	14,7
	9	13,8	14,7	15,1	14,0	14,2	14,5	13,9	14,6	15,4	14,7	15,2	14,3	13,2	14,5
Moyenne		14,2	14,2	13,9	14,1	14,5	14,6	14,6	14,4	14,6	14,4	14,4	14,4	14,3	14,8
Ecart-type		0,3	0,5	0,9	0,5	0,4	0,5	0,6	0,6	0,9	0,2	0,7	0,3	0,6	0,5
Variation à J0		100,0	100,0	98,3	99,5	102,6	103,5	102,9	101,9	102,8	102,0	101,9	101,6	100,7	104,4

Analyse statistique du potassium de la formule « Croisière »										
	J0-J28		J0-J56		J0-J0+24		J28-J28+24		J56-J56+24	
IC <sub>VM</sub>	[-1,42 ; +1,42]		[-1,42 ; +1,42]		[-1,42 ; +1,42]		[-1,44 ; +1,44]		[-1,43 ; +1,43]	
Différence des moyennes d <sub>μ</sub>	-0,274		-0,096		0,006		0,044		-0,522	
IC <sub>95μ</sub>	[-0,982 ; 0,433]		[-0,454 ; 0,262]		[-0,477 ; 0,488]		[-0,425 ; 0,514]		[-1,176 ; 0,132]	

Dosages du potassium de la formule « Intermédiaire » au différents temps (mmol/l)															
Jour		J0	J0+24	J3	J3+24	J7	J7+24	J14	J14+24	J21	J21+24	J28	J28+24	J56	J56+24
Série 1	1	14,6	13,1	13,7	14,5	14,7	14,9	15,0	14,0	15,1	14,6	13,8	13,7	15,1	15,0
	2	14,7	14,9	14,0	13,3	15,3	15,0	14,6	14,4	15,4	14,1	14,9	14,5	15,4	14,5
	3	14,2	14,4	14,0	14,3	14,7	15,0	14,7	14,0	14,9	14,9	13,7	14,2	15,1	14,8
Série 2	4	14,1	14,6	13,0	14,9	14,6	14,6	15,2	14,3	13,5	14,4	14,8	14,7	14,9	14,7
	5	14,2	14,5	13,2	13,8	14,6	14,0	15,1	15,0	13,6	14,4	14,9	14,3	15,1	15,0
	6	13,6	14,5	12,7	13,0	14,2	14,1	14,6	14,2	13,6	14,4	15,1	14,8	15,1	14,6
Série 3	7	14,2	13,9	15,0	14,4	15,5	15,0	15,3	14,2	15,6	15,1	15,0	14,6	13,6	14,8
	8	14,1	14,0	14,6	14,3	15,8	15,1	14,7	14,8	15,5	14,9	15,3	14,8	13,8	14,6
	9	14,5	13,8	14,8	14,3	15,2	15,6	15,8	14,6	15,3	14,8	15,2	14,6	13,9	14,8
Moyenne		14,2	14,2	13,9	14,1	15,0	14,8	15,0	14,4	14,7	14,6	14,7	14,5	14,7	14,8
Ecart-type		0,3	0,5	0,8	0,6	0,5	0,5	0,4	0,3	0,9	0,3	0,6	0,4	0,7	0,2
Variation à J0		100,0	99,6	97,4	98,9	105,0	104,1	105,3	101,0	103,4	102,7	103,5	101,6	103,0	103,6

Analyse statistique du potassium de la formule « Intermédiaire »										
	J0-J28		J0-J56		J0-J0+24		J28-J28+24		J56-J56+24	
IC <sub>VM</sub>	[-1,42 ; +1,42]		[-1,42 ; +1,42]		[-1,42 ; +1,42]		[-1,47 ; +1,47]		[-1,47 ; +1,47]	
Différence des moyennes d <sub>μ</sub>	-0,503		-0,426		0,059		0,278		-0,093	
IC <sub>95μ</sub>	[-1,088 ; 0,081]		[-0,999 ; 0,148]		[-0,498 ; 0,615]		[0,012 ; 0,543]		[-0,638 ; 0,451]	

## Annexe 9 : résultats des dosages de calcium et analyses statistiques

Dosages du calcium de la formule « Standard » au différents temps (mmol/l)															
Jour		J0	J0+24	J3	J3+24	J7	J7+24	J14	J14+24	J21	J21+24	J28	J28+24	J56	J56+24
Série 1	1	14,0	14,7	14,8	14,4	14,6	14,6	14,8	13,7	15,8	15,0	14,6	15,2	14,7	15,4
	2	14,3	15,7	14,5	15,2	14,4	15,0	14,9	14,0	14,8	14,8	13,9	14,4	14,7	15,3
	3	14,0	15,3	14,5	14,3	14,8	14,7	14,7	14,0	15,2	14,6	13,8	14,7	14,6	15,7
Série 2	4	14,6	14,7	13,8	14,3	14,8	14,4	14,9	16,0	14,2	15,0	14,1	14,4	13,9	13,1
	5	14,2	14,5	13,9	14,5	14,6	14,5	14,9	16,2	14,7	16,4	14,5	14,8	14,0	14,3
	6	14,2	14,8	13,9	14,2	15,0	14,7	15,0	15,0	14,6	14,6	14,4	15,0	14,4	14,7
Série 3	7	14,6	14,5	14,6	14,6	15,7	15,2	14,8	14,8	14,6	14,3	14,8	14,2	14,0	14,1
	8	15,2	14,1	15,2	14,4	15,7	15,6	15,7	14,7	14,2	14,7	14,8	14,5	14,0	14,3
	9	15,0	14,5	14,6	14,2	14,8	15,0	15,9	14,7	14,5	15,5	14,8	14,4	14,3	14,2
Moyenne		14,5	14,8	14,4	14,5	14,9	14,9	15,1	14,8	14,7	15,0	14,4	14,6	14,3	14,6
Ecart-type		0,4	0,5	0,5	0,3	0,5	0,4	0,4	0,9	0,5	0,6	0,4	0,3	0,3	0,8
Variation à J0		100,0	102,0	99,7	99,9	103,2	102,7	104,2	102,3	101,9	103,7	99,6	101,1	98,8	100,7

Analyse statistique du calcium de la formule « Standard »										
	J0-J28		J0-J56		J0-J0+24		J28-J28+24		J56-J56+24	
IC <sub>VM</sub>	[-1,45 ; +1,45]		[-1,45 ; +1,45]		[-1,45 ; +1,45]		[-1,44 ; +1,44]		[-1,43 ; +1,43]	
Différence des moyennes d <sub>μ</sub>	0,051		0,173		-0,292		-0,211		-0,278	
IC <sub>95μ</sub>	[-0,238 ; 0,341]		[-0,344 ; 0,691]		[-0,917 ; 0,333]		[-0,611 ; 0,189]		[-0,690 ; 0,134]	



Dosages du calcium de la formule « Concentrée » au différents temps (mmol/l)															
Jour		J0	J0+24	J3	J3+24	J7	J7+24	J14	J14+24	J21	J21+24	J28	J28+24	J56	J56+24
Série 1	1	17,7	17,3	16,5	16,0	15,9	17,0	17,0	15,9	17,4	17,8	16,5	16,4	16,7	17,9
	2	16,8	17,3	17,0	15,9	16,5	17,2	16,9	15,9	17,3	17,1	16,9	16,8	16,8	17,8
	3	16,8	17,4	16,4	16,0	16,5	17,2	17,2	16,5	17,7	17,0	15,8	17,8	16,8	18,6
Série 2	4	16,4	16,9	16,5	16,2	17,0	16,6	18,6	17,9	16,5	17,5	16,6	18,8	16,4	16,7
	5	16,3	17,3	15,8	17,0	17,5	16,8	17,5	17,7	16,8	17,3	17,2	17,9	16,5	16,8
	6	16,3	17,5	15,7	16,5	17,6	17,2	17,8	18,3	16,6	17,2	17,0	17,3	16,4	16,9
Série 3	7	17,1	17,6	17,0	17,4	17,8	17,6	17,5	17,2	16,7	17,0	17,2	16,5	16,6	16,1
	8	16,8	16,5	17,4	17,3	18,5	18,2	17,5	17,0	16,9	17,4	17,3	16,9	16,6	16,4
	9	17,1	17,3	17,0	17,0	17,8	17,6	19,1	16,8	17,2	17,2	17,6	17,2	16,4	16,8
Moyenne		16,8	17,2	16,6	16,6	17,2	17,3	17,7	17,0	17,0	17,3	16,9	17,3	16,6	17,1
Ecart-type		0,5	0,3	0,6	0,6	0,8	0,5	0,7	0,9	0,4	0,2	0,5	0,8	0,2	0,8
Variation à J0		100,0	102,5	98,7	98,7	102,5	102,7	105,1	101,3	101,2	102,8	100,6	102,8	98,6	101,8

Analyse statistique du calcium de la formule « Concentrée »										
	J0-J28		J0-J56		J0-J0+24		J28-J28+24		J56-J56+24	
IC <sub>VM</sub>	[-1,68 ; +1,68]		[-1,68 ; +1,68]		[-1,68 ; +1,68]		[-1,69 ; +1,69]		[-1,66 ; +1,66]	
Différence des moyennes d <sub>μ</sub>	-0,093		0,233		-0,418		-0,384		-0,533	
IC <sub>95μ</sub>	[-0,648 ; 0,462]		[-0,084 ; 0,551]		[-0,829 ; -0,007]		[-1,195 ; 0,426]		[-1,077 ; 0,010]	

Dosages du calcium de la formule « Croisière » au différents temps (mmol/l)															
Jour		J0	J0+24	J3	J3+24	J7	J7+24	J14	J14+24	J21	J21+24	J28	J28+24	J56	J56+24
Série 1	1	11,8	12,5	11,9	11,6	11,6	12,0	12,1	11,3	11,6	11,8	11,5	11,7	11,9	12,6
	2	12,1	12,3	11,7	11,8	11,8	11,5	12,1	11,6	12,7	12,4	11,8	12,0	12,1	12,4
	3	11,9	12,5	11,7	11,8	11,6	11,9	12,0	11,4	12,4	11,9	11,3	12,2	12,1	12,4
Série 2	4	12,2	12,0	11,2	11,8	12,0	11,8	12,2	13,2	11,6	12,0	11,8	12,0	11,4	11,6
	5	11,6	11,7	11,9	13,5	12,2	11,5	13,2	13,0	11,8	12,3	11,8	12,1	11,5	11,9
	6	11,4	12,2	11,3	12,4	11,9	11,6	13,0	12,0	11,7	12,4	12,2	12,1	11,5	13,2
Série 3	7	11,7	11,4	12,1	11,9	12,5	12,4	11,7	12,0	11,8	12,0	12,5	12,0	11,4	12,5
	8	12,4	11,4	12,2	11,9	12,4	12,3	12,1	11,8	12,0	12,1	12,4	12,0	11,6	11,6
	9	12,2	11,7	12,4	12,1	12,0	12,3	11,9	12,4	11,9	12,1	13,0	12,4	11,5	11,4
Moyenne		11,9	12,0	11,8	12,1	12,0	11,9	12,3	12,1	12,0	12,1	12,0	12,1	11,7	12,2
Ecart-type		0,3	0,4	0,4	0,6	0,3	0,4	0,5	0,7	0,4	0,2	0,5	0,2	0,3	0,6
Variation à J0		100,0	100,4	99,2	101,3	100,7	100,0	102,8	101,4	100,2	101,5	100,9	101,1	97,9	102,1

Analyse statistique du calcium de la formule « Croisière »										
	J0-J28		J0-J56		J0-J0+24		J28-J28+24		J56-J56+24	
IC <sub>VM</sub>	[-1,22 ; +1,22]		[-1,22 ; +1,22]		[-1,22 ; +1,22]		[-1,21 ; +1,21]		[-1,17 ; +1,17]	
Différence des moyennes d <sub>μ</sub>	0,255		-0,110		-0,045		-0,026		-0,511	
IC <sub>95μ</sub>	[-0,060 ; 0,570]		[-0,553 ; 0,332]		[-0,506 ; 0,416]		[-0,398 ; 0,347]		[-0,952 ; -0,070]	

Dosages du calcium de la formule « Intermédiaire » au différents temps (mmol/l)															
Jour		J0	J0+24	J3	J3+24	J7	J7+24	J14	J14+24	J21	J21+24	J28	J28+24	J56	J56+24
Série 1	1	12,3	11,8	11,8	11,2	11,9	12,0	12,8	11,8	12,7	12,8	12,2	11,8	12,7	13,4
	2	12,3	13,3	11,8	11,2	12,4	12,3	12,3	11,9	12,7	12,4	13,3	12,5	12,7	12,9
	3	12,2	12,8	12,2	12,2	12,1	12,2	12,5	11,8	12,1	12,8	11,9	12,4	12,7	13,1
Série 2	4	12,4	12,2	11,9	14,0	12,7	12,4	13,1	12,9	12,3	12,6	11,9	12,8	12,1	12,4
	5	12,7	12,3	12,1	12,9	12,6	11,8	13,2	13,1	12,3	12,5	12,4	12,6	12,1	12,6
	6	12,0	12,4	11,3	12,0	12,5	12,1	13,2	12,5	12,4	12,7	12,4	12,8	12,2	12,2
Série 3	7	12,2	11,4	12,9	12,5	13,2	12,7	13,3	12,2	12,5	12,7	12,8	12,9	11,9	11,9
	8	12,0	11,6	12,3	12,5	13,2	13,0	12,7	12,5	12,3	12,5	13,2	12,9	12,0	12,0
	9	12,6	11,6	12,5	12,2	12,9	13,2	13,4	12,6	12,4	12,4	13,1	12,9	11,9	11,8
Moyenne		12,3	12,2	12,1	12,3	12,6	12,4	12,9	12,4	12,4	12,6	12,6	12,6	12,3	12,5
Ecart-type		0,2	0,6	0,5	0,9	0,4	0,5	0,4	0,5	0,2	0,1	0,5	0,4	0,3	0,6
Variation à J0		100,0	98,8	98,2	99,9	102,5	100,8	105,1	100,5	100,9	102,4	102,3	102,6	99,6	101,4

Analyse statistique du calcium de la formule « Intermédiaire »										
	J0-J28		J0-J56		J0-J0+24		J28-J28+24		J56-J56+24	
IC <sub>VM</sub>	[-1,23 ; +1,23]		[-1,23 ; +1,23]		[-1,23 ; +1,23]		[-1,26 ; +1,26]		[-1,23 ; +1,23]	
Différence des moyennes d <sub>μ</sub>	-0,278		0,048		0,151		-0,041		-0,222	
IC <sub>95μ</sub>	[-0,751 ; 0,195]		[-0,303 ; 0,398]		[-0,375 ; 0,678]		[-0,440 ; 0,358]		[-0,439 ; -0,005]	

## Annexe 10 : résultats des dosages de magnésium et analyses statistiques

Dosages du magnésium de la formule « Standard » au différents temps (mmol/l)															
Jour		J0	J0+24	J3	J3+24	J7	J7+24	J14	J14+24	J21	J21+24	J28	J28+24	J56	J56+24
Série 1	1	1,98	1,94	2,11	2,01	1,93	1,96	1,95	1,80	1,98	2,02	1,86	2,01	1,87	2,11
	2	2,01	2,11	2,09	2,23	1,92	2,00	1,98	1,86	1,92	2,00	1,81	1,95	1,90	2,10
	3	1,95	2,02	2,12	2,05	1,95	1,91	1,92	1,83	1,95	1,95	1,86	1,96	1,86	2,13
Série 2	4	1,80	1,81	1,72	1,78	1,78	1,72	1,79	1,91	1,73	1,84	1,73	1,76	1,87	1,67
	5	1,78	1,83	1,73	1,83	1,81	1,80	1,80	1,97	1,83	2,04	1,79	1,83	1,89	1,91
	6	1,88	1,99	1,76	1,92	1,96	1,90	1,90	1,97	1,95	1,94	1,90	2,00	2,09	2,10
Série 3	7	1,80	1,74	1,85	1,76	1,88	1,87	1,81	1,82	1,76	1,80	1,83	1,92	1,83	1,86
	8	1,99	1,85	2,03	1,70	2,00	2,06	2,10	1,95	1,83	1,95	1,95	2,07	1,94	1,96
	9	1,83	1,76	1,85	1,72	1,77	1,84	1,97	1,81	1,74	1,92	1,81	1,92	1,86	1,83
Moyenne		1,89	1,89	1,92	1,89	1,89	1,90	1,91	1,88	1,85	1,94	1,84	1,94	1,90	1,96
Ecart-type		0,09	0,13	0,17	0,18	0,08	0,10	0,10	0,07	0,10	0,08	0,06	0,09	0,08	0,16
Variation à J0		100,0	100,1	101,4	99,9	99,9	100,2	101,2	99,4	98,1	102,6	97,2	102,4	100,5	103,8

Analyse statistique du magnésium de la formule « Standard »										
	J0-J28		J0-J56		J0-J0+24		J28-J28+24		J56-J56+24	
IC <sub>VM</sub>	[-0,189 ; +0,189]		[-0,189 ; +0,189]		[-0,189 ; +0,189]		[-0,184 ; 0,184]		[-0,19 ; +0,19]	
Différence des moyennes d <sub>μ</sub>	0,053		-0,010		-0,003		-0,098		-0,062	
IC <sub>95μ</sub>	[-0,004 ; 0,111]		[-0,095 ; 0,075]		[-0,070 ; 0,064]		[-0,129 ; -0,067]		[-0,177 ; 0,053]	

Dosages du magnésium de la formule « Concentrée » au différents temps (mmol/l)															
Jour		J0	J0+24	J3	J3+24	J7	J7+24	J14	J14+24	J21	J21+24	J28	J28+24	J56	J56+24
Série 1	1	2,02	1,92	1,95	1,87	1,73	1,85	1,79	1,66	1,80	1,87	1,76	1,77	1,74	1,96
	2	2,32	2,30	2,44	2,30	2,20	2,05	2,20	2,04	2,18	2,20	2,16	2,19	2,14	2,36
	3	2,09	2,05	2,10	2,04	1,93	2,05	1,97	1,90	1,97	1,96	1,82	2,11	1,92	2,20
Série 2	4	2,36	2,26	2,15	2,16	2,20	2,12	2,30	2,27	2,10	2,25	2,14	2,47	2,32	2,34
	5	2,31	2,28	2,10	2,25	2,26	2,10	2,14	2,24	2,21	2,22	2,20	2,30	2,36	2,36
	6	2,31	2,30	2,10	2,20	2,30	2,19	2,22	2,33	2,20	2,25	2,20	2,25	2,33	2,38
Série 3	7	2,20	2,20	2,26	2,18	2,24	2,28	2,30	2,23	2,11	2,24	2,23	2,35	2,30	2,10
	8	2,15	2,07	2,26	2,16	2,30	2,32	2,30	2,20	2,11	2,24	2,20	2,39	2,24	2,15
	9	2,20	2,21	2,27	2,11	2,23	2,29	2,47	2,22	2,16	2,25	2,30	2,43	2,27	2,33
Moyenne		2,22	2,18	2,18	2,14	2,15	2,14	2,19	2,12	2,09	2,16	2,11	2,25	2,18	2,24
Ecart-type		0,12	0,13	0,14	0,13	0,19	0,15	0,20	0,22	0,13	0,15	0,19	0,21	0,21	0,15
Variation à J0		100,0	98,1	98,3	96,5	97,1	96,4	98,6	95,6	94,3	97,5	95,2	101,5	98,3	101,1

Analyse statistique du magnésium de la formule « Concentrée »										
	J0-J28		J0-J56		J0-J0+24		J28-J28+24		J56-J56+24	
IC <sub>VM</sub>	[-0,222 ; +0,222]		[-0,222 ; +0,222]		[-0,222 ; +0,222]		[-0,211 ; 0,211]		[-0,218 ; +0,218]	
Différence des moyennes d <sub>μ</sub>	0,106		0,038		0,041		-0,139		-0,062	
IC <sub>95μ</sub>	[-0,000 ; 0,211]		[-0,069 ; 0,145]		[0,008 ; 0,074]		[-0,225 ; -0,053]		[-0,182 ; 0,058]	

Dosages du magnésium de la formule « Croisière » au différents temps (mmol/l)															
Jour		J0	J0+24	J3	J3+24	J7	J7+24	J14	J14+24	J21	J21+24	J28	J28+24	J56	J56+24
Série 1	1	1,60	1,62	1,60	1,54	1,44	1,52	1,50	1,40	1,39	1,47	1,45	1,50	1,44	1,64
	2	1,62	1,60	1,59	1,59	1,48	1,50	1,53	1,50	1,55	1,57	1,50	1,52	1,45	1,64
	3	1,64	1,64	1,62	1,62	1,47	1,54	1,53	1,44	1,55	1,52	1,50	1,55	1,47	1,65
Série 2	4	1,71	1,73	1,65	1,72	1,71	1,67	1,66	1,87	1,66	1,69	1,64	1,74	1,77	1,77
	5	1,67	1,70	1,70	1,94	1,72	1,62	1,80	1,84	1,70	1,74	1,62	1,74	1,80	1,82
	6	1,64	1,70	1,64	1,82	1,71	1,65	1,78	1,75	1,70	1,77	1,63	1,77	1,80	2,03
Série 3	7	1,63	1,60	1,79	1,65	1,70	1,81	1,70	1,70	1,65	1,74	1,75	1,85	1,70	1,81
	8	1,77	1,61	1,81	1,66	1,70	1,80	1,75	1,68	1,66	1,76	1,74	1,84	1,72	1,75
	9	1,74	1,67	1,89	1,66	1,63	1,79	1,70	1,77	1,66	1,74	1,79	1,92	1,72	1,70
Moyenne		1,67	1,65	1,70	1,69	1,62	1,66	1,66	1,66	1,61	1,67	1,62	1,71	1,65	1,76
Ecart-type		0,06	0,05	0,11	0,12	0,12	0,12	0,11	0,17	0,10	0,11	0,12	0,15	0,15	0,12
Variation à J0		100,0	99,0	101,7	101,2	96,9	99,2	99,5	99,5	96,6	99,9	97,3	102,7	99,0	105,2

Analyse statistique du magnésium de la formule « Croisière »										
	J0-J28		J0-J56		J0-J0+24		J28-J28+24		J56-J56+24	
IC <sub>VM</sub>	[-0,167 ; +0,167]		[-0,167 ; +0,167]		[-0,167 ; +0,167]		[-0,162 ; 0,162]		[-0,165 ; +0,165]	
Différence des moyennes d <sub>μ</sub>	0,045		0,017		0,017		-0,090		-0,104	
IC <sub>95μ</sub>	[-0,024 ; 0,114]		[-0,083 ; 0,117]		[-0,033 ; 0,068]		[-0,121 ; -0,059]		[-0,180 ; -0,029]	

Dosages du magnésium de la formule « Intermédiaire » au différents temps (mmol/l)															
Jour		J0	J0+24	J3	J3+24	J7	J7+24	J14	J14+24	J21	J21+24	J28	J28+24	J56	J56+24
Série 1	1	1,78	1,68	1,73	1,79	1,64	1,67	1,73	1,60	1,62	1,76	1,70	1,62	1,65	1,89
	2	1,75	1,88	1,75	1,62	1,68	1,70	1,70	1,60	1,63	1,70	1,82	1,73	1,65	1,84
	3	1,76	1,84	1,83	1,81	1,66	1,70	1,72	1,63	1,61	1,75	1,70	1,73	1,68	1,87
Série 2	4	1,70	1,70	1,72	1,96	1,74	1,67	1,70	1,77	1,70	1,72	1,66	1,78	1,80	1,78
	5	1,70	1,70	1,66	1,78	1,69	1,58	1,70	1,81	1,64	1,70	1,61	1,73	1,80	1,84
	6	1,64	1,74	1,58	1,71	1,74	1,65	1,75	1,76	1,72	1,78	1,68	1,79	1,83	1,81
Série 3	7	1,70	1,56	1,81	1,66	1,70	1,78	1,85	1,70	1,68	1,78	1,73	1,94	1,72	1,64
	8	1,62	1,58	1,74	1,67	1,73	1,79	1,75	1,71	1,63	1,73	1,75	1,93	1,74	1,73
	9	1,73	1,59	1,78	1,64	1,70	1,84	1,85	1,73	1,65	1,72	1,75	1,95	1,76	1,70
Moyenne		1,71	1,70	1,73	1,74	1,70	1,71	1,75	1,70	1,65	1,74	1,71	1,80	1,74	1,79
Ecart-type		0,05	0,11	0,08	0,11	0,03	0,08	0,06	0,08	0,04	0,03	0,06	0,12	0,07	0,08
Variation à J0		100,0	99,2	101,4	101,7	99,3	99,9	102,4	99,6	96,7	101,7	100,1	105,3	101,6	104,7

Analyse statistique du magnésium de la formule « Intermédiaire »										
	J0-J28		J0-J56		J0-J0+24		J28-J28+24		J56-J56+24	
IC <sub>VM</sub>	[-0,171 ; +0,171]		[-0,171 ; +0,171]		[-0,171 ; +0,171]		[-0,171 ; +0,171]		[-0,174 ; +0,174]	
Différence des moyennes d <sub>μ</sub>	-0,002		-0,028		0,013		-0,089		-0,052	
IC <sub>95μ</sub>	[-0,059 ; 0,055]		[-0,113 ; 0,057]		[-0,066 ; 0,092]		[-0,176 ; -0,002]		[-0,145 ; 0,041]	

## Annexe 11 : résultats des dosages des vitamines

Dosages de la vitamine E dans la formule « Croisière sans lipide » (g/l)					
JOUR	J0	J1	J7	J28	J56
<b>Série 1</b>	0,015189	0,015262	0,016626	-	0,010332
<b>Série 2</b>	0,016049	-	0,015428	0,000614	0,009715
<b>Série 3</b>	0,016580	0,016333	0,016274	0,011112	0,009182
<b>Moyenne</b>	0,015939	0,015798	0,016110	0,005863	0,009743
<b>Ecart-type</b>	0,000702	0,000757	0,000616	0,007423	0,000576
<b>Variation à J0</b>	100,00	99,11	101,07	36,78	61,13

Dosages de la vitamine E dans la formule « Intermédiaire sans lipide » (g/l)					
JOUR	J0	J1	J7	J28	J56
<b>Série 1</b>	0,015752	0,016343	0,016964	-	0,012576
<b>Série 2</b>	0,016945	-	0,016227	0,002140	0,012439
<b>Série 3</b>	0,016832	0,016612	0,016582	0,010806	0,009330
<b>Moyenne</b>	0,016510	0,016478	0,016591	0,006473	0,011449
<b>Ecart-type</b>	0,000659	0,000190	0,000369	0,006128	0,001836
<b>Variation à J0</b>	100,00	99,81	100,49	39,21	69,35

Dosages de la vitamine C dans la formule « Croisière sans lipide » (g/l)					
JOUR	J0	J1	J7	J28	J56
<b>Série 1</b>	0,197207	0,148679	0,097301	0,000108	0,000234
<b>Série 2</b>	0,185747	-	0,098411	0,000135	0,000217
<b>Série 3</b>	0,189743	0,171803	0,010321	0,000131	0,000335
<b>Moyenne</b>	0,190899	0,160241	0,068677	0,000125	0,000262
<b>Ecart-type</b>	0,005817	0,016352	0,050541	0,000015	0,000064
<b>Variation à J0</b>	100,00	83,94	35,98	0,07	0,14

Dosages de la vitamine C dans la formule « Intermédiaire sans lipide » (g/l)					
JOUR	J0	J1	J7	J28	J56
<b>Série 1</b>	0,218031	0,164781	0,115212	0,000088	0,000261
<b>Série 2</b>	0,197108	-	0,115056	0,000101	0,000330
<b>Série 3</b>	0,193494	0,184331	0,044798	0,000108	0,000315
<b>Moyenne</b>	0,202878	0,174556	0,091689	0,000099	0,000302
<b>Ecart-type</b>	0,013247	0,013823	0,040609	0,000010	0,000036
<b>Variation à J0</b>	100,00	86,04	45,19	0,05	0,15



<b>Dosages de la vitamine B1 dans la formule « Croisière sans lipide » (g/l)</b>					
<b>JOUR</b>	J0	J1	J7	J28	J56
<b>Série 1</b>	0,006149	0,006052	0,006410	0,006089	0,005732
<b>Série 2</b>	0,006395	-	0,006172	0,005996	0,005888
<b>Série 3</b>	0,006789	0,006500	0,006267	0,006179	0,006243
<b>Moyenne</b>	0,006444	0,006276	0,006283	0,006088	0,005954
<b>Ecart-type</b>	0,000323	0,000317	0,000120	0,000091	0,000262
<b>Variation à J0</b>	100,00	97,38	97,50	94,47	92,40

<b>Dosages de la vitamine B1 dans la formule « Intermédiaire sans lipide » (g/l)</b>					
<b>JOUR</b>	J0	J1	J7	J28	J56
<b>Série 1</b>	0,006316	0,006369	0,006497	0,006274	0,005994
<b>Série 2</b>	0,006610	-	0,005809	0,006878	0,006271
<b>Série 3</b>	0,006619	0,007151	0,006307	0,006088	0,006263
<b>Moyenne</b>	0,006515	0,006760	0,006204	0,006413	0,006176
<b>Ecart-type</b>	0,000172	0,000553	0,000355	0,000413	0,000158
<b>Variation à J0</b>	100,00	103,76	95,23	98,44	94,80

## Annexe 12 : résultats des dosages des acides aminés

<b>Dosage des acides aminés de la formule « Croisière sans lipide »</b>					
	JOUR	J0	J7	J28	J56
<b>Général</b>	Série 1	188839,8	182961,0	189254,1	191032,0
	Série 3	198096,8	183056,3	194076,7	187752,1
	Moyenne	193468,3	183008,6	191665,4	189392,1
	Ecart-type	6545,7	67,4	3410,1	2319,3
	Variation à J0	100,0	94,6	99,1	97,9
<b>Taurine</b>	Série 1	952,2	846,3	924,1	944,9
	Série 3	921,6	875,3	1021,5	978,5
	Moyenne	1037,4	931,4	1036,2	1013,1
	Ecart-type	14,6	13,0	65,2	21,1
	Variation à J0	100,0	89,8	99,9	97,7
<b>Thréonine</b>	Série 1	11442,8	11086,0	11789,8	12032,6
	Série 3	11956,7	11112,5	12006,0	11473,6
	Moyenne	11699,8	11099,3	11897,9	11753,1
	Ecart-type	363,3	18,7	152,9	395,2
	Variation à J0	100,0	94,9	101,8	100,4
<b>Sérine</b>	Série 1	13556,5	13233,7	13476,5	13749,8
	Série 3	14267,2	13052,7	13827,5	13433,4
	Moyenne	13911,8	13143,2	13652,0	13591,6
	Ecart-type	502,5	128,0	248,2	223,7
	Variation à J0	100,0	94,5	98,0	97,7
<b>Acide Glutamique</b>	Série 1	18574,3	18164,1	18796,0	19082,9
	Série 3	19569,0	18123,7	19223,9	18594,9
	Moyenne	19071,7	18143,9	19009,9	18838,9
	Ecart-type	703,3	28,6	302,6	345,1
	Variation à J0	100,0	95,1	99,7	98,8
<b>Glycine</b>	Série 1	16123,7	15699,4	15980,5	16321,6
	Série 3	17097,8	15675,8	16803,7	16338,7
	Moyenne	16610,8	15687,6	16392,1	16330,1
	Ecart-type	688,8	16,7	582,1	12,1
	Variation à J0	100,0	94,4	98,7	98,3
<b>Alanine</b>	Série 1	26891,8	26027,5	26879,1	27291,2
	Série 3	28004,3	25946,7	27558,4	27081,6
	Moyenne	27448,0	25987,1	27218,7	27186,4
	Ecart-type	786,7	57,1	480,4	148,2
	Variation à J0	100,0	94,7	99,2	99,0

<b>Dosage des acides aminés de la formule « Croisière sans lipide »</b>					
<b>Valine</b>	<b>Série 1</b>	<b>11651,2</b>	<b>11279,9</b>	<b>11734,3</b>	<b>11802,5</b>
	Série 3	12219,0	11324,9	11991,9	11554,7
	Moyenne	11935,1	11302,4	11863,1	11678,6
	Ecart-type	401,5	31,8	182,2	175,2
	Variation à J0	100,0	94,7	99,4	97,9
<b>Méthionine</b>	Série 1	3281,1	3141,4	2725,9	2518,8
	Série 3	3419,5	3009,1	2874,8	2563,7
	Moyenne	3350,3	3075,2	2800,3	2541,3
	Ecart-type	97,9	93,5	105,2	31,7
	Variation à J0	100,0	91,8	83,6	75,9
<b>Isoleucine</b>	Série 1	9350,4	9006,1	9420,4	9393,7
	Série 3	9581,5	8976,8	9654,8	9363,7
	Moyenne	9465,9	8991,4	9537,6	9378,7
	Ecart-type	163,4	20,7	165,8	21,3
	Variation à J0	100,0	95,0	100,8	99,1
<b>Leucine</b>	Série 1	20241,1	19681,3	20195,3	20717,5
	Série 3	21087,0	19625,2	20928,3	20106,4
	Moyenne	20664,0	19653,3	20561,8	20412,0
	Ecart-type	598,1	39,7	518,3	432,1
	Variation à J0	100,0	95,1	99,5	98,8
<b>Tyrosine</b>	Série 1	1103,8	1087,4	1125,5	1135,6
	Série 3	1142,2	1078,6	1152,8	1090,7
	Moyenne	1123,0	1083,0	1139,2	1113,1
	Ecart-type	27,2	6,2	19,3	31,7
	Variation à J0	100,0	96,4	101,4	99,1
<b>Phénylalanine</b>	Série 1	6089,8	5911,9	6065,5	6200,4
	Série 3	6535,5	5892,1	6253,3	5867,0
	Moyenne	6312,7	5902,0	6159,4	6033,7
	Ecart-type	315,2	14,0	132,9	235,7
	Variation à J0	100,0	93,5	97,6	95,6
<b>Histidine</b>	Série 1	5221,9	4744,9	4851,6	4973,5
	Série 3	5148,5	4789,5	5078,0	4614,8
	Moyenne	5185,2	4767,2	4964,8	4794,2
	Ecart-type	51,9	31,5	160,1	253,7
	Variation à J0	100,0	91,9	95,7	92,5

<b>Dosage des acides aminés de la formule « Croisière sans lipide »</b>					
<b>Lysine</b>	Série 1	14243,5	13492,8	14003,1	14146,3
	Série 3	14499,9	13624,3	14285,7	13591,4
	Moyenne	14371,7	13558,5	14144,4	13868,8
	Ecart-type	181,3	93,0	199,8	392,3
	Variation à J0	100,0	94,3	98,4	96,5
<b>Tryptophane</b>	Série 1	2773,6	2623,7	2611,5	2819,7
	Série 3	2837,4	2554,1	2752,5	1899,6
	Moyenne	2805,5	2588,9	2682,0	2359,7
	Ecart-type	45,1	49,2	99,7	650,6
	Variation à J0	100,0	92,3	95,6	84,1
<b>Arginine</b>	Série 1	9090,3	8712,8	8880,0	9187,2
	Série 3	9437,3	8695,0	9233,9	8618,3
	Moyenne	9263,8	8703,9	9057,0	8902,7
	Ecart-type	245,4	12,6	250,2	402,3
	Variation à J0	100,0	94,0	97,8	96,1
<b>Proline</b>	Série 1	17866,8	17409,5	18726,1	17568,7
	Série 3	19827,8	17826,1	18451,3	19558,2
	Moyenne	18847,3	17617,8	18588,7	18563,4
	Ecart-type	1386,7	294,6	194,4	1406,8
	Variation à J0	100,0	93,5	98,6	98,5

<b>Dosage des acides aminés de la formule « Intermédiaire sans lipide »</b>					
	JOUR	J0	J7	J28	J56
<b>Général</b>	Série 1	201589,9	201291,4	203274,1	201188,0
	Série 3	217086,2	198719,5	208663,3	193091,1
	Moyenne	209338,0	200005,5	205968,7	197139,6
	Ecart-type	10957,6	1818,6	3810,7	5725,4
	Variation à J0	100,0	95,5	98,4	94,2
<b>Taurine</b>	Série 1	1047,7	940,7	990,1	998,2
	Série 3	1027,0	922,2	1082,3	1028,0
	Moyenne	1037,4	931,4	1036,2	1013,1
	Ecart-type	14,6	13,0	65,2	21,1
	Variation à J0	100,0	89,8	99,9	97,7
<b>Thréonine</b>	Série 1	12256,5	12316,0	12706,9	12743,8
	Série 3	13152,5	12070,1	12903,5	12025,9
	Moyenne	12704,5	12193,1	12805,2	12384,9
	Ecart-type	633,6	173,9	139,0	507,6
	Variation à J0	100,0	96,0	100,8	97,5
<b>Sérine</b>	Série 1	14549,8	14655,0	14527,9	14550,0
	Série 3	15739,5	14261,4	14894,4	14074,8
	Moyenne	15144,7	14458,2	14711,2	14312,4
	Ecart-type	841,3	278,3	259,2	336,0
	Variation à J0	100,0	95,5	97,1	94,5
<b>Acide Glutamique</b>	Série 1	19950,7	20118,5	20279,1	20329,0
	Série 3	21586,4	19802,9	20781,7	19609,7
	Moyenne	20768,6	19960,7	20530,4	19969,3
	Ecart-type	1156,7	223,2	355,4	508,6
	Variation à J0	100,0	96,1	98,9	96,2
<b>Glycine</b>	Série 1	16891,5	16969,7	16880,3	16889,6
	Série 3	18372,5	16757,8	17721,1	16695,4
	Moyenne	17632,0	16863,8	17300,7	16792,5
	Ecart-type	1047,2	149,9	594,5	137,3
	Variation à J0	100,0	95,6	98,1	95,2
<b>Alanine</b>	Série 1	28803,6	28781,3	29089,6	28995,4
	Série 3	30856,9	28388,5	29937,1	27992,1
	Moyenne	29830,3	28584,9	29513,4	28493,7
	Ecart-type	1451,9	277,8	599,3	709,4
	Variation à J0	100,0	95,8	98,9	95,5

<b>Dosage des acides aminés de la formule « Intermédiaire sans lipide »</b>					
<b>Valine</b>	Série 1	12533,0	12487,2	12674,5	12547,0
	Série 3	13521,0	12306,5	12909,0	12105,3
	Moyenne	13027,0	12396,9	12791,7	12326,2
	Ecart-type	698,6	127,8	165,8	312,3
	Variation à J0	100,0	95,2	98,2	94,6
<b>Méthionine</b>	Série 1	3511,0	3476,5	2960,1	2750,7
	Série 3	3754,0	3379,5	3149,2	2709,7
	Moyenne	3632,5	3428,0	3054,6	2730,2
	Ecart-type	171,9	68,6	133,7	29,0
	Variation à J0	100,0	94,4	84,1	75,2
<b>Isoleucine</b>	Série 1	10003,7	9999,5	10120,4	9989,5
	Série 3	10588,4	9888,4	10434,4	9691,7
	Moyenne	10296,1	9943,9	10277,4	9840,6
	Ecart-type	413,5	78,6	222,1	210,6
	Variation à J0	100,0	96,6	99,8	95,6
<b>Leucine</b>	Série 1	21650,8	21761,3	21888,3	21935,6
	Série 3	23211,3	21454,3	22522,9	21110,9
	Moyenne	22431,1	21607,8	22205,6	21523,2
	Ecart-type	1103,4	217,1	448,8	583,2
	Variation à J0	100,0	96,3	99,0	96,0
<b>Tyrosine</b>	Série 1	1204,6	1215,5	1201,5	1222,6
	Série 3	1282,6	1172,6	1252,5	1194,7
	Moyenne	1243,6	1194,0	1227,0	1208,6
	Ecart-type	55,2	30,3	36,0	19,7
	Variation à J0	100,0	96,0	98,7	97,2
<b>Phénylalanine</b>	Série 1	6519,8	6524,4	6578,4	6559,8
	Série 3	7188,5	6441,3	6777,2	6158,1
	Moyenne	6854,1	6482,8	6677,8	6358,9
	Ecart-type	472,9	58,8	140,6	284,1
	Variation à J0	100,0	94,6	97,4	92,8
<b>Histidine</b>	Série 1	5573,2	5294,7	5304,9	5102,0
	Série 3	5722,9	5294,9	5488,1	4960,7
	Moyenne	5648,0	5294,8	5396,5	5031,3
	Ecart-type	105,8	0,1	129,5	99,9
	Variation à J0	100,0	93,7	95,5	89,1

<b>Dosage des acides aminés de la formule « Intermédiaire sans lipide »</b>					
<b>Lysine</b>	Série 1	15280,7	15002,9	15058,4	14886,2
	Série 3	16017,6	14796,6	15526,5	14157,9
	Moyenne	15649,1	14899,7	15292,5	14522,0
	Ecart-type	521,0	145,9	331,0	515,0
	Variation à J0	100,0	95,2	97,7	92,8
<b>Tryptophane</b>	Série 1	3053,3	2929,4	2927,0	2923,4
	Série 3	3199,1	2780,4	3069,3	
	Moyenne	3126,2	2854,9	2998,2	2923,4
	Ecart-type	103,1	105,3	100,6	
	Variation à J0	100,0	91,3	95,9	93,5
<b>Arginine</b>	Série 1	9750,3	9678,9	9655,6	9767,9
	Série 3	10368,8	9444,9	9993,4	9232,3
	Moyenne	10059,6	9561,9	9824,5	9500,1
	Ecart-type	437,4	165,4	238,8	378,7
	Variation à J0	100,0	95,1	97,7	94,4
<b>Proline</b>	Série 1	19009,6	19139,9	20431,1	18997,2
	Série 3	21497,1	19557,3	20220,8	20344,1
	Moyenne	20253,3	19348,6	20325,9	19670,7
	Ecart-type	1758,9	295,1	148,7	952,4
	Variation à J0	100,0	95,5	100,4	97,1

## Annexe 13 : résultats de l'analyse du diamètre moyen des globules lipidiques et analyses statistiques

Analyse du diamètre moyen des globules lipidiques de la formule « Croisière » au différents temps (nm)															
Jour		J0	J0+24	J3	J3+24	J7	J7+24	J14	J14+24	J21	J21+24	J28	J28+24	J56	J56+24
Série 1	1	312,8	314,9	312,6	315,9	315,7	315,8	317,2	326,6	319,6	306,1	315,1	310,8	315,2	314,7
	2	308,4	304,8	313,4	315,7	314,8	318,3	318,5	321,4	316,2	319,5	317,8	315,3	315,0	317,2
	3	313,8	323,4	314,4	319,6	317,5	316,0	319,4	321,3	316,9	310,9	318,3	318,4	316,5	320,0
Série 2	4	318,4	318,4	319,7	320,2	323,6	318,9	313,1	310,5	319,6	317,8	314,9	315,7	318,0	316,5
	5	317,3	317,3	320,9	317,5	322,8	314,9	315,0	307,2	315,5	315,5	317,6	316,4	316,4	317,3
	6	-	314,0	313,6	315,5	316,2	322,3	302,8	310,9	314,8	319,8	317,6	321,6	316,2	316,1
Série 3	7	316,6	316,7	319,7	320,0	322,7	313,8	323,2	318,9	317,6	319,7	311,9	314,2	312,0	321,8
	8	315,4	325,2	319,4	320,6	316,7	309,5	317,8	311,4	313,6	322,5	317,0	315,7	311,5	316,1
	9	319,8	328,0	232,9	317,8	318,9	308,5	316,9	321,8	317,6	322,3	315,9	315,4	315,6	322,5
Moyenne		315,3	318,1	307,4	318,1	318,8	315,3	316,0	316,7	316,8	317,1	316,2	315,9	315,2	318,0
Ecart-type		3,6	6,9	28,1	2,1	3,4	4,4	5,7	6,7	2,0	5,5	2,0	2,9	2,1	2,7
Variation à J0		100,0	100,9	97,5	100,9	101,1	100,0	100,2	100,4	100,5	100,6	100,3	100,2	100,0	100,9

Analyse statistique du diamètre moyen des globules lipidiques de la formule « Croisière »					
	J0-J28	J0-J56	J0-J0+24	J28-J28+24	J56-J56+24
IC <sub>VM</sub>	[-31,53 ; +31,53]		[-31,53 ; +31,53]	[-31,62 ; +31,62]	[-31,52 ; +31,52]
Différence des moyennes d <sub>μ</sub>	-0,963	0,213	-1,525	0,289	-2,867
IC <sub>95μ</sub>	[-4,700 ; 2,775]	[-3,497 ; 3,922]	[-5,107 ; 2,057]	[-1,619 ; 2,197]	[-5,733 ; -0,000]



Analyse du diamètre moyen des globules lipidiques de la formule « Intermédiaire » au différents temps (nm)															
Jour		J0	J0+24	J3	J3+24	J7	J7+24	J14	J14+24	J21	J21+24	J28	J28+24	J56	J56+24
<b>Série 1</b>	1	315,1	321,1	319,6	315,5	320,2	315,9	326,5	318,0	319,0	309,7	318,6	318,3	315,6	316,6
	2	319,2	314,3	312,9	312,9	318,2	314,8	322,2	326,7	314,7	311,3	315,5	317,5	316,3	317,9
	3	308,7	319,3	314,7	321,1	322,3	318,6	319,3	317,8	315,0	307,8	312,8	314,2	314,3	315,6
<b>Série 2</b>	4	319,3	320,3	322,4	320,8	318,7	313,6	317,1	307,0	309,5	311,1	315,9	317,6	317,5	311,6
	5	319,3	319,3	316,2	319,2	323,0	321,2	316,2	311,1	316,4	314,3	315,4	318,4	312,9	312,3
	6	316,4	319,3	316,3	316,8	319,6	317,5	314,9	306,1	316,5	315,3	314,0	322,5	317,4	314,2
<b>Série 3</b>	7	319,0	321,9	315,6	310,6	311,5	307,1	317,0	315,3	318,1	319,5	318,7	317,7	313,3	315,1
	8	318,1	325,3	320,6	319,4	315,3	312,5	314,5	315,7	315,7	319,9	316,8	316,4	318,0	314,1
	9	322,5	325,1	319,5	324,2	315,0	304,1	313,6	313,7	311,3	320,1	310,8	316,4	311,2	314,4
<b>Moyenne</b>		317,5	320,7	317,5	317,8	318,2	313,9	317,9	314,6	315,1	314,3	315,4	317,7	315,2	314,6
<b>Ecart-type</b>		3,9	3,3	3,1	4,3	3,7	5,4	4,2	6,3	3,0	4,7	2,6	2,2	2,4	2,0
<b>Variation à J0</b>		100,0	101,0	100,0	100,1	100,2	98,9	100,1	99,1	99,3	99,0	99,3	100,0	99,3	99,1

Analyse statistique du diamètre moyen des globules lipidiques de la formule « Intermédiaire »										
	J0-J28		J0-J56		J0-J0+24		J28-J28+24		J56-J56+24	
<b>IC<sub>VM</sub></b>	[-31,75 ; +31,75]		[-31,75 ; +31,75]		[-31,75 ; +31,75]		[-31,54 ; +31,54]		[-31,52 ; +31,52]	
<b>Différence des moyennes d<sub>μ</sub></b>	2,122		2,344		-3,144		-2,278		0,522	
<b>IC<sub>95μ</sub></b>	[-1,457 ; 5,701]		[-1,460 ; 6,149]		[-6,580 ; 0,291]		[-4,647 ; 0,092]		[-1,861 ; 2,905]	

## Annexe 14 : résultats de l'analyse du pourcentage de globules lipidiques &gt; 1 µm

<b>Pourcentage des globules lipidiques &gt; 1 µm de la formule « Croisière » au différents temps</b>															
<b>Jour</b>		J0	J0+24	J3	J3+24	J7	J7+24	J14	J14+24	J21	J21+24	J28	J28+24	J56	J56+24
<b>Série 1</b>	1	0,890	0,186	0,972	0,776	1,285	0,182	1,018	1,174	0,568	0,186	1,096	0,295	1,057	1,017
	2	0,226	0,190	0,996	0,431	1,039	0,164	0,965	0,999	0,578	0,211	0,991	0,429	0,859	0,138
	3	0,918	0,323	0,645	0,609	0,986	0,543	0,974	0,185	0,632	0,180	0,854	0,149	1,000	0,198
<b>Série 2</b>	4	0,996	0,722	1,045	0,993	0,958	0,208	0,348	0,184	0,721	0,058	1,022	1,066	0,709	0,429
	5	0,984	0,574	1,005	0,356	1,036	0,574	0,560	0,210	0,569	0,161	1,017	0,156	0,860	0,140
	6	-	0,555	0,986	0,995	1,017	0,338	0,575	0,213	0,588	0,180	0,994	0,149	0,535	0,271
<b>Série 3</b>	7	1,059	1,050	1,068	-	1,027	0,929	0,607	0,189	1,043	0,323	1,084	0,208	1,044	0,528
	8	1,036	1,059	1,020	-	0,672	0,202	1,103	0,206	1,046	0,180	1,035	0,465	1,048	0,152
	9	1,060	0,774	1,031	-	0,668	0,177	1,063	0,202	0,995	0,176	1,030	0,269	1,044	0,186
<b>Moyenne</b>		0,896	0,604	0,974	0,693	0,965	0,369	0,801	0,396	0,749	0,184	1,014	0,354	0,906	0,340
<b>Ecart-type</b>		0,278	0,331	0,127	0,275	0,192	0,263	0,277	0,394	0,215	0,068	0,070	0,292	0,184	0,289

<b>Pourcentage des globules lipidiques &gt; 1 µm de la formule « Intermédiaire » au différents temps</b>															
<b>Jour</b>		J0	J0+24	J3	J3+24	J7	J7+24	J14	J14+24	J21	J21+24	J28	J28+24	J56	J56+24
<b>Série 1</b>	1	1,0422	0,1963	1,0669	0,2135	1,0867	0,1888	1,0986	1,1162	1,0599	0,1735	1,0799	0,6224	1,0536	0,0103
	2	1,0168	0,2364	1,0786	0,2112	1,1035	0,2130	1,0740	0,7913	0,7851	0,1909	0,4823	0,1931	1,0706	0,1793
	3	1,0380	0,2348	1,0572	0,2301	1,0602	0,1938	1,1002	1,0600	1,0897	0,1874	1,0838	0,1880	1,0912	0,1909
<b>Série 2</b>	4	0,9999	0,5632	1,0398	0,7079	1,0048	0,5479	0,5842	0,1513	0,5711	0,1747	0,7418	0,1347	0,7396	0,2631
	5	0,9955	0,5612	1,0867	0,4766	1,0225	0,5637	0,1815	0,1624	0,5741	0,1592	0,5527	0,5154	0,5115	0,5044
	6	1,0175	0,3741	1,0135	0,4955	1,0003	0,3090	0,5652	0,1699	0,5518	0,1702	1,0696	0,5105	0,5441	0,1647
<b>Série 3</b>	7	1,0602	1,0514	1,0464	-	1,0460	0,6006	1,0708	0,1853	1,0503	0,5801	1,0631	0,5775	0,5699	0,5638
	8	1,0781	1,1398	1,0763	-	1,0510	0,1814	0,7710	0,2079	1,0530	0,1791	1,0457	0,1594	0,5686	0,3544
	9	1,0714	0,7655	1,0430	-	1,0618	0,1865	0,6194	0,1810	1,0606	0,1988	1,0409	0,5861	0,7579	0,1620
<b>Moyenne</b>		1,0355	0,5692	1,0565	0,3891	1,0486	0,3316	0,7850	0,4473	0,8662	0,2238	0,9066	0,3874	0,7674	0,2659
<b>Ecart-type</b>		0,0302	0,3529	0,0232	0,2041	0,0348	0,1839	0,3247	0,4159	0,2429	0,1341	0,2456	0,2109	0,2433	0,1778

## Annexe 15 : résultats de l'analyse du potentiel zêta et analyse statistique

Analyse du potentiel zêta de la formule « Croisière » au différents temps (mV)															
Jour		J0	J0+24	J3	J3+24	J7	J7+24	J14	J14+24	J21	J21+24	J28	J28+24	J56	J56+24
Série 1	1	-36,4	-35,9	-34,8	-34,0	-35,6	-35,3	-32,3	-34,2	-36,2	-35,4	-35,8	-35,0	-37,6	-35,5
	2	-35,5	-34,8	-34,5	-37,3	-36,9	-36,1	-32,3	-31,1	-31,1	-35,5	-33,2	-33,5	-35,9	-36,4
	3	-35,5	-35,1	-36,5	-34,7	-36,0	-36,0	-31,0	-32,6	-35,0	-35,7	-35,5	-35,3	-35,1	-36,5
Série 2	4	-36,1	-36,0	-34,6	-35,3	-35,8	-32,1	-34,6	-35,7	-36,1	-34,3	-35,0	-34,0	-35,0	-35,3
	5	-37,1	-36,6	-35,4	-33,2	-31,8	-36,4	-34,6	-35,0	-33,8	-34,0	-34,8	-33,3	-36,6	-35,6
	6	-	-35,8	-34,2	-35,0	-31,5	-32,5	-36,8	-35,9	-33,9	-35,1	-35,4	-34,9	-36,6	-35,7
Série 3	7	-30,9	-33,4	-34,0	-33,3	-34,5	-34,3	-34,8	-35,6	-35,7	-32,5	-34,3	-34,1	-35,7	-35,5
	8	-35,7	-36,1	-36,6	-31,6	-34,2	-35,7	-34,3	-33,7	-34,5	-35,6	-35,6	-35,3	-34,5	-35,3
	9	-31,9	-33,1	-34,0	-33,6	-32,7	-35,1	-32,3	-34,2	-34,2	-33,9	-35,5	-32,9	-35,1	-33,3
Moyenne		-34,9	-35,2	-35,0	-34,2	-34,3	-34,8	-33,7	-34,2	-34,5	-34,7	-35,0	-34,3	-35,8	-35,5
Ecart-type		2,2	1,2	1,0	1,6	1,9	1,6	1,8	1,6	1,6	1,1	0,8	0,9	1,0	0,9
Variation à J0		100,0	100,9	100,2	98,1	98,4	99,8	96,5	98,1	98,9	99,4	100,4	98,2	102,6	101,6

Analyse statistique du potentiel zêta de la formule « Croisière »										
	J0-J28		J0-J56		J0-J0+24		J28-J28+24		J56-J56+24	
IC <sub>VM</sub>	[-3,49 ; +3,49]		[-3,49 ; +3,49]		[-3,49 ; +3,49]		[-3,5 ; +3,5]		[-3,58 ; +3,58]	
Différence des moyennes d <sub>μ</sub>	0,062		0,988		0,575		-0,756		-0,333	
IC <sub>95μ</sub>	[-2,127 ; 2,252]		[-0,873 ; 2,848]		[-1,555 ; 2,705]		[-1,422 ; -0,089]		[-1,253 ; 0,586]	

Analyse du potentiel zêta de la formule « Intermédiaire » au différents temps (mV)															
Jour		J0	J0+24	J3	J3+24	J7	J7+24	J14	J14+24	J21	J21+24	J28	J28+24	J56	J56+24
Série 1	1	-33,6	-37,1	-36,7	-36,2	-38,5	-36,0	-34,3	-35,2	-34,4	-36,7	-34,6	-35,0	-37,9	-36,0
	2	-36,7	-36,7	-39,0	-35,4	-36,6	-37,1	-36,1	-33,9	-36,9	-36,8	-31,6	-35,7	-35,7	-36,4
	3	-35,9	-37,1	-36,4	-36,0	-37,4	-35,5	-32,2	-35,8	-35,4	-35,5	-34,6	-35,0	-35,2	-35,2
Série 2	4	-34,6	-36,0	-33,9	-31,6	-34,2	-33,6	-32,4	-34,0	-34,8	-33,3	-33,2	-34,8	-34,7	-36,1
	5	-37,2	-36,5	-36,5	-30,0	-35,3	-34,7	-34,1	-36,2	-35,3	-34,6	-34,4	-33,0	-34,1	-35,3
	6	-36,7	-34,1	-34,2	-32,9	-30,7	-32,5	-33,1	-35,5	-36,1	-32,9	-34,5	-35,3	-33,9	-37,4
Série 3	7	-34,8	-33,0	-35,9	-29,9	-32,7	-32,7	-33,8	-33,7	-41,3	-34,3	-35,1	-34,3	-34,3	-34,2
	8	-31,6	-35,0	-33,4	-36,3	-35,3	-35,3	-34,6	-35,6	-35,1	-34,5	-34,4	-34,7	-35,5	-34,0
	9	-35,1	-35,9	-35,1	-32,7	-28,7	-33,8	-35,5	-33,6	-34,7	-35,9	-33,6	-35,7	-36,5	-36,2
Moyenne		-35,1	-35,7	-35,7	-33,4	-34,4	-34,6	-34,0	-34,8	-36,0	-34,9	-34,0	-34,8	-35,3	-35,6
Ecart-type		1,8	1,4	1,7	2,6	3,2	1,5	1,3	1,0	2,1	1,4	1,1	0,8	1,3	1,1
Variation à J0		100,0	101,6	101,5	95,2	97,8	98,4	96,8	99,1	102,5	99,5	96,8	99,1	100,5	101,5

Analyse statistique du potentiel zêta de la formule « Intermédiaire »										
	J0-J28		J0-J56		J0-J0+24		J28-J28+24		J56-J56+24	
IC <sub>VM</sub>	[-3,51 ; +3,51]		[-3,51 ; +3,51]		[-3,51 ; +3,51]		[-3,4 ; +3,4]		[-3,53 ; +3,53]	
Différence des moyennes d <sub>μ</sub>	-1,133		0,178		0,578		0,833		0,333	
IC <sub>95μ</sub>	[-2,894 ; 0,627]		[-1,830 ; 2,185]		[-1,038 ; 2,193]		[-0,417 ; 2,084]		[-0,915 ; 1,582]	

## Bibliographie

1. Darmaun D, Lapillonne A, Simeoni U, Picaud JC, Rozé JC, Saliba E, et al. Parenteral nutrition for preterm infants: Issues and strategy. *Arch Pediatr*. 2018;
2. Preterm-Birth @ Www.Who.Int [Internet]. [cited 2018 May 11]. Available from: <http://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/preterm-birth>
3. Blencowe H, Cousens S, Chou D, Oestergaard M, Say L, Moller A, et al. Born Too Soon : The global epidemiology of 15 million preterm births. *Reprod Health*. 2013;10(Suppl 1):1–14.
4. Torchin H, Ancel PY, Jarreau PH, Goffinet F. Épidémiologie De La Prématurité : Prévalence, Évolution, Devenir Des Enfants. *J Gynecol Obstet Biol la Reprod* [Internet]. 2015;44(8):723–31. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jgyn.2015.06.010>
5. Blondel B, Coulm B, Bonnet C, Goffinet F, Ray C Le, Coordination N. Trends in perinatal health in metropolitan France from 1995 to 2016 : Results from the French National Perinatal Surveys. *J Gynecol Obstet Biol la Reprod*. 2017;46:701–13.
6. Koletzko B, Goulet O, Hunt J, Krohn K, Shamir R. Guidelines on Paediatric Parenteral Nutrition of the European Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (ESPGHAN) and the European Society for Clinical Nutrition and Metabolism (ESPEN), Supported by the European Society of Paedia. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2005;41 Suppl 2(November 2005):S1–87.
7. Lapillonne A, Razafimahefa H, Rigourd V, Granier M. La nutrition du prématuré. *Arch Pediatr*. 2011;18(3):313–23.
8. Moyses HE, Johnson MJ, Leaf A a, Cornelius VR. Early parenteral nutrition and growth outcomes in preterm infants : a systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr*. 2013;(3):816–26.
9. Thureen PJ, Hay WW. Intravenous nutrition and postnatal growth of the micropremie. *Clin Perinatol*. 2000;27(1):197–219.
10. Joosten K, Embleton N, Yan W, Senterre T. ESPGHAN/ESPEN/ESPR guidelines on pediatric parenteral nutrition: Energy. *Clin Nutr* [Internet]. 2018; Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0261561418311683>
11. Bouchoud-Bertholet L, Fonzo-Christe C, Sadeghipour F, Bonnabry P. Standardisation et stabilité des nutritions parentérales pour la néonatalogie. Genève; 2008.
12. Jochum F, Moltu SJ, Senterre T, Nomayo A, Iacobelli S. ESPGHAN/ESPEN/ESPR guidelines on pediatric parenteral nutrition: Fluid and electrolytes. *Clin Nutr* [Internet]. 2018; Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0261561418311683>
13. Van Goudoever JB, Carnielli V, Darmaun D, Sainz de Pipaon M. ESPGHAN/ESPEN/ESPR guidelines on pediatric parenteral nutrition: Amino

- acids. *Clin Nutr* [Internet]. 2018; Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0261561418311683>
14. Mesotten D, Joosten K, Van Kempen A, Verbruggen S. ESPGHAN/ESPEN/ESPR guidelines on pediatric parenteral nutrition: Carbohydrates. *Clin Nutr* [Internet]. 2018; Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0261561418311683>
  15. Driscoll DF, Giampietro K, Wichelhaus DP, Peterss H, Nehne J, Niemann W, et al. Physicochemical stability assessments of lipid emulsions of varying oil composition. *Clin Nutr*. 2001;20(2):151–7.
  16. Chambrier C, Lauerjat M, Boulétreau P. Émulsions Lipidiques : Indication Des Différentes Émulsions Lipidiques. *Nutr Clin Metab*. 2006;20(2):73–8.
  17. Driscoll DF, Bistran BR, Demmelmair H, Koletzko B. Pharmaceutical and clinical aspects of parenteral lipid emulsions in neonatology. *Clin Nutr*. 2008;27(4):497–503.
  18. Adolph M, Heller AR, Koch T, Koletzko B, Kreymann KG, Krohn K, et al. Lipid emulsions - Guidelines on Parenteral Nutrition, Chapter 6. *Ger Med Sci*. 2009;7:1–13.
  19. Haute Autorité de Santé. Avis de la commission de transparence sur le Smoflipid. 2010.
  20. Najm S, Löfqvist C, Hellgren G, Engström E, Lundgren P, Hård AL, et al. Effects of a lipid emulsion containing fish oil on polyunsaturated fatty acid profiles, growth and morbidities in extremely premature infants: A randomized controlled trial. *Clin Nutr ESPEN*. 2017;20:17–23.
  21. Deshpande G, Simmer K, Deshmukh M, Mori TA, Croft KD, Kristensen J. Fish oil (SMOFlipid) and olive oil lipid (clinoleic) in very preterm neonates. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2014;58(2):177–82.
  22. Dubourg J, Fischer Fumeaux C, Kassai B, Chambrier C, Claris O. Le type d'émulsion lipidique peut-il influencer le taux d'apparition des pathologies liées au stress oxydatif chez les prématurés ? Étude rétrospective SMOFlipid® versus Medialipide®. *Nutr Clin Métabolisme* [Internet]. 2014;28:S229–30. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S098505621470946X>
  23. Beken S, Dilli D, Fettah ND, Kabataş EU, Zenciroğlu A, Okumuş N. The influence of fish-oil lipid emulsions on retinopathy of prematurity in very low birth weight infants: A randomized controlled trial. *Early Hum Dev*. 2014;90(1):27–31.
  24. Vlaardingerbroek H, Veldhorst MAB, Spronk S, Van Den Akker CHP, Van Goudoever JB. Parenteral lipid administration to very-low-birth-weight infants - Early introduction of lipids and use of new lipid emulsions: A systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr*. 2012;96(2):255–68.
  25. Lapillonne A, Fidler Mis N, Goulet O, Van Den Akker C, Wu J, Koletzko B. ESPGHAN/ESPEN/ESPR Guidelines on pediatric parenteral nutrition: Lipids. *Clin Nutr* [Internet]. 2018;(June). Available from: <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2018.06.956>

26. Vlaardingerbroek H, Vermeulen MJ, Rook D, Van Den Akker CHP, Dorst K, Wattimena JL, et al. Safety and efficacy of early parenteral lipid and high-dose amino acid administration to very low birth weight infants. *J Pediatr* [Internet]. 2013;163(3):638–644.e5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpeds.2013.03.059>
27. Vanek VW, Borum P, Buchman A, Fessler TA, Howard L, Jeejeebhoy K, et al. A.S.P.E.N. position paper: Recommendations for changes in commercially available parenteral multivitamin and multi-trace element products. *Nutr Clin Pract*. 2012;27(4):440–91.
28. Mihatsch WA, Fewtrell M, Goulet O, Molgaard C, Picaud JC, Senterre T. ESPGHAN/ESPEN/ESPR guidelines on pediatric parenteral nutrition: Calcium, phosphorus and magnesium. *Clin Nutr* [Internet]. 2018; Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0261561418311683>
29. Domellöf M, Szitanyi P, Simchowicz V, Franz A, Mimouni F, Braegger C, et al. ESPGHAN/ESPEN/ESPR guidelines on pediatric parenteral nutrition: Iron and trace minerals. *Clin Nutr* [Internet]. 2018; Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0261561418311683>
30. Fusch C, Bauer K, Böhles HJ, Jochum F, Koletzko B, Krawinkel M, et al. Neonatology/Paediatrics - Guidelines on Parenteral Nutrition, Chapter 13. *Ger Med Sci*. 2009;7:1–23.
31. GODENNE Lou. Evaluation des pratiques de standardisation de la nutrition parentérale chez le nouveau-né prématuré de moins de 32 semaines d'aménorrhée. Marseille; 2017.
32. HAS. Nutrition parentérale en néonatalogie : recommandations pour la pratique clinique - argumentaire scientifique. 2018.
33. Lieou A-E, JABAUD-GAZIN G, PATKAI J, JARREAU P-H, DAUPHIN A, LEMARE F. Prise en charge nutritionnelle des nouveau-nés prématurés. 2012;27(d):11–7.
34. Saint-Laurent C, Roulet L, Dupuis A. Aspects pharmacotechniques de la nutrition parentérale. *Actual Pharm Hosp*. 2008;14:44–50.
35. Kolaček S, Puntis J, Hojsak I. ESPGHAN/ESPEN/ESPR Guidelines on pediatric parenteral nutrition: venous access. *Clin Nutr* [Internet]. 2018;(june). Available from: <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2018.06.956>
36. Cecchi-Tenerini R, Pierrat C, Vanneste A, Leblond C. Evaluation des pratiques en matière de nutrition parentérale pédiatrique.
37. CSP. Article L5121-1 du Code de la Santé Publique. *Bull Off*. 2018;
38. AFSSAPS. Bonnes pratiques de préparation, Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (Afssaps) [Internet]. Vol. 2007/7 bis, Bulletin officiel. 2007. Available from: [http://ansm.sante.fr/var/ansm\\_site/storage/original/application/a5d6ae4b3d5fde013ca463462b7b296.pdf](http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/a5d6ae4b3d5fde013ca463462b7b296.pdf)



39. Baudouin A, Diouf E, Tall ML, Duval S, Provôt S, Picaud JC, et al. Avantages et spécificités des préparations hospitalières de nutrition parentérale en néonatalogie. *Ann Pharm Fr* [Internet]. 2015;73(2):150–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pharma.2014.06.003>
40. Dice J, GJ B, JT W, RA H. Standardized versus pharmacist-monitored individualized parenteral nutrition in low-birth-weight infants. *Am J Hosp Pharm*. 1981;38(10):1487-9.
41. Mutchie K, Smith K, MacKay M, Marsh C, Juluson D. Pharmacist monitoring of parenteral nutrition: clinical and cost effectiveness. *Am J Hosp Pharm*. 1979;36(6):785-7.
42. McCarthy R, Segurado R, Crealey M, Twomey A. Standardised versus individualised parenteral nutrition. Further food for thought. *Ir Med J*. 2016;109(4):388.
43. Yeung MY, Smyth JP, Maheshwari R, Shah S. Evaluation of standardized versus individualized total parenteral nutrition regime for neonates less than 33 weeks gestation. *J Paediatr Child Health*. 2003;39(8):613–7.
44. Boukhouna S, Geffray A, Tiras S, Castela F, Paupe A, Todorova D, et al. Amélioration de l'apport nutritionnel précoce des prématurés de moins de 32 semaines : comparaison de formulations de nutrition parentérale individuelle ou standard. *J Gynécologie Obs Biol Reprod*. 2005;34:281–2.
45. Lenclen R, Crauste-Manciet S, Narcy P, Boukhouna S, Geffray A, Guerrault MN, et al. Assessment of implementation of a standardized parenteral formulation for early nutritional support of very preterm infants. *Eur J Pediatr*. 2006;165(8):512–8.
46. Iacobelli S, Bonsante F, Vintéjoux A, Gouyon JB. Standardized parenteral nutrition in preterm infants: Early impact on fluid and electrolyte balance. *Neonatology*. 2010;98(1):84–90.
47. Riskin A, Picaud JC, Shamir R. ESPGHAN/ESPEN/ESPR Guidelines on pediatric parenteral nutrition: standard versus individualized parenteral nutrition. *Clin Nutr* [Internet]. 2018;(june). Available from: <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2018.06.956>
48. Bouchoud L, Fonzo-Christe C, Sadeghipour F, Bonnabry P. How standardised are paediatric parenteral nutrition formulations in Europe? *EJHP Sci*. 2010;16(1):1–4.
49. Quatremare E. Nutrition parentérale et maîtrise du risque microbiologique : validation d'une méthode alternative pour l'essai de stérilité des mélanges nutritifs « à la carte ». 2014.
50. Alleaume S, Pr S, Thiolet J, Tahrat A. Instruction N°DGOS/PF2/DGS/PP2/2015/85 du 20 mars 2015 [Internet]. 2014. Available from: <http://www.sante.gouv.fr/la-douleur.html>
51. Grattelle M-A. Evaluation des Pratiques Professionnelles liées au processus de production des nutriments parentéraux pédiatriques au Centre Hospitalier

- Universitaire de Bordeaux. 2016.
52. Sangnier M, Teytaud M, Raspaud B, Jourand A, Crauste-Manciet S. Standardisation des nutritions parentérales pédiatriques (NPP): de la formulation à la réalisation. 2017.
  53. Pertkiewicz M, Dudrick SJ. Basics in clinical nutrition: Systems for parenteral nutrition, different systems for parenteral nutrition (AIO vs. MB). e-SPEN [Internet]. 2009;4(3):e123–4. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.eclnm.2009.01.005>
  54. Barnett MI, Pertkiewicz M, Cosslett AG, Mühlebach S. Basics in clinical nutrition: Parenteral nutrition admixtures, how to prepare parenteral nutrition (PN) admixtures. e-SPEN. 2009;4(3):114–6.
  55. Mühlebach S, Franken C, Stanga Z. Practical handling of AIO admixtures - Guidelines on Parenteral Nutrition, Chapter 10. Ger Med Sci. 2009;7:1–8.
  56. Cuntz D, Gottrand F, Michaud L, Dubar G, Pham N, Florent M, et al. Intérêt des mélanges ternaires pour la nutrition parentérale prolongée chez le nourrisson. Nutr Clin Metab. 1997;11:169–73.
  57. Ybarra J V., Rose WE, Curtis CS, Sacks GS. Sterility of pediatric lipid emulsions repackaged by an automated compounding device. J Parenter Enter Nutr. 2011;35(3):391–4.
  58. Driscoll DF. Compounding TPN admixtures: then and now. Nutrition. 2003;27(5):355–73.
  59. Hardy G, Puzovic M. Formulation, stability, and administration of parenteral nutrition with new lipid emulsions. Nutr Clin Pract. 2009;24(5):616–25.
  60. Husson E, Crauste-manciet S, Hadj-salah È, Séguier J. Stabilité galénique de mélanges commercialisés de nutrition parentérale en présence de médicaments 1: médicaments dans le mélange Compatibility of parenteral drugs with commercialized total parenteral admixtures 1: injection of drug inside the admixture. 2003;17:8–14.
  61. Bouchoud L, Duchêne ML, Corriol O, Neuville S. Parenteral nutrition and drugs: Modalities of concomitant administration. Nutr Clin Metab [Internet]. 2013;27(4):263–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.nupar.2013.08.001>
  62. Cardona D, Nadal M, Estelrich J, Mangués MA. Review of drug stability in parenteral nutrition admixtures. ESPEN J [Internet]. 2013;8(4):e135–40. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.clnme.2013.06.001>
  63. Manning RJ, Washington C. Chemical stability of total parenteral nutrition mixtures. Int J Pharm. 1992;81(1):1–20.
  64. Sautou V, Brossard D, Crauste-Manciet S, Fleury-Souverain S, Lagarce F, Odou P, et al. Guide méthodologique des études de stabilité des préparations. 2013.
  65. Ferguson TI, Emery S, Price-Davies R, Cosslett AG. A review of stability issues associated with vitamins in parenteral nutrition. ESPEN J. 2014;9(2):e49–53.

66. Allwood MC, Kearney MCJ. Compatibility and stability of additives in parenteral nutrition admixtures. *Nutrition*. 1998;14(9):697–706.
67. Dahl GB, Svensson L, Kinnander JG, Zander M, Bergstrom K. Stability of Vitamins in Soybean Oil Simulating Intravenous Feeding of Neonates and Children. *J Parenter Enter Nutr*. 1994;18(3):234–9.
68. Allwood MC, Martin HJ. The photodegradation of vitamins A and E in parenteral nutrition mixtures during infusion. *Clin Nutr*. 2000;19(5):339–42.
69. Dupertuis YM, Ramseyer S, Fathi M, Pichard C. Assessment of ascorbic acid stability in different multilayered parenteral nutrition bags: Critical influence of the bag wall material. *J Parenter Enter Nutr*. 2005;29(2):125–30.
70. Allwood M. Factors influencing the stability of ascorbic acid in total parenteral nutrition infusions. *J Clin Hosp Pharm*. 1984;9(2):75–85.
71. Bronsky J, Campoy C, Braegger C. ESPGHAN/ESPEN/ESPR Guidelines on pediatric parenteral nutrition: Vitamins. *Clin Nutr [Internet]*. 2018;(june). Available from: <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2018.06.956>
72. Grand A, Jalabert A, Steghens J, Mercier G, Florent M, Hansel-Esteller S, et al. Influence des micronutrimens sur les phénomènes de peroxydation lipidique dans les solutés ternaires de nutrition parentérale utilisés en néonatalogie. *Nutr Clin Metab*. 2007;21:42–3.
73. Fry LK, Stegink LD. Formation of Maillard reaction products in parenteral alimentation solutions. *J Nutr*. 1982;112(8):1631–7.
74. Yailian AL, Serre C, Fayard J, Faucon M, Thomaré P, Filali S, et al. Production and stability study of a hospital parenteral nutrition solution for neonates. *J Pharm Anal [Internet]*. 2018; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2018.01.002>
75. Unger N, Holzgrabe U. Stability and assessment of amino acids in parenteral nutrition solutions. *J Pharm Biomed Anal [Internet]*. 2018;147:125–39. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2017.07.064>
76. Dunham, Bruce Khazanie, Prabhaker G. Meade, Glen Craft, Teresa Nichols, Kim Marcuard S. The solubility of calcium and Phosphorus in neonatal total parenteral nutrition solutions. *JPEN, J Parenter Enter Nutr [Internet]*. 1991;15(6):608–11. Available from: <http://pen.sagepub.com/content/15/6/608>
77. Ronchera-Oms CL, Jiménez N V., Peidro J. Stability of parenteral nutrition admixtures containing organic phosphates. *Clin Nutr*. 1995;14(6):373–80.
78. Newton DW, Driscoll DF. Calcium and phosphate compatibility: Revisited again. *Am J Heal Pharm*. 2008;65(1):73–80.
79. Pertkiewicz M, Cosslett A, Mühlebach S, Dudrick SJ. Basics in clinical nutrition: Stability of parenteral nutrition admixtures. *e-SPEN*. 2009;4(3):117–9.
80. Bouchoud L, Fonzo-Christe C, Sadeghipour F, Bonnabry P. Maximizing calcium and phosphate content in neonatal parenteral nutrition solutions using organic

- calcium and phosphate salts. *J Parenter Enter Nutr.* 2010;34(5):542–5.
81. Puntis J, Hojsak I, Ksiazek J. ESPGHAN/ESPEN/ESPR Guidelines on pediatric parenteral nutrition: Organisational aspects. *Clin Nutr [Internet]*. 2018;(June). Available from: <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2018.06.956>
  82. Washington C. The stability of intravenous fat emulsions in total parenteral nutrition mixtures. *Int J Pharm.* 1990;66(1–3):1–21.
  83. Driscoll DF. Lipid Injectable Emulsions: Pharmacopeial and Safety Issues. *Pharm Res.* 2006;23(9).
  84. Chaumeil JC, Brossard D. Stabilité des émulsions lipidiques utilisées en nutrition parentérale. *Nutr Clin Metab.* 1993;7(1):55–64.
  85. Ricard C, Fortuné R, Fussellier M, Bardet L, Florent M. Importance du pH et de la composition des solutions d'acides aminés sur la stabilité des mélanges ternaires pour nutrition parentérale totale. *Nutr Clin Metab.* 1995;9(1):3–13.
  86. Corriol O, Crauste-Manciet S, Arnaud P, Brion F, Brossard D, Causse R, et al. Pratiques en alimentation et nutrition Recommandations pour la préparation des mélanges de nutrition parentérale. *Nutr Clin métabolisme [Internet]*. 2005;19:30–55. Available from: <http://france.elsevier.com/direct/NUTCLI/>
  87. Driscoll DF, Nehne J, Peterss H, Franke R, Bistran BR, Niemann W. The influence of medium-chain triglycerides on the stability of all-in-one formulations. *Int J Pharm.* 2002;240(1–2):1–10.
  88. Driscoll DF, Nehne J, Peterss H, Klütsch K, Bistran BR, Niemann W. Physicochemical stability of intravenous lipid emulsions as all-in-one admixtures intended for the very young. *Clin Nutr.* 2003;22(5):489–95.
  89. Monographie 2.9.20. Particulate contamination : visible particles. In: *European Pharmacopoeia 90*. 2008. p. 302.
  90. Gellis C, Sautou-miranda AAIV, Exbrayat A, Tramier V, Chopineau SCJ. Etude préliminaire de hautes concentrations calciques et phosphatées en mélanges ternaires pédiatriques de nutrition parentérale. 2000;34–46.
  91. Washington C, Chawla A, Christy N, Davis SS. The electrokinetic properties of phospholipid-stabilized fat emulsions. *Int J Pharm.* 1989;54(3):191–7.
  92. Monographie 5.1.6. Méthodes alternatives pour le contrôle de la qualité microbiologique. *Pharmacop Eur 90*. 2008;(1):627–38.
  93. Thévenet S, Mourad M, Bermudez E, Chanut C, Malin L, Alaaouch I, et al. Validation of a new method of sterility testing for the vitamin and lipid mixtures destined for the neonatology department. *Eur J Hosp Pharm.* 2015;22(Suppl 1):2015.
  94. Pigué C, Jeannot J-L, Jumas-Bilak E, Florent M. Contrôle microbiologique des mélanges de nutrition parentérale “à la carte” : comparaison d'un milieu diphasique pour hémoculture, de l'automate Bact/Alert et de l'essai de stérilité selon la pharmacopée européenne. *Nutr Clin Metab.* 2007;21:40–1.

95. Chappuy L, Charroin C, Vétélé F, Durand T, Quessada T, Klotz MC, et al. Étude de stabilité et de stérilité des poches de nutrition parentérale pour patients à domicile fabriquées à l'aide de l'automate BAXA® EM 2400. *Ann Pharm Fr.* 2013;
96. Boutet Mérédith. Stabilité physico-chimique des nutriments parentéraux pédiatriques : étude préliminaire. Poitiers; 2017.
97. Grignon C, Monteil J, Waton K, Beuzit K, Hussein K, Dupuis A. Etude de stabilité des poches de nutriments parentéraux standards.
98. Vétélé F, Raja A, Quessada T, Pirot F, Bréant V, Aulagner G. Etude de la stabilité physicochimique de mélanges pour nutrition parentérale supplémentés en Smoflipid 200 mg/ml, émulsion pour perfusion (Fresenius Kabi). *Le Pharm Hosp Clin* [Internet]. 2012;47:S91–2. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2211104211004206>
99. Bouchoud L, Sadeghipour F, Klingmüller M, Fonzo-Christe C, Bonnabry P. Long-term physico-chemical stability of standard parenteral nutrition for neonates. *Clin Nutr* [Internet]. 2010;29(6):808–12. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.clnu.2010.04.004>
100. Raja A, Vétélé F, Pirot F, Aulagner G. Evaluation des poches stériles pour perfusion, mono- ou multicouches, pour la stabilité des mélanges pour nutrition parentérale. *Le Pharm Hosp Clin.* 2012;
101. Driscoll DF. The pharmacopeial evolution of Intralipid injectable emulsion in plastic containers: From a coarse to a fine emulsion. *Int J Pharm.* 2008;368:193–8.

## Serment de Galien

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

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

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

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

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

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

Que je sois couverte d'opprobre et méprisée de mes confrères si j'y manque.

## Résumé

L'instruction de la DGOS du 20 mars 2015 relative au rapport de l'IGAS sur les nutriments parentéraux pédiatriques (NPP) recommande l'utilisation de NPP standard ainsi que la réalisation de leur étude de stabilité. Le but de ce travail a été de déterminer la stabilité de mélanges standards. Quatre formules (2 binaires et 2 ternaires) locales conformes aux recommandations de l'ESPGHAN ont été analysées à différents temps et jusqu'à J56 après conservation à 4°C à l'abri de la lumière puis après 24h à température ambiante. Plusieurs stabilités ont été étudiées : stabilité galénique de l'émulsion lipidique (potentiel zêta, répartition granulométrique et observation visuelle) ; stabilité chimique (électrolytes, pH et osmolalité, acides aminés et vitamines) et essai de stérilité. Les résultats des différentes analyses ont permis de dégager les profils de stabilité des différents éléments. Point critique de la stabilité des NPP ternaires, les émulsions lipidiques ont montré une stabilité pendant 56 jours. Seuls 3 éléments (vitamines C et E, méthionine) ne sont pas stables pendant la totalité de l'étude. Malgré leur dégradation, les quantités retrouvées à J7 pour la vitamine C et à J28 pour la vitamine E couvrent encore les besoins journaliers d'un prématuré. En tenant compte des différents résultats, il serait envisageable de fixer la stabilité des formules à 28 jours ; une supplémentation en Y pour la vitamine C serait alors nécessaire.

---

**Title:** Standardised paediatric parenteral nutritions: a stability study of binary and ternary mixtures for neonatology

## Summary

The instruction of the DGOS of March 20, 2015 relating to the report of the IGAS on paediatric parenteral nutrition recommends the use of standard MPNs as well as the realization of the corresponding stability study. The purpose of this work was to determine the stability of standard mixtures. Four local formulas (2 binaries and 2 ternaries) compliant to ESPGHAN recommendations were analysed at different times and until D56 after storage at 4°C with light protection and after 24 hours at room temperature. Several stabilities were studied: galenic stability of lipid emulsion (zeta potential, particle size distribution and visual observation); chemical stability (electrolytes, pH and osmolality, amino acids and vitamins) and sterility test. The results of these analyses enabled us to identify the stability profiles of all elements studied. As a critical point in the stability of ternary MPNs, we noticed that lipid emulsions showed stability for 56 days. Only 3 elements (vitamins C and E, methionine) are not stable during the entire duration of the study. Despite their degradation, the amounts found at D7 for vitamin C and D28 for vitamin E still cover the daily needs of a premature baby. Considering the results, it would be possible to set the stability of the formulas at 28 days; Y supplementation for vitamin C would be necessary.

---

**Mot-clés :** nutrition parentérale pédiatrique, standardisation, stabilité physico-chimique, néonatalogie, mélange ternaire

---

**Discipline :** pharmacie

---

Université de Bordeaux  
UFR des Sciences Pharmaceutiques  
Collège Sciences de la Santé  
146 rue Léo Saignat  
33076 Bordeaux Cedex