



HAL
open science

Utilisation de l'Érythromycine à bas dosage en pédiatrie, état des lieux et mise au point galénique

Patrick Thévin

► **To cite this version:**

Patrick Thévin. Utilisation de l'Érythromycine à bas dosage en pédiatrie, état des lieux et mise au point galénique. Sciences pharmaceutiques. 2022. dumas-03794654

HAL Id: dumas-03794654

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03794654v1>

Submitted on 3 Oct 2022

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.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0
International License

THÈSE D'EXERCICE
DU DIPLÔME D'ÉTUDES SPÉCIALISÉES
DE PHARMACIE HOSPITALIÈRE
PHASE D'APPROFONDISSEMENT

Soutenu le 23 septembre 2022

Par M. THEVIN Patrick

Né(e) le 7 février 1989 à GAP (05)

Conformément aux dispositions du décret n°2019-2020 du 04 octobre 2019

----oOo----

**UTILISATION DE L'ERYTHROMYCINE À BAS DOSAGE EN PEDIATRIE,
ETAT DES LIEUX ET MISE AU POINT GALENIQUE**

----oOo----

JURY :

Président : Professeur RATHELOT Pascal

Directeur : Docteur CURTI Christophe

Membres : Docteur JEAN Christophe

Docteur CASTERA DUCROS Caroline

27 Boulevard Jean Moulin – 13385 MARSEILLE Cedex 05
Tel. : 04 91 83 55 00 – Fax : 04 91 80 26 12

ADMINISTRATION :

<i>Doyen :</i>	Mme Françoise DIGNAT-GEORGE
<i>Vice-Doyens :</i>	M. Jean-Paul BORG, M. François DEVRED, M. Pascal RATHELOT
<i>Chargés de Mission :</i>	Mme Pascale BARBIER, Mme Alexandrine BERTAUD, M. David BERGE-LEFRANC, Mme Manon CARRE, Mme Caroline DUCROS, M. Philippe GARRIGUE, M. Guillaume HACHE, M. Thierry TERME
<i>Conseiller du Doyen :</i>	M. Patrice VANELLE
<i>Doyens honoraires :</i>	M. Patrice VANELLE, M. Pierre TIMON-DAVID,
<i>Professeurs émérites :</i>	M. José SAMPOL, M. Athanassios ILIADIS, M. Philippe CHARPIOT, M. Riad ELIAS
<i>Professeurs honoraires :</i>	M. Guy BALANSARD, M. Yves BARRA, Mme Claudette BRIAND, M. Jacques CATALIN, Mme Andrée CREMIEUX, M. Gérard DUMENIL, M. Alain DURAND, Mme Danielle GARÇON, M. Maurice JALFRE, M. Joseph JOACHIM, M. Maurice LANZA, M. Patrick REGLI, M. Jean-Claude SARI
<i>Chef des Services Administratifs :</i>	Mme Chloé SIMON
<i>Chef de Cabinet :</i>	Mme Aurélie BELENGUER
<i>Responsable de la Scolarité :</i>	Mme Nathalie BESNARD

DEPARTEMENT BIO-INGENIERIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Philippe PICCERELLE

PROFESSEURS

BIOPHYSIQUE

M. Vincent PEYROT
M. Hervé KOVACIC
M. François DEVRED

GENIE GENETIQUE ET BIOINGENIERIE

M. Christophe DUBOIS

PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE,
BIOPHARMACIE ET COSMETOLOGIE

M. Philippe PICCERELLE

MAITRES DE CONFERENCES

BIOPHYSIQUE

Mme Odile RIMET-GASPARINI
Mme Pascale BARBIER
Mme Manon CARRE
M. Gilles BREUZARD
Mme Alessandra PAGANO

GENIE GENETIQUE ET BIOTECHNOLOGIE

M. Eric SEREE-PACHA
Mme Véronique REY-BOURGAREL

PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE,
BIOPHARMACIE ET COSMETOLOGIE

M. Pierre REBOUILLON
M. Emmanuel CAUTURE
Mme Véronique ANDRIEU
Mme Marie-Pierre SAVELLI

BIO-INGENIERIE PHARMACEUTIQUE ET BIOTHERAPIES
PHARMACO ECONOMIE, E-SANTE

M. Jérémy MAGALON
Mme Carole SIANI
Mme Muriel MASI

ENSEIGNANT CDI

ANGLAIS

Mme Angélique GOODWIN

A.H.U.

PHARMACOTECHNIE

Mme Mélanie VELIER

DEPARTEMENT BIOLOGIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Françoise DIGNAT-GEORGE

PROFESSEURS

BIOLOGIE CELLULAIRE

M. Jean-Paul BORG

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

Mme Françoise DIGNAT-GEORGE
Mme Laurence CAMOIN-JAU
Mme Florence SABATIER-MALATERRE
Mme Nathalie BARDIN
M. Romaric LACROIX

MICROBIOLOGIE

M. Jean-Marc ROLAIN
M. Philippe COLSON

PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET
ZOOLOGIE

Mme Nadine AZAS-KREDER

MAITRES DE CONFERENCES

BIOCHIMIE FONDAMENTALE, MOLECULAIRE ET CLINIQUE

M. Edouard LAMY
Mme Alexandrine BERTAUD
Mme Claire CERINI
Mme Edwige TELLIER
M. Stéphane POITEVIN
Mme Sandra GHAYAD

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

Mme Aurélie LEROYER
Mme Sylvie COINTE

MICROBIOLOGIE

Mme Anne DAVIN-REGLI
Mme Véronique ROUX
M. Fadi BITTAR
Mme Isabelle PAGNIER
Mme Sophie EDOUARD
M. Seydina Mouhamadou DIENE

PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET ZOOLOGIE

Mme Carole DI GIORGIO
M. Aurélien DUMETRE
Mme Magali CASANOVA
Mme Anita COHEN

BIOLOGIE CELLULAIRE
BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLECULAIRE

Mme Anne-Catherine LOUHMEAU
Mme Alexandra WALTON

A.H.U.

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

Mme Amandine BONIFAY

MAITRES DE CONFERENCE ASSOCIES A TEMPS PARTIEL (M.A.S.T.)

PRATIQUE OFFICINALE

Mme Emmanuelle TONNEAU-PFUG

DEPARTEMENT CHIMIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Patrice VANELLE

PROFESSEURS

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION

Mme Catherine BADENS

CHIMIE PHYSIQUE - PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES

M. David BERGE-LEFRANC

CHIMIE THERAPEUTIQUE - CHIMIE MINERALE ET STRUCTURALE

M. Pascal RATHELOT
M. Maxime CROZET

CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE

M. Patrice VANELLE
M. Thierry TERME

MAITRES DE CONFERENCES

BOTANIQUE ET CRYPTOLOGAMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE	Mme Anne FAVEL M. Quentin ALBERT
CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	Mme Catherine DEFOORT M. Alain NICOLAY Mme Estelle WOLFF Mme Elise LOMBARD Mme Camille DESGROUAS M. Charles DESMARCHELIER M. Mathieu CERINO
CHIMIE PHYSIQUE - PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. Duje BURIC M. Pascal PRINDERRE
CHIMIE THERAPEUTIQUE - CHIMIE MINERALE ET STRUCTURALE	Mme Sandrine ALIBERT Mme Caroline DUCROS M. Marc MONTANA Mme Manon ROCHE Mme Fanny MATHIAS
CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE HYDROLOGIE	M. Armand GELLIS M. Christophe CURTI Mme Julie BROGGI M. Nicolas PRIMAS M. Cédric SPITZ M. Sébastien REDON
PHARMACOGNOSIE, ETHNOPHARMACOLOGIE	Mme Valérie MAHIOU-LEDDER Mme Sok Siya BUN Mme Béatrice BAGHDIKIAN M. Elnur GARAYEV

MAITRES DE CONFERENCE ASSOCIES A TEMPS PARTIEL (M.A.S.T.)

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION CHIMIE PHYSIQUE - PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. Cyril PUJOL
DROIT ET ETHIQUE	Mme Laurie PAHUS
GESTION PHARMACEUTIQUE, PHARMACOECONOMIE ET ETHIQUE PHARMACEUTIQUE OFFICINALE, DROIT ET COMMUNICATION PHARMACEUTIQUES A L'OFFICINE ET GESTION DE LA PHARMAFAC	Mme Félicia FERRERA
DISPOSITIFS MEDICAUX	Mme Valerie MINETTI-GUIDONI

DEPARTEMENT MEDICAMENT ET SECURITE SANITAIRE

Responsable : Professeur Benjamin GUILLET

PROFESSEURS

PHARMACIE CLINIQUE	M. Stéphane HONORÉ
PHARMACODYNAMIE	M. Benjamin GUILLET
TOXICOLOGIE ET PHARMACOCINETIQUE	M. Bruno LACARELLE M. Joseph CICCOLINI
TOXICOLOGIE GENERALE	Mme Caroline SOLAS-CHESNEAU

MAITRES DE CONFERENCES

PHARMACIE CLINIQUE	M. Florian CORREARD Mme Marie-Anne ESTEVE
PHARMACODYNAMIE	M. Guillaume HACHE Mme Ahlem BOUHLEL M. Philippe GARRIGUE
PHYSIOLOGIE	Mme Sylviane LORTET
TOXICOLOGIE ET PHARMACOCINETIQUE	Mme Raphaëlle FANCIULLINO Mme Florence GATTACECCA Mme Anne RODALLEC M. Nicolas FABRESSE
TOXICOLOGIE GENERALE	M. Pierre-Henri VILLARD

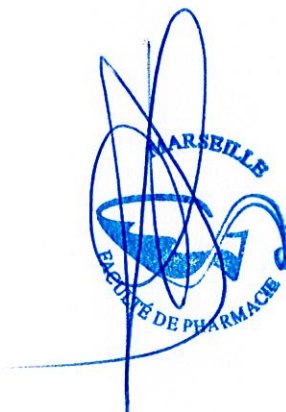
A.H.U.

PHYSIOLOGIE / PHARMACOLOGIE	Mme Anaïs MOYON M. Vincent NAIL
-----------------------------	------------------------------------

CHARGES D'ENSEIGNEMENT A LA FACULTE

Mme Valérie AMIRAT-COMBRALIER, Pharmacien-Praticien hospitalier
M. Pierre BERTAULT-PERES, Pharmacien-Praticien hospitalier
Mme Marie-Hélène BERTOCCHIO, Pharmacien-Praticien hospitalier
Mme Martine BUES-CHARBIT, Pharmacien-Praticien hospitalier
M. Nicolas COSTE, Pharmacien-Praticien hospitalier
Mme Sophie GENSOLLEN, Pharmacien-Praticien hospitalier
M. Sylvain GONNET, Pharmacien titulaire
Mme Florence LEANDRO, Pharmacien adjoint
M. Stéphane PICHON, Pharmacien titulaire
M. Patrick REGGIO, Pharmacien conseil, DRSM de l'Assurance Maladie
Mme Clémence TABELLE, Pharmacien-Praticien attaché
M. Badr Eddine TEHHANI, Pharmacien – Praticien hospitalier
M. Joël VELLOZZI, Expert-Comptable

Mise à jour le 13 décembre 2021



**LE DOYEN
F. DIGNAT-GEORGE**

*« L'Université n'entend donner aucune approbation, ni improbation
aux opinions émises dans les thèses. Ces opinions doivent être
considérées comme propres à leurs auteurs. »*

Remerciements

A Monsieur le Pr RATHELOT Pascal

Je vous remercie de me faire l'honneur de présider ce jury de thèse et de l'intérêt que vous porterez à ce travail. Veuillez trouver ici le témoignage de mon respect et de ma gratitude.

A Monsieur le Dr CURTI Christophe

Je vous remercie pour votre accompagnement à la réalisation de cette thèse et je suis ravi d'avoir pu travailler avec vous. Votre disponibilité, vos conseils et votre aide m'ont été très précieux. J'espère que vous serez satisfait du résultat final.

A Monsieur le Dr JEAN Christophe

Je vous remercie pour votre implication et votre aide dans la réalisation de cette thèse. Un grand merci pour votre accueil durant mon stage au préparatoire de l'hôpital de Sainte Marguerite et pour tout ce que vous m'avez appris concernant les préparations. Je vous remercie de me faire l'honneur de siéger dans mon jury de thèse.

A Madame le Dr CASTERA DUCROS Caroline

Je vous remercie de me faire l'honneur d'être présente dans mon jury de thèse. Les formations à Pharmafac m'ont grandement aidé durant ma scolarité et plus particulièrement pendant le concours de l'internat. Le fait d'avoir pu ensuite moi-même y être tuteur a été une expérience enrichissante.

A toi mon amour

Merci de m'accompagner chaque jour et de me soutenir dans tous mes choix. Sans toi, je ne serais pas arrivé là où j'en suis aujourd'hui, finalement c'est peut-être moi qui ne te mérite pas ?

A mes parents

Merci de m'avoir soutenu quand sur un coup de folie j'ai décidé de reprendre mes études à 25 ans. Je n'ai pas toujours choisi la facilité, mais vous avez toujours été là pour me pousser à me dépasser. Merci à toi maman de m'avoir poussé à devenir préparateur en pharmacie, malgré mes (gros) aprioris, sans toi je serais passé à côté de ma carrière. Merci à toi papa d'être un exemple de persévérance et de pragmatisme, je ne serais pas l'homme que je suis aujourd'hui sans toi.

A ma petite sœur

Je te souhaite tout le bonheur et la réussite pour ta carrière hospitalière. Sache que je suis très fier de toi, merci pour l'aide financière que tu m'as apportée pendant mes années de « pauvreté » à la fac.

A Lea JULIAN

Merci à toi d'avoir soufflé sur les braises de ma motivation pour en sortir cette étincelle qui fait que j'en suis là maintenant. C'est simple, sans toi, je ne serais pas pharmacien aujourd'hui et pour ça tu auras mon éternelle reconnaissance. Un grand merci également à Hélène SCHIMITZ qui a été là aussi pour m'épauler dans cette décision de reprendre mes études et qui a toujours été une oreille attentive à mes déboires tout au long de mon cursus.

A la TS4 Family

Merci à Marty, PM, Chris, Fab, Alex, Jé, Le Gros et Batman pour ces 15 ans d'amitié, merci également à tous ceux qui se sont greffés petit à petit à ce groupe de fou-furieux : Greg

« L.E.P.2.E », Claire x2, Cha « Madame Zou » et Stéphanie. Chacune de nos réunions est un bonheur qui me requinque pour des mois.

A Jérémy GORDE et Maxence CONTI

« Jems et Max », vous êtes mes plus vieux amis et même si on ne se voit plus aussi souvent qu'avant je pense encore à vous avec nostalgie.

A Loïc CORDONIANU

Merci à toi Junior pour toutes ces années à Marseille, j'espère que tu as trouvé le bonheur à la Réunion. Nos soirées FIFA me manquent (surtout quand c'était moi qui gagnais).

A mes amis de la Faculté de Pharmacie

Merci à chacun de vous pour ces années de fac : Luna, Jade, Maxime, Matthieu, Alex (merci encore pour cette chanson à ma gloire), Anthony, Paul et j'en passe. Cette période n'aurait pas eu la même saveur sans vous.

A mes cointernes

Merci à tous ceux qui ont croisé ma route pendant cet internat : Laura, Lucille, Guillaume, Laurie, Luana, Margaux, Alexia, Aminata etc. Vous avez été des formidables compagnons de route.

A Véronique ATHANASSIOU, Stéphanie TEISSEIRE et Nathalie PENABLE

Merci à vous pour votre disponibilité et votre aide pendant mon stage au SCQIP, mais également à la réalisation de cette thèse.

A mes amis préparateurs et préparatrices en pharmacie

Merci à vous : Mélanie, Justine, David, Jérôme, Elodie, Sophie etc. Merci pour toutes ces soirées et ces bons moments au travail et en dehors. Vous avez rendu formidable mon début de carrière dans le monde de la pharmacie.

A l'ensemble des équipes avec qui j'ai eu le plaisir de travailler durant mon internat

Je vous remercie pour tout ce que vous m'avez apporté et transmis durant cette période, pour votre accueil et votre bienveillance.

A toute ma famille et mes amis

Table des matières

Table des matières	1
Liste des abréviations	4
Liste des figures.....	6
Liste des tableaux	7
Introduction générale.....	8
Partie I : Indications thérapeutiques et revue de la littérature	10
I. Généralités :	10
1. Historique	10
2. Les Macrolides :	10
a) Mécanisme d'action :	10
b) Structure chimique :	11
c) Spectre d'action :	11
d) Effets indésirables et précautions d'emploi :	12
II. L'Erythromycine :	13
1. Utilisation à l'Assistance Publique des Hôpitaux de Marseille (AP-HM) :	13
a) Intolérance alimentaire chez le nouveau-né prématuré	13
b) Mécanisme d'action :	14
c) Effets indésirables :	15
2. Formulation galénique :	17
a) Propriétés physico-chimiques :	17
b) Modalités d'utilisation :	17
c) Choix de la forme galénique :	30
d) Choix des excipients :	30
e) Préparation hospitalière :	31
f) Protocole par pesée versus protocole par volume :	34
g) Protocole par pesée :	35
h) Etiquetage	36
i) Envoie au SCQIP pour analyse :	36
Partie II : Mise au point du dosage HPLC-UV	37
I. Présentation du SCQIP :	37
II. Les principes de l'HPLC :	37

1.	Généralités :	37
2.	Les différents paramètres à étudier :	38
III.	Les référentiels utilisés :	40
1.	Les Pharmacopées :	40
2.	L'International Conference of Harmonization (ICH) :	41
3.	Le Groupe d'Évaluation et de Recherche sur la Protection en Atmosphère Contrôlée (GERPAC) :	41
IV.	Création de la méthode de dosage :	42
1.	Paramètres de l'HPLC :	42
2.	Phase mobile :	42
3.	Validation de la méthode :	43
V.	Dosage en routine :	51
1.	Préparation des CQ (contrôles qualités) :	51
2.	System Suitability Test (SST) :	52
3.	Conformité du Standard :	53
4.	Préparation des échantillons à doser :	53
VI.	Gélules d'Erythromycine 20 mg, libération de lot :	54
1.	La teneur :	54
2.	Valeur d'acceptation (VA) :	55
3.	Uniformité de masse des gélules :	55
4.	Microbiologie :	56
5.	Résultats :	56
VII.	Gélules d'Erythromycine 20 mg, étude de stabilité :	56
1.	Déroulé de l'étude de stabilité :	56
2.	Test de désagrégation :	57
3.	Produits de dégradation :	58
4.	Résultats :	59
Partie III : Mise au point des tests microbiologiques		60
I.	Contexte :	60
II.	Dénombrement microbien par méthode de filtration :	61
1.	Les référentiels :	61
2.	Applicabilité de la méthode en présence du produit :	62
a)	Liste des germes de référence :	62
b)	Préparation des échantillons :	62
c)	Préparation des souches :	63
d)	Les témoins :	64

e) Essais bactériologiques :	65
f) Essais mycologiques :	65
g) Validation de la méthode :	66
h) Résultats :	67
3. Réalisation en routine :	72
a) Préparation de l'échantillon :	72
b) Filtration de l'échantillon	73
c) Interprétation des résultats :	74
Conclusion générale	75
Annexes	76
Annexe 1 : Fiche de fabrication de la préparation hospitalière de gélule d'Erythromycine à 20 mg	76
Annexe 2 : Bon pour analyse	77
Annexe 3 : Fiche de contrôle Uniformité de masse des gélules	78
Annexe 4 : Bon de rendu de résultat de préparations hospitalières	79
Annexe 5 : Fiche de libération de lot	82
Bibliographie	83

Liste des abréviations

AAC : Autorisation d'accès compassionnel

AAP : Autorisation d'accès précoce

AMM : Autorisation de mise sur le marché

ANSM : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé

AP-HM : Assistance publique des hôpitaux de Marseille

ATU : Autorisation temporaire d'utilisation

BPP : Bonnes pratiques de préparation

CMM : Complexe moteur migrant

CQ : Contrôle qualité

CV : Coefficient de variation

CYP : Cytochrome

DGAT : Dénombrement des germes aérobies totaux

DLU : Date limite d'utilisation

DMLT : Dénombrement des moisissures/levures totales

EDQM : Direction européenne de la qualité du médicament et des soins de santé

EMA : Ecart maximal acceptable

EPPI : Eau pour préparations injectables

FDA : Food and drug administration

GERPAC : Groupe d'évaluation et de recherche sur la protection en atmosphère contrôlée

HAS : Haute autorité de santé

HPLC : Chromatographie en phase liquide à haute performance

ICH : Conférence internationale d'harmonisation

IHPS : Sténose pylorique hypertrophique infantile

LCQ : Laboratoire de contrôle de la qualité

PA : Principe actif

PNAC : Cholestase associée à la nutrition parentérale

PSM : Poste de sécurité microbiologique

PUI : Pharmacie à usage intérieur

QSP : Quantité suffisante pour

RCT : Essai clinique randomisé contrôlé

RGO : Reflux gastro-œsophagien

SA : Semaine d'aménorrhée

SCQIP : Service central de la qualité et de l'information pharmaceutique

SG : Semaine de grossesse

SST : System suitability test

TSA : Tryptone soy agar

USP : Pharmacopée américaine

VA : Valeur d'acceptation

ZAC : Zone à atmosphère contrôlée

Liste des figures

Figure n°1 : Structure chimique de l'Erythromycine	13
Figure n° 2 : Répartition des effectifs dans les groupes placebo et Erythromycine du RCT Numéro 7	22
Figure n° 3 : Gélulier automatique ProFiller® 3700.....	32
Figure n° 4 : Balance de pesée Precisa® XT 220 A.....	33
Figure n° 5 : Les différentes tailles de gélules	33
Figure n° 6 : Etiquette de la préparation hospitalière.....	36
Figure n° 7 : Schéma d'une HPLC.....	38
Figure n° 8 : HPLC Dionex Ultimate 3000®	44
Figure n° 9 : HPLC Agilent 1260 Infinity®	45
Figure n° 10 : Chromatogramme de l'étude de dégradation forcée dans l'Acide Chlorhydrique	48
Figure n° 11 : Chromatogramme de l'étude de dégradation forcée dans la soude.....	49
Figure n° 12 : Chromatogramme de l'étude de dégradation forcée sous UV.....	49
Figure n° 13 : Chromatogramme de l'étude de dégradation forcée dans l'eau oxygénée.....	50
Figure n° 14 : Chromatogramme de l'étude de dégradation forcée sous hautes températures.....	50
Figure n° 15 : Chromatogramme d'une gélule d'Erythromycine	54
Figure n° 16 : Appareil de désagrégation Agilent® 100.....	58
Figure n° 17 : Rampe de filtration et la Pompe Microsart®	60
Figure n° 18 : Géloses Sabouraud et TSA	61
Figure n° 19 : Bioball®	63
Figure n° 20 : Représentation schématique desensemencements bactériologiques	63
Figure n° 21 : Représentation schématique desensemencements mycologiques.....	64
Figure n° 22 : Témoin Souche <i>Staphylococcus aureus</i> à J1	68
Figure n° 23 : Témoin Souche <i>Bacillus subtilis</i> à J1	68
Figure n° 24 : Témoin Souche <i>Pseudomonas aeruginosa</i> à J1	69
Figure n° 25 : Témoin Souche <i>Pseudomonas aeruginosa</i> à J4	69
Figure n° 26 : Témoin Souche <i>Candida albicans</i> à J3	71
Figure n° 27 : Géluse « Echantillon + <i>Aspergillus brasiliensis</i> » à J3.....	71

Liste des tableaux

Tableau n° 1 : Résumé des différents RCT.....	29
Tableau n° 2 : Linéarité de l'Erythromycine	45
Tableau n° 3 : Justesse de l'Erythromycine	46
Tableau n° 4 : Répétabilité de l'Erythromycine.....	47
Tableau n° 5 : Fidélité de l'Erythromycine	47
Tableau n° 6 : Résultat du SST	52
Tableau n° 7 : Etude de stabilité des gélules d'Erythromycine à 20 mg	59
Tableau n° 8 : Résultats des ensemencements bactériologiques	70
Tableau n° 9 : Résultats des ensemencements mycologiques.....	72

Introduction générale

Dans les établissements de santé, les pharmacies à usage intérieur (PUI) assurent la prise en charge médicamenteuse des patients et doivent répondre aux besoins des services. Cependant, l'absence de certaines spécialités pharmaceutiques adaptées ayant une autorisation de mise sur le marché (AMM), une autorisation d'accès précoce ou compassionnel (AAP ou AAC, anciennement appelées ATU : autorisation temporaire d'utilisation de cohorte ou nominative), ou une autorisation d'importation, oblige les PUI à mettre en place la fabrication de préparations magistrales et hospitalières. Les services de pédiatrie sont particulièrement concernés, du fait d'un nombre d'essais cliniques réduit chez l'enfant par les industries pharmaceutiques, pour des raisons économiques et éthiques. A l'Assistance Publique des Hôpitaux de Marseille (AP-HM), les préparations hospitalières sont fabriquées au préparatoire central de la PUI de l'Hôpital de Sainte-Marguerite et sont ensuite contrôlées par le Service Central de la Qualité et de l'Information Pharmaceutique (SCQIP) avant leur libération.

Pour cette thèse, nous avons choisi d'aborder la mise en place de la préparation hospitalière de gélule d'Erythromycine à 20 mg utilisées comme prokinétique en réanimation pédiatrique, de sa conception jusqu'aux différents contrôles à effectuer avant la libération des lots. Parmi les contrôles recommandés pour les préparations non stériles et administrées par voie orale, il y a les contrôles microbiologiques. La technique de référence au SCQIP est le dénombrement par ensemencement direct. Pour certaines préparations (notamment les antibiotiques), cette technique ne peut être utilisée car elle ne peut pas mettre en évidence une contamination microbiologique. En effet, l'antibiotique ayant une activité antibactérienne, une faible contamination pourrait être non détectée. Un lot étant contrôlé par échantillonnage, et les contaminations n'étant pas forcément homogènes sur un lot, il est donc possible de passer à côté d'une non-conformité. Un des objectifs de cette thèse était donc de trouver une autre méthode d'ensemencement afin de réaliser ces contrôles microbiologiques.

Dans un premier temps, nous aborderons la conception de la préparation hospitalière : nous effectuerons une revue de la littérature bibliographique pour démontrer les propriétés prokinétiques de l'Erythromycine, et également déterminer la formulation galénique la plus appropriée. Dans un deuxième temps, nous détaillerons les différentes étapes de la mise au point du dosage par chromatographie en phase liquide à haute performance couplée à un détecteur à ultra-violet (HPLC-UV), et nous réaliserons une étude de stabilité de la préparation. Enfin, dans une troisième et dernière partie, nous expliquerons la mise en place des tests microbiologiques de dénombrement par la méthode de filtration et nous effectuerons une validation de l'applicabilité de cette méthode.

Partie I : Indications thérapeutiques et revue de la littérature

I. Généralités :

1. Historique :

L'Erythromycine fut découverte en 1949 par le Dr Abelardo Aguilar, médecin travaillant pour le laboratoire pharmaceutique Eli Lilly aux Philippines. Il s'agit du premier antibiotique de la famille des **Macrolides**. Elle est produite par un Actinomyces : *Saccharopolyspora erythraea* (anciennement *Streptomyces erythraeus*)

2. Les Macrolides :

a) Mécanisme d'action :

Les macrolides agissent par inhibition de la synthèse des protéines bactériennes. Pour cela, ils se lient au **domaine V** de l'**ARN ribosomique (ARNr) 23S**, qui est le principal constituant de la **sous unité 50S** du ribosome des bactéries sensibles et ainsi empêchent la translocation peptidique (1).

Ils possèdent également un effet **immunomodulateur** et **anti-inflammatoire** par inhibition de la production et de la sécrétion des **cytokines pro-inflammatoires** (IL-1, IL-6, IL-8, TNF, Interférons gamma etc) par les monocytes/macrophages, les mastocytes et les leucocytes, et également au niveau des cellules épithéliales bronchiques. Ils réduisent la migration, la quantité et l'activité des polynucléaires neutrophiles *via* la diminution des **Leucotriènes B4**. Ils diminuent également la prolifération des lymphocytes et la différenciation des monocytes en macrophages ; et affectent des facteurs régulateurs de la transcription (**NF-κB**) qui entraîne l'expression des gènes impliqués dans la réponse immunitaire et l'inflammation (COX-2, iNOS etc). L'**Azythromycine** entraîne également une augmentation de la sécrétion de l'IL-10 (cytokine anti inflammatoire) (1,2)

Ce sont des antibiotiques à activité **bactériostatique** dans la majorité des cas, mais un effet **bactéricide** (3) a été observé sur certaines bactéries *in vitro* comme *Streptococcus pyogenes* ou *Neisseria meningitidis*.

b) Structure chimique :

Les macrolides sont des hétérosides constitués d'un **macrocycle lactonique** substitué par un ou plusieurs sucres dont l'un est aminé. La différence entre les différents antibiotiques de cette famille se fait sur le nombre de sommet du macrocycle (14, 15 ou 16 sommets) et la présence ou non d'un sucre neutre (**cladinose**) en 3.

Ainsi on distingue :

- Les macrocycles à 14 sommets avec un cladinose en 3 : **Erythromycine, Roxithromycine, Clarithromycine** etc
- Les macrocycles à 14 sommets où le cladinose en 3 a été substitué par un groupement cétone (ces macrolides sont aussi appelés **Kétolides**) : **Telithromycine** etc
- Les macrocycles à 15 sommets (appelés aussi **Azalides**) : **Azithromycine**
- Les macrocycles à 16 sommets : **Josamycine, Spiramycine** etc

A noter qu'il existe également des immunosuppresseurs parmi les Macrolides, à savoir les inhibiteurs de la calcineurine (**Tacrolimus** et **Pimecrolimus**) et les inhibiteurs de mTOR (**Sirolimus** et **Everolimus**).

c) Spectre d'action :

Les macrolides ont un spectre d'activité proche des **pénicillines**, ils constituent ainsi une alternative thérapeutique pour les patients présentant des allergies à celles-ci. De manière générale, le spectre d'action des macrolides est orienté vers :

- Les bactéries **Gram positif** : *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* métiS, *Corynebacterium diphtheriae*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus anthracis* etc
- Les bactéries **intra-cellulaires** : Les Mycoplasmes, *Legionella pneumophila*, *Chlamydiae spp*, etc
- Certaines bactéries **Gram négatif** : *Bordetella recurrentis* etc
- Les **spirochètes** : *Treponema pallidum* etc

- Certains **protozoaires** intracellulaires : *Toxoplasma gondii*, des cryptosporidies, des plasmodiums etc

d) Effets indésirables et précautions d'emploi :

Comme tous les antibiotiques, les macrolides peuvent entraîner des perturbations de la flore intestinale pouvant se manifester par des **diarrhées**, des **nausées** et des **vomissements**, et pouvant aller jusqu'à des **colites pseudomembraneuses** à *Clostridium difficile* (4). Toutefois, la fréquence de ces troubles digestifs diffère selon le macrolide utilisé, en effet l'Erythromycine entraîne des troubles digestifs chez **15 à 20% des patients**, alors que ces mêmes troubles sont retrouvés chez **moins de 5%** des patients qui utilisent les autres macrolides (5). Ils peuvent également entraîner des **réactions allergiques** comme des prurits et de l'urticaire, mais ce sont de manière générale des antibiotiques très bien tolérés

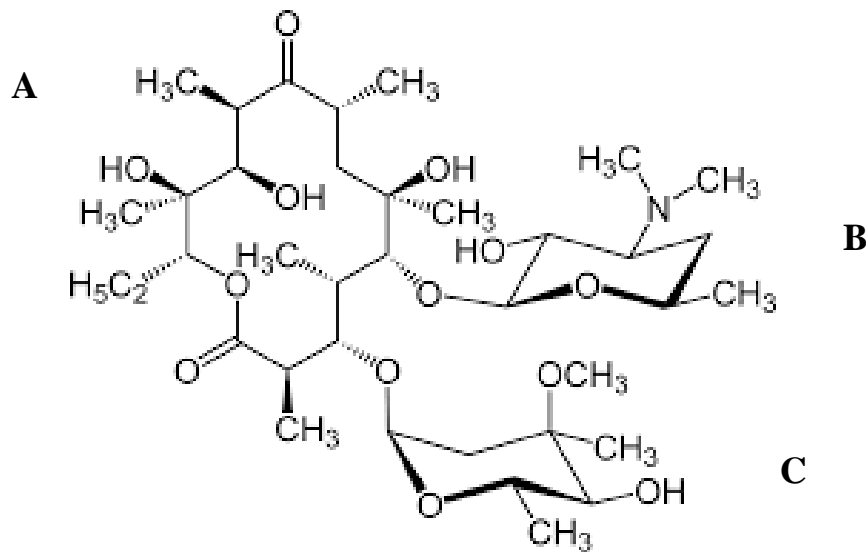
Cependant, les macrolides sont connus pour être des **inhibiteurs enzymatiques du cytochrome P450** et en particulier son isoforme **CYP3A4**. Ils entraînent donc une diminution de l'élimination des autres médicaments métabolisés par ce cytochrome pris de manière concomitante, et une augmentation des risques de toxicité de ceux-ci. Ainsi ils sont généralement contre-indiqués (ou fortement déconseillés) avec les médicaments à marge thérapeutique étroite : **Digoxine**, **Ciclosporine**, les dérivés de l'ergot de seigle comme la **Dihydroergotamine** etc. Les études *in vitro* ont permis de classer en trois groupes les macrolides en fonction de leur degré d'inhibition du CYP3A4 (6) :

- Groupe 1 : Ceux qui inhibent **fortement** le CYP3A4 (Erythromycine, Troleandomycine)
- Groupe 2 : Ceux qui inhibent **modérément** le CYP3A4 (Clarithromycine)
- Groupe 3 : Ceux qui inhibent **faiblement** le CYP3A4 (Azythromycine, dirithromycine)

Toutefois, des études cliniques ont montré des divergences par rapport aux études *in vitro* quant à cette classification. Par exemple : la Clarithromycine a montré un degré d'inhibition similaire à l'Erythromycine quand elle est administrée en même temps que des psychotropes. Ces divergences entre les résultats *in vitro* et *in vivo* semblent être dues à la **variabilité interindividuelle** quant à l'activité catalytique des CYP3A4.

Enfin, les macrolides peuvent également entraîner un **allongement de l'espace QT** et augmenter le risque de Torsade de pointe.

II. L'Erythromycine :



A : Macrocyle lactonique à 14 sommets

B : Desosamine

C : Cladinose

Figure n°1 : Structure chimique de l'Erythromycine

1. Utilisation à l'Assistance Publique des Hôpitaux de Marseille (AP-HM) :

a) Intolérance alimentaire chez le nouveau-né prématuré :

À l'AP-HM, outre son indication principale comme anti-infectieux, l'Erythromycine est utilisée comme **prokinétique** dans les services de réanimation **pédiatrique** et **néonatalogique**.

On considère comme prématuré tout nouveau-né (né vivant) ayant un âge inférieur à **37 semaines d'aménorrhée (SA)**. Il existe 3 niveaux de prématuré (7) :

- Prématurité **moyenne** : de 32 à 36 SA
- **Grande** prématurité : de 28 à 32 SA
- **Très grande** prématurité : < 28 SA

Les nouveau-nés prématurés, en particulier ceux avec un poids de naissance extrêmement faible (on parle de « poids de naissance extrêmement faible » en dessous de 1 000 g et de « poids de naissance vraiment faible » en dessous de 1 500 g (8)), possèdent une **hypomotilité gastro-intestinale** responsable d'une intolérance alimentaire.

L'intolérance alimentaire fait référence à une combinaison de signes cliniques (9) :

- Une **incapacité à digérer l'alimentation entérale**.
- Une **augmentation des résidus gastriques** : Le « volume résiduel gastrique » est supérieur à 50% des apports alimentaires précédents.
- Une **distension abdominale** associée ou non à des **vomissements**.

L'intolérance alimentaire est une affection bénigne liée à **l'immaturité de la fonction gastro-intestinale**, mais elle conduit à une perturbation du plan d'alimentation, et peut se compliquer en une **entérocolite nécrosante**. Elle entraîne un retard chez les nouveau-nés prématurés pour avoir une **alimentation entérale complète**, ce qui affecte leur **croissance** et leur **prise de poids**.

Ainsi, la **HAS** (10) recommande de mettre sous **nutrition parentérale** les nouveau-nés prématurés si la nutrition entérale est impossible ou contre-indiquée afin de couvrir leurs besoins métaboliques de base. L'intolérance alimentaire entraîne ainsi une administration prolongée de la nutrition parentérale, ce qui augmente le risque de **cholestase** chez le nouveau-né prématuré (11), appelée **PNAC** (Parenteral Nutrition Associated Cholestasis). Nous verrons plus tard que l'utilisation d'Erythromycine permet de réduire le temps de nutrition parentérale et de ce fait le risque de PNAC.

b) Mécanisme d'action :

Les propriétés prokinétiques de l'Erythromycine résultent en une augmentation de la **motilité gastro-intestinale** par effet agoniste des récepteurs à la **motiline**. Il s'agit d'une hormone polypeptidique sécrétée par les **cellules entérochromaffines** de l'endothélium intestinal qui entraîne une stimulation des contractions interdigestives au niveau des cellules musculaires lisses (**fundus**) et des nerfs entériques (**antre**) (12).

Il existe 2 profils distincts de motricité gastro-intestinale (13) :

- Le **profil postprandial** qui consiste en une activité contractile soutenue, il permet la progression du bol alimentaire et adapte sa vitesse au type d'aliments.
- Le **profil interdigestif** est constitué de 3 phases qui se succèdent de manière cyclique et qui constituent le « **complexe moteur migrant** » (CMM) qui sert à vider l'estomac et l'intestin des résidus alimentaires afin d'éviter la stase et la prolifération bactérienne :
 - Phase I : Pas d'activité motrice, dure 45 minutes à une heure
 - Phase II : Activité motrice irrégulière non propagée, dure 30 à 45 minutes
 - Phase III : Contractions intenses et régulières qui se propagent de l'estomac jusqu'à l'iléon terminal, dure 5 à 15 minutes

Ainsi, l'Erythromycine du fait de son action agoniste des récepteurs à la **motiline**, entraîne une stimulation de la phase III du CMM. L'activité de l'érythromycine, en particulier sur la motilité antrale gastrique, a également été démontrée comme étant médiée par la **voie cholinergique** et l'activation d'un récepteur neuromusculaire (12).

La motiline a également des propriétés **orexigènes** (qui stimule l'appétit) (14). En effet, la libération de la motiline plasmatique entraîne la phase III du CMM (15) qui est un signal de la faim (les contractions de la phase III du CMM entraînent des **borborygmes** ou gargouillements). De ce fait, le rôle de l'Erythromycine dans la **stimulation de l'appétit** a été étudié : elle entraîne une augmentation de la faim de par son action agoniste des récepteurs à la motiline, mais cette propriété semble réguler *via* la **voie cholinergique** ; en effet dans l'étude Deloose et al (16), la prise d'**Atropine** a annulé les effets orexigènes de l'Erythromycine. Toutefois, la prise d'Erythromycine n'est pas associée à une augmentation des apports caloriques totaux sur une journée (17).

c) Effets indésirables :

L'Erythromycine peut entraîner :

Principalement des **troubles digestifs** : nausées, vomissement, diarrhée et dans de rares cas une colite pseudomembraneuse à *Clostridium difficile*. Comme nous avons pu le souligner dans les généralités concernant les macrolides, l'Erythromycine est l'antibiotique de cette famille qui entraîne le plus de troubles digestifs, et cette différence dans l'incidence des

troubles digestifs est due à son activité agoniste des récepteurs à la motiline. La fréquence de ces troubles digestifs dépend de nombreux facteurs (dosage, forme, sel utilisé, prise ou non pendant un repas etc) et peut être très variable. Selon Carter et al (18), la fréquence des troubles digestifs varie entre **7 et 40%** et peut monter jusqu'à **73%** en cas de hautes doses d'Erythromycine (\geq **1 gramme par jour**). Plus la dose journalière augmente et plus le nombre de patient qui arrêtent leur traitement à cause des effets gastro-intestinaux augmente : pour une dose de **1 gramme** par jour, **8,8%** des patients arrêtent leur traitement avant la fin contre **28,6%** pour une dose de **1,5 gramme** par jour ($p = 0,008$). De même, la fréquence diffère selon la forme galénique et le sel utilisé : **71%** des patients sous une forme **gastro-résistante** d'Erythromycine rapportent au moins un effet secondaire gastro-intestinal contre environ **50%** pour des formes **stéarate** ou **ethylsuccinate**. La fréquence des troubles digestifs semble diminuer lorsque le traitement est pris avec de la nourriture.

Une **ototoxicité** : Cet effet indésirable a commencé à être étudié dans les années 70 ; de 1973 à 2012, seulement 51 cas d'ototoxicité sous Erythromycine ont été recensés (5). Cette ototoxicité se manifeste par une **perte d'audition** qui débute peu de temps après le début de l'administration du produit, elle concerne surtout les fréquences au-dessus de 4000 Hertz, et est **réversible** dans les jours qui suivent l'arrêt du traitement. Elle concerne des patients ayant reçus des hautes doses d'Erythromycine (supérieur à 4 grammes par jour) et/ou présentant des anomalies hépatiques et/ou rénales. Le mécanisme responsable de cette surdité transitoire n'est pas connu.

Une **sténose pylorique hypertrophique infantile (IHPS)** (19) : Elle se caractérise par une hypertrophie du pylore entraînant une obstruction de la sortie gastrique, conduisant le nourrisson à présenter des **vomissements en projectile** et une **déshydratation sévère**. La prise d'Erythromycine augmente de 2,5 fois le risque d'avoir une IHPS chez les nouveaux-nés exposés (**OR = 2,45**) et ce risque est accru au cours des 14 premiers jours de vie. Toutefois, il convient de noter que le risque absolu de développer une IHPS n'est pas élevé chez les personnes recevant de l'Erythromycine (**0,4% à tout âge et 2,6% au cours des 14 premiers jours de vie**)

Un **allongement de l'intervalle QT** et une **arythmie** (tachycardie ventriculaire) peuvent se produire dans de rares cas. Le mécanisme d'action n'est pas encore élucidé, mais certaines études suggèrent que l'**effet proarythmogène** serait dû à un **effet Quinidine-like** dose dépendant (20).

2. Formulation galénique :

a) Propriétés physico-chimiques :

Selon la monographie de la dixième édition de la **Pharmacopée Européenne** : L'Erythromycine est une poudre blanche, peu soluble dans l'eau (la solubilité diminue avec l'élévation de la température) mais facilement soluble dans l'éthanol à 96% et le méthanol.

b) Modalités d'utilisation :

La revue **Cochrane** avait publié une méta-analyse (21) il y a plus de 10 ans, qui n'était pas en mesure de prouver l'efficacité de l'Erythromycine dans la prévention et le traitement de l'intolérance alimentaire, mais les auteurs avaient conclu à la nécessité d'études supplémentaires. Toutefois, l'étude (22) la plus importante et la plus récente sur le sujet ayant été publiée à proximité de cette méta-analyse, elle n'avait pas pu être incluse dedans. Pour cette partie, nous nous sommes donc inspirés d'une méta-analyse (23) plus récente où était incluse cette étude. Pour cette méta-analyse, l'auteur a analysé 10 essais cliniques randomisés et contrôlés (RCT) qui comparent l'utilisation de l'Erythromycine versus placebo dans l'intolérance alimentaire chez le nouveau-né prématuré. L'auteur a ainsi comparé plusieurs modalités d'utilisation de l'Erythromycine dans cette indication :

- Voie IV
- Voie orale
- En prophylaxie
- En curatif
- Différents dosages :
 - « **Low-dose** » : de 1 à 5 mg/kg par administration
 - « **Intermediate-dose** » : de 5 à 10 mg/kg par administration
 - « **High-dose** » : plus de 10 mg/kg par administration

RCT numéro 1 : (24)

Dans ce RCT, l'Erythromycine a été donnée en **prophylaxie** par voie **IV** à une dose de **15 mg/kg toutes les 8h** (High-dose) pendant **7 jours**. L'échantillon est de 76 enfants, séparés

en 2 groupes : Un premier groupe de 35 nouveau-nés prématurés a reçu de l'Erythromycine et un deuxième de 41 nouveau-nés prématurés a été utilisé comme groupe contrôle.

Les critères d'inclusion dans l'étude étaient :

- Un âge inférieur à **31** semaines d'aménorrhée (**SA**)
- Être sous ventilation respiratoire depuis le premier jour de vie

Les conclusions de cette étude sont qu'il n'y a **pas de bénéfice** à utiliser l'Erythromycine dans cette indication. Il n'y a pas eu de différence significative entre les 2 groupes : Pour le groupe Erythromycine, les nouveau-nés ont mis en moyenne **8 jours (5-12)** pour avoir une alimentation entérale complète, alors que dans le groupe Contrôle, ils ont mis **9 jours (6-14) (p = 0,450)**.

Le principal biais de cette étude est qu'elle n'est pas conçue à l'origine pour répondre à la question de l'intolérance alimentaire du nouveau-né prématuré. En effet, **l'objectif primaire** de cette étude concernait l'utilisation d'Erythromycine chez des nouveau-nés prématurés souffrant **d'infection pulmonaire chronique** due à *Ureaplasma urealyticum*. Leur étude de l'effet de l'Erythromycine dans l'intolérance alimentaire est une **analyse secondaire** des données. Les auteurs de l'étude reconnaissent aussi que la taille des 2 groupes est trop faible et qu'il aurait fallu des groupes de 100 nouveau-nés prématurés pour avoir une meilleure puissance statistique.

RCT numéro 2 : (25)

L'Erythromycine a été donnée en **prophylaxie** par voie **orale** à une dose de **12 mg/kg toutes les 6h** (High-dose) pendant **14 jours**. 73 nouveau-nés prématurés ont été recrutés pour cette étude et séparés en 2 groupes : un groupe de 36 nouveau-nés recevant l'Erythromycine et un autre de 37 recevant un placebo.

Le critère d'inclusion dans l'étude était d'avoir un âge inférieur à **32 SA**.

Les auteurs ont conclu qu'il n'y avait **pas de bénéfice** à utiliser l'Erythromycine dans l'intolérance alimentaire du nouveau-né prématuré. Il n'y a pas de différence significative entre les 2 groupes : Dans le groupe Erythromycine, les nouveau-nés ont mis en moyenne **3,9 jours (3,4-5,9)** pour avoir une alimentation entérale complète contre **4,3 jours (3,4-6,8)** dans le groupe placebo (**p = 0,60**).

La durée d'administration prévue pour les traitements était de **14 jours**, mais elle a été **raccourcie à 5 jours** pour les 2 groupes car le temps nécessaire pour avoir une alimentation entérale complète n'a été que de **4 jours** en moyenne chez ces nouveau-nés.

RCT numéro 3 : (26)

L'Erythromycine a été donnée en **prophylaxie par voie orale** à une dose de **2,5 mg/kg toutes les 6h** (Low-dose) pendant **10 jours**. Dans cette étude, 43 nouveau-nés prématurés ont été recrutés : Le groupe Erythromycine contient 22 nouveau-nés tandis que le groupe placebo en contient 21.

Le critère d'inclusion dans l'étude était d'avoir un âge inférieur ou égal à **32 SA**.

A l'origine, il était prévu d'avoir 50 nouveau-nés prématurés pour cette étude (25 dans chaque groupe), mais l'effectif a été réduit à 43 suite à 7 exclusions pour divers motifs. Dans cette étude il a été observé une **diminution significative** de la durée pour avoir une alimentation entérale complète : Les nouveau-nés du groupe Erythromycine ont mis en moyenne **6,0 jours ($\pm 2,3$)** contre **7,9 jours ($\pm 3,5$)** dans le groupe placebo (**$p = 0,04$**).

Les auteurs ont également voulu voir si l'Erythromycine avait une action sur la vidange gastrique : Pour ce faire, ils ont mesuré le **volume résiduel gastrique** avant chaque repas chez les nouveau-nés prématurés, soit toutes les 6h. Ensuite les auteurs ont répertorié le nombre d'épisodes où ce volume résiduel gastrique était **supérieur à 30%** du repas précédent. Le nombre d'épisodes était significativement plus élevé dans le groupe Placebo : **1,1 ($\pm 1,9$)** contre **3,6 ($\pm 2,4$)** (**$p = 0,0007$**).

RCT numéro 4 : (27)

Dans cette étude, l'Erythromycine a été donnée **en curatif** chez des nouveau-nés prématurés atteints d'une intolérance alimentaire, celle-ci était diagnostiquée *via* les critères suivants :

- Une **distension abdominale** ($> 15\%$ de la circonférence abdominale de base)
- Un **volume résiduel gastrique** $> 25\%$ du volume des apports alimentaires précédents
- La présence **de sang dans les selles**

La posologie était de **1,5 mg/kg toutes les 6h** (Low-dose) par voie **orale** pendant **8 jours**.

Les critères d'inclusion dans l'étude sont :

- Un âge entre **29** et **36 SA**
- Un poids de naissance entre **900** et **2 000 g**
- Un échec à atteindre une alimentation entérale complète (**soit 150 ml/kg/jour**) 8 jours après avoir initié une alimentation au lait

47 nouveau-nés prématurés étaient éligibles pour intégrer l'étude, mais les parents de 10 enfants ont finalement retiré leur consentement pour participer à l'étude, 6 nouveau-nés ont eu une **entérocolite nécrosante** ou une **perforation iléale** et 4 nouveau-nés ont reçu une alimentation parentérale par perfusion continue (**critère d'exclusion**). L'échantillon a donc été réduit à 27 nouveau-nés prématurés séparés en 2 groupes : 15 dans le groupe Erythromycine et 12 dans le groupe placebo.

Cette étude n'a **pas** mis en évidence de **différence significative** entre les 2 groupes : Les nouveau-nés du groupe Erythromycine ont mis **31 jours** (± 15) pour avoir une alimentation complète contre **36 jours** (± 16) pour les nouveau-nés du groupe placebo (**p > 0,05**).

Il est à noter également que cette étude n'a **pas** mis en évidence de **différence significative** au niveau des **contractions motrices antro-duodénales** entre les 2 groupes.

RCT numéro 5 : (28)

L'Erythromycine a été donnée en **curatif** chez des nouveau-nés prématurés avec un poids de naissance **inférieur ou égal à 1 500 g**. Une intolérance alimentaire était diagnostiquée *via* les critères suivants :

- Une incapacité à commencer une alimentation entérale minimale (non nutritive) à une semaine de vie
- Ou une incapacité à atteindre au moins **20 ml/kg/j** d'alimentation entérale une semaine après le début de l'alimentation

La posologie était de **5 mg/kg** (Low-dose) **toutes les 8h** par voie **orale** jusqu'à une semaine après qu'une alimentation entérale complète soit tolérée. L'échantillon comprenait 24

nouveau-nés prématurés : 13 dans le groupe Erythromycine et 11 dans le groupe placebo. Cette étude n'a **pas** montré de **différence significative** entre les 2 groupes par rapport au temps nécessaire pour atteindre une alimentation entérale complète : **24,9 jours ± 2,9** pour le groupe Erythromycine contre **30,8 jours ± 4,1** pour le groupe placebo (**p = 0,17**).

Les limites de cette étude :

- Un **effectif trop faible** pour avoir une puissance statistique correcte
- Les 2 groupes sont finalement assez **hétérogènes**, même si les différences entre eux ne sont pas significatives : peut-être que des groupes plus homogènes auraient donnés des résultats plus intéressants ?

Les auteurs ont émis l'hypothèse que le Reflux Gastro-Oesophagien (RGO) pouvait être responsable de l'intolérance alimentaire. Ils ont donc mesuré également la réduction du RGO chez les enfants des 2 groupes. Ils ont retrouvé une réduction du RGO chez certains nouveau-nés, mais il n'y avait pas de différence significative entre les 2 groupes ($p = 0,565$). Les auteurs pensent que la réduction du RGO est due à la maturation du tractus gastro-intestinal et non à l'usage de l'Erythromycine.

RCT numéro 6 : (29)

Dans cette étude l'Erythromycine a été donnée en **curatif**, à une dose de **3 mg/kg** (Low-dose) **toutes les 6h** par **voie IV**, jusqu'à ce que les nouveau-nés aient **une alimentation entérale complète**. L'échantillon de 60 nouveau-nés prématurés atteints d'intolérance alimentaire séparés en 2 groupes de 30 (Erythromycine vs placebo).

Les critères d'inclusion dans l'étude sont :

- Un âge inférieur à **37** semaines de grossesse (**SG**)
- Un échec à atteindre une alimentation entérale complète (**soit 150 ml/kg/jour**)

Cette étude n'est plus disponible aujourd'hui, nous ne pourrions pas l'analyser et intégrer ses conclusions.

RCT numéro 7 : (30)

L'Erythromycine a été donnée en **curatif**, chez des nouveau-nés prématurés avec une intolérance alimentaire. Les critères d'inclusions dans l'étude sont :

- Un âge inférieur à **37 SA**
- Un **volume résiduel gastrique** > **30 %** du volume d'alimentation des 6h précédentes

La posologie était de **1mg/kg** (Low-dose) **toutes les 8h** par **voie orale**, en revanche la durée du traitement n'est pas précisée dans l'article. Au début de l'étude, l'échantillon comprenait 60 nouveau-nés prématurés séparés en 2 groupes de 30 (Erythromycine versus placebo), seulement 5 nouveau-nés du groupe Erythromycine et 6 du groupe placebo sont décédés avant d'avoir une alimentation entérale complète ; ce qui a réduit l'échantillon à 49 nouveau-nés.

Les 2 groupes ont été ensuite séparés en 2 sous-groupes :

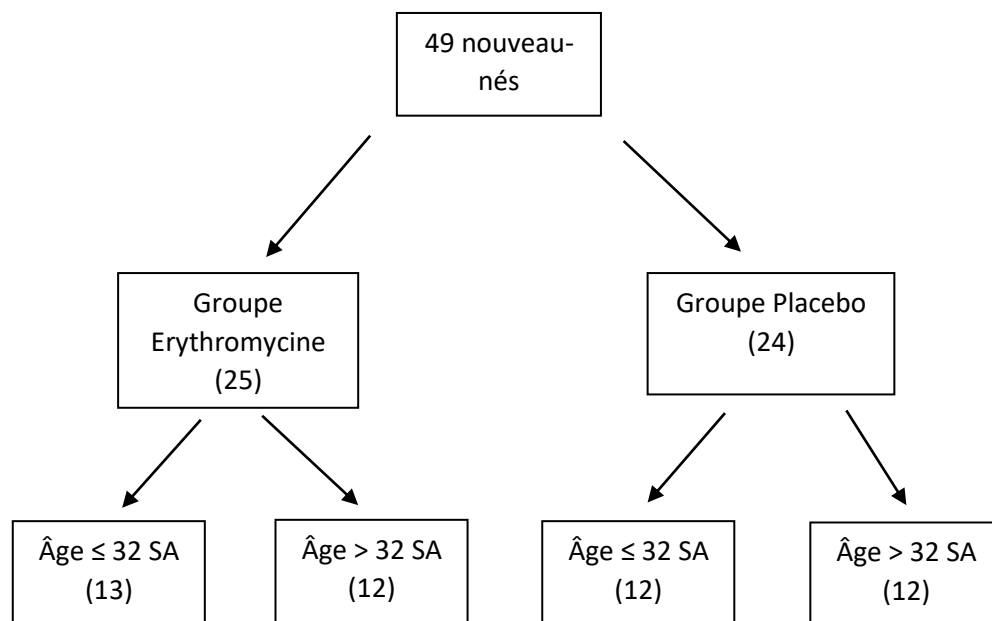


Figure n° 2 : Répartition des effectifs dans les groupes placebo et Erythromycine du **RCT Numéro 7**

Cette étude a comparé plusieurs paramètres :

- La durée pour avoir une alimentation entérale complète
- Le nombre d'épisodes où le volume résiduel gastrique est $> 30\%$ du volume de nourriture des 6h précédentes
- La durée de la nutrition parentérale
- La durée d'hospitalisation
- Le gain de poids

La durée pour avoir une alimentation complète :

L'utilisation d'Erythromycine a entraîné **une diminution significative** du temps nécessaire pour avoir une alimentation complète chez les nouveau-nés prématurés ayant un **âge > 32 SA : 10,5 jours \pm 4,1** contre **16,3 jours \pm 5,7** pour le groupe placebo (**p = 0,01**). En revanche, il n'y a **pas de différence significative** entre les 2 groupes pour les nouveau-nés prématurés ayant un **âge ≤ 32 SA : 18,7 jours \pm 8,1** pour le groupe Erythromycine et **20,7 jours \pm 6,1** pour le groupe placebo (**p = 0,50**).

Le nombre d'épisodes où le volume résiduel gastrique $> 30\%$ du volume de nourriture des 6h précédentes :

L'utilisation d'Erythromycine a entraîné **une diminution significative** du nombre d'épisode chez les nouveau-nés ayant un **âge > 32 SA : 0 (0-6)** versus **2 (0-8)** pour le groupe placebo (**p = 0,03**). Mais il n'y a **pas de différence significative** chez les nouveau-nés ayant un **âge ≤ 32 SA : 2 (0-6)** pour le groupe Erythromycine et **2,5 (0-8)** pour le groupe placebo (**p = 0,77**).

La durée de la nutrition parentérale :

L'utilisation d'Erythromycine a entraîné **une diminution significative** de la durée de la nutrition parentérale chez les nouveau-nés ayant un **âge > 32 SA : 5,5 jours \pm 3,3** versus **9,4 jours \pm 4,8** pour le groupe placebo (**p = 0,03**). Il n'y a **pas de différence significative** chez les nouveau-nés ayant un **âge ≤ 32 SA : 12,6 jours \pm 6,3** pour le groupe Erythromycine contre **12,6 jours \pm 5,4** pour le groupe placebo (**p = 0,90**).

La durée d'hospitalisation :

L'utilisation d'Erythromycine **n'a pas entraîné de diminution significative** de la durée d'hospitalisation dans les 2 sous-groupes :

- Chez les nouveau-nés ayant **un âge > 32 SA : 18,3 jours ± 13,9** pour le groupe Erythromycine contre **27,8 jours ± 10,4** pour le groupe placebo (**p = 0,07**)
- Chez les nouveau-nés ayant **un âge ≤ 32 SA : 33,2 jours ± 14,0** pour le groupe Erythromycine contre **29,2 jours ± 13,8** pour le groupe placebo (**p = 0,48**)

Le gain de poids :

L'utilisation d'Erythromycine **n'a pas entraîné de différence significative** de prise de poids chez les nouveau-nés prématurés dans les 2 sous-groupes :

- Chez les nouveau-nés ayant **un âge > 32 SA : 20,5 g par jour ± 9,6** pour le groupe Erythromycine contre **16,3 g par jour ± 7,9** pour le groupe placebo (**p = 0,26**)
- Chez les nouveau-nés ayant **un âge ≤ 32 SA : 20,6 g par jour ± 10,2** pour le groupe Erythromycine contre **21,2 g par jour ± 7,4** pour le groupe placebo (**p = 0,89**)

En conclusion, cette étude a démontré que l'Erythromycine entraîne une diminution du temps nécessaire pour avoir une alimentation entérale complète, une diminution de la durée de la nutrition parentérale et une diminution du nombre d'épisode où le volume résiduel gastrique > 30 % du volume d'alimentation des 6h précédentes chez les nouveau-nés prématurés ayant un âge > 32 SA. En revanche, l'utilisation d'Erythromycine n'a pas entraîné d'avantage par rapport à un placebo chez les nouveau-nés ayant un âge ≤ 32 SA.

RCT numéro 8 : (31)

L'Erythromycine a été donné **en curatif** chez des nouveau-nés prématurés atteints d'intolérance alimentaire. Les critères d'inclusion sont :

- Un **âge < 35 SA**
- Un poids de naissance < **1 800 g**
- Un **volume résiduel gastrique > 50%** du volume d'alimentation des 3h précédentes à 2 reprises en 24h

Les auteurs de l'étude ont choisi comme posologie une combinaison « Intermediate-dose » et « Low-dose » par **voie orale** : soit **10 mg/kg toutes les 6h pendant 2 jours**, puis **4 mg/kg toutes les 6h pendant 5 jours**.

L'échantillon comprend 46 nouveau-nés prématurés, répartis en 2 groupes de 23 (Erythromycine versus placebo) ; chaque groupe comprend 21 nouveau-nés âgés de moins de 32 SA et 2 nouveau-nés âgés de plus de 32 SA.

Les résultats de l'étude ont montré une **amélioration significative** de 3 paramètres :

- Diminution du temps nécessaire pour avoir une alimentation entérale complète : **7 jours (6-9)** pour le groupe Erythromycine contre **13 jours (9-15)** pour le groupe placebo (**p < 0,001**)
- Diminution du nombre d'épisode où le volume résiduel gastrique est > 50% du volume d'alimentation des 3h précédentes : **1 épisode (0-2)** pour le groupe Erythromycine contre **9 épisodes (2-13)** pour le groupe placebo (**p < 0,001**)
- Diminution de la durée de la nutrition parentérale : **13 jours (11-15)** pour le groupe Erythromycine contre **17 jours (13-25)** pour le groupe placebo (**p = 0,03**)

En revanche, l'utilisation d'Erythromycine n'a **pas** entraîné **d'amélioration significative** des critères suivants :

- Durée d'hospitalisation : **46 jours (24-74)** pour le groupe Erythromycine contre **60 jours (43-89)** pour le groupe placebo (**p = 0,07**)
- Poids à la sortie d'hospitalisation : **2 170 g (1 987-2 587)** pour le groupe Erythromycine contre **2 560 g (2 130-3 600)** pour le groupe placebo (**p = 0,06**)

RCT numéro 9 : (32)

L'Erythromycine a été donnée **en curatif** chez des nouveau-nés prématurés atteints de dysmotilité gastrointestinale. Les critères d'inclusion sont :

- Un poids de naissance < **1 500 g**
- Une intolérance alimentaire avec **moins de 75 ml/kg/jour** de lait au 14^{ème} jour de vie

L'échantillon est de 56 nouveau-nés prématurés répartis en 2 groupes : 27 nouveau-nés dans le groupe Erythromycine et 29 dans le groupe placebo. La posologie utilisée est **12,5 mg/kg (High-dose) toutes les 6h pendant 14 jours**.

Les auteurs ont analysé le temps nécessaire pour obtenir :

- La **moitié** d'une alimentation entérale complète (soit **75 ml/kg/jour de lait**) : **3,5 jours (2-7)** pour le groupe Erythromycine et **6 jours (4-11,5)** pour le groupe placebo (**p < 0,05**)
- Les **trois quarts** d'une alimentation entérale complète (soit **115 ml/kg/jour de lait**) : **8,5 jours (6-19)** pour le groupe Erythromycine et **13 jours (9-22)** pour le groupe placebo (**p < 0,05**)
- Une alimentation entérale complète (soit **150 ml/kg/jour de lait**) : **13,5 jours (8-22)** pour le groupe Erythromycine et **25 jours (16-33)** pour le groupe placebo (**p < 0,0001**)

Il y a donc une **diminution significative** du temps nécessaire pour obtenir une alimentation entérale complète chez les nouveau-nés prématurés ayant reçus de l'Erythromycine. À noter, qu'il y a eu 3 enfants décédés dans le groupe placebo et que tous les enfants du groupe Erythromycine ont survécu.

RCT numéro 10 : (22)

Cette étude est la continuation du RCT numéro 9. En effet, pour les auteurs, la diminution du temps pour acquérir une alimentation entérale complète **n'est pas un critère suffisant** pour recommander l'usage de prokinétique dans la dysmotilité gastrointestinale. Ainsi les auteurs ont voulu également voir si les prokinétiques entraînaient une diminution du nombre de **PNAC** et de **septicémie** chez les nouveau-nés prématurés. De plus, la plupart des essais publiés ont des petits effectifs et de ce fait **une puissance statistique faible**. C'est dans cet optique, qu'ils ont décidé de prolonger l'étude précédente en augmentant les effectifs.

Ainsi, à l'effectif initial de 56 enfants, ont été rajoutés 126 nouveau-nés prématurés atteints de dysmotilité gastrointestinale. Les critères d'inclusion sont les mêmes que dans l'étude précédentes :

- Un poids de naissance < **1 500 g**
- Une intolérance alimentaire avec **moins de 75 ml/kg/jour** de lait au 14^{ème} jour de vie

L'effectif de 182 nouveau-nés prématurés a été réparti en 2 groupes de 91 enfants (Erythromycine versus placebo). La posologie est de **12,5 mg/kg** (High-dose) **toutes les 6h** pendant **14 jours**.

La durée pour avoir une alimentation entérale complète :

L'utilisation d'Erythromycine est associée à une **diminution significative** du temps nécessaire pour obtenir :

- La moitié d'une alimentation entérale complète (soit **75 ml/kg/jour de lait**) : **18 jours (17-21)** pour le groupe Erythromycine contre **21 jours (18-28)** pour le groupe placebo (**p < 0,001**)
- Les trois quarts d'une alimentation entérale complète (soit **115 ml/kg/jour de lait**) : **22 jours (20-28)** pour le groupe Erythromycine contre **29 jours (23-38)** pour le groupe placebo (**p < 0,001**)
- Une alimentation entérale complète (soit **150 ml/kg/jour de lait**) : **26 jours (23-32)** pour le groupe Erythromycine contre **38 jours (30-50)** pour le groupe placebo (**p < 0,001**)

La durée de la nutrition parentérale et le nombre de PNAC :

L'utilisation d'Erythromycine est associée à une **diminution significative** de la durée de la nutrition parentérale : **23 jours (19-30)** pour le groupe Erythromycine contre **33 jours (22-47)** pour le groupe placebo (**p < 0,001**). De même, elle est associée à une **diminution significative** du nombre d'enfant atteints de PNAC : **18 enfants** ont eu une PNAC dans le groupe Erythromycine contre **37** dans le groupe placebo (**p < 0,001**).

Les épisodes de septicémie :

L'utilisation d'Erythromycine est associée à une **diminution significative** du nombre d'enfants ayant eu un nombre d'épisode de septicémie supérieur ou égale à 2 : **4 nouveau-nés** dans le groupe Erythromycine contre **13** dans le groupe placebo (**p = 0,039**).

En conclusion, l'utilisation d'Erythromycine est donc associée à une **diminution significative** du temps nécessaire pour avoir une alimentation entérale complète, de la durée de la nutrition parentérale, du risque de PNAC et de septicémie récurrente.

Il s'agit du plus gros RCT sur l'Erythromycine utilisée comme prokinétique chez des nouveau-nés prématurés. Une des limites de cette étude est qu'elle n'a été réalisée que dans un seul centre hospitalier, et la question est de savoir si ces données sont généralisables à

d'autres centres. Cependant, la puissance statistique de l'étude et le fort effet du traitement suggèrent que les données sont solides.

Concernant les enfants atteints de PNAC, un seul d'entre eux a eu des complications, on peut donc se poser la question de la **balance bénéfico-risque** à utiliser un antibiotique pour une maladie bénigne. Toutefois, la réduction du nombre de septicémies récurrentes et **l'absence d'effets indésirables majeurs** comme des sténoses pyloriques hypertrophiques ou des arythmies cardiaques mettant en jeu le pronostic vital, peuvent justifier l'utilisation d'Erythromycine en curatif chez des nouveau-nés prématurés atteints de dysmotilité gastro-intestinale.

Les techniques microbiologiques utilisées durant cette étude ne permettent pas de détecter des changements subtils de la **flore intestinale** chez les enfants traités par Erythromycine. Des études (33,34) ont montré que l'utilisation d'antibiotique à large spectre chez des nouveau-nés prématurés pouvait entraîner une modification de la **colonisation microbienne** du tractus gastro-intestinal, et que ces changements pouvaient avoir des effets à long terme comme : une augmentation de la sensibilité aux infections ou un développement des maladies inflammatoires chroniques. Cependant, l'utilisation d'Erythromycine en tant que prokinétique se fait à **des doses inférieures aux doses antibiotiques**.

En revanche, l'utilisation d'un antibiotique à des doses inférieures à celles nécessaires pour atteindre les **concentrations minimales inhibitrices**, constitue un terrain propice à l'émergence de **bactéries multi-résistantes**. Toutefois, les auteurs ont examiné microbiologiquement les selles des nouveau-nés immédiatement avant, pendant et 4 semaines après le traitement par voie orale d'Erythromycine et de placebo, afin d'observer la croissance de micro-organismes. Il n'y avait **pas de différence significative** entre les nouveau-nés traités par Erythromycine et ceux ayant reçus un placebo. Il est également à noter qu'il n'y a pas eu d'émergence de bactérie multi-résistante pendant toute la durée de l'étude, soit 69 mois.

RCT	Utilisation	Dosage	Durée de traitement	Voie utilisée	Conclusion	Nombre de Patients inclus
N°1	Prophylaxie	15 mg/kg toutes les 8h	7 jours	IV	Pas de bénéfice	76 (35 vs 41)
N°2	Prophylaxie	12 mg/kg toutes les 6h	14 jours	Orale	Pas de bénéfice	73 (36 vs 37)
N°3	Prophylaxie	2,5 mg/kg toutes les 6h	10 jours	Orale	Bénéfice	43 (22 vs 21)
N°4	Curatif	1,5 mg/kg toutes les 6h	8 jours	Orale	Pas de bénéfice	27 (15 vs 12)
N°5	Curatif	5 mg/kg toutes les 8h	Une semaine après alimentation complète	Orale	Pas de bénéfice	24 (13 vs 11)
N°7	Curatif	1 mg/kg toutes les 8h	Inconnue	Orale	Bénéfice	49 (25 vs 24)
N°8	Curatif	10 mg/kg toutes les 6h pendant 2 jours, puis 4 mg/kg toutes les 6h	7 jours	Orale	Bénéfice	46 (23 vs 23)
N°9	Curatif	12,5 mg/kg toutes les 6h	14 jours	Orale	Bénéfice	56 (27 vs 29)
N°10	Curatif	12,5 mg/kg toutes les 6h	14 jours	Orale	Bénéfice	182 (91 vs 91)

Tableau n° 1 : Résumé des différents RCT

L'analyse de ces différents RCT nous permet de conclure à l'efficacité de l'Erythromycine en tant qu'agent prokinétique chez le nouveau-né prématuré. En effet, l'utilisation d'Erythromycine est associée à une diminution du temps nécessaire pour acquérir une alimentation entérale complète, et une diminution de la durée de la nutrition parentérale. De même, elle est associée à une diminution de l'incidence des PNAC ainsi que des septicémies récurrentes.

Il est rassurant de constater qu'**aucun des RCT n'a rapporté d'effets indésirables majeurs** comme des sténoses pyloriques hypertrophiques infantiles ou des arythmies cardiaques.

Concernant les modalités d'administration, il vaut mieux privilégier : la **voie orale** (naso-gastrique), plus simple et plus sûre ; une utilisation en **traitement curatif** plutôt qu'en prophylaxie, et des doses de **5 à 10 mg/kg toutes les 6h** (« Intermediate-dose » plutôt que des « Low-dose »).

c) **Choix de la forme galénique :**

Nous avons vu dans le paragraphe précédent, qu'une forme orale (pour une administration via une sonde nasogastrique) est privilégiée. Aux Etats-Unis, une forme commerciale de **poudre à reconstituer pour administration orale** existe, mais sa stabilité est limitée à **35 jours** (35). Peu de références existent sur la **formulation** et la **stabilité** des préparations à base d'Erythromycine. Cependant, les formes liquides sont par définition **moins stables** que les formes sèches.

C'est pourquoi, nous avons décidé de partir sur une **préparation hospitalière de gélule d'Erythromycine à 20 mg**. Ces gélules sont ensuite ouvertes dans le service et mises en suspension dans **2 mL** d'Eau pour préparations injectables (**EPPI ampoule à 20 mL**) pour former une **solution à 10 mg/mL**.

d) **Choix des excipients :**

A l'AP-HM, nous avons 3 excipients disponibles pour la fabrication des gélules :

- La **cellulose microcristalline**
- Le **mannitol**
- Le **lactose**

Comme les gélules sont destinées à être mises en suspension, il y a un paramètre à prendre en compte chez les nouveau-nés prématurés : **l'osmolalité**. En effet, **l'hyperosmolalité** des formes liquides est un paramètre qui a été étudié chez les nouveau-nés prématurés (36–38), et qui peut entraîner des troubles digestifs allant de **l'intolérance alimentaire à l'entérocologie nécrisante**.

Ainsi l'American Academy of Pediatrics (39) recommande une osmolalité pour les formes orales pédiatriques entre **450 mOsm.kg⁻¹** et **500 mOsm.kg⁻¹**.

Le mannitol et le lactose sont des **excipients solubles** dans l'eau et peuvent donc exercer une influence sur l'osmolalité une fois mis en solution ; à la différence de la cellulose microcristalline qui elle **n'étant pas soluble** dans l'eau, n'entraînera pas d'hyperosmolalité. Par exemple, 100 mg de mannitol ou 100 mg de lactose dans 5 ml de liquide augmenteront respectivement de **109,8** ou **58,4 mOsm/kg** l'osmolalité de la solution (40). En pratique, la solubilisation d'une gélule dans de l'EPPI ne devrait pas entraîner d'hyperosmolalité, mais en pédiatrie il arrive que les gélules soient solubilisées dans du **lait maternel enrichi** qui dans ce cas pourrait former **une solution hyperosmolaire**.

De plus, le lactose et le mannitol sont tous les deux inscrits sur la **liste des excipients à effet notoire** (41) :

- Le lactose est contre-indiqué en cas de **déficit en Lactase**, de **Syndrome de malabsorption du glucose et du galactose** (maladies héréditaires rares) et de **galactosémie**
- Le mannitol entraîne des **troubles digestifs** et des **diarrhées**

Nous avons donc choisi comme excipient la cellulose microcristalline, car elle n'est pas considérée comme un excipient à effet notoire, et son absence de solubilité dans l'eau n'entraîne pas d'augmentation de l'osmolarité

e) **Préparation hospitalière :**

Les préparations hospitalières sont définies par le **Code de la Santé Publique** (article L. 5121-1) (42) : elles sont réalisées et délivrées **sous la responsabilité du pharmacien** et ne peuvent être exécutées qu'en **l'absence de spécialité pharmaceutique disponible ou adaptée** ; elles sont dispensées sur prescription médicale à **un ou plusieurs patients** par une pharmacie à usage intérieur (**PUI**) et peuvent être préparées **extemporanément** ; elles font l'objet d'une déclaration auprès l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (**ANSM**).

Les préparations hospitalières à l'AP-HM ont été centralisées **au préparatoire de l'hôpital de Sainte Marguerite (Hôpital Sud)**, celui-ci fournit tous les sites de l'AP-HM (Hôpital Nord, Hôpital de la **Conception**, Hôpital de la **Timone**, Hôpital **Sud** et la prison des **Baumettes**) ainsi que des hôpitaux et des cliniques de la région PACA (Institut Paoli-

Calmettes, Centre Hospitalier de Salon de Provence etc) *via* un circuit de sous-traitance. Le préparatoire contient deux zones pour la fabrication des préparations hospitalières :

- Une zone à atmosphère contrôlée (**ZAC**) réservée à la réalisation des préparations stériles (**collyres**)
- Une pièce réservée à la réalisation des préparations non stériles (**Suspension buvables, gélules, pommades** etc)

Pour réaliser des gélules d'Erythromycine, nous disposons au préparatoire d'un **gélulier automatique ProFiller® 3700** (Figure n°3), nous permettant de réaliser des lots de 300 gélules. La qualification du gélulier est réalisée par le laboratoire qui le commercialise (**LGA**), ainsi qu'une maintenance annuelle afin d'en assurer l'entretien.

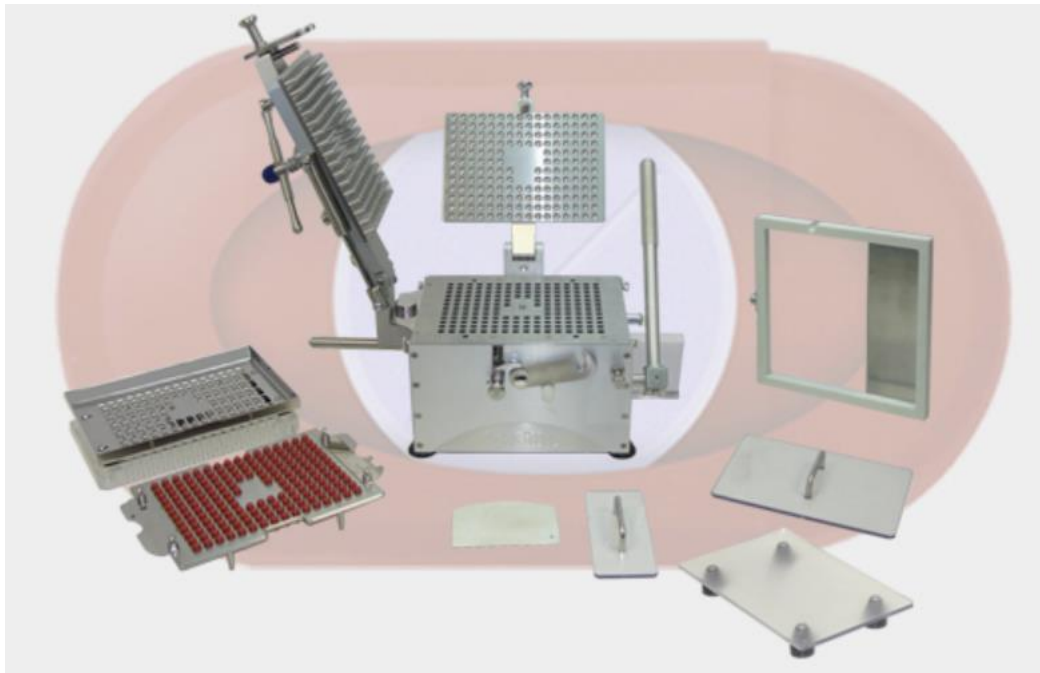


Figure n° 3 : Gélulier automatique ProFiller® 3700

Les pesées sont effectuées sur une balance **Precisa® XT 220 A** (Figure n°4) reliée à une imprimante permettant d'imprimer les tickets de pesée nécessaires au double contrôle de la préparation par le pharmacien. L'étalonnage de la balance est réalisé par le fabricant et une maintenance annuelle est effectuée par une société prestataire.



Figure n° 4 : Balance de pesée Precisa® XT 220 A

Concernant la taille des gélules, celles-ci vont de la **taille « 000 » (1,37 mL)** à la **taille « 5 » (0,13 mL)** (Figure n°5) ; la plus petite taille disponible au préparatoire de Sainte Marguerite est la **taille « 4 » (0,21 mL)**.

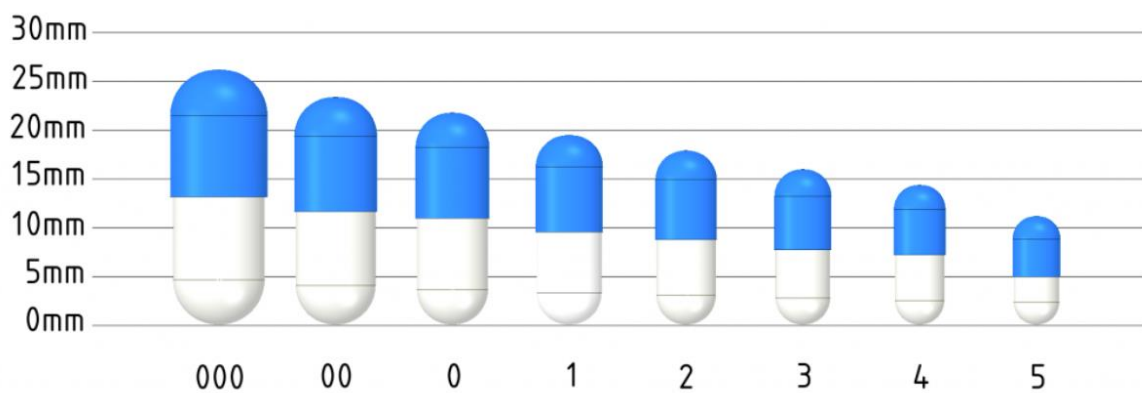


Figure n° 5 : Les différentes tailles de gélules

Pour faire 300 gélules d'Erythromycine à 20 mg, nous avons donc besoin de peser **6 000 mg d'Erythromycine** en poudre ; pour déterminer la quantité de cellulose microcristalline, nous devons partir du volume d'une gélule (soit 0,21 ml) et le multiplier par le nombre total de gélules à fabriquer : **$0,21 \times 300 = 63$ ml** de poudre

Afin de vérifier visuellement l'homogénéité du mélange des poudres, il est nécessaire de rajouter une pincée de **rouge carmin** (produit par des cochenilles) pour colorer le mélange.

Toutefois, il faut faire attention à ne pas mettre une trop grosse quantité de rouge carmin, car celui-ci colore les urines en rouge si il est présent en trop grosse quantité.

Le protocole de fabrication était le suivant :

- Erythromycine poudre : 6 000 mg
- Cellulose microcristalline : quantité suffisante pour (QSP) 63 ml
- Rouge carmin : une pincée

f) Protocole par pesée versus protocole par volume :

L'étude Wasilewski et al (43) conduite par le Laboratoire de contrôle de la qualité du **Service Central de la Qualité et de l'Information Pharmaceutique (SCQIP)** a montré qu'il était plus avantageux d'utiliser un **protocole par pesée** par rapport à un **protocole par volume** pour déterminer la quantité d'excipient à rajouter au principe actif (PA) pour remplir les gélules.

Historiquement en **France**, pour déterminer la quantité d'excipient nécessaire, on utilise un **protocole** de mesure **par volume**. Il faut :

- Peser la quantité de PA
- Mettre un peu d'excipient au fond d'une éprouvette
- Rajouter le PA dans l'éprouvette
- Compléter avec l'excipient jusqu'au volume souhaité (Exemple : 63 ml pour 300 gélules de taille 4)

Ce protocole présente plusieurs **inconvénients** :

- Le **tassage** des poudres dans l'éprouvette est **personnel-dépendant**
- Les différentes manipulations de **transvasage** (de mortier à éprouvette, puis d'éprouvette à mortier) entraînent des pertes

Aux Etats-Unis et dans certains pays d'Europe, un **protocole par pesée** est utilisé : la quantité d'excipient à peser est déterminée à partir de la densité des poudres. Wasilewski et al (43) ont montré que ce protocole était **supérieur** au protocole par volume pour 3 préparations hospitalières de gélules : **Spironolactone 10 mg**, **Pilocarpine 5 mg** et **Nicardipine 2 mg**. Tout d'abord, le protocole par pesée permet de s'affranchir des inconvénients cités précédemment.

Selon la 10^{ème} édition de la Pharmacopée Européenne (**Uniformité des préparations unidoses 2.9.40**), l'uniformité de teneur en PA se détermine *via* le calcul de la **Valeur d'Acceptation (VA)** qui doit être $\leq 15 \%$; et plus la VA est basse, plus le lot est homogène. Or cette étude a montré que le protocole par pesée permettait d'avoir **une VA plus basse** par rapport au protocole par volume. C'est dans cette optique que nous avons décidé de changer notre protocole de fabrication par un protocole par pesée.

g) Protocole par pesée :

Pour calculer la quantité d'excipient à ajouter au PA, il nous a fallu dans un premier déterminer la **Densité Tapée (d_t)** du mélange des poudres PA et Cellulose microcristalline dans les proportions adéquates. En effet, chacune de ces poudres ayant des **propriétés granulométriques** et des densités différentes, il est nécessaire de mesurer la densité du mélange plutôt que séparément.

Les différentes étapes pour déterminer la d_t :

- Peser 6 g d'Erythromycine
- Mettre dans une éprouvette de 100 ml
- Compléter jusqu'à 63 ml avec de la Cellulose microcristalline
- Transvaser le contenu de l'éprouvette dans un mortier
- Rajouter une pincée de Rouge Carmin
- Mélanger avec un pilon pendant minimum 10 minutes (jusqu'à ce que la coloration de la poudre soit homogène)
- Tarer l'éprouvette sur la balance
- Transvaser le contenu du mortier dans l'éprouvette et peser le contenu
- Tasser le contenu de l'éprouvette en tapant doucement celle-ci sur le plan de travail
- Noter le volume de l'éprouvette

Ainsi pour le mélange Erythromycine – Cellulose microcristalline, nous avons obtenu une d_t de 0,460 g/ml. Pour remplir les 300 gélules (soit 63 ml), nous aurons besoin de 29 grammes de poudre. Donc le nouveau protocole de fabrication est :

- 6 g d'Erythromycine
- 23 g de Cellulose microcristalline
- Une pincée de Rouge Carmin

(Annexe n° 1 – Fiche de fabrication de la préparation hospitalière de gélule d’Erythromycine à 20 mg)

h) Etiquetage :

L’étiquetage d’une préparation hospitalière doit respecter les **Bonnes Pratiques de Préparation** (44), il doit comporter plusieurs mentions obligatoires comme : Le nom du principe actif, le dosage, la forme, la voie d’administration, le numéro d’ordonnancier, la date de péremption etc.

L’ANSM a également mis à disposition un guide (45) pour l’étiquetage des préparations (magistrales, officinales et hospitalières) qui comporte pour chaque type de préparation, un modèle d’étiquette et la liste des mentions. Dans le cas d’une préparation hospitalière de gélule, il s’agit du modèle **A12** (page 24 et 25 du guide).

AP-HM Pharmacie hôpitaux Sud
270 Boulevard Sainte Marguerite 13009 Marseille
ÉRYTHROMYCINE 20 mg gélules
Excipient : Cellulose microcristalline
Voie orale - Respecter les doses prescrites
Uniquement sur ordonnance
Lot : 03GJJMMAANP1 Exp : JJ/MM/AAAA
Conservation à température ambiante
N° de dispensation :
Service et nom du patient :
Quantité : 30

Figure n° 6 : Etiquette de la préparation hospitalière

i) Envoie au SCQIP pour analyse :

Un échantillon de **15 gélules** (prises au hasard parmi le lot fabriqué) est envoyé au SCQIP pour l’analyse et la libération du lot concerné avec un bon rempli par la personne qui a fait la préparation hospitalière (**Annexe n° 2 – Bon pour analyse**)

Partie II : Mise au point du dosage HPLC-UV

I. Présentation du SCQIP :

Le **Service Central de la Qualité et de l'Information Pharmaceutiques (SCQIP)** (46) est un service de l'AP-HM intégré au **Pôle Pharmacie**. Ses missions concernent :

- La coordination de la démarche qualité du Pôle Pharmacie : Contrat de bon usage, circuit du médicament
- L'information pharmaceutique
- Le contrôle de la qualité des produits de santé par le **Laboratoire de Contrôle de la Qualité (LCQ)**
- L'évaluation technique des réactifs et consommables de laboratoires

Le contrôle libératoire des préparations hospitalières est réalisé par le **Laboratoire de Contrôle de la Qualité du SCQIP**. Celui-ci est situé à l'hôpital de la **Conception** et son activité comprend également : la réalisation des études de stabilité, les prélèvements environnementaux des ZAC (Zone à Atmosphère Contrôlée) la qualification des équipements de stérilisation et les tests de conformité des prises des gaz médicaux.

II. Les principes de l'HPLC :

1. Généralités :

Le dosage des gélules d'Erythromycine est réalisé par **Chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC)** couplée à un **détecteur à UV**. L'**HPLC** est une technique analytique de séparation des molécules dans une solution, permettant ainsi de les doser. Les composés à séparer (**solutés**) sont mis en solution dans un **solvant**, ce mélange est introduit *via* un injecteur dans la **phase mobile** liquide (**éluant**) qui parcourt la colonne de chromatographie qui contient la **phase stationnaire** grâce à une pompe sous haute pression.

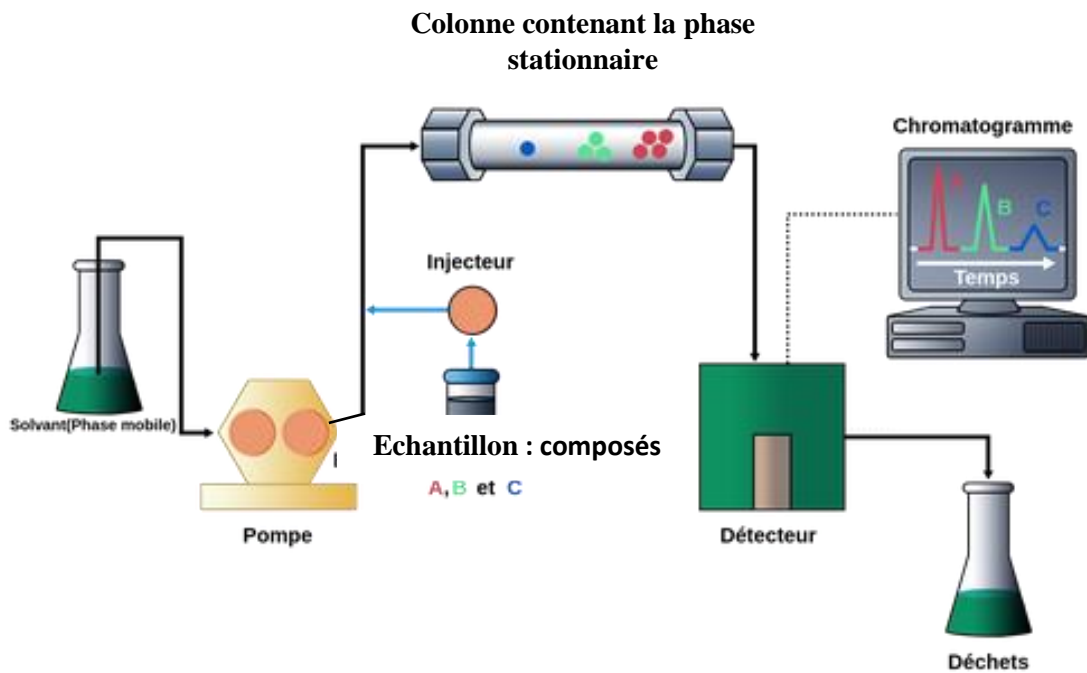


Figure n° 7 : Schéma d'une HPLC

Les composés en solution se répartissent ensuite suivant leur **affinité** entre la phase mobile et la phase stationnaire. En effet, les composés ayant **une meilleure affinité** pour la phase stationnaire, mettront plus de temps à sortir de la colonne et inversement, ceux ayant **une faible affinité** pour la phase stationnaire seront les premiers à sortir. En sortie de colonne, grâce à un détecteur approprié (ici aux **Ultra-Violets**), les différents composés sont représentés sous forme de pics de forme gaussienne sur un **chromatogramme**.

2. Les différents paramètres à étudier :

Le temps de rétention t_r : C'est le temps mis par un soluté pour traverser la colonne

Le temps mort t_0 : C'est le temps mis par un produit non retenu par la phase stationnaire pour traverser la colonne

Le temps de rétention réduit t'_r : C'est le temps passé par un soluté dans la phase stationnaire

$$t'_r = t_r - t_0$$

Le coefficient de partage K : C'est le rapport à l'équilibre entre la concentration du soluté dans la phase stationnaire (C_s) et la concentration du soluté dans la phase mobile (C_m). Ce coefficient dépend de l'affinité du soluté avec les différentes phases et des différentes phases entre elles

$$K = \frac{C_s}{C_m}$$

Le facteur de capacité K' : Il correspond à l'affinité des molécules vis-à-vis de la phase mobile et de la phase stationnaire

$$K' = \frac{t_r}{t_0}$$

Efficacité d'une colonne N : Également appelée « nombre de plateaux théoriques », elle permet de mesurer l'efficacité de la séparation *via* la « finesse » du pic (plus le pic est fin et plus la chromatographie est efficace).

$$N = 5,54 \times \frac{t_r^2}{\delta^2} = 16 \times \frac{t_r^2}{\omega^2}$$

Avec δ = largeur du pic à mi-hauteur et ω = largeur du pic à la base

Hauteur équivalente à un plateau théorique HEPT :

$$HEPT = \frac{L}{N}$$

Avec L = longueur de la colonne

Facteur de résolution R_s : Il permet de mesurer la qualité de séparation entre 2 pics de chromatographie

$$R_s = \frac{(t_{rb} - t_{ra})}{(\omega_a + \omega_b)/2}$$

Avec le composé b sortant après le composé a

Lorsque $R_s > 1,5$ cela signifie que la séparation des 2 pics est optimale

III. Les référentiels utilisés :

1. Les Pharmacopées :

Les pharmacopées sont des recueils officiels qui définissent les **critères de conformité** pour la fabrication des médicaments. Elles recensent ces critères, regroupés sous forme de **monographies**, qui définissent entre-autres les contrôles à réaliser sur les matières premières et sur les préparations entrant dans la composition des médicaments ainsi que la qualité de leur contenant. Ces monographies sont régulièrement mises à jour et fournissent un support scientifique de contrôle qualité durant toute la vie du médicament, elles sont applicables pour tous les établissements pharmaceutiques (PUI, officine et industrie). On distingue deux types de monographies : Les **monographies générales** (Elles décrivent de manière générale les contrôles à réaliser) et les **monographies spécifiques** (Elles décrivent les contrôles à réaliser pour une substance ou un produit pharmaceutique donné). La **Pharmacopée Européenne**, la **Pharmacopée Américaine** et la **Pharmacopée Japonaise** sont les trois grandes références intégrées au système des normes internationales en matière de médicament.

La **Pharmacopée Américaine** (USP) en vigueur actuellement est la **43^{ème} édition** (47) et son application est gérée par la **Food and Drug Administration** (FDA). Elle propose des monographies spécifiques des matières premières, des médicaments et des préparations.

La **Pharmacopée Européenne** en vigueur actuellement est la **10^{ème} édition**. Elle est préparée par la **Direction Européenne de la Qualité du Médicament et des soins de santé** (EDQM) (48). Elle est payante et les PUI ainsi que les officines ont l'obligation de la détenir. Elle propose principalement des monographies spécifiques des matières premières, même si les dernières versions rajoutent des monographies spécifiques des médicaments.

La **Pharmacopée Française** en vigueur actuellement est la **11^{ème} édition**. Elle est établie et rédigée par l'**Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des Produits de**

Santé (ANSM). Elle est gratuite et disponible en ligne (49). Elle complète la Pharmacopée Européenne.

2. L'International Conference of Harmonization (ICH) :

Il s'agit du conseil international pour l'harmonisation des exigences techniques des produits pharmaceutiques à usage humain ; comme son nom l'indique, elle a pour but d'harmoniser les recommandations effectives en Europe, aux Etats-Unis et au Japon, afin d'assurer la **sécurité**, la **qualité** et la **sécurité** des médicaments enregistrés dans ces pays, de la manière la plus économique possible. Les recommandations de l'ICH sont regroupées en quatre grands domaines : **Quality guidelines**, **Safety guidelines**, **Efficacy guidelines** et **Multidisciplinary guidelines**.

3. Le Groupe d'Évaluation et de Recherche sur la Protection en Atmosphère Contrôlée (GERPAC) :

Il s'agit d'une association scientifique sans but lucratif (loi 1901) créée en 1998 (50). Il a pour but, la diffusion des **connaissances techniques** et des **compétences** nécessaires au développement des protections biologiques et physico-chimiques dans le domaine de la pharmacie hospitalière concernant la préparation des médicaments toxiques comme les anticancéreux. Puis lors de son développement, le GERPAC a étendu son champ d'action aux modalités de préparation d'autres **médicaments stériles** (comme les collyres, la nutrition parentérale, les médicaments de thérapie innovante) et **non stériles** à visée systémique ou locale au travers des différentes présentations galéniques (formes injectables, formes orales sèches et liquides et formes à administration locale).

Le GERPAC a également pour but la promotion des connaissances scientifiques au niveau européen afin d'être une source d'expertise dans le champ des **technologies pharmaceutiques hospitalières**, de la **pharmacotechnie**, de la **pharmacie galénique** et des **contrôles de qualité associés** notamment dans :

- L'élaboration de recommandations de bonnes pratiques
- Le développement de la recherche
- La formation initiale
- Le développement professionnel continu

Enfin, La mission du GERPAC est entre-autres basée sur des actions de **formation**, de **conseils scientifiques**, d'**expertises**, de **communication**, de diffusion de **recommandations** et sur l'organisation de **congrès** ou de **journées scientifiques**.

IV. Création de la méthode de dosage :

1. Paramètres de l'HPLC :

Pour effectuer le dosage de l'Erythromycine, il convient de déterminer les différents paramètres spécifiques relatifs à l'HPLC : la composition de la **phase mobile**, le **débit** de l'HPLC, le **type de colonne** à utiliser, la **longueur d'onde de détection**, le **volume d'injection**, la **durée d'analyse** d'un échantillon, la **pression** et la **température**. Ces différents paramètres sont décrits dans les **monographies des Pharmacopées**. Concernant l'Erythromycine, la **Pharmacopée Européenne** propose un protocole difficilement réalisable en routine (utilisation d'un bain marie à 65°C pour la phase mobile), c'est pourquoi il lui a été préféré les méthodes de dosage décrites dans la monographie de la **Pharmacopée Américaine**.

- La longueur d'onde de détection : **215 nm**
- Le débit : **2 ml/min**
- La durée d'analyse : **20 min**
- Le volume d'injection : **20 µL**
- La pression : **150 bars** (limite supérieure = 400 bars)
- La température : **60°C**
- La colonne à utiliser : **Agilent PLRP-S, 8µm, 1000Å**

2. Phase mobile :

Composition de la phase mobile :

- Tampon phosphate pH 9 (3 %)
- Tert-butanol (10 %)
- Acétonitrile (27 %)

- Eau Ultra Pure (60 %)

Mode opératoire :

Dans un premier temps, il faut fabriquer le tampon phosphate puis la solution A selon le protocole suivant :

- **Tampon Phosphate pH 9 :** Dissoudre 1,75 g de phosphate de potassium dibasique dans 50 mL d'Eau Ultra Pure puis ajuster le pH à 9 avec de l'acide phosphorique dilué ou du NaOH 0,2 M
- **Solution A :** dans une fiole jaugée d'un litre, ajouter dans l'ordre :
 - Le tampon phosphate pH 9
 - 400 mL d'Eau Ultra Pure
 - 165 mL de tert-butanol
 - 30 mL d'acétonitrile
 - Eau Ultra Pure QSP 1 L

Pour fabriquer 1 L de phase mobile, il faut mélanger :

- 625 mL de solution A
- 250 mL d'acétonitrile
- 125 mL d'eau ultra pure

Puis homogénéiser le mélange, filtrer et dégazer aux ultrasons pendant 15 minutes.

3. Validation de la méthode :

La mise en place d'un dosage en routine nécessite d'abord de valider la méthode de dosage afin de garantir l'obtention d'un résultat proche de celui de référence pour un échantillon donné. La validation de la méthode de dosage suit les recommandations de l'**ICH**. La recommandation appliquée ici est **ICH Topic Q2** pour qualité (**R1**) « Validation of Analytical Procedures : Text and Methodology » (51). Ainsi pour valider la méthode de dosage, il faut évaluer sa **linéarité**, sa **fidélité**, sa **spécificité**, sa **répétabilité** et sa **justesse**.

La linéarité :

C'est la capacité à obtenir des résultats de dosage proportionnels à la concentration de la substance analysée dans l'échantillon. Pour ce faire, il faut établir une **courbe d'étalonnage**, l'ICH Q2 (R1) recommande un minimum de cinq concentrations différentes pour obtenir une droite (de type : $y=ax + b$) ; C'est pourquoi il a été réalisée une gamme de huit **concentrations croissantes en Erythromycine** : 0,25 – 0,5 – 1 – 2 – 3 – 4 – 6 – 8 mg/mL. Cette courbe d'étalonnage est testée sur les différents appareils d'HPLC du SCQIP ; en effet, le SCQIP est équipé de deux **HPLC Dionex Ultimate 3000®** (Figure n°8) et d'un **Agilent 1260 Infinity®** (Figure n°9)



Figure n° 8 : HPLC Dionex Ultimate 3000®



Figure n° 9 : HPLC Agilent 1260 Infinity®

Le tableau suivant regroupe les écarts en pourcentage des teneurs par rapport à la valeur attendue, l'écart maximale acceptable (EMA) est fixé à **10 %** par le LCQ.

	Niv 1	Niv 2	Niv 3	Niv 4	Niv 5	Niv 6	Niv 7	Niv 8
Erythromycine (mg/mL)	0,25	0,5	1	2	3	4	6	8
Gamme 1 (Agilent)	9,7687	13,573	0,8409	-0,764	-7,4344	-0,6048	4,554	-1,392
Gamme 2 (Agilent)	53,6821	-11,63	4,0283	-1,4486	-2,5484	-1,341	-0,9599	1,2642
Gamme 3 (Agilent)	12,8456	11,728	4,7995	1,056	-3,8382	-2,7064	-1,7893	1,9854
Gamme 4 (Agilent)	75,8067	32,147	3,384	-5,8114	-8,005	-5,3642	-1,2895	3,3028
Gamme 5 (Dionex 2)	11,8473	7,2589	4,0456	-0,0595	-0,8537	-2,3983	-1,6168	1,5072
Gamme 6 (Dionex 2)	2,132	0,3885	-0,735	-0,3244	0,2737	0,379	-0,5538	0,2065
Gamme 7 (Dionex 1)	3,2928	9,9187	1,9171	-1,9923	-0,5505	-1,5665	0,0196	0,5106

Tableau n° 2 : Linéarité de l'Erythromycine

En conclusion : la **limite de détection** est fixée à **0,25 mg/mL**, la **limite de quantification** est fixée à **1 mg/mL** et le **domaine de linéarité** est de **1 à 8 mg/mL**.

La justesse :

Appelée aussi « exactitude », elle correspond à l'étroitesse de l'accord entre la valeur moyenne mesurée à partir d'une série d'échantillon et la valeur de référence d'une molécule. Pour cela, il convient de mesurer 3 niveaux de concentrations, par 3 opérateurs différents et chaque échantillon sera analysé 6 fois.

Echantillons (mg/mL)	Nombre	Valeur labo (mg/mL)	Valeur référence (mg/mL)	Biais (mg/mL)	Biais (%)	Limite (%)
3	18	2,939	3	-0,061	-2,022	5
4	18	3,893	4	-0,107	-2,669	5
5	18	4,847	5	-0,153	-3,063	5

Tableau n° 3 : Justesse de l'Erythromycine

En conclusion, la justesse est **conforme**, puisque les résultats montrent que la variation de la concentration moyenne des échantillons par rapport à la concentration de référence est inférieure à 5%.

La répétabilité :

Elle permet de déterminer la précision de l'analyse, soit la « **fidélité** » dans des conditions de réalisation identique et dans un intervalle de temps court. Elle se calcule par le dosage répété d'un ou de plusieurs échantillons dans des conditions identiques pour toutes les mesures (même opérateur, même appareil de mesure, même réactif, etc). Un minimum de 9 mesures (3 concentrations répétées 3 fois chacune) est recommandé par l'**ICH Q2 (R1)**, ici il en a été réalisé 15 pour chaque concentration.

Echantillons (mg/mL)	Nombre	Moyenne (mg/mL)	Ecart-type	CV (%)	Limite CV (%)
3	15	2,947	0,021	0,712	5
4	15	3,95	0,017	0,421	5
5	15	4,923	0,02	0,414	5

Tableau n° 4 : Répétabilité de l'Erythromycine

La répétabilité est **conforme**, les coefficients de variation (CV) sont inférieurs à 5%.

La fidélité :

Appelée également « **fidélité intermédiaire** », elle permet de mesurer la capacité à générer les mêmes résultats de manière répétée dans le même laboratoire, mais dans des conditions différentes, en faisant varier au moins un des facteurs suivants : l'opérateur, lots de réactifs, équipements, appareil etc. Il a été réalisé 6 solutions mères, desquelles ont été réalisées 6 séries de 3 concentrations différentes ; chaque série a été mesurée 3 fois.

Echantillons (mg/mL)	Nombre	Moyenne (mg/mL)	Ecart-type	CV (%)	Limite CV (%)
3	18	2,939	0,082	2,796	5
4	18	3,893	0,0761	1,954	5
5	18	4,847	0,1	2,066	5

Tableau n° 5 : Fidélité de l'Erythromycine

La fidélité intermédiaire est **conforme**, les coefficients de variation (CV) sont inférieurs à 5%.

La spécificité :

Elle correspond à la capacité de la méthode d'analyse, de garantir que le signal mesuré provient seulement de la substance à analyser, en présence d'autres composants. Pour

l'étudier il faut donc réaliser une **étude de dégradation forcée**, c'est-à-dire qu'il faut dégrader volontairement le principe actif afin d'identifier les produits de dégradation, et observer si ceux-ci n'interfèrent pas dans l'analyse. Les méthodes de dégradation doivent être adaptées en fonction des caractéristiques physico-chimiques de la molécule à analyser. Les 5 conditions de dégradations forcées des molécules sont les suivantes : **base, acide, oxydation, UV et chaleur** (52).

Acide : HCl 0,1 M pendant 60 heures, on observe une dégradation de 26% du produit et l'apparition d'un produit P1 au $t_r = 7,7$ min

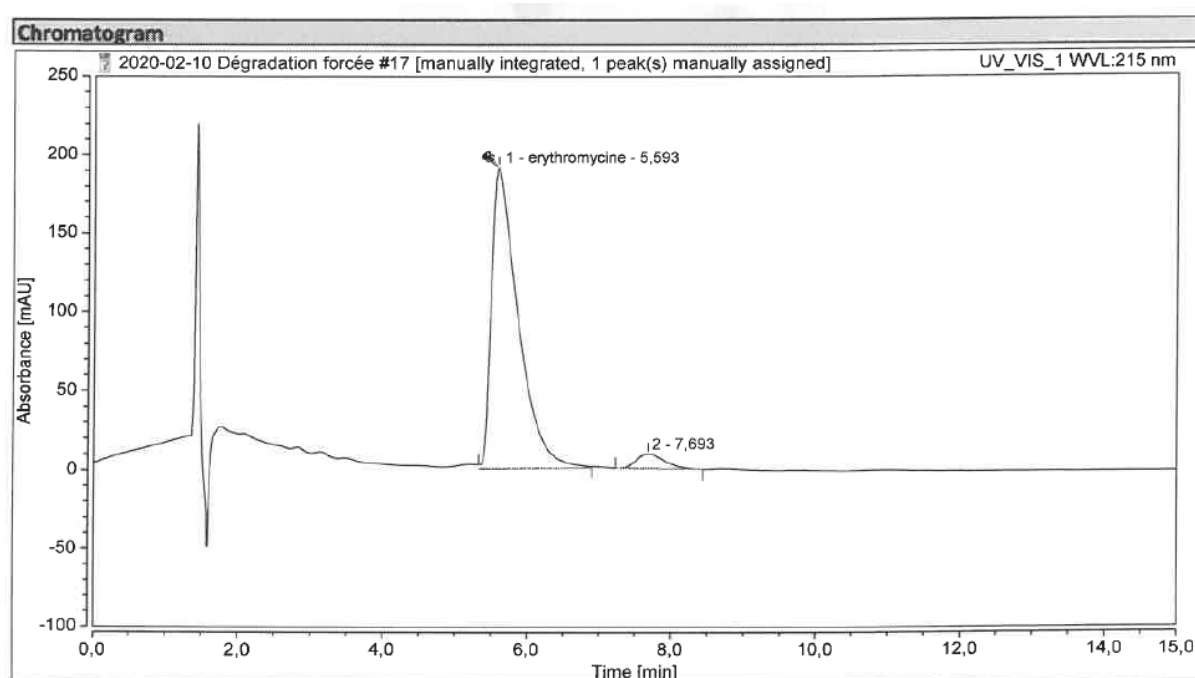


Figure n° 10 : Chromatogramme de l'étude de dégradation forcée dans l'Acide Chlorhydrique

Base : NaOH 0,1 M pendant 60 heures, on observe une dégradation de 18% du produit et l'apparition d'un produit P3 au $t_r = 8,8$ minutes

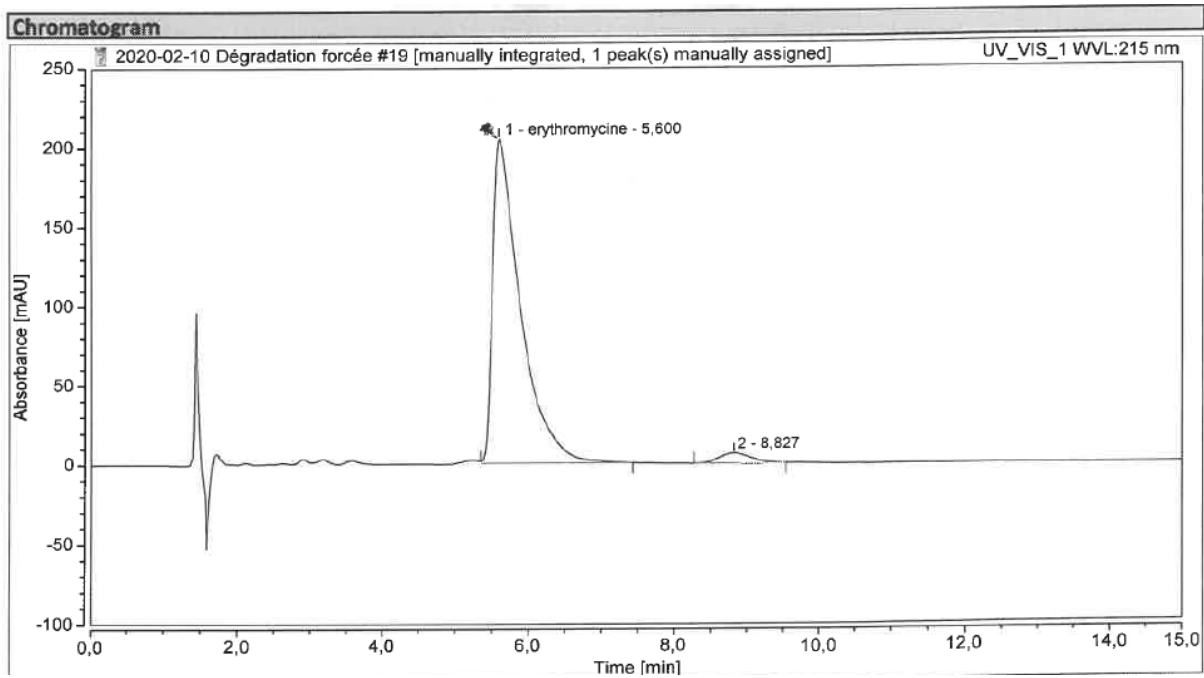


Figure n° 11 : Chromatogramme de l'étude de dégradation forcée dans la soude

UV : Lumière (Sunlamp) pendant 60 heures, on observe une dégradation de 6% du produit et l'apparition d'un produit P3 au $t_r = 8,8$ minutes

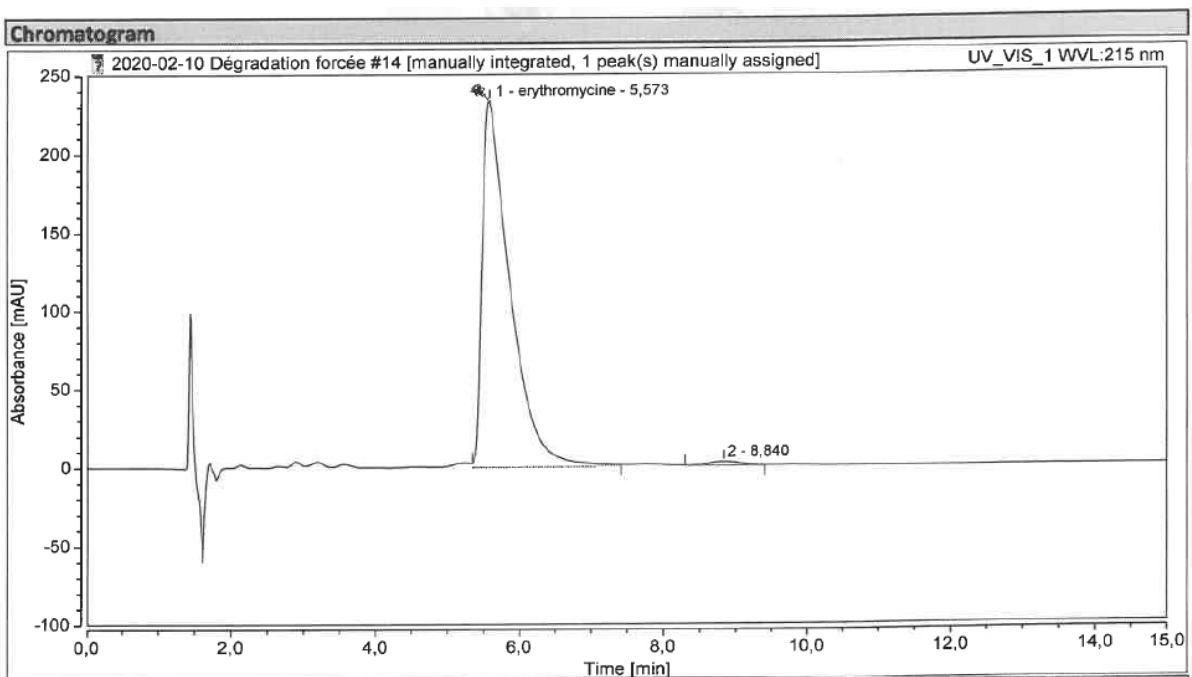


Figure n° 12 : Chromatogramme de l'étude de dégradation forcée sous UV

Oxydation : H₂O₂ 1% pendant 50 heures, on observe une dégradation de 26% du produit et l'apparition d'un produit P1 au t_r = 2,0 minutes

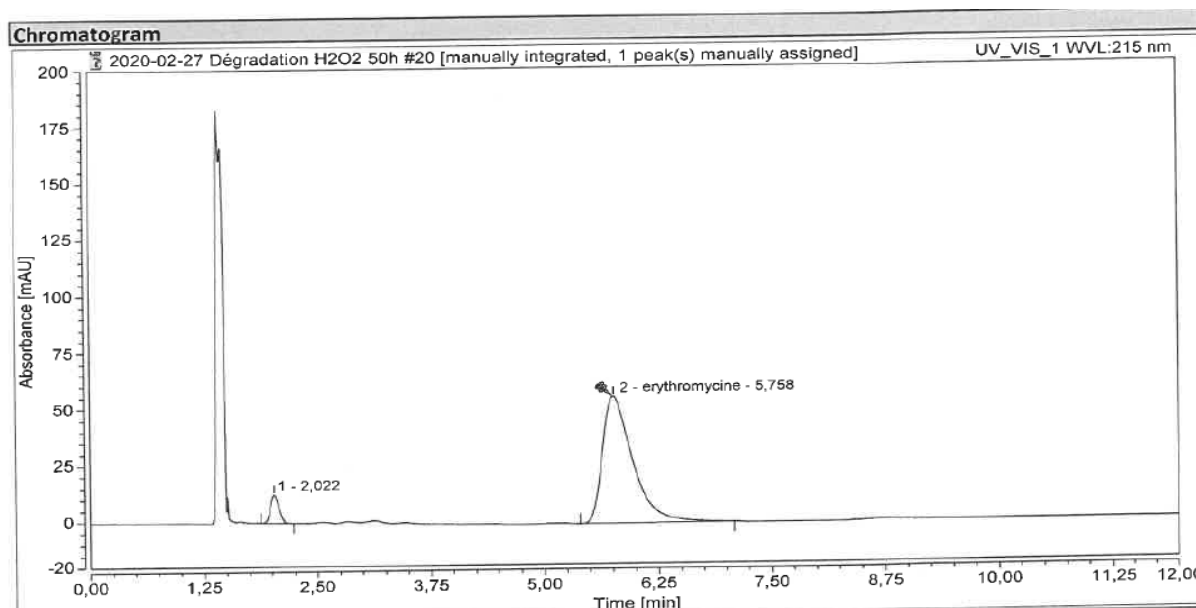


Figure n° 13 : Chromatogramme de l'étude de dégradation forcée dans l'eau oxygénée

Chaleur : 40°C pendant 60 heures, on observe une dégradation de 10% du produit et l'apparition de deux produits, P2 au t_r = 7,7 minutes et P3 au t_r = 8,8 minutes

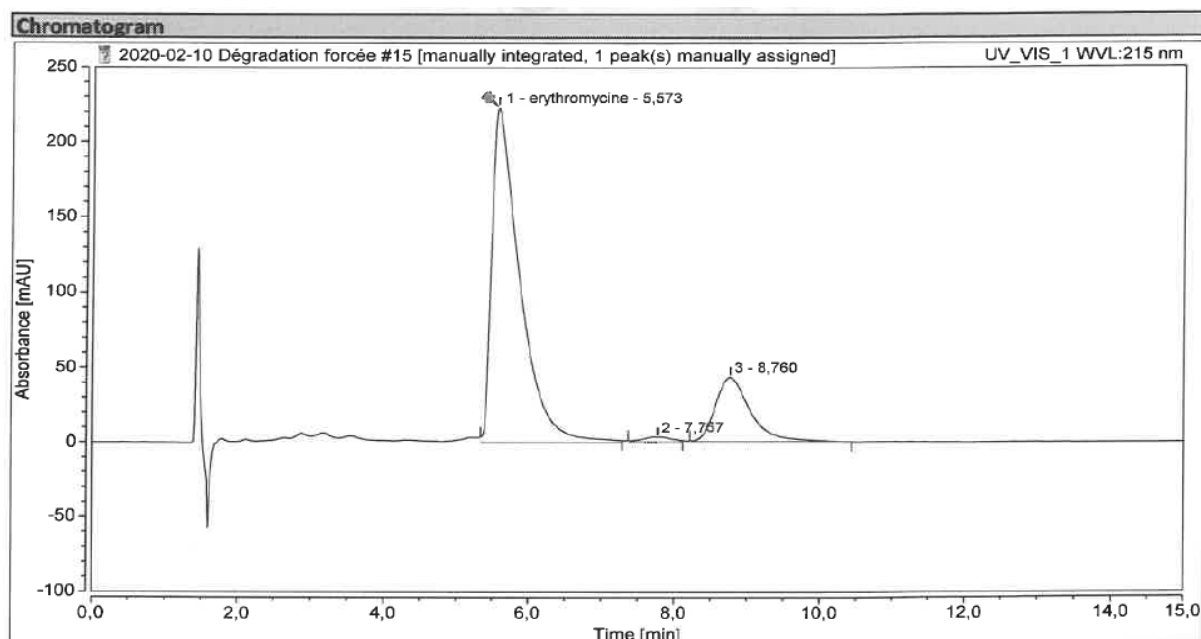


Figure n° 14 : Chromatogramme de l'étude de dégradation forcée sous hautes températures

V. Dosage en routine :

1. Préparation des CQ (contrôles qualités) :

Afin d'avoir un point de comparaison pour nos échantillons, il est nécessaire de préparer et d'analyser des **CQ** à une concentration de **4 mg/mL**. Les CQ sont utilisés entre autres afin de réduire les **biais interpersonnels** au moment des libérations de lots, mais aussi pour vérifier la conformité du système de dosage et des matières premières.

Préparation de la solution diluante :

Il s'agit d'un mélange d'un **tampon pH 7** et de **méthanol** avec un rapport de 15 pour 1 pour le tampon. Mode opératoire :

- Dissoudre 2,722 g de **phosphate de potassium monobasique** dans 100 mL d'eau Ultra Pure
- Mettre 50 mL de cette solution dans une fiole jaugée de 200 mL
- Rajouter 29,1 mL de **NaOH 0,2 M**
- Compléter avec de l'eau Ultra Pure QSP 200 mL
- Mélanger dans une bouteille ces 200 mL avec 13,3 mL de **méthanol**

Mode opératoire pour la préparation des CQ :

- Peser précisément 100 mg de poudre d'**Erythromycine Standard (Primaire ou secondaire)**
- Solubiliser avec 5 mL de **méthanol** dans une fiole jaugée de 25 mL
- Vortexer jusqu'à dissolution
- Compléter avec la **solution diluante** QSP 25 mL
- Vortexer et passer aux ultrasons si il reste des résidus non dissous
- Filtrer
- Mettre dans un **vial** pour HPLC

2. System Suitability Test (SST) :

Le SST (53) est un test utilisé par l'industrie pharmaceutique pour valider la **conformité du système de dosage**, il est réalisé une fois par mois pour chaque appareil. Pour cela, il faut préparer deux CQ à 4 mg/mL indépendamment (par deux personnes différentes) à partir d'un flacon d'**Erythromycine Standard Secondaire (II)**. Si il s'agit d'un flacon neuf, il faudra utiliser l'**Erythromycine Standard Primaire (I)**. Le CQ1 doit être injecté une fois dans l'appareil, alors que le CQ2 l'est six fois.

Différents paramètres qui viennent de plusieurs instances sanitaires (**FDA, USP**) ou des critères de référence interne au **SCQIP**, sont ensuite analysés et compilés dans un tableau.

Paramètre	Critère de conformité	Absence de résultat	Non-conformité
Facteur de rétention K' (=capacity factor)	$K' > 2$ (FDA)	Possible (pas de front de solvant) = voir responsable technique	Refaire la phase mobile et changer la colonne, puis relancer
Résolution R_s	$R_s > 0,8$ (USP, erythromycin API)	Possible (1 pic) = voir responsable technique	
Nombre de plateaux théoriques N	$N > 500$ (SCQIP)		
Tailing Factor ($a+b/2a$) T	$T \leq 2$ (SCQIP)		
Répétabilité (RSD) des 6 injections	2,0 % (USP, erythromycin API)		

Tableau n° 6 : Résultat du SST

3. Conformité du Standard :

Comme nous l'avons vu précédemment, les CQ sont réalisés à partir de flacon d'Erythromycine Standard (I ou II). L'Erythromycine Standard I Pharmacopée Européenne est un flacon de 250 mg qui correspond à l'étalon de référence qu'on peut commander à la EDQM (54). L'Erythromycine Standard II est un flacon de 1 g, dont le prix d'achat est moins cher que le Standard I. Il faut donc à chaque fois qu'on ouvre un nouveau flacon, vérifier sa conformité par rapport au Standard I, afin de pouvoir l'utiliser préférentiellement pour les CQ.

Pour cela, il faut faire un CQ à 4 mg/mL avec les deux Standard (I et II), les passer en HPLC et calculer le Coefficient de variation (RSD) des airs des deux pics des chromatogrammes. Pour que le Standard II soit utilisable en routine, il faut que le RSD soit inférieur à 5 %.

4. Préparation des échantillons à doser :

Mode opératoire :

- Ouvrir une gélule dans un flacon (laisser la gélule plus son contenu dans le flacon)
- Verser 5 mL de **méthanol**
- Passer aux ultrasons pendant 5 minutes
- Vortexer 5 minutes
- Centrifuger à 3 000 tours/minute pendant 5 minutes
- Filtrer sur **filtre Millipore® 0,45 µm** (jeter le premier mL)
- Mettre en **vial** pour HPLC
- Répéter l'opération pour **10 gélules**

A la fin du dosage, la colonne est rincée par un mélange (**Acétonitrile 30 % / Eau Ultra Pure 70 %**). Pour chaque gélule le chromatogramme (Figure n°15) *via* l'air sous la courbe, nous donne un résultat en mg/mL qu'il faut **multiplier par 5** pour obtenir la teneur de la gélule.

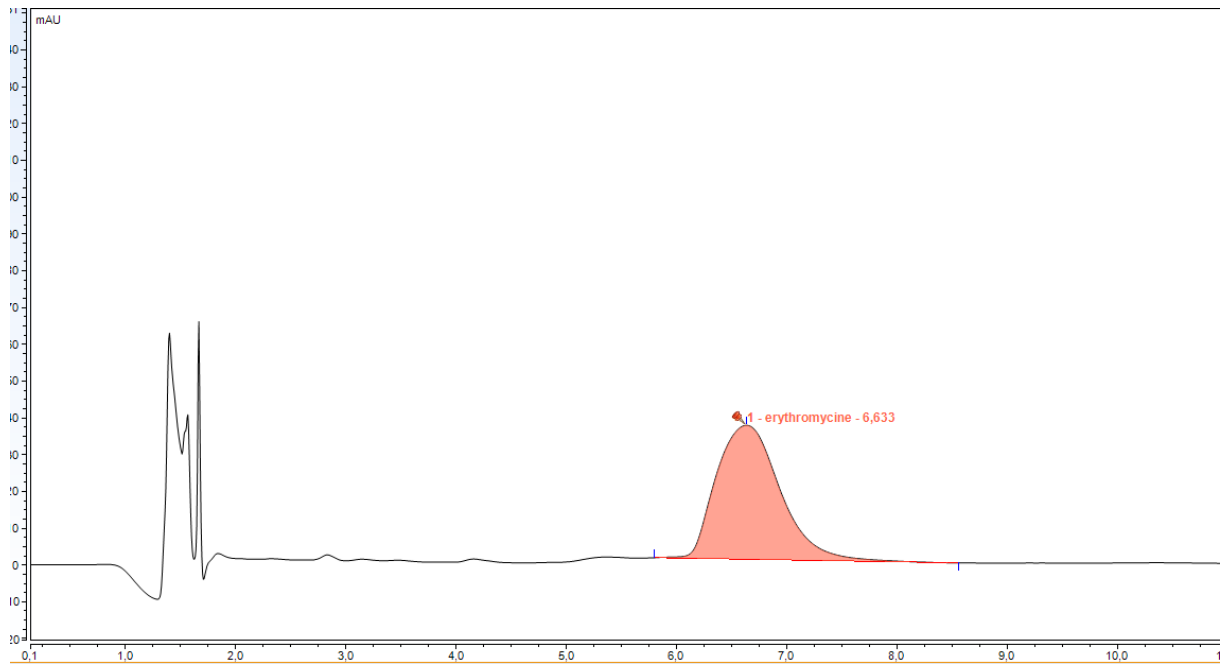


Figure n° 15 : Chromatogramme d'une gélule d'Erythromycine

Il faut également préparer deux **CQ à 4 mg/mL** (fait par deux personnes différentes) avec l'Erythromycine Standard II en même temps que les échantillons à doser, et calculer le RSD (qui doit être inférieur à 5 %).

VI. Gélules d'Erythromycine 20 mg, libération de lot :

1. La teneur :

D'après l'USP « **Erythromycin tablets** » (55), la teneur doit être comprise entre **90** et **120 %** de la teneur attendue pour être conforme. Toutefois, au SCQIP il a été décidé de réduire cette marge à **plus ou moins 10 %** de la teneur attendue : Soit pour des gélules à 20 mg, la teneur moyenne des 10 gélules doit être comprise entre **18 et 22 mg** pour être conforme.

2. Valeur d'acceptation (VA) :

La VA nous permet de déterminer l'**homogénéité de la teneur** du lot analysé, sa formule est définie dans la partie **2.9.40 de la Pharmacopée Européenne**. Pour la calculer, il faut d'abord déterminer la teneur moyenne (Q_{moyen}) en principe actif de 10 unités d'un lot, Q_{moyen} est exprimé en pourcentage par rapport à la teneur théorique attendue :

- Si Q_{moyen} est compris entre **98,5** et **101,5 %** ; alors la **VA = ks**
- Si Q_{moyen} est inférieur à **98,5 %** ; alors la **VA = 98,5 - Q_{moyen} + ks**
- Si Q_{moyen} est supérieur à **101,5 %** ; alors la **VA = Q_{moyen} - 101,5 + ks**

k est une constante (=2,4) et **s** correspond à l'écart-type de l'échantillon.

Pour être conforme, la VA doit être **inférieure à 15%**. Si la VA de la série de 10 gélules est supérieure à 15 %, il faut doser 20 gélules supplémentaires et déterminer la VA des deux séries de gélules, soit 30 gélules.

3. Uniformité de masse des gélules :

Cette étape est effectuée au préparatoire de l'Hôpital de Sainte Marguerite, elle consiste à **peser 20 gélules** prises au hasard parmi le lot fabriqué et à en déterminer la masse moyenne. D'après la partie **2.9.5 de la Pharmacopée Européenne** :

- Si la masse moyenne **est inférieure à 300 mg** :
 - La masse individuelle des gélules doit être comprise entre + **et - 10 %** de la masse moyenne
 - Seulement **2 gélules maximum** peuvent dépasser de **10 %** la masse moyenne
 - Si **une gélule dépasse de 20 %** la masse moyenne, le lot doit être refusé

- Si la masse moyenne **est supérieure à 300 mg** :
 - La masse individuelle des gélules doit être comprise entre + **et - 7,5 %** de la masse moyenne
 - Seulement **2 gélules maximum** peuvent dépasser de **7,5 %** la masse moyenne
 - Si **une gélule dépasse de 15 %** la masse moyenne, le lot doit être refusé

Cependant, l'uniformité de masse comme elle est réalisée au préparatoire de Sainte Marguerite, ne correspond pas tout à fait à ce qui est préconisé dans la **Pharmacopée**

Européenne. En effet, dans le **chapitre 2.9.5** il est recommandé de peser les gélules pleines, puis de les vider pour les peser vides ; ceci afin d'avoir la masse de poudre la plus précise possible. L'inconvénient est que cela entraîne la destruction d'une vingtaine de gélule par lot en plus de celles envoyées au SCQIP, c'est pourquoi il a été décidé de seulement peser les gélules pleines. Les pesées sont ensuite répertoriées sur l'**Annexe n° 3 : Fiche de contrôle uniformité de masse des gélules.**

4. Microbiologie :

Pour les préparations non stériles, le **dénombrement microbien** consiste à rechercher des germes classiques ou spécifiques, selon les spécificités des principes actifs utilisées. Les bactéries aérobies sont recherchées sur des géloses **TSA (Tryptone Soy Agar)** et les moisissures/levures sur des géloses **Sabouraud**. Le SCQIP pratique ce type d'analyse en routine par les méthodes **d'ensemencement direct sur gélose.**

Cependant, l'Erythromycine étant un antibiotique à large spectre, le dénombrement microbien par **ensemencement direct** n'est pas possible et n'est donc pas effectué par le SCQIP. Nous verrons ainsi dans la troisième partie, le détail de la mise au point de la méthode de **dénombrement par filtration.**

5. Résultats :

Les résultats sont ensuite compilés sur un bon (**Annexe n°4 – Bon de rendu de résultat de préparations hospitalières**) et envoyés au préparatoire de l'Hôpital de Sainte Marguerite. Les internes du préparatoire ensuite remplissent la fiche de libération de lot (**Annexe n°5 – Fiche de libération de lot**) et rentrent en stock la préparation hospitalière.

VII. Gélules d'Erythromycine 20 mg, étude de stabilité :

1. Déroulé de l'étude de stabilité :

Pour chaque nouvelle préparation hospitalière, une étude de stabilité est réalisée au SCQIP dans le but de déterminer sa **Date Limite d'Utilisation (DLU)**. Pour cette étude, **trois**

lots de 100 gélules chacun doivent être préparés. Ensuite, un **dosage du principe actif** et un **test de désagrégation** sont réalisés sur chacun des lots le jour de la fabrication (**T0**) puis à intervalle régulier (**T7jours, T1mois, T2mois** etc) jusqu'à l'apparition d'une non-conformité ou jusqu'à la fin souhaitée de l'étude.

2. Test de désagrégation :

Le test de désagrégation est défini dans le **chapitre 2.9.1 de la Pharmacopée Européenne**, il sert à mesurer l'aptitude des gélules à se désagréger en milieu liquide, dans des conditions expérimentales et un temps définis. Ce test est réalisé à l'aide d'un appareil de désagrégation **Agilent® 100** (Figure n°16) qui se compose d'un **panier porte-tubes** dont le fond est grillagé et d'un bac contenant un **liquide d'immersion** (ici de l'eau). Un thermostat permet de maintenir le liquide à une température comprise **entre 35 et 39°C** ; les porte-tubes sont ensuite entraînés dans un mouvement de va et vient vertical continu dans le liquide d'immersion. Pour que le test soit conforme, il faut que les gélules soient désagrégées **en moins de 30 minutes**, une désagrégation est considérée comme atteinte lorsque :

- Il n'y a plus de résidu sur la grille
- Il subsiste un résidu, ce dernier est constitué seulement par une masse molle ne comportant pas de noyaux palpables et non imprégnés
- Il ne subsiste que des fragments d'enrobage (comprimés) ou des fragments d'enveloppe (capsules) qui peuvent éventuellement adhérer à la face inférieure du disque en cas d'utilisation de celui-ci



Figure n° 16 : Appareil de désagrégation Agilent® 100

3. Produits de dégradation :

Nous avons vu précédemment au cours de l'étude de **dégradation forcée**, qu'il y avait trois produits de dégradation à rechercher :

- Le produit **P1** au $t_r = 2,0 \text{ min}$
- Le produit **P2** au $t_r = 7,7 \text{ min}$
- Le produit **P3** au $t_r = 8,8 \text{ min}$

4. Résultats :

STABILITE GELULES ERYTHROMYCINE 20 MG								
Teneur individuelle 16,68 - 22,56 mg (+/- 15% moyenne à t0)					Teneur moyenne 17,66 - 21,58 mg (+/- 10% moyenne à t0)			
3 lots de 100 gélules désagrégation ≤ 30 min								
Teneur	T0	T7	T1mois	T2mois	T3mois	T5mois	T8mois	T12mois
Lot A	18,37	20,49	18,99	20,57	19,45	18,87	21,33	19,10
	19,94	20,09	18,89	20,49	19,04	18,92	19,46	19,14
	19,27	19,90	18,75	19,65	19,34	18,60	18,61	
Lot B	18,69	19,72	19,07	18,31	18,66	20,45	20,48	18,75
	19,95	20,42	19,22	19,60	18,20	18,11	21,70	20,54
	20,45	19,83	19,14	19,54	18,34	18,48	19,90	20,85
Lot C	19,85	19,88	20,29	19,69	18,52	21,44	19,39	18,02
	19,95	19,65	19,23	18,40	20,53	16,97	17,99	19,22
	20,14	20,46	19,09	18,59	20,86	20,43	19,85	18,51
moyenne	19,62	20,05	19,18	19,43	19,21	19,14	19,85	19,26
Desagregation	T0		T1mois		T3mois		T8mois	T12mois
Lot A	OK		OK		OK		OK	OK
	OK		OK		OK		OK	OK
Lot B	OK		OK		OK		OK	OK
	OK		OK		OK		OK	OK
Lot C	OK		OK		OK		OK	OK
	OK		OK		OK		OK	OK

Tableau n° 7 : Etude de stabilité des gélules d'Erythromycine à 20 mg

L'étude de stabilité réalisée au SCQIP a permis de définir une **DLU d'un an** pour la préparation hospitalière de gélule d'Erythromycine à 20 mg. Comme nous l'avons vu précédemment, dans le chapitre consacré à la libération des lots de gélules, la microbiologie n'a pas pu être réalisée au cours de cette étude.

Partie III : Mise au point des tests microbiologiques

I. Contexte :

Comme nous l'avons vu précédemment dans la Partie 2, les méthodes d'ensemencement direct ne permettent pas de réaliser les tests microbiologiques sur les préparations hospitalières à base d'**antiinfectieux** (antifongiques et antibiotiques), il faut donc utiliser une autre technique plus sensible, apte à distinguer la plus petite contamination possible sur une gélule. C'est dans ce contexte, qu'une **rampe de filtration avec une Pompe Microsart®** (Figure n°17) a été utilisée, afin de pouvoir réaliser des dénombrements microbiens sur ces préparations.

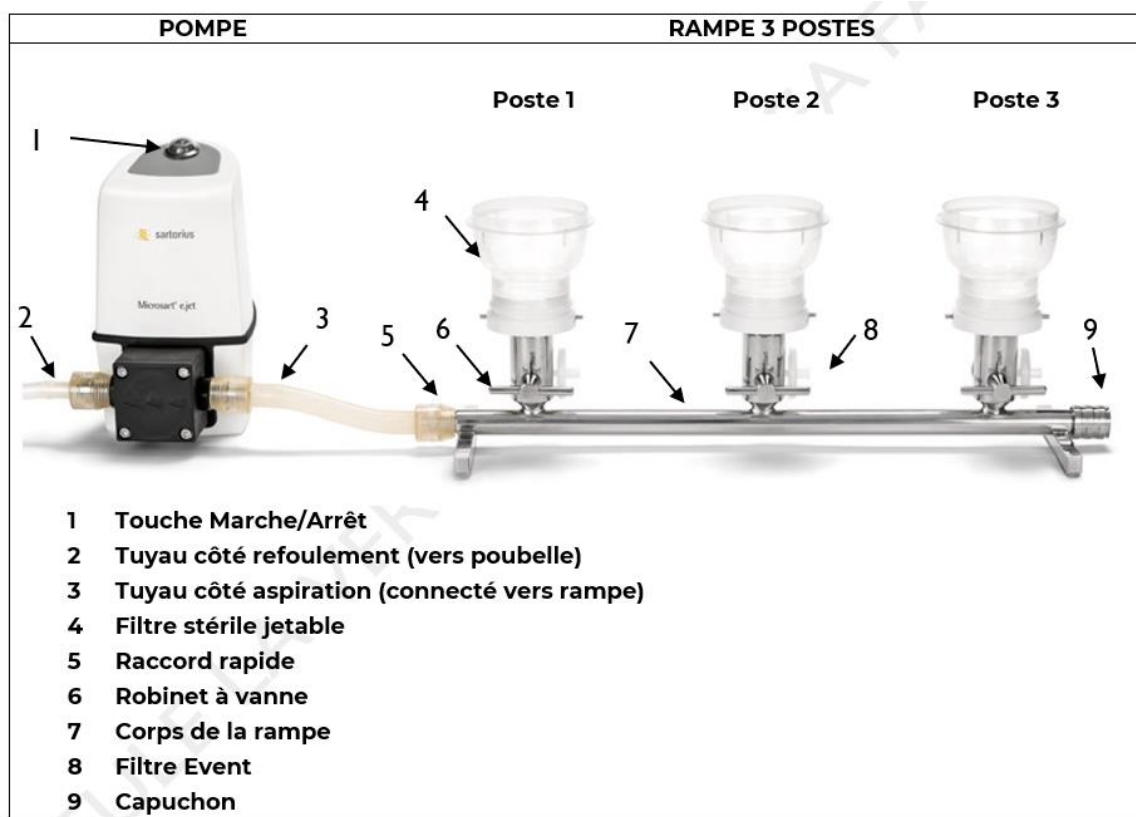


Figure n° 17 : Rampe de filtration et la Pompe Microsart®

Il a fallu commander des **géloses Trypticase Soja (TSA)** (pour les ensemencements bactériologiques) et des **géloses Sabouraud** (pour les ensemencements mycologiques) adaptées à cette rampe de filtration (Figure n°18), ainsi que les entonnoirs stériles à usage unique adaptés.

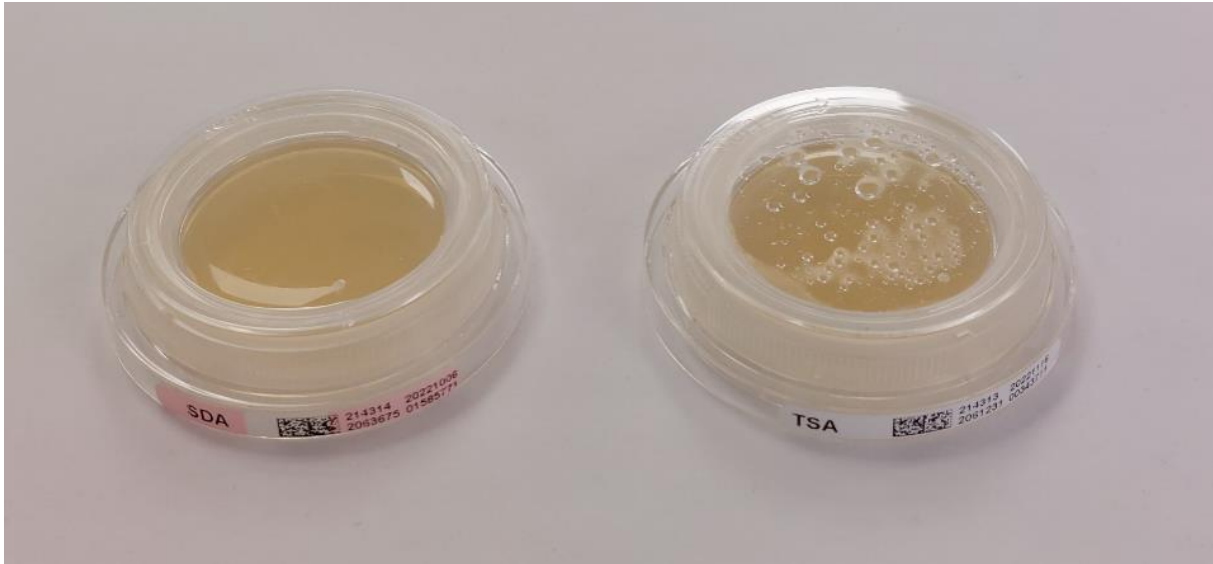


Figure n° 18 : Géloses Sabouraud et TSA

II. Dénombrement microbien par méthode de filtration :

1. Les référentiels :

Le contrôle microbiologique des préparations non stériles répond aux exigences de la **Pharmacopée Européenne**. Ainsi le test de référence est détaillé au **chapitre 2.6.12**. « Essai de dénombrement microbien » et les valeurs d'acceptation sont détaillées au **chapitre 5.1.4**. « Qualité microbiologique des préparations pharmaceutiques et des substances pour usage pharmaceutique non stériles ».

2. Applicabilité de la méthode en présence du produit :

a) Liste des germes de référence :

Pour vérifier l'applicabilité de la méthode, il faut mettre des germes (bactériologiques et mycologiques) en présence du produit à analyser, afin de voir si on observe bien une pousse microbiologique.

Germes bactériologiques de référence Pharmacopée :

- *Pseudomonas aeruginosa* NCTC12924 (Bioball® Biomérieux, ref 56040, 30 UFC)
- *Staphylococcus aureus* NCTC10788 (Bioball® Biomérieux, ref 56045, 30 UFC)
- *Bacillus subtilis* NCTC10400 (Bioball® Biomérieux, ref 56024, 30 UFC)

Germes mycologiques de référence Pharmacopée :

- *Aspergillus brasiliensis* NCPF2275 (Bioball® Biomérieux, ref 56022, 30 UFC)
- *Candida albicans* NCPF3179 (Bioball® Biomérieux, ref 56026, 30 UFC)

b) Préparation des échantillons :

Protocole :

- Peser 14 gélules
- Mettre chaque gélule dans un tube à centrifuger stérile de 15 mL
- Dans le **Poste de Sécurité Microbiologique (PSM)** : Ajouter **10 mL** de tampon phosphate stérile dans chaque tube
- Sortir du PSM pour vortexer les tubes jusqu'à ouverture des gélules
- Dans le PSM :
 - Pour les ensemencements **bactériologiques** : Introduire **2,5 mL** d'échantillon (gélule + tampon) dans un flacon de Lethen broth 90 mL, faire cette opération pour **4 gélules x2**
 - Pour les ensemencements **mycologiques** : Introduire **5 mL** d'échantillon (gélule + tampon) dans un flacon de Lethen broth 90 mL, faire cette opération pour **3 gélules x2**

c) Préparation des souches :

Les différentes souches sont contenues dans des **Bioball®** (Figure n°19) de **30 UFC** (Unité formant des colonies). Chaque Bioball® est à réhydrater avec **1 mL** de sérum physiologique pour obtenir des solutions **SO de 30 UFC/mL**. Il faut prévoir quatre Bioball® de chaque souche bactérienne et mycologique (deux échantillons et deux témoins).



Figure n° 19 : Bioball®

Ensemencements bactériologiques :



Figure n° 20 : Représentation schématique des ensemencements bactériologiques

Ensemencements mycologiques :



Figure n° 21 : Représentation schématique des ensemencements mycologiques

d) Les témoins :

Il faut prendre deux flacons parmi les **huit** destinés à l'ensemencement **bactériologique** et deux autres parmi les **six** flacons destinés à l'ensemencement **mycologique**. Sur chaque flacon, il faut écrire « T » (pour témoin) et « bactério » ou « myco » pour les différencier.

Protocole :

- Installer un kit « **entonnoir + membrane** » sur deux postes de la rampe
- Mettre la pompe en marche
- Verser les **deux flacons témoins** de bactériologie (un sur chaque poste de la rampe)
- Filtrer
- Rincer chaque membrane avec **deux fois 20 mL de Letheen Broth**
- Retirer les entonnoirs
- Récupérer les membranes avec les couvercles de géloses correspondantes (**TSA** pour « bactério » et **Sabouraud** pour « myco »)

- Positionner les couvercles horizontalement sur la membrane pour éviter les bulles
- Déposer les couvercles sur les géloses correspondants et fermer les boites en vissant
- Si présence de bulles entre la membrane et la gélose, maroufler plusieurs fois pour déposer le couvercle
- Refaire la même opération pour les **deux flacons** de mycologie

e) Essais bactériologiques :

Pour chaque souche bactériologique (*Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*), il faut deux flacons de **Letheen broth avec l'échantillon** (gélule + tampon) et deux flacons de **Letheen broth** neuf qui vont servir de témoin « souche », soit **douze flacons** en tout. Dans chaque flacon il faut mettre une Bioball® de la souche bactérienne choisie.

Protocole :

- Installer un kit « entonnoir + membrane » sur deux postes de la rampe (deux pour les échantillons puis deux pour les témoins)
- Mettre la pompe en marche
- Verser chaque flacon dans un entonnoir
- Filtrer
- Rincer chaque membrane avec deux fois 20 mL de Letheen broth
- Retirer les entonnoirs
- Récupérer les membranes avec les couvercles des géloses **TSA**
- Déposer les couvercles sur les géloses correspondantes et fermer les boites en vissant
- Si présence de bulles entre la membrane et la gélose, maroufler plusieurs fois pour déposer le couvercle
- Déposer les géloses dans un **incubateur à 30-35°C pendant 3 à 5 jours**

f) Essais mycologiques :

Pour chaque souche mycologique (*Aspergillus brasiliensis* et *Candida albicans*), il faut deux flacons de **Letheen broth avec l'échantillon** (gélule + tampon) et deux flacons de **Letheen broth** neuf qui vont servir de témoin « souche », soit **huit flacons** en tout. Dans chaque flacon il faut mettre une Bioball® de la souche mycologique choisie.

Protocole :

- Installer un kit « entonnoir + membrane » sur deux postes de la rampe (deux pour les échantillons puis deux pour les témoins)
- Mettre la pompe en marche
- Verser chaque flacon dans un entonnoir
- Filtrer
- Rincer chaque membrane avec deux fois 20 mL de Letheen broth
- Retirer les entonnoirs
- Récupérer les membranes avec les couvercles des géloses **Sabouraud**
- Déposer les couvercles sur les géloses correspondantes et fermer les boîtes en vissant
- Si présence de bulles entre la membrane et la gélose, maroufler plusieurs fois pour déposer le couvercle
- Déposer les géloses dans un **incubateur à 20-25°C pendant 5 à 7 jours**

g) Validation de la méthode :

A l'issue de la durée d'incubation, il faut compter le nombre de colonie sur chaque gélose et calculer les moyennes du nombre de colonie pour : les Témoins, les Echantillons et les Témoins souches. Concernant les ensemencements **bactériologiques**, nous avons :

- Deux géloses « Témoin », où il y a une gélule : **UFC 1**
- Six géloses « Echantillon », où il y a une gélule + une souche bactérienne sur chacune (*Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* ou *Staphylococcus aureus*) : **UFC 2**
- Six géloses « Témoin souche », où il y a seulement la souche bactérienne sur chacune : **UFC 3**

Pour que la méthode soit validée, il faut que :

- **UFC 2 > UFC 1**
- **UFC 2 ≥ UFC 3 divisé par 2**
- **UFC 3 multiplié par 2 ≥ UFC 2**

Concernant les ensemencements **mycologiques**, nous avons :

- Deux géloses « Témoin », où il y a une gélule : **UFC 1'**
- Quatre géloses « Echantillon », où il y a une gélule + une souche mycologique sur chacune (*Aspergillus brasiliensis* ou *Candida albicans*) : **UFC 2'**
- Quatre géloses « Témoin souche », où il y a seulement la souche mycologique sur chacune : **UFC 3'**

Pour que la méthode soit validée, il faut que :

- **UFC 2' > UFC 1'**
- **UFC 2' \geq UFC 3' divisé par 2**
- **UFC 3' multiplié par 2 \geq UFC 2'**

h) Résultats :

Concernant les ensemencements bactériologiques, un premier décompte du nombre de colonie est réalisé à **J1** et le résultat définitif est rendu à **J3**. Les colonies de *Staphylococcus aureus* (Figure n°22) sont pigmentées en jaune, légèrement surélevées et lisse, tandis que celles de *Bacillus subtilis* (Figure n°23) ont un aspect duveteux, étalé et de couleur beige ; et enfin celles de *Pseudomonas aeruginosa* (Figure n°24) sont aplaties, de couleur beige avec des teintes vertes. Ces différents aspects des colonies font qu'à J3, leur décompte peut s'avérer difficile (Figure n°25) car elles peuvent se chevaucher, d'où l'intérêt de faire un premier décompte dès qu'elles apparaissent à J1.



Figure n° 22 : Témoin Souche *Staphylococcus aureus* à J1



Figure n° 23 : Témoin Souche *Bacillus subtilis* à J1

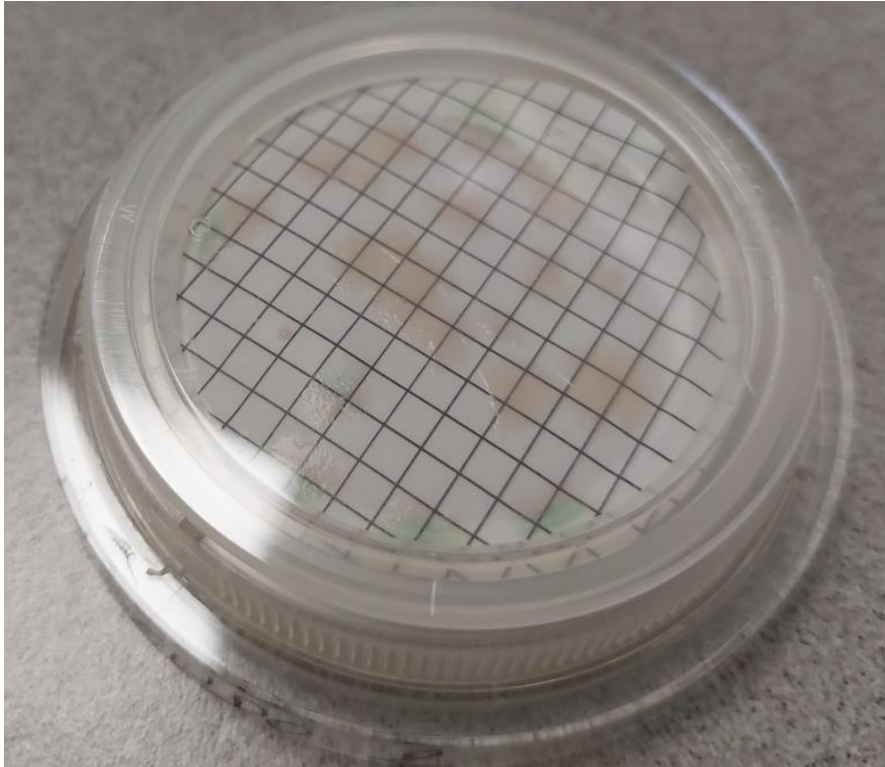


Figure n° 24 : Témoin Souche *Pseudomonas aeruginosa* à J1



Figure n° 25 : Témoin Souche *Pseudomonas aeruginosa* à J4

	Nombre de colonie 1 et 2	Moyenne
Témoin Echantillon (UFC 1)	0 + 0	0
Echantillon + <i>Staphylococcus aureus</i> (UFC 2 SA)	26 + 22	24
Témoin Souche <i>Staphylococcus aureus</i> (UFC 3 SA)	30 + 27	28,5
Echantillon + <i>Bacillus subtilis</i> (UFC 2 BS)	6 + 14	10
Témoin Souche <i>Bacillus subtilis</i> (UFC 3 BS)	14 + 18	16
Echantillon + <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (UFC 2 PA)	27 + 29	28
Témoin Souche <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (UFC 3 PA)	27 + 24	25,5

Tableau n° 8 : Résultats des ensemencements bactériologiques

On peut voir que tous les UFC 2 sont supérieurs à UFC 1, et qu'il n'y a pas de variation d'un facteur 2 entre les UFC 2 et les UFC 3. Donc la **méthode est validée** pour les ensemencements bactériologiques.

Pour les ensemencements mycologiques, le premier décompte du nombre de colonie est réalisé à **J2 ou J3** et le résultat définitif est rendu à **J5**. Les colonies de *Candida albicans* (Figure n°26) sont rondes et de couleur blanche, tandis que les colonies d'*Aspergillus brasiliensis* (Figure n°27) sont étalées, jaunes et avec parfois des teintes noires.



Figure n° 26 : Témoin Souche *Candida albicans* à J3



Figure n° 27 : Gélase « Echantillon + *Aspergillus brasiliensis* » à J3

	Nombre de colonie 1 et 2	Moyenne
Témoin Echantillon (UFC 1')	0 + 0	0
Echantillon + <i>Candida albicans</i> (UFC 2' CA)	28 + 27	27,5
Témoin Souche <i>Candida albicans</i> (UFC 3' CA)	26 + 31	28,5
Echantillon + <i>Aspergillus braziliensis</i> (UFC 2' AB)	TAPIS	TAPIS
Témoin Souche <i>Aspergillus braziliensis</i> (UFC 3' AB)	TAPIS	TAPIS

Tableau n° 9 : Résultats des ensemencements mycologiques

Concernant *Candida albicans*, on peut voir que UFC 2' CA est supérieur à UFC 1' et qu'il n'y a pas de variation d'un facteur 2 entre UFC 2' CA et UFC 3' CA. En revanche, comme le montre la Figure n°, il y a eu une pousse subite à J3 d'*Aspergillus braziliensis* pour UFC 2' AB et UFC 3' AB remplissant entièrement les géloses, rendant impossible le décompte des colonies.

Cela démontre toutefois une absence d'inhibition sur *Aspergillus braziliensis*, de plus l'Erythromycine n'ayant pas d'effet antifongique, on peut donc en conclure que **la méthode est également validée** pour les ensemencements mycologiques.

Ainsi, la méthode d'ensemencement par filtration peut être utilisée en routine pour les préparations hospitalières de gélules d'Erythromycine à 20 mg.

3. Réalisation en routine :

a) Préparation de l'échantillon :

Pour un lot de 300 gélules, quatre gélules seront analysées (Deux pour les ensemencements bactériologiques et deux pour les ensemencements mycologiques). Chaque gélule est analysée de manière indépendante en étant identifiée par la lettre G suivie d'un nombre (**G1, G2, G3 et G4**). Cet identifiant doit être reporté sur les boîtes de géloses utilisées

pour l'analyse. Il faut peser individuellement chaque gélule et noter la masse (**m1**, **m2**, **m3** et **m4**) sur le compte rendu d'analyse afin de déterminer la conformité de la préparation.

Protocole :

- Mettre chaque gélule dans un tube à centrifuger stérile de 15 mL
- Sous le PSM : Rajouter dans chaque tube 10 mL exactement de milieu tampon phosphate pH 7,2 (prélevé dans des tubes contenant environ 9 mL)
- Vortexer les tubes jusqu'à ouverture des gélules
- Dans les **tubes 1 et 2** : Prélever exactement **2,5 mL** dans chaque tube et les introduire dans un flacon de Lethen Broth 90 mL chacun (destiné aux **géloses TSA**)
- Dans les **tubes 3 et 4** : Prélever exactement **5 mL** dans chaque tube et les introduire dans un flacon de Lethen Broth 90 mL chacun (destiné aux **géloses Sabouraud**)
- Faire un **témoin** pour les géloses TSA : Prélever 2,5 mL de tampon phosphate pH 7,2 sous PSM et les introduire dans un flacon de 90 mL de Lethen Broth

b) Filtration de l'échantillon :

Protocole :

- Vérifier que les robinets de vanne de la rampe sont en position horizontale (fermés)
- Pour les **géloses TSA** : Placer trois kits « entonnoir + membrane » sur les trois postes de la rampe
- Verser le contenu de chaque flacon (G1, G2 et Témoin) dans un entonnoir
- Mettre la pompe en marche en appuyant sur l'interrupteur
- Ouvrir les robinets de vannes
- Rincer chaque membrane deux fois avec deux fois 20 mL de Lethen Broth, en ouvrant et fermant le robinet de vanne à chaque fois
- Fermer les robinets
- Enlever les entonnoirs en laissant les membranes
- Transférer les membranes sur les géloses TSA
- Répéter la même opération pour les **géloses Sabouraud** (en utilisant seulement deux postes de la rampe cette fois)

Les **trois géloses TSA** sont ensuite placées dans un incubateur à **30-35°C pendant 3 à 5 jours** et les **deux géloses Sabouraud** quant à elles, sont placées dans un incubateur à **20-25°C durant 5 à 7 jours**.

c) Interprétation des résultats :

A l'issue de la durée d'incubation, il faut compter le nombre d'UFC sur chaque gélose. Les gélules ont été solubilisées dans 10 mL de tampon phosphate, puis 5 ou 2,5 mL de cette solution ont ensuite été dilués dans du Letheen Broth selon le type d'ensemencement. Il faudra donc **multiplier par 4** le nombre d'UFC sur les géloses TSA et **multiplier par 2** celui sur les géloses Sabouraud, et enfin diviser ce nombre par **la masse de la gélule** analysée.

Dénombrement des germes aérobies totaux (DGAT) :

$$DGAT_1 = \frac{Nb \text{ d'UFC } G1 \times 4}{m1} = y_1 \text{ en UFC/g}$$

$$DGAT_2 = \frac{Nb \text{ d'UFC } G2 \times 4}{m2} = y_2 \text{ en UFC/g}$$

Dénombrement des moisissures/levures totales (DMLT) :

$$DMLT_3 = \frac{Nb \text{ d'UFC } G3 \times 2}{m3} = y_3 \text{ en UFC/g}$$

$$DMLT_4 = \frac{Nb \text{ d'UFC } G4 \times 2}{m4} = y_4 \text{ en UFC/g}$$

Pour une préparation non stérile, non aqueuse et administrée par voie orale, la limite acceptable maximale pour les **DGAT** est de **2000 UFC/g**, et de **200 UFC/g** pour les **DMLT**.

Conclusion générale

L'activité du préparatoire central de l'Hôpital de Sainte Marguerite n'a cessé de croître depuis la centralisation de la production des préparations hospitalières actée en 2014, avec pour but de mieux répondre aux besoins des services de pédiatrie. Ainsi, il est nécessaire d'augmenter le nombre de préparations hospitalières afin que les préparations magistrales ne soient plus utilisées qu'en dernier recours. Le développement de cette activité permet une amélioration de la qualité, de l'efficacité et de la sécurité des produits dispensés en pédiatrie. Cependant, ces améliorations passent aussi par l'adaptation des procédés de fabrication et de contrôle de ces préparations, et nécessitent de faire appel à plusieurs domaines : la chimie analytique, la galénique, la microbiologie etc.

Un des objectifs de cette thèse a été de trouver une méthode pour effectuer les contrôles microbiologiques sur une préparation hospitalière chez qui les dénombrements par ensemencement direct sont impossibles. A terme, cette méthode de dénombrement par filtration va pouvoir être généralisée à d'autres préparations hospitalières dans ce cas-là, comme la suspension buvable de Mélatonine à 1 mg/mL. De même, une étude de stabilité a été réalisée pour la préparation hospitalière de gélule d'Erythromycine, car il s'agit d'un domaine scientifique où peu d'études sont publiées.


Pour finir, depuis sa mise en place en juin 2020, 43 lots de gélules de cette préparation hospitalière ont été fabriqués, ce qui représente 11 600 gélules rentrées en stock et 10 216 gélules ont été administrées dans les services de Néonatalogie. Il est à noter qu'à ce jour, aucun évènement indésirable concernant cette préparation hospitalière n'a été déclaré.

Annexes

Annexe 1 : Fiche de fabrication de la préparation hospitalière de gélule d'Erythromycine à 20 mg

 Hôpitaux SUD Service Pharmacie - Préparatoire		FICHE DE FABRICATION PREPARATION HOSPITALIERE 300 GELULES D' ERYTHROMYCINE 20 mg		Date application : 24/01/2022 Version : 1.3 Rédaction : L. DUROS Approbation : Dr C. JEAN Validation : Dr P. BERTHAULT-PERES																																	
DATE DE FABRICATION :/...../..... N° DE LOT : DATE DE PEREMPTION (1 AN) : N° ORDONNANCIER DE PREPARATION : QUANTITÉ FABRIQUÉE CONFORME : SCQIP (15 gélules) : Bon n° ÉCHANTILLOTHÈQUE (15 gélules) : N° QUANTITÉ RÉELLE AJOUTÉE AU STOCK :			AP-HM Pharmacie Hôpitaux Sud 270 Boulevard Sainte Marguerite - 13009 Marseille ERYTHROMYCINE Gélules 20 mg Excipient : Cellulose microcristalline Usage oral - Uniquement sur ordonnance Respecter les doses prescrites Lot : 03GJMMMA11 Exp : JJ/MM/AAAA Conservation à température ambiante N° de dispensation : Service et nom du patient : Quantité : 300																																		
FORMULE																																					
	PRINCIPE ACTIF (Matière première, Comprimés ou Gélules à déconditionner)	Nature de l'excipient	Rouge Cochenille	GELULES (enveloppe) Choisir le calibre																																	
PRODUIT UTILISE NOM <i>(+ dosage si spécialité)</i>	ERYTHROMYCINE	CELLULOSE microcristalline	XXXX	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 50%;">Calibre</th> <th style="width: 50%;">Volume d'une gélule (ml)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td><input type="checkbox"/> 4</td><td style="text-align: center;">0.21</td></tr> <tr><td><input type="checkbox"/> 3</td><td style="text-align: center;">0.30</td></tr> <tr><td><input type="checkbox"/> 2</td><td style="text-align: center;">0.37</td></tr> <tr><td><input type="checkbox"/> 1</td><td style="text-align: center;">0.50</td></tr> <tr><td><input type="checkbox"/> 0</td><td style="text-align: center;">0.66</td></tr> <tr><td><input type="checkbox"/> 00</td><td style="text-align: center;">0.94</td></tr> <tr><td><input type="checkbox"/> 000</td><td style="text-align: center;">1.37</td></tr> </tbody> </table>	Calibre	Volume d'une gélule (ml)	<input type="checkbox"/> 4	0.21	<input type="checkbox"/> 3	0.30	<input type="checkbox"/> 2	0.37	<input type="checkbox"/> 1	0.50	<input type="checkbox"/> 0	0.66	<input type="checkbox"/> 00	0.94	<input type="checkbox"/> 000	1.37	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 50%;">Calibre</th> <th style="width: 50%;">Volume d'une gélule (ml)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td><input type="checkbox"/> 4</td><td style="text-align: center;">0.21</td></tr> <tr><td><input type="checkbox"/> 3</td><td style="text-align: center;">0.30</td></tr> <tr><td><input type="checkbox"/> 2</td><td style="text-align: center;">0.37</td></tr> <tr><td><input type="checkbox"/> 1</td><td style="text-align: center;">0.50</td></tr> <tr><td><input type="checkbox"/> 0</td><td style="text-align: center;">0.66</td></tr> <tr><td><input type="checkbox"/> 00</td><td style="text-align: center;">0.94</td></tr> <tr><td><input type="checkbox"/> 000</td><td style="text-align: center;">1.37</td></tr> </tbody> </table>	Calibre	Volume d'une gélule (ml)	<input type="checkbox"/> 4	0.21	<input type="checkbox"/> 3	0.30	<input type="checkbox"/> 2	0.37	<input type="checkbox"/> 1	0.50	<input type="checkbox"/> 0	0.66	<input type="checkbox"/> 00	0.94	<input type="checkbox"/> 000	1.37
Calibre	Volume d'une gélule (ml)																																				
<input type="checkbox"/> 4	0.21																																				
<input type="checkbox"/> 3	0.30																																				
<input type="checkbox"/> 2	0.37																																				
<input type="checkbox"/> 1	0.50																																				
<input type="checkbox"/> 0	0.66																																				
<input type="checkbox"/> 00	0.94																																				
<input type="checkbox"/> 000	1.37																																				
Calibre	Volume d'une gélule (ml)																																				
<input type="checkbox"/> 4	0.21																																				
<input type="checkbox"/> 3	0.30																																				
<input type="checkbox"/> 2	0.37																																				
<input type="checkbox"/> 1	0.50																																				
<input type="checkbox"/> 0	0.66																																				
<input type="checkbox"/> 00	0.94																																				
<input type="checkbox"/> 000	1.37																																				
Quantité de Matière première à peser ou Nombre de comprimés ou de gélules à utiliser	6 000 mg	23 000 mg (23 g)	Une faible quantité pour obtenir une coloration homogène	300 gélules de couleur : IVOIRE																																	
Numéro de lot																																					
Date de péremption																																					
Contrôle des volumes	Ticket de pesée à scotcher	Ticket de pesée à scotcher	XXXX	XXXX																																	
Nom/Prénom Du contrôle																																					
CONTROLE PREALABLE (Matières premières, lots, conditionnement...) <input type="checkbox"/> Nom :																																					
MODE OPERATOIRE																																					
<input type="checkbox"/> Lavage des mains		<input type="checkbox"/> Nettoyage du plan de travail																																			
<input type="checkbox"/> Habillage		<input type="checkbox"/> Nettoyage du matériel																																			
CONTROLE UNIFORMITE DE MASSE 20 GELULES (Ph. Eur)		Lot accepté <input type="checkbox"/>		Lot refusé <input type="checkbox"/>																																	
Préparation réalisée par			Préparation contrôlée par																																		
Nom :			Nom :																																		
Signature :			Signature :																																		
VALIDATION DE LA PREPARATION (en attente résultats SCQIP)																																					
Date :/...../.....			PHARMACIEN :																																		
			SIGNATURE :																																		

Annexe 2 : Bon pour analyse

 Hôpital Sainte Marguerite Service Pharmacie PREPARATOIRE UF 4688	BON POUR ANALYSE Hôpital de la CONCEPTION LABORATOIRE DE CONTROLE QUALITE Dr C. CURTI Tél. secrétariat : 04 91 38 35 40 Fax : 04 91 38 35 07	Date application: 17/09/2021 Version: 6.0 Rédaction: Dr Christophe JEAN Approbation: Dr J-B TAOUK Validation: Dr Pierre BERTAULT-PERES
--	---	--

Date :

N°Bon


Préparation effectuée par :	<input type="checkbox"/> Interne <input type="checkbox"/> Externe	<input type="checkbox"/> PPH <input type="checkbox"/> Pharmacien
---	--	---

Echantillon analysé :	<input style="width: 100%; height: 30px;" type="text"/>
Numéro de lot : Date de péremption : Quantité à envoyer :	<div style="border: 1px solid black; width: 100%; height: 100%; display: flex; align-items: center; justify-content: center;"> <i>Etiquette à coller</i> </div>

Analyse gélules	Analyse solution buvable	Analyse collyres	Analyse solution cutanée
<input type="checkbox"/> Uniformité de teneur	<input type="checkbox"/> Teneur	<input type="checkbox"/> Teneur	<input type="checkbox"/> Teneur
<input type="checkbox"/> Variation de masse	<input type="checkbox"/> PH	<input type="checkbox"/> PH	<input type="checkbox"/> PH
<input type="checkbox"/> Dénombrement microbien	<input type="checkbox"/> Dénombrement microbien	<input type="checkbox"/> Osmolarité	<input type="checkbox"/> Dénombrement microbien
<input type="checkbox"/> Recherche E.Coli	<input type="checkbox"/> Recherche E.Coli	<input type="checkbox"/> Contrôle particulaire	<input type="checkbox"/> Recherche P.Aeruginosa /S.Aureus
<input type="checkbox"/> Uniformité de masse (test 2.9.5)		<input type="checkbox"/> Stérilité : Nombre d'échantillons : (5% du lot minimum)	
<input type="checkbox"/> Qualification opérateur (45 gélules)		<input type="checkbox"/> Test point de bulle Nombre de filtres : Référence du filtre :	

Cachet de la pharmacie et signature :

Annexe 3 : Fiche de contrôle Uniformité de masse des gélules

		FICHE DE CONTRÔLE UNIFORMITE DE MASSE DES GELULES		Réf : PREPARATOIRE Version n°5 : 01/07/2020	
Hôpitaux SUD Service Pharmacie - Préparatoire		A JOINDRE IMPERATIVEMENT A LA FICHE DE FABRICATION		Rédigé par : Raphaël MAGNAN Vérifié par : Tiffany KABAC Approuvé par : Christophe JEAN	
SPECIALITE : _____ DOSAGE PRINCIPE ACTIF : _____ NOMBRE DE GELULES REALISEES : _____ NUMERO DE LOT DE FABRICATION : _____ DATE DE PEREMPTION : _____ NOM DU PATIENT : _____					
Le contrôle est imposé sur 20 gélules par lot quel que soit le nombre d'unités réalisées (Pharmacopée Eur.5.2) Si le nombre de gélules est inférieur à 20, la totalité du lot sera contrôlée.					
Poids gélule n°1		Poids gélule n°8		Poids gélule n°15	TICKET DE PESEE A JOINDRE
Poids gélule n°2		Poids gélule n°9		Poids gélule n°16	
Poids gélule n°3		Poids gélule n°10		Poids gélule n°17	
Poids gélule n°4		Poids gélule n°11		Poids gélule n°18	
Poids gélule n°5		Poids gélule n°12		Poids gélule n°19	
Poids gélule n°6		Poids gélule n°13		Poids gélule n°20	
Poids gélule n°7		Poids gélule n°14			
Poids moyen calculé d'une gélule (moyenne)				0,000	
Pourcentages limites imposés par la Pharmacopée Européenne 8.2 dans les uniformités de masse					
Poids théorique inférieur à 300 mg (0,3g)			Poids théorique supérieur à 300 mg (0,3g)		
Moyenne - 10 %		Moyenne + 10 %		Moyenne - 7,5 %	
0,000		0,000		0,000	
Nombre de gélules hors intervalle		0		Nombre de gélules hors intervalle	
				0	
Deux gélules maximum peuvent dépasser de plus de 10 % le poids moyen si le poids théorique d'une gélule est <u>inférieur</u> à 300 mg. Deux gélules maximum peuvent dépasser de plus de 7,5 % le poids moyen si le poids théorique d'une gélule est <u>supérieur</u> à 300 mg. Si une gélule de moins de 300 mg dépasse de 20% le poids moyen, refuser le lot. Si une gélule de plus de 300 mg dépasse de 15% le poids moyen, refuser le lot.					
CONTRÔLE UNIFORMITE DE MASSE 20 GELULES (Ph. Eur)				Si poids théorique <u>inférieur</u> à 300 mg	
				Si poids théorique <u>supérieur</u> à 300 mg	
				Lot Accepté	
				Lot Accepté	
Préparation réalisée par :			Préparation contrôlée par :		
Nom :			Nom :		
Signature :			Signature :		

Annexe 4 : Bon de rendu de résultat de préparations hospitalières



SERVICE CENTRAL DE LA QUALITE ET DE L'INFORMATION PHARMACEUTIQUES

LABORATOIRE DE CONTROLE DE LA QUALITE UF 7256

Professeur Patrice VANELLE
Docteur Christophe CURTI
Docteur Caroline CASTERA-DUCROS
Docteur Edouard LAMY
Docteur Nicolas PRIMAS

HOPITAL CONCEPTION – 147 Bd Baille – 13005 MARSEILLE
TEL : 04.91.38.35.40 – FAX : 04.91.38.35.07

Marseille le

BON N°

DEMANDE D'ANALYSE DE PREPARATION UNIDOSE UNIFORMITE DE TENEUR, TEST 2.9.40.

Etablissement : Service :

Prélèvement effectué le : Par :

Echantillon :

Echantillon	Teneur moyenne	Couleurs gélules
Amiodarone chlorhydrate gélules 5 mg	+/- 10% soit 4,5 mg – 5,5 mg	Blanc / Jaune
Amiodarone chlorhydrate gélules 20 mg	+/- 10% soit 18 mg – 22 mg	Blanc / Vert
Captopril gélules 3 mg	+/- 10% soit 2,7 mg – 3,3 mg	Ivoire
Erythromycine gélules 20 mg	+/- 10% soit 18 mg – 22 mg	Ivoire
Hydrochlorothiazide gélules 5 mg	+/- 10% soit 4,5 mg – 5,5 mg	Ivoire
Nicardipine chlorhydrate gélules 5 mg	+/- 10% soit 4,5 mg – 5,5 mg	Blanc / Bleu
Pilocarpine chlorhydrate gélules 5 mg	+/- 10% soit 4,5 mg – 5,5 mg	Ivoire
Spirolactone gélules 2,5 mg	+/- 5% soit 2,375 mg – 2,625 mg	Blanc / Jaune
Spirolactone gélules 10 mg	+/- 5% soit 9,5 mg – 10,5 mg	Blanc / Bleu
Acide ursodésoxycholique 20 mg	+/- 10% soit 18 mg – 22 mg	Ivoire

Autre :

Numéro de lot :

Analyse réalisée le :
par :

Réactifs :

Standard secondaire :ref :

lot :

Standard primaire :ref :

lot :

Conformité du système (SST) :

SST réalisé le :

Conforme

Etiquetage :

1/3

RESULTAT D'ANALYSE

Couleur gélules

Dosage par HPLC (Méthode interne)

Série 1	Gélule	Q (en mg)
	1	
	2	
	3	
	4	
	5	
	6	
	7	
	8	
	9	
10		

Série 2	Gélule	Q (en mg)
	11	
	12	
	13	
	14	
	15	
	16	
	17	
	18	
	19	
	20	
	21	
	22	
	23	
	24	
	25	
	26	
	27	
	28	
	29	
30		

Teneur moyenne = mg

Q_{moyen} des 10 gélules de la série 1 (% de la quantité théorique) = %

Q_{moyen} des 30 gélules des séries 1+2 (% de la quantité théorique) = %

Si $98,5\% \leq Q_{\text{moyen}} \leq 101,5\%$: VA = ks

Si $Q_{\text{moyen}} < 98,5\%$: VA = $98,5 - Q_{\text{moyen}} + ks$

Si $Q_{\text{moyen}} > 101,5\%$: VA = $Q_{\text{moyen}} - 101,5 + ks$

VA1 des 10 gélules de la série 1 = %

VA2 des 30 gélules des séries 1+2 = %

Dénombrement microbien :

Masses gélules analysées : G1 = grammes G2 = grammes

Géloses TSA, moyennes UFC : G1 = G2 =

DGAT 1 = (moyenne X 10)/masse gélule 1 = UFC/g

DGAT 2 = (moyenne X 10)/masse gélule 2 = UFC/g

Géloses Sabouraud, moyenne UFC : G1 = G2 =

DMLT 1 = (moyenne X 10)/masse gélule 1 = UFC/g

DMLT 2 = (moyenne X 10)/masse gélule 2 = UFC/g

Recherche de micro-organismes spécifiés (E Coli) :

Culture :

CRITERES D'ACCEPTATION

COULEURS GELULES / TENEUR MOYENNE

Voir descriptif de l'échantillon analysé

UNIFORMITE DE TENEUR

Niveau	Valeurs Limites	Conformité
1 : Série 1 de 10 gélules	- VA1 ≤ 15 %	Conforme
	- VA1 ≥ 15 %	Demande de 20 gélules supplémentaires
2 : Série 1+2 de 30 gélules	- VA2 ≤ 15 %	Conforme

NB : Le niveau 2 est réalisé si un résultat non conforme est obtenu pour le niveau 1

DENOMBREMENT MICROBIEN

DGAT : Dénombrement des germes aérobies totaux (VN < 2000UFC/g)

DMLT : Dénombrement des moisissures/levures totales (VN < 200 UFC/g)

RECHERCHE DE MICROORGANISMES SPECIFIES

Absence de croissance d'E Coli sur gélose Mc Conkey (masse analysée = 1 g)

Conforme

Non conforme

Demande de 20 gélules supplémentaires


Signature du Pharmacien responsable :

Les résultats de ce présent rapport s'appliquent uniquement à l'échantillon tel qu'il a été reçu par le LCQ.

3/3

Annexe 5 : Fiche de libération de lot

APHM – HOPITAUX SUD PREPARATOIRE	Préparation Hospitalière GELULES D'ERYTHROMYCINE 20 mg	Date application : 15/06/2020 Version : 1.0 Rédaction : Raphaël MAGNAN Approbation : Christophe JEAN Validation : Pierre-BERTHAULT-PERES Page : 1/1
--	--	--

	PHARMACIE HOPITAUX SUD	Préparation Hospitalière
FICHE DE LIBERATION DU LOT DE : Gélules d'Erythromycine à 20 mg N° de lot de la préparation : Date de la préparation : Date de péremption : N° ordonnancier fabrication :		

- Paramètres physico-chimiques :

- Teneur en érythromycine des 10 gélules : **18 – 22mg**
Teneur moyenne : mg Conforme / NON conforme
- Uniformité de teneur en érythromycine des gélules : **VA < 15 %**
VA : % Conforme / NON conforme
- Uniformité de masse des gélules :
Conforme / NON conforme

- Conditionnement :

- Etiquette Conforme / NON conforme

Libération du Lot : OUI / NON

DATE de libération :
Nom et signature du pharmacien :

Bibliographie

1. Kwiatkowska B, Maślińska M. Macrolide Therapy in Chronic Inflammatory Diseases. *Mediators Inflamm.* 2012;2012:636157.
2. Shinkai M, Henke MO, Rubin BK. Macrolide antibiotics as immunomodulatory medications: Proposed mechanisms of action. *Pharmacol Ther.* 1 mars 2008;117(3):393-405.
3. Le Noc P, Croize J, Bryskier A, Le Noc D, Robert J. [Comparative in vitro bacteriostatic and bactericidal effect of 5 macrolides: roxithromycin, erythromycin, oleandomycin, josamycin and spiramycin against 284 hospital bacterial strains]. *Pathol Biol (Paris).* juin 1989;37(5 Pt 2):553-9.
4. Buyse S, Azoulay E, Barbut F, Schlemmer B. Infection à *Clostridium difficile* : physiopathologie, diagnostic et traitement. *Réanimation.* juin 2005;14(4):255-63.
5. Periti P, Mazzei T, Mini E, Novelli A. Adverse Effects of Macrolide Antibacterials. *Drug Saf.* 1 nov 1993;9(5):346-64.
6. Westphal JF. Macrolide – induced clinically relevant drug interactions with cytochrome P-450A (CYP) 3A4: an update focused on clarithromycin, azithromycin and dirithromycin. *Br J Clin Pharmacol.* 2000;50(4):285-95.
7. Prématurité · Inserm, La science pour la santé [Internet]. Inserm. [cité 28 mars 2022]. Disponible sur: <https://www.inserm.fr/dossier/prematurite/>
8. Very Low Birth Weight - an overview | ScienceDirect Topics [Internet]. [cité 23 janv 2022]. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/very-low-birth-weight>
9. Feeding intolerance in the preterm infant - ScienceDirect [Internet]. [cité 23 janv 2022]. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378378213001606?via%3Dihub>
10. Nutrition parentérale en néonatalogie - Recommandation de bonne pratique [Internet]. Haute Autorité de Santé. [cité 28 mars 2022]. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/jcms/c_2859140/en/nutrition-parenterale-en-neonatalogie-recommandation-de-bonne-pratique
11. Coulougnon I. Cholestase liée à la nutrition parentérale du nouveau-né prématuré de moins de 32 SA: revue systématisée de la littérature et enquête auprès des services de néonatalogie adossés aux maternités de type 3 françaises. :139.
12. Catnach SM, Fairclough PD. Erythromycin and the gut. *Gut.* 1 mars 1992;33(3):397-401.
13. Dive A. Troubles de la motilité gastro-intestinale chez le patient critique. *Réanimation.* juill 2008;17(5):454-61.

14. Tack J, Deloouse E, Ang D, Scarpellini E, Vanuytsel T, Oudenhove LV, et al. Motilin-induced gastric contractions signal hunger in man. *Gut*. 1 févr 2016;65(2):214-24.
15. Rees WDW, Malagelada JR, Miller LJ, Go VLW. Human interdigestive and postprandial gastrointestinal motor and gastrointestinal hormone patterns. *Dig Dis Sci*. 1 avr 1982;27(4):321-9.
16. Deloouse E, Vos R, Janssen P, Van den Bergh O, Van Oudenhove L, Depoortere I, et al. The motilin receptor agonist erythromycin stimulates hunger and food intake through a cholinergic pathway. *Am J Clin Nutr*. 1 mars 2016;103(3):730-7.
17. Deloouse E, Biesiekierski JR, Vanheel H, Depoortere I, Tack J. Effect of motilin receptor activation on food intake and food timing. *Am J Clin Nutr*. 1 avr 2018;107(4):537-43.
18. Carter BL, Woodhead JC, Cole KJ, Milavetz G. Gastrointestinal Side Effects with Erythromycin Preparations. *Drug Intell Clin Pharm*. sept 1987;21(9):734-8.
19. Post-natal erythromycin exposure and risk of infantile hypertrophic pyloric stenosis: a systematic review and meta-analysis - PubMed [Internet]. [cité 24 janv 2022]. Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27655365/>
20. Nattel S, Ranger S, Talajic M, Lemery R, Roy D. Erythromycin-induced long QT syndrome: concordance with quinidine and underlying cellular electrophysiologic mechanism. *Am J Med*. août 1990;89(2):235-8.
21. Ng E, Shah VS. Erythromycin for the prevention and treatment of feeding intolerance in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev*. 16 juill 2008;(3):CD001815.
22. Ng PC, Lee CH, Wong SPS, Lam HS, Liu FYB, So KW, et al. High-Dose Oral Erythromycin Decreased the Incidence of Parenteral Nutrition-Associated Cholestasis in Preterm Infants. *Gastroenterology*. mai 2007;132(5):1726-39.
23. Ng PC. Use of oral erythromycin for the treatment of gastrointestinal dysmotility in preterm infants. *Neonatology*. 2009;95(2):97-104.
24. Stenson BJ, Middlemist L, Lyon AJ. Influence of erythromycin on establishment of feeding in preterm infants: observations from a randomised controlled trial. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. nov 1998;79(3):F212-214.
25. Patole SK, Almonte R, Kadalraja R, Tuladhar R, Muller R, Whitehall JS. Can prophylactic oral erythromycin reduce time to full enteral feeds in preterm neonates? *Int J Clin Pract*. oct 2000;54(8):504-8.
26. Oei J, Lui K. A placebo-controlled trial of low-dose erythromycin to promote feed tolerance in preterm infants. *Acta Paediatr Oslo Nor* 1992. août 2001;90(8):904-8.
27. ElHennawy AA, Sparks JW, Armentrout D, Huseby V, Berseth CL. Erythromycin Fails to Improve Feeding Outcome in Feeding-Intolerant Preterm Infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. sept 2003;37(3):281-6.
28. Ng SCY, Gomez JM, Rajadurai VS, Saw SM, Quak SH. Establishing Enteral Feeding in Preterm Infants with Feeding Intolerance: A Randomized Controlled Study of Low-dose Erythromycin. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. nov 2003;37(5):554-8.

29. Cairns PA, Craig S, Tubman R, Roberts RS, Wilson J, Schmidt B. Randomised controlled trial of low-dose erythromycin in preterm infants with feed intolerance. In: *Pediatric Research*. INT PEDIATRIC RESEARCH FOUNDATION, INC 351 WEST CAMDEN ST, BALTIMORE, MD ...; 2002. p. 379A-380A.
30. Aly H, Abdel-Hady H, Khashaba M, El-Badry N. Erythromycin and feeding intolerance in premature infants: a randomized trial. *J Perinatol*. janv 2007;27(1):39-43.
31. Nuntnarumit P, Kiatchoosakun P, Tantiprapa W, Boonkasidecha S. Efficacy of oral erythromycin for treatment of feeding intolerance in preterm infants. *J Pediatr*. 1 mai 2006;148(5):600-5.
32. Ng PC, So KW, Fung KSC, Lee CH, Fok TF, Wong E, et al. Randomised controlled study of oral erythromycin for treatment of gastrointestinal dysmotility in preterm infants. *Arch Dis Child - Fetal Neonatal Ed*. 1 mai 2001;84(3):F177-82.
33. Sonnenburg JL, Angenent LT, Gordon JI. Getting a grip on things: how do communities of bacterial symbionts become established in our intestine? *Nat Immunol*. juin 2004;5(6):569-73.
34. Schumann A, Nutten S, Donnicola D, Comelli EM, Mansourian R, Cherbut C, et al. Neonatal antibiotic treatment alters gastrointestinal tract developmental gene expression and intestinal barrier transcriptome. *Physiol Genomics*. 17 oct 2005;23(2):235-45.
35. 1010-drugs-therapy-bulletin.pdf [Internet]. [cité 3 mars 2022]. Disponible sur: <https://professionals.ufhealth.org/files/2011/11/1010-drugs-therapy-bulletin.pdf>
36. Ernst JA, Williams JM, Glick MR, Lemons JA. Osmolality of substances used in the intensive care nursery. *Pediatrics*. sept 1983;72(3):347-52.
37. Shah DD, Kuzmov A, Clausen D, Siu A, Robinson CA, Kimler K, et al. Osmolality of Commonly Used Oral Medications in the Neonatal Intensive Care Unit. *J Pediatr Pharmacol Ther JPPT*. 2021;26(2):172-8.
38. Atakent Y, Ferrara A, Bhogal M, Klupsteen M. The adverse effects of high oral osmolal mixtures in neonates. A review and a study of the osmolality of calcium preparations. *Clin Pediatr (Phila)*. sept 1984;23(9):487-91.
39. Commentary on breast-feeding and infant formulas, including proposed standards for formulas. *Pediatrics*. févr 1976;57(2):278-85.
40. Brun D, Curti C, Lamy E, Jean C, Bertault-Peres P, Broggi J, et al. Beyond-Use Dates Assignment for Pharmaceutical Preparations: Example of Low-Dose Amiodarone Capsules. *J Pharm Technol JPT Off Publ Assoc Pharm Tech*. août 2021;37(4):178-85.
41. Liste des Excipients à Effet Notoire. :84.
42. Article L5121-1 - Code de la santé publique - Légifrance [Internet]. [cité 1 mai 2022]. Disponible sur: https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article_lc/LEGIARTI000044628485/
43. Wasilewski M, Curti C, Bouguergour C, Panuccio C, Thevin P, Primas N, et al. Paediatric capsule compounding in hospital practices: by weight or by volume? *Eur J Hosp Pharm [Internet]*. 1 févr 2022 [cité 6 avr 2022]; Disponible sur: <https://ejhp.bmj.com/content/early/2022/01/31/ejhpharm-2021-003065>

44. Bonnes pratiques de préparation - ANSM [Internet]. [cité 18 mai 2022]. Disponible sur: <https://ansm.sante.fr/documents/referance/bonnes-pratiques-de-preparation>
45. fcc3b957d51f5ccf84b36d36f5301d59.pdf [Internet]. [cité 9 juin 2022]. Disponible sur: https://archiveansm.integra.fr/var/ansm_site/storage/original/application/fcc3b957d51f5ccf84b36d36f5301d59.pdf
46. Service Central de la Qualité et de l'Information Pharmaceutiques (SCQIP) | AP-HM [Internet]. [cité 10 juin 2022]. Disponible sur: <http://fr.ap-hm.fr/service/scqip-service-central-qualite-information-pharmaceutiques>
47. US Pharmacopeia (USP) [Internet]. [cité 15 juin 2022]. Disponible sur: <https://www.usp.org/>
48. Direction européenne de la qualité du médicament et soins de santé - Direction européenne de la qualité du médicament & soins de santé [Internet]. [cité 22 juin 2022]. Disponible sur: <https://www.edqm.eu/fr/home>
49. La Pharmacopée française - ANSM [Internet]. [cité 22 juin 2022]. Disponible sur: <https://ansm.sante.fr/documents/referance/pharmacopee/la-pharmacopee-francaise>
50. GERPAC [Internet]. [cité 22 juin 2022]. Disponible sur: <https://www.gerpac.eu/>
51. Q 2 (R1) Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology. 2006;15.
52. Tietje C, Brouder A, éditeurs. International Conference On Harmonisation Of Technical Requirements For Registration Of Pharmaceuticals For Human Use. In: Handbook of Transnational Economic Governance Regimes [Internet]. Brill | Nijhoff; 2010 [cité 19 mai 2022]. p. 1041-53. Disponible sur: https://brill.com/view/book/edcoll/9789004181564/Bej.9789004163300.i-1081_085.xml
53. System Suitability in HPLC Analysis : Pharmaguideline [Internet]. [cité 17 juin 2022]. Disponible sur: <https://www.pharmaguideline.com/2017/09/system-suitability-in-hplc-analysis.html>
54. Étalons de référence de la Ph. Eur.: commandes et catalogue - Direction européenne de la qualité du médicament & soins de santé - Liferay DXP [Internet]. Direction européenne de la qualité du médicament & soins de santé. [cité 19 juin 2022]. Disponible sur: <https://www.edqm.eu/en/ph-eur-reference-standards-orders-catalogue->
55. USP Monographs: Erythromycin Tablets [Internet]. [cité 19 juin 2022]. Disponible sur: http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0_m30230.html

SERMENT DE GALIEN

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

- ❖ *D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*
- ❖ *D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*
- ❖ *De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.*
- ❖ *En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.*

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

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