

**MEMOIRE
POUR LE DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES
DE PHARMACIE HOSPITALIERE**

**Soutenu publiquement le 26 septembre 2014
Par Mr Stéphane LEMAY**

**Conformément aux dispositions du Décret du 10 septembre 1990
tient lieu de**

THESE EN VUE DU DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

**STABILITE PHYSICO-CHIMIQUE
DE LA MORPHINE DANS LES
SYSTEMES D'ANALGESIE
CONTROLEE PAR LE PATIENT**

Membres du jury :

Président : ODOU Pascal, Pharmacien Professeur des Universités, Faculté de Pharmacie, Université de Lille 2, Praticien Hospitalier, CHRU de Lille.

Assesseur(s) :

- LANNOY Damien, Pharmacien Maître de Conférences des Universités, Faculté de Pharmacie, Université de Lille 2, Praticien Hospitalier, CHRU de Lille.
- CHILLON Jean-Marc, Pharmacien Professeur des Universités, Faculté de Pharmacie, Université de Picardie, Praticien Hospitalier, CHU d'Amiens.
- COTTEAU-LEROY Angélique, Pharmacien Praticien Hospitalier, CHRU de Lille.



3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE
CEDEX

☎ 03.20.96.40.40 - 📠 : 03.20.96.43.64

Université Lille 2 – Droit et Santé

Président : Professeur Xavier VANDENDRIESSCHE
Vice- présidents : Professeur Alain DUROCHER
Professeur Régis BORDET
Professeur Patrick PELAYO
Professeur Frédéric LOBEZ
Professeur Monique CAPRON
Professeur Salem KACET
Madame Stéphanie DAMAREY
Monsieur Pierre RAVAUX
Monsieur Larbi AIT-HENNANI
Monsieur Edouard DANJOU

Directeur Général des Services : Monsieur Pierre-Marie ROBERT

Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

Doyen : Professeur Luc DUBREUIL
Vice-Doyen, 1^{er} assesseur : Professeur Damien CUNY
Assesseurs : Mme Nadine ROGER
Professeur Philippe CHAVATTE
Chef des services administratifs : Monsieur André GENY

Liste des Professeurs des Universités :

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Physique
M.	BAILLEUL	François	Pharmacognosie
M.	BERTHELOT	Pascal	Chimie Thérapeutique 1
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie – Pharmacie clinique
M.	CHAVATTE	Philippe	Chimie Thérapeutique 2
M.	COURTECUISSÉ	Régis	Sciences végétales et fongiques
M.	CUNY	Damien	Sciences végétales et fongiques
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Physique
M.	DEPREZ	Benoît	Chimie Générale
Mme	DEPREZ	Rebecca	Chimie Générale
M.	DUPONT	Frédéric	Sciences végétales et fongiques
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie
Mlle	GAYOT	Anne	Pharmacotechnie Industrielle
M.	GESQUIERE	Jean-Claude	Chimie Organique
M.	GOOSSENS	Jean François	Chimie Analytique
Mme	GRAS	Hélène	Chimie Thérapeutique 3
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques

Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie Cellulaire
M.	LUC	Gerald	Physiologie
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie thérapeutique 2
Mme	MUHR – TAILLEUX	Anne	Biochimie
Mme	PAUMELLE-LESTRELIN	Réjane	Biologie Cellulaire
Mme	PERROY – MAILLOLS	Anne Catherine	Droit et déontologie pharmaceutique
Mlle	ROMOND	Marie Bénédicte	Bactériologie
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie Industrielle
M.	STAELS	Bart	Biologie Cellulaire
M	TARTAR	André	Chimie Organique
M.	VACCHER	Claude	Chimie Analytique
M.	MILLET	Régis	Chimie Thérapeutique (ICPAL)

Liste des Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie
M.	BRUNET	Claude	Pharmacologie
Mme	CAPRON	Monique	Immunologie
M.	DECAUDIN	Bertrand	Pharmacie Galénique
M.	DINE	Thierry	Pharmacie clinique
M.	DUBREUIL	Luc	Bactériologie
M.	DUTHILLEUL	Patrick	Hématologie
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie
M.	LUYCKX	Michel	Pharmacie clinique
M.	ODOU	Pascal	Pharmacie Galénique
M.	DEPREUX	Patrick	Chimie Organique (ICPAL)

Liste des Maitres de Conférences

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	AGOURIDAS	Laurence	Chimie thérapeutique 2
Mme	ALIOUAT	Cécile Marie	Parasitologie
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie
Mme	BANTUBUNGI	Kadiombo	Biologie cellulaire
Mme	BARTHELEMY	Christine	Pharmacie Galénique
M.	BEGHYN	Terence	Chimie Thérapeutique 3
Mme	BEHRA	Josette	Bactériologie
M.	BERTHET	Jérôme	Physique
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle
M.	BOCHU	Christophe	Physique
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie
Mme	CACHERA	Claude	Biochimie
M.	CARATO	Pascal	Chimie Thérapeutique 2
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie
Mme	CARON	Sandrine	Biologie cellulaire
Mlle	CHABÉ	Magali	Parasitologie
Mlle	CHARTON	Julie	Chimie Organique
M	CHEVALIER	Dany	Toxicologie
M.	COCHELARD	Dominique	Biomathématiques

Mme	DANEL	Cécile	Chimie Analytique
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie
Mlle	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques
Melle	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire
M.	FARCE	Amaury	Chimie Thérapeutique 2
Mlle	FLIPO	Marion	Chimie Organique
Mme	FOULON	Catherine	Chimie Analytique
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie
M.	GELEZ	Philippe	Biomathématiques
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie
Mme	a. GRAVE	Béatrice	Toxicologie
Mme	GROSS	Barbara	Biochimie
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie
M.	KAMBIA	Kpakpaga Nicolas	Pharmacologie
M.	KARROUT	Youness	Pharmacotechnie Industrielle
Mlle	LALLOYER	Fanny	Biochimie
M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie thérapeutique 1
Mlle	LEONHARD	Julie	Droit et déontologie pharmaceutique
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie Analytique
Mme	LORIN-LECOEUR	Marie	Chimie Analytique
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie
M.	MOREAU	Pierre Arthur	Sciences végétales et fongiques
M.	MOUTON	Nicolas	Physique
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle
Mme	NEUT	Christel	Bactériologie
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques
M.	PIVA	Frank	Biochimie
Melle	PLATEL	Anne	Toxicologie
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques
Mme	RIVIERE	Céline	Pharmacognosie
Mme	ROGER	Nadine	Immunologie
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie
M.	SERGHERAERT	Eric	Droit et déontologie pharmaceutique
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie Industrielle
Mlle	SINGER	Elisabeth	Bactériologie
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie
Mme	THUILLIER	Pascale	Hématologie
Mme	VANHOUTTE	Geneviève	Biochimie
M.	WELTI	Stéphane	Sciences végétales et fongiques
M.	WILLAND	Nicolas	Chimie organique
M.	YOUS	Saïd	Chimie Thérapeutique 1
M.	FURMAN	Christophe	Pharmacobiochimie (ICPAL)
Mme	GOOSSENS	Laurence	Chimie Organique (ICPAL)

Liste des Maitres de Conférences - Praticiens Hospitaliers

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie

Mme	BALDUYCK	Malika	Biochimie
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie
M.	LANNOY	Damien	Pharmacie Galénique
Mme	ODOU	Marie Françoise	Bactériologie

Professeurs Agrégés

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	MAYES	Martine	Anglais
M.	MORGENROTH	Thomas	Droit et déontologie pharmaceutique

Professeurs Certifiés

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	HUGES	Dominique	Anglais
Mlle	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

Professeurs Associé - mi-temps

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	ABADIE	Eric	Droit et déontologie pharmaceutique

Maîtres de Conférences ASSOCIES - mi-temps

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	BERTOUX	Elisabeth	Pharmacie Clinique - Biomathématiques
M.	BRICOTEAU	Didier	Biomathématiques
M.	FIEVET	Pierre	Information Médicale
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacie Clinique
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacie Clinique
M.	WATRELOS	Michel	Droit et déontologie pharmaceutique
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques

b.

c.

AHU

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacie Galénique



Université Lille 2
Droit et Santé

**Faculté des Sciences Pharmaceutiques
et Biologiques de Lille**

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE
CEDEX

☎ 03.20.96.40.40 - 📠 : 03.20.96.43.64

**L'Université n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans
les thèses ; celles-ci sont propres à leurs auteurs.**

Remerciements :

A Monsieur le Professeur P. ODOU,

Pour me faire l'honneur de présider la soutenance de ma thèse, je vous exprime toute ma reconnaissance.

A Monsieur le Docteur D. LANNON,

Pour avoir accepté de diriger cette thèse, pour votre patience et vos conseils, je vous adresse ma profonde gratitude.

A Monsieur le Professeur JM. CHILLON,

Pour avoir accepté de participer au jury de cette thèse, je vous remercie sincèrement.

A Madame le Docteur A. COTTEAU-LEROY,

Pour avoir accepté de juger ce travail, Veuillez trouver ici mes plus vifs remerciements.

A Monsieur le Docteur C. BERNERON,

Pour avoir mis à ma disposition votre laboratoire et vos équipements. Sans vous, ce travail n'aurait pas été possible.

A Christine du Laboratoire de préparation/contrôle,

Merci pour ton aide, tes conseils et ta disponibilité.

A Mademoiselle le Docteur S. GENAY,

Merci pour tes conseils, ta bienveillance et ta disponibilité.

A tous les préparateurs/secrétaires du CHRU de Lille (Pascale, la Rétrocession,...), Merci pour votre sympathie et vos encouragements.

A tous les préparateurs du CHU Sud Réunion (Christelle, Gilles URC,...),

Merci à vous tous pour votre bienveillance, vos sourires et votre soutien sans faille. En particulier : l'équipe de la nominale, Sabrina, Gaëlle « tit ange », Maéva, et Gilles

A Michèle et Clément (mes co-internes),

Merci pour votre aide et vos messages (Michèle).

A Ousseini,

Il n'existe pas de mot pour te dire à quel point je suis reconnaissant de ton aide...

A Mon (al) Isa,

Merci infiniment pour ton soutien lumineux.

A tous mes amis (Marie, Momo, Manu, Nat, Sab, Ju, Jérémy « Maestro », Bibi, ...), j'ai fini !

A mes parents, avec toute mon affection...

TABLE DES MATIERES :

LISTE DES ABREVIATIONS	9
LISTE DES FIGURES	10
LISTE DES TABLEAUX	10
INTRODUCTION	11
A. Rappels sur la Morphine	
1) Principales caractéristiques pharmaceutiques du principe actif (PA)	14
2) Quelques aspects de réglementation	14
B. Rappels sur la technique d'analgésie contrôlée par le patient (PCA)	
1) Indications de la technique PCA	16
2) Molécules et voie d'administration	16
3) La prescription	17
4) Matériel	18
5) En pratique	21
C. Limites et objectifs	
I] MATERIEL ET METHODES	26
A. Matériel	
1) Technique séparative	26
2) Matériel annexe	26
3) Réactifs et consommables	27
4) Système PCA	28
B. Méthode	
1) Analyses préliminaires	28
2) Essais de dégradation forcée	30
3) Validation analytique de la méthode	32
4) Modalités de préparation des systèmes PCA	37
5) Réalisation des études de stabilité	37
6) Expression des résultats	38
II] RESULTATS	39
A. Spectre UV visible des substances d'intérêt	39
B. Chromatogramme de la Morphine et de l'étalon interne	39
C. Résultats des essais de dégradation forcée	40
D. Validation de la méthode analytique	
1) Linéarité de la méthode	41
2) Fidélité et justesse	41
3) Profil d'exactitude	42
4) Résultats de l'analyse des variances (ANOVA)	43
5) Limites de détection et de quantification	44
E. Etude de stabilité	
1) Evolution des concentrations en morphine au cours du temps	45
2) Evolution du pH des solutions au cours du temps	45
3) Examen visuel des solutions au cours du temps	45
III] DISCUSSION	46
A. Méthode de développement	46
B. Essais de dégradation forcée	46
C. Etude de stabilité	47
IV] CONCLUSION/PERSPECTIVES	48
BIBLIOGRAPHIE	50
ANNEXES	55

LISTE DES ABREVIATIONS :

ABS : Acrylonitrile Butadiène Styrène

ACN : Acetonitrile

ANOVA : Analyse de la variance

ANSM : Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé

BPP : Bonnes Pratiques de Préparation

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

CHRU : Centre Hospitalier Régional Universitaire

CSP : Code de la Santé Publique

CLHP : Chromatographie Liquide Haute Performance

CV : Coefficient de Variation

DCI : Dénomination Commune Internationale

DEHP : Di-(2-EthylHexyl)-Phtalate

DM : Dispositifs Médicaux

Eau PPI : Eau Pour Préparation Injectable

EI : Etalon Interne

FDA : Food and Drug Administration

HAD : Hospitalisation A Domicile

IDE : Infirmière Diplômée d'Etat

LP : Libération prolongée

LOD : Limite de détection

LOQ : Limite de quantification

MPUP : Matière Première à Usage Pharmaceutique

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PA : Principe Actif

PCA : Patient Controlled Analgesia (Analgésie contrôlée par le patient)

PUI : Pharmacie à Usage Intérieur

PVC : PolyChlorure de Vinyle

PO : Per os

QC : Quality Control (contrôle qualité)

RCP : Résumé des Caractéristiques du Produit

SE : Standards d'Etalonnage

SFAP : Société Française d'Accompagnement et de soins Palliatifs

SFSTP : Société Française des Sciences et Techniques Pharmaceutiques

UV : Ultra-violet

ZAC : Zone d'Atmosphère Contrôlée

LISTE DES FIGURES :

Figure 1 : Structure chimique de la Morphine

Figure 2 : Eléments du système PCA (Rythmic Plus de chez Micrel Medical Devices)

Figure 3 : Description du set d'infusion pour pompe Rythmic Plus

Figure 4 : Principaux produits de dégradation du Chlorhydrate de Morphine

Figure 5 : Spectre UV de la Morphine et du Céfuroxime

Figure 6 : Chromatogramme de la Morphine et du Céfuroxime

Figure 7 : Chromatogramme de dégradation de la Morphine en milieu basique 1N

Figure 8 : Fonction de réponse de la Morphine avec le Céfuroxime comme EI

Figure 9 : Profil d'exactitude du dosage de la Morphine avec le Céfuroxime comme EI

Figure 10 : Chromatogramme de la Morphine et du Céfuroxime

LISTE DES TABLEAUX :

Tableau I : Erreurs médicamenteuses en rapport avec le système PCA dans la littérature

Tableau II : Coefficient de conversion des principaux opioïdes par voie orale et transdermique

Tableau III : Tableau comparatif des principales pompes à analgésie autocontrôlée disponibles au 1^{er} Juin 2014 en France.

Tableau IV : Stabilité physico-chimique et microbiologique du Chlorhydrate de Morphine au travers de la littérature

Tableau V : Matières premières à usage pharmaceutique et réactifs

Tableau VI : Fidélité de la méthode

Tableau VII : Biais moyen pour chaque concentration de Morphine

Tableau VIII : Test d'homogénéité des variances (test de Cochran)

Tableau IX : Analyse de la variance pour le modèle d'étalonnage de la Morphine

Tableau X : Valeurs moyennes calculées des concentrations

Tableau XI : Taux de recouvrement pour les 3 séries d'étalonnage

Tableau XII: Evolution des concentrations de Morphine au cours de l'étude

Tableau XIII: Evolution du pH des solutions de Morphine au cours de l'étude

INTRODUCTION :

Le service d'Hospitalisation à Domicile (HAD) du centre hospitalier régional universitaire (CHRU) de Lille prend en charge, entre autres, des patients cancéreux en phase palliative à leur domicile. Il a donc fréquemment recours, dans le cadre de la prise en charge de la douleur, à l'administration de solutions injectables de morphine par l'intermédiaire de systèmes d'analgésie contrôlés par le patient (PCA). D'autre part, les médicaments injectables nécessitent une vigilance accrue lors de la prescription, de la reconstitution et/ou dilution et de l'administration car c'est une voie d'administration à haut risque.

La prescription de la morphine par le médecin doit être adaptée à la technique PCA, exhaustive et se conformer aux recommandations de bonne pratique de la Société Française d'Accompagnement et de soins Palliatifs (SFAP) ^[1]. La délivrance par la pharmacie se doit d'être précise en terme de dosage du médicament fourni afin de respecter la concentration prescrite et de permettre une dilution et un volume final compatible avec une durée d'administration suffisante. Enfin, l'infirmière, outre la dilution de la morphine à réaliser pour obtenir une concentration identique à la concentration prescrite, doit maîtriser la programmation, le fonctionnement et les modalités de remplissage de la pompe. Les différents professionnels de santé intervenant dans le circuit de ce médicament ont la nécessité de connaître les modalités d'utilisation de la pompe ainsi que le matériel utilisé pour minimiser tout risque d'iatrogénie.

Le médecin, le personnel soignant ainsi que le patient doivent être formés à l'utilisation de la pompe PCA. Comme le présente Sardin et Berger dans *La prescription pour l'infirmière d'une pompe d'analgésie contrôlée* ^[2], 87,5% des médecins s'estiment insuffisamment ou pas formés à la PCA et seul 50% d'entre eux déclarent connaître les recommandations de la SFAP.

Outre le fait que cette technique permette au patient de contrôler sa douleur, de lui faire gagner en autonomie et que l'action de la morphine soit immédiate, elle présente plusieurs risques pouvant compromettre sa sécurité, d'autant que le contrôle de la douleur demande de fréquentes adaptations de doses.

L'un des risques porte sur la stabilité de la solution de morphine diluée. Le résumé des caractéristiques du produit (RCP) ^[3] indique par défaut une stabilité de 24h, faute d'études menées dans ces conditions. Lors d'hospitalisation en HAD, la solution de morphine est laissée dans la PCA pendant une semaine.

Il convient de se demander d'une part si la solution est stable d'un point de vue physico-chimique, c'est à dire s'il y a dégradation de la morphine et apparition de produits de dégradation potentiellement toxiques. Au risque de sous-dosage et au risque toxique, il faut par ailleurs tenir compte du risque infectieux, c'est à dire de la stabilité microbiologique, sachant que cette préparation est ici réalisée au domicile du patient.

Cette technique expose également au risque d'erreur médicamenteuse. De nombreux cas d'iatrogénie médicamenteuse liée à une PCA de morphine sont rapportés dans la littérature comme illustré dans le tableau I.

Tableau I : Erreurs médicamenteuses en rapport avec le système PCA dans la littérature

Auteurs/ Année/ Revue	Etude	Résultats et identification du type d'erreur
Hankin, Schein et al. [3] 2007 <i>American journal health system pharmacy</i>	Etude Rétrospective sur 2 ans Base de données MAUD (Etats Unis)	2009 erreurs médicamenteuses liées à une PCA dont 79% liées à un problème de matériel défectueux (moteur, batterie ou logiciel) et 6,5% liées à une erreur de programmation de la PCA
Paul E., Bertram et al. [4] 2010 <i>Anesthesiology</i>	Etude Prospective sur 7 ans dans 3 hôpitaux américains	25 198 patients traités avec une PCA 62 erreurs médicamenteuses survenues soit 0,25% dont 33% d'erreurs de programmation de la PCA et 77% de concentrations initiales incorrectes
Syed, James et al. [5] 2006 <i>Canadian journal anesthesie</i>	Cas rapporté	1 patient en détresse respiratoire suite à de multiples erreurs concernant sa PCA 1) connection incorrecte de l'extrémité de la tubulure de la PCA 2) programmation inexacte 3) concentration initiale de morphine incorrecte (surdosage)
White [6] 1987 <i>Anesthesiology</i>	Cas rapporté	2 patients en détresse respiratoire un cas lié à une erreur de programmation de la PCA l'autre lié à l'oubli du clamping de la tubulure lors du changement de cassette
Hicks, Sikirica et al. [7] 2008 <i>American journal health system pharmacy</i>	Etude Rétrospective sur 5 ans Base de données MEDIMARK (Etats Unis)	624 erreurs médicamenteuses considérées comme sévères avec 2 Décès dont 20% liées à du matériel défectueux et 17% liées à l'emploi d'un autre principe actif (que celui prescrit) et 38% liées à une concentration initiale incorrecte
Vicente, Kada-Bekhaled et al. [8] 2003 <i>Canadian journal anesthesie</i>	Cas rapporté	1 patiente décédée suite à l'utilisation d'une solution de morphine 10 fois plus concentrée que la concentration prescrite
Wan Mat, Wan Rahiza al. [9] 2014 <i>International Journal of Risk & Safety in Medicine</i>	Cas rapporté	3 patients en détresse respiratoire ayant reçu au même moment de fortes doses de Morphine alors que du Fentanyl était prescrit

Ces erreurs sont dues majoritairement à une erreur de programmation de la pompe [3] [4] [5] [6], à une erreur de concentration initiale [4] [5] [8] ou à une confusion du produit à injecter avec un autre produit [7] [9]. A l'HAD du CHRU de Lille, la double vérification lors du calcul des doses et lors de la programmation de la pompe n'est pas mise en place.

Il faut souligner que l'infirmier aidé ou non par un aide soignant se retrouve seul au domicile pour programmer la PCA, ce qui rend ce double contrôle impossible sur place. Cette autonomie au domicile suppose une connaissance des produits injectés, de leurs effets secondaires et des paramètres de surveillance.

L'étape de préparation est essentielle car lors de la dilution de la morphine, la concentration ainsi obtenue se doit d'être identique à la concentration programmée (concentration prescrite). En effet, une solution trop diluée exposerait à un sous-dosage et à une inefficacité tandis qu'une solution trop concentrée exposerait à un surdosage et à des effets toxiques graves voir létaux ^[8].

Le service d'HAD du CHRU de Lille collabore étroitement, depuis sa création, avec l'unité de Pharmacotechnie de la Pharmacie à Usage Intérieur (PUI) de l'hôpital, notamment pour la mise à disposition de formes adaptées et personnalisées. Le Laboratoire de contrôle associé à l'unité de Pharmacotechnie de la PUI a permis d'étudier la stabilité physico-chimique de solutions de chlorhydrate de morphine préparées en HAD.

A. Rappels sur la Morphine

1) Principales caractéristiques pharmaceutiques du principe actif (PA)

La morphine est le principal alcaloïde (molécule organique azotée) issu de l'opium, elle-même extraite du pavot (*Papaverum somniferum*).

Sa structure chimique est illustrée sur la figure 1 :

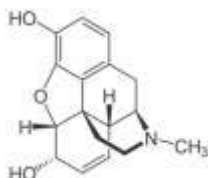


Figure 1 : Structure chimique de la Morphine

On la retrouve sous forme orale (gélule, comprimé et sirop) et sous forme injectable. Sous forme injectable, la morphine est principalement utilisée en thérapeutique sous forme de solutions de sels de sulfate ou de chlorhydrate qui sont solubles dans l'eau, contrairement à la morphine base, peu soluble dans l'eau.

Pharmacologiquement, la morphine se lie sur les récepteurs aux opiacés présents dans le système nerveux central (récepteurs μ des endorphines et des enképhalines, récepteurs κ des endorphines et récepteurs δ des enképhalines)

La morphine prend la place des peptides opioïdes endogènes au niveau de leurs récepteurs, inhibant ainsi la libération de substance P (substance facilitant la transmission de l'influx nerveux nociceptif). La fixation sur les récepteurs μ entraîne une analgésie intense.

La morphine est utilisée dans le cadre de douleurs intenses (Palier III d'après l'OMS) dans un contexte opératoire et péri-opératoire ainsi que dans celui du cancer et des soins palliatifs,...

Dans l'organisme, la morphine est métabolisée par le foie en dérivés glucuronon-conjugés, principalement en morphine-3-glucuronide et morphine-6-glucuronide tous les deux des métabolites actifs de la substance mère.

2) Quelques aspects de réglementation

La prescription de morphine par voie injectable dans le cas de systèmes actifs de perfusion (tels que la PCA) peut-être au maximum de **28 jours** d'après l'arrêté du 5 avril 1995 (sur les pompes portables avec système d'auto-analgésie) et l'article R. 5132-30 du code de la santé publique (CSP). Sans système actif de perfusion la délivrance de sels de morphine injectables est limitée à 7 jours.

B. Rappels sur la technique d'analgésie contrôlée par le patient (PCA)

D'après la SFAP ^[1] ^[10], la PCA se définit comme un système d'administration parentérale de la Morphine par pompe programmable contrôlée par le patient. L'administration se fait par voie sous-cutanée (SC) ou intraveineuse (IV).

La PCA délivre un débit continu de morphine et à la demande du patient, par auto-administration, des doses unitaires prédéfinies de morphine au fil du temps appelées bolus. Elle offre au patient une autonomie dans la gestion de son traitement et de sa douleur. L'efficacité de la technique est conditionnée par l'information préalable et l'éducation du patient.

Initialement utilisée dans les douleurs aiguës post-opératoires ^[11] ^[12], la PCA est désormais fréquemment utilisée pour le contrôle des douleurs d'origine cancéreuses. Dans les douleurs aiguës post-opératoire, il n'y a pas de dose de fond et seule la morphine est utilisée ^[12] ^[13]. Il n'y a que la douleur chronique (cancéreuse ou en soins palliatifs) qui repose sur l'administration d'une dose en continue.

Les pompes de PCA électroniques ne doivent être manipulées que par le personnel médical (Médecin) et paramédical (Infirmier) formé.

Pour sécuriser leur utilisation, le médecin ou l'infirmier doit rentrer un code permettant de déverrouiller la pompe lors de chaque manipulation.

1) Indications de la technique PCA

Les principales indications chez le patient atteint de cancer et douloureux sont :

- L'accès douloureux paroxystiques fréquents nécessitant des suppléments antalgiques rapidement efficaces, c'est à dire des bolus ^[14].
- Les patients pour lesquels le traitement antalgique morphinique est bien indiqué mais n'est pas adapté dans son mode d'administration (oral, transdermique) ^[15].
 - o Lorsque la voie orale devient difficile ou impossible à maintenir en raisons de dysphagie ou trouble de la déglutition, de nausées et vomissements, etc.
 - o Lorsque la Voie transdermique est inadaptée (nombre important de patchs, état cutané augmentant le risque de décollement) ou contre-indiquée (risque de surdosage en cas de fièvre par augmentation de l'absorption transdermique)
- Effets indésirables ou douleurs non contrôlés après plusieurs essais avec des traitements opioïdes différents.
- Nécessité d'une titration rapide en cas de douleur intense.

2) Molécules et voie d'administration

a. Médicaments

Tous les opiacés sous forme injectable (morphine, oxycodone, fentanyl, etc.) peuvent être employés lors d'une PCA. La morphine est recommandée en première intention ^{[1][10]}. D'autres molécules peuvent être prescrites en association à la morphine (kétamine, midazolam,...) ^[16], mais il n'est pas recommandé de mélanger plusieurs molécules dans un même réservoir de PCA ^[1], d'autant plus que cela peut-être problématique en cas d'administration de bolus au fil du temps et d'adaptation de dose.

b. Voies d'administration

La voie IV et la voie SC sont les voies d'administration les plus couramment utilisées. D'autres voies d'administration sont possibles : voie intrathécale ou voie épidurale. On parle alors, pour cette dernière d'analgésie péridurale contrôlée par le patient (PCEA).

3) La prescription

a. Traitement relais

La prescription d'une PCA en relais d'un traitement morphinique déjà en place par voie orale, transdermique ou parentérale est faite par le médecin qui a posé l'indication de la pompe. Par l'intermédiaire de tables d'équi-analgésie des opioïdes forts ^[17] (tableau II), le médecin convertit la dose sur 24h du traitement morphinique reçu par le patient (en per os ou transdermique) en équivalent de morphine orale par 24h ^[18] puis en équivalent de morphine parentérale SC ou IV selon la voie d'administration utilisée pour la PCA.

Tableau II : Coefficient de conversion des principaux opioïdes par voie orale et transdermique

Opioïde Fort (DCI)	Voie	Coefficient	Estimation de la dose de morphine orale
Morphine	PO, SC, IV	1	1mg morphine orale = 1/2mg morphine SC = 1/3mg morphine IV
Oxycodone	PO	2	30mg d'oxycodone = 60mg de morphine orale
Hydromorphone	PO	7,5	8mg d'hydromorphone = 60mg de morphine orale
Fentanyl (patch)	Transdermique	100	25µg/h de fentanyl transdermique tous les 3 jours = 60mg de morphine orale/24h

b. Traitement initial

La prescription d'une PCA chez un patient naïf de traitement par opioïdes forts (palier III selon l'OMS) est possible en cancérologie en cas de douleur intense ou très intense.

La PCA est ici réservée au milieu hospitalier en raison de la nécessité d'une surveillance quasi permanente du patient dans les premières heures pour évaluer la tolérance, la survenue d'effets indésirables ou de surdosage potentiellement dangereux. Il sera nécessaire dans un premier temps de réaliser une titration pour déterminer la dose totale de morphine nécessaire au soulagement du patient. Puis dans un second temps, il pourra être instauré une perfusion continue de morphine par l'intermédiaire de la pompe.

4) Matériel

a. Présentation

Le système PCA, présenté ici, est la pompe électronique portable « Rythmic Plus » de chez Micrel Medical Devices (figure 2). L'HAD a retenu cette pompe parmi plusieurs références en raison de son autonomie satisfaisante (plus de 7 jours), de son faible encombrement et poids (moins de 300g à vide et moins de 500g avec la poche) et de ses sets d'infusion (poche et tubulure) garantis sans phtalate de type DHEP. Les caractéristiques des principales pompes disponibles sur le marché sont présentées dans le tableau III.

Tableau III : Tableau comparatif des principales pompes à analgésie autocontrôlée disponibles au 1^{er} Juin 2014 en France.

POMPE		Rythmic Plus®	Pega®	CADD Legacy®	Gemstar®
FABRICANT		MICREL MEDICAL SERVICE (UK)	VENNER MEDICAL (SUISSE)	SMITHS MEDICAL (UK)	ABBOTT (USA)
MECANISME DE LA POMPE		Péristaltique linéaire	Péristaltique linéaire	Péristaltique linéaire	Volumétrique entraîné par piston
PRECISION		± 5%	± 5%	± 6%	± 5%
ALIMENTATION	Secteur	OUI	NON	OUI	OUI
	Piles	2 x 1,5 V type AA	2 x 1,5 V type AA	2 x 1,5 V type AA	2 x 1,5 V type AA
	Autonomie	7 jours à 2ml/h	3,5 jours à 10ml/h	7 jours à 2ml/h	4 jours maximum
PROTECTION MECANIQUE		Boîtier en ABS transparent	Boîtier en ABS anti-UV protection UV	Boîtier en ABS opaque protection UV	Boîtier en Aluminium protection UV et Protection électromagnétique
ENCOMBREMENT	Poids à vide (avec piles)	290g	180g	392g	480g
	Dimensions en cm	13 x 13 x 4,6	8,7 x 6,4 x 3,3	11,2 x 9,5 x 4,1	14 x 9,7 x 5,1
CONSOMMABLES	Tubulure				
	Référence	KM1.EE.100X (set)	15 055 / 15 105 15 155 / 15 305 (set)	21-1200	13760-28 (set)
	Plastifiants	Sans DEHP	Sans DEHP	Avec TOTM, DEHP, BBP, DBP	Sans DEHP
	Réservoir				
	Référence	KM1.EE.100X (set)	15 055 / 15 105 15 155 / 15 305 (set)	21-7300 / 21-7301 / 21-7302	13760-28 (set)
Plastifiants	Sans DEHP	avec DEHP	Avec DEHP, BBP, DBP	Avec DEHP	

Plastifiants (Légende) : TOTM: Triocetyltrimellitate, DHEP: Di-(2EthylHexyl)-Phtalate, BBP: BenzylButylPhtalate, DBP: DibutylPhtalate

Il est à noter que seule la pompe CADD legacy® possède une alarme de détection de bulle d'air. Les pompes Rythmic Plus® et Pega® compensent cette absence par la présence systématique d'un filtre éliminateur d'air (filtre 0,22 µm) sur toutes les références disponibles de tubulure. Il est plus avantageux de disposer d'un filtre car on s'affranchit ainsi du risque de bulle d'air.

La PCA est contrôlée par un microprocesseur qui comprend :

- Un boîtier avec le microprocesseur, un écran de lecture et un clavier de programmation
- Un réservoir sécurisé en ABS, et non photoprotecteur qui va contenir la poche souple contenant la solution de morphine et dont l'autonomie est adaptée à la posologie
- Un bouton poussoir pour déclencher les bolus.



Figure 2 : Eléments du système PCA (Rythmic Plus de chez Micrel Medical Devices)

Le boîtier électronique permet d'enregistrer les paramètres suivants (définis en **annexe 2**) :

- La concentration de la solution de morphine en mg/ml,
- Le débit de perfusion continue (appelé aussi débit de base) en mg/h,
- La dose bolus en mg,
- La période réfractaire en h (ou min),
- Le bolus médecin en mg
- Et également la dose limite, le bolus limite ainsi que la dose de charge si ces derniers sont précisés sur l'ordonnance.

Le set d'infusion (figure 3) fait partie des consommables. Il est constitué des éléments suivants :

- Une poche souple de 160 ml en polychlorure de vinyle (PVC) sans Phtalate de type DEHP, munie d'un site de remplissage de type embout femelle Luer-Lock en PVC rigide obturable au moyen d'un bouchon femelle en polyéthylène (PE).
- Une tubulure clampable en PVC sans DEHP
- et comporte :
 - o un corps de pompe en silicone
 - o un filtre éliminateur d'air, filtre 0,22 µm
 - o une valve terminale anti-écoulement et anti retour.

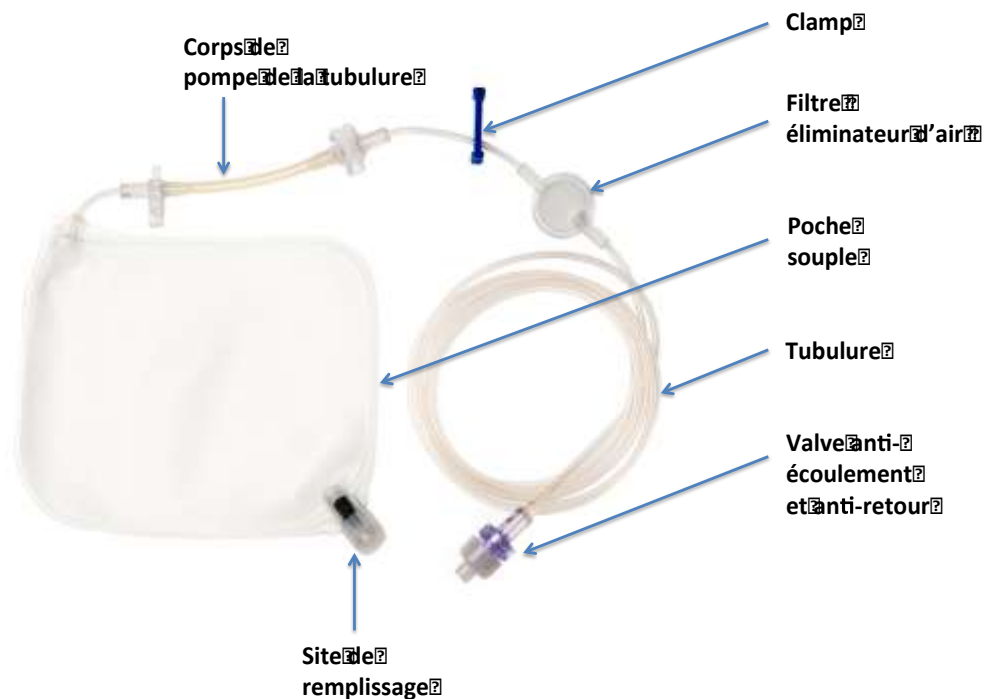


Figure 3 : Description du set d'infusion pour pompe Rythmic Plus

Les spécificités complètes de la référence du set d'infusion utilisé sont résumées en **annexe 3**. Ce type de système PCA portatif est aussi bien retrouvé au domicile qu'à l'hôpital. En parallèle de ce système, il en existe d'autres similaires qui peuvent être munis d'une cassette contenant elle-même une poche. Toutes les poches disponibles (en cassette ou non) sur le marché ainsi que toutes les tubulures associées sont en PVC. Il y a également des PCA à usage exclusivement hospitalier : les PCA avec un pousse seringue électrique.

b. Utilisation

La programmation d'une PCA est de la responsabilité infirmière, d'après les articles R4311-2, R4311-5, R4311-8 du CSP, et suit la prescription médicale.

Les modalités de préparation sont les mêmes que celle requise pour la préparation de toute perfusion intraveineuse et requièrent des conditions d'asepsie rigoureuses.

La PCA peut être disposée dans une housse de transport (fournie) pour permettre au patient de se déplacer aisément (cette housse pouvant se fixer à une ceinture ou être mise en bandoulière) et de la maintenir à l'abri de la lumière.

La pompe dispose généralement d'alarmes pour prévenir l'utilisateur en cas d'incident ou de fin de perfusion. En alarme, la perfusion s'arrête, un signal sonore retentit et un message décrivant la cause de l'alarme s'affiche à l'écran (ex : occlusion, pile déchargée, fin de perfusion, etc.).

5) En pratique

Dans le contexte des douleurs chroniques liées à des pathologies cancéreuses, la posologie initiale quotidienne de morphine par voie intraveineuse chez un patient n'ayant pas eu au préalable de traitement opiacé par voie orale est de 0,3 mg/kg/j (correspondant en moyenne à 20 mg/j chez l'adulte) d'après le RCP ^[19] et d'après ce qui est généralisé en thérapeutique en France ^[20] mais aussi dans d'autres pays ^[21]

La dilution peut-être réalisée dans du NaCl 0,9% ou du Glucose 5%. Dans la pratique, elle est réalisée presque exclusivement dans du NaCl 0,9% pour limiter la pousse bactérienne. Toute préparation réalisée sur une paillasse dédiée à cet effet doit être faite et administrée extemporanément. La durée de stabilité sera conforme aux RCP du médicament ou à défaut de 24h si rien n'est précisé.

L'autonomie d'une PCA est fonction de la consommation de morphine. Elle peut être importante et dépasser théoriquement 7 jours grâce aux ampoules fortement dosées (présentées en **annexe 4**). Cependant, d'après «les standards, options et recommandations 2002 sur les traitements antalgiques médicamenteux des douleurs cancéreuses par excès de nociception chez l'adulte ^[22] » de la fédération nationale des centres de lutte contre le cancer (FNLCC), il faut également tenir compte du changement des aiguilles, soit tous les 3 à 5 jours pour la voie SC et tous les 7 jours pour la voie IV, ainsi que du changement de la poche dans le réservoir, tous les 7 jours pour limiter le risque infectieux.

C. Limites et objectifs

La technique PCA est de plus en plus utilisée que ce soit en milieu hospitalier dans les services concernés ou à domicile dans le cadre ou non d'une HAD. Ces patients pour la majorité dans une phase palliative de leur maladie nécessitent des doses journalières importantes de chlorhydrate de morphine. A raison d'une posologie de 0.3 mg/kg/jour, soit 20 mg/jour en moyenne de chlorhydrate de morphine, la PCA mise en place doit permettre une administration de plusieurs jours chez ces patients. En l'occurrence nous utilisons dans le cas présent des poches en PVC sans Phtalate de type DEHP de 150ml (Micrel Medical Devices) remplies d'une solution de chlorhydrate de morphine à une concentration classique de 1 mg/ml ^[1] ^[10] ^[11] permettant une durée d'administration moyenne en IV de 7 jours. La tubulure est en PVC sans Phtalate de type DEHP sur toute sa longueur à l'exception du corps de pompe qui est en silicone.

Il existe chez d'autres fabricants (Smiths, Pegasus GMBH) des poches de 300 ml qui permettrait à cette concentration d'avoir théoriquement une durée de conservation d'environ 15 jours, sous réserve de stabilité physico-chimique et microbiologique avérée et validée. Mais au préalable, il faut pouvoir s'assurer de la stabilité de la morphine, d'un point de vue physico-chimique et aussi d'un point de vue microbiologique dans ces poches en PVC.

Les renseignements fournis par les laboratoires pharmaceutiques ^[18] sont insuffisants car ils ne sont pas en adéquation avec l'utilisation de la morphine en routine dans les systèmes PCA. La littérature fait mention d'études de stabilité physico-chimiques ^[23-27] et pour certaines également microbiologiques ^[28-30] dans des matériaux en PVC, en polypropylène et en verre et réalisées dans des conditions d'asepsie. Ces études, résumées dans le tableau IV, citent le recours à une hotte à flux d'air laminaire pour la préparation des solutions stériles de morphine.

Tableau IV : Stabilité physico-chimique et microbiologique du chlorhydrate de Morphine au travers de la littérature

	Auteurs/ Année/ Revue	Concentration étudiée (mg/ml)	Solvant de dilution	Contenant	Conditions de préparation	Conditions de conservation	Technique d'analyse	Durée de conservation retenue
Stabilité Physicochimique	ROOS, GLERUM, MEILINK, [17] 1992. Pharm Weekbl sci.	0,5 - 1,5 - 2,5	NaCl 0,9%	Poche en PVC (100 ml)	<u>Préparation Aseptique</u> (non précisée)	32°C pendant 60 jours	CLHP (C8: 100 x 3 mm)	32°C pendant 60 jours
	TRUELLE-HUGON, TOURETTE, COUINEAUX et al. [18] 1997. Annales pharmaceutiques françaises.	1 - 5 - 10 - 20	NaCl 0,9% et Glucose 5%	Poches en PVC (50 ml et 80 ml) Seringues en polypropylène (60ml)	<u>Préparation Aseptique</u> Hotte à flux d'air laminaire + Filtration (Filtre 0,22 µm)	37°C pendant 14 jours (poches) et 2 jours (seringues) À l'abri de la lumière	CLHP (C18: 250 x 4,6 mm - 5 µm)	14 jours (poches) et 2 jours (seringues) à 37°C À l'abri de la lumière
	VERMEIRE, REMON. [19] 1996. International journal of pharmaceuticals.	10 - 20 - 30 - 40 - 50	NaCl 0,9% et Dextrose 5%	Verre borosilicaté Seringue en polypropylène Poches en PVC	Non précisées	4°C, 22°C et 40°C pendant 90 jours À l'abri de la lumière	CLHP (C18: 250 x 4,6 mm - 5 µm)	1 mois à 22°C dans la poche en PVC (NaCl 0,9% ou Dextrose 5%) À l'abri de la lumière
	LE HOANG, SARBACH, PROGNON et al. [20] 1998. Journal de pharmacie clinique.	2	NaCl 0,9%	Flacons en verre de type II (50 ml) Seringues en polypropylène (60 ml)	<u>Préparation Aseptique</u> Hotte à flux d'air laminaire + Filtration des ampoules avant dilution (filtre 0,22 µm)	25°C et 40°C pendant 8 jours	CLHP (C18: 150 x 4,6mm - 3,5 µm)	6 jours à 25°C et à 40°C
	HECQ, GODET, GILLET et al. [21] 2014. International journal of pharmaceutical compounding.	1	NaCl 0,9%	Poche en polyoléfin (100 ml) Seringues en polypropylène (100 ml)	<u>Préparation Aseptique</u> (non précisée)	5°C +/- 3°C pendant 58 jours pour les solutions en seringue et pour les solutions en poche polyoléfin. Certaines poches ont été préalablement décongelées par microondes (poches initialement congelées)	CLHP (C18: 150 x 4,6 mm - 5 µm)	14 jours à 5°C +/- 3°C (en raison du risque microbiologique)
Stabilité Physicochimique et Microbiologique	OUSTRIC-MENDES, HUART, LE HOANG et al. [22] 1997. Journal of clinical pharmacy and therapeutics.	2,5 - 5	NaCl 0,9% avec et sans conservateur (metabisulfite)	Infuseur de 60 ml (matériau non précisé)	<u>Préparation Aseptique</u> Hotte à flux d'air laminaire + Filtration des ampoules avant dilution (filtre 0,22 µm)	Température ambiante pendant 30 jours avec lumière ou à l'abri de la lumière	CLHP (C18: 75 x 4,6 mm - 5 µm)	30 jours à température ambiante (d'un point de vue physicochimique quelque soit la concentration initiale) À l'abri de la lumière
	LAVILLE, MERCIER, CHACHATY, et al. [23] 2004. Pathologie Biologie.	1 - 40	NaCl 0,9%	Poche en PVC (100 ml)	<u>Préparation Aseptique</u> Hotte à flux d'air laminaire	Température ambiante pendant 30 jours À l'abri de la lumière	CLHP (C18: 250 x 4 mm - 5 µm)	21 jours à température ambiante À l'abri de la lumière
	D'HAYER, VIEILLARD, ASTIER, PAUL. [24] 2013. Pharmaceutica analytica acta.	0,33	NaCl 0,9%	seringues en polypropylène (de 3 ml)	<u>Préparation Aseptique</u> Hotte à flux d'air laminaire	5°C, 22°C et 40°C pendant 2 ans les seringues ayant été scellées à la fin de la préparation et analysées au bout de 2 ans	CLHP (C18: 250 x 4,6 mm - 5 µm)	2 ans (physico-chimique et microbiologique) à 5°C et 22°C À l'abri de la lumière

L'ensemble des études démontrent une grande stabilité de la morphine pour une durée supérieure à 7 jours dans le cas d'une conservation à température ambiante et dans l'obscurité et ce pour des concentrations initiales allant de 0.33 mg/ml à 50 mg/ml dans divers contenants.

Parmi les moyens à disposition pour obtenir une préparation stérile, il est possible de recourir au procédé de préparation aseptique, applicable en pharmacie à usage intérieur ; ainsi l'emploi de hottes à flux d'air laminaires ou d'isolateurs positionnés dans des zones d'atmosphère contrôlées (ZAC) permet la réalisation de préparations stériles ^[31], dans des pharmacies à usage intérieur, si l'environnement des bonnes pratiques de préparation (BPP) est respecté.

A l'inverse, la plupart des services des centres hospitaliers ne disposent pas de hotte à flux d'air laminaire et reconstituent les médicaments injectables de manière extemporanée, sur des paillasse dédiées à cet effet en respectant un protocole d'asepsie des surfaces et reconstitution et dilution (propre à chaque centre) et en utilisant des dispositifs médicaux (DM) à usage unique. La majorité des patients relevant de la prescription de PCA sont issus de ces services ou du domicile.

On peut alors se demander quelle serait la stabilité de cette molécule dans le cadre d'une préparation à l'hôpital ou à domicile dans des zones d'atmosphère non contrôlée, et non pourvues de hotte.

Truelle ^[24], Le Hoang ^[25], Oustric-Mendes ^[28], utilisent également un filtre 0,22 µm avant de réaliser la dilution de la morphine pour prévenir une éventuelle contamination microbiologique et particulaire suite à l'ouverture de l'ampoule. La présence d'un filtre 0,22 µm au niveau du set d'infusion nous dispensera de réaliser la même manipulation.

Nous n'évaluerons que la stabilité physico-chimique, par faute de moyens disponibles (humains et matériels) concernant l'aspect microbiologique. Par ailleurs la maîtrise du risque microbiologique est spécifique d'une structure (locaux, écologie bactérienne locale,...) et des résultats dans une structure ne peuvent pas être transposés et généralisés en l'état à une autre structure ; ils doivent être validés.

Dans la Pharmacopée Européenne, l'identification de la morphine est réalisée par une méthode colorimétrique et le dosage grâce à une titration par l'acide perchlorique ^[32].

La méthode de dosage de la Pharmacopée est beaucoup moins sensible que la technique séparative de type chromatographie liquide haute performance (CLHP) sur laquelle se basent les différentes études de la littérature (tableau II).

L'étude de stabilité de solutions de chlorhydrate de morphine sera réalisée au sein du laboratoire de contrôle de la Pharmacie centrale du CHRU de Lille. Il est équipé d'un système chromatographique utilisé en routine pour le contrôle des matières premières à usage pharmaceutique.

Les PCA de l'étude de stabilité seront fabriquées par le service d'HAD du CHRU de Lille et elles seront analysées grâce à la CLHP du laboratoire de contrôle. L'objectif de ce travail est dans un premier temps de valider une méthode analytique « indicatrice de stabilité », c'est-à-dire capable de distinguer le principe actif de ses produits de dégradation formés durant l'étude de stabilité dans des conditions de stockage définies. La méthode ainsi validée sera capable de fournir un résultat aussi exact que possible pour chaque échantillon inconnu de morphine à venir. Puis dans un second temps il y aura évaluation de la stabilité physico-chimique au cours du temps (sur 21 jours) et à température ambiante de la solution de morphine dans les systèmes PCA. Cette étude vise à valider cette pratique des services et à proposer une alternative future pour une prise en charge standardisée de cette préparation par la pharmacie dans des conditions d'atmosphère contrôlée.

I. MATERIEL ET METHODES

A. Matériel

1) Technique séparative

La stabilité de la Morphine est étudiée par une technique séparative constituée par un système pour chromatographie liquide haute performance (CLHP), en phase inverse, avec les éléments suivants :

- Un système de contrôle CBM-20A (Shimizu, Marne-la-Vallée, France) qui met en relation la pompe l'injecteur et le détecteur
- Une pompe LC-20AD prominence (Shimadzu, Marne-la-Vallée, France) fonctionnant en mode isocratique à 0,9ml/min
- Une vanne d'injection de type Rheodyne® munie d'un injecteur manuel d'échantillon avec une boucle d'injection de 20 μ
- Un détecteur UV-Visible series 200 (Perkin Elmer, Courtaboeuf, France) dont la longueur d'onde d'analyse sera fixée à 280 nm.
- Une colonne chromatographique (Shimadzu, Marne-la-Vallée, France).de type C18 ; silice de 4 μ . de diamètre ; avec un diamètre interne de 3,9 mm et une longueur de 300 mm.

Le four à colonne qui permettrait de maintenir constante la température de la colonne chromatographique est absent dans cette étude de stabilité.

Ce système est piloté par le logiciel LabSolutions (Shimadzu, Marne-la-Vallée, France) permettant l'acquisition et le traitement de données, à savoir l'intégration des aires.

2) Matériel annexe

Le matériel de laboratoire nécessaire pour la mise en œuvre de l'étude est le suivant :

- Une hotte aspirante
- Une balance de précision 120A (de Precisa, Poissy, France).
- Un agitateur Bioblock AM3001 (de Fisher Scientific, Illkirch, France).
- Un pHmètre HI 223 (de Hanna Instruments, Tanneries, France).
- Du matériel pour filtration Büchner.
- Des filtres nitrocellulose 0,22 μ m (de Millipore, Alsace, France) ; 47 mm de diamètre type white.

- Une cuve à ultrasons Laborette 17 (de Fritsch, Idar-Oberstein, Allemagne).
- Du matériel de laboratoire : fioles jaugées et béchers (Pyrex[®]), tubes à essais, éprouvette graduée, spatule, micro pipette,...

3) Réactifs et consommables

La phase mobile ^{[32] [33]} est constituée d'un mélange (10 ; 90 v/v) acétonitrile (ACN) et d'un tampon acétate 0,008 M tamponné à pH 3,4 avec de l'acide acétique glacial.

L'eau ultrapure utilisée pour la préparation du tampon et la préparation de la solution d'étalon Interne (EI) provient de flacon d'eau Versylène[®] (lot 13HEP271 péremption 27/01/17) de 1000 ml du laboratoire Fresenius (Sèvres, France).

La préparation des solutions de contrôles qualité (QC) nécessitent des poches de NaCl 0,9% Viaflo de 250 ml (lot 14D14G60 ; péremption 03/16) du laboratoire Baxter (Maurepas, France).

Tous les réactifs utilisés sont de qualité analytique ou pour chromatographie et sont résumés dans le tableau V et qui regroupe également les Matière première à usage pharmaceutique (MPUP) et les spécialités utilisées lors de l'étude de stabilité.

Tableau V : Matières premières à usage pharmaceutique et réactifs

Produit	Type	Présentation	Informations
Morphine Chlorhydrate	MPUP	Poudre	Lot: D306S/2 Date de péremption: 06/15 Laboratoire: FAGRON
Céfuroxime de Sodium	MPUP	Poudre (Conservation entre +4°C et +8°C)	Lot: 59H1048 Date de péremption: / Laboratoire: SIGMA
Morphine Chlorhydrate 50mg/5ml	Spécialité pharmaceutique	Solution (ampoules de 5 ml)	Lot: 4A057 Date de péremption: 02/17 Laboratoire: AGUETTANT
Eau PPI (Versylène [®])	Réactif	Solution (Flacons de 1000 ml)	Lot: 13HEP271 Date de péremption: 27/01/17 Laboratoire: FRESENIUS
Chlorure de Sodium 0,9% Viaflo [®]	Réactif	Solution (Poche 250 ml)	Lot: 14D14G60 Date de péremption: 03/16 Laboratoire: BAXTER
Méthanol (LiChrosolv grade gradient)	Réactif	Solution	Lot: I731007411 Date de péremption: 31/03/17 Laboratoire: MERCK
Acétonitrile (ACN) (HPLC-R)	Réactif	Solution	Lot: 956151 Date de péremption: 31/07/ 17 Laboratoire: BIOSOLVE
Acide acétique glacial	Réactif	Solution	Lot: P2C042162D Date de péremption: 04/18 Laboratoire: CARLO ERBA
Acétate de Sodium	Réactif	Poudre	Lot: 82196 Date de péremption: 11/15 Laboratoire: SCHARLAU

L'étude de stabilité sera réalisée à partir d'ampoules de 5ml de **Chlorhydrate de Morphine** Aguettant (Lyon, France) à 10 mg/ml. Les différentes spécialités utilisables en pompe PCA dans les douleurs chroniques de l'adulte sont résumées en **annexe 4**.

La spécialité qui sera utilisée ne contient pas de conservateur. On retrouve parmi les excipients du chlorure de sodium à hauteur de 7,5mg/ml comme isotonisant et de l'eau pour préparation injectable (Eau PPI) comme véhicule.

Le Céfuroxime de Sodium sera utilisé en tant qu'étalon interne (EI).

Les formules moléculaires du chlorhydrate de Morphine et du Céfuroxime de Sodium sont détaillées en **annexe 5**.

4) Système PCA

L'étude nécessite quatre pompes à perfusion Rythmic™Plus (Micrel Medical Devices, Vence, France) ainsi que quatre sets à infusion (référence KM1.EE.100.X, Micrel Medical Devices, Vence, France) pour permettre d'étudier la stabilité de 4 solutions distinctes de morphine. Ces dispositifs ont été prêtés gracieusement dans le cadre de cette étude par le laboratoire.

B. Méthode

Préalablement à l'étude de stabilité, il est nécessaire de valider la méthode analytique de dosage dite « indicatrice de stabilité », c'est à dire permettant la détection et la quantification de la morphine et de la distinguer d'éventuels produits de dégradation. Cette étape de validation sera analysée conformément à deux méthodologies reconnues : l'analyse des variances (ANOVA) et le profil d'exactitude [34] [35] de la Société Française des Sciences et Techniques Pharmaceutiques (SFSTP).

1) Analyses préliminaires

Lors de la réalisation d'une courbe d'étalonnage, il est fréquent que la réponse du détecteur ne soit pas parfaitement proportionnelle à la concentration de l'analyte cible, sur la gamme de concentration choisie. L'étalonnage interne permet de corriger cet écart à la linéarité. Ce dernier est introduit à une concentration connue dans les solutions étalon et dans l'échantillon à analyser.

a. Choix d'un étalon interne (EI)

Les éventuelles variations d'intensité dans la détection de l'analyte (résultant de causes diverses : instrumentales, thermiques,...) seront également observées avec l'EI. En travaillant avec le rapport des deux signaux (analyte et EI), il est alors possible de s'affranchir de ces variations.

Le choix de l'EI doit se faire en prenant en compte plusieurs considérations :

- Il doit avoir des propriétés physico-chimiques proches de la morphine (structure chimique, masse moléculaire,...).
- Il doit, lors de l'analyse, avoir un temps de rétention suffisamment éloigné de celui de la morphine pour éviter la superposition des pics respectifs sur le chromatogramme.

Concernant les temps de rétention de l'EI et de l'analyte, il sera retenu un facteur de résolution (R_f) $\geq 2,5$ se traduisant par un espacement suffisant des pics permettant leur quantification ^[36]. En effet, la bonne séparation de deux substances avec un retour à la ligne de bas entre les deux pics est obtenu dès que $R_f \geq 1,5$ ce qui suppose d'avoir des pics parfaitement symétriques. En choisissant la valeur de 2,5 comme seuil, nous nous affranchissons de l'asymétrie des pics et du phénomène de traînée qui retarde le retour à la ligne de base.

Le logiciel Labsolution calcule le R_f selon l'United State Pharmacopeia (USP) standard ^[37] : c'est à dire via la mesure de la largeur des pics à mi-hauteur. D'un point de vue pratique, il est plus simple de mesurer la largeur à mi-hauteur du pic que de mesurer la largeur à la base.

Le calcul du R_f est repris dans l'équation suivante ^[36] :

$$R_f = \frac{2 \times (t_2 - t_1)}{1,7 \times (W_{0,5,1} - W_{0,5,2})}$$

t_1 et t_2 sont les temps de rétention des deux pics d'intérêt.

$W_{0,5,1}$ et $W_{0,5,2}$ représentent la largeur des pics mesurés à mi-hauteur.

Théoriquement les pics sont censés avoir une allure gaussienne. Dans la réalité, on observe généralement une asymétrie des pics obtenus. Cette asymétrie peut être étudié par l'intermédiaire du facteur d'asymétrie.

Le facteur d'asymétrie du pic « f » est défini comme étant le rapport entre la largeur du pic au vingtième de sa hauteur ($W_{0,05}$) et deux fois la distance entre la perpendiculaire abaissée du maximum du pic et le bord d'entrée au vingtième de sa hauteur ^[38]

$$f = \frac{W_{0,05}}{2A}$$

Avec $W_{0,05}$ qui correspond à la largeur du pic au vingtième de sa hauteur (en min).

A qui représente la distance entre la perpendiculaire abaissée du sommet du pic et le bord d'entrée au vingtième de sa hauteur (en minutes).

D'après la Pharmacopée Européenne, il doit être compris entre 0,8 et 1,2. Si c'est le cas, le pic est dit symétrique. Dans le cas contraire, si « f » est inférieur à 0,8, on dit qu'il présente une trainée d'entrée. Si « f » est supérieur à 1,2, il présente une trainée de sortie (appelée aussi queue) ^[38].

Plusieurs essais de recherche d'EI ont été réalisés (avec la dopamine, la noradrénaline, l'adrénaline, la phényléphrine, l'atropine, la théophylline) mais il y avait systématiquement le recouvrement du pic avec celui de la morphine. Seul le céfuroxime a permis d'obtenir un Rf suffisant. Le céfuroxime a donc été retenu comme étalon interne (**annexe 5**).

b. Mesure des spectres UV visibles des substances d'intérêt

Une analyse spectrale de la morphine et du céfuroxime a été réalisée sur un spectrophotomètre Uvikon 930 (de Kontron Instruments, Montigny Le Bretonneux, France) afin de déterminer les conditions optimales de détection UV en chromatographie.

2) Essais de dégradation forcée

Les produits de dégradation de la morphine n'étant pas disponibles au laboratoire, il a été réalisé des essais de dégradation forcée conformément au Guide méthodologiques des études de stabilité des préparations SFPC-GERPAC ^[39].

La dégradation forcée est effectuée sur le même lot que celui utilisé pour l'étude de stabilité et son but est d'obtenir des produits de dégradation en détruisant 20% de la molécule (et non pas la totalité) et de les mettre en évidence. Les produits de dégradation ne doivent donc pas être co-élués avec la morphine.

Les produits de dégradation connus sont principalement la pseudomorphine, la morphine-N-oxyde, et très minoritairement le chlorhydrate d'apomorphine ^[40] (figure 4).

Ces réactions que ce soit d'hydrolyse pour former l'apomorphine impliquant une molécule d'eau ou d'oxydation pour donner la morphine-N-oxyde avec une molécule d'O₂ ou encore de condensation avec la pseudomorphine n'ont lieu que dans la solution. Ils ne sont pas retrouvés en tant que métabolites de la morphine chez l'homme.

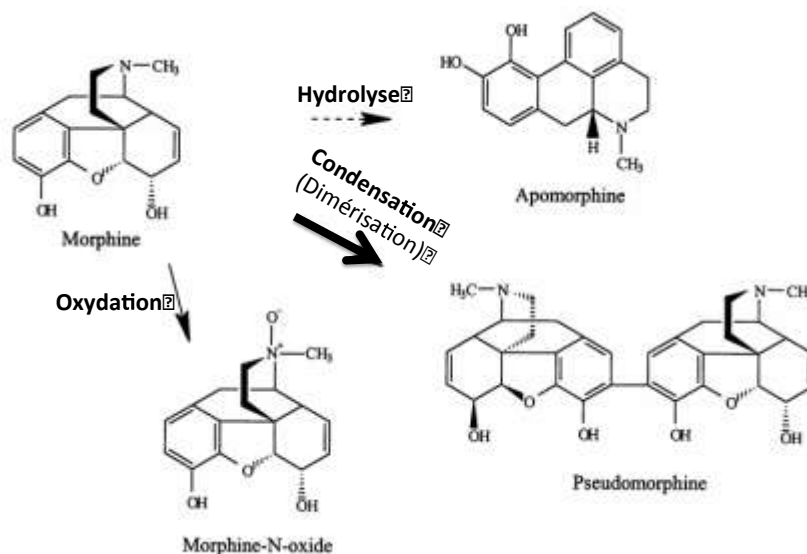


Figure 4 : Principaux produits de dégradation du Chlorhydrate de Morphine

La pseudomorphine reste le principal composé de dégradation (plus de 90%) ^[41]. D'un point de vue pharmacocinétique et pharmacodynamique, elle ne traverse pas la barrière hémato-encéphalique à l'inverse de la morphine. Elle a donc très peu d'effet sur le système nerveux central ^[42] Il faut souligner qu'elle ne possède pas d'activité antagoniste vis à vis de la morphine ^[43]. D'un point de vue toxicologique, Il n'existe pas de données chez l'homme ^[44].

D'un point de vue pharmacodynamique, la morphine-N-oxyde exerce une activité similaire à la morphine. Il n'existe cependant pas de données sur ses effets pharmacologiques et toxicologiques chez l'homme ^[44].

L'apomorphine est un agoniste dopaminergique qui permet de traiter des fluctuations motrices invalidantes (phénomène 'on-off') chez les patients atteints de la maladie de Parkinson. Les données précliniques n'ont révélé aucun risque particulier pour l'homme d'après les études standard de pharmacologie, de toxicité par administration répétée, de génotoxicité et du potentiel carcinogène ^[45].

Théoriquement pour dégrader une molécule, plusieurs concentrations en acide et en base sont utilisées.

Cependant, le chlorhydrate de morphine étant connu comme stable à pH acide ^[40] ^[41], la dégradation a été menée à pH alcalin.

Une solution à 200 µg/ml correspondant à 4 fois la concentration du milieu de gamme a été réalisée. La dégradation forcée a consisté à soumettre cette solution à deux concentrations en soude (NaOH 0,1N et 1N soit respectivement pH = 13 et pH = 14) pendant 1 à 6h à +80°C puis de neutraliser avec l'acide correspondant (HCl 0,1N et 1N soit respectivement pH = 1 et pH = 0).

Le protocole de réalisation de cette dégradation est détaillé en **annexe 6**.

Il sera nécessaire d'observer les produits de dégradation distinctement de la morphine, c'est-à-dire non co-élués. Dans le cas où les produits de dégradation de la morphine ne donneraient pas de pic, il sera indispensable de vérifier dans l'étude de dégradation forcée tout comme dans l'étude de stabilité que le facteur d'asymétrie du pic de la morphine reste inchangé, témoignant qu'il n'y a pas co-élution avec un ou plusieurs produits de dégradation.

3) Validation analytique de la méthode

a. Conditions chromatographiques

Les conditions chromatographiques retenues seront les suivantes :

- Débit d'élution : 0,9mL/min
- Température de la colonne : ambiante (non thermostatée)
- Longueur d'onde de détection: 280nm (cf. Résultats)
- Volume de la boucle d'injection : 20 µl
- Temps d'analyse 20 min

Travailler avec un débit d'élution de 0,9mL/min, se traduisant par une pression au niveau de la colonne de 194 bar, a permis d'optimiser le temps d'analyse. Ce dernier est de 20 min. Un débit d'élution supérieur serait néfaste pour la colonne et risquerait de l'endommager.

b. Courbe d'étalonnage et détermination de la concentration test

La courbe d'étalonnage a été établie en étudiant différentes séries de concentration d'une solution étalon de morphine (préparée à partir de la spécialité de Chlorhydrate de Morphine Aguettant (Lyon, France)).

Les concentrations de la gamme d'étalonnage ont été choisies en déterminant la limite de détection (LOD) et la limite de quantification (LOQ) selon le guide méthodologique ICH^[46] et d'après les équations suivantes :

$$\text{LOD} = \frac{3,3 \times \sigma}{\text{Pente}} \qquad \text{LOQ} = \frac{10 \times \sigma}{\text{Pente}}$$

Au numérateur, on retrouve le standard de déviation (σ). Il correspond à l'écart-type de l'amplitude (aussi appelée « bruit de fond ») de six blancs.

Le dénominateur correspond à la pente de la courbe d'étalonnage.

La connaissance des valeurs de LOD et de LOQ est nécessaire afin d'évaluer les performances de la méthode analytique et de vérifier sa capacité à quantifier la morphine et ses produits de dégradation à des seuils faibles.

La concentration minimale a été établie en testant une dilution croissante de solution étalon jusqu'à obtenir une concentration quantifiable avec une précision acceptable.

La concentration maximale a été fixée à dix fois la concentration minimale de façon à avoir une courbe de concentration suffisamment large.

La concentration test correspond à la concentration du milieu de la gamme d'étalonnage, ce qui correspond dans notre étude à 50 $\mu\text{g/ml}$.

L'EI a été fixé à une concentration de 5 $\mu\text{g/ml}$, cette concentration ayant permis d'obtenir un rapport de surface du pic EI avec la surface du pic de concentration test de morphine proche de 1.

c. Linéarité de la méthode

La linéarité d'une méthode est la capacité à obtenir, à l'intérieur d'un intervalle donné, des résultats directement proportionnels à la concentration de l'analyte dans l'échantillon^[39].

Une méthode est dite linéaire si elle suit l'équation suivante :

$$y = ax + b$$

Avec **x** représentant le signal

y : la variable concentration

a : la pente

b : l'ordonnée à l'origine

Le coefficient de corrélation R^2 doit être proche de 1

d. Plan expérimental de validation

Deux solutions mères seront réalisées et la validation de la méthode se fera sur 3 jours.

La première solution mère servira à réaliser la gamme d'étalonnage avec des points de gamme, appelés standards d'étalonnage (SE), compris entre 60% et 140% de la concentration nominale^[34].

La deuxième solution mère permettra la réalisation des contrôles qualité (Qc) qui sont déterminés entre les points de la gamme d'étalonnage.

La gamme d'étalonnage permettra de calculer l'équation de la droite d'étalonnage et donc la fonction de réponse et sa linéarité.

Les Qc seront utilisés pour valider la méthode en calculant les caractéristiques de validation. Par l'intermédiaire des Qc, il est possible de déterminer la fidélité et la justesse de la méthode.

- Les cinq standards d'étalonnage (SE) retenus pour la gamme d'étalonnage sont :

10, 30, 50, 70 et 90 µg/ml.

obtenus à partir d'une solution mère (S₁) à 100 µg/ml diluée dans du NaCl 0,9%.

- Les quatre concentrations retenues pour les contrôles qualité (Qc) sont :

18, 45, 63 et 81 µg/ml.

obtenus à partir d'une solution mère (S₂) à 90 µg/ml diluée dans du NaCl 0,9%.

Chaque jour, les SE la solution mère (S₁) seront analysés une fois et les Qc de la solution mère (S₂) seront analysés 3 fois.

L'analyse statistique des résultats de la validation est réalisée avec le logiciel Excel.

e. Profil d'exactitude

L'exactitude exprime l'étroitesse de l'accord entre la valeur moyenne obtenue à partir d'une série de résultats d'essais et une valeur théorique considérée comme vraie. Elle traduit l'erreur totale d'une méthode de dosages^[39]. L'erreur totale évalue l'aptitude de la méthode à produire des résultats exacts. Cette erreur totale étant la somme de la justesse (biais) et de la fidélité. Ces deux paramètres sont définis plus loin.

Elle est étudiée à partir des données obtenues lors de l'étude de la droite d'étalonnage. Elle est basée sur l'intervalle de tolérance^[47] de l'espérance β de l'erreur totale associée ici à un test en t de Student ($\beta = 95\%$).

L'espérance β représente la probabilité selon laquelle la différence entre la valeur rapportée Y et la valeur de référence T reste inférieur à une limite d'acceptation (un pourcentage) fixé à l'avance. Cela signifie que β représente la probabilité considérée acceptable (à 95%) que l'erreur sur les futures mesures réalisées, une fois la méthode validée, se situe en dessous de la limite d'acceptation fixée ^[48] d'après l'équation suivante :

$$\text{Prob}(|Y - T| < \lambda) \geq \beta$$

Avec Y : la valeur rapportée

λ : la limite d'acceptation

T : la valeur de référence

β : l'espérance

Les limites d'acceptation ont été fixées à +/- 10% d'une méthode analytique car la matrice n'est pas complexe.

L'exactitude prend en compte la justesse (biais absolu et relatif) et la fidélité intermédiaire

La justesse (ou biais) de la méthode analytique exprime l'étroitesse de l'accord entre la moyenne des résultats d'essai avec la méthode et la valeur de référence acceptée. Il est exprimé en valeur absolue (biais absolu) ou en pourcentage (biais relatif).

La fidélité exprime l'étroitesse de l'accord (coefficient de variation, degré de dispersion) entre une série de mesures provenant d'un même échantillon homogène (résultats d'essais indépendants) dans des conditions fixées ^[39]. La fidélité renseigne uniquement la distribution des erreurs aléatoires et ne donne pas d'informations sur la valeur spécifiée (ou vraie). La fidélité peut être évaluée à différents niveaux :

- La répétabilité concerne des résultats d'essais indépendants obtenus au sein d'un même laboratoire, avec une méthode d'analyse fixée, des échantillons d'essai identique, préparés par un même opérateur et analysés avec un même appareillage dans un laps de temps très courts.
- La fidélité intermédiaire concerne des résultats d'essais indépendants obtenus au sein d'un même laboratoire, avec une méthode d'analyse fixée et des échantillons d'essai identique. Les autres conditions opératoires peuvent être différentes : opérateurs, appareillage, délais entre les essais plus importants (jours différents).
- La reproductibilité concerne des résultats d'essais indépendants obtenus avec une méthode d'analyse fixée et des échantillons d'essai identique. Les autres conditions opératoires (opérateurs, appareillages, laboratoires) sont différentes.

f. Méthode d'analyse des Variances (ANOVA)

Comme citée précédemment, la méthode recherchée est une méthode linéaire de type $y = ax + b$. Le test d'adéquation au modèle, obtenu par l'analyse de la variance, est appliqué à la droite d'étalonnage et donc aux SE.

Cela permet de s'assurer que le modèle explique les valeurs observées, mais également que la réponse est proportionnelle à la quantité introduite sur toute la gamme considérée.

En résumé, le test consiste à vérifier que la part de la variance due à l'erreur de modèle n'est pas supérieure à la variance de l'erreur expérimentale et donc que la méthode est exacte.

En pratique, on compare à l'aide d'un test de Fisher-Snedecor la variance à l'intérieur des groupes (ou variance intra-groupes) à la variance entre les groupes (ou variance inter-groupes). Si la variance inter-groupes n'est pas significativement supérieure à la variance intra-groupes, les différentes moyennes sont déclarées globalement égales. L'homogénéité des variances est vérifiée préalablement par le test de Cochran :

La valeur du $C_{calculé}$ est comparée à la valeur C_{seuil} lue dans la table de Cochran pour un risque $\alpha = 5\%$.

- si $C_{calc} > C_{seuil}$ l'hypothèse H_0 est rejetée au risque d'erreur α : les deux échantillons sont extraits de deux populations ayant des variances statistiquement différentes.
- si $C_{calc} \leq C_{seuil}$ l'hypothèse H_0 est acceptée: les deux échantillons sont extraits de deux populations ayant même variance.

Si les variances sont homogènes, La régression linéaire peut alors être déterminée par l'analyse de la variance pour le modèle d'étalonnage :

Les règles de décision sont effectuées en deux étapes qui consiste à vérifier:

- si la régression est validée, c'est à dire si le modèle explique les données, pour cela, il faut que, $F_{obs} Expliqués > F(95 \%)$,
- si le modèle est linéaire, pour cela, $F_{obs} Non-linéarité < F(95 \%)$.

4) Modalités de préparation des systèmes PCA

La préparation des systèmes PCA de morphine est réalisée à l'HAD du CHRU de Lille sur une paillasse dédiée aux préparations. Elle respecte le protocole d'asepsie (désinfection des mains, du plan de travail, port de gants, utilisations de DM à usage unique) du service d'HAD du CHRU de Lille. Elle est préparée par une infirmière diplômée d'état (IDE), conformément au Décret du 29.07.2004 du CSP (relatif aux actes professionnels et à l'exercice de la profession infirmier).

Le protocole de préparation des systèmes PCA est présenté en **annexe 7**.

Pour la préparation d'une PCA dosée à 150 mg, l'IDE prélève 15ml, soit le contenu de 3 ampoules de 5 ml dosées à 50 mg de chlorhydrate de morphine, à l'aide d'une seringue en polypropylène de 60 ml munie d'une aiguille. Elle prélève ensuite avec la même seringue 35 ml de NaCl 0,9%. Elle injecte les 50 ml dans la poche de PCA au niveau du site de remplissage grâce à une connectique Luer-Lock. Puis elle prélève 50 ml de NaCl, puis de nouveau 50 ml afin de totaliser un volume de 150 ml dans la poche. Elle homogénéise la poche par retournement. L'air est retiré via la seringue. On obtient dans la poche une concentration de 1 mg/ml.

5) Réalisation des études de stabilité

En résumé, l'étude de stabilité physico-chimique est menée pour des solutions de chlorhydrate de morphine à 1 mg/ml dans 4 poches en PVC, conservées à température ambiante (dans le local des stupéfiants, soit à 22°C) et à l'abri de la lumière (dans la sacoche de transport fournie), soit des conditions similaires à celles observées dans les services de soins ou à domicile.

Des échantillons de 2 ml seront recueillis à l'extrémité de la tubulure du set d'infusion à J0 puis à J7, J14 et à J21 dans des conditions identiques à celles de la préparation des PCA, à savoir une paillasse désinfectée avec un désinfectant hospitalier en spray.

Chaque jour de dosage, la tubulure en PVC du set d'infusion sera purgée pour s'assurer que la solution provienne du contenu de la poche et non de celui de la tubulure.

Les solutions mères seront diluées au 1/20 pour permettre une analyse avec une fonction de réponse adaptée. Cela constituera notre concentration cible de 50 µg/ml pour le développement de la méthode et l'étude de stabilité. Les jours de dosage, des Qc seront dosés avant et après les solutions cibles.

La cohérence des valeurs de Qc obtenus garantissent la précision et la robustesse de la méthode analytique pour la détermination des solutions cibles.

L'évolution des concentrations en morphine est suivie au cours du temps sur 21 jours sur 4 solutions distinctes de morphine. Les dosages seront effectués à J0, J7, J14 et à J21. Parallèlement au dosage, il sera réalisé un examen visuel en vue de détecter tout changement de coloration ou toute apparition de précipité ainsi qu'une mesure du pH.

Au cours de ces dosages, le céfuroxime est utilisé comme EI.

Etant donné une courte stabilité physico-chimique à température ambiante de l'ordre de 24h ^[49] ^[50], la solution de céfuroxime est préparée extemporanément, lors de chaque jour de dosage et de la conserver à +4°C jusqu'à son utilisation.

Le céfuroxime est ajouté extemporanément aux solutions à doser ainsi qu'aux standards d'étalonnage (SE) et aux contrôles qualité (Qc).

6) Expression des résultats

Stabilité :

La stabilité physico-chimique est, d'après les recommandations de la Food and Drug Administration (FDA), l'aptitude d'un composé à conserver 90% de sa concentration initiale ^[51].

A J0, la concentration initiale est estimée à 100%. La concentration en morphine de J7 à J21 sera exprimée en pourcentage de cette concentration initiale (J0). Ce pourcentage moyen sera calculé ainsi que l'intervalle de confiance à 95% autour de cette moyenne.

Contrôle visuel :

Les changements de couleur ou apparition de précipités des solutions au cours du temps seront détaillés le cas échéant.

Variation de pH :

De la même façon, lors de chaque journée de dosage, le pH moyen ainsi que l'intervalle de confiance à 95% sera calculé à partir des pH mesurés à l'aide d'un pHmètre HI 223 (de Hanna Instruments, Tanneries, France).

Si les conditions suivantes sont réunies, à savoir un taux de morphine supérieur à 90% de la concentration initiale, une absence de précipité, et une variation de pH de moins d'une unité, alors la solution sera considérée comme stable.

II. RESULTATS

A. Spectre UV visible des substances d'intérêt

Le spectre UV de la morphine à une concentration de 100 µg/ml et du céfuroxime à une concentration de 25 µg/ml sont présentés dans la figure 5.

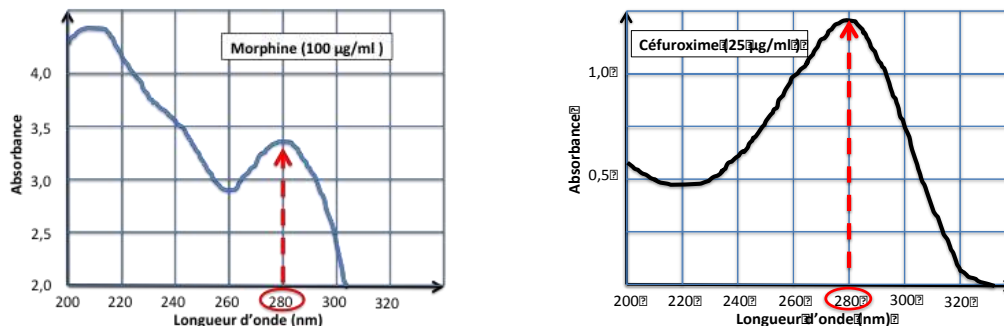


Figure 5 : Spectre UV de la Morphine et du Céfuroxime

Les deux molécules présentent un maximum d'absorbance à une longueur d'onde de 280 nm. Cette longueur d'onde a donc été retenue pour la suite des analyses.

B. Chromatogramme de la Morphine et de l'étalon interne

Après analyse par CLHP-UV à 280nm, de la morphine et du céfuroxime (EI), nous avons obtenu les temps de rétention suivants : 4,77 min pour la morphine et 10,81 min pour le céfuroxime (figure 6).

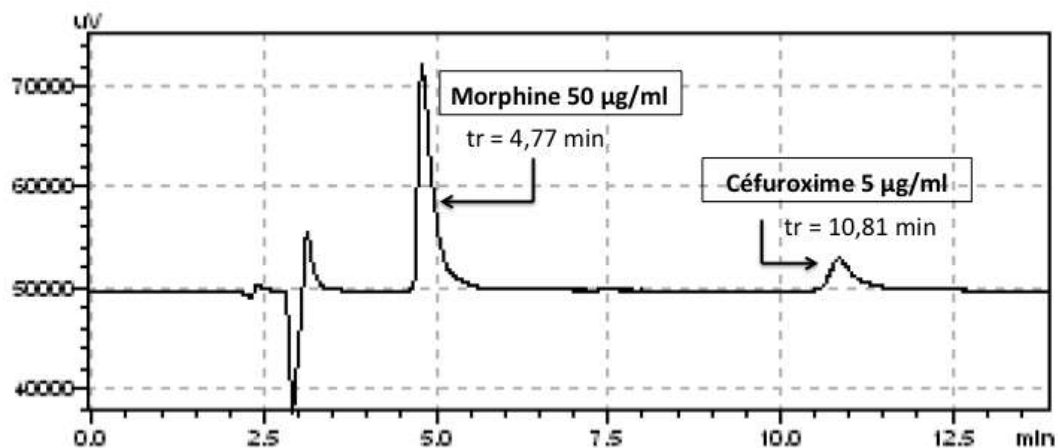


Figure 6 : Chromatogramme de la Morphine et du Céfuroxime

Le facteur de rétention Rf obtenu est de 6,3. Il n'y a pas co-élution, les deux pics obtenus sont élués suffisamment distinctement.

Ces temps de rétention sont considérés comme adéquats, en fonction des critères précédents (Rf), sous réserve d'une bonne séparation avec les produits de dégradation formés lors de la dégradation forcée.

C. Résultats des essais de dégradation forcée

La dégradation forcée de la morphine à +80°C pendant 6 heures montre une stabilité du temps de rétention à 4,80 min sans apparition de pics de dégradation (figure 7).

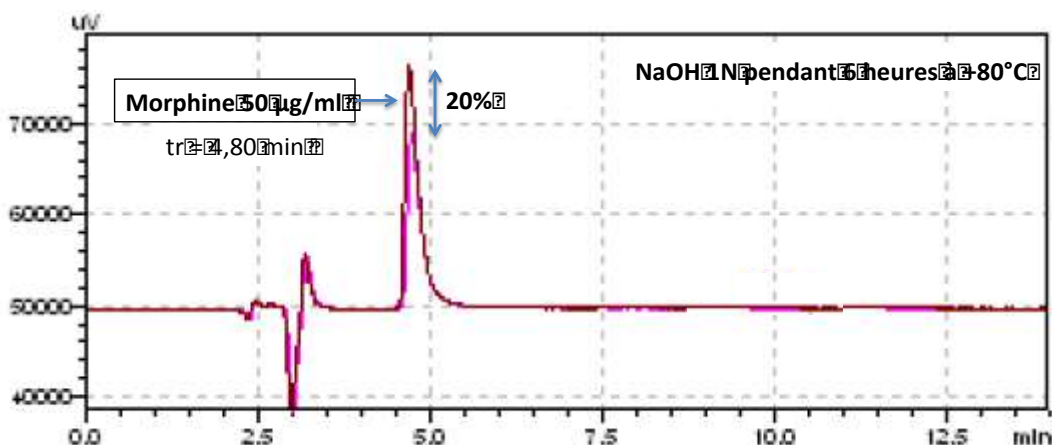


Figure 7 : Chromatogramme de dégradation de la Morphine en milieu basique 1N

A une longueur d'onde de 280nm, aucun pic de dégradation n'a été observé à l'issue de l'essai de morphine dans une solution de NaOH 1N pendant 6 heures à +80°C. La CLHP est couplée à une détection UV. Le laboratoire ne dispose pas de détecteur à barrette de diode qui aurait pu permettre de balayer le spectre à différentes longueurs d'ondes pour identifier les pics de dégradation ou encore d'un spectromètre de masse.

Ces conditions ont toutefois permis de dégrader environ 20% de la quantité de morphine initiale que l'on peut observer sur la figure 7 avec une diminution de 20% de la surface du pic initiale.

Il est à noter qu'il n'y a pas eu de rémanence de l'analyte au cours des essais successifs.

D. Validation de la méthode analytique

1) Linéarité de la méthode

Les chromatogrammes obtenus sont précisés en **annexe 8**.

Trois séries indépendantes de ces 5 SE ont été dosées, à raison d'une série par jour.

Les fonctions de réponse obtenus pour chaque série sont résumées en **annexe 9**

L'équation de la droite de régression correspondante est :

$$y = 0,06720x + 0,03545$$

avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,99954$

La droite de régression est présentée en figure 8.

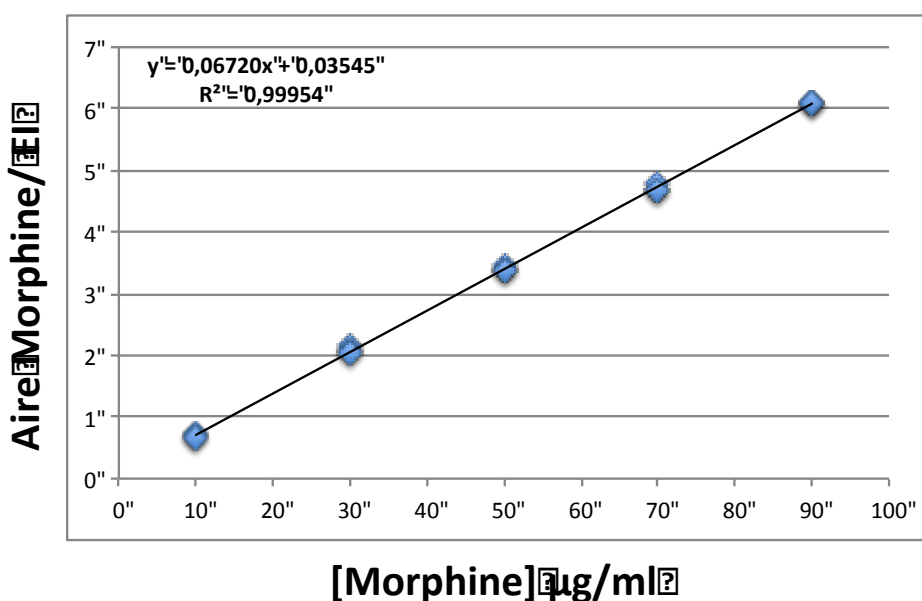


Figure 8 : Fonction de réponse de la Morphine avec le Céfuroxime comme EI

2) Fidélité et justesse

La fidélité et la justesse de la méthode de dosage de la morphine a été évaluée à l'aide de 4 contrôles qualité.

Chaque standard de validation a été dosé 3 fois par jour pendant 3 jours selon la méthode décrite précédemment.

Les coefficients de variation (CV) ne dépassent pas 0,96% pour l'étude de répétabilité et 2,86% pour la fidélité intermédiaire. Les résultats sont présentés dans le tableau VI.

Tableau VI : Fidélité de la méthode

Morphine (µg/ml)	CV Répétabilité (%)	CV Fidélité intermédiaire (%)
18	0,96%	2,86%
45	0,57%	1,03%
63	0,56%	0,63%
81	0,60%	1,43%

Le coefficient de variation de la répétabilité est très satisfaisant car inférieur à 1%. Les biais relatifs calculés sont compris entre -1,33% et 0,86%. Les résultats sont regroupés dans le tableau VII.

Tableau VII : Biais moyen pour chaque concentration de Morphine

Morphine (µg/ml)	Biais relatif (%)
18	-1,33%
45	-0,46%
63	0,81%
81	0,59%

Les biais relatifs de la méthode analytique sont acceptables, car ils sont relativement faibles (entre -1,33% et 0,86%).

3) Profil d'exactitude

L'exactitude représente l'erreur totale de la méthode de dosage.

Le profil d'exactitude est représenté par la figure 9.

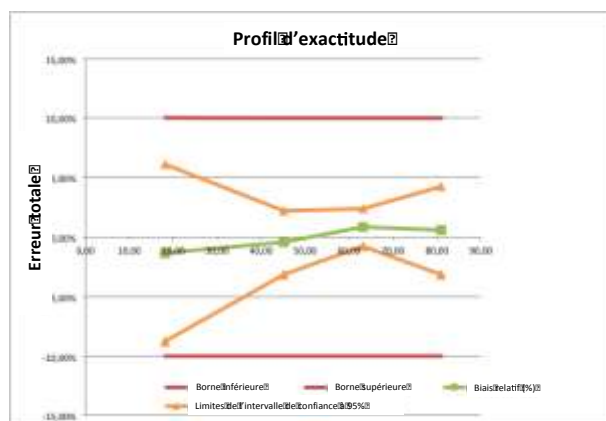


Figure 9 : Profil d'exactitude du dosage de la Morphine avec le Céfuroxime comme

L'intervalle de confiance à 95% pour chaque concentration est compris dans les limites d'acceptation.

La méthode analytique est donc capable de quantifier la morphine dans les poches de PCA avec une exactitude connue inférieure à + ou - 10% au risque de 5% dans l'intervalle de concentration [18 µg/ml ; 81 µg/ml].

La méthode est donc linéaire, répétable et reproductible.

L'utilisation du profil d'exactitude se trouve être en accord avec l'objectif d'une méthode qui peut être résumé en sa capacité à quantifier le plus exactement possible chacune des quantités inconnues devant être déterminées.

4) Résultats de l'analyse des variances (ANOVA)

L'analyse des variances a été réalisée à partir des droites d'étalonnage, mais au préalable à la détermination de la régression, il a été nécessaire de réaliser une analyse de la variance des points expérimentaux qui servent à sa construction. Par le test d'homogénéité des variances, il est vérifié que la variance de la fonction de réponse soit constante sur l'intervalle de dosage.

L'homogénéité des variances a été vérifiée préalablement par le test de Cochran. Les résultats sont présentés dans le tableau VIII.

Tableau VIII : Test d'homogénéité des variances (test de Cochran)

Somme des variances	0,00804025
Variance maximale	0,00427921
Rapport de Cochran (= C calculé)	0,53
C table (0,05, 5, 3)	0,6838

(C calculé = variance maximale/ somme des variances)

Le C seuil défini est supérieur au C calculé : les variances sont homogènes avec un niveau de confiance à 95%. La régression linéaire peut donc être déterminée par l'analyse de la variance pour le modèle d'étalonnage de la morphine (tableau IX).

Tableau IX : Analyse de la variance pour le modèle d'étalonnage de la Morphine

Source de variation	ddl	Somme des carrés	Variances	F observé	F théorique
Régression	1	54,19224992	54,192499	40440,91	4,75
Non linéarité	3	8,31E-03	2,77E-03	2,07	3,49
Résiduels	12	0,0160805	1,34E-03		
Totaux	14	54,21688858			

F observé régression > F théorique régression. Le modèle explique les données : la régression est validée.

F observé Non linéarité < F théorique Non linéarité. Le modèle est linéaire.

Les paramètres de la régression obtenus sont résumés en **annexe 10**.

Les valeurs moyennes calculées figurent dans le tableau X.

Tableau X : Valeurs moyennes calculées des concentrations

Concentrations Expérimentales (µg/ml)	Concentrations Calculées (µg/ml)	Biais relatif moyen (%)	R moyen (%)	Exactitude
10	9,74	-2,6	97,4	Correcte
30	30,49	1,64	101,64	Correcte
50	50,03	0,06	100,06	Correcte
70	69,5	-0,71	99,29	Correcte
90	90,23	0,26	100,26	Correcte

L'exactitude moyenne est vérifiée sur la plage de linéarité.

Le taux de recouvrement pour les 3 séries est détaillé dans le tableau XI et sur le graphique en **annexe 11**.

Tableau XI : Taux de recouvrement pour les 3 séries d'étalonnage

Morphine (µg/ml)	Série 1 (%)	Série 2 (%)	Série 3 (%)
10	101,32	96,04	94,84
30	104,28	100,8	99,82
50	101,09	99,27	99,83
70	98,26	100,87	98,74
90	100,21	100,32	100,26

Le recouvrement est compatible avec la plage de linéarité.

L'intervalle de confiance de la pente de régression linéaire à pour limite inférieure 0,85 et pour limite supérieure 1,15. La pente moyenne obtenue est de 1. La pente de la droite de régression linéaire se trouve dans l'intervalle de confiance à 95%.

Suite à ces résultats, nous pouvons conclure que la méthode est exacte.

5) Limites de détection et de quantification

Les limites de détection (LOD) et de quantification (LOQ) ont été déterminées à partir d'un standard d'étalonnage à 15 µg/ml (n = 6), en utilisant la pente et le standard de déviation de l'ordonnée à l'origine issus de la droite de régression linéaire comme décrit précédemment. Les LOD et LOQ calculés sont respectivement de 0,361 µg/ml et de 1,186 µg/ml.

E. Etude de stabilité

1) Evolution des concentrations en morphine au cours du temps

Les variations de concentrations observées de J0 à J21 sont de l'ordre de moins de 1% comme présentées dans le tableau XII et dans graphique en **annexe 12**.

Tableau XII: Evolution des concentrations de morphine au cours de l'étude

	[Morphine] (µg/ml)				Moyenne (µg/ml)	Ecart type (µg/ml)	Variation (%)	% de la concentration initiale
	PCA1	PCA2	PCA3	PCA4				
J0	50,08	50,11	50,03	50,11	50,08	0,0377		
J7	50,06	50,12	50,1	50,08	50,09	0,0258	0,01%	100,01%
J14	50,11	50,15	50,06	50,13	50,11	0,0386	0,06%	100,06%
J21	50,22	50,13	50,09	50,12	50,14	0,0560	0,11%	100,11%

2) Evolution du pH des solutions au cours du temps

L'évolution du pH des solutions de morphine à 1mg/ml au cours du temps est présenté dans le tableau XIII et dans le graphique en **annexe 12**.

Tableau XIII: Evolution du pH des solutions de Morphine au cours de l'étude

	pH				Moyenne	Ecart type	Variation (%)
	PCA1	PCA2	PCA3	PCA4			
J0	6,21	6,21	6,21	6,21	6,21	0,0000	
J7	6,24	6,27	6,24	6,26	6,25	0,0150	0,68%
J14	6,28	6,31	6,27	6,27	6,28	0,0189	1,17%
J21	6,32	6,34	6,31	6,3	6,32	0,0171	1,73%

3) Examen visuel des solutions au cours du temps

Les solutions sont toutes restées limpides, sans apparition de coloration, ni de trouble, ni de précipité au cours du temps.

III. DISCUSSION

A. Méthode de développement

La colonne n'étant pas thermostatée, des variations des paramètres chromatographiques liés à la température peuvent donc se produire.

Le temps de rétention de la morphine varie avec la température (figure 10). Cependant le coefficient de corrélation des droites de régression est toujours supérieur à 0,99.

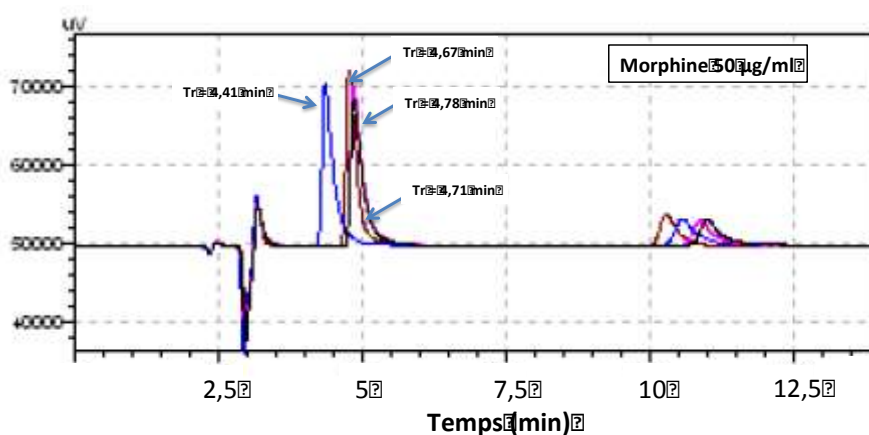


Figure 10 : Variations du temps de rétention de la Morphine sur une colonne non thermostatée

B. Essais de dégradation forcée

La méthode d'analyse peut-être discutable, car les produits de dégradation n'ont pas été mis en évidence (figure 7). Nous ne disposons que d'un détecteur UV. Il aurait été intéressant de disposer des produits de dégradation de manière à définir les temps de rétention de ces substances. L'idéal aurait été d'utiliser un détecteur permettant d'accéder à la notion de pureté de pics, c'est à dire un détecteur à barrette de diode ou un spectromètre de masse ^[38]. D'après la littérature ^[23-30], selon la colonne et la phase mobile, soit les produits de dégradation ne sont pas visibles, soit ils le sont sous la forme d'un seul et unique pic. Laville et Mercier utilise la spectrométrie de masse ^[29] pour les distinguer. Le Hoang et Sarbach utilisent une colonne supplémentaire différente avec une phase mobile différente ^[26]. Et même dans ce cas, la morphine N-oxyde et le chlorhydrate d'apomorphine ne sont pas détectés. Par conséquent, nous sommes partis du postulat que toute déformation d'un pic chromatographique devait conduire à suspecter la co-élution entre la morphine et un produit de dégradation.

Le facteur d'asymétrie du pic de morphine a été étudié sur la solution témoin (morphine non dégradée) et sur une solution de morphine dégradée par des conditions de milieu alcalin (1N) pendant 6h à +80°C.

La solution témoin donne un facteur d'asymétrie de 1,17. Cette valeur est identique pour le pic de la solution dégradée. Il n'y a, *a priori*, pas de co-élution de la morphine avec un produit de dégradation.

C. Etude de stabilité

La solution de chlorhydrate de morphine à 1mg/ml est stable pendant 21 jours à température ambiante. Ces résultats sont compatibles avec ceux de Laville et Mercier qui ont étudié une concentration identique en chlorhydrate de morphine (1mg/ml) à température ambiante dans des poches en PVC ^[29] et à l'abri de la lumière pendant 21 jours et réalisés initialement sous hotte à flux d'air laminaire.

Un phénomène d'évaporation a été décrit avec les poches en PVC des systèmes PCA. Il aurait été intéressant de peser les poches à chaque essai pour pouvoir estimer ce phénomène d'évaporation au cours du temps. Il est à l'origine d'une augmentation des concentrations jusqu'à +16% après 30 jours ^{[23] [24] [25]}. De plus, Il y aurait un lien entre la concentration de morphine et la perte de véhicule de la poche (+6% de concentration dans le cas de la solution à 1 mg/ml contre +10% de concentration pour la solution à 40 mg/ml. Ce phénomène peut résulter du passage progressif du solvant au travers de la poche. Roos ^[23] et Truelle ^[24] mettent en évidence ce phénomène de perméation à hauteur de 1,5% et sans qu'aucun produit de dégradation ne soit détecté. D'après Vermeire et Remon ^[25], la solubilité de la morphine dans le NaCl 0.9% est dépendant de la température. La concentration maximale observée de morphine (qui peut être dissoute) dans du NaCl 0,9% à température ambiante (22°C) est approximativement de 30mg/ml. Au delà, il y a précipitation de cette dernière. Dans le cas présent, le risque de précipitation est nul au vu des concentrations observées dans les poches de l'ordre de 1mg/ml.

La diminution de la morphine, quantitativement décrite, dans la poche est due à deux phénomènes : la dégradation physico-chimique de la morphine et l'adsorption des molécules à la paroi de PVC. Ce phénomène serait masqué, au début, par l'évaporation du véhicule. Il aurait été nécessaire de peser la poche en début et en fin d'expérimentation afin d'appréhender ce phénomène.

IV. CONCLUSION/PERSPECTIVES

La solution de chlorhydrate de morphine à 1 mg/ml dans des poches en PVC pour PCA a été stable d'un point de vue physico-chimique durant 21 jours à température ambiante (à 22°C). Aucun changement de couleur ou de précipité dans la solution n'a été observé.

L'aspect microbiologique n'a pas été étudié. Le maintien de la stérilité des solutions de morphine préparées doit être mis en évidence par vérification de la conformité avec la monographie « essai de stérilité » de la Pharmacopée Européenne ou à l'aide du guide de stabilité SFPC-GERPAC ^[39]. Cela constitue une autre perspective d'étude qui viendra compléter la stabilité physico-chimique.

La Pharmacopée Américaine ainsi que les BPP ont classé les préparations stériles en fonctions de leur niveau de risque microbiologique ^[52] ^[53]. Or dans le contexte décrit non pharmaceutique le risque microbiologique est maximal. Par ailleurs la spécialité ne contient pas de conservateur.

A l'avenir, il serait intéressant d'analyser plusieurs échantillons obtenus suite à la préparation par plusieurs infirmières afin de déterminer précisément les concentrations de départ présentes dans les poches de PCA. Une mauvaise concentration de départ peut avoir des conséquences graves voire létales. Vicente et Kada-Bekhaled ^[8] ont rapporté le décès d'une patiente suite à une concentration de départ dix fois plus élevée que la concentration prescrite. La HAS recommande dans le « Guide d'outils de sécurisation et d'auto-évaluation de l'administration des médicaments » ^[54] de mai 2013, de favoriser si possible la centralisation des préparations au niveau des pharmacies à usage intérieur (PUI). Cela concerne d'autant plus les préparations stériles qui nécessitent des locaux, équipements et personnels dédiés à cette activité et de se conformer aux BPP. Standardiser ainsi la préparation des PCA de morphine par la PUI permettrait de s'affranchir de ce risque. La PUI du CHRU pourrait réaliser ces préparations à l'avance (hospitalières) pour l'HAD. Dans ce cas, il serait nécessaire de mettre en place des contrôles de teneur grâce à la méthode de dosage mise en place et validée, et de stérilité du produit fini. Cela serait aussi l'occasion d'estimer et de prendre en compte le phénomène de perméation en estimant ce dernier par la pesée des poches de PCA au cours du temps.

Pour le risque potentiel de relargage, il convient d'utiliser une connexion au plus près du site d'injection pour diminuer le temps de contact avec la tubulure.

En attendant cette centralisation, l'HAD pourrait recourir à des poches de morphine Renaudin (présentées en **annexe 4**) dosées à 1mg/ml. Cela éviterait des manipulations supplémentaires (telle la dilution des ampoules de morphine) et garantirait une concentration de départ en adéquation avec celle désirée.

Enfin, une dernière alternative serait de remplacer la morphine par un autre opioïde, le sufentanil. L'usage du sufentanil dans une PCA est préféré à celui du fentanyl en raison de l'existence d'un relargage de ce dernier à partir du tissu adipeux ^[55].

Le sufentanil possède le plus grand index thérapeutique ^[56] de tous les opioïdes (environ 25 000) ce qui se traduit d'un point de vue clinique, par rapport à la morphine (dont l'index thérapeutique est de 70), par une incidence plus faible sur la survenue de dépression respiratoire. Le sufentanil au contraire de la morphine est métabolisé par le foie en métabolites inactifs, ce qui évite la prolongation non désirée de l'effet. L'inconvénient repose sur sa courte durée d'action lors des pics douloureux, mais celle-ci est remédiée par l'administration d'une dose continue.

Chapalain-Pargade et Laville ont démontré en système PCA une stabilité physicochimique et microbiologique de 14 jours ^[57] pour une solution de citrate de sufentanil non diluée à 50 µg/ml, préparée en conditions aseptiques (non précisées) et conservée dans une poche en PVC. Aux avantages pharmacologiques et à la durée de stabilité très satisfaisante, il faut rajouter l'absence de dilution qui se traduit par moins de manipulation du produit et une concentration de départ constante. D'un point de vue économique, une PCA de sufentanil coûterait 20 à 30% plus cher qu'une PCA de morphine. Cela dit ce cout mensuel supplémentaire serait inférieur à 100 euros.

BIBLIOGRAPHIE

1. Société Française d'Accompagnement de Soins Palliatifs (SFAP), Recommandations pour l'indication et l'utilisation de la PCA à l'hôpital et à domicile pour l'administration de morphine chez le patient atteint de cancer et douloureux, en soins palliatifs - mars 2006, Médecine Palliative : Soins de Support - Accompagnement – Ethique. (2007) ; 6(2) : 114-143.
2. Sardin B, Berger Tailleur C, Lecour N, Terrier G, Grouille D. La prescription pour l'infirmière d'une pompe d'analgésie contrôlée par le patient pour douleurs cancéreuses ou en soins palliatifs (PCA DSP). Douleurs□: Evaluation - Diagnostic - Traitement. (2014) ; 15(2) : 65–73.
3. Hankin CS, Schein J, Clark JA, Panchal S. Adverse events involving intravenous patient-controlled analgesia. Am J Health Syst Pharm. (2007) ; 64(14) : 1492–9.
4. Paul JE, Bertram B, Antoni K, Kampf M, Kitowski T, Morgan A, et al. Impact of a comprehensive safety initiative on patient-controlled analgesia errors. Anesthesiology. 2010 ; 113(6) : 1427–32.
5. Syed S, Paul JE, Hueftlein M, Kampf M, McLean RF. Morphine overdose from error propagation on an acute pain service. Can J Anaesth. (2006) ; 53(6) : 586–90.
6. White PF. Mishaps with patient-controlled analgesia. Anesthesiology. (1987) ; 66 : 81-3
7. Hicks RW, Sikirica V, Nelson W, Schein JR, Cousins DD. Medication errors involving patient-controlled analgesia. Am J Health Syst Pharm. (2008) ; 65(5) : 429–40.
8. Vicente KJ, Kada-Bekhaled K, Hillel G, Cassano A, Orser BA. Programming errors contribute to death from patient-controlled analgesia: case report and estimate of probability. Can J Anaesth. (2003) ; 50(4) : 328–32.
9. Wan Mat WR, Yahya N, Izaham A, Abdul Rahman R, Abdul Manap N, Md Zain J. Near fatal error in management of postoperative epidural analgesia. Int J Risk Saf Med. (2014) ; 26(2) : 57–60.
10. Rostaing-Rigattieri S. Utilisation de la PCA de morphine en médecine [en ligne]. 2004. [consulté le 25/03/2014]. Disponibilité sur Internet : <http://www.cnrd.fr/PCA-de-morphine-en-medecine.html?page=article-imprim&id_article=252>
11. Donovan BD. Patient attitudes to postoperative pain relief. Anaesth Intensive Care. (1983) ; 11(2): 125–9.
12. Scherpereel P. Patient-controlled analgesia. Ann Fr Anesth Reanim. (1991) ; 10(3): 269–83.
13. OMEDIT Centre et Haute Normandie. Bonnes Pratiques de perfusion : module « Analgésie Contrôlée par le Patient (pompe PCA) ». [en ligne]. [consulté le 26/06/2014] ; Disponibilité sur Internet: <<http://www.omedit->

14. Brasseur L, Chast F, Lassaunière J-M, Poulain Ph. Caractéristiques et prise en charge médicale des accès douloureux transitoires. *Douleur* (2001) ; 2(5): 226-231.
15. Krakowski I, Theobald S, Balp L, Bonnefoi M-P, Chvetzoff G, Collard O, et al. Standards, options and recommendations for the use of medical analgesics for the treatment of pain arising from excess nociception in adults with cancer. *Bull Cancer* (2002) ; 89(12): 1067–74.
16. Vermeire A, Remon JP. Stability and compatibility of morphine. *Int J Pharm.* (1999) ; 187(1) :17–51.
17. Béziaud N, Pellat JM, Villard ML, Liatard K, Laval G. Opioides forts et douleurs liées au cancer : quelles galéniques et quelles équianalgésies ? *Med. Pal.* (2009) ; 8: 27-34.
18. Gordon DB, Stevenson KK, Griffie J, Muchka S, Rapp C, Ford-Roberts K. Opioid equianalgesic calculations. *J Palliat Med.* (1999) ; 2(2) : 209–18.
19. ANSM. Résumé des caractéristiques du produit: MORPHINE (CHLORHYDRATE) AGUETTANT 10 mg/ml, solution injectable [en ligne]. Mis à jour le 08/06/2012. [consulté le 08/06/2014] ; Disponibilité sur Internet: <<http://agence-prd.ansm.sante.fr/php/ecodex/frames.php?specid=60762795&typedoc=R&ref=R0214759.html>>
20. Larue F, Colleau SM, Brasseur L, Cleeland CS. Multicentre study of cancer pain and its treatment in France. *BMJ.* (1995) ; 310(6986) : 1034–7.
21. Wiffen PJ, Derry S, Moore RA. Impact of morphine, fentanyl, oxycodone or codeine on patient consciousness, appetite and thirst when used to treat cancer pain. *Cochrane Database Syst Rev.* (2014) ; 5 : CD011056.
22. FLNCC. Standards, Options et Recommandations 2002 sur les traitements antalgiques médicamenteux des douleurs cancéreuses par excès de nociception chez l'adulte. [en ligne]. Mis à jour 09/2012. [consulté le 10/06/2014] ; Disponibilité sur Internet: <http://www.sfetd-douleur.org/rc/org/sfetd/htm/Article/2011/20110122-180509-395/src/htm_fullText/fr/SORantalgiquesadultescomplet.pdf>
23. Roos PJ, Glerum JH, Meilink JW. Stability of morphine hydrochloride in a portable pump reservoir. *Pharm Weekbl Sci.* (1992) ; 14(1) : 23–6.
24. Truelle-Hugon B, Tourrette G, Couineaux B, Gache-Charrette C. [Study of Lavoisier morphine chlorhydrate stability in different active perfusion systems after reconstitution in different solvents]. *Ann Pharm Fr.* (1997) ; 55(5) : 216–23.

25. Vermeire A, Remon JP. The solubility of morphine and the stability of concentrated morphine solutions in glass, polypropylene syringes and PVC containers. *International Journal of Pharmaceutics*. (1997) ; 146(2) : 213–23.
26. Hoang MDL, Sarbach C, Prognon P, Delvordre P, Mignot A, Pradeau D. Stabilité du chlorhydrate de morphine en solution dans les systèmes PCA portables à usage unique : Interaction contenant-contenu. *Journal de Pharmacie Clinique*. (1998) ; 17(1) : 35–9.
27. Hecq J-D, Godet M, Gillet P, Jamart J, Galanti L. Long-term stability of morphine hydrochloride in 0.9% NaCl infusion polyolefin bags after freeze-thaw treatment and in polypropylene syringes at 5 degrees C + 3 degrees C. *Int J Pharm Compd*. (2014) ; 18(1) : 78–82.
28. Oustric-Mendes AC, Huart B, Le Hoang MD, Perrin-Rosset M, Pailler FM, Darbord JC, et al. Study protocol: stability of morphine injected without preservative, delivered with a disposable infusion Device. *J Clin Pharm Ther*. (1997) ; 22(4) : 283–90.
29. Laville I, Mercier L, Chachaty E, Bourget P, Paci A. [Shelf-lives of morphine and pethidine solutions stored in patient-controlled analgesia devices: physico-chemical and microbiological stability study]. *Pathol. Biol*. (2005); 53(4) : 210–6.
30. D'Hayer B, Vieillard V, Astier A, Paul M. Stability-Indicating HPLC Assay and Stability Study Over Two Years of Morphine Hydrochloride Diluted Solutions in Polypropylene Syringes. *Pharmaceut anal acta*. (2013) ; 4(1).
31. Balty I, Belhanini B, Clermont H, Cornu J.C, et al. Postes de sécurité microbiologique. Postes de sécurité cytotoxique. Choix et utilisation. Cahier de note supplémentaire - Hygiène et sécurité du travail. (2003) ; 13 : 37-52.
32. Pharmacopée Européenne 8.0. Addendum 8.3 ; Strasbourg : Conseil de l'Europe ; 2013.
33. Shimadzu Corporation. Differences Between Using Acetonitrile and Methanol for Reverse Phase Chromatography [en ligne]. [consulté le 29/04/2014] ; Disponibilité sur Internet: <<http://www.shimadzu.com/an/hplc/support/lib/lctalk/35/35lab.html>>
34. Gautier J.C., Nivet J.M., Algranti P. et al. Guide validation analytique. Rapport d'une commission SFSTP. I- Méthodologie. *STP Pharma. Prat*. (1992) ; 2(4): 205-26.
35. Hubert P., Nguyen-Huu J.J., Boulanger B. et al. Commission SFTP. Validations des procédures analytiques quantitatives : harmonisation des démarches Partie II – Statistiques. *STP Pharma. Prat*. (2006) ; 16 (1): 30-60.
36. Dolan J. Peak tailing and resolution [en ligne]. 2002 [consulté le 03/04/2014]. Disponibilité sur Internet : <<http://www.chromatographyonline.com/lcgc/data/articlestandard//lcgceurope/202002/19199/article.pdf>>

37. United State Pharmacopeia Convention. USP general chapter Chromatography <621> (NF 34) [en ligne]. [consulté le 03/05/2014] ; Disponibilité sur Internet : <<https://mc.usp.org/sites/default/files/documents/GeneralChapterPDFs/621Chromatography.pdf>>
38. Hagan RL. High-performance liquid chromatography for small-scale studies of drug stability. *Am J Hosp Pharm.* (1994) ; 51(17) : 2162–75.
39. SFPC-GERPAC. Guide méthodologique des Etudes de stabilité des préparations – 1ère édition. 2013 – 74 pages.
40. Yeh SY, Lach JL. Stability of morphine in aqueous solution. II. Separation of morphine from its degradation products. *J Pharm Sci.* (1961) ; 50(1) : 30–4.
41. Beaumont I, Deeks T. Determination of morphine, diamorphine and their degradation products in pharmaceutical preparation by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* (1982) ; 238(2) : 520–4.
42. Deeks T, Davis S, Nash S. Stability of an intrathecal morphine injection formulation. *Pharm J.* (1983) ; 230 : 495-7.
43. Frölich N, Dees C, Paetz C, Ren X, Lohse MJ, Nikolaev VO, et al. Distinct pharmacological properties of morphine metabolites at G(i)-protein and β -arrestin signaling pathways activated by the human μ -opioid receptor. *Biochem. Pharmacol.* (2011) ; 81(10) : 1248–54.
44. FDA. Review and evaluation of pharmacology and toxicology. Mars 2002. [consulté le 31/08/2014] ; Disponibilité sur Internet : <http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2002/21-260_Avinza_Pharmr.pdf>
45. ANSM. Résumé des caractéristiques du produit: APOMORPHINE ARCHIMEDES PHARMA FRANCE, solution injectable/pour perfusion [en ligne]. Mis à jour le 13/02/2012. [consulté le 31/08/2014] ; Disponibilité sur Internet : <<http://agence-prd.ansm.sante.fr/php/ecodex/frames.php?specid=63541211&typedoc=R&ref=R0205036.htm>>
46. ICH Expert Working Group. ICH harmonise tripartite guideline - Validation of analytical procedures: text and methodology Q2 (R1) [en ligne]. 2005 [consulté le 06/05/2014]. Disponibilité sur Internet: <http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q2_R1/Step4/Q2_R1__Guideline.pdf>
47. Mee RW. β -Expectation and β -Content Tolerance Limits for Balanced One-Way ANOVA Random Model. *Technometrics.* (1984) ; 26(3) : 251.
48. Feinberg M. Approche globale et harmonisée de la validation. *Spectra analyse.* (2006) ; 35(249) : 16–23.
49. Das Gupta V, Stewart KR. Stability of cefuroxime sodium in some aqueous buffered solutions and intravenous admixtures. *J Clin Hosp Pharm* (1986) ; 11 : 47-54.

50. Muller HJ, Howe K, Frank C, Haker I. Stability of cefazolin, cefotiam, cefuroxime, cefotaxime, ceftriaxone and ceftazidime in normal saline solutions, stored in a new IV container made of Biofine*. *Eur Hosp Pharm* (2000) ; 6 : 17-23.
51. Center for Drugs and Biologics; Food and Drug Administration; Department of Health and Human Services. Guideline for submitting documentation for the stability of human drugs and biologics. Rockville, MD : Center for Drugs and Biologics ; 1987 : 551-579
52. TRISSEL L. A., Handbook on Injectable Drugs. 14e edition, American Society of Health-System Pharmacists.
53. The United States Pharmacopeia convention. <797> Pharmaceutical Compounding –Sterile Preparations, 2008 Bulletin. *National Formulary*. 2008, p. 1-61.
54. HAS. Outils de sécurisation et d'auto-évaluation de l'administration des médicaments. Mai 2013. [consulté le 08/06/2014] ; Disponibilité sur Internet : <http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2011-10/guide_outils_securisation_autoevaluation_administration_medicaments_partie2_mettre_en_oeuvre.pdf>
55. ANSM. Recommandations de bonnes pratiques de l'Afssaps : douleur rebelle en situation palliative avancée de l'adulte. Juin 2010. [consulté le 24/06/2015] ; Disponibilité sur Internet : <http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/0f8ed3dd2a116934a6fe38cf56367eb8.pdf>
56. Palmer PP, Royal MA, Miller RD. Novel delivery systems for postoperative analgesia. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*. (2014) ; 28(1) : 81–90.
57. Chapalain-Pargade S, Laville I, Paci A, Chachaty E, Mercier L, Bourget P. Microbiological and Physicochemical Stability of Fentanyl and Sufentanil Solutions for Patient-Controlled Delivery Systems. *Journal of Pain and Symptom Management*. (2006) ; 32(1) : 90–7.

ANNEXES

Annexe 1 : Définitions des principaux paramètres d'enregistrement de la PCA

Concentration : La concentration des médicaments est nécessaire pour calculer le débit de perfusion selon la formule suivante :

$$\text{Débit (ml / h)} = \frac{\text{débit (mg / h)}}{\text{Concentration (mg / ml)}}$$

Débit de base : Débit continu qui est programmé et généralement exprimé en ml/h.

Bolus : Ajout de médicament délivré en plus du débit de base. Le débit Bolus est de 100 ml/h. Il est délivré quand la demande du patient est valide et que la pompe n'est pas en alarme. Il s'exprime en mg.

Période réfractaire : Temps pendant lequel le patient ne peut pas accéder à sa demande de bolus. Cette période débute après qu'un bolus demandé par le patient ait été reçu. Pendant cette période, le patient ne recevra pas de bolus. Elle s'exprime en h ou en min.

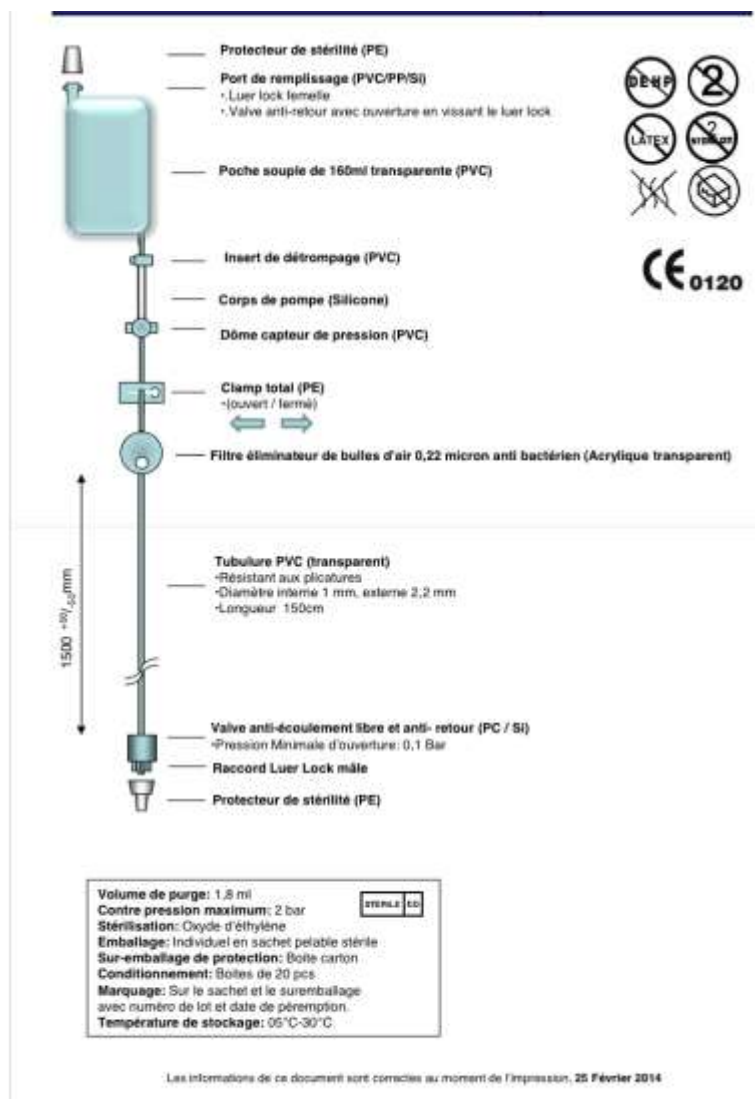
Dose limite : Restriction du volume total que le patient peut recevoir sur une période de temps donnée. Tous les volumes perfusés par la pompe, que ce soit la dose de charge, les bolus et le débit continu sont comptés. Lorsque la dose limite est atteinte, la pompe s'arrête de perfuser et une alarme se déclenche. Elle peut s'exprimer en mg/24h

Bolus limite : Restriction du nombre de bolus que le patient peut recevoir sur une période de temps donnée appelée fenêtre d'observation. Tous les bolus délivrés par la pompe, à l'exception des bolus médecin sont comptabilisés. Lorsque le nombre de bolus comptabilisé dans la période de temps est atteint, l'administration de bolus n'est plus autorisée. Il s'exprime en mg.

Bolus médecin : Dose(s) supplémentaire(s) administrée(s) au patient par l'équipe soignante y compris pendant la période réfractaire. Ce bolus supplémentaire sera pris en compte dans le calcul de la dose limite. Il s'exprime en mg.

Dose de charge : Volume de médicament délivré par la pompe au début d'une perfusion, pour un nouveau patient. Elle permet d'augmenter rapidement la concentration de médicament dans le système sanguin du patient. Elle s'exprime en mg.

Annexe 2 : Spécificités techniques du set d'infusion (Source Micrel Medical Devices)

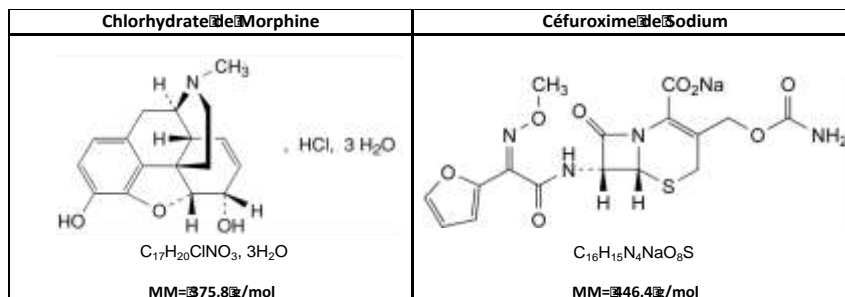


Annexe 3 : Spécialités disponibles au 1^{er} Juin 2014 en France et utilisables en pompe PCA dans les douleurs chroniques de l'adulte

Conditionnement	Principe Actif	Concentration mg/ml	Volume par ampoule/poche ml	Dose par ampoule/poche mg	Excipients	Laboratoire
Ampoule	Morphine Chlorhydrate	0,1	5	0,5	NaCl, HCl, Eau PPI	AGUETTANT
			1	1	NaCl, HCl, Eau PPI	AGUETTANT, RENAUDIN
		10	10	10	NaCl, HCl, Eau PPI	LAVOISIER
			1	10	NaCl, HCl, Eau PPI	AGUETTANT, COOPER, RENAUDIN
			2	20	NaCl, Eau PPI	COOPER, RENAUDIN
			5	50	NaCl, HCl, Eau PPI	LAVOISIER
			10	100	NaCl, Eau PPI	AGUETTANT, RENAUDIN
			10	100	NaCl, Eau PPI	AGUETTANT
		20	1	20	NaCl, HCl, Eau PPI	LAVOISIER
			5	100	NaCl, Eau PPI	AGUETTANT, RENAUDIN
	10		200	NaCl, HCl, Eau PPI	LAVOISIER, RENAUDIN	
	10		200	NaCl, Eau PPI	AGUETTANT	
	40	10	400	NaCl, Eau PPI	AGUETTANT, RENAUDIN	
		Morphine Sulfate	1	1	1	NaCl, HCl, Eau PPI
1				15	NaCl, Eau PPI	RENAUDIN
2			30	NaCl, Eau PPI		
5			75	NaCl, Eau PPI		
10			150	NaCl, Eau PPI		
50	10		500	NaCl, HCl, Eau PPI	LAVOISIER	
Poche	Morphine Chlorhydrate	1	100	100	NaCl, HCl, Eau PPI	RENAUDIN
		10	100	1000	NaCl, Eau PPI	
		20	100	2000	NaCl, Eau PPI	

Remarque concernant les poches : le contenu de la poche sera transféré dans le réservoir du système pour perfusion en respectant des règles d'asepsie.

Annexe 4 : Formules moléculaires de la Morphine et du Céfuroxime



Annexe 5 : Protocole de dégradation forcée de la morphine par la soude pendant 1 à 6 heures à +80°C

Essai 1 :

Il comprendra 6 tubes à hémolyse contenant chacun 2 ml de solution de Chlorhydrate de morphine à 200 µg/ml (concentration correspondant à 4 fois la concentration du milieu de gamme).

1. Chacun de ces tubes recevra en plus 2 ml de NaOH **0.1N**. Les tubes seront soumis à une température de +80°C (bain marie) pendant 1 à 6 heures.
2. Chaque heure, un tube est retiré du bain marie et neutralisé par 2 ml d'acide chlorhydrique 0.1N, stoppant ainsi l'action de la soude.
3. Enfin 2 ml de phase mobile sont ajoutés à chaque tube.

Au final, chaque tube subit une dilution au quart.

Essai 2 :

Il comprendra 6 tubes à hémolyse contenant chacun 2 ml de solution de Chlorhydrate de morphine à 200 µg/ml (concentration correspondant à 4 fois la concentration du milieu de gamme).

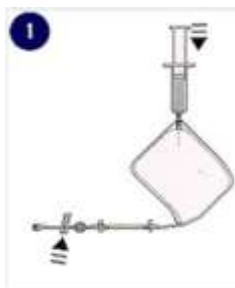
1. Chacun de ces tubes recevra en plus 2 ml de NaOH **1N**. Les tubes seront soumis à une température de +80°C (bain marie) pendant 1 à 6 heures.
2. Chaque heure, un tube est retiré du bain marie et neutralisé par 2 ml d'acide chlorhydrique 1N, stoppant ainsi l'action de la soude.
3. Enfin 2 ml de phase mobile sont ajoutés à chaque tube.

Au final, chaque tube subit une dilution au quart.

Un tube supplémentaire est réalisé : il contient la solution de morphine à 200 µg/ml diluée au quart uniquement avec de la phase mobile. Ce tube servira de référence pour comparaison avec les solutions dégradées.

		Essai 1 (NaOH 0,1N)	Essai 2 (NaOH 1N)
	Réactif	Volume (ml)	Volume (ml)
Chauffage à +80°C pendant 1 à 6 heures	Morphine 200 µg/ml	2	2
	NaOH 0,1N	2	0
	NaOH 1N	0	2
Neutralisation acide	HCl 0,1N	2	0
	HCl 1N	0	2
Dilution dans la phase mobile	Phase mobile	2	2
Volume Total		8	8

Annexe 6 : Protocole de préparation des systèmes PCA



1. Remplissage de la poche

Dans un premier temps, la tubulure est clampée.

La poche est remplie avec la solution de morphine à 1 mg/ml via une seringue (munie d'un système Luer-Lock) connectée au niveau du site de remplissage.

La seringue est laissée en place.



2. Retrait de l'air de la poche

Dans un second temps, l'air présent dans la poche tenue verticalement est retiré grâce à la seringue.

La seringue est ensuite retirée.

Le bouchon protecteur de stérilité est remis au niveau du site de remplissage.

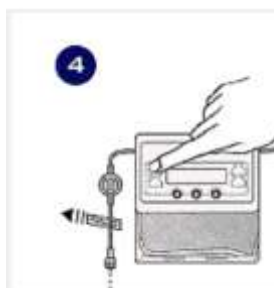


3. Mise en place de la poche

Dans un troisième temps, le couvercle transparent du réservoir ainsi que le couvercle du mécanisme de pompage sont ouverts.

La poche est placée dans le réservoir et le corps de la pompe au niveau du mécanisme de pompage.

Les deux couvercles sont refermés.



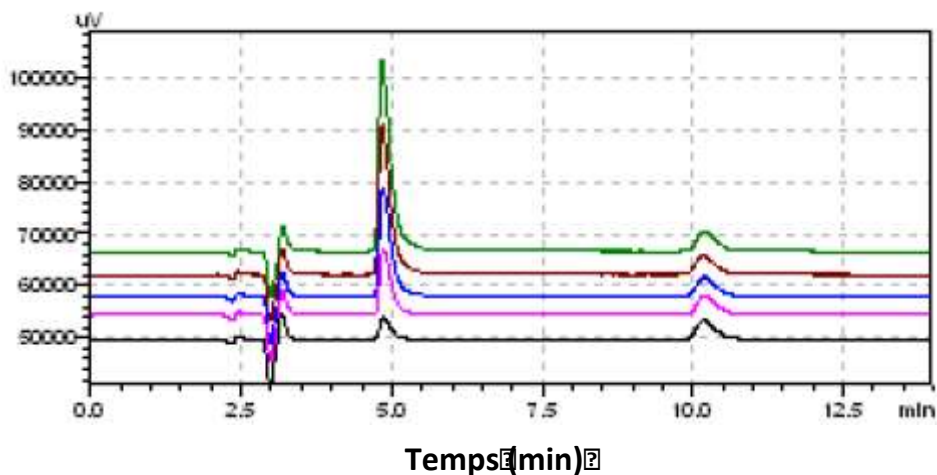
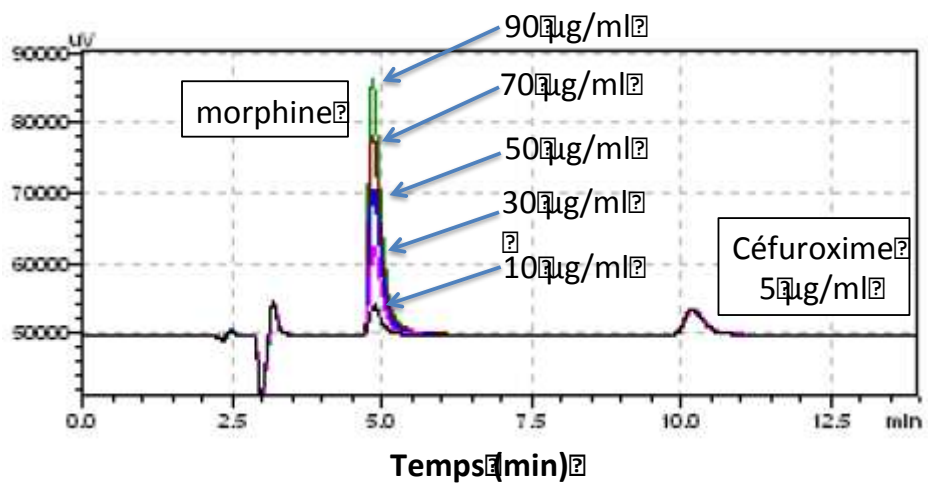
4. Purge de la tubulure

Dans un dernier temps, la tubulure est déclampée.

Le boîtier électronique est mis en route.

La tubulure est purgée par l'intermédiaire du bouton « purge-Bolus ». Les minuscules bulles d'air restantes sont éliminées grâce au filtre éliminateur d'air (filtre 0,22 µm).

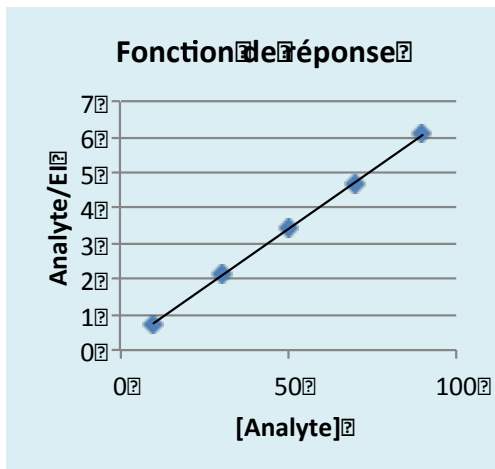
Annexe 7 : Chromatogrammes de la gamme d'étalonnage de la Morphine



Annexe 8 : Fonctions de réponse de chaque série de standard d'étalonnage de la Morphine avec le Céfuroxime comme EI

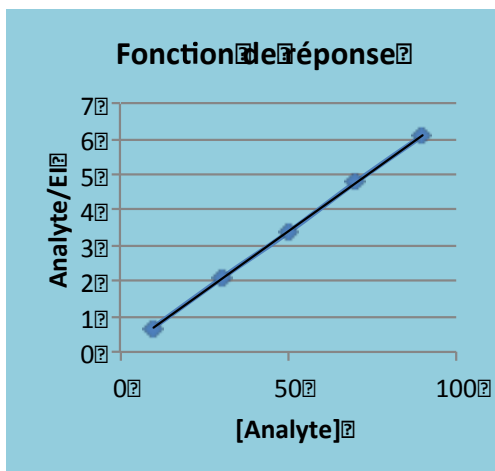
Série 1 (1^{er} jour)

[Morphine] µg/ml	Analyte	EI	Analyte/EI
10	62646	87480	1
30	184370	86251	2
50	288243	83900	3
70	407590	87517	5
90	532258	87315	6
pende	ordonnée	cv EI (%)	r²
0,06640	0,088698	1,78%	0,99929



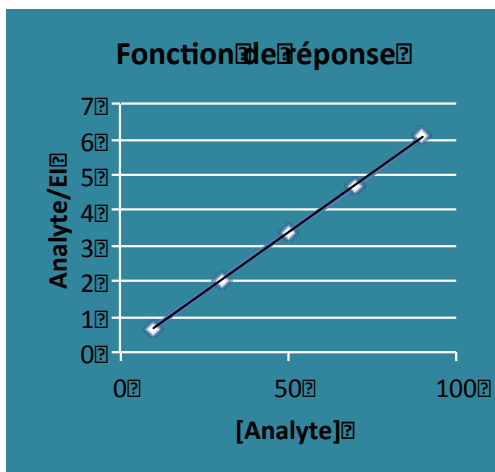
Série 2 (2^{ème} jour)

[Morphine] µg/ml	Analyte	EI	Analyte/EI
10	59397	87267	1
30	178888	86528	2
50	292977	86915	3
70	414638	86741	5
90	532712	87296	6
pende	ordonnée	cv EI (%)	r²
0,06778	0,011225	0,38%	0,99988



Série 3 (3^{ème} jour)

[Morphine] µg/ml	Analyte	EI	Analyte/EI
10	59139	87940	1
30	177437	86651	2
50	291204	85911	3
70	411047	87833	5
90	532150	87251	6
pende	ordonnée	cv EI (%)	r²
0,06743	0,006424	0,97%	0,99982



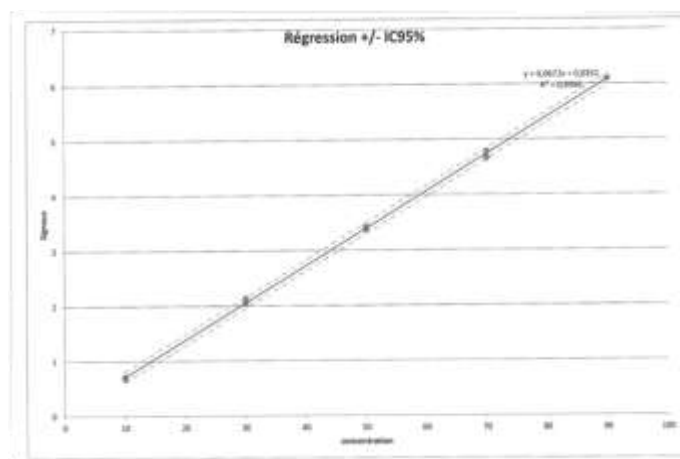
Annexe 9 : Paramètres de la régression et test de Student

	Moyenne	Ecart-type
Pente	0,0672	0,0003954
Ordonnée à l'origine	0,03519	0,0256685
Coefficient de détermination	0,9999	
Coefficient de corrélation	0,9999	

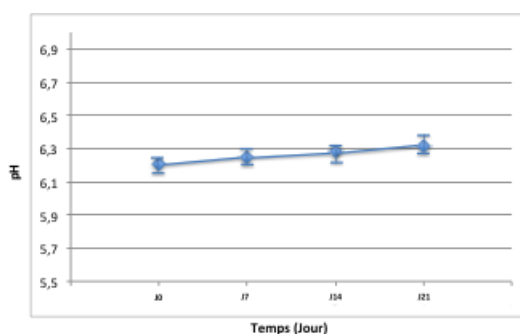
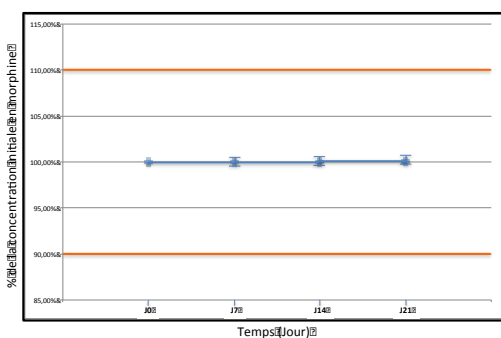
Test de Student	
ddl	13
t calculé	1,37
T(0,05/2;13)	2,16

t calculé < t table. L'ordonnée à l'origine n'est pas significativement différente de 0. Les variations des concentrations expliquent 99,99% des variations observées.

Annexe 10 : Représentation graphique du taux de recouvrement pour les 3 séries d'étalonnage



Annexe 11 : Variation de la concentration et du pH des solutions de Morphine à température ambiante au cours du temps



FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES DE LILLE
MEMOIRE de DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES
(Tenant lieu de Thèse en vue du Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie)
Année Universitaire 2013/2014

Nom : LEMAY
Prénom : Stéphane

Titre du mémoire / thèse : Stabilité physico-chimique de la morphine dans les systèmes d'analgésie contrôlée par le patient

Mots-clés : Morphine, stabilité physico-chimique, PCA, CLHP

Résumé :

Le chlorhydrate de morphine est communément utilisé en HAD comme antalgique majeur dans les systèmes d'analgésie contrôlée par le patient (PCA) pour des douleurs intenses dans le cadre de pathologies cancéreuses ou de soins palliatifs. Les PCA de morphine sont ainsi préparées au domicile du patient. Les doses journalières de morphine sont de l'ordre de 20 mg/jour et en pratique, ces systèmes sont prévus pour rester en place pour une durée maximale de 7 jours. La littérature ne comporte aucune donnée de stabilité pour des solutions de morphine à 1mg/ml réalisées hors condition d'asepsie stricte (hors hotte à flux d'air laminaire). L'objectif de cette étude est d'évaluer la stabilité physico-chimique des solutions de morphine dans les systèmes PCA préparées en HAD. L'étude a été réalisée sur des solutions de chlorhydrate de morphine à 1 mg/ml conservées à température ambiante, à l'abri de la lumière et préparées dans des conditions similaires. Le dosage du chlorhydrate de morphine est réalisé par chromatographie liquide haute performance via une méthode validée. La stabilité est au final démontrée pendant 21 jours à température ambiante et à l'abri de la lumière pour une concentration de 1mg/ml.

Membres du jury :

Président : ODOU Pascal, Pharmacien Professeur des Universités, Faculté de Pharmacie, Université de Lille 2, Praticien Hospitalier, CHRU de Lille.

Assesseur(s) :

- LANNOY Damien, Pharmacien Maître de Conférences des Universités, Faculté de Pharmacie, Université de Lille 2, Praticien Hospitalier, CHRU de Lille.
- CHILLON Jean-Marc, Pharmacien Professeur des Universités, Faculté de Pharmacie, Université de Picardie, Praticien Hospitalier, CHU d'Amiens.
- COTTEAU-LEROY Angélique, Pharmacien Praticien Hospitalier, CHRU de Lille.