

Creative commons : Paternité - Pas d'Utilisation Commerciale -
Pas de Modification 2.0 France (CC BY-NC-ND 2.0)



<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/2.0/fr>

2016

THESE n°152

T H E S E

pour le DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

présentée et soutenue publiquement le 21 Décembre 2016 par

M. Eric VOYRON

Né Le 27 Février 1991

à Bron (69)

FORMULATION DE COLLYRE DE CICLOSPORINE A 2%

J U R Y

Pr. Fabrice PIROT, Professeur des Universités - Praticien Hospitalier

Dr. Damien SALMON, Assistant Hospitalo-Universitaire

Dr. Caroline DARCISSAC, Assistant Spécialiste

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1

- | | |
|---|--------------------|
| • Président de l'Université | M. Frédéric FLEURY |
| • Vice-Président du Conseil d'Administration | M. Hamda BEN HADID |
| • Vice-Président du Conseil Scientifique | M. Germain GILLET |
| • Vice-Président du Conseil des Etudes et de la Vie Universitaire | M. Philippe LALLE |

Composantes de l'Université Claude Bernard Lyon 1

SANTE

- | | |
|---|--|
| • UFR de Médecine Lyon Est | Directeur : M. Jérôme ETIENNE |
| • UFR de Médecine Lyon Sud Charles Mérieux | Directeur : Mme Carole BURILLON |
| • Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques | Directrice : Mme Christine VINCIGUERRA |
| • UFR d'Odontologie | Directeur : M. Denis BOURGEOIS |
| • Institut des Techniques de Réadaptation | Directeur : M. Yves MATILLON |
| • Département de formation et centre de recherche en Biologie Humaine | Directeur : Anne-Marie SCHOTT |

SCIENCES ET TECHNOLOGIES

- | | |
|--|----------------------------------|
| • Faculté des Sciences et Technologies | Directeur : M. Fabien DE MARCHI |
| • UFR de Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives (STAPS) | Directeur : M. Yannick VANPOULLE |
| • Ecole Polytechnique Universitaire de Lyon (ex ISTIL) | Directeur : M. Pascal FOURNIER |
| • I.U.T. LYON 1 | Directeur : M. Christophe VITON |
| • Institut des Sciences Financières et d'Assurance (ISFA) | Directeur : M. Nicolas LEBOISNE |
| • ESPE | Directeur : M. Alain MOUGNIOTTE |

**UNIVERSITE CLAUDE
BERNARD LYON 1
ISPB -Faculté de
Pharmacie Lyon**

**LISTE DES DEPARTEMENTS
PEDAGOGIQUES**

**DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DE SCIENCES PHYSICO-CHIMIQUE ET PHARMACIE
GALENIQUE**

- **CHIMIE ANALYTIQUE, GENERALE, PHYSIQUE ET MINERALE**

Monsieur Raphaël TERREUX (Pr)
Monsieur Pierre TOULHOAT (Pr - PAST)
Madame Julie-Anne CHEMELLE (MCU)
Monsieur Lars-Petter JORDHEIM (MCU)
Madame Christelle MACHON (AHU)

- **PHARMACIE GALENIQUE -COSMETOLOGIE**

Madame Marie-Alexandrine BOLZINGER (Pr)
Madame Stéphanie BRIANCON (Pr)
Madame Françoise FALSON (Pr)
Monsieur Hatem FESSI (Pr)
Monsieur Fabrice PIROT (PU - PH)
Monsieur Eyad AL MOUAZEN (MCU)
Madame Sandrine BOURGEOIS (MCU)
Madame Ghania HAMDİ-DEGOBERT (MCU-HDR)
Monsieur Plamen KIRILOV (MCU)
Monsieur Damien SALMON (AHU)

- **BIOPHYSIQUE**

Monsieur Richard COHEN (PU – PH)
Madame Laurence HEINRICH (MCU)
Monsieur David KRYZA (MCU – PH)
Madame Sophie LANCELOT (MCU - PH)
Monsieur Cyril PAILLER-MATTEI (MCU-HDR)
Madame Elise LEVIGOUREUX (AHU)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE PHARMACEUTIQUE DE SANTE PUBLIQUE

- **DROIT DE LA SANTE**

Monsieur François LOCHER (PU – PH)
Madame Valérie SIRANYAN (MCU - HDR)

- **ECONOMIE DE LA SANTE**

Madame Nora FERDJAOUI MOUMJID (MCU - HDR)
Madame Carole SIANI (MCU – HDR)
Monsieur Hans-Martin SPÄTH (MCU)

- **INFORMATION ET DOCUMENTATION**

Monsieur Pascal BADOR (MCU - HDR)

- **HYGIENE, NUTRITION, HYDROLOGIE ET ENVIRONNEMENT**

Madame Joëlle GOUDABLE (PU – PH)

- **INGENIERIE APPLIQUEE A LA SANTE ET DISPOSITIFS MEDICAUX**
Monsieur Gilles AULAGNER
(PU – PH) Monsieur Daniel
HARTMANN (Pr)

- **QUALITOLOGIE – MANAGEMENT DE LA QUALITE** Madame Alexandra CLAYER-MONTEMBault (MCU) Monsieur Vincent GROS (MCU-PAST)
Madame Audrey JANOLY-DUMENIL (MCU-PH) Madame Pascale PREYNAT (MCU PAST)

- **MATHEMATIQUES – STATISTIQUES**

Madame Claire BARDEL-DANJEAN (MCU)
Madame Marie-Aimée DRONNE (MCU)
Madame Marie-Paule PAULTRE (MCU - HDR)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE SCIENCES DU MEDICAMENT

- **CHIMIE ORGANIQUE**

Monsieur Pascal NEBOIS (Pr)
Madame Nadia WALCHSHOFER (Pr)
Monsieur Zouhair BOUAZIZ (MCU - HDR)
Madame Christelle MARMINON (MCU)
Madame Sylvie RADIX (MCU -HDR)
Monsieur Luc ROCHEBLAVE (MCU - HDR)

- **CHIMIE THERAPEUTIQUE**

Monsieur Roland BARRET
(Pr) Monsieur Marc LEBORGNE (Pr)
Monsieur Laurent ETTOUATI (MCU - HDR)
Monsieur Thierry LOMBERGET (MCU - HDR)
Madame Marie-Emmanuelle MILLION (MCU)

- **BOTANIQUE ET PHARMACOGNOSIE**

Madame Marie-Geneviève DIJOUX-FRANCA (Pr)
Madame Marie-Emmanuelle HAY DE BETTIGNIES (MCU)
Madame Isabelle KERZAON (MCU)
Monsieur Serge MICHALET (MCU)

- **PHARMACIE CLINIQUE, PHARMACOCINETIQUE ET EVALUATION DU MEDICAMENT**

Madame Roselyne BOULIEU (PU – PH) Madame Magali BOLON-LARGER (MCU - PH)
Madame Christelle CHAUDRAY-MOUCHOUX (MCU-PH)
Madame Céline PRUNET-SPANO (MCU)
Madame Catherine RIOUFOL (MCU- PH-HDR)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DE PHARMACOLOGIE, PHYSIOLOGIE ET TOXICOLOGIE

- **TOXICOLOGIE**

Monsieur Jérôme GUITTON (PU – PH)
Madame Léa PAYEN (PU-PH)
Monsieur Bruno FOUILLET (MCU)
Monsieur Sylvain GOUTELLE (MCU-PH)

- **PHYSIOLOGIE**

Monsieur Christian BARRES (Pr)
Monsieur Daniel BENZONI (Pr)
Madame Kiao Ling LIU (MCU)
Monsieur Ming LO (MCU - HDR)

- **PHARMACOLOGIE**

Monsieur Michel TOD (PU – PH)
Monsieur Luc ZIMMER (PU – PH)
Monsieur Roger BESANCON (MCU)
Madame Evelyne CHANUT (MCU)
Monsieur Nicola KUCZEWSKI (MCU)
Monsieur Olivier CATALA (Pr-PAST)
Madame Corinne FEUTRIER (MCU-PAST)
Madame Mélanie THUDEROZ (MCU-PAST)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DES SCIENCES BIOMEDICALES A

- **IMMUNOLOGIE**

Monsieur Jacques BIENVENU (PU – PH)
Monsieur Guillaume MONNERET (PU-PH)
Madame Cécile BALTER-VEYSSEYRE (MCU - HDR)
Monsieur Sébastien VIEL (AHU)

- **HEMATOLOGIE ET CYTOLOGIE**

Madame Christine TROUILLOT-VINCIGUERRA (PU - PH)
Madame Brigitte DURAND (MCU - PH)
Monsieur Olivier ROUALDES (AHU)

- **MICROBIOLOGIE ET MYCOLOGIE FONDAMENTALE ET APPLIQUEE AUX BIOTECHNOLOGIES INDUSTRIELLES**

Monsieur Patrick BOIRON (Pr)
Monsieur Jean FRENEY (PU – PH)
Madame Florence MORFIN (PU – PH)
Monsieur Didier BLAHA (MCU)
Madame Ghislaine DESCOURS (MCU-PH)
Madame Anne DOLEANS JORDHEIM (MCU-PH)
Madame Emilie FROBERT (MCU - PH)
Madame Véronica RODRIGUEZ-NAVA (MCU-HDR)

- **PARASITOLOGIE, MYCOLOGIE MEDICALE**

Monsieur Philippe LAWTON (Pr)
Madame Nathalie ALLIOLI (MCU)
Madame Samira AZZOUZ-MAACHE (MCU - HDR)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DES SCIENCES BIOMEDICALES B

- **BIOCHIMIE – BIOLOGIE MOLECULAIRE - BIOTECHNOLOGIE**

Madame Pascale COHEN (Pr)
 Monsieur Alain PUISIEUX (PU - PH)
 Monsieur Karim CHIKH (MCU - PH)
 Madame Carole FERRARO-PEYRET (MCU - PH-HDR)
 Monsieur Boyan GRIGOROV (MCU)
 Monsieur Hubert LINCET (MCU-HDR)
 Monsieur Olivier MEURETTE (MCU)
 Madame Caroline MOYRET-LALLE (MCU – HDR)
 Madame Angélique MULARONI (MCU)
 Madame Stéphanie SENTIS (MCU)
 Monsieur Anthony FOURIER (AHU)

- **BIOLOGIE CELLULAIRE**

Madame Bénédicte COUPAT-GOUTALAND (MCU)
 Monsieur Michel PELANDAKIS (MCU - HDR)

- **INSTITUT DE PHARMACIE INDUSTRIELLE DE LYON**

Madame Marie-Alexandrine BOLZINGER (Pr)
 Monsieur Daniel HARTMANN (Pr)
 Monsieur Philippe LAWTON (Pr)
 Madame Sandrine BOURGEOIS (MCU)
 Madame Marie-Emmanuelle MILLION (MCU)
 Madame Alexandra MONTEMBault (MCU)
 Madame Angélique MULARONI (MCU)
 Madame Valérie VOIRON (MCU - PAST)

- **Assistants hospitalo-universitaires sur plusieurs départements pédagogiques**

Madame Emilie BLOND
 Madame Florence RANCHON

- **Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherche (ATER)**

Madame Sophie ASSANT 85^{ème} section
 Monsieur Benoît BESTGEN 85^{ème} section
 Madame Marine CROZE 86^{ème} section
 Madame Mylène HONORAT MEYER 85^{ème} section

Pr : Professeur

PU-PH : Professeur des Universités, Praticien Hospitalier

MCU : Maître de Conférences des Universités

MCU-PH : Maître de Conférences des Universités, Praticien Hospitalier

HDR : Habilitation à Diriger des Recherches

AHU : Assistant Hospitalier Universitaire

PAST : Personnel Associé Temps Partiel

REMERCIEMENTS

Aux membres du jury,

Professeur Fabrice PIROT, qui m'a accueilli dans son équipe et m'a fait confiance dans ce projet.

Docteur Damien SALMON, qui m'a accompagné et aidé tout au long de cette thèse.

Docteur Caroline DARCISSAC, pour avoir pris le temps de participer à ma soutenance.

A toute l'équipe de la pharmacie de l'hôpital Edouard Herriot qui m'ont accueilli à deux reprises dans leur enceinte.

A mes parents, Anne et Didier ainsi qu'à mon frère Marc.

A mes amis, toujours présent.

Toute les personnes qui sont là pour moi.

ABREVIATIONS

ACMIA : AFFINITY CHROME-MEDIATED IMMUNOASSAY

ALD : AFFECTION DE LONGUE DUREE

ANSM : AGENCE NATIONALE DE SECURITE DU MEDICAMENTS ET DES PRODUITS DE SANTE

BPF : BONNES PRATIQUES DE FABRICATION

BPP : BONNES PRATIQUES DE PREPARATION

CHNO : CENTRE HOSPITALIER NATIONAL D'OPHTALMOLOGIE

CHU : CENTRE HOSPITALO-UNIVERSITAIRE

CLHP : CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE EN HAUTE PERFORMANCE

CSA : CICLOSPORINE A

CYP : CYTOCHROME P

DEHP : DIETHYL HEXYL PHTALATE

DLU : DATE LIMITE D'UTILISATION

EPI : EQUIPEMENT DE PROTECTION INDIVIDUEL

GM-CSF : GRANULOCYTE MACROPHAGE COLONY STIMULATING FACTOR

HCL : HOSPICES CIVILS DE LYON

HEH : HOPITAL EDOUARD HERRIOT

HT : HORS TAXES

IFN : INTERFERON

IL : INTERLEUKINE

IRTF : SPECTROSCOPIE INFRAROUGE A TRANSFORMEE DE FOURIER

IV : INTRAVEINEUSE

LC-MS/MS : CHROMATOGRAPHIE PHASE LIQUIDE COUPLEE A LA SPECTROMETRIE DE MASSE

PEBD : POLY ETHYLENE BASSE DENSITE

PPI : POUR USAGE PHARMACEUTIQUE

PUI : PHARMACIE A USAGE INTERIEUR

PTFE : POLYTETRAFLUOROETHYLENE

PVC : POLIVINYL CHLORIDE

PVDF : POLYFLUORURE DE VINYLIDENE

QSP : QUANTITE SUFFISANTE POUR

TNF : TUMOR NECROSIS FACTOR

TTC : TOUTES TAXES COMPRISES

ZAC : ZONES D'ATMOSPHERE CONTROLEE

Sommaire

1. T H E S E	1
SOMMAIRE.....	10
INTRODUCTION GENERALE	12
CHAPITRE 1 - LES FORMES OPHTALMIQUES DE CICLOSPORINE : ETAT DE L'ART	13
2. 1. Introduction	13
3. 2. Les formes ophtalmiques.....	13
2.1. Galénique des formes ophtalmiques	13
2.2. Biopharmacie et pharmacocinétique de la voie ophtalmique	15
2.3. Production des formes ophtalmiques	16
4. 3. La ciclosporine.....	19
3.1. Caractéristiques physico-chimiques de la ciclosporine	20
3.2. Pharmacologie de la ciclosporine	22
3.3. Utilisation clinique de la ciclosporine	24
5. 4. Conclusion	32
CHAPITRE 2 - DEVELOPPEMENT GALENIQUE EN CONTEXTE HOSPITALIER	33
6. 1. Introduction	33
7. 2. Matières premières et articles de conditionnement.....	39

2.1. Choix du principe actif	39
2.2. Choix des Excipients	43
2.3. Choix des conditionnements	47
8. 3. Problématique pharmacotechniques	59
3.1. Identification et dosage de la ciclosporine	59
3.2. Stabilité de la ciclosporine	63
3.3. Identification et stabilité des excipients	66
9. 4. Circuit du produit fini.....	69
10. 5. Conclusion	72
 CHAPITRE 3 - PREPARATION ET CONTROLE DU COLLYRE DE	
CICLOSPORINE A 2%.....	75
11. 1. Introduction.....	75
12. 2. Préparation.....	75
13. 3. Contrôle	86
14. 4. Conclusion	90
CONCLUSION GENERALE.....	91
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	93
ANNEXES	97

INTRODUCTION GENERALE

L'intérêt des immunosuppresseurs est crucial en ophtalmologie. De nombreuses pathologies oculaires ont comme origine un désordre immunitaire. Ce désordre peut avoir lieu dans divers tissus de l'œil (cornée, rétine conjonctive...). La thérapie de première intention fut dans un premier temps les corticoïdes. Cette corticothérapie s'effectuait généralement au niveau local, par le biais de pommades ou de collyres. Cependant, une thérapie exclusivement à base de corticoïdes présente de nombreux effets indésirables au niveau local comme des retards de cicatrisation, des surpressions intraoculaire ou encore des cataractes par exemple. Ainsi elle a fait l'objet de nombreuses controverses. Un autre immunosuppresseur, la ciclosporine, a donc été préféré car moins d'effets indésirables ont été observés pour un résultat identique. Son action est toutefois couplée à celle des corticoïdes. Les collyres de ciclosporine sont donc utilisés à différents dosages en fonction de l'indication : un faible dosage ($\approx 0,1\%$) pour des pathologies mineures (syndrome de l'œil sec, kératoconjunctivites..) et un dosage plus important, 2%, pour des kératoplastie (greffe de cornée). A ce dosage, la ciclosporine a montré encore une fois son efficacité sur le rejet de greffe en comparaison avec une corticothérapie (1). De plus, les collyres de CsA ne retardent pas la cicatrisation des plaies cornéennes épithéliales ou stromales (2).

Cependant, il n'existe aucune spécialité existante de collyre de ciclosporine dosé à 2%, en traitement des kératoplasties. Ainsi, sa préparation doit se faire à l'hôpital et nécessite de nombreuses précautions. L'Hôpital Edouard Herriot à Lyon a régulièrement besoin de ce collyre et doit donc faire face à ces problématiques.

CHAPITRE 1 - LES FORMES OPHTALMIQUES DE CICLOSPORINE : ETAT DE L'ART

1. Introduction

Le collyre de ciclosporine est le traitement de référence lors de la kératoplastie. Mais quelles sont actuellement nos connaissances sur les formes ophtalmiques et sur la ciclosporine ? Dans un premier temps, nous allons commencer par définir les formes ophtalmiques, leur mode d'administration ainsi que leur protocole de production selon la Pharmacopée Européenne. Dans un second temps nous étudierons la ciclosporine, son mode d'action ainsi que son utilisation actuel, avec les différentes spécialités existantes sous forme de collyre ou non.

2. Les formes ophtalmiques

2.1. Galénique des formes ophtalmiques

D'après la Pharmacopée Européenne, « les collyres sont des solutions, des émulsions ou des suspensions stériles, aqueuses ou huileuses, contenant une ou plusieurs substances actives destinés à l'instillation oculaire » (3).

Plusieurs qualités sont requises aux collyres, que ce soit au niveau (i) de la stérilité, (ii) de l'isotonie, (iii) du pH, (iv) de la viscosité ou de (v) la limpidité.

Même si l'œil peut supporter des osmolalités comprises entre 236 et 446 mOsm/kg. Il est conseillé d'ajuster celle-ci à celle du liquide lacrymal autour de 280 mOsm/kg, qui est le meilleur biomarqueur oculaire et donc le plus utilisé. En effet, l'œil est très sensible aux variations de pression osmotique qui peuvent entraîner une gêne ou

une douleur lors de l'instillation pouvant entraîner à leur tour une diminution de l'observance du patient. De plus, cela provoque généralement un larmoiement réduisant le temps de résidence du collyre au site d'absorption (3).

Comme la tonicité, le pH doit se rapprocher du pH lacrymal ($\approx 7,4$) pour éviter tout picotement (pH acide) ou brûlure (pH alcalin) lors de l'utilisation du collyre. Cependant l'œil peut supporter un pH allant de 4,5 à 11,5 si cela est nécessaire (3).

Une certaine viscosité peut être souhaitable dans un collyre car elle augmente le temps de contact du collyre ce qui améliore la biodisponibilité de la substance active qu'il contient. Elle n'est pas soumise à une limite de valeurs particulière mais peut provoquer une gêne au moment de l'instillation par augmentation du temps de contact de la goutte avec l'œil. De plus, un conditionnement adapté doit être utilisé pour des collyres ayant une haute viscosité (3).

En ce qui concerne la limpidité, le collyre doit contenir au plus vingt-cinq particules de tailles supérieures à 25 μm et aucune ne dépassant 90 μm . Cette recherche de particule s'effectue donc sur des particules visibles à l'œil nu. La granulométrie pour les particules invisibles n'est pas obligatoire (3).

Les excipients ont donc plusieurs rôles dans la préparation. Tout d'abord ils permettent d'ajuster le pouvoir osmotique, l'œil supportant des osmolalités comprises entre 236 et 446 mOsm/kg (3, 4). De plus, ils peuvent ajuster la viscosité de la préparation (3). Puis, un de leur rôle est d'adapter ou de stabiliser le pH. Ce pH doit être le plus proche du pH lacrymal (6,9 - 7,5) mais peut être compris entre 4,5 et 11,5 (3). Ils peuvent aussi augmenter la solubilité de la substance active, comme c'est le cas pour l'huile de ricin par rapport à la ciclosporine (3). Enfin, ils permettent de stabiliser la préparation (3).

2.2. Biopharmacie et pharmacocinétique de la voie ophtalmique

L'œil est un organe complexe, notamment en ce qui concerne l'administration d'un médicament. Une goutte instillée dans l'œil est majoritairement drainée par le système naso-lacrymal. La partie non drainée est soit absorbée, soit fixée aux protéines des larmes. L'application locale d'un collyre est privilégiée pour une action immédiate sur la conjonctive ou la cornée. Elle n'est pas optimale pour accéder aux zones plus profondes de l'œil car les échanges entre l'humeur aqueuse et le corps vitré sont très lents (0,5mL/24h). La cornée est divisée en trois parties : (i) l'épithélium externe, (ii) le stroma et (iii) l'endothélium interne (figure 1). Une molécule lipophile pourra traverser l'épithélium mais ne pourra pas traverser le stroma. A l'inverse, une molécule hydrophile ne pourra pas traverser l'épithélium mais pourra traverser le stroma. Une molécule amphiphile, quant à elle, pourra traverser les deux milieux et sera donc mieux absorbée (5).

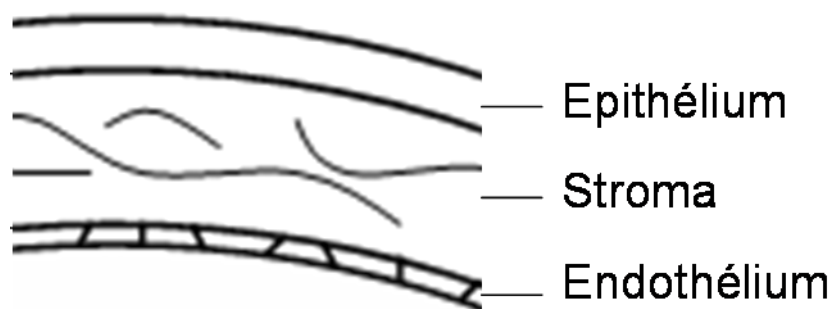


Figure 1 : Coupe schématique de la cornée.

La pharmacocinétique d'un médicament comprend 4 phases, (i) l'absorption, (ii) distribution, (iii) métabolisme et (iv) élimination. Les différentes voies d'absorption et d'élimination au niveau de l'œil sont répertoriées figure 2.

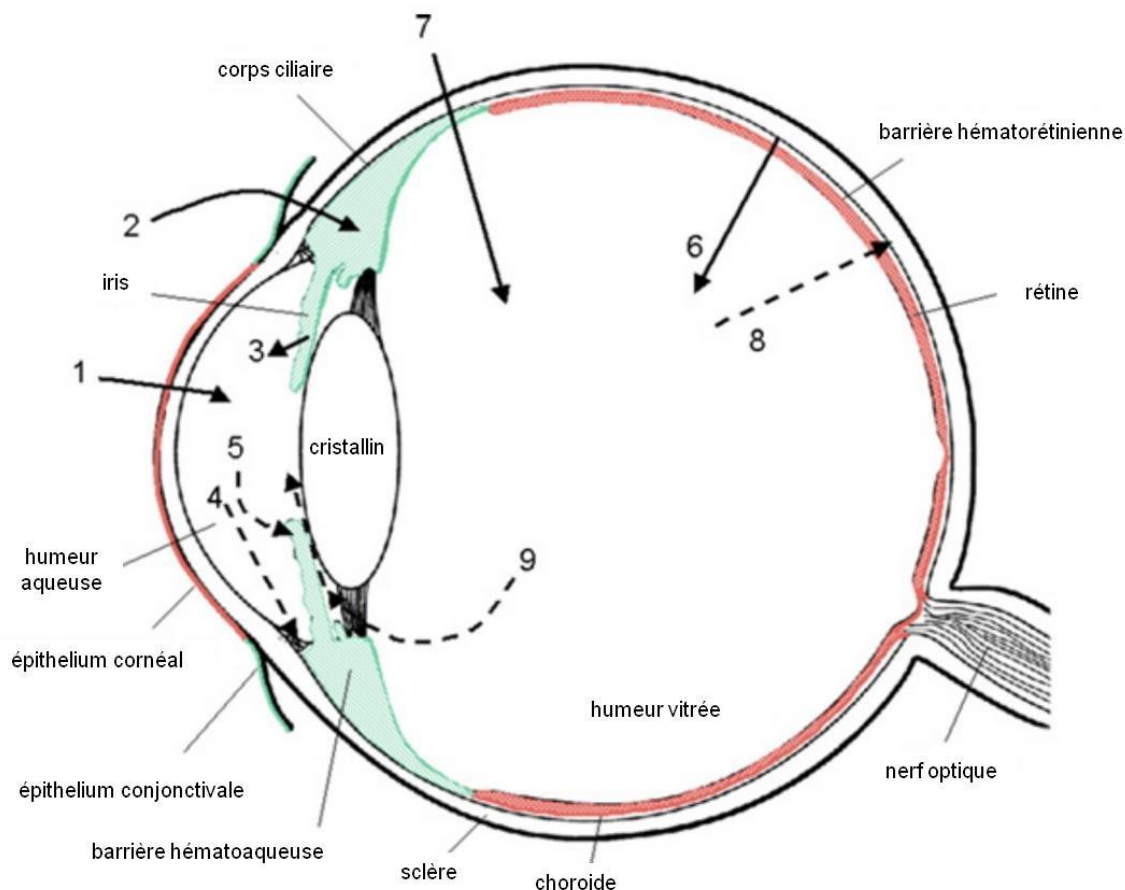


Figure 2 : Représentation schématique d'une coupe oculaire avec les différentes cinétiques du médicaments : 1) absorption transcornéale du médicament du liquide lacrymal jusqu'à la chambre antérieure. 2) absorption non cornéenne du médicament à travers la conjonctive et la sclère jusqu'à l'uvée antérieure. 3) distribution du médicament du vaisseau sanguin via la barrière hématoaqueuse jusqu'à la chambre antérieure. 4) élimination du médicament de la chambre antérieure via l'humeur aqueuse par le canal de Schlemm. 5) élimination du médicament de l'humeur aqueuse jusqu'au système sanguin via la barrière hématoaqueuse. 6) distribution du médicament du sang jusqu'à la partie postérieure de l'œil via la barrière hématorétinienne. 7) administration du médicament par le corps vitré. 8) élimination du médicament du corps vitré par la barrière hématorétinienne. 9) élimination du médicament du corps vitré par la chambre postérieure partiellement. Adapté de l'article Challenges and obstacles of ocular pharmacokinetics and drug delivery de Arto Urtti.

2.3. Production des formes ophtalmiques

Le collyre étant un produit stérile, il est soumis à la méthode de préparation des produits stériles ainsi qu'à la méthode de préparation des collyres dans la Pharmacopée Européenne (3, 6). La qualité dépend autant du savoir-faire, de la formation et du comportement du personnel impliqué que du matériel utilisé et du milieu dans lequel le médicament est préparé. Pour la méthode de préparation des

produits stériles, la Pharmacopée Européenne requiert (i) l'emploi d'un personnel qualifié et convenablement formé, (ii) l'utilisation de locaux adéquats, (iii) l'utilisation d'un équipement de production approprié conçu pour pouvoir être facilement nettoyé et stérilisé, (iv) le respect des précautions requises pour réduire la charge microbienne (biocharge) avant la stérilisation, (v) la mise en œuvre de méthodes validées, à toutes les étapes critiques de la production et (vi) la surveillance de l'environnement et contrôles en cours de production.

La production des collyres est effectuée par des préparateurs en pharmacie et des pharmaciens des hôpitaux en Zone d'Atmosphère Contrôlée (ZAC). Une ZAC est une zone possédant une concentration faible et déterminée de particules en suspension dans l'air, obtenue grâce à un système d'air filtré, une pression et un taux d'humidité stable et précis. Des vêtements de protection (EPI) doivent être mise avant l'entrée en ZAC.

Selon les Bonnes Pratiques de Fabrications, il existe quatre classes de ZAC :

« Classe A : Points où sont réalisées des opérations à haut risque, tels que le point de remplissage, les bols de bouchons, les ampoules et flacons ouverts ; les points de raccordements aseptiques. Les postes de travail sous flux laminaire doivent normalement garantir les conditions requises pour ce type d'opérations. Les systèmes de flux d'air laminaire doivent délivrer de l'air circulant à une vitesse homogène de 0,36 – 0,54 m/s (valeur guide) dans les systèmes non clos. Le maintien de la laminarité du flux doit être démontré validé.

Classe B : Pour les opérations de préparation et de remplissage aseptiques, cette classe constitue l'environnement immédiat d'une zone de travail de classe A.

Classe C et D : Zones à atmosphère contrôlée destinées aux étapes moins critiques de la fabrication des médicaments stériles. » (7).

Chaque zone est classifiée selon la concentration maximale autorisée de particules en suspension dans l'air au repos (tableau 1), c'est-à-dire l'état où les locaux sont opérationnels avec le matériel de production en place sans que les opérateurs soient à leur poste, et en activité qui est l'état où les locaux, les équipements et le personnel sont opérationnels.

	Au repos		En activité	
Classe	Nombre maximal autorisé de particules par m ³ de taille égale ou supérieure aux tailles précisées.			
	0,5 µm	5 µm	0,5 µm	5 µm
A	3 520	20	3 520	20
B	3 520	29	352 000	2 900
C	352 000	2900	3 520 000	29 000
D	3 520 000	29000	Non défini	Non défini

Tableau 1 : Classification des Zones à Atmosphère Contrôlée.

Les matières premières et le matériel sont stockés en classe D. La formulation de la solution pour collyre CsA 2% est effectuée en classe A dans B. Le transfert aseptique est effectué en classe A dans B.

Concernant la biocharge, la Pharmacopée Européenne donne dans le chapitre 5.1 "Méthode de préparation des produits stériles" (6) les précautions à prendre pour limiter la charge microbienne : (i) utilisation de composés présentant une faible charge microbienne; (ii) surveillance microbiologique et (iii) établissement de limites appropriées pour les composants comportant des risques de contamination en raison de leur origine, de leur nature, ou de leur mode de préparation. Tout les composants du collyres doivent être analysé pour assurer la stérilité du produit fini.

Concernant la stérilisation du produit, elle peut être effectuée par (i) une stérilisation à la vapeur (autoclave), (ii) une stérilisation par chaleur sèche, (iii) une stérilisation par les gaz ou (iv) une stérilisation par irradiation ionisante (6).

Pour la méthode de préparation des collyres, l'utilisation ou l'ajout d'un conservateur microbien lors de la préparation d'un collyre doit être prouvée. En effet, la nécessité et l'efficacité de ce conservateur doit être démontrée de manière à satisfaire l'Autorité compétente. Si les collyres ne contiennent pas de conservateur antimicrobien, ils sont conditionnés en récipients unidoses ou multidoses empêchant la contamination microbienne du contenu après ouverture (3). Concernant les excipients, les collyres peuvent contenir des excipients destinés, par exemple, à ajuster le pouvoir osmotique ou la viscosité de la préparation, à adapter ou stabiliser le pH, à augmenter la solubilité de la substance active ou à stabiliser la préparation. Ces excipients ne nuisent pas à l'action médicamenteuse recherchée et, aux concentrations choisies, ne provoquent pas d'irritation locale notable (3).

3. La ciclosporine

La ciclosporine fût découverte à la fin des années soixante-dix par le laboratoire Sandoz. Son introduction dès le début des années quatre-vingt dans le traitement de la crise de rejet de greffe à permis la diminution de l'utilisation de corticoïdes, traitement de référence à l'époque. Bien que les corticoïdes aient montrés leur efficacité, ils possèdent néanmoins de nombreux effets secondaires, même associé avec l'azathioprine. Azathioprine est un des premiers immunosuppresseur. C'est un antimétabolite de la classe des anti-purines. Cette molécule est aujourd'hui peu à peu délaissée au profit de traitements qui agissent plus tôt dans la réaction immunitaire et qui surtout sont mieux tolérés. Aujourd'hui, la

ciclosporine est le traitement de référence lors de rejet de greffe. Elle est associée avec une corticothérapie ou l'azathioprine (8). La ciclosporine est produite par le champignon *Beauveria nivea* (*Tolypocladium inflatum* Gams). Son numéro CAS est 59865-13-3 (9, 10).

3.1. Caractéristiques physico-chimiques de la ciclosporine

La ciclosporine (Ciclosporinum) est un polypeptide de formule brute $C_{62}H_{111}N_{11}O_{12}$ et de poids moléculaire $M = 1203 \text{ g/mol}$ (9). La ciclosporine est constituée de onze acides aminés et présente une forme cyclique (9). Il existe différentes ciclosporines, 11 au totale, variant légèrement au niveau de la structure. La ciclosporine la plus fréquente est la ciclosporine A dont la structure est présentée en figure 3.

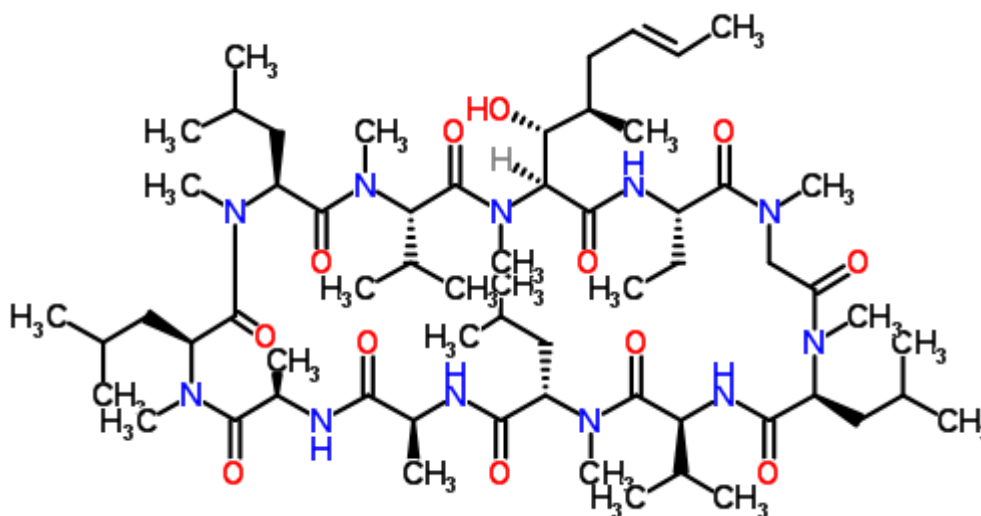


Figure 3 : Formule développée de la ciclosporine A: Cyclo[[*(E)*-(2*S*,3*R*,4*R*)-3-hydroxy-4-méthyl-2-(méthylamino)-6-octénol]-L-2-aminobutyryl-N-méthylglycyl-N-méthyl-L-leucyl-L-valyl-N-méthyl-L-leucyl-L-alanyl-D-alanyl-N-méthyl-L-leucyl-N-méthyl-L-leucyl-N-méthyl-L-valyl] (11).

Concernant l'identification de la ciclosporine, la Pharmacopée Européenne recommande deux techniques. Tout d'abord la spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge par comparaison avec la substance chimique de référence. Puis la chromatographie, liquide ou gazeuse, sur laquelle on compare la solution à examiner

avec 30,0mg de substance chimique de référence dans le mélange de solvants précédemment utilisé (9).

Ces deux techniques seront donc nos deux références pour l'identification de la ciclosporine. D'autres tests seront utilisés pour affiner les résultats de caractérisation qualitative et quantitative de la ciclosporine.

Concernant les propriétés chimiques, la ciclosporine possède un aspect de poudre blanche ou sensiblement blanche. Elle est hydrophobe ($\log P = 2.92$) (12) et donc pratiquement insoluble dans l'eau (i.e. $6.66\mu\text{g/mL}$) (13).

Elle est conservée en récipient étanche, à l'abri de la lumière (9). La matière première utilisée n'étant pas stérile, un récipient stérile à fermeture inviolable n'est pas nécessaire et pourra être remplacé par un récipient avec un traceur d'ouverture. Cependant, les collyres étant des formes stériles, la charge microbienne (biocharge) du produit doit être la plus faible possible en vue d'une filtration stérilisante une fois solubilisé.

La ciclosporine fait partie de la classe des antinéoplasiques et immunomodulateurs. Elle est un immunosuppresseur et plus précisément un inhibiteur de la calcineurine (10). La ciclosporine se fixe sur un récepteur intra-cytoplasmique, la cyclophiline. Ce complexe ciclosporine/cyclophiline (Cyp/CsA sur figure 2) se lie à la calcineurine ce qui entraîne l'inhibition de l'expression génique de nombreuses cytokines. Il y a donc inhibition de l'interleukine 2 et des produits d'activation précoces (IL3, IL4, IL5, GM-CSF, $\text{TNF}\alpha$, $\text{IFN}\gamma$). Cela entraîne le blocage de la maturation des lymphocytes T en phase G0 ou G1 du cycle cellulaire ce qui conduit à la suppression de l'immunité humorale et cellulaire (14). Contrairement aux agents cytostatiques, la ciclosporine ne déprime pas l'hématopoïèse et ne modifie

pas la fonction phagocytaire (15). La ciclophiline est une protéine de 18 kDa avec 165 résidus. Le complexe ciclophiline-ciclosporine est présenté en figure 4:

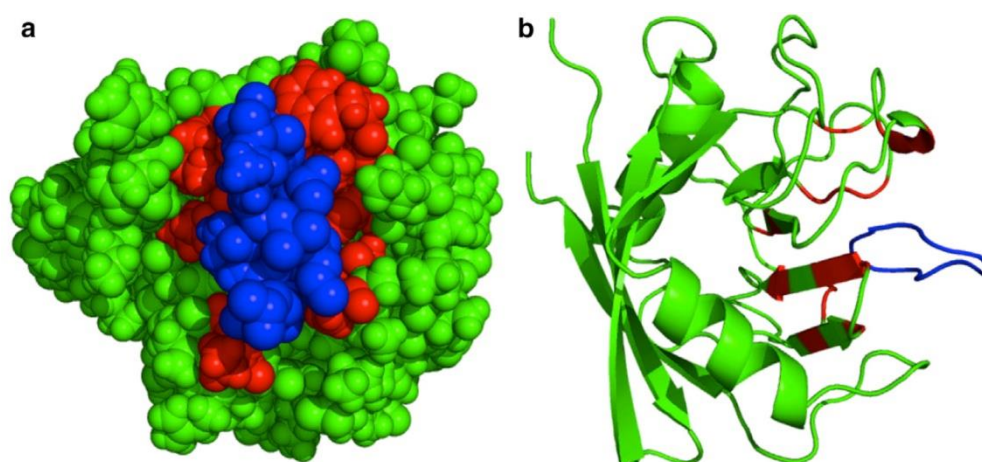


Figure 4 : Deux modélisations différentes du complexe CypA-CsA. La Ciclosporine est en bleu et la Cilophiline en vert. En rouge les 15 résidus de CypA qui permettent la liaisons à la CsA (16).

La ciclosporine est indiquée comme traitement de référence des transplantations d'organe ou de moelle osseuse, que ce soit comme prévention du rejet du greffon ou comme traitement du rejet. Elle est aussi indiquée dans diverses affections de longues durée et pathologies auto-immunes comme le psoriasis ou les formes sévères de polyarthrite rhumatoïde par exemple.

3.2. Pharmacologie de la ciclosporine

La ciclosporine est une molécule au maniement délicat qui nécessite des précautions d'emploi. Le jus de pamplemousse inhibe le cytochrome intestinal P-450 3A4, qui est responsable de l'effet de premier passage hépatique dans l'organisme. Ceci a donc pour effet d'augmenter la quantité de principe actif absorbé. Sachant que la CsA est aussi un inhibiteur du CYP3A4, au niveau intestinal et hépatique, son association est déconseillée avec d'autres molécules métabolisées par le CYP3A4. De plus, la plupart des spécialités contiennent de l'alcool éthylique comme agent solubilisant, il est donc à prendre en compte comme excipient à effet notoire.

Le suivi médical de la ciclosporine consiste à (i) un contrôle de la ciclosporinémie, (ii) un contrôle de la fonction rénale et à (iii) un contrôle de la tension artérielle dans certain cas.

La ciclosporinémie représente la concentration sanguine de ciclosporine dans le sang. Un traitement à base de ciclosporine impose une surveillance de la ciclosporinémie tous les 2-3 jours pendant 1 mois après instauration du traitement, puis toutes les 2 à 4 semaines. Celle-ci doit être comprise entre 150 et 250 ng/mL dans la phase initiale d'un traitement post-transplantation, puis entre 100 et 150 ng/mL en traitement d'entretien (14).

Un contrôle de la fonction rénale est nécessaire par un dosage de la créatinine plasmatique toutes les 2 semaines pendant les premiers mois de traitement, puis tous les mois.

Un contrôle de la tension artérielle doit être effectué, notamment lorsque la ciclosporine est utilisée lors d'une greffe. En effet, le traitement par ciclosporine s'accompagne d'une hypertension artérielle systémique. Il nécessite donc une prise en charge adaptée à la physiopathologie dépendant du type de greffe. Dans le cas d'une kératoplastie, un contrôle de la tension artérielle n'est pas nécessaire.

Trois voies d'administration existent actuellement pour la ciclosporine, (i) la voie injectable, (ii) la voie orale et (iii) l'administration locale.

En ce qui concerne la voie injectable, la solution à diluer pour perfusion est utilisée pour le traitement curatif ou préventif d'un rejet du greffon après transplantation d'organe solide ou de moelle osseuse.

Deux formes pharmaceutiques différentes sont utilisées pour l'administration orale : capsule molle et solution buvable. Les indications des formes orales sont le

traitement curatif ou préventif d'un rejet de greffon, le psoriasis, la dermite atopique, la polyarthrite rhumatoïde ainsi que les uvéites non infectieuses.

Pour l'administration locale, une pommade ophtalmique est utilisée pour le traitement des keratoconjunctivites sèches. Cependant, cette pommade n'ayant pas montré de résultat significatif chez l'homme, elle n'est présente pour cette indication qu'en médecine vétérinaire sous le nom de spécialité Optimune Canis® au dosage 0,2%. (17).

3.3. Utilisation clinique de la ciclosporine

Après application d'un collyre de CsA 2%, on retrouve des quantités significatives de CsA dans la cornée, la conjonctive, l'humeur aqueuse et l'iris, par une absorption transcornéale du médicament du liquide lacrymal jusqu'à la chambre antérieure (figure 2). Cependant, la quantité de CsA dans la sclère de l'œil ainsi que dans l'humeur vitrée est beaucoup plus faible. De plus, aucune quantité significative n'a été retrouvée dans le système sanguin. La CsA reste donc localisé principalement dans la chambre antérieure de l'œil (figure 5) (18).

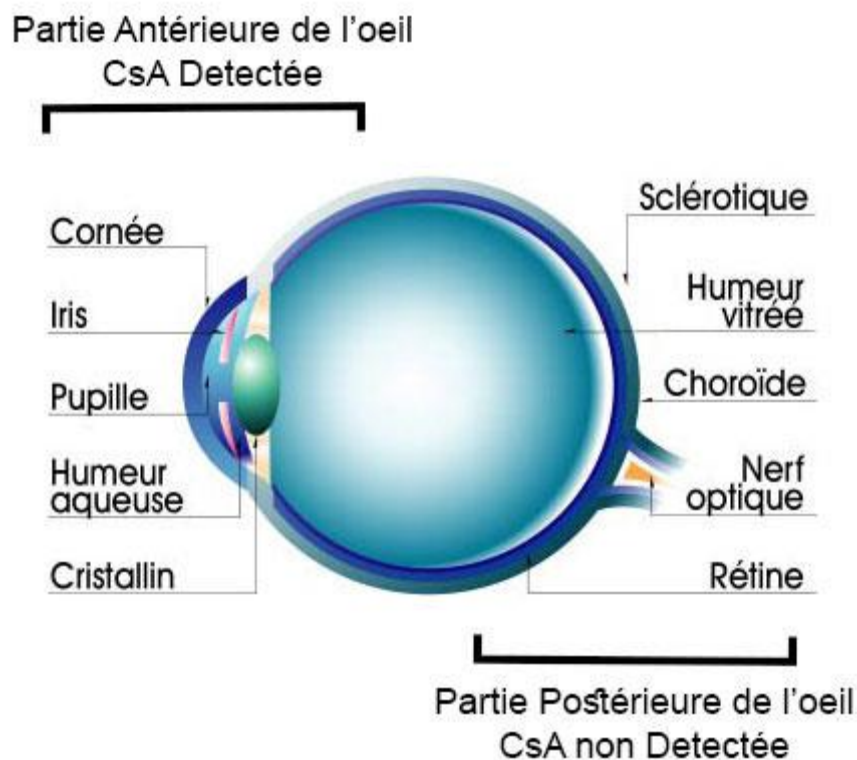
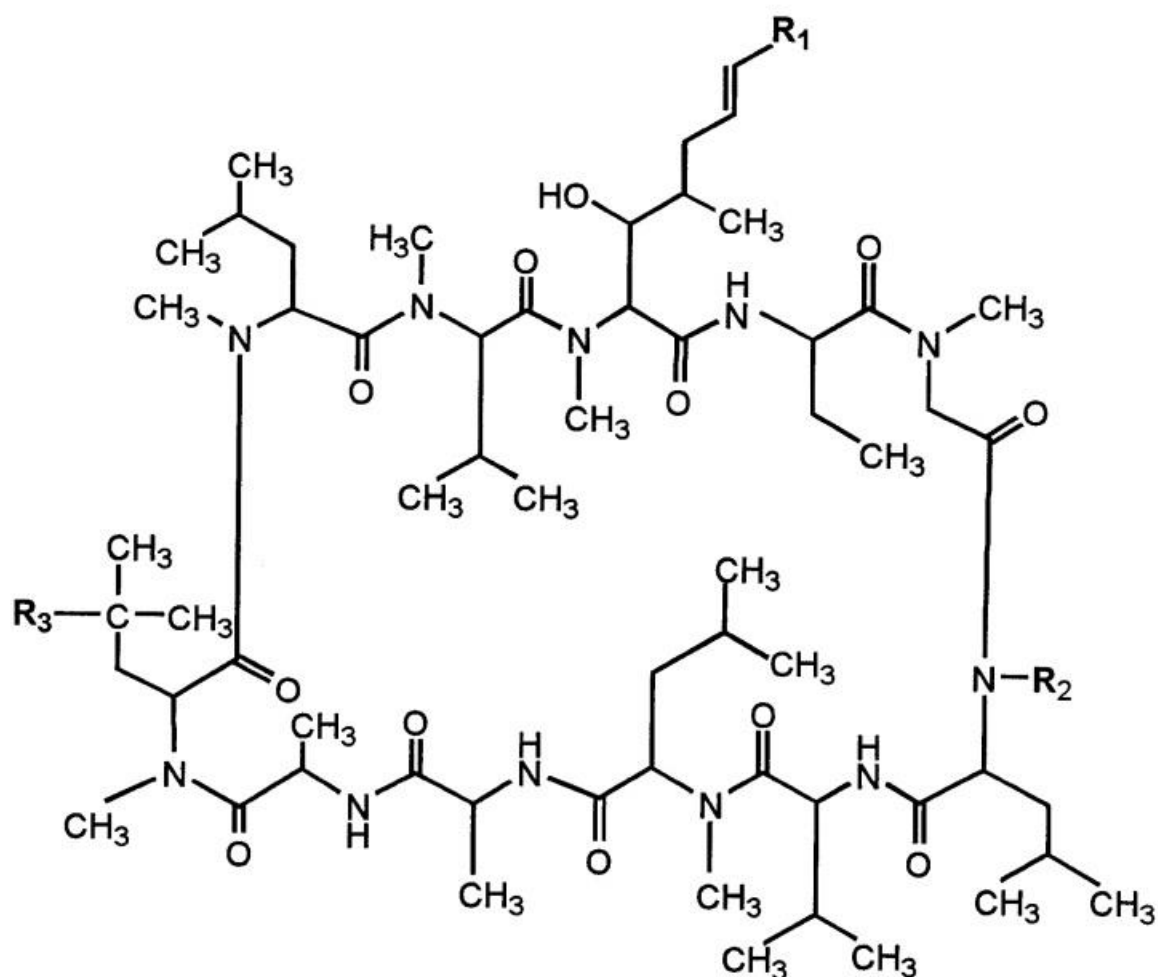


Figure 5 : Localisation de la Ciclosporine A dans le globe oculaire.

La cornée est divisé en trois parties : (i) l'épithélium externe, (ii) le stroma et (iii) l'endothélium interne comme vu en figure 1. La concentration de ciclosporine mesurée dans l'épithélium est bien supérieure à la concentration retrouvée dans l'endothélium et dans le stroma (19).

Les différents métabolites de la ciclosporine (AM1, AM4N, AM9) (figure 6) interviennent peu sur l'activité thérapeutique mais peuvent avoir une légère toxicité, notamment rénale. De plus, ils diminuent bien entendu la quantité initiale de ciclosporine (20). Les techniques d'identifications des produits de dégradations sont nombreuses, que ce soit par CLHP, LC-MS/MS ou par des techniques d'immuno-essais telles que l'ACMIA. Les études ont montrés que l'absorption sanguine de CsA est plus faible par application oculaire (~ 81ng/mL) qu'après un traitement systémique (~ 256 ng/mL). Néanmoins, la concentration de métabolites est plus

élevé par application oculaire (~ 378 ng/mL) que par traitement systémique (~ 317 ng/mL) (21).



	R₁	R₂	R₃
CsA	CH ₃	CH ₃	H
AM4N	CH ₃	H	H
AM1	CH ₂ OH	CH ₃	H
AM9	CH ₃	CH ₃	OH

Figure 6 : Structure de la CsA et de ses métabolites : AM1, AM4N et AM9. Adapté de l'article *Evaluation of essential parameters in the chromatographic determination of cyclosporin A and metabolites using a D-optimal design* de M. Hermann, H. Christensen.

Toutes les spécialités hors voie ophtalmiques existantes à base de ciclosporine sont commercialisées par le laboratoire NOVARTIS Pharma SAS. Celles-ci sont répertoriées dans le tableau 2. Nous pouvons remarquer la présence d'alcool éthylique dans les spécialités de ciclosporine destinées pour la voie orale. Cela est due à la faible solubilité de la ciclosporine dans l'eau ou les solutions aqueuses (12, 13). La présence d'alcool éthylique sera particulièrement problématique dans la formulation d'un collyre. Les autorités compétentes (ANSM, ARS) préconisent l'utilisation de spécialités pharmaceutiques lorsqu'elles existent et sont adaptées pour des préparations hospitalières. Cependant une forte teneur en alcool éthylique pourra poser des problèmes d'observance chez le patient traité par collyre. Une étude menée sur 36 volontaires a prouvé que l'administration ophtalmique de solution contenant de l'alcool éthylique est à l'origine d'effets secondaires comme des brûlures, démangeaisons, larmoiements, rougeurs et maux de tête (22). Si cette solution est appliquée, il faudra donc trouver un moyen de diminuer le taux d'alcool éthylique dans notre collyre.

La principale différence entre le Sandimmun® et Neoral® provient des excipients et notamment par la présence d'huile de ricin qui améliore la solubilité de la ciclosporine. Une étude effectuée sur vingt patients ayant subi une greffe de poumon a montré la meilleure tolérance du Neoral® par rapport au Sandimmun® à 3 mois. Bien qu'une diminution du taux de rejet soit présente dans les deux groupes, le groupe ayant été traité au Neoral® a pu bénéficier d'une réduction de dosage ainsi qu'une amélioration du volume expiratoire maximale par seconde (VEMS) pendant la durée du traitement. Cette amélioration du VEMS est supérieure au groupe traité au Sandimmun®, avec respectivement 0.70 ± 0.11 L et 0.39 ± 0.10 L ($p < 0.05$). Cette

meilleure biodisponibilité du Neoral® peut être expliquée par la présence d'huile de maïs (23).

Concernant les spécialités ophtalmiques de ciclosporines, deux collyres à base de ciclosporines sont actuellement sur le marché, (i) le Restasis® et (ii) l'Ikervis®.

Le Restasis® est fabriquée par le laboratoire ALLERGAN et est commercialisé aux Etats-Unis. En France, il n'est disponible que sous autorisation temporaire d'utilisation (ATU). Il est régulièrement délivré à HEH. Le Restasis®, dosé à 0.05% (0,5 mg/mL), est indiqué afin d'augmenter la production de larmes chez les patients dont la production de larmes est présumée être supprimée, en raison de l'inflammation oculaire associée à une keratoconjonctivite sèche. Son osmolarité est comprise entre 230 et 320 mOsmol/kg et son pH entre 6.5 et 8.0 ce qui respecte les conditions pour l'administration ophtalmique. Le dosage est d'une goutte toutes les 12 heures (figure 7). La spécialité se présente sous la forme d'une émulsion homogène blanche opaque à légèrement translucide stérile et sans conservateurs, dans des conditionnement unidoses de 0.4mL (24).

Les excipients (tableau 2) sont : (i) de la glycérine utilisée comme conservateur antimicrobien (25), (ii) de l'huile de ricin utilisé comme véhicule lipophile (26), (iii) du polysorbate 80 ou Tween 80 utilisé comme agent émulsifiant (27), (iv) des carbomères copolymères de type A aux propriétés stabilisantes (28), (v) de l'hydroxyde de sodium, qui est un conservateur, pour ajuster le pH qui doit être proche de celui des larmes (6,9-7,5) (29) et (vi) de l'eau purifiée comme solvant.

Spécialité	Voie d'administration	Forme Galénique	Dosage en Ciclosporine	Excipients
Neoral®	Orale	Capsule	10mg, 25mg, 50mg, 100mg	Alpha tocophérol, alcool éthylique 11.9% v/v, huile de ricin polyoxyéthylénée, propylène glycol, glycérine, glycérol
Neoral®	Orale	Solution buvable	100mg/mL	Alpha tocophérol, alcool éthylique 11.9% v/v, huile de ricin polyoxyéthylénée, huile de maïs, propylène glycol
Sandimmun®	Orale	Capsule	25mg, 50mg, 100mg	Alcool éthylique 12.7% v/v
Sandimmun®	Intraveineuse	Solution Injectable	50mg/mL	Huile de ricin polyoxyéthylénée, alcool éthylique 32.9% v/v
Sandimmun®	Orale	Solution buvable	100mg/mL	Alcool éthylique 12.5% v/v
Restasis®	Locale	Collyre	0,5mg/mL (0.05%)	Glycérine, huile de ricin, polysorbate 80, carbomères, hydroxyde de sodium, eau
Ikervis®	Locale	Collyre	1mg/mL (1%)	Chlorure de cetalkonium, glycérol, tylopaxol, poloxamere, hydroxyde de sodium, eau

Tableau 2 : Les différentes spécialités à usage humain contenant de la ciclosporine (30).

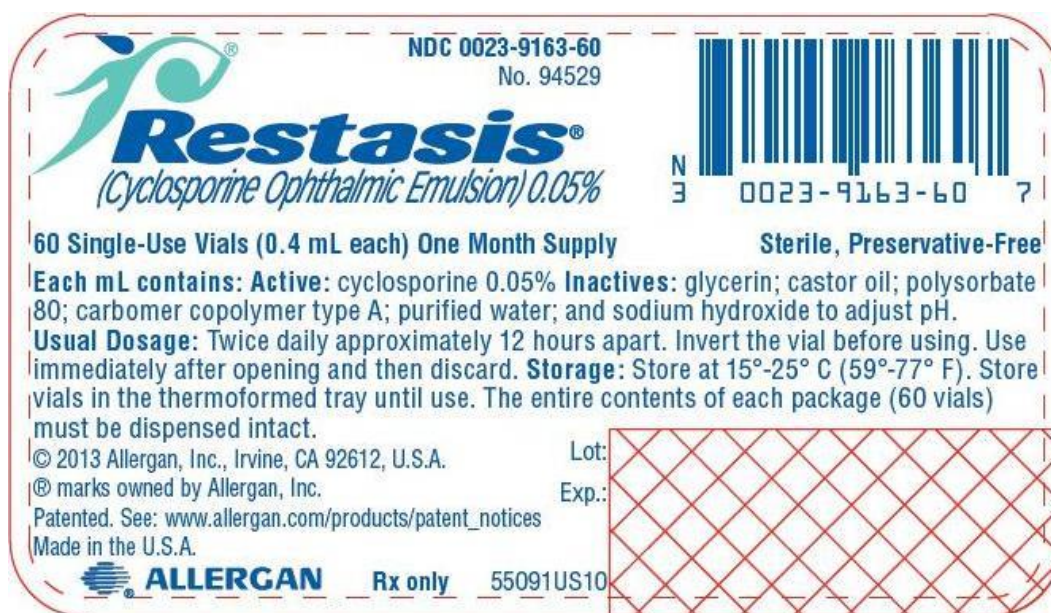


Figure 7 : Etiquette du Restasis® mentionnant tous ses excipients (24).

Il est formellement contre indiqué d'utiliser Restasis® en cas d'hypersensibilité à un des excipients, d'une infection oculaire ou d'une kératite herpétique. Le principal effet indésirable pouvant survenir lors de l'utilisation du RESTASIS® est une inflammation de l'œil, remarqué dans 17% des cas. D'autres effets indésirables ont été remarqués dans 1 à 5 % des cas comme des conjonctivites, des douleurs à l'œil, des prurits, des hypersensibilités ou encore des troubles de la vision. La conservation du collyre s'effectue à température ambiante, entre 15°C et 25°C.

L'Ikervis® 1 mg/mL est un collyre à base de ciclosporine sous forme de récipient unidose. L'ikervis® est synthétisé par le laboratoire SANSEN S.A.S et ne possède pas d'AMM, mais dispose d'une ATU depuis le 17 décembre 2013 pour le traitement de la kératoconjonctivite sèche chez des patients adultes présentant une kératite sévère ou des lésions de la cornée qui ne s'améliorent pas malgré l'instillation de substituts lacrymaux (31).

Les excipients (tableau 1) sont (i) le chlorure de cetalkonium utilisé comme conservateur, (ii) le glycerol utilisé comme véhicule, (iii) le tylopaxol utilisé comme tensio-actif, (iv) le poloxamere utilisé comme émulsifiant, (v) de l'hydroxyde de sodium, afin d'ajuster le pH qui doit être proche de celui des larmes (6,9-7,5) et (vi) de l'eau pour préparation injectable utilisé comme solvant. L'Ikervis[®] est contre indiqué chez l'enfant, le nourrisson et le nouveau née. Les effets indésirables très fréquents (touchant plus de 1 utilisateur sur 10) sont l'irritation et la douleur oculaire. L'Ikervis[®] a une durée de conservation de 36 mois à température ambiante, dans l'emballage d'origine.

En 2012, seulement 8 PUI Françaises réalisaient des collyres à base de ciclosporine. Cinq dosages sont principalement réalisés : 2%, 1%, 0,5%, 0,1% et 0,05%. Elles sont réalisées dans leur grande majorité (7 PUI) à partir de la solution buvable de CsA Sandimmun[®] 100 mg/mL (4). Pour une administration orale, le Neoral[®] en solution buvable 100 mg/mL est mieux toléré que le Sandiummum[®] notamment grâce à la présence d'huile de ricin (23). Cependant, pour une préparation ophtalmique, les PUI préfèrent utiliser le Sandimmun[®]. Comme vu dans le tableau 1, le Sandimmun[®] ne possèdent que de l'alcool éthylique comme excipients alors que le Neoral[®] possède aussi de l'huile de maïs ainsi que du propylène glycol. Il est donc plus facile de partir de la spécialité possédant le moins d'excipients pour effectuer une évaporation partielle de l'alcool, et d'ajouter ensuite l'huile de ricin.

Actuellement, il n'existe aucune spécialité à 2%, celle-ci est par conséquent la plus fabriquée en PUI. Elle est réservé majoritairement aux patients ayant eu une greffe de cornée. Le dosage à 2% a montré son efficacité à long terme dans cette indication (15, 32).

4. Conclusion

L'usage ciclosporine a largement été développé depuis sa découverte à la fin des années soixante-dix, principalement en tant qu'immunosuppresseur dans le traitement de prévention des rejets de greffe. Actuellement, plusieurs spécialités contenant de la ciclosporine sont disponibles, mais aucune n'est réellement adapté au traitement de prévention du rejet de greffe de cornée, autrement appelé kératoplastie. Un traitement sous forme de collyre de ciclosporine dosé à 2% est envisagé pour la prévention d'un rejet de greffe de cornée. De nombreuses PUI tentent de développer des collyres de CsA 2%. Cependant, le développement d'une telle préparation requiert de nombreux tests, contrôle et un process de production validé. La Pharmacopée Européenne ainsi que les BPP sont très stricte au sujet des collyres, qui sont des conditionnements stériles. Le groupement hospitalier Edouard Herriot a mis en place un protocole et a développé un collyre de ciclosporine 2% qui répondant aux critères de qualité, sécurité et efficacité.

CHAPITRE 2 - DEVELOPPEMENT GALENIQUE EN CONTEXTE HOSPITALIER

1. Introduction

La pharmacie de l'hôpital Edouard Herriot est gérée par Madame Pivot Christine, chef de service. Elle se localise au niveau du pavillon X de l'établissement et se répartie en plusieurs unités fonctionnelles présentées en figure 8 : (i) les médicaments, (ii) les dispositifs médicaux, (iii) la fabrication et contrôle des médicaments, (iv) la vente aux particuliers, (v) les essais cliniques et (vi) les chimiothérapies

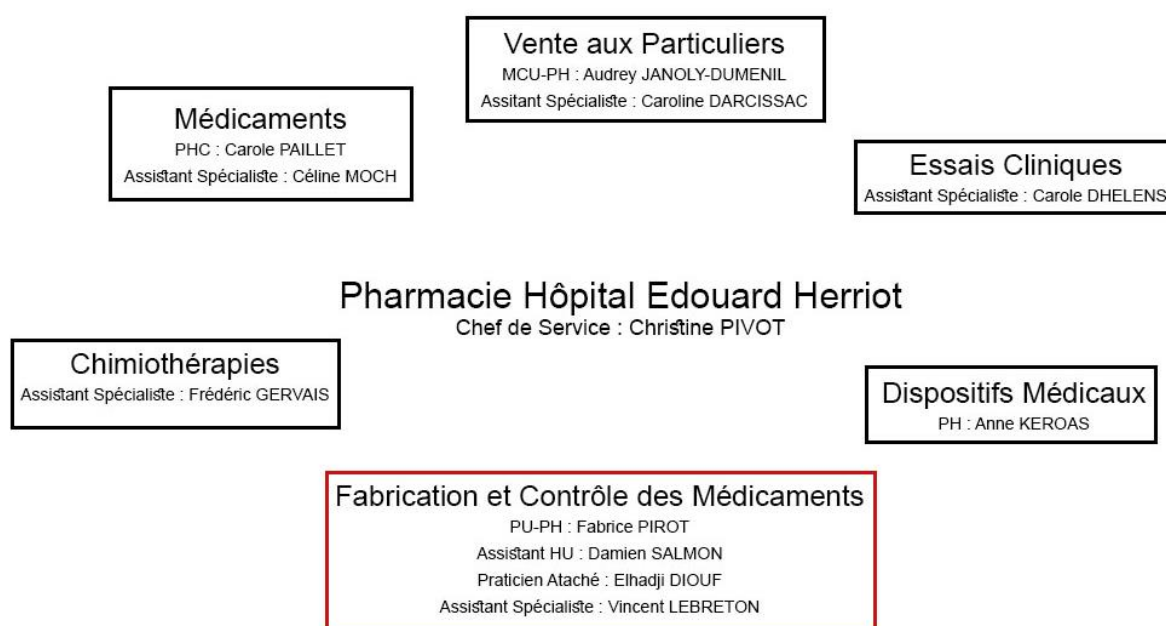


Figure 8 : Différentes Unités fonctionnelles de la Pharmacie HEH.

L'unité de fabrication et de contrôle des médicaments comporte quatre secteurs : (i) la pharmacotechnie, (ii) galénique, (iii) la nutrition parentérale à domicile et (iv) le laboratoire de contrôle.

Deux types de médicaments sont fabriqués au sein de cette unité à savoir les solutions stériles et des formes galéniques non stériles sèches ou liquides

Avec environ cent mille unités fabriquées en 2011 (tableau 3), que ce soit en solution stériles avec les poches de nutriments pour enfants prématurés, les flacons stériles, ou encore les formes non stériles, la pharmacie de HEH possède une activité de production importante. Aujourd'hui, la pharmacie produit environ deux cent mille unités par an.

Solutions Stériles		
Technique	Type	Nombre d'unités
Stérilisation par autoclave	Flacons	19301
	Flacons	8000
Stérilisation par filtration	Poches de Nutrition Hospitalière	3221
	Poches Nutrition à Domicile	14200
Formes non Stériles		
Préparations Hospitalières	Gélules	38700
	Solutions	1088
	Collyres	915
	Seringues Cefuroxime	1321
	Sachets	0
	Pâteux	0
	Suppositoires	2133
Préparations Magistrales	Gélules	484
	Solutions	617
	Collyres	0
	Seringues Cefuroxime	
	Sachets	203
	Pâteux	57
	Suppositoires	264
Total		90504

Tableau 3 : Préparations des médicaments (fabrication de l'année 2011) à la pharmacie d'HEH.

Environ mille unités de collyres sont fabriquées par an par la pharmacie d'HEH. A ce jour, 4 collyres sont fabriqués dans la PUI : (i) Ceftazidime, (ii) Amphotéricine B, (iii) Gentamicine, (iv) Vancomycine. L'hôpital peut également privilégier l'approvisionnement de certains collyres, fabriqués dans d'autres hôpitaux à travers de conventions passés avec ces établissements, comme c'est le cas pour les

collyres de CsA à 2% qui est actuellement commandé à l'hôpital XV-XX à Paris. Actuellement, les collyres de CsA dosée à 2% et à 0,5% sont commandés au Centre Hospitalier National d'Ophtalmologie (CHNO) à l'hôpital XV-XX à Paris. Ils sont délivrés en rétrocession directement au patient pour un usage à domicile. La délivrance du collyre au patient s'accompagne d'un dépliant constitué des informations nécessaires au patient (figure 9).

Avant toute première dispensation de collyres, merci de vous présenter au Bureau des Admissions (Bâtiment 25).

Documents administratifs à apporter :

- Pièce d'identité
- Carte vitale ou attestation de droits sécurité sociale en cours de validité
- Prise en charge mutuelle



Hôpitaux de Lyon

Dispensation de collyres

INFORMATIONS



VOS RENDEZ-VOUS

_____	—/—/—	—h—
_____	—/—/—	—h—
_____	—/—/—	—h—
_____	—/—/—	—h—
_____	—/—/—	—h—
_____	—/—/—	—h—
_____	—/—/—	—h—
_____	—/—/—	—h—
_____	—/—/—	—h—
_____	—/—/—	—h—

Notes :



VENTE AU PUBLIC DE MEDICAMENTS

**Groupe Hospitalier
Edouard Herriot**

www.chu-lyon.fr


**Groupement Hospitalier
Edouard Herriot**

**Antenne pharmaceutique de vente au
public des médicaments**
Pavillon K (à l'entrée principale de l'hôpital,
face au poste de sécurité)

Pharmaciens référents

Valérie CHAMOUARD
Thomas DELANNOY
Service : 04 72 11 03 91
Télécopie : 04 72 11 04 11
Mail : valerie.chamouard@chu-lyon.fr
thomas.delannoy@chu-lyon.fr

Ouvert :
- le matin de 9h à 13h15 du **lundi au vendredi**
- l'après-midi de 14h à 16h30 les **mardi, jeudi et vendredi**
- les **samedi, week-end et jour férié** : pas de dispensation.



5, Place d'Arsonval - 69437 LYON CEDEX 03

CONSIGNES À RESPECTER

A conserver au réfrigérateur une fois ouvert.

Se conserve 30 jours maximum après ouverture.

Administration :

Bien se **laver les mains** avant d'instiller le collyre.

L'embout du flacon **ne doit pas être en contact** avec les doigts, l'œil ou les paupières.

Instiller le collyre au milieu de la paupière inférieure, en regardant vers le haut et en tirant légèrement la paupière inférieure vers le bas.



Si plusieurs collyres vous ont été prescrits **espacer de 5 minutes** les administrations.

Le port des lentilles est formellement contre-indiqué pendant la durée du traitement.

 **PEREMPTION DES COLLYRES**

Collyre de ciclosporine 2%	
Date ouverture 1 ^{er} flacon	Date de péremption (date d'ouverture + 30 jours)
Date ouverture 2 ^e flacon	Date de péremption (date d'ouverture + 30 jours)

Ce collyre est fabriqué par l'hôpital des QUINZE-VINGT à Paris, il est donc nécessaire de nous appeler pour la première délivrance ainsi que pour les suivantes si le traitement est à renouveler.
Un **délai de deux semaines** est nécessaire pour l'obtenir.

Figure 9 : Dépliant donné aux patients ambulatoires lorsqu'ils sont sous traitement de collyre ciclosporine 2%.

Selon la Pharmacopée Européenne, Il est indiqué de conserver le collyre au réfrigérateur et de l'utiliser sous 30 jours après l'ouverture (3). Les patients peuvent contacter la rétrocession ou la PUI pour toute question relative au traitement.

Ce système de commande pose de nombreuses problématiques que ce soit au niveau (i) de l'approvisionnement, (ii) du coût ou encore (iii) de la date limite d'utilisation du collyre.

Les collyres sont commandés en fonction du besoin du patient. Pour limiter le coût des frais de ports, égale pour un ou plusieurs collyres, la pharmacie d'HEH regroupe l'approvisionnement des collyres et effectue donc une ou deux commandes (en fonction des besoins), en début et milieu de chaque mois. Cependant cela ne permet pas la prise en charge rapide de patients faisant la demande d'un collyre en fin de mois, après la commande. Enfin, un patient peut arrêter son traitement et ne pas alerter l'hôpital. Le collyre est tout de même commandé et peut périmer sans possibilité d'être réutilisé pour un autre patient.

Les collyres de CsA 0,5% sont achetés à 55,55€ TTC au CHNO. Les collyres de CsA 2% sont achetés 64.94€ TTC au CHNO. Ils sont donc vendus à 86.94€ TTC au patient (prix d'achat ajouté au prix d'une consultation de 22€ comme décrit au Journal Officiel) (33). Les frais de ports de 11€ sont aux frais de l'hôpital. L'envoi se fait dans une boîte adaptée aux conditions de conservations du collyre (température ambiante) sous un délai d'environ 1 jour. Le patient a aussi la possibilité de se faire livrer à domicile mais les frais de ports sont facturés à ses frais.

La DLU du collyre est de 6 semaines donc un stockage est difficile et non recommandé. De plus la DLU du produit étant faible et déjà réduite par un délai d'approvisionnement de 1 semaine, un retard peut ne pas permettre au patient de terminer son traitement ordonné pour un mois.

Ces problématiques ont orienté la pharmacie HEH vers l'obtention de collyre de CsA via un autre moyen. La première hypothèse de la pharmacie d'HEH est présenté en figure 10. Le Sandimmun[®] buvable ainsi que l'huile de ricin sont utilisés comme matière première. L'huile de ricin subit une filtration clarifiante et le mélange avec la CsA est autoclavé puis stocké en flacon de verre (ayant déjà subit une stérilisation par chaleur humide). Enfin, la dernière étape consiste en un transfert aseptique dans des flacons en PEBD. Tout le protocole de cette première hypothèse est détaillé en annexe 1. Cependant, de nombreux contrôles sont nécessaires au développement de la préparation. De plus, d'autres alternatives sont à étudier pour éventuellement modifier le processus de fabrication et l'adapter aux besoins et aux capacités de la PUI du groupement hospitalier Edouard Herriot.

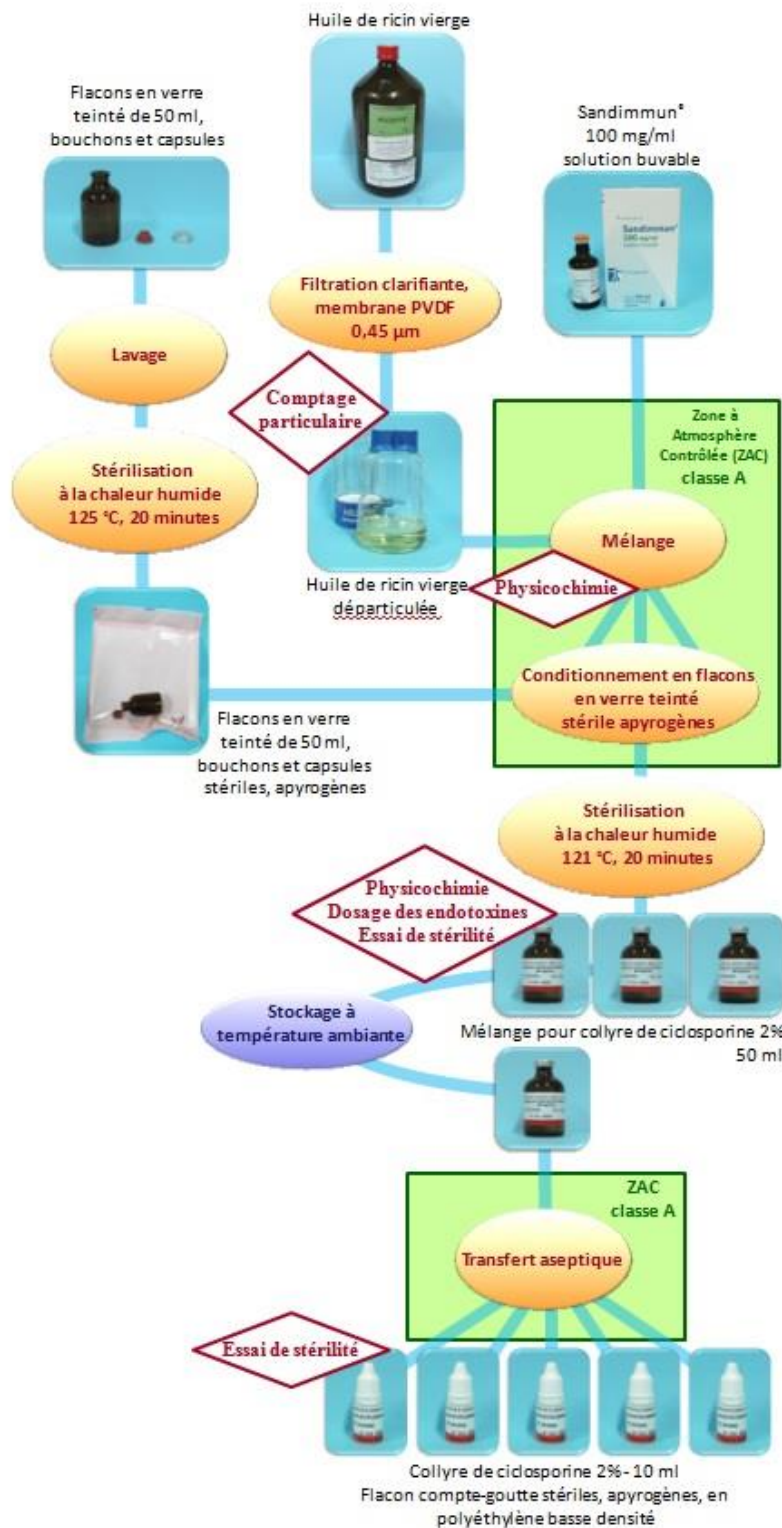


Figure 10 : Schéma de la première hypothèse de préparation des collyres de ciclosporine développé dans l'unité de préparation et de contrôle du médicament de la pharmacie du Groupement Hospitalier E. Herriot. Telle que présentée dans le poster Préparation hospitalière de collyres à la ciclosporine ? Rationalisation galénique et pharmacotechnique de D. Salmon et al. au Congrès National des Pharmaciens des Hôpitaux.2013.

2. Matières premières et articles de conditionnement

2.1. Choix du principe actif

En ce qui concerne le choix du principe actif, il est possible d'utiliser une spécialité déjà existante ou de la ciclosporine pure en poudre. Les spécialités existantes qui peuvent être utilisées sont le Sandimmun® injectable ou le Sandimmun® ou Neoral® en solution buvable.

Le Sandimmun® injectable contient 32.9% d'alcool éthylique comme vu précédemment, certaines équipes proposent donc d'effectuer une évaporation de l'alcool éthylique sous flux laminaire puis de compenser le volume évaporé par l'équivalent en larmes artificielles (4). Le taux final d'alcool éthylique serait de l'ordre de 13.2% après cette opération (34). Une filtration stérilisante de la solution avant préparation du collyre n'est pas nécessaire car la solution injectable est déjà stérile. Une préparation aseptique est donc suffisante si aucun autre moyen de stérilisation n'est possible.

Les solutions buvables de ciclosporine (Sandimmun® et Neoral®) ne contiennent que 13% d'alcool éthylique (m/v), soit une concentration entre 2 et 3 fois inférieure à la solution injectable. Une évaporation est possible pour diminuer encore ce taux et augmenter la tolérance locale. Cette solution est actuellement retenue par plusieurs PUI. Cependant l'évaporation de l'alcool éthylique reste tout de même une opération difficilement reproductible et relativement longue (24h d'évaporation sous une hotte à flux laminaire). Le taux résiduel d'alcool éthylique après évaporation est de 2.5% à partir de la solution buvable (34). De plus, une filtration de la solution buvable, qui est une forme non stérile, est nécessaire pour garantir la stérilité du collyre.

Notons aussi que l'utilisation d'une forme non parentérale soit en contradiction avec les Bonnes Pratiques de Préparation (BPP), qui recommande de partir d'une spécialité stérile si cela est possible et présente une balance bénéfice/risque acceptable (4).

L'utilisation d'une spécialité buvable déjà existante pose donc de nombreux défis, notamment celui de la teneur résiduelle en alcool éthylique après évaporation. En effet cette teneur, bien que conforme au taux tolérable par l'œil qui est d'environ 3%, pourrait expliquer l'apparition d'effets secondaires (34). Les troubles de la surface cornéenne sont la troisième cause d'échec des kératoplasties (35), et cette présence d'alcool éthylique est donc une réelle problématique. Notons que partir de la solution injectable donnera une teneur en alcool éthylique après évaporation supérieur au taux tolérable par l'œil.

De plus la viabilité des cellules cornéales au contact d'un collyre possédant de l'alcool éthylique, et donc ayant subi une phase d'évaporation, est inférieur à la viabilité cellulaire d'un collyre de CsA n'ayant pas subi d'évaporation. En effet, une formule oléo-aqueuse à base d'alcool éthylique présente un indice d'irritation oculaire aux alentours de 20, ce qui est considéré comme un produit moyennement irritant selon la législation française. Un collyre à base d'huile de ricin possède quant à lui un indice d'irritation oculaire aux alentours de 4, ce qui est considéré comme un produit faiblement irritant selon la législation française (tableau 4) (34). Cet indice d'irritation oculaire est calculé grâce à de nombreux tests effectués sur des lapins selon la nomenclature décrite dans l'article I annexe II de Journal Officiel dans l' Arrêté 1992-06-09 art. 1 JORF 10 juillet 1992.

Score	Irritation
≤ 15	Faiblement Irritant
]15;30]	Moyennement Irritant
]30;50]	Irritant
>50	Très Irritant

Tableau 4 : Evaluation de l'irritation oculaire.

L'utilisation de poudre de ciclosporine pure, n'est à ce jour pas pratiquée en PUI. La matière première serait diluée dans un solvant et ne nécessiterait qu'une filtration stérilisante pour être en accord avec les BPP (4). Cependant les PUI préfèrent encore utiliser la solution buvable de Sandimmun® par soucis pratique. En effet, le Sandimmun® est généralement présent à l'hôpital de façon permanente et n'a pas besoin d'être commandé individuellement. La figure 11 répertorie les avantages et inconvénients de chaque source de principe actif.

		Avantages	Inconvénients
Solution Buvable	Néoral®	• Recommandation BPP • Contient un solvant huileux	• Coût • 11,9% d'alcool éthylique v/v et ≈ 2,5% après évaporation • Contient beaucoup d'excipients • Non stérile
	Sandimmun®	• Recommandation BPP • Protocole connu et testé	• Coût • 12,7% d'alcool éthylique v/v et ≈ 2,5% après évaporation • Non stérile
Solution Injectable	Sandimmun®	• Recommandation BPP • Stérile	• Coût • 32,9% d'alcool éthylique v/v et ≈ 13,2% après évaporation
Poudre de Ciclosporine Pure		• Pas de présence d'alcool • Aucun excipient • Coût	• Non recommandé en premier instance par les BPP • Non stérile

Tableau 5 : Schéma récapitulatif des avantages et inconvénients des différentes source du principe actif dans la préparation des collyres de CsA 2% au groupement hospitalier Edouard Herriot.

2.2. Choix des Excipients

L'hydrophobicité de la CsA ($\log P = 2.92$) (13) et par conséquent sa faible solubilité dans l'eau (i.e. $6.66\mu\text{g/mL}$) résulte en l'impossibilité de formuler la CsA dans un solvant aqueux sauf par complexation avec des cyclodextrines ou l'utilisation de transporteurs colloïdaux (12) tels que des micelles, des émulsions, des liposomes ou des nanoparticules (12, 36). Par exemple, les nanoparticules solides cationiques contenant de la CsA ont prouvé leur efficacité. Ces derniers sont bien tolérés et absorbés correctement dans l'œil du patient. Cependant leur formulation reste très difficile à mettre en place à l'échelle d'une PUI (37). Les différentes formulations de la CsA dans un solvant aqueux sont répertoriées dans le tableau 5.

Forme de Dosage	Système	Avantages	Inconvénients
Solution	Huile	Bonne dissolution de la CsA	Faible tolérance, répartition non homogène
	α -cyclodextrine	Améliore la pénétration cornéenne	Administrations multiples
	Amplificateur de pénétration	Améliore la pénétration cornéenne	Faible tolérance, répartition non homogène
Porteur Colloïdale	Micelle	Haute concentration cornéenne à 24H	Peu stable
	Emulsion chargé négativement	Efficace dans le syndrome de l'œil sec, approuvé par la FDA	Brûlure oculaire
	Emulsion chargé positivement	Améliore le temps de rétention oculaire, haute concentration cornée et conjonctive	Tolérance à évaluer
	Liposome	Bonne tolérance, améliore le temps de survie des greffon de cornée	Faible taux de rétention dans la cornée
	Nanoparticule Polycaprolactone (PCL)	Améliore le temps de rétention extraoculaire, bonne assimilation cornéenne	Aucun effet sur les greffons
	Nanoparticule de Polyalkylcyanoacrylate (PACA)	Améliore l'absorption cornéenne	Faible tolérance, répartition non homogène
	Nanoparticule de Chitosan	Bonne tolérance, haute concentration extraoculaire	Origine des Chitosans

Tableau 6 : Avantages et inconvénients des différents systèmes de délivrance de collyre de CsA. Reproduit partiellement de l'article Cyclosporine A delivery to the eye: A pharmaceutical challenge de F. Lallemand al. 2003, 56(3) 307-318.

L'utilisation de solvants huileux semble donc beaucoup plus facile pour la formulation de la CsA. Une étude a été effectuée sur 26 volontaires auxquels ont été administrés soit une solution huileuse de ciclosporine, soit une solution huileuse seule. La perméabilité de la solution huileuse de ciclosporine au niveau épithéliale a été multipliée par 7.03 ($p < 0.001$) alors que celle de la solution huileuse seule a été multipliée par 6.68 ($p < 0.001$). Aucune différence significative n'a été montrée ce qui permet de conclure que c'est à l'huile que revient la faculté d'augmenter la perméabilité épithéliale de l'œil (38).

Quatre solvants différents sont possibles, (i) l'huile d'olive, (ii) l'huile de mygliol, (iii) l'huile de maïs ou (iv) l'huile de ricin. L'huile d'olive induit une pénétration intra cornéenne de la CsA inférieure aux autres huiles avec notamment 20.75% d'absorption pour l'huile de ricin et 11.13% d'absorption pour l'huile d'olive (17). L'innocuité de l'huile de ricin a été démontrée pour préparer un collyre de CsA (39, 40). Actuellement, c'est d'ailleurs l'huile de ricin qui est utilisée dans pratiquement toutes les formulations de CsA en PUI.

Notre première hypothèse était d'ajouter du Poloxamer 407 pour faciliter la dissolution de la ciclosporine dans l'huile de ricin et protéger le principe actif lors du passage dans l'autoclave par effet thermoprotecteur. La spécialité Ikervis[®] possède d'ailleurs du poloxamer comme agent émulsifiant (tableau 2) ce qui laisse présager une bonne compatibilité avec la ciclosporine. Cependant, les tests effectués à la CLHP (figure 12) et l'ACMIA (AFFINITY CHROME-MEDIATED IMMUNOASSAY) (figure 13) n'ont pas montré une différence significative entre la concentration de ciclosporine dans un collyre huileux avec ou sans l'ajout de poloxamer 407. Nous

avons préparé trois collyres contenant 1g de CsA, 50mL d'huile de ricin et respectivement 0g, 0.05g et 1g de poloxamer 407 en salle stérile. Après dissolution complète de la CsA, nous avons envoyé les flacons au laboratoires d'analyse qui a effectué 10 analyses avec chaque échantillon.

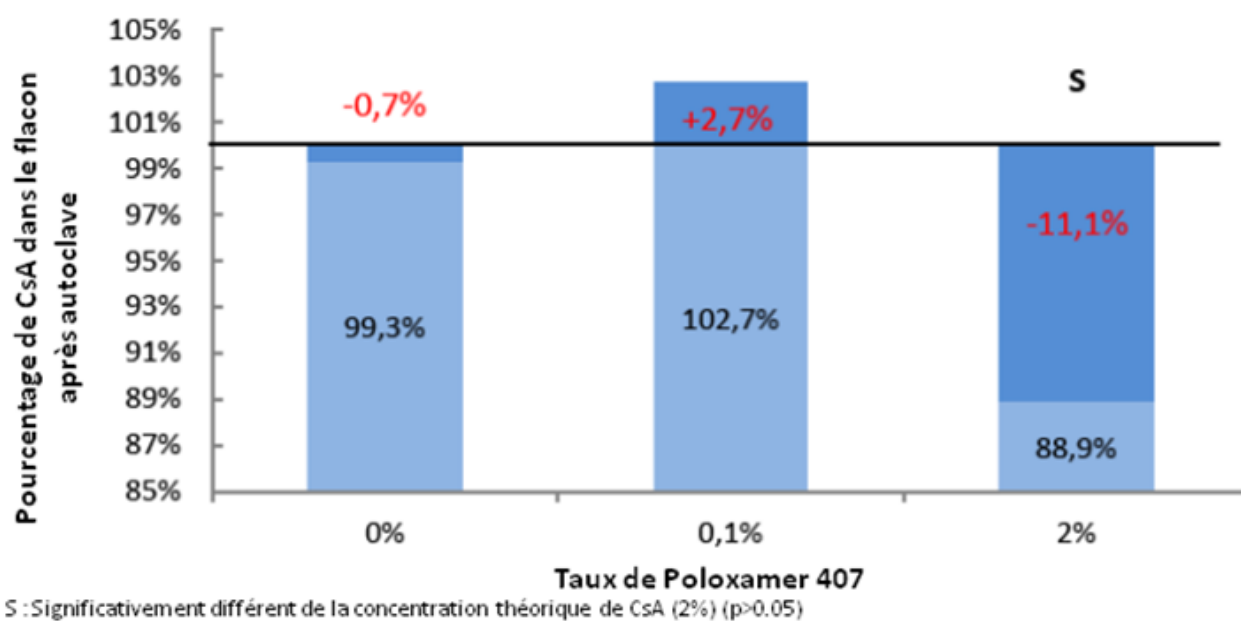


Figure 11 : Variation de la concentration de CsA dans les flacons après autoclave. Dosage par CLHP de collyre de CsA 2% avec 3 concentrations de poloxamer 407 (i.e. 0% ; 0.1% ; 2%).

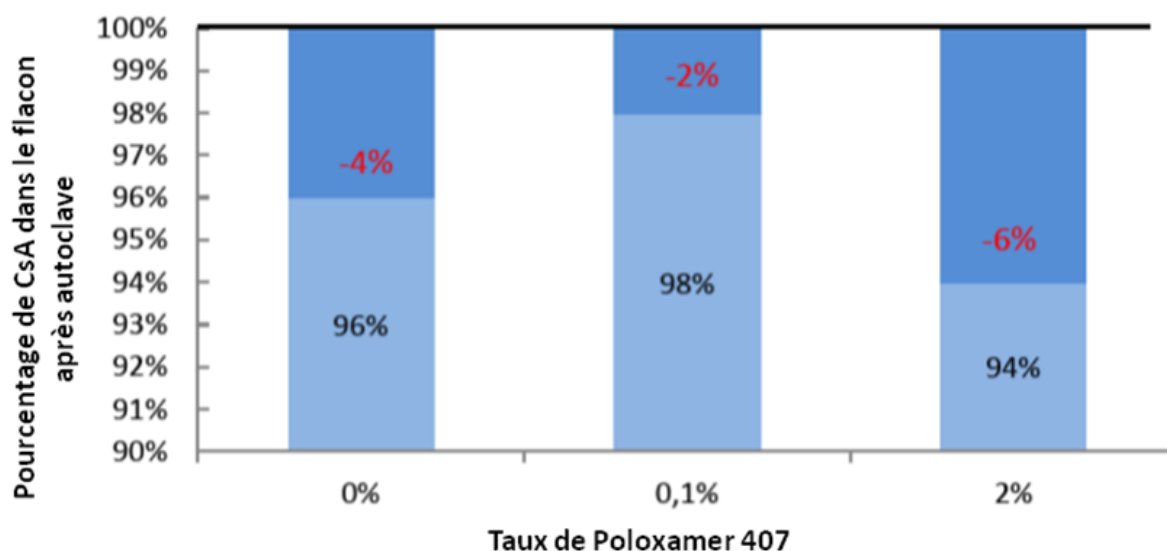


Figure 12 : Variation de la concentration de CsA dans les flacons après autoclave. Dosage par ACMIA de collyre de CsA 2% avec 3 concentrations de poloxamer 407 (i.e. 0% ; 0.1% ; 2%).

2.3. Choix des conditionnements

Un choix pour le conditionnement du produit intermédiaire et pour le produit fini doit être effectué comme il est montré figure 14.

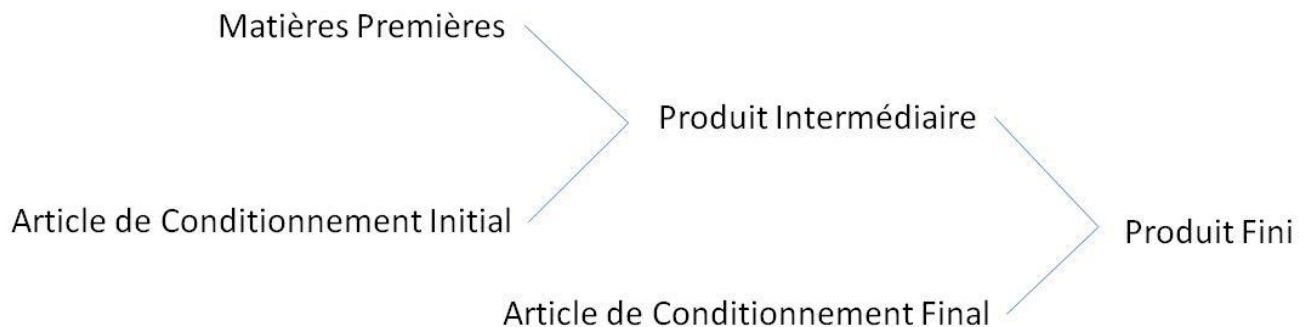


Figure 13 : Schéma récapitulatif du processus de préparation du collyre.

Plusieurs types de flacons sont possibles, (i) des flacons en verre, (ii) des flacons en Polyvinyl Chloride et (iii) des flacons en Polyéthylène haute ou basse densité.

Un flacon en verre peut être utilisé. Il est préférable d'utiliser un verre neutre de type I pour ne pas modifier le pH des collyres (4). Pour des raisons de manipulations, de fragilité et de coûts, nous n'utiliserons pas ce conditionnement pour le collyre final. Cependant, un flacon de 50 mL en verre ambré sera utilisé comme article de conditionnement du produit intermédiaire de stockage de la solution pour collyre avant reconstitution dans les flacons compte-goutte.

L'utilisation de flacons en PVC présente un défaut majeur. En effet, la texture plastifiée du PVC est apportée par le diéthylhexylphtalate (DEHP). Quand des solvants comme l'huile de ricin (pour les formulations huileuses) ou l'alcool éthylique (pour les formulations aqueuses) sont utilisés, de grande quantité de DEHP peuvent être relargués dans la formulation (41, 42). De plus, le PVC est également propice à

l'absorption des médicaments (4). Le recours à un conditionnement en PVC sans DEHP peut être envisagé, ou encore l'utilisation d'un conditionnement n'utilisant pas ces plastifiants. Mais cela induira un coût supplémentaire.

Le polyéthylène ne contient aucune trace de plastifiant comme le DEHP. Un conditionnement en polyéthylène basse densité (PEBD) est d'ailleurs utilisé comme conditionnement primaire des collyres de CsA 2% à l'Hôtel Dieu à Paris (41). Il répond à toutes les caractéristiques nécessaires pour accueillir la solution pour collyre (4).

Une autre problématique intervient au niveau du conditionnement du produit fini, la présence de conservateurs et donc l'utilisation d'un collyre multidose ou unidose.

D'après la Pharmacopée Européenne, les préparations conditionnées en récipients multidoses contiennent un conservateur antimicrobien sauf si la préparation présente elle-même des propriétés antimicrobiennes adéquates ou si le collyre est utilisé au cours d'opération chirurgicale. Sinon, ils sont conditionnés en récipients unidoses ou en récipients multidoses empêchant la contamination microbienne du contenu après ouverture (3). Les conservateurs empêchent une contamination microbienne et fongique de la préparation. Plusieurs familles de conservateurs peuvent être utilisées: les ammoniums quaternaires (avec le chlorure de Benzalkonium), les dérivés organomercurels, les amidines, les alcools, les parabènes et les complexes oxychlorés (4). Cependant des études ont montré la toxicité oculaire de ces conservateurs, que ce soit au niveau des structures superficielles (i.e. cornée, conjonctive) mais aussi des structures plus profondes (i.e. trabéculum, cristallin) (43, 44). Ils provoquent une dissolution du film lacrymale et ont plusieurs effets

secondaires dont (i) un effet détergent, (ii) un effet pro-apoptotique et (iii) un effet pro-inflammatoire (44, 45).

Cet effet détersif des conservateurs sur la phase lipidique provoque, par la diminution du nombre de cellules à mucus et par l'altération des mucines, une diminution de la stabilité du film lacrymale. Ceci peut entraîner une évaporation accrue des larmes qui peut entraîner une sécheresse oculaire chez le patient (43).

En ce qui concerne l'effet pro-apoptotique, les conservateurs activent le complément et provoquent la libération de radicaux libres toxiques à partir de très faibles concentrations (1.10-5%). La croissance cellulaire est stoppée à faible concentration (1.10-3%). Sachant que les concentrations standard des ammoniums quaternaires sont 5 à 10 fois supérieures à celle stoppant la croissance cellulaire, elles entraînent des altérations irréversibles de la membrane cellulaire et des signes d'apoptose après une exposition de 15 minutes seulement (46, 47).

L'effet pro-inflammatoire a été montré par la présence d'une quantité de lymphocytes et de macrophages environ 4 fois supérieure à la normale chez des patients traités par anti glaucomateux contenant des conservateurs par rapport à ceux traités avec des collyres sans conservateurs (43). Ceci a provoqué des modifications morphologiques des cellules épithéliales, mais aussi une kératinisation ou encore une perte de la cohésion tissulaire (48).

C'est ainsi que lors de traitements anti-glaucomateux par collyre contenant des conservateurs, les symptômes d'intolérance locale rapportés par les patients sont environ 3 à 4 fois plus fréquents qu'avec un collyre ne contenant aucun conservateur (figure 15) (49, 50).

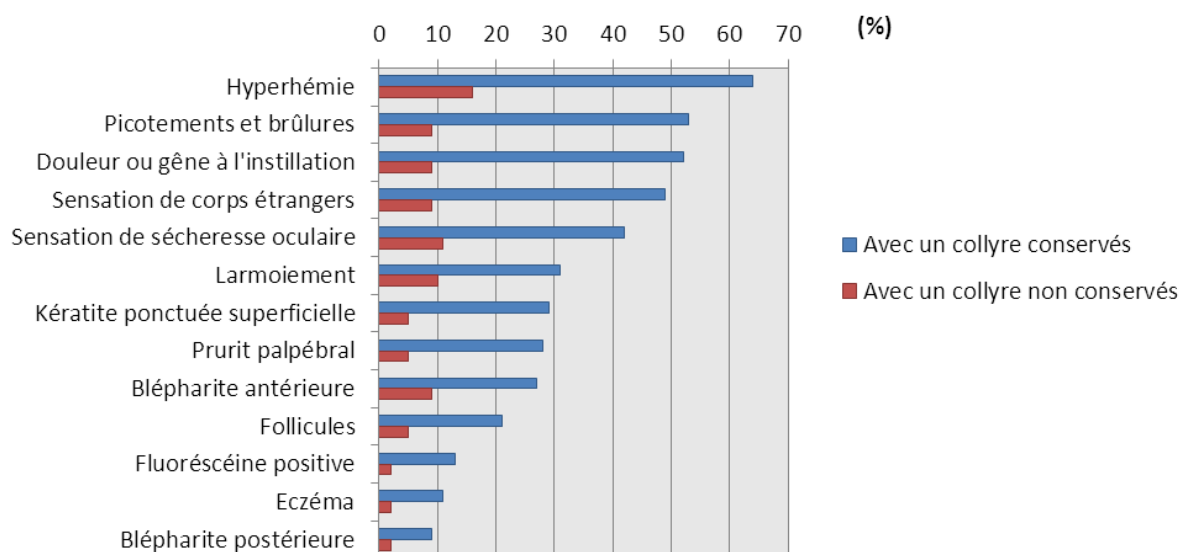


Figure 14 : Fréquence des signes et symptômes fonctionnels avec un collyre conservé et un collyre non conservé (50).

L'usage de conservateurs est donc à proscrire, le plus connu étant le benzalkonium, un ammonium quaternaire, mais la protection antimicrobienne doit tout de même être assurée. La formulation, et plus précisément la CsA ne possède pas d'activité antimicrobienne, plusieurs choix s'offre donc à nous, (i) de nouveaux conservateurs mieux tolérés, (ii) des conditionnements unidose ou (iii) des conditionnements multi-dose contenant un système de protection bactérienne.

Le développement de nouveaux conservateurs sans toxicité a commencé dans les années 90 avec Polyquad® et Dymed®, deux conservateurs à base d'ammonium quaternaire. Plus récemment la Purite, qui est un complexe oxychloro stabilisé, est fréquemment utilisé comme conservateur. Sa particularité est qu'il est instillé à la solution lorsque le patient libère la goutte (43). Il est cependant très difficile d'obtenir à la fois un conservateur ayant une activité antimicrobienne ainsi qu'une innocuité oculaire.

Les conditionnements unidoses ont été écartés en vue de l'utilisation de la CsA, prescrite lors de rejet de greffe ou d'ALD qui sont des usages chroniques, requérant un conditionnement multidose, beaucoup plus pratique pour le patient.

Les conditionnements multidoses contenant un système de protection bactérienne sont détaillés plus bas et consistent en la présence d'un filtre, d'un système anti retour ou d'un système à pression variable pour éviter une contamination bactérienne dans la formulation. Ces conditionnements possèdent de nombreux avantages autres que l'absence de conservateurs. En effet, malgré un système complexe (que nous détaillerons ci-après), leur utilisation reste simple. De plus, la souplesse de leur paroi en PEBD confère une très bonne ergonomie comparée au verre, qui rend l'instillation difficile. Enfin, ces systèmes offrent un avantage économique et écologique indéniable au vue de la taille, relativement petite, et de la capacité du flacon, pouvant être égal à la capacité de 100 flacons unidoses. A ce jour, il existe trois systèmes différents, (i) le système ABAK™, (ii) le système COMOD™ et (iii) le système NOVELIA™.

Le système ABAK™ (d'A privatif et BAK Benzalkonium) est présenté sous la forme d'un collyre multidose muni d'un dispositif comportant une membrane filtrante de 0,2 microns en polyéther sulfone. Le flacon a une contenance de 10 mL (environ 300 gouttes) et est conservable 8 semaines après ouverture (51). Une première préparation ophtalmique de ce type a été commercialisée en France sous le nom Naabak®. Puis d'autre préparation, notamment contre les glaucomes, ont été utilisées sous le nom Timabak®, Cromabak® et Larmabak® (figure 16) (45), tous commercialisé par les laboratoires Théa.



Figure 15 : Collyre multidoses Larmabak® partiellement adapté de la brochure ABAK™ (www.laboratoires-thea.com) des laboratoires Théa.

Le système COMOD™ est fondé sur la combinaison d'une pompe sans air et d'une membrane intérieure flexible. La pompe sans air permet de prélever le produit sans qu'il soit nécessaire d'équilibrer la pression entre l'intérieur et l'extérieur du flacon. La dépression progressive ainsi produite provoque la rétraction de la membrane intérieure délivrant la goutte comme il est montré en figure 17. Ce système ne nécessite qu'un amorçage lors de la première utilisation et est utilisable 12 semaines après ouverture (52). Il est commercialisé par les laboratoires Ursapharm.

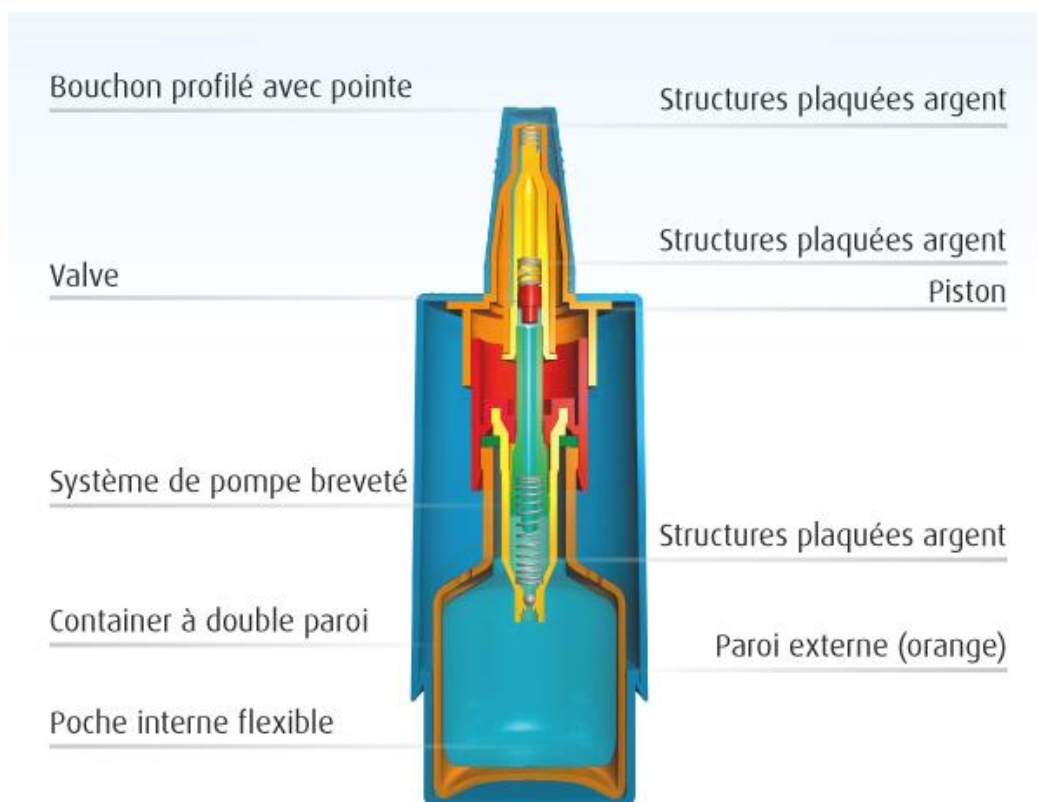


Figure 16 : Schéma descriptif du système COMOD™ partiellement adapté de la brochure COMOD™ (<http://www.ursapharm.fr>) des laboratoires Ursapharm

Le système NOVELIA™ consiste en la présence d'une bague anti retour et d'un système d'évacuation des contaminants. Cet emballage est fabriqué par la société Rexam Inc. dont la branche santé a été acquise en 2015 par la société NEMERA. Un flacon NOVELIA® n'est pas composé de PVC et il n'y a par conséquent aucun relargage de DEHP dans la formulation à base de CsA (figure 18).



Bouchon			HDPE
Embout	Haut		HDPE
	Ressort		Silicone
	Valve		Silicone
	Système d'évacuation		N/C
	Bas		HDPE
Flacon			LDPE

Figure 17 : Schéma descriptif des différents matériaux utilisés pour le conditionnement NOVELIA™ partiellement adapté de la brochure des laboratoires Rexam.

La bouteille est formée de PEBD, le bouchon de PEHD et le système anti-retour et constitué de silicone (54). Son système d'inoculation des gouttes est détaillé figure 19.

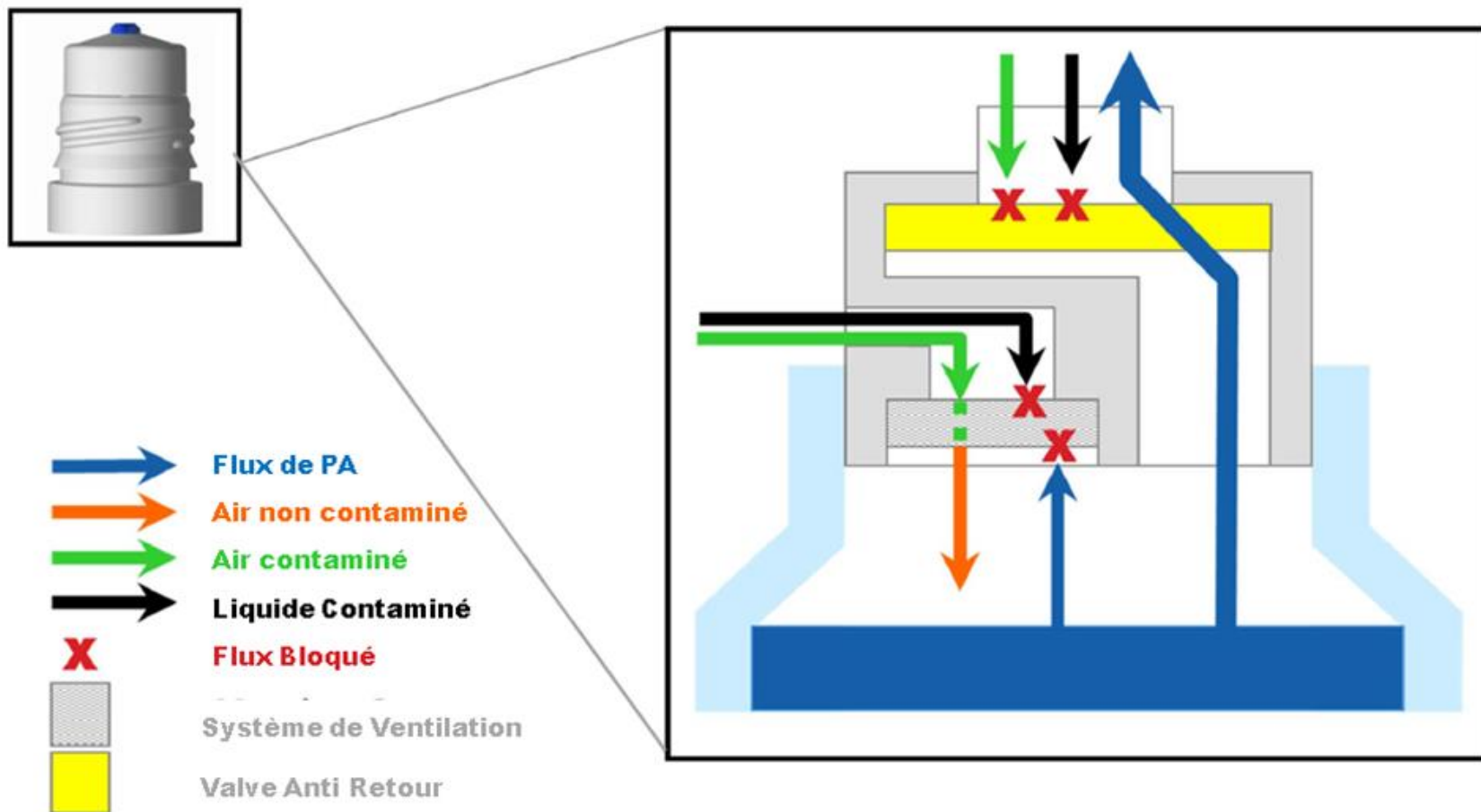


Figure 18 : Schéma descriptif du système NOVELIA™ partiellement adapté de la brochure des laboratoires Rexam.

Une étude du poids des gouttes a été effectuée pour assurer que la dose administrée au patient ne diffère pas d'une instillation à l'autre. A l'aide d'une balance analytique 0.1mg (Cubis® Sartorius, Aubagne, France), le poids de 50 gouttes avec le conditionnement NOVELIA® a tout d'abord été comparé au poids de 50 gouttes avec un conditionnement en verre, utilisé comme témoin. Chaque flacon était maintenu verticalement, à température ambiante. En effet, deux études ont montré que l'inclinaison des flacons accentuait l'inexactitude des résultats, mais que le taux de remplissage du flacon ou la température n'influençait aucunement les valeurs (53, 54). Le conditionnement en verre délivre en moyenne des gouttes plus grosses de 25% par rapport au conditionnement utilisé. De plus la variation du poids des gouttes, très faible pour le conditionnement NOVELIA® est très importante pour le conditionnement en verre.

L'étude s'est poursuivie avec une comparaison avec le conditionnement utilisé par l'hôpital XV-XX à Paris, en PEBD. Il s'est avéré qu'aucune différence significative ($p < 0.05$) n'a été remarquée quant au poids des gouttes avec les deux collyres (tableau 6).

	Conditionnement Novelia®	Conditionnement en PEBD	Conditionnement en verre
Nombre de gouttes	50	50	50
Moyenne du poids (mg)	26,66 ± 2,03 (NS)	25,12 ± 3,08	35,86 ± 6,04
NS : Significativement non différent par rapport aux poids des gouttes avec le conditionnement en PEBD ($p < 0,05$)			

Tableau 7 : Comparaison du poids de 50 gouttes avec le conditionnement Novelia®, le conditionnement utilisé par l'hôpital XV-XX à Paris, et un conditionnement classique en verre pour collyre.

Le service de pharmacie de l'Hôtel Dieu à Paris a aussi étudié le volume délivré par le compte-goutte NOVELIA® et les conditionnement en PEBD pour le collyre de ciclosporine à 2% (tableau 7). Leur méthode était comparable à la notre, c'est à dire

une évaluation gravimétrique des gouttes à l'aide d'une balance analytique avec les flacons disposés verticalement. Ils ont ensuite calculé le volume moyen grâce à la densité du liquide. Leur composition pour le collyre est un mélange de Sandimmun® buvable 100 mg/mL et d'huile de ricin dans une proportion 20/80 (v/v). Les études confirment donc que le conditionnement NOVELIA® délivre donc des gouttes d'une bonne précision.

	Masse de 20 gouttes (mg)	Volume pour 1 goutte (μL)
Flacon NOVELIA®	613	32,3
Débit théorique 0,05 mL	627	33
	603	31,7
	621	32,7
	634	33,4
		32,6 ± 0,6
Flacon en PEBD Pharmaglass®	589	31
Débit théorique 0,05 mL	572	30,1
	582	30,6
	573	30,2
	578	30,4
		30,5 ± 0,4
Flacon en Verre Prince Emballage®	497	26,2
Débit théorique 0,05 mL	498	26,2
	512	26,9
	526	27,7
	509	26,8
		26,8 ± 0,6

Tableau 8 : Etude du volume des gouttes distribué par le flacon Novelia® par l'hôtel Dieu à Paris. Tableau partiellement tiré de l'article Collyre de ciclosporine 2 % : validation d'un conditionnement en polyéthylène basse densité de M. Fauvel et al. Journal de Pharmacie Clinique. 2008, 27(4) 221-227.

3. Problématique pharmacotechniques

L'utilisation de la poudre de ciclosporine pure évite une préfiltration nécessaire avec la solution orale Sandimmun[®]. Cependant elle impose une stérilisation par autoclave en fin de formulation. La résistance de la CsA à l'autoclavage est un processus peu connu actuellement. La Pharmacopée Européenne décrit une stabilité physico-chimique de la CsA jusqu'à une température de 80°C (9). Un brevet publié en 2013 par les Laboratoires Théa (55) explique la formulation d'un collyre sous forme aqueuse à base de CsA nécessitant un cycle d'autoclavage similaire au notre, c'est-à-dire 121°C pendant 20 minutes, et étant stable et non dégradé après la stérilisation. Un autre brevet plus récent montre la stabilité à la chaleur de la CsA dans différentes formulations, notamment des formulations huileuses (56). La stabilité de la CsA et de l'huile de ricin à l'autoclave semble possible mais nécessite donc une étude plus approfondie pour vérifier les résultats précédemment cités avec un collyre de CsA dosé à 2% sous forme huileuse, dissout dans l'huile de ricin.

3.1. Identification et dosage de la ciclosporine

L'identification et le dosage de la ciclosporine passe par trois étapes distinctes, (i) la présence qualitative de CsA, (ii) la présence quantitative de CsA et (iii) le maintien de la structure ternaire de la CsA après autoclavage.

La Spectrophotométrie Infrarouge à Transformée de Fourier (IRTF) a été utilisée pour déterminer la présence qualitative de la CsA dans la formulation, notamment après autoclavage (figure 20). La solution pour collyre a été étudiée par la IRTF (Frontier™ Perkin Elmer, Massachusetts, Etats-Unis d'Amérique), en déposant une goutte (environ 10 µL) sur le faisceau IS50 ATR, sans ajout d'une compression sur le

crystal. Celle-ci a été comparé avec une solution pure d'huile de ricin ayant subie une filtration stérilisante à 0,22 μm .

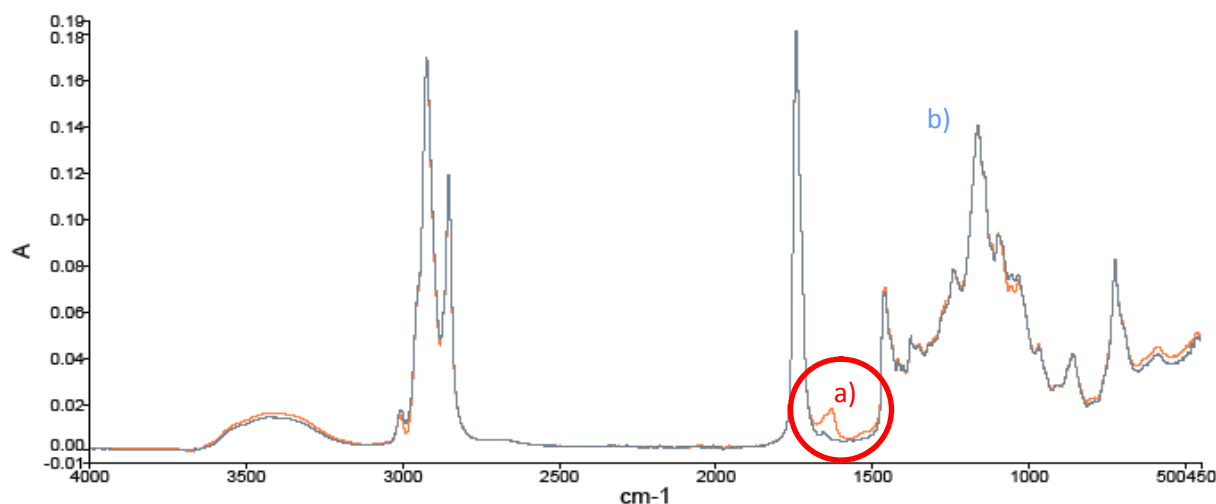


Figure 19 : a) En rouge, solution pour collyre de CsA 2% après autoclavage. b) Huile de ricin. Les deux spectres sont similaires exceptés pour un pic présent sur le spectre de la solution pour collyre à une longueur d'onde de 1650 cm^{-1} . Cela pouvant être la ciclosporine, la soustraction des deux spectres a été comparé au spectre d'un échantillon de référence de ciclosporine de la Pharmacopée Européenne (figure 21).

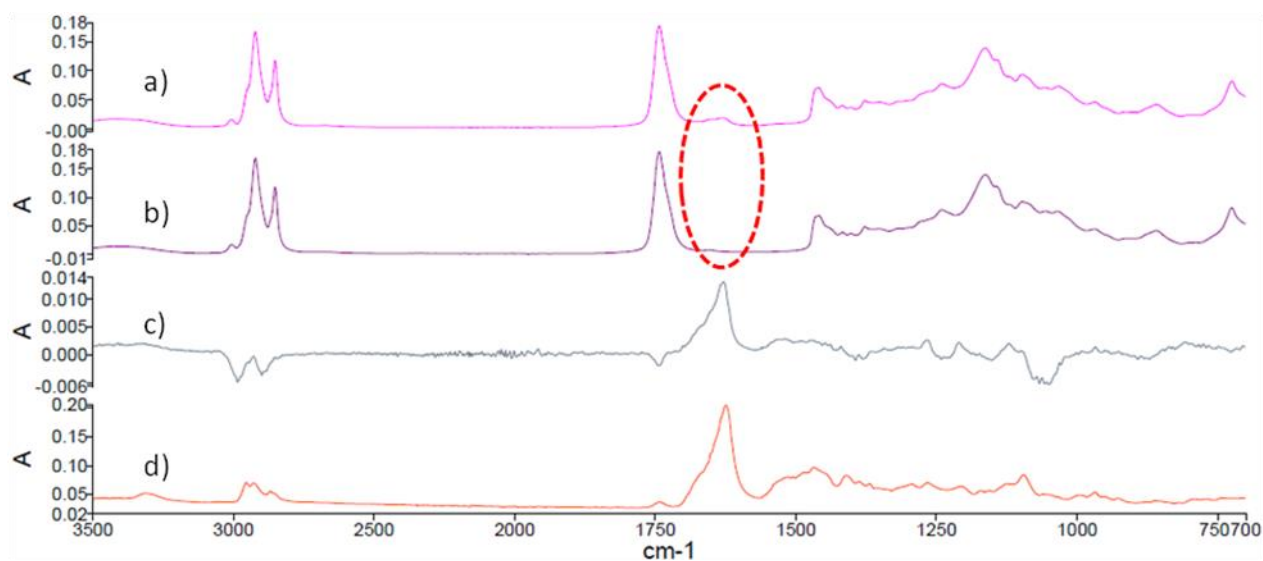


Figure 20 : a) Solution pour collyre de CsA 2% après autoclavage. b) huile de ricin seule c) Soustraction (a-b), représentant seulement la ciclosporine après autoclavage. d) Echantillon de CsA référent de la Pharmacopée Européenne.

On remarque, que la présence de la CsA est montrée avec un pic caractéristique à 1650 cm^{-1} (57).

En ce qui concerne la présente quantitative de la CsA, elle a été démontrée en utilisant trois méthodes de dosages, (i) la Chromatographie Liquide Haute performance en polarité de phase inversée (CLHP), (ii) la spectrométrie de masse (LC-MS/MS) et (iii) Antibody-conjugated magnetic immunoassay (ACMIA).

La teneur en CsA de la préparation ophtalmique est déterminée par CLHP selon la méthode décrite à la Pharmacopée Européenne (9, 58). La colonne (Phenomenex, Le Pecq, France) utilisée est de dimension $L = 50\text{ mm}$ et $I = 4,6\text{ mm}$. Elle possède une phase stationnaire de gel de silice octadécyl-silylée pour chromatographie. La phase mobile utilisé pour la CLHP (1290 Bin Pump® Agilent Technologies, Courtaboeuf, France) est un mélange méthanol/eau (86%/14% V/V). La solution mère contient 10mg de poudre étalon de CsA dilué dans 5 mL de méthanol de qualité CLHP. Une gamme d'étalonnage est ensuite effectuée à partir de cette solution mère (Tableau 8).

	60 %	80 %	100 %	120 %	140 %
J1	120 μl	160 μl	200 μl	240 μl	280 μl
J2	120 μl	160 μl	200 μl	240 μl	280 μl
J3	120 μl	160 μl	200 μl	240 μl	280 μl
Compléter à 2 ml avec du méthanol					
Concentration théorique (mg/ml)	0.12	0.16	0.20	0.24	0.28

Tableau 9 : Gamme d'étalonnage à partir de la solution mère pour l'analyse CLHP.

Les échantillons à doser sont dilués dans le méthanol qualité CLHP pour atteindre une concentration cible de 0.2 mg/mL. La température de la colonne est de 58°C et la détection est effectuée à 210 nm. Le débit est de 1 mL /min et le volume d'injection

est de 10µL. Les flacons ont été percutés avec des Take-Set (Swan Lock® Codan, Lenshan, Allemagne) pour garder la stérilité du flacon scellé.

Un dosage par spectrométrie de masse LC-MS/MS (XEVO TQ MS® Waters, Saint-Quentin En Yvelines, France) a été effectué sur les flacons avant et après autoclavage. Tous les échantillons ont été dilués au 1/100 000 et préservés à 4°C à l'abri de la lumière jusqu'au dosage.

Un dosage par ACMA (Dimension VISTA® Siemens, Erlangen, Allemagne) a été effectué. Les échantillons sont fixés par des particules magnétiques de CrO₂. L'excès d'anticorps qui est fixé au complexe est séparé grâce à un aimant. Les anticorps marqués émettent une réponse photométrique après avoir ajouté un substrat coloré. Tous les échantillons ont été dilués au 1/100 000 et préservés à 4°C à l'abri de la lumière jusqu'au dosage.

Les trois méthodes de dosage ont montré la même concentration en ciclosporine dans tous les échantillons.

En ce qui concerne la conservation de la structure tertiaire de la CsA, la Pharmacopée Européenne stipule que la Ciclosporine est stable jusqu'à une température de 80°C (9). Hors notre cycle d'autoclavage va bien au delà avec 121°C pendant 20 minutes. Le maintien de la structure tertiaire de la Ciclosporine après passage à l'autoclave est indispensable pour une bonne liaison du complexe cyclophiline - ciclosporine. Une étude américaine a étudié la stabilité de la Ciclosporine avec différents cycles d'autoclavage et différents excipients. Le résultat est que la CsA est très stable en solution aqueuse et huileuse, après autoclavage à 121°C pendant 20 minutes (56). De plus, nous avons effectué un dosage par technique immuno enzymatique ACMA cette méthode permet de trouver un épitope

donné et peut donc être le reflet de la structure tertiaire de ciclosporine. En effet, si le dosage a réussi c'est que l'enzyme c'est correctement lié à l'épitope, et donc que la structure de la ciclosporine n'a pas été altérée.

3.2. Stabilité de la ciclosporine

L'étude de stabilité de la CsA s'est effectuée en trois étapes, (i) une étude de dissolution, (ii) une étude de l'osmolarité et (iii) par l'identification de produits de dégradations.

Une étude de dissolution de la CsA dans l'eau distillée, dans l'huile de ricin et dans l'huile de ricin contenant du poloxamer 407 a été effectuée. Les différents profils de dissolution sont répertoriés figure 22. Les trois échantillons présentés tableau 9 ont été mis dans des béchers contenant un barreau magnétique sur une plaque chauffante (Lab-Mix 20® Heidolph, Schwabach, Deutschland).

	CsA (g)	Solvant (mL)	Poloxamer (g)
Eau Distillée	0,5	25	0
Huile de Ricin (qsp.)	0,5	25	0
Huile de Ricin (qsp.) + Poloxamer	0,5	25	0,05

Tableau 10 : Echantillons de CsA pour l'étude de dissolution.

Les conditions d'expérimentations sont les mêmes entre les échantillons, que ce soit au niveau de la température de la plaque chauffante (75°C) ou de la vitesse de rotation du barreau magnétique. Un prélèvement de chaque solution est effectué toutes les 10 minutes. Tous les prélèvements sont ensuite analysés par CLHP pour déterminer la concentration de CsA.

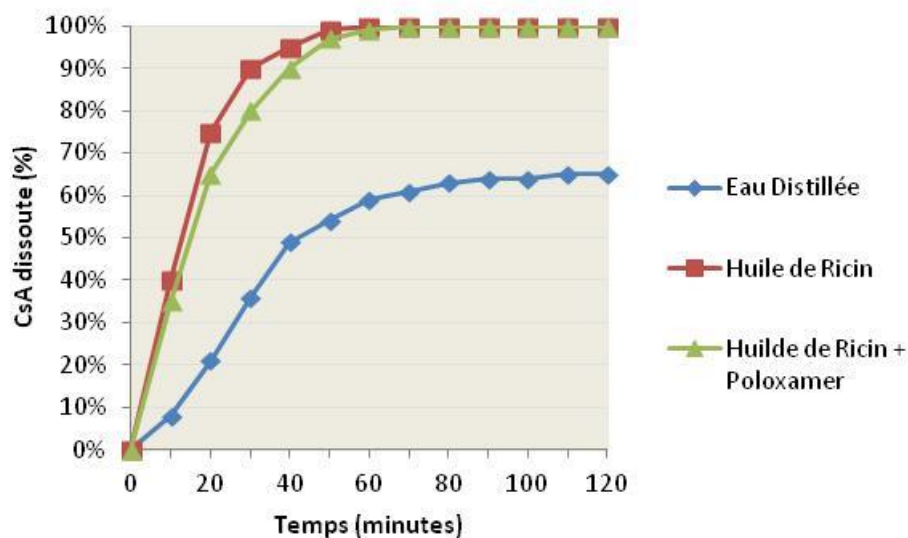


Figure 21 : Profils de dissolution de la poudre de CsA dans (i), l'eau distillé, (ii) l'huile de ricin et (iii) l'huile de ricin mélangé a du poloxamer 407.

Cela montre encore une fois la non nécessité du poloxamer 407 dans la formulation de CsA. Il faut donc environ 50 minutes pour dissoudre entièrement la CsA dans l'huile de ricin. En pratique, ce chiffre peut être inférieur si le préparateur aide manuellement à la destruction des agrégats, qui sont très long à dissoudre.

Un dosage de la CsA par CLHP chaque semaine, puis chaque mois pendant un an sur cinq échantillons d'un même lot a été effectué dans un autre CHU (40). Les temps de rétention sont très similaires avant répartition des flacons(16,28 min) et après répartition des flacons(16,16 min) ce qui montre que la CsA reste stable et stérile au cours du temps (figure 23). La Date Limite d'Utilisation (DLU) a été fixé par 6 mois par les divers hôpitaux formulant des collyres de CsA.

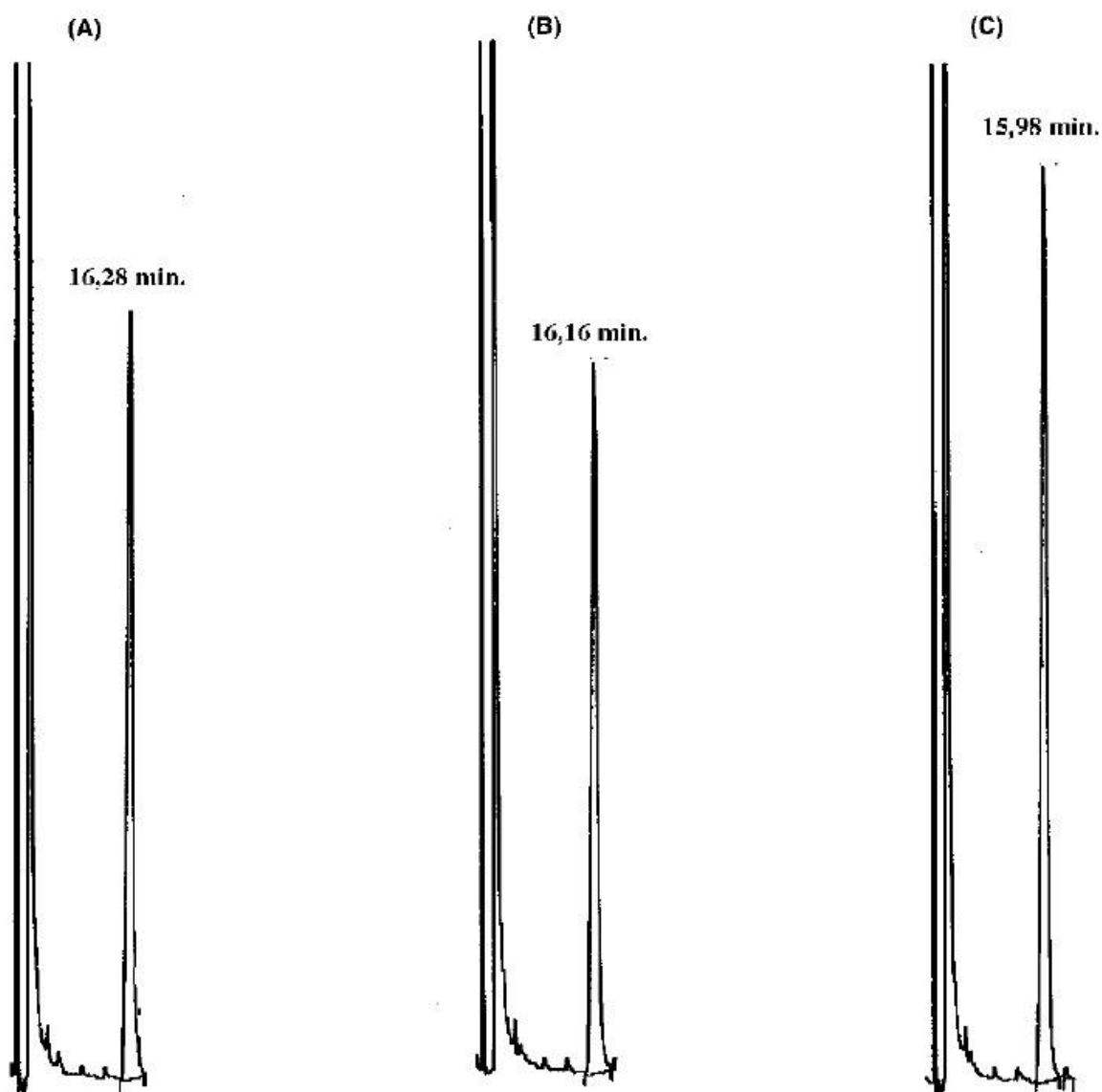


Figure 22 : Chromatogrammes des solutions huileuses de CsA 2%. A : dosage avant répartition dans les flacons; B : dosage après répartition dans les flacons ; C : dosage de la solution "contrôle" de CsA. Telle que présentée dans l'article Préparation d'un collyre de ciclosporine à 2% de F. Chast et al. *Journal Français d'Ophtalmologie*. 2004, 27(6) 567-576.

Le CHU de Tours a étudié l'évolution de l'osmolarité des collyres de CsA 2% préparés à partir de Sandimmun® injectable et d'huile de ricin. Sur un mois, l'osmolarité du collyre a montré une réduction de -2.64% (59). Ces osmolarités sont conformes à ce que la pharmacopée préconise pour des collyres huileux (7).

En ce qui concerne l'identification de produits de dégradations, une dégradation forcée de la ciclosporine à la chaleur et à la lumière a été effectuée par le Centre

Hospitalier Universitaire de Tours. Bien qu'un pic à 215nm a été identifié (celui de la CsA étant à 230nm) comme étant un produit de la dégradation de la CsA, ce dernier n'interfère pas avec le dosage de la ciclosporine (59).

3.3. Identification et stabilité des excipients

La stabilité de l'huile de ricin vierge après traitement par chaleur humide (121°C, 20 minutes) a été évaluée par spectroscopie RMN à 300MHz dans CDCL₃ (figure 24) et par IRTF (figure 25). Nous pouvons remarquer que les spectres sont superposables avant et après autoclave ce qui montre la stabilité de l'huile de ricin à la stérilisation par chaleur humide.

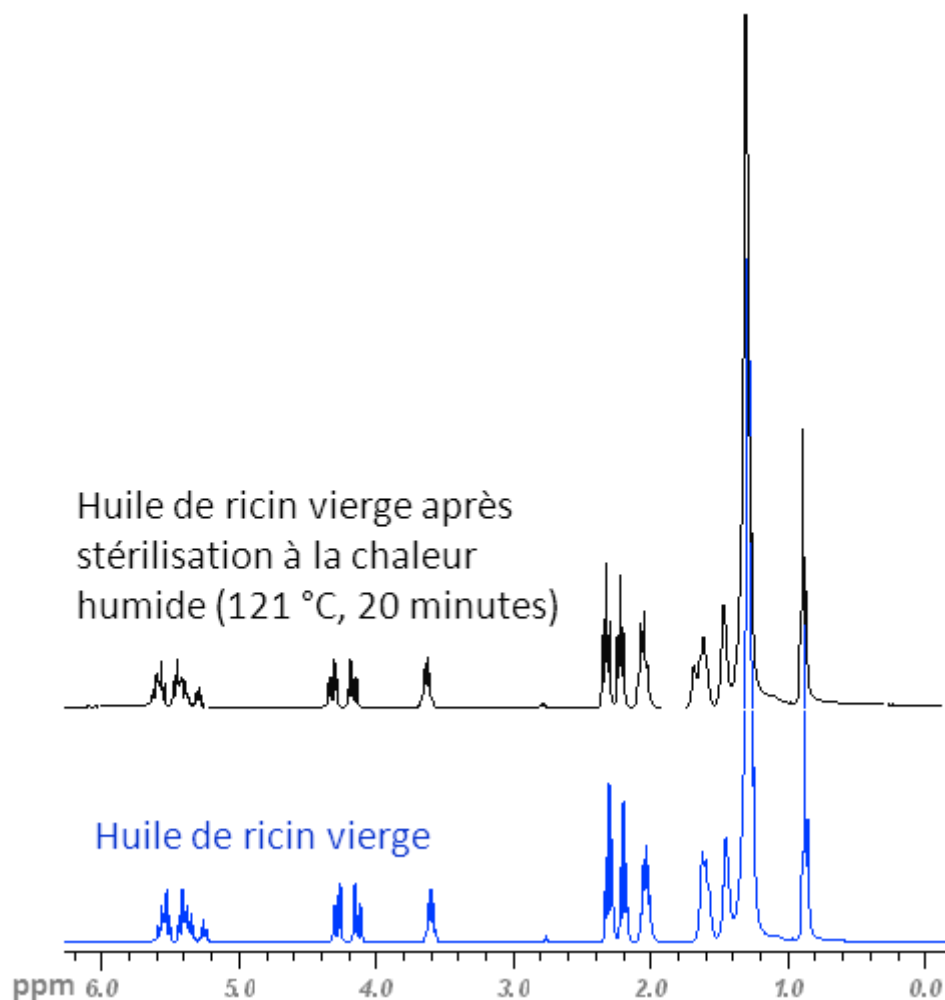


Figure 23 : Spectroscopie RMN (CDCl₃, 300MHz) de l'huile de ricin vierge avant (bleu) et après (noir) passage à l'autoclave (121 °C, 20 minutes). Telle que présentée dans le poster Préparation hospitalière de collyres à la ciclosporine ? Rationalisation galénique et pharmacotechnique de D. Salmon et al. au Congrès National des Pharmaciens des Hôpitaux.2013.

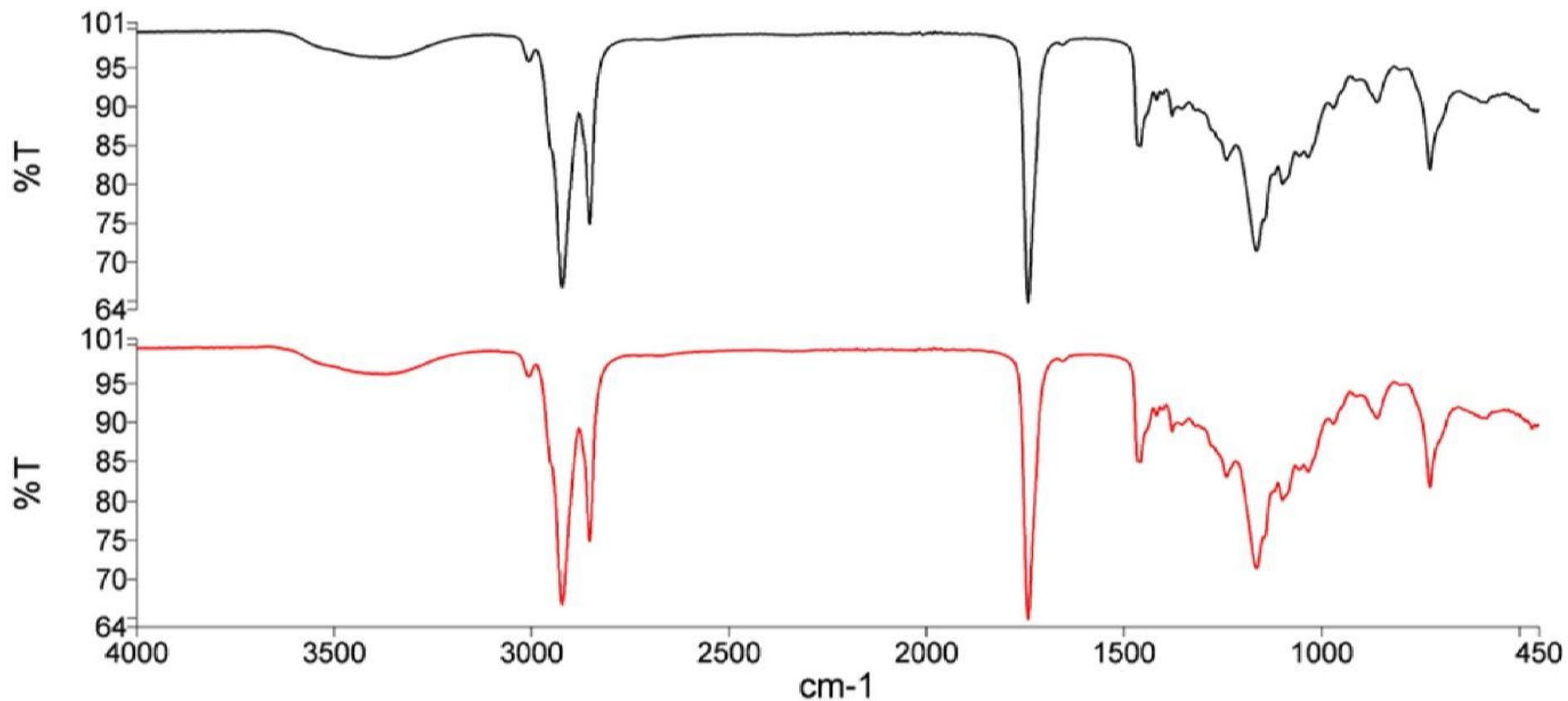


Figure 24 : Spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier de l'huile de ricin vierge avant (noir) et après (rouge) passage à l'autoclave (121 °C, 20 minutes). Telle que présentée dans le poster Préparation hospitalière de collyres à la ciclosporine ? Rationalisation galénique et pharmacotechnique de D. Salmon et al. au Congrès National des Pharmaciens des Hôpitaux.2013.

4. Circuit du produit fini

Les trois problématiques principales de la commande des collyres de CsA au CHNO sont (i) l'approvisionnement, (ii) le coût et (iii) de la date limite d'utilisation du collyre.

Formuler le collyre de CsA directement à l'hôpital permet de mieux gérer la demande en rétrocession. La préparation sera faite régulièrement en gros volume puis stockée sous forme de produit intermédiaire dans un flacon en verre. Lorsque des collyres de CsA seront demandés à la PUI, il ne restera qu'à reconditionner la préparation pour collyre dans le conditionnement final.

Une étude a été réalisée (tableau 10) pour déterminer le coût de la formulation de collyre à partir de deux options déjà proposés, c'est à dire un collyre de CsA 2% (i) à partir de poudre de CsA pure et (ii) à partir du Sandimmun® buvable. Cette dernière est la formulation actuelle de l'hôpital XV-XX à Paris (33). Cette étude a été effectuée avec la tarification de l'hôpital HEH. Concernant la formulation à base de poudre de CsA pure, son prix est principalement due aux deux passages en salle (un pour la formulation de la solution pour collyre dans le conditionnement de stockage, l'autre pour le transfert stérile dans le flacon NOVELIA®) nécessaire, mais aussi à la ciclosporine, aux conditionnements NOVELIA® et à l'unique filtre Millipore® Stericup utilisé. Le collyre à base de la solution orale de Sandimmun® nécessite quant à lui 3 filtres Millipore® Stericup (33), un pour l'huile de ricin (le seul utilisé dans la formulation à base de CsA pure), un pour la solution orale de Sandimmun® et enfin un dernier après mélange des deux solutions. De plus, le coût de la matière première de la solution orale de Sandimmun® est plus élevé que la poudre de CsA pure. Pour

une production de 10 collyres de 10mL dosée à 2%, le prix de revient à partir de la poudre de CsA pure est de 157.10 € HT (soit environ ≈ 15.7 € HT par unité), et celui à partir de la solution orale de Sandimmun[®] est de 167.94€ HT (soit environ ≈ 16.8 € HT par unité). Un prix inférieur donc pour la poudre de CsA pure qui est dû aux deux passages en zone) atmosphère contrôlée (ZAC), constituant un coût conséquent dans la formulation, mais qui sera rentabilisé en effectuant plus que 10 collyres à la fois. Il y a donc un réel intérêt économique à formuler les collyres de CsA dosée à 2% à partir de la poudre de CsA pure. En comparaison au prix d'achat de 64.94€ TTC l'unité au CHNO, une formulation directement à HEH serait un gain financier important.

Enfin, concernant la DLU du produit, notre hypothèse d'effectuer un produit intermédiaire conservable et de le reconditionner dans un flacon pour collyre pour permettre un stockage dans le temps. Actuellement, une étude de stabilité dans le temps est en cours et on pourrait espérer que la DLU du produit serait d'environ 6 mois d'après la littérature.

Collyre à base de poudre de CsA pure			Collyre à base de la solution orale de Sandimmun®	
100 mL d'huile de ricin	1,20 €	Matériel	80 mL d'huile de ricin	0,96 €
2g de poudre de CsA pure	65,58 €		20 mL de solution orale Sandimmun®	75,82 €
1 filtre Millipore®	14,58 €		3 filtres Millipore®	43,74 €
Seringues	0,34 €		Seringues	0,17 €
Aiguilles	0,06 €		Aiguilles	0,03 €
2 flacons en verre ambrée 50 mL	0,50 €		10 flacons en PEBD stérilisé de 10 mL	21,70 €
2 Bagues serties	0,18 €			
Stérilisation des flacons	0,17 €			
10 conditionnements Novelia® de 10 mL	23,40 €			
Combinaisons Stériles	1,42 €		Combinaisons Stériles	0,71 €
	2,36 €	Utilisation de la hotte à flux laminaire		1,18 €
Ecriture de protocole (10 min)	4,46 €	Temps du personnel	Ecriture de protocole (10 min)	4,46 €
Préparation (60 min)	27,05 €		Préparation (25 minutes)	11,27 €
Contrôle pharmaceutiques (10 min)	15,80 €		Contrôle pharmaceutiques (5 min)	7,90 €
157,10 €		Total	167,94 €	

Tableau 11 : Coût pour la formulation de 10 collyres à base de poudre de CsA pure (à g.) et pour la formulation de 10 collyres à base de solution orale de Sandimmun® (à d.). En gras sont les prix doublés à cause des deux passages en salle stérile.

5. Conclusion

Le développement d'une nouvelle préparation hospitalière est toujours un challenge. Dans un premier temps, plusieurs choix étaient possible concernant (i) le principe actif, (ii) les excipients et (iii) le conditionnement.

Concernant le principe actif, notre choix s'est porté sur la poudre de ciclosporine pure. Bien que les BPP recommandent de partir si possible d'une spécialité, la trop grande teneur en alcool éthylique provoque une gêne chez le patient, même après une évaporation partielle. De plus partir de la matière première sous forme de poudre représentait un gain financier indéniable (voir tableau 5). La poudre de ciclosporine pure est donc notre choix de principe actif.

Au niveau des excipients, un solvant huileux nous semble adapté à cette préparation. En effet, une préparation aqueuse requiert une complexation ou des transports colloïdaux ce qui rend la préparation bien trop compliqué. Dans les différentes huiles à notre disposition, l'huile de ricin est la mieux tolérée et la plus utilisée lors des préparations hospitalières (39, 40). L'intérêt du poloxamer 407 dans la préparation n'a pas été démontré, ce dernier n'est donc pas retenu dans notre formule. L'huile de ricin est donc notre choix d'excipient.

Enfin, le conditionnement pour le produit intermédiaire sélectionné est un flacon en verre ambré de type I en 50 mL. Ce conditionnement permettra un stockage du produit avant le reconditionnement final conforme à la Pharmacopée Européenne. Pour le produit final, un flacon NOVELIA® est retenu. Un collyre multidose était le plus adapté pour ce type de collyre au traitement relativement long. Cependant l'ajout de conservateurs présente une toxicité pour l'œil, c'est donc pourquoi un conditionnement multidose avec une valve antimicrobienne a été choisi (49, 50) . Un

collyre en PVC provoque une migration de DEHP dans la solution et n'est donc pas adapté pour notre préparation (41, 42).

Dans un second temps, la stabilité du collyre à l'autoclave était une de nos problématique, la ciclosporine étant un produit relativement sensible à la chaleur. Cependant, les études effectuées par IRTF, CLHP, LC-MS/MS ou encore ACMIA ont permis de démontrer le maintien de la structure ternaire de la CsA et du dosage du collyre.

Dans un troisième temps, la livraison de collyre par le CHNO de Paris présente plusieurs problématiques de livraison et de coût. Une formulation directement à HEH serait moins coûteuse et permettrait une meilleure gestion du stock, en préparant le nombre de collyre nécessaire selon la demande.

Notre protocole final pour la préparation des collyres de ciclosporine 2% à l'Hôpital Edouard Herriot est schématisé ci-après (figure 26).

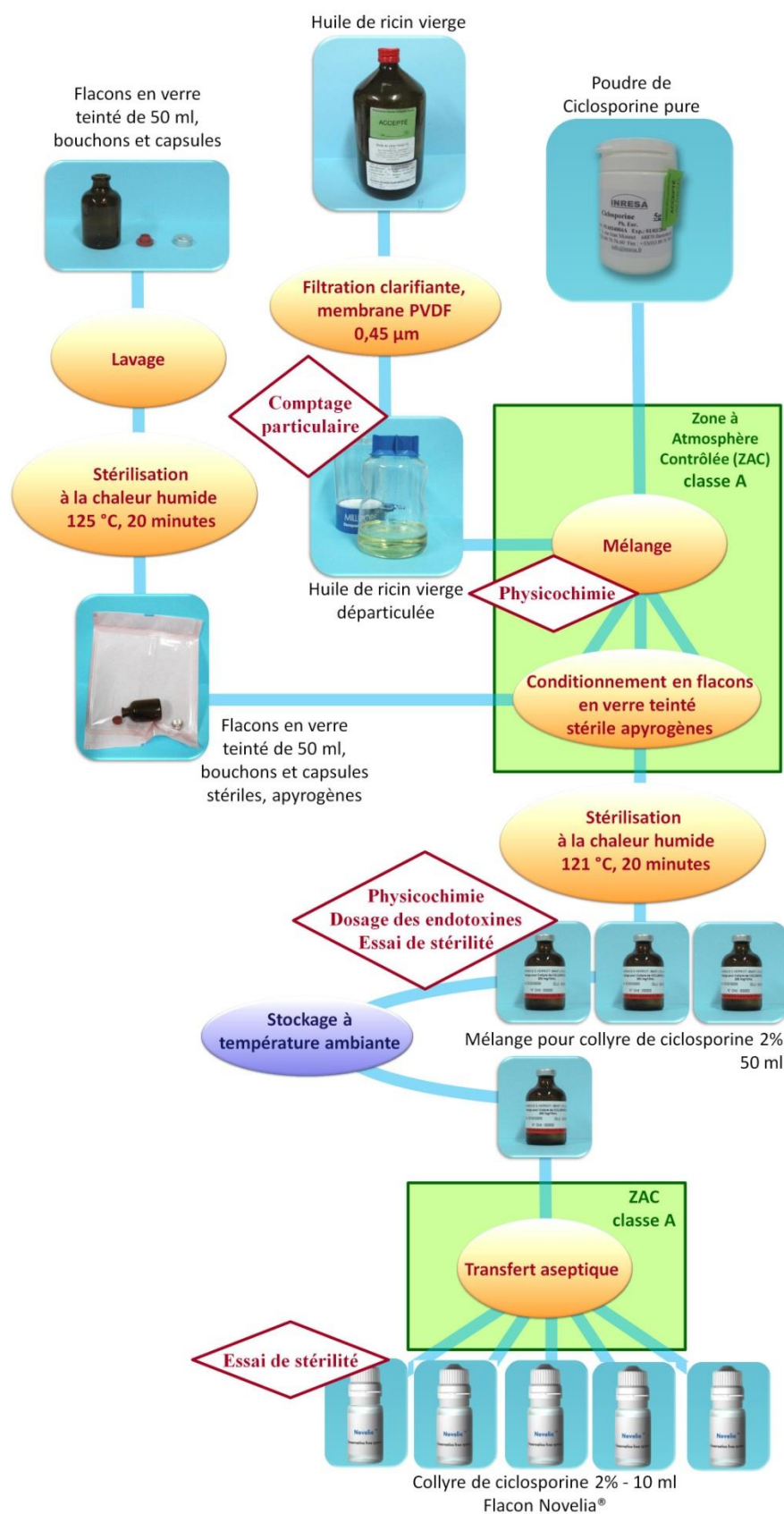


Figure 25 : Diagramme organisationnel de la préparation des collyres de cyclosporine développé dans l'unité de préparation et de contrôle du médicament de la pharmacie du Groupement Hospitalier E. Herriot.

CHAPITRE 3 - PREPARATION ET CONTROLE DU COLLYRE DE CICLOSPORINE A 2%

1. Introduction

La préparation hospitalière serait fabriquée une à deux fois par mois selon la demande en collyre. Le planning de préparation est adapté chaque début semaine lors de la réunion de secteur. Les préparateurs gèrent le planning et décident du jour de la préparation selon les salles à atmosphères contrôlées disponibles.

La formule retenue pour l'élaboration de collyre de ciclosporine à 2% est celle présentée tableau 11 :

	Formulation
CsA	1g
Huile de Ricin (qsp.)	50mL
Concentration de CsA	2%

Tableau 12 : Formule utilisée par HEH pour la formulation des collyres de CsA 2% dans le groupement Hospitalier Edouard Herriot.

2. Préparation

Tout le processus de préparation a été effectué en accord avec les Bonnes Pratiques de Préparation. Les matières premières seront identifiables tout au long de la préparation. Elles sont mesurées à l'aide d'outils de mesure adaptés et chaque pesé est enregistré. La poudre de ciclosporine pure (figure 27) est approvisionnée par le laboratoire INRESA au prix de 34,51 € le gramme (HT).

La poudre est conditionnée en flacon de 5g au prix de 163,95€ (hors taxe) et elle est délivrée avec un certificat d'analyse daté et valide correspondant au lot fournit.



Figure 26 : Conditionnement de la poudre de CsA pure.

L'huile de ricin vierge (figure 28) est approvisionnée par le laboratoire INRESA au prix de 11,91€ le litre et est délivrée avec un certificat d'analyse de trace après une filtration clarifiante.

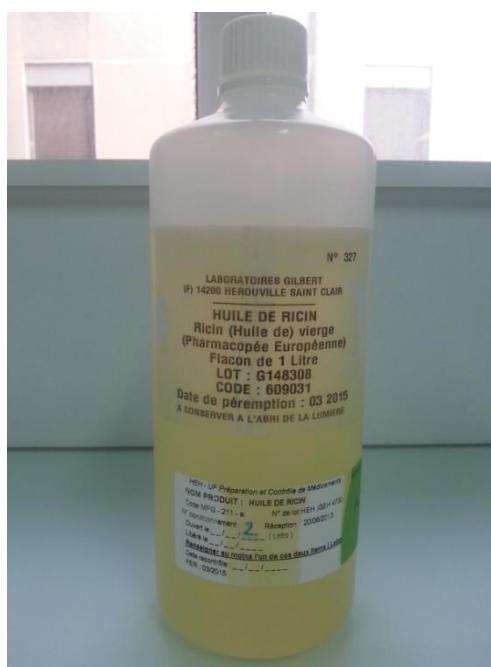


Figure 27 : Conditionnement de l'huile de ricin.

Un filtre antibactérien à 0,22 µm Stericup® Millipore (Stericup® Millipore, Merck Millipore, Billerica, Etats-Unis d'Amérique) montré en figure 29 a été utilisé pour pré-

filtrer l'huile de ricin. L'huile de ricin subit filtration stérilisante comme il est indiqué pour les préparations de médicaments stériles dans les BPP. La préparation s'effectue de manière continue dans des zones à atmosphère contrôlée adaptés, avec un personnel qualifié et un habillage spécifique. L'opération de pré-filtration est effectuée pour capturer les particules les plus grosses qui pourraient devenir une source d'erreur par la suite en se déposant sur le filtre. Le filtre est constitué d'une membrane en polyfluorure de vinylidène (PVDF) ne contaminant pas l'huile de ricin. Cette membrane hydrophile se lie beaucoup moins aux protéines que le nylon, la nitrocellulose ou le polytétrafluoroéthylène (PTFE), très utilisés pour ce genre de filtre. De plus elle fournit des débits élevés et une large compatibilité chimique.



Figure 28 : Filtre antibactérien 0,22 μm Stericup® Millipore.

Une seringue de 60 mL (BD Plastibak Luer® BD Medical, New Jersey, Etats-Unis d'Amérique) est utilisée pour remplir les flacons ambrés avec la solution pour collyre. De plus, une autoclave (Stericlav 1024® Commodore International, Blanquefort, France) est utilisé pour stériliser la solution à collyre. Pour la pesé, une balance analytique 0.1mg (Cubis® Sartorius, Aubane, France) a été utilisée. Une plaque chauffante avec un barreau magnétique (Lab-Mix 20® Heidolph, Schwabar, Deutschland) sont utilisés pour solubiliser la ciclosporine dans l'huile de ricin. Des béchers d'une contenance de 100 mL sont utilisés pour transporter les matières

premières, ainsi que des spatules et une pince pour sceller les flacons manuellement.

Enfin, des champs 0.45 x 0.75m and 0.75 x 0.90m (Foliodrape® HARTMANN, Heidenheim, Allemagne), des gants de protection stériles (Microptic® Ansell, Bruxelles, Belgique), des compresses stériles non tissés (TETRA, Annonay, France), de l'alcool éthylique (Gifrer®, Décines-Charpieu, France) ainsi que des lingettes désinfectantes (Sani Cloth® PDI, LIMONEST, France) sont utilisés pour protéger l'environnement et l'utilisateur.

Des flacons en verre de type II ambrée (Saint Gobain®, Courbevoie, France) ont été utilisés comme conditionnement pour le produit intermédiaire. La formulation est donc protégée de la lumière et conservée dans un verre neutre ne pouvant l'altérer. Des bouchons rouges (Saint Gobain®, Courbevoie, France) servent à fermer hermétiquement la formulation qui est scellée grâce à une bague ou une capsule sertie en aluminium (Saint Gobain®, Courbevoie, France).

En ce qui concerne le produit final, le conditionnement choisi est NOVELIA™. Le produit est disponible en plusieurs formats : 5 mL ; 7,5 mL ; 11 mL ; 20 mL. Le conditionnement nommé "viscose plug" tolère des produits de haute viscosité, jusqu'à 1200 mPa.s. Un autre conditionnement NOVELIA® nommé "liquid plug" est utilisé pour les formes aqueuses mais ce dernier n'est pas utilisé pour la formulation de collyre de ciclosporine 2% au groupement hospitalier Edouard Herriot. Le conditionnement utilisé pour les collyres de CsA 2% par la PUI de HEH sont les flacons de 11 mL blanc stérilisés préalablement par des radiations gamma (entre 25 et 40 kGy). Un contrôle de l'intégrité du conditionnement primaire et une vérification de la correspondance avec le bon de livraison est effectué à la réception. Les flacons

sont livrés en deux parties. Les bouchons et les flacons sont livrés séparément par sachet de 1200 unités. Les flacons pour collyres stériles viscoses plug sont ensuite regroupés par lot de 5 puis conditionnés en double sachet thermosoudés stérile 210x280 mm selon un protocole validé par la PUI (Annexe 2). Puis, une stérilisation des sachets contenant 5 conditionnements finaux est effectuée par un prestataire, Ionisos, par irradiation gamma (entre 25 et 50 kGy).

Une filtration clarifiante (0,22 µm) (figure 30) de l'huile de ricin a été effectuée grâce au filtre Stericup® Millipore. Cette filtration s'est déroulée sous vide grâce à une pompe à vide (Laboport® KNF Neuberger, Village-Neuf, France) et dure environ 6 heures. Elle doit être effectuée la veille de la formulation en ZAC. Le filtre Millipore est relié au système de création du vide par l'intermédiaire d'un tube souple. Le résultat est visible figure 31.



Figure 29 : Dispositif utilisé pour la filtration clarifiante de l'huile de ricin.



Figure 30 : Huile de Ricin après la filtration clarifiante dans le filtre Millipore®

Le lavage des flacons de 50 mL ambrée s'effectue au laveur désinfecteur MIELE® PG 8528 (Miele Professional, Paris, France) (figure 32).



Figure 31 : Laveur désinfecteur MIELE® PG 8528 utilisé pour le lavage des flacons en verre.

Le lavage des flacons se fait en trois étapes : Tout d'abord le lavage même à 40°C pendant 13 minutes avec de l'eau et un produit désinfectant Mediclean Neodisher® (Mediclean Forte, La Soukra, Tunisie). Ceci est suivi d'un rinçage à l'eau à 70°C pendant 3 minutes, et terminé par un séchage à 115°C pendant 4 minutes. Les flacons sortant du laveur désinfecteur sont stériles.

Les bouchons subissent trois rinçages à l'eau PPI selon une procédure validée par la PUI. Les capsules, n'étant pas en contact direct avec la formulation, ne subissent que 2 rinçages à l'eau PPI selon une procédure validée par la PUI. Ces opérations sont effectuées en amont car les lavages s'effectuent sur une grande quantité de produit en même temps alors que les besoins du préparateur sont limités généralement à un ou deux produits. Des sachets stériles contenant un flacon, un bouchon et une capsule sont à la disposition du préparateur comme montré figure 33.



Figure 32 : Sachet unitaire contenant un flacon ambré de 50 mL, un bouchon et une capsule, en vue de la préparation de collyre de CsA 2%.

La ZAC ne contenant aucun matériel nécessaire à la formulation de collyre de ciclosporine à 2%, il est nécessaire de les acheminer de la manière la plus propre possible. L'huile de ricin étant préfiltrée, nous la laissons dans le filtre Stericup[®] Millipore. La ciclosporine, quant à elle, doit être pesée hors de la ZAC. Nous pesons la ciclosporine grâce à une balance analytique 0.1 mg (Cubis[®] Sartorius, Aubane, France) dans un bécher stérile selon une procédure validée (60). Les matières premières ainsi que le reste du matériel comprenant spatules, une plaque chauffante munie de son agitateur et de son thermomètre, une scelleuse manuelle ainsi que les flacons ambrés de 50 mL et des seringues remplisseuse de même contenance sont amenés en ZAC en vue de la formulation.

L'entrée en ZAC se fait uniquement en possession de tout le matériel, car une sortie de salle en pleine manipulation est un risque de contamination pour la préparation en cours. Elle nécessite au moins deux personnes pour plus de sécurité et d'efficacité.

Un masque, une charlotte et des surchaussures sont nécessaires pour rentrer dans le SAS séparant la zone D de la salle en zone B (voir tableau 9). Dans ce SAS, un lavage de main en 6 étapes pendant 30 secondes au minimum est indispensable (figure 34).

Six étapes bien orchestrées pour l'application des solutions moussantes ou des solutions hydro-alcooliques sur les mains



Figure 33 : Protocole de lavage des mains avant l'entrée en ZAC.

Les préparateurs doivent aussi mettre des combinaisons (Everest® ELIS, Paris, France) ayant subies une décontamination particulière et une stérilisation. Enfin, une dernière application de gel hydro-alcoolique est nécessaire. Dès l'entrée en ZAC, Il est nécessaire d'enfiler une paire de gants stériles (Microptic® Ansell, Bruxelles, Belgique) une fois en zone B, puis une seconde paire après être entré sous le flux

laminaire horizontale en zone A. La disposition du matériel sous le flux laminaire horizontale est effectuée après une décontamination minutieuse à l'aide de lingettes désinfectantes (Sani Cloth® PDI, LIMONEST, France).

Le mélange du PA et des excipients se fait donc en ZAC de classe A, sous le flux laminaire horizontale. Il est nécessaire de chauffer et d'agiter l'huile de ricin grâce à une plaque chauffante (Lab-Mix 20® Heidolph, Schwabar, Deutschland) et un agitateur magnétique à une température de 75°C, mesurée à l'aide d'un thermomètre. Puis, la CsA doit être ajoutée pour se dissoudre pendant au moins 40 minutes comme vu lors des essais de dissolution figure 22. Un volume de 50 mL d'huile de ricin et 1g de CsA sont utilisés pour un dosage à 2% en principe actif, mais de plus grande quantités sont nécessaire. En effet, un premier mélange dans une bombonne en verre, pouvant contenir le volume d'une soixantaine de flacon ambré de 50 mL serait le meilleur moyen de limiter le nombre de passage en ZAC et donc de limiter la contamination des produits. De plus, cela nous permettrait d'avoir un stock suffisant pour palier à une grosse demande en collyres. Le manipulateur peut aider à la destruction des agrégats à l'aide d'une spatule. Pendant toute la durée de la préparation, il ne peut pas quitter la ZAC pour ne pas briser la stérilité de l'environnement.

L'identité et l'état de propreté des articles de conditionnement sont vérifiés. Ceux-ci sont adaptés aux formes galéniques et le conditionnement en flacon s'effectue en ZAC. Le conditionnement en flacon ambrée de 50 mL pour stockage se fait en classe A, juste après la solubilisation complète de la CsA. A l'aide d'une seringue de 50 mL sans aiguille, il faut transférer 50 mL de solution dans le flacon en verre. Puis, le manipulateur ajoute ensuite le bouchon et la capsule et la scelle à l'aide d'une scelleuse de flacon manuelle, toujours sous le flux laminaire en classe A. On obtient

un flacon ambrée contenant 50 mL d'une solution pour collyre de ciclosporine dosée à 2%. Ce conditionnement sera stocké en attente de stérilisation. Une stérilisation des flacons par autoclave est effectuée (Stericlav 1024[®] Commodore International, Blanquefort, France) avec un cycle de 121°C pendant 20 minutes. Il y a ensuite un reconditionnement en flacon compte-goutte, qui est fait en fonction de la demande de la PUI, selon la demande en collyre de ciclosporine. Par exemple, un transfert aseptique en ZAC de classe A est effectué à partir de deux flacons ambrés de 50 mL dans 10 flacons en NOVELIA[®] de 10 mL. Comme dit précédemment, les flacons NOVELIA[®] sont conditionnés en sachet stérile de 5 flacons pour correspondre aux besoins de la PUI, deux sachets seront alors nécessaire. Chaque flacon ambré de 50 mL sera décapsulé sous la hotte à flux laminaire et, à l'aide d'une seringue de 10 mL munie d'une aiguille, leur contenu sera réparti dans les 10 conditionnements NOVELIA[®].

Les préparations sont maintenues en quarantaine jusqu'à réception des contrôles. Il est attribué une date limite d'utilisation (DLU) de 6 mois à chaque lot suite aux essais de stabilité. Les flacons sont conformément étiquetés et sont libérés par le pharmacien. Les préparations terminées sont ensuite stockées selon les conditions conformes à la réglementation en vigueur et compatibles avec la ciclosporine, un endroit à température ambiante sans lumière ni humidité.

3. Contrôle

De nombreux contrôles sont effectués tout au long de la préparation et principalement (i) lors de la livraison des matières premières, (ii) après la préparation du produit intermédiaire et (iii) après la préparation du produit fini.

A chaque livraison, un contrôle de l'intégrité du conditionnement primaire et une vérification de la correspondance entre le bon de livraison et l'étiquette du fournisseur pour chaque contenant de matière première sont réalisés. La matière première est conservée dans son conditionnement primaire d'origine, sous réserve qu'il soit approprié. L'extérieur des récipients est nettoyé si nécessaire. Les récipients reçus endommagés ou touchés par tout autre incident visible qui pourrait porter atteinte à la qualité d'un produit sont détectés et stockés dans une zone spécifique, en attente de leur destruction (61). Tout les matières premières doivent être accompagnées d'un bulletin d'analyse daté et valide du fournisseur pour chaque lot livré. Cependant selon les BPP, la Pharmacie doit effectuer un nouveau contrôle sur chaque contenant selon les monographies de la pharmacopée ou selon les spécificités de la matière première (61). Tous les résultats des contrôles sont répertoriés dans le dossier de lot. Les flacons NOVELIA[®] sont livrés en deux parties, les bouchons et les flacons et nécessite donc une entrée en ZAC pour un reconditionnement des deux parties tout en gardant la stérilité du produit. Une vérification du maintien de l'asepsie après reconditionnement est effectué selon un protocole validé par la PUI (Annexe 3). Sur les 1200 unités, 30 unités (soit 6 sachets) subissent un mediafill test, 5 unités (1 sachet) subissent une recherche d'endotoxines bactériennes, 30 unités (6 sachets) subissent des essais de stérilité et 10 unités (2 sachets) subissent un comptage des particules non visible.

Concernant le produit intermédiaire, un des flacons ambrés du lot formulé est envoyé au département du contrôle pour vérifier que le lot est conforme aux normes de la

pharmacopée Européenne. Des contrôles physico-chimiques doivent être effectués : (i) le pH, (ii) l'osmolalité et (iii) la teneur en CsA.

Concernant le pH, l'utilisation de la sonde pH-mètre n'est pas possible car notre préparation est trop visqueuse. Malgré que cela ne soit pas aussi précis, nous allons utiliser du papier pH pour confirmer que la solution pour collyre possède un pH proche de celui de l'œil. Cela reste une technique acceptable dans cette situation, étant donné que l'œil supporte une large gamme de pH.

La mesure directe de la pression osmotique étant difficile, une mesure indirecte par abaissement du point de congélation est nécessaire à l'aide d'un osmomètre. Son principe repose sur la mise en contact d'un tube contenant notre échantillon (quelques gouttes de la solution pour collyre) avec un mélange eau-glace-sel assurant une température entre -17°C et -20°C . Un agitateur ainsi qu'un thermomètre sont plongés dans l'échantillon pour mesurer la variation de température en fonction du temps. L'osmomètre nous donne directement la tonicité.

La teneur en CsA après formulation est effectuée par dosage CLHP sur quelques gouttes de solution pour collyre selon le protocole vu précédemment.

Concernant le produit fini, la pharmacopée Européenne demande d'effectuer des contrôles microbiologiques : (i) une recherche d'endotoxines et (ii) la présence de produits de dégradation et (iii) le dénombrement des microorganismes.

Selon la Pharmacopée Européenne, la recherche d'endotoxines peut s'effectuer par une méthode de gélification ou une méthode quantitative (6). Une méthode quantitative tel que Endosafe[®] est vraiment rapide, environ 15 minutes et facile. Elle peut aussi s'effectuer directement sur le lieu de fabrication.

La présence de produits de dégradations s'effectue avec une technique CLHP, qui reste la technique la plus simple. Encore aucune limite n'a été mise en place.

Pour le dénombrement des microorganismes récoltés sur les prélèvements microbiologiques en cours de process, la Pharmacopée Européenne préconise une filtration sur membrane au sein d'un milieu de culture aux peptones de caséine et soja puis incubations à 30-35°C pendant 5 jours puis ensemencement sur milieux liquides trypticase soja et thioglycolate (24).

Un essai de stérilité doit aussi être effectué sur le collyre final. Cet essai est particulièrement important pour les produits fabriqués par procédé aseptique, pour assurer un Niveau d'Assurance de la Stérilité (NAS).

Le pharmacien de la PUI vérifie que tous les contrôles ont été effectués grâce au dossier de lot avant de procéder à la libération du lot en vue de la dispensation. Après libération du lot, ce dernier est immédiatement stocké. Tout document concernant un lot spécifique est mise en archive pendant au moins 5 ans après la libération du lot (61).

Les collyres peuvent donc être conservés durant une période de 6 mois dans un environnement adapté sans lumière ni humidité. Généralement, les collyres de CsA sont fabriqués à la demande (61) et seront donc amenés à être dispensé peu de temps après la libération du lot. Les collyres sont dispensés directement dans la PUI pour un patient hospitalisé ou à la rétrocession. Les patients sous traitement hors de l'hôpital sont munis d'un dépliant explicatif sur l'utilisation des collyres (figure 9). Il est aussi indiqué de conserver le collyre au réfrigérateur et de l'utiliser sous 30 jours après l'ouverture. Les patients peuvent contacter la rétrocession ou la PUI pour toute question relative au traitement.

4. Conclusion

Après avoir établi la formule pour la préparation des collyres de ciclosporine, la production peut commencer. De nombreuses étapes s'effectuent en amont de la production, dont le reconditionnement des collyres NOVELIA® par sachet de 5 (Annexe 2) et la préfiltration de l'huile de ricin. La préparation du produit intermédiaire s'effectue en ZAC de classe A. De gros volumes sont utilisés pour cette production, à hauteur d'une soixantaine de flacon ambré de 50 mL, pour effectuer moins de passage en ZAC et donc éviter une contamination microbienne. Puis, en fonction de la demande venant de la rétrocession, 5 flacons NOVELIA® seront remplis avec le produit pour collyre contenu dans un flacon ambré de 50 mL.

De nombreux contrôles sont effectués tout au long du process pour assurer la qualité du produit, la sécurité pour le patient et l'efficacité du principe actif tout en étant conforme aux Bonnes Pratiques de Préparation. Les matières premières sont vérifiées dès leur réception à la PUI. Les conditionnements NOVELIA® sont livrés en deux parties, les bouchons et les flacons. Le reconditionnement de ces produits est soumis à des contrôles strictes, mise en place à la PUI (Annexe 3). Différents contrôles du produit intermédiaire sont effectués, dont (i) le pH, (ii) l'osmolalité et (iii) la teneur en CsA. Concernant le produit final, (i) un essai de stérilité , (ii) une recherche d'endotoxine ainsi que (iii) la présence d'endotoxines sont les contrôles effectués avant la libération du lot à la rétrocession.

CONCLUSION GENERALE

THESE SOUTENUE PAR M. VOYRON ERIC

La préparation à l'hôpital de collyre de CsA est une préparation importante rendue nécessaire par l'absence de spécialité existante pour un dosage à 2%. Son indication est la greffe de cornée. Les collyres de ciclosporine à 2% sont un besoin fréquent à la pharmacie à usage intérieur (PUI) de l'Hôpital Edouard Herriot (HEH) de Lyon et font ainsi l'objet de commandes régulières auprès de l'Hôpital des XV-XX de Paris, ce qui engendre (i) un coût pour l'institution et (ii) des contraintes organisationnelles. Ces différentes problématiques ont conduit la PUI à envisager elle-même la fabrication des collyres. Le développement de la formule pour les collyres de ciclosporine 2% repose sur trois choix rationnels, (i) le choix du principe actif, (ii) le choix des excipients et (iii) le choix du conditionnement.

La solution buvable de Sandimmun® est classiquement utilisée comme matière première. La PUI d'HEH a opté pour une préparation directement à base de la ciclosporine poudre, plus pratique, moins coûteuse et évitant la présence d'éthanol susceptible d'entraîner une irritation oculaire chez le patient. Néanmoins, l'utilisation de ciclosporine poudre a nécessité la validation d'une étape de dissolution dans un solvant approprié. Le choix des excipients a été guidé par la solubilité de la ciclosporine dans les solvants huileux. L'huile de ricin a montré son efficacité, et nous avons pu démontrer sa stabilité dans cette préparation. Enfin, le choix du conditionnement final s'est porté sur un flacon avec valve anti-retour de type NOVELIA® (i) adapté à la forte viscosité de l'huile de ricin et (ii) permettant d'éviter l'utilisation d'un conservateur.

La mise en place d'une telle préparation nécessite de nombreuses étapes de développement et la mise en place de contrôles adaptés selon la Pharmacopée européenne pour garantir la sécurité du patient. Notre principal problème fut de démontrer la stabilité de la ciclosporine durant le cycle d'autoclave. (i.e., 121°C pendant 20 minutes), notamment l'absence (i) de

modification de sa structure tertiaire et (ii) de produits de dégradation. Différents tests quantitatifs et qualitatifs ont été effectués via plusieurs techniques complémentaires pour vérifier la concentration de ciclosporine avant et après autoclavage.

La dernière étape est la préparation et le contrôle du collyre selon les Bonnes Pratiques de Préparation et la Pharmacopée Européenne. Chaque étape de préparations fait l'objet de contrôles, depuis la matière première jusqu'au produit fini. Tout ce qui concerne un lot est répertorié dans le dossier lot pour garder une trace de tout le processus de préparation. Une fois que tout a été vérifié par le pharmacien responsable, le lot peut être libéré puis stocké en vue de la dispensation. Les produits sont dispensés à la rétrocession de l'hôpital aux patients qui seront suivis et accompagnés pendant tout leur traitement.

La formule du collyre de ciclosporine dosé à 2% du groupement hospitalier Edouard Herriot est stable et facilement reproductible dans un milieu hospitalier. Le collyre de ciclosporine a démontré sa qualité, en subissant des essais de stabilité et en étant soumis à des contrôles systématiques à toutes les étapes de production comme le recommande les autorités compétentes. Sa conception rationnelle permet d'envisager une dispensation et une administration dans des conditions sécurisées. De plus, sa simplicité d'utilisation garantit une bonne observance par le patient traité.

Le président de la thèse

Nom : *PINT*

Signature

Vu et permis d'imprimer, Lyon le **28 NOV. 2016**
Vu, la Directrice de l'Institut des Sciences
Pharmaceutiques et Biologiques, Faculté de Pharmacie

Pour le Président de l'Université Claude Bernard Lyon 1,

Professeure C. VINCIGUERRA

*P/La Directrice et par délégation
Le Directeur adjoint
P. STEPHANIE BRIANCON*

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. R. Sinha, V. Jhanji, K. Verma, N. Sharma, N. Biswas, R. Vajpayee. Efficacy of topical cyclosporine A 2% in prevention of graft rejection in high-risk keratoplasty: a randomized controlled trial. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2010;248:6.
2. M. Filipec, T. Phan, T. Zhao, B. Rice, A. Merchant, C. Foster. Topical Cyclosporine A and corneal wound healing. *Cornea*. 1992;11:7.
3. EDQM, editor. *Pharmacopée Européenne: European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare*; 2007.
4. A. Brézin. *Préparations hospitalières ophtalmiques : fabrications et utilisations thérapeutiques*. 2012;2.
5. M. Wiederholt, D. Kossendrup, W. Schulz, Hoffmann F. Pharmacokinetic of Topical Cyclosporin A in the Rabbit Eye. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 1986;27.
6. EDQM, editor. *Pharmacopée Européenne European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare*; 2007.
7. ANSM. *Bonnes pratiques de fabrication*. Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé; 2011.
8. F. Chast. Histoire de la corticothérapie. *La Revue de médecine interne* 2013;34(6).
9. EDQM, editor. *Pharmacopée Européenne*. 6 ed: European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare; 2007.
10. Thériaque. Cyclosporine: CNHIM; 2013. Available from: <http://www.theriaque.org/apps/monographie/index.php?type=SAC&id=2253>, consulté le 06 Août 2015.
11. Chemspider. Structure of Cyclosporin: Royal Society of Chemistry; 2013. Available from: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.4447449.html>, consulté le 13 Octobre 2015.
12. Y. Ran, L. Zhao, Q. Xu, S. Yalkowsky. Solubilization of cyclosporin A. *AAPS PharmSciTech*. 2001;2(1):E2.
13. H. Sato, Y. Kawabata, K. Yuminoki, N. Hashimoto, Y. Yamauchi, K. Ogawa, et al. Comparative studies on physicochemical stability of cyclosporine A-loaded amorphous solid dispersions. *International Journal of Pharmaceutics*. 2013;426:302-6.
14. M. Vaubourdolle. *Infectiologie Tome 3*. 4th ed. Moniteur L, editor: Walters Kluwer SA; 2013.
15. T. Reinhard, R. Sundmacher, P. Heering. Systemic cyclosporin A in high-risk keratoplasties *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*. 1996;234:6.
16. J. Heal, S. Wells, C. Blindauer, R. Freedman, R. Romer. Characterization of Folding Cores in the Cyclophilin A-Cyclosporin A Complex. *Biophysical Journal*. 2015;118:1739 - 46.

17. P. Robert, V. Leconte, C. Olivé, V. Ratsimbazafy, M. Javerliat, J. Adenis. Collyre à la cyclosporine A : fabrication, toxicité, pharmacocinétique et indications en l'an 2000. *Journal Français d'Ophthalmologie*. 2001;24(5):527-235.
18. D. Ezra, G. Mafrzir. Ocular Penetration of Cyclosporin A. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 1990;31(7).
19. J. Theng LZ, D. Tan. Distribution of cyclosporin A in the cornea after topical or oral administration. *J Ocul Pharmacol Ther*. 2002;18(1):6.
20. M. Oellerich, V. Armstrong, E. Schutz, L. Shaw. Therapeutic drug monitoring of cyclosporine and tacrolimus. *Clinical Biochemistry*. 1998;31(5):6.
21. C. Althaus, E. Dagres, T. Reinhard, U. Christians, R. Sundmacher. Cyclosporin-A and its metabolites in the anterior chamber after topical and systemic application as determined with high-performance liquid chromatography-electrospray mass spectrometry. *German Journal of Ophthalmology*. 1996;5(4):5.
22. S. Solch, P. Nadler, M. Silverman. Safety and Tolerability of Two Percent Cyclosporine (Sandimmune®) Ophthalmic Ointment in Normal Volunteers. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics*. 2009;7(4):12.
23. G. Mikhail, H. Eadon, N. Leaver, A. Khaghani, M. Yacoub, N. Banner. Comparison of Neoral and Sandimmun Cyclosporines for De Novo Lung Transplantation in Cystic Fibrosis Patients. *Transplantation Proceedings*. 1998;30:2.
24. Allergan Laboratories. Restasis®(Cyclosporine Ophthalmic Emulsion) 0.05% 1983. Available from: <http://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/lookup.cfm?setid=8e24af2b-bc1c-4849-94f2-6df950cdca89>, consulté le 13 février 2014.
25. F. Alvarez-Nunez, C. Medina. Glycerin. In: Raymond C Rowe PJSaMEQ, editor. *Handbook of Pharmaceutical Excipients: Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association*; 2009. p. 283-6.
26. J. Sheng. Castor Oil. In: Raymond C Rowe PJSaMEQ, editor. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. Sixth ed: Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association; 2009. p. 126-7.
27. D. Zhang. Polyoxyethylene Sorbitan Fatty Acid Esters. In: Raymond C Rowe PJSaMEQ, editor. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. Sixth ed: Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association; 2009. p. 549-53.
28. E. Draganoiu, A. Rajabi-Siahboomi, S. Tixari. Carbomer. In: Raymond C Rowe PJSaMEQ, editor. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. Sixth ed: Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association; 2009. p. 110-4.
29. A. Kibbe. Sodium Hydroxide. In: Raymond C Rowe PJSaMEQ, editor. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. Sixth ed: Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association; 2009. p. 648-9.
30. France V. Vidal en Ligne. Available from: <https://www.vidal.fr/>, consulté le 28 Octobre 2015.

31. ANSM. RCP Ikervis(r) 1 mg/mL: Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé; 2013.
32. K. Inoue, S. Amano, C. Kimura, T. Sato, N. Fujita, F. Kagaya, et al. Long-Term Effects of Topical Cyclosporine A Treatment after Penetrating Keratoplasty. *Japanese Journal of Ophthalmology*. 2000;44:14.
33. Arrêté du 17 décembre 2013 modifiant l'arrêté du 17 décembre 2004 modifié fixant la liste prévue à l'article L. 5126-4 du code de la santé publique, (2013).
34. H. Nourry, S. Perrot, C. Martin, C. Chaumeil, C. Cambourieu, P. Rat, et al. Etude de la cytotoxicité de différents collyres à base de ciclosporine A buvable (Sandimmun(r)). *Journal Français d'Ophtalmologie*. 2006;29(3):251-7.
35. B. Vabres, M. Duffas, L. Stork, A. Pechereau. Facteurs non immunologiques d'échec des kératoplastie perforantes : étude prospective de 119 greffes de cornée au CHU de Nantes de l'année 1995. *J Fr Ophtalmol*. 1999;22(33):8.
36. Lallemand F, Felt-Baeyens O, Besseghir K, Behar-Cohen F, Gurny R. Cyclosporine A delivery to the eye: A pharmaceutical challenge. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2003;56(3):307-18.
37. E. Cengiz, M. Demirel, Y.Yazan. Ocular fate of cyclosporine-A with solip lipid nanoparticles. *Anadolu University Scientific Research Project Foundation*. 2009.
38. J. Benítez del Castillo, C. del Aguila, S. Duran, J. Hernandez, J. García Sánchez. Influence of topically applied cyclosporine A in olive oil on corneal epithelium permeability. *Cornea*. 1993;13(2):5.
39. W. Behrens-Baumann, S. Theuring, H. Brewitt. The effect of topical cyclosporin A on the rabbit cornea. A clinical and electron microscopic study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 1986;224(6):520-4.
40. F. Chast, F. Lemare, J.-M. Legeais, R. Batista, C. Bardin, G. Renard. Préparation d'un collyre de ciclosporine à 2%. *Journal Français d'Ophtalmologie*. 2004;27(6):567-76.
41. M. Fauvel, K. Morand, M. Brandely, R. Batista, G. Renard, F. Chast. Collyre de ciclosporine 2 % : validation d'un conditionnement en polyéthylène basse densité. *Journal de Pharmacie Clinique*. 2008;27(4):6.
42. M. Gotardo, M. Monteiro. Migration of diethylhexyl phthalate from PVC bags into intravenous cyclosporine solutions. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2005;38:5.
43. C. Baudouin, A. Labbe, H. Liang, A. Pauly, F. Brignole-Baudouin. Preservatives in eyedrops: the good, the bad and the ugly. *Prog Retin Eye Res*. 2010;29(4):312-34.
44. D. Vaede, C. Baudouin, J. Warneta, F. Brignole-Baudouina. Les conservateurs des collyres : vers une prise de conscience de leur toxicité. *Journal Français d'Ophtalmologie*. 2010;33(7):25.
45. P. Furrer, J. Mayer, R. Gurny. Ocular tolerance of preservatives and alternatives. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2002;53(3):263-80.

46. A. Dogan, M. Orhan, F. Soylemezoglu, M. Irkeç, B. Bozkurt. Effects of topical antiglaucoma drugs on apoptosis rates of conjunctival epithelial cells in glaucoma patients. *Clin Experiment Ophthalmol*. 2004;32(1):62-6.
47. P. Hamard, C. Blondin, C. Debbasch, J. Warnet, C. Baudouin, F. Brignole. In vitro effects of preserved and unpreserved antiglaucoma drugs on apoptotic marker expression by human trabecular cells. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2003;241(12):1037-43.
48. D. Lopez-Bernal, J. Ubels. Quantitative evaluation of the corneal epithelial barrier: effect of artificial tears and preservatives. *Curr Eye Res*. 1991;10(7):645-56.
49. N. Jaenen CB, P. Pouliquen, G. Manni, A. Figueiredo, T. Zeyen,. Ocular symptoms and signs with preserved and preservative-free glaucoma medications. *Eur J Ophthalmol*. 2007;17(3):341-9.
50. P. Pisella, P. Pouliquen, C. Baudouin. Prevalence of ocular symptoms and signs with preserved and preservative free glaucoma medication. *Br J Ophthalmol*. 2002;86(4):418-23.
51. P. Gabisson, B. Briat, J. Le Foll, S. Conan, F. Bale-Le Bescond, M. Talmud, et al. Maniabilité et acceptabilité du flacon Abak® nouvelle génération chez des patients traités au long cours. Etude transversale, rétrospective et multicentrique. *Annales Pharmaceutiques Françaises*. 2011;69(1):22-9.
52. Un autre procédé pour conditionner les collyres. *Prescrire*. 2001;21(221):667-8.
53. N. Ansermot, W. Griffiths, P. Bonnabry. Détermination de la fiabilité des flacons compte-gouttes pour l'administration des solutions orales. . *Pharm Hos*. 2002;37:5.
54. E. German, M. Hurst, D. Wood. Reliability of drop size from multi-dose eye drop bottles : is it cause for concern? *Eye*. 1999;13:8.
55. E. Muriaux, F. Mercier, inventorsCyclosporin a-based aqueous ophthalmic solution. France2013.
56. W. Blanda, H. Rivers, D. Marsh, M. Luu, inventors; Allergan Inc., assignee. Autoclavable suspensions of cyclosporin a form 2. United States of American patent US 2013/0123194 A1. 2013 May 16, 2013.
57. R. Shaw, H. Mantsch, B. Chowdhry. Solvent influence on the conformation of cyclosporin. An FT-IR study. *Canadian Journal of Chemistry*. 1993;VOL. 71.
58. A. Husek. High-performance liquid chromatographic analysis of cyclosporin A and its oral solutions. *J Chromatogr A*. 1997;759(1-2):217-24.
59. C. Bousquet, P. Plichon, S. Watt, D. Antier. Étude de stabilité des collyres à la ciclosporine. *APHO; Caen*2008.
60. A. Lajoinie, P. Vasselon, M. Tall, D. Salmon, V. Bréant, E. Diouf, et al. Test de dépyrogénéation des conteneurs en inox et en verre pour la préparation des mélanges pour nutrition parentérale. *Annales Pharmaceutiques Françaises*. 2011;70(5):271-80.
61. ANSM. Bonnes pratiques de préparation. Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé; 2007.

ANNEXES

ANNEXE 1 : Préparation hospitalière de collyres à la ciclosporine ? Rationalisation galénique et pharmacotechnique

ANNEXE 2 : Protocole de reconditionnement des flacons vides pour les collyres NOVELIA® validé et utilisé au groupement hospitalier Edouard Herriot.

ANNEXE 3 : Protocole de validation du maintien de l'asepsie après reconditionnement des 1200 flacons vides pour les collyres NOVELIA® par sachet pelable de 5 unités validé et utilisé au groupement hospitalier Edouard Herriot.

ANNEXE 1

Préparation hospitalière de collyres à la ciclosporine ? Rationalisation galénique et pharmacotechnique.

Damien Salmon, Julie Renaud, Amandine Baudoin, Alexia Malriq, Elhadji Diouf, Mamadou-Lamine Tall, Thierry Lomberget, Fabrice Pirot, Christine Pivot.

Congrès national des pharmaciens des hôpitaux HOIPHARM 2013 - Lyon



Hôpitaux de Lyon



FRI PHARM



ISPB Faculté de Pharmacie de Lyon



Préparation hospitalière de collyres à la ciclosporine ? Rationalisation galénique et pharmaceutique

Damien Salmon^{1,2}, Julie Renaud¹, Amandine Baudoin¹, Alexia Malriq¹, Elhadji Diouf¹,
Mamadou-Lamine Tall¹, Thierry Lomberget², Fabrice Piro^{1,2}, Christine Pivot¹

¹ Service Pharmaceutique, Groupement Hospitalier Édouard Herriot, Hospices Civils de Lyon

² EA 4169, Fonctions normales et pathologiques de la barrière cutanée, Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lyon

Introduction

La ciclosporine est un composé peptidique cyclique lipophile aux propriétés immunosuppressives. Elle est utilisée en ophtalmologie sous forme de collyre (0,05% à 2%) pour traiter divers types de kératites et kératoconjunctivites ainsi que dans les kératoplasties à haut risque de rejet.

Objectifs

La préparation de collyre impose une étape de stérilisation qui jusqu'à maintenant était réalisée par filtration stérilisante rendue difficile par la nature lipophile du solvant (i.e. huile de ricin vierge). Le collyre de ciclosporine à 2% plus particulièrement doit être réalisé à partir d'une suspension buvable commerciale de ciclosporine, non stérile, seule forme disponible suffisamment peu concentrée en éthanol pour ne pas induire une toxicité oculaire.

Procédé de préparation hospitalière de collyre de ciclosporine à 2%
L'unité de préparation et contrôle du médicament du service pharmaceutique a développé un mode innovant de préparation permettant une stérilisation terminale du produit par la chaleur humide (figure 1).

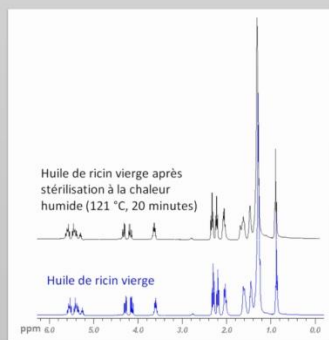


Figure 2: Spectroscopie RMN (CDCl₃, 300MHz) de l'huile de ricin vierge avant (bleu) et après (noir) passage à l'autoclave (121 °C, 20 minutes).

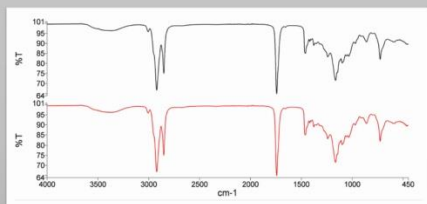


Figure 3 : Spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier de l'huile de ricin vierge avant (noir) et après (rouge) passage à l'autoclave (121 °C, 20 minutes).

Validation analytique du procédé de préparation

La stabilité de la ciclosporine après traitement à la chaleur humide (121°C, 20 minutes) a été évaluée par chromatographie liquide haute performance (HPLC). Par ailleurs, la stabilité de l'huile de ricin vierge après traitement à la chaleur humide (121°C, 20 minutes) a été évaluée par spectroscopie RMN (figure 2) et par spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) (figure 3).

Résultats et discussion

Le procédé de préparation avec une étape de stérilisation par la chaleur humide permet une production simplifiée d'un lot de collyres de ciclosporine. L'analyse HPLC confirme l'absence de dégradation de la ciclosporine au cours du procédé de préparation. De plus, les analyses spectroscopiques confirment la stabilité de l'excipient huileux à une température de 121 °C pendant 20 minutes. Cependant une préfiltration clarifiante de l'huile de ricin est nécessaire afin de répondre aux critères de contamination particulaire des formes ophtalmiques.

Conclusion

Le prétraitement de l'huile de ricin et la stérilisation par autoclave ont permis de rationaliser la préparation des collyres de ciclosporine et ainsi de sécuriser leur utilisation finale tout en simplifiant leur production. Le mélange pour collyre final est stocké dans des flacons teintés de 50 ml et les collyres (10 ml) sont préparés extemporanément par transfert stérile pour répondre spécifiquement aux demandes des services d'ophtalmologie ou de rétrocession.

Références

- Bonnes Pratiques de Préparation, 2007, AFSSaPS
- Collyre de ciclosporine 2 % : validation d'un conditionnement en polyéthylène basse densité. M. Fauvel, K. Morand, M.-L. Brandely, R. Batista, G. Renard, F. Chast. *J Pharm Clin* 2008 ; 27 (4) : 221-6
- Préparation d'un collyre de ciclosporine à 2%. F. Chast, F. Lemare, J.-M. Legeais, R. Batista, C. Bardin, G. Renard. *J Fr Ophtalmol*, 2004; 27, 6, 567-576.

HOPIPHARM 2013 Congrès national des pharmaciens des hôpitaux - Lyon

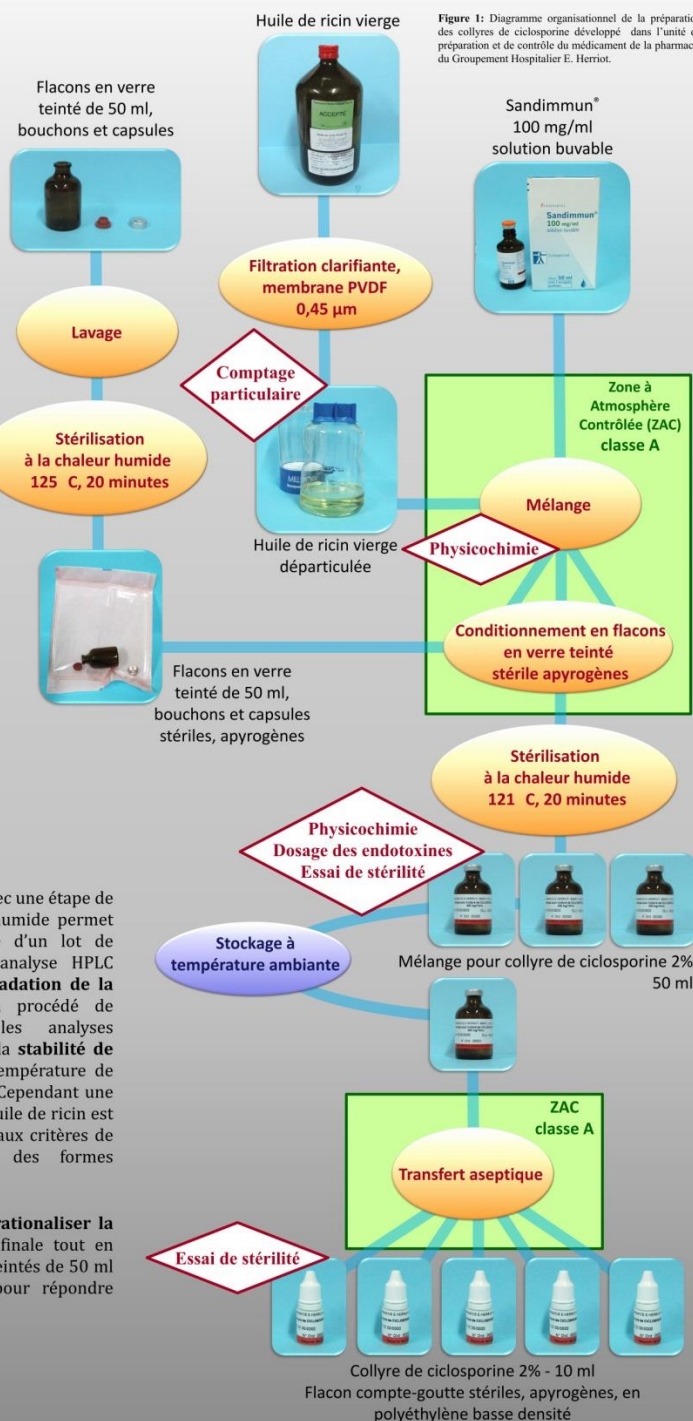


Figure 1: Diagramme organisationnel de la préparation des collyres de ciclosporine développé dans l'unité de préparation et de contrôle du médicament de la pharmacie du Groupement Hospitalier E. Herriot.

ANNEXE 2

Protocole de reconditionnement des flacons vides pour les collyres NOVELIA® validé
et utilisé au groupement hospitalier Edouard Herriot.



RECONDITIONNEMENT DES FLACONS VIDES POUR LES COLLYRES	« Mot clef » : Reconditionnement, flacons, collyres vides
	Réf. : IN-PH-G-F-45-1 Pagination: 1/8

Nom complet	Reconditionnement des flacons vides pour les collyres
Code HCL	NA
Indication du produit	NA
Voie d'administration	NA

Type de document :	
Procédure	o
Protocole	o
Instruction/Enregistrement	x
Assurance Qualité	o
Annexe (0)	o

	REDACTION	VERIFICATION	APPROBATION
Nom - Fonction	<i>Samira FILALI</i>	<i>El Hadji DIOUF Pharmacien Attaché</i>	<i>Fabrice PIROT Pharmacien Responsable UF</i>
Date	13/01/2015	14/01/2015	14/01/2015
Signature			

	Date de la version	Destinataires	Date de diffusion	Date d'archivage
Date de mise en application	14/01/2015	Techniciennes du laboratoire Internes en Pharmacie Préparateurs en pharmacie Pharmaciens		
Date de 1 ^{ère} modification				
Date de 2 ^{ème} modification				

1. OBJET

	Document1	1/8
	Photocopie interdite	



Cette instruction a pour objectif de rapporter les modalités du reconditionnement de collyres fourni par la société NEMERA®. Initialement, ces conditionnements de collyres sont livrés par sachet de 1200 unités. Cette présente instruction décrit toutes les étapes réalisées pour reconditionner ces collyres par 5 unités tout en maintenant l'asepsie sous flux laminaire.

DOMAINES D'APPLICATION

L'instruction d'utilisation doit être rigoureusement respectée par le personnel utilisateur :

- ✓ Préparateurs : réalisent le reconditionnement en sachets
- ✓ Internes en Pharmacie : aident au reconditionnement
- ✓ Ouvriers professionnels : Nettoyage des locaux et manutention
- ✓ Pharmaciens : valident le reconditionnement et libèrent les lots

2. DOCUMENTS DE REFERENCE

- ✓ Bonnes Pratiques de Préparation 2007/7bis
- ✓ Procédures de procédures : **PR-UF-01-02**
- ✓ Pharmacopée Européenne 8.0 – Monographie 2.6.1

3. DESCRIPTION DE L'ACTIVITE

3.1. Matériels

- 490 sachets pelables dimension : 150 x 350 mm
- 490 + 49 sachets pelables dimension : 210 x 280 mm
- 49 sachets pelables dimension : 225 x 420 mm
- Scelleuse thermique
- Autoclave
- Bac opaque pour le stockage des conditionnements de collyre
- 2 flacons eau ppi 1 litre
- 1 flacon lonza

3.2. Préparations des étiquettes

- Reprendre les modèles des étiquettes se trouvant dans le dossier partagé
S:\PREPARATION ET CONTROLES DES MEDICAMENTS\SECTEUR PREPARATIONS\FABRICATIONS\PREPARATIONS STERILES\Collyres (PH)\Reconditionnement.
- 4 modèles d'étiquettes ont été créés (voir ci-dessous)

	Document1	2/8
	Photocopie interdite	



Pharmacie Hôpital E. Herriot – 69437 LYON
NOVELIA® Ensemble flacon + Nozzle & Cap
« **Liquid plug** »
5 unités

Reconditionné le :

DLU : 6 mois

N° Ordonnancier:

N° Lot interne:

Pharmacie Hôpital E. Herriot – 69437 LYON
NOVELIA® Ensemble flacon + Nozzle & Cap
« **Viscous plug** »
5 unités

Reconditionné le :

DLU : 6 mois

N° Ordonnancier:

N° Lot interne:

Pharmacie Hôpital E. Herriot – 69437 LYON
NOVELIA® Nozzle & Cap
5 unités

Reconditionné le :

DLU : 6 mois

N° Ordonnancier:

N° Lot interne:

Pharmacie Hôpital E. Herriot – 69437 LYON
NOVELIA® flacons
5 unités

Reconditionné le :

DLU : 6 mois

N° Ordonnancier:

N° Lot interne:

	Document1	3/8
	Photocopie interdite	



Attention ! Lors du reconditionnement, il faut bien différencier les cartons du nozzle & cap « **liquid plug** » des « **viscous plug** ». En effet, après ouverture de l'emballage, aucun élément ne permet de les différencier physiquement. Tous les deux de couleur blanche !

Vérifier ou noter les données suivantes:

- Date de reconditionnement
 - Date de péremption
 - N° ordonnancier
 - N° lot interne
- Imprimer 11 planches de 24 étiquettes

3.3. Préparations des sachets stériles pelables

- [1] Découper les sachets pelables de 150 x 350 mm aux dimensions de **150 x 197 cm**
- [2] puis les rassembler par paquet de 10 dans un sachet pelable de dimension 210 x 280 cm
- [3] Sceller ces paquets de 10 à l'aide de la scelleuse thermique
- [4] Glisser dans un des paquets (bien au centre), un indicateur de stérilisation

[1]	[2]	[3]	[4]
			Indicateur après autoclavage

- De la même façon, rassembler les sachets pelables de dimension **210 x 280 cm** par paquet de 10 dans un sachet pelable de dimension 225 x 420 cm (ces sachets ne doivent pas être redimensionnés)
- Glisser dans un des paquets (bien au centre), un indicateur de stérilisation
- Inscrire le numéro de lot des sachets sur la fiche de fabrication
- Autoclaver ces sachets avec le programme « cycle matériel »
- Conserver les documents du cycle de stérilisation en agrafant l'indicateur de stérilité

	Document1	4/8
	Photocopie interdite	



3.4. Reconditionnement

Le reconditionnement se fait en salle des injectables B01-00-22. Afin d'éviter le risque de contamination croisée entre les conditionnements « liquid plug » et « viscous plug », il faut réaliser les reconditionnements de chaque type de conditionnement à des jours différents. L'ensemble des opérations est effectué sous le plafond soufflant (ZAC A).

3.4.1. Avant d'entrer en salle :

Préparer en amont :

- scelleuse thermique qui sera décontaminée à l'aide de lingettes Sanicloth®
- des bacs opaques décontaminés pour ranger les paquets reconditionnés
- Etiquettes
- Sachets stérilisés à l'autoclave
- Compléter la fiche de fabrication

3.4.2. En salle :

3.4.2.1. Reconditionnement

- Décontaminer tout le matériel qui passe sous le plafond soufflant et peler les sachets autoclavés sous le plafond soufflant
- Ouvrir une gélose de sédimentation de 90 mm tout au long de l'activité au coin droit dans la zone la plus critique
- Mettre 5 nozzle & cap + 5 flacons dans un sachet pelable de dimension 150 x 197 cm
- Sceller le sachet
- Mettre ce sachet dans un second sachet de dimension 210 x 280 cm
- Ce premier sachet sera conservé pour les contrôles.



	Document1	5/8
	Photocopie interdite	



- Répéter ces étapes jusqu'à épuisement des nozzle & cap et flacons.
- Au fur à mesure du reconditionnement, conserver des sachets pour les contrôles. De même, le dernier sachet sera utilisé pour les contrôles.
- Au total, 10 sachets (soit 50 unités) seront réservés pour les contrôles.
- Effectuer un contrôle des gants droit et gauche séparément sur 2 géloses différentes de 90 mm conformément à la procédure des « *contrôles microbiologiques en cours de fabrication* »
- Déposer une gélose count-tact au centre de la paillasse

Lieux de prélèvements des eaux	Recherche des endotoxines bactériennes	Essai de stérilité	Comptage des particules non visibles
Intérieur	5 unités	20 unités	10 unités
Intérieur + extérieur	5 unités	10 unités	0 unité

- Noter chaque perte de nozzle & cap et de flacons

3.4.2.2. Prélèvements pour effectuer le contrôle du maintien d'aseptie lors du reconditionnement

- Ouvrir une gélose de sédimentation de 90 mm tout au long de l'activité au coin droit dans la zone la plus critique
- Ouvrir ensuite les sachets réservés pour les contrôles :
 - o Mettre de l'eau ppi dans les 35 unités réservées à l'analyse des prélèvements effectués uniquement à l'intérieur
 - o Pour les prélèvements effectués à l'intérieur et l'extérieur, procéder de la façon suivante :
 - déposer un champ stérile
 - prendre 1 flacon décontaminé d'1 l d'eau ppi et décapsuler le flacon
 - décontaminer à nouveau le bouchon avec du sanicloth®
 - puis retirer le bouchon rouge en déposant le bouchon du côté intérieur face au flux
 - retirer 500 ml d'eau ppi et réserver 10 ml d'eau ppi pour le mettre dans un flacon lonza faisant office d'un contrôle blanc
 - un flacon du même lot d'eau ppi sera également donné au laboratoire de contrôle pour y réaliser un steritest®
 - mettre 10 unités (ensemble flacon + nozzle & cap) dans ce flacon d'eau ppi.
 - compléter avec de l'eau ppi jusqu'au col du bouchon
 - refermer le flacon sous le plafond soufflant avec le bouchon rouge

	Document1	6/8
	Photocopie interdite	



- mélanger par retournement du flacon une vingtaine de fois tout en maintenant fermement le bouchon rouge avec le pouce
- prélever 500 ml d'eau provenant du flacon qui contient les conditionnements de collyres à l'aide d'une seringue de 60 ml
- et l'injecter dans une poche Evam[®] de 500 ml
- Ce prélèvement est destiné au test de stérilité.
- Reprendre un 2^{ème} flacon d'eau ppi
- Eliminer 900 ml d'eau ppi et ajouter cette fois-ci 5 unités (ensemble flacon + nozzle & cap)
- Refermer le flacon sous le plafond soufflant avec le bouchon rouge



- Mélanger par retournement du flacon une vingtaine de fois tout en maintenant fermement le bouchon rouge avec le pouce
 - Prélever 50 ml d'eau provenant du flacon qui contient les conditionnements de collyres à l'aide d'une seringue de 60 ml
 - Et l'injecter dans une poche EVAM[®] de 500 ml
 - Ce prélèvement est destiné au dosage des endotoxines.
- Effectuer un contrôle des gants droit et gauche séparément sur 2 géloses différentes de 90 mm.
 - Déposer une gélose count-tact au centre de la paillasse

	Document1	7/8
	Photocopie interdite	



- Au total, les prélèvements suivants seront transmis au laboratoire de contrôle:
 - 35 unités de collyres remplies avec de l'eau ppi
 - Diviser les prélèvements dans des sachets zippés de la manière suivante :
 - 5 pour les endotoxines
 - 10 pour les comptages de particules
 - 20 pour le test de stérilité
 - Inscrire sur les sachets la mention suivante « Liquid plug, date, et le contrôle à effectuer »
 - 2 poches pour réaliser le test de stérilité et le dosage des endotoxines

3.4.3. A la sortie de la salle

Stockés les conditionnements de collyres au niveau de la quarantaine (B01-00-23) dans des bacs opaques.

Rassembler tous les résultats de contrôle et le mettre dans la pochette dédiée pour le reconditionnement de collyres.

4. Documents annexes

- Fiche de fabrication
- Bulletin d'analyse
- Procédure « Décontaminations du matériel »
- Procédure « Contrôles microbiologiques en cours de fabrication »
- Fiche de prélèvement pour les contrôles microbiologiques en cours de reconditionnement des flacons vides pour les collyres – Enregistrement N° 2

	Document1	8/8
	Photocopie interdite	

ANNEXE 3

Protocole de validation du maintien de l'asepsie après reconditionnement des 1200
flacons vides pour les collyres NOVELIA® par sachet pelable de 5 unités validé et
utilisé au groupement hospitalier Edouard Herriot.



Bulletin d'analyse N° SCPFS - 141 N° de lot :	RECONDITIONNEMENT DE COLLYRE NOVELIA® Ensemble flacon + Nozzle & Cap « Liquid plug » + « Viscous plug »	

. Indication	Validation du maintien d'asepsie après reconditionnement
. Conditionnement	Flacon de 10 mL
. Volume de remplissage	10 mL
. Code HCL	
. Formule qualitative et quantitative pour 10 mL	- Eau PPI ou tryptase-soja 10 mL
. Précautions de manipulation	Niveau 0
. Conditions de stockage	Température ambiante
. Référence Instruction d'Echantillonnage	IEC-PFS- 141
. Date de reconditionnement	
. Date Limite d'Utilisation	

NOMBRE D'UNITES PRELEVEES :

MEDIAFILL TEST	RECHERCHE DES ENDOTOXINES BACTERIENNES	ESSAI DE STERILITE	COMPTAGE DE PARTICULES NON VISIBLES
30	5	30	10

DOSAGE DES ENDOTOXINES BACTERIENNES :

Référence(s) : Ph. Eur. VIII^{ème} édition 2014

Contrôles	CLE ⁽¹⁾ (réf. Ph. Eur.)	CMTE ⁽²⁾ (UI/ml) (réf. interne)	FDL ⁽³⁾
Test LAL IMB-1		0,5	

(1) Concentration limite en endotoxines

(2) Concentration Maximale Tolérée en Endotoxines

(3) Facteur de dilution permettant de lever l'inhibition ou l'activation

Date	N° analyse / réactifs numéro de template	Résultats (UI/ ml)	Conformité		Signature
			OUI	NON	
			☐	☐	
			☐	☐	
			☐	☐	
			☐	☐	
			☐	☐	

COMPTAGE DES PARTICULES NON VISIBLES :

Référence(s) : Ph. Eur. VIII^{ème} édition 2014

	Taille particules	Normes	Résultats	Conformité		Date	Pièces jointes	Signature
				OUI	NON			
IMD-72	≥ 10 µm	≤ 600 / mL		☐	☐			
	≥ 25 µm	≤ 60 / mL		☐	☐			

Voir verso



ESSAI DE STERILITE :

- . Volume filtré :
- . Date de mise en culture :
- . Signature :

Nature des contrôles	Date de lecture		Milieux de culture	Résultats	Signature
STERITEST IMB-8	24 h		Thioglycolate+résazurine		
			Trypcase-Soja		
	48 h		Thioglycolate+résazurine		
			Trypcase-Soja		
	7 jrs		Thioglycolate+résazurine		
			Trypcase-Soja		
	14 jrs		Thioglycolate+résazurine		
			Trypcase-Soja		

MEDIAFILL

- Date de mise en culture :
- Signature :

Nature du contrôle	N°	Date de lecture à J14	Milieu de culture	Résultats	Signatures
IMB 9	1		N° de lot		
	2				
	3				
	4				
	5				
	6				
	7				
	8				
	9				
	10				
	11				
	12		Péremption		
	13				
	14				
	15				
	16				
	17				
	18				
	19				
	20				
	21				
	22				
	23				
	24				
	25				
	26				
	27				
	28				
	29				
	30				

COMMENTAIRE :

DECISION : **Accepté / Refusé**

Date :
 Pharmacien :

L'ISPB-Faculté de Pharmacie de Lyon et l'Université Claude Bernard Lyon 1 n'entendent donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses ; ces opinions sont considérées comme propres à leurs auteurs.

L'ISPB-Faculté de Pharmacie de Lyon est engagé dans une démarche de lutte contre le plagiat. De ce fait une sensibilisation des étudiants et encadrants des thèses a été réalisée avec notamment l'incitation à l'utilisation de méthodes de recherche de similitudes.

VOYRON Eric

Formulation de collyres de ciclosporine 2%.

Th. D. Pharm., Lyon 1, 2016, 113 p.

RESUME

L'intérêt des immunosuppresseurs est crucial en ophtalmologie. De nombreuses pathologies oculaires ont comme origine un désordre immunitaire. Ce désordre peut avoir lieu dans divers tissus de l'œil (cornée, rétine conjonctive...). La thérapie de première intention fut dans un premier temps les corticoïdes. Cette corticothérapie s'effectuait généralement au niveau local, par le biais de pommades ou de collyres. Cependant, une thérapie exclusivement à base de corticoïdes présente de nombreux effets indésirables au niveau local comme des retards de cicatrisation, des surpressions intraoculaire ou encore des cataractes par exemple. Ainsi elle a fait l'objet de nombreuses controverses. Un autre immunosuppresseur, la ciclosporine, a donc été préféré car moins d'effets indésirables ont été observés pour un résultat identique. Son action est toutefois couplée à celle des corticoïdes. Les collyres de ciclosporine sont donc utilisés à différents dosages en fonction de l'indication : un faible dosage ($\approx 0,1\%$) pour des pathologies mineures (syndrome de l'œil sec, kératoconjunctivites..) et un dosage plus important, 2%, pour des kératoplasties (greffe de cornée). Cependant, il n'existe aucune spécialité existante de collyre de ciclosporine dosé à 2%, en traitement des kératoplasties. Ainsi, sa préparation doit se faire à l'hôpital et nécessite de nombreuses précautions. L'Hôpital Edouard Herriot à Lyon a régulièrement besoin de ce collyre et doit donc faire face à ces problématiques. L'institution a donc décidé de développer une préparation pour les collyres de ciclosporine dosés à 2%.

MOTS CLES

Ciclosporine
Collyre
Formulation

JURY

M. PIROT Fabrice, Professeur des Universités - Praticien Hospitalier

M. SALMON Damien, Assistant Hospitalo-Universitaire

Mme. DARCISSAC Caroline, Assistant Spécialiste

DATE DE SOUTENANCE

Mercredi 21 Décembre 2016

ADRESSE DE L'AUTEUR

22, rue Nicolai – 69007 LYON