

Ministère de l'enseignement supérieur  
et de la recherche scientifique  
Université Mouloud Mammeri  
Faculté de Médecine  
TIZI-OUZOU



وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
جامعة مولود معمري  
كلية الطب  
تيزي وزو



Département de pharmacie  
N° d'ordre :

## MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté et soutenu publiquement  
le : 19 décembre 2022

En vue de l'obtention du diplôme de :

## DOCTEUR EN PHARMACIE

Sous le thème :

Préparation et contrôle qualité des collyres fortifiés de  
vancomycine

**Réalisé par :**

*Dr Akli Mehdi*

**Encadré par :**

*Dr Doufène Koceïla*



**Membres du jury :**

*Pr. MAMOU Marzouk*

*MCA HU - Faculté de médecine - UMMTO*

*Président*

*Dr DOUFENE Koceïla*

*MCB - Faculté de médecine - UMMTO*

*Promoteur*

*Dr BEN SI SAID Hassan*

*MA HU - Faculté de médecine - UMMTO*

*Examineur*

## Remerciements

الحمد لله الذي بفضله تتم الصالحات، ربِّ لك الحمد الوفير والشكر الكثير، اللهم اغفر لنا ولوالدينا ولكلِّ من له حقُّ علينا

*Je tiens à remercier très sincèrement le **Professeur Marzouk MAMOU**, Responsable des Laboratoires central de l'hôpital Belloua et de Chimie Analytique et Chef de Département de Pharmacie de la faculté de Médecine de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou, de m'avoir encouragé, encadré, conseillé et aidé durant l'ensemble du cursus de pharmacie et en particulier pour ce mémoire de fin d'étude.*

*J'adresse mes remerciements les plus chaleureux à mon promoteur **Dr. Doufène Koceïla**, maitre de conférences B à la faculté de médecine de l'université Mouloud Mammeri de Tizi-ouzou, pour sa disponibilité, ses conseils précieux tout au long de ce travail ainsi que pour sa grande patience, j'ai eu la chance de travailler avec toi et de bénéficier de tes connaissances et de tes compétences.*

*Je remercie également **Dr. Ben Si Said Hassan**, maitre-assistant en chimie analytique au niveau du CHU Tizi Ouzou/UMMTO pour son aide et ses orientations sans quoi ce travail n'aurait pas pu être mené à bien. Pour ces encouragements et son incontestable contribution à l'accomplissement de ce travail.*

*Je tiens également a adressé mes vifs remerciements au **Professeur Belkacem Slimane**, chef de service d'ophtalmologie, pour ses encouragements, ses conseils, sa bienveillance et son soutien, ainsi que les assistants **Dr Sini** et **Dr Yamranene** et l'ensemble du personnel du service d'ophtalmologie qui ont contribué à ce modeste travail.*

*À tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce projet de fin d'études. À tous ceux connus ou inconnus qui vont un jour feuilleter ce travail et qui, je l'espère, en bénéficieront.*

*Veillez trouver ici mes sincères remerciements.*

## ***Dédicaces***

*C'est avec une profonde affection et une énorme gratitude que je dédie cet humble travail ;*

*À mes adorables Parents, aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que vous méritez, vous êtes des parents exemplaires, merci pour vos conseils aimants, vos encouragements constants, votre soutien inconditionnel et pour toutes les valeurs que vous m'avez inculqué. Ma réussite est résultante de tous vos innombrables sacrifices. Que Dieu vous protège et vous accorde santé, joie et longue vie.*

*À mon Frère Nassim, merci pour ton aide et ton soutien mental tout au long de ce cursus, puisse dieu d'apporter bonheurs, santé, et réussite ;*

*À ma chère Sœur Sylia, petit est cet espace pour exprimer ma gratitude, merci pour ton soutien indéfectible, tes encouragements, et ton aide précieuse pendant l'ensemble de ce cursus et pour ce modeste travail, que dieu te protège et t'accorde santé, réussite et joie ;*

*À ma tendre épouse Numidia, force et courage, merci pour ta foi en moi, ton soutien, ton amour et tes encouragements récompensés par cette réussite, que dieu te protège et t'apporte santé, bonheurs et réussite ;*

*En témoignage de mon affection pour vous tous, je vous souhaite un avenir radieux, du bonheur et du succès dans tout ce que vous entreprenez.*

*À la mémoire de mes Grands Parents paternels, et maternels. Puisse DIEU les accueillir dans son vaste paradis.*

*À la mémoire de ma tante maternelle Khalti Zahra, Puisse DIEU l'accueillir dans son vaste paradis.*

➤	<b>INTRODUCTION GENERALE.....</b>	<b>01</b>
---	-----------------------------------	-----------

***Première partie : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE***

---

1.	L'œil	
1.1.	Rappel anatomique de l'œil et de ses annexes .....	03
1.1.1.	Les enveloppes de l'œil.....	03
1.1.1.1.	La tunique fibreuse externe.....	03
1.1.1.2.	La tunique uvéale.....	03
1.1.1.3.	La tunique nerveuse .....	04
1.1.2.	Les milieux transparents de l'œil .....	05
1.1.2.1.	L'humeur aqueuse.....	05
1.1.2.2.	Le cristallin .....	05
1.1.2.3.	Le corps vitrée .....	05
1.1.3.	Les annexes de l'œil.....	05
1.1.3.1.	Les muscles oculomoteurs .....	05
1.1.3.2.	Le système lacrymale.....	05
1.1.3.3.	La conjonctive.....	05
1.1.3.4.	Les paupières .....	05
1.2.	Physiologie lacrymale .....	05
1.3.	Surface oculaire et pharmacocinétique .....	07
1.4.	Pathologies oculaires.....	10
2.	Les Collyres	
2.1.	Définition .....	12
2.2.	Historique et évolution .....	12
2.2.1	Etymologie du mot collyre.....	12
2.2.2	Les collyres au XIX <sup>e</sup> siècle.....	13
3.	Les collyres fortifiés.....	17
3.1.	Utilisation.....	18
3.2.	Exigences de préparations .....	18
3.2.1.	Stabilité physico-chimique .....	19
3.2.2.	Efficacité thérapeutique.....	19
3.2.3.	Tolérance physiologique .....	19
3.2.3.1	PH.....	19
3.2.3.2	L'osmolalité.....	20
3.2.3.3	La contamination particulière .....	20
3.2.4	Sécurité microbiologique.....	20
3.3.	Formulation .....	21

3.4	Principes actifs de base des collyres fortifiés.....	21
3.4.1.	Vancomycine.....	21
3.4.2.	Gentamycine .....	22
3.4.3.	Ceftazidime .....	22
3.4.4.	Pipéracilline.....	23
3.4.5.	Ticarcillines.....	23
3.4.6.	Amphotéricine B .....	23
3.4.7.	Voriconazole .....	24
3.5	Revue de littérature des collyres fortifiés .....	25
3.6	Conditionnement.....	31
4.	Problématique .....	31
<b><i>Deuxième partie : ETUDE EXPERIMENTALE</i></b>		
1.	Matériel et méthodes.....	33
1.1.	Matériel.....	33
1.1.1.	Matériel utilisé lors de la préparation des collyres fortifiés.....	33
1.1.2.	Matériel utilisé lors des études de contrôle qualité.....	33
1.2.	Méthodes.....	36
1.3.	Contrôle qualité.....	38
1.3.1.	Etude de stabilité physicochimique .....	38
1.3.1.1.	Principe de dosage.....	38
1.3.1.2.	Conditions expérimentales.....	39
1.3.1.2.1.	Choix de la dilution.....	39
1.3.1.2.2.	Choix du diluant.....	39
1.3.1.3.	Préparation de la phase mobile.....	39
1.3.1.4.	Préparation des échantillons d'analyse.....	39
1.3.1.4.1.	Préparation de la solution d'étalon interne (EI).....	39
1.3.1.4.2.	Préparation des solutions de Vancomycine.....	40
1.3.1.4.3.	Préparation des solutions filles de vancomycine .....	40
1.3.1.5.	Préparation des vials pour analyse HPLC.....	40
1.3.1.6.	Préparation des blancs-échantillons.....	40
1.3.1.7.	Conditions d'analyse chromatographique.....	40
2.	Résultats.....	41
2.1.	Traitement des données et calcul statistique.....	41
2.2.	Stabilité physico-chimique.....	42
2.2.1.	Limpidité.....	42
2.2.2.	Dosage.....	42

2.3. Comparaison des chromatogrammes obtenus du dosage de la vancomycine et du céfotaxime (étalon interne).....	42
2.4. Courbe d'étalonnage.....	44
2.5. Résultats obtenus avec les collyres optimisés.....	45
2.6. Résultats obtenus avec les collyres non optimisés.....	45
3. Discussion.....	48
➤ <b>CONCLUSION</b> .....	49
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b> .....	50

***Liste des abréviations***

<b>BPP</b>	Bonnes pratiques de préparation
<b>BSS</b>	« Balanced Salt Solution»
<b>CMI</b>	Concentrations minimales inhibitrices
<b>CRM</b>	Conteneur réfrigéré mobile
<b>EI</b>	Etalon interne
<b>EPPi</b>	Eau pour préparation injectable
<b>PA</b>	Principe Actif
<b>PUI</b>	Pharmacie à usage intérieur
<b>RCP</b>	Résumé des caractéristiques du produit
<b>SARM</b>	Staphylocoque aureus résistant à la méthycilline
<b>TGV</b>	Ticarcilline Gentamycine Vancomycine

## Figures :

Figure 1. Segment antérieur de l'œil et paupières, vue de face.....	03
Figure 2. Schéma représentatif d'une coupe sagittale de l'œil avec ses différentes tuniques.....	04
Figure 3. Devenir d'une goutte instillée sur la surface oculaire.....	06
Figure 4. Visualisation en lumière bleue du film lacrymal et du ménisque lacrymale après instillation d'une goutte de fluorescéine .....	07
Figure 5. Représentation schématique du devenir du PA après instillation d'un collyre.....	09
Figure 6. Compression de l'angle interne afin d'obturer le point lacrymal.....	10
Figure 7. Flacon en verre soufflé, scellé à la flamme et stérilisable à la chaleur .....	12
Figure 8. Georg Bartisch (1535–1606) de Königsbrück (Allemagne), utilisant des collyres pour les yeux. Une aiguille transperce une éponge imbibée de collyre, et quand l'éponge est pressée, le collyre tombe de l'aiguille dans la surface oculaire.....	12
Figure 9. Compagne de prévention contre la conjonctivite du nouveau née (Mount Holyoke College Library).....	13
Figure 10. Flacon en verre moulé obturé par un bouchon en caoutchouc maintenu par une bague sertie, et coiffé d'un embout compte-gouttes plastique au moment de l'utilisation.....	14
Figure 11. Flacons en polyéthylène stérilisé à l'oxyde d'éthylène.....	15
Figure 12. Flacons unidoses.....	16
Figure 13. Flacon ABAK.....	16
Figure 14 : Environnement de préparation des collyres fortifiés.....	33
Figure 15 : Chaîne HPLC utilisée au cours de l'étude.....	35
Figure 16 : de gauche à droite : Vortex, pH-mètre, Montage d'aspiration sous vide.....	36
Figure 17 : Seringue contenant une préparation de collyre fortifié de vancomycine préparé selon le « procédé optimisé ».....	37
Figure 18 : Flacon contenant une préparation de collyre fortifié de vancomycine « méthode non optimisé ».....	37
Figure 19 : Chromatogramme de l'échantillon de collyre non optimisé analysé à j0.....	42
Figure 20 : Chromatogramme de l'échantillon de collyre non optimisé analysé à j3.....	43
Figure 21 : Chromatogramme de l'échantillon de collyre optimisé analysé à j0.....	43
Figure 22 : Chromatogramme de l'échantillon de collyre optimisé analysé à j3.....	44
Figure 23 : Courbe d'étalonnage de la Vancomycine obtenue avec la fonction $y = ax + b$ .....	45
Figure 24 : Histogramme des concentrations de vancomycine retrouvées après analyse des collyres optimisés.....	47
Figure 25 : Histogramme des concentrations de vancomycine retrouvées après analyse des collyres non optimisés.....	47

**Tableaux :**

Tableau 1: Revue de littérature de différentes études ayant pour thème les collyres fortifiés.....	25
Tableau 2 : Produits utilisés au cours des études de contrôle qualité.....	34
Tableau 3 : Autres équipements et appareillage utilisé au cours de l'étude.....	35
Tableau 4 : Verrerie utilisée au cours de l'étude.....	36
Tableau 5 : Conditions d'analyse chromatographique de la méthode de dosage.....	41
Tableau 6 : Concentrations calculées de la Vancomycine.....	45
Tableau 7 : Concentrations calculées de la Vancomycine.....	46

**Annexe :** Données brutes de l'analyse chromatographique de la vancomycine et de l'étalon interne (céfotaxime).....54

## **Introduction générale**

Les infections oculaires sont relativement courantes et de gravité variable selon la structure de l'œil atteinte et le germe en cause. Le port de plus en plus fréquent de lentilles de contact et la hausse du nombre d'interventions chirurgicales de la cornée notamment avec le développement de la chirurgie réfractive, de la chirurgie de la cataracte, des chirurgies vitréo-rétiniennes ont considérablement contribué à l'augmentation des cas d'infections oculaires ces dernières années.

Ces infections sont de plus en plus fréquentes mais également de plus en plus sévères dues à des germes résistants voir multi-résistants aux antibiotiques usuels, du fait de la large utilisation des antibiotiques topiques aux indications parfois abusées.

Afin de faire face à ces infections oculaires qui peuvent grever le pronostic visuel en entraînant la perte définitive du globe oculaire, des armes thérapeutiques plus efficaces ont été développées, en particulier avec l'avènement des collyres fortifiés qui correspondent à des préparations hospitalières d'antibiotiques pour la voie ophtalmique préparés à partir de spécialités injectables.

Ces collyres fortifiés ont permis de répondre au besoin des cliniciens en rendant disponibles des antibiotiques pour la voie ophtalmique nécessaires à la prise en charge des malades en offrant des antibiotiques à large spectre et couvrant les antibiogrammes qui deviennent de plus en plus restreints.

Parmi ces collyres fortifiés, les collyres de vancomycine constituent une arme de choix. Pour cela les laboratoires de chimie analytique et de pharmacie galénique de la faculté de médecine (Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou) en collaboration avec le laboratoire central et le service d'ophtalmologie de l'hôpital Belloua (CHU de Tizi-Ouzou) ont pris l'initiative de cette étude ayant pour objectif la réalisation de préparations de collyre fortifiés de vancomycine et le contrôle de leur qualité physico-chimique et microbiologique.

Première Partie :

**Synthèse bibliographique**

## 1. L'œil

### 1.1. Rappel anatomique de l'œil et de ses annexes

La vision est une fonction sensorielle fondamentale qui renseigne sur la forme, la couleur, et sur la mobilité de l'environnement.

L'œil est l'organe récepteur de la vision. Toutes ses structures sont destinées à favoriser la formation des images sur la rétine qui a pour rôle la transformation de ces images en influx nerveux transmis au cerveau par l'intermédiaire des nerfs optiques.<sup>1</sup>

Chez l'être humain, l'œil se présente sous la forme d'une sphère d'environ 24 mm de diamètre, formée de trois enveloppes et d'un contenu.<sup>2,3</sup>



Figure n°1 : segment antérieur de l'œil et paupières, vue de face.

#### 1.1.1. Les enveloppes de l'œil

Elles sont au nombre de trois et s'agencent de l'extérieur vers l'intérieur comme suit :

##### 1.1.1.1. La tunique fibreuse externe

Cette enveloppe externe se compose de la sclérotique opaque en arrière et de la cornée transparente en avant.<sup>3</sup>

La sclère (blanc de l'œil) est entourée, dans sa partie antérieure, d'une membrane très fine et transparente appelée conjonctive. Elle est très innervée et irriguée.

La cornée, membrane fibreuse transparente, demisphère de 8 mm de rayon, constitue la lentille principale du système optique oculaire.<sup>1,3</sup>

##### 1.1.1.2. La tunique uvéale

Egalement dénommée « uvée », cette enveloppe se compose de trois éléments : l'iris, le corps ciliaire et la choroïde.

L'iris, de couleur variable, joue le rôle d'un diaphragme se réglant suivant la quantité de lumière reçue.<sup>3</sup>

Le corps ciliaire joue un rôle essentiel dans l'accommodation en modifiant la courbe du cristallin grâce au muscle ciliaire. Il s'agit également d'un organe sécréteur au niveau des procès ciliaires, où il assure la production permanente de l'humeur aqueuse qui s'écoule dans la chambre antérieure.<sup>1</sup>

La choroïde est une couche pigmentée et vascularisée, située entre l'épithélium pigmentaire et la sclérotique. Il s'agit du tissu nourricier de l'œil qui apporte l'oxygène et les nutriments dont les cellules ont besoin.<sup>2</sup>

### 1.1.1.3. La tunique nerveuse

La tunique nerveuse, ou rétine, tapisse le fond de l'œil.<sup>2</sup>

La lumière qui pénètre dans l'œil doit traverser la rétine pour atteindre la couche de cônes et de bâtonnets qui vont capter l'influx nerveux et le transmettre au cerveau pour décoder et former une image.<sup>4</sup>

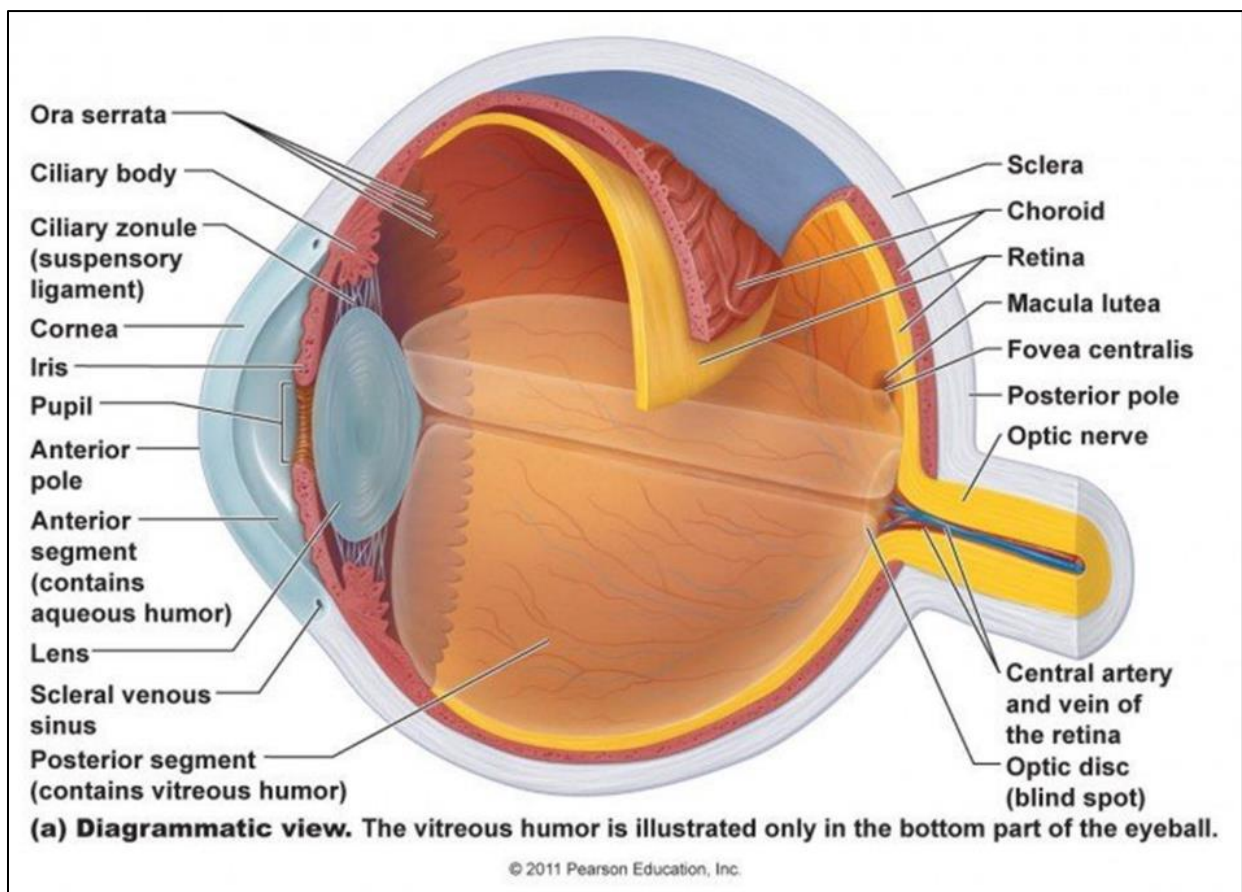


Figure 2 : Schéma représentatif d'une coupe sagittale de l'œil avec ses différentes tuniques.<sup>5</sup>

### **1.1.2. Les milieux transparents de l'œil**

Les milieux transparents de l'œil constituent son contenu :

#### **1.1.2.1. l'humeur aqueuse**

Elle remplit la chambre antérieure de l'œil, produite au niveau des procès ciliaires elle est éliminée au niveau du trabéculum au niveau de l'angle iridocornéen ;

#### **1.1.2.2. le cristallin**

Situé derrière l'iris il constitue avec la cornée les deux principaux dioptries de l'œil ;

#### **1.1.2.3. Le corps vitré**

En arrière du cristallin, sous forme d'un gèle transparent il adhère à la rétine.

### **1.1.3. Les annexes de l'œil**

#### **1.1.3.1 Les muscles oculomoteurs**

Le globe oculaire peut être dirigé vers différents points de l'espace, grâce à six muscles striés qui le font tourner à l'intérieur de l'orbite.<sup>3</sup>

#### **1.1.3.2 Le système lacrymal**

Les voies lacrymales s'étendent du bord interne des paupières aux fosses nasales. Les glandes lacrymales secrètent les larmes qui sont composées d'eau à 98 %, de sel, de protéines, de glucose, d'urée, d'oxygène et de lysozyme. Elles sont sécrétées à raison de 1,5 mL/jour. Leur rôle est de lubrifier et de nourrir la cornée, de la nettoyer et de la défendre contre les infections grâce au lysozyme.<sup>5</sup>

#### **1.1.3.3 La conjonctive**

La conjonctive est une muqueuse recouvrant la face profonde des paupières (conjonctive palpébrale) et la face antérieure de la sclérotique (conjonctive bulbaire).<sup>5</sup>

#### **1.1.3.4 Les paupières**

Le rôle des paupières est de protéger l'œil des agressions extérieures telles que la lumière, la température, les corps étrangers, mais également de répartir les larmes, assurant ainsi une constante hydratation des couches antérieures de la cornée.<sup>5</sup>

## **1.2. Physiologie lacrymale**

Le film lacrymal réalise une interface entre la surface oculaire et l'environnement extérieur.

Il a principalement deux rôles : l'une réfractive et l'autre constitue la défense anti-microbienne capable de protéger la surface oculaire contre toutes les attaques extérieures.

Il est composé d'eau, d'enzymes, de protéines, d'immunoglobulines, de lipides, de différents métabolites et de cellules exfoliées multinucléées.<sup>6</sup>

Le volume du film lacrymal est d'environ 7 à 9  $\mu\text{L}$  avec une sécrétion basale de 1 à 2 microlitres/min. La constitution du film lacrymal dépend de trois éléments : la sécrétion des larmes, l'étalement correct de celles-ci à la surface oculaire et leur résorption en partie par le canal lacrymo-nasal et en partie par évaporation.<sup>6</sup>

L'épaisseur réelle du film lacrymal est de 35 à 40  $\mu\text{m}$ , formé par les trois couches : lipidiques, aqueuse et muqueuse. Le mucus est dilué dans l'eau et adhère étroitement aux cellules cornéoconjonctivales superficielles alors que la couche lipidique s'étale en surface afin de limiter l'évaporation.<sup>6,7</sup>

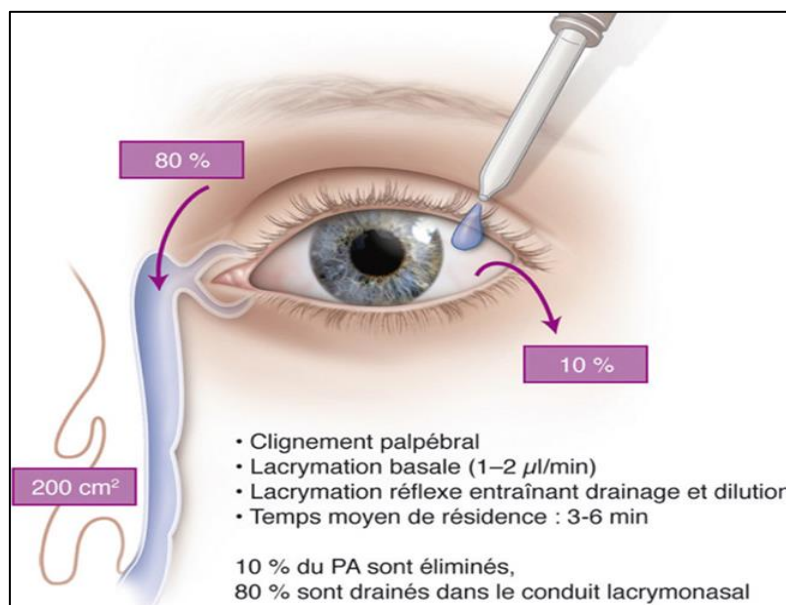


Figure 3 : Devenir d'une goutte instillée sur la surface oculaire.<sup>7</sup>

La couche aqueuse constitue la couche la plus épaisse du film lacrymal précornéen. Elle est faite à 98 % d'eau mais contient aussi des gaz dissous, des électrolytes, des hormones, des composés organiques et protéiques et des cellules desquamantes vivantes ou mortes.<sup>8</sup> Son **pH varie de 7,14 à 7,82 avec une pression osmotique de 305 milliosmoles/kg.**<sup>9</sup> La couche aqueuse joue un rôle anti-microbien essentiel grâce à son fort taux en lysozyme, bétalysines et lactoferrine, mais également à sa haute concentration en anticorps. Des immunoglobulines A et G sont sécrétées par les glandes lacrymales.<sup>6</sup>

Toute altération de la surface oculaire s'accompagne de modifications de la composition de la couche aqueuse comme une augmentation de la concentration des électrolytes, une diminution des concentrations en facteurs de croissance, ou l'apparition de cytokines pro-inflammatoires.<sup>7,10</sup>

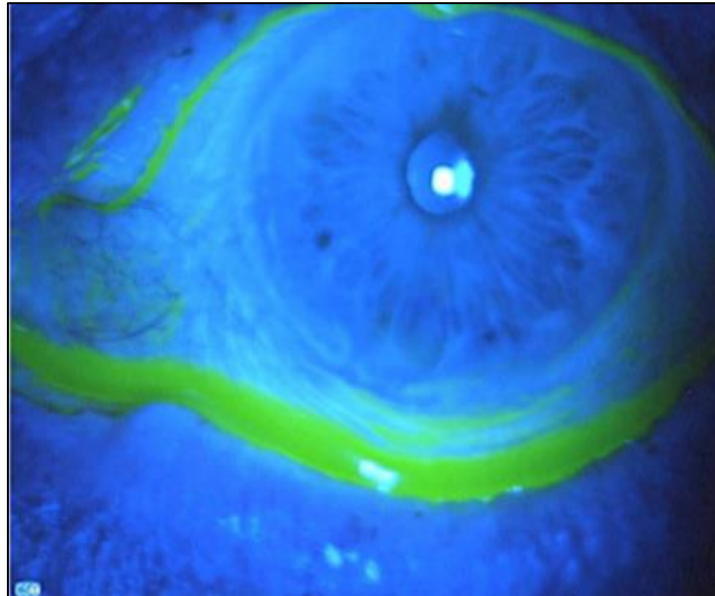


Figure 4 : visualisation en lumière bleue du film lacrymal et du ménisque lacrymale après instillation d'une goutte de fluorescéine.<sup>7</sup>

### 1.3. Surface oculaire et pharmacocinétique

L'ensemble du film lacrymal et de la surface épithéliale cornéo-conjonctivale constitue l'entité dite « **surface oculaire** ». cette dernière joue un rôle essentiel dans la défense de la cornée et de la conjonctive.<sup>7,11</sup>

Si la surface oculaire permet à l'œil de se défendre, elle constitue une arme à double tranchant en pharmacologie oculaire en s'opposant à la pénétration d'un produit, voire même en annulant ses effets par accélération de son élimination. Elle peut au contraire assurer son relargage progressif, une fois la molécule absorbée. Ce sont donc les caractéristiques des produits qui vont conditionner leurs capacités à atteindre leur cible.<sup>11</sup>

Pour évaluer les capacités de pénétration d'une molécule, plusieurs éléments doivent être pris en compte : il s'agit des facteurs précornéens et cornéens auxquels s'ajoutent les caractéristiques biochimiques des principes actifs (PA).<sup>9</sup>

Les facteurs précornéens sont constitués du film lacrymal et de la conjonctive. Le film lacrymal constitue un facteur limitant par son volume extrêmement faible. Le volume des larmes qui n'excède pas 7 à 9 $\mu$ l explique que le nombre de gouttes administrées ne devrait pas dépasser les capacités de contenance du film lacrymal et des culs-de-sac.<sup>9</sup>

Ainsi, plus le nombre de gouttes est élevé lors d'une instillation, moins la quantité de produit résiduel au niveau de la surface sera élevée en raison d'un phénomène de lavage : si 5 $\mu$ l sont instillés, ils demeurent environ 7 minutes au niveau de la surface alors qu'une goutte de 50 $\mu$ l ne restera que 2 minutes environ. De façon générale, tout volume instillé dépassant les 30 $\mu$ l sera perdu dans les voies lacrymales. L'effet du lavage augmente énormément si la molécule est irritante, en cas d'émotion ou d'une inflammation préexistante.<sup>4</sup>

Le drainage peut être limité en diminuant la fuite par les points lacrymaux ; toutefois, ce blocage doit être prolongé pour être efficace.

La pénétration du PA se fait essentiellement au niveau de la cornée. La conjonctive et la sclère jouent un rôle secondaire. La cornée constitue en effet un réel rempart qui s'oppose à la pénétration des produits : Son altération augmente très nettement le passage des produits.

Pour qu'une molécule ait une pénétration optimale, elle doit donc avoir un comportement double d'une part non polaire qui favorise sa liposolubilité et d'autre part polaire qui conditionne son hydrophilie. Le passage intercellulaire peut être facilité par certains excipients tels que les surfactants.<sup>12</sup>

La conjonctive, qui a une surface totale d'environ 16 cm<sup>2</sup> chez l'Homme, constitue un site de pénétration des médicaments essentiel car elle est 2 à 3 fois plus perméable que la cornée, ce qui peut conditionner l'effet systémique. Elle joue également un rôle essentiel en tant que réservoir des PA : une molécule liposoluble sera absorbée de façon abondante par la conjonctive pour être relarguée ensuite de façon prolongée.<sup>7</sup>

L'ensemble de ces considérations permet de comprendre qu'une molécule verra ses capacités à pénétrer la surface oculaire modifiées en fonction de :

- son poids moléculaire (les petites molécules pénètrent mieux que les grosses) : la plupart des antibiotiques en ophtalmologie ont des petits poids moléculaires. En revanche, la bacitracine pénètre mal dans la cornée en raison de son fort poids moléculaire ;
- sa lipophilie : une molécule lipophile pénètre mieux qu'une molécule hydrophile. La pénétration des produits est très augmentée en cas de lésion de l'épithélium cornéen.
- son osmolarité qui conditionne l'évaporation et la tolérance de la molécule ;
- son pH qui joue avant tout sur la tolérance et la stabilité de la molécule et de façon accessoire sur le degré d'ionisation, donc de la liposolubilité de la molécule ;
- son temps de contact qui dépend des véhicules dans lequel est transportée la molécule (polymères, pommades...) : le temps de rémanence peut être augmenté par les méthodes limitant le drainage des larmes à travers les canaux lacrymaux ;
- sa posologie : une augmentation du nombre d'instillations ou une administration continue permet d'augmenter globalement la concentration présente au niveau des larmes ;
- sa concentration lors de chaque instillation avec des facteurs limitants de tolérance, et de solubilité.

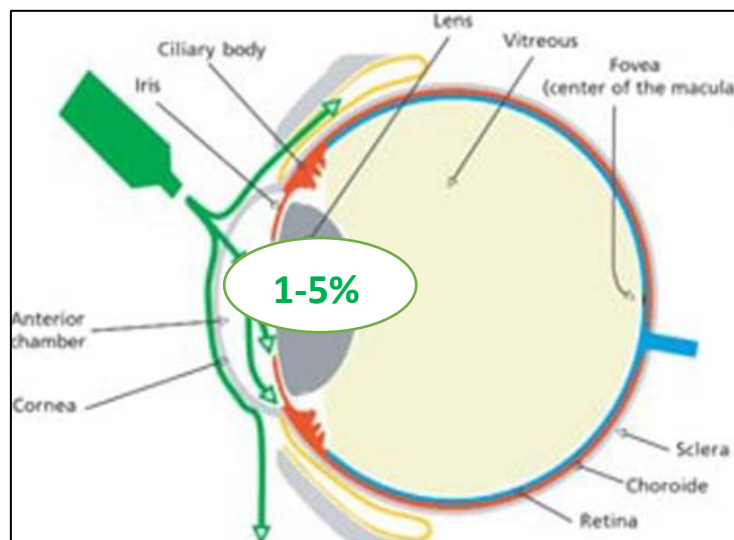


Figure 5 : représentation schématique du devenir du PA après instillation d'un collyre.<sup>13</sup>

Les collyres contiennent en effet des concentrations élevées en PA rendues nécessaires par une pénétration oculaire faible (1 à 5 % du produit actif délivré dans une goutte de collyre pénètre la chambre antérieure de l'œil, et le collyre doit donc être 20 à 100 fois plus concentré que la dose désirée dans l'œil).<sup>7,13,14</sup>

Le volume d'une goutte de 50  $\mu\text{L}$  est supérieur à celui du film lacrymal (8  $\mu\text{L}$ ) et de la rivière lacrymale (30  $\mu\text{L}$ ) laissant donc 10 à 20  $\mu\text{L}$  de chaque goutte se drainer dans le canal lacrymo-nasal pour être résorbés dans les vaisseaux de la muqueuse nasale et passer dans la circulation sans effet de premier passage hépatique.<sup>9</sup>

Afin de diminuer le passage systémique et le risque d'effet secondaires, la technique d'administration doit être rigoureuse. Il est recommandé surtout chez l'enfant de comprimer l'angle interne de l'œil pendant 1 min afin d'obturer le point lacrymal, d'essuyer l'excédent sur la joue de l'enfant, de n'administrer qu'une goutte à la fois et, en cas de traitement concomitant par un autre collyre, d'attendre au moins 15 min entre deux instillations.<sup>13</sup>

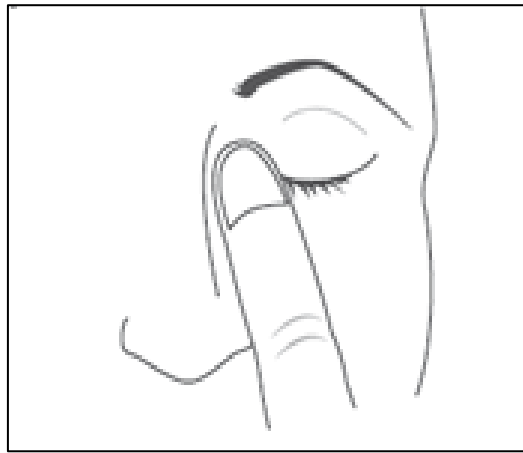


Figure 6 : compression de l'angle interne afin d'obturer le point lacrymal.<sup>15</sup>

#### **1.4. Pathologies oculaires**

De nombreuses pathologies oculaires, en particulier les atteintes du segment antérieur de l'œil, parmi lesquelles on peut citer le glaucome, les allergies oculaires, la sécheresse oculaire, les uvéites, et plus particulièrement les infections oculaires, sont prises en charges par voie topique.

Dans ce contexte, les collyres constituent une arme thérapeutique indispensable, leurs indications ont largement évoluées surtout ces dernières années. Les infections oculaires correspondent à une prolifération microbienne au niveau des différentes tuniques oculaires. On peut ainsi les classer en fonction de leur localisation en :

- Infections superficielles : les conjonctivites, les kératites (infections cornéennes), les blépharites (infections palpébrales).
- Infections profondes : dites « endophtalmies », elles correspondent quant à elles à une atteinte infectieuse des tuniques profonde de l'œil.

A la surface oculaire, la flore microbienne est extrêmement riche, dominée par les bactéries à Gram positif. Les principaux germes retrouvés au décours de ces infections sont :

- Gram + : Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus aureus (70% des cas)
- Gram - : Pseudomonas aeruginosa, Proteus mirabilis (30% des cas)
- Levures : plus rares.

Les infections ophtalmiques, et principalement l'endophtalmie, surviennent le plus souvent lors de traumatismes perforant ou en post chirurgie oculaire.<sup>16</sup>

Les signes cliniques les plus fréquemment retrouvés sont la douleur, la baisse de l'acuité visuelle, la rougeur oculaire avec hyperthémie conjonctivale et cercle périkératique, l'examen à la lampe à fente retrouve la présence d'un infiltrat cornéen blanchâtre correspondant à la prolifération bactérienne.<sup>17</sup>

La présence d'une prolifération microbienne intra-vitréenne signe l'endophtalmie (infection oculaire profonde). Le diagnostic impose une prise en charge urgente et adéquate.

Dans les endophtalmies post-chirurgicales, Staphylococcus epidermidis est le plus fréquent, suivi par Staphylococcus aureus et les streptocoques à fréquences égales.<sup>18</sup>

Les germes à Gram négatif représentent environ un tiers des étiologies, les plus fréquentes sont le Pseudomonas, les entérobactéries et l'Haemophilus. Les mycoses sont rares, retrouvé plus dans les infections post-traumatiques.<sup>19</sup>

Les infections oculaires sont relativement courantes et de gravité variable selon la structure de l'œil atteinte et le germe en cause. Le port de plus en plus fréquent de lentilles de contact et la hausse du nombre d'interventions chirurgicales de la cornée, a considérablement contribué à l'augmentation des cas d'infections oculaires ces dernières années.<sup>18</sup>

Les formes ophtalmiques d'anti-infectieux notamment les collyres, offrent une biodisponibilité égale ou supérieure à celle de l'antibiothérapie générale tout en limitant ses effets indésirables systémiques. Elles permettent donc de traiter la plupart des pathologies de l'œil, notamment les kératites sévères et l'endophtalmie, prises en charge au niveau hospitalier.<sup>19</sup>

## 2. Les Collyres

### 2.1. Définition

La Pharmacopée européenne définit les collyres comme des « solutions, émulsions ou suspensions stériles aqueuses ou huileuses contenant un ou plusieurs PAs et destinées à l'instillation oculaire ». <sup>20</sup>

### 2.2. Historique et évolution

L'utilisation de collyre fut très répandue notamment pour l'examen ophtalmologique, le diagnostic et la prise en charge des pathologies de surface oculaire.



Figure 7 : Flacon en verre soufflé, scellé à la flamme et stérilisable à la chaleur. <sup>21</sup>

#### 2.2.1. Etymologie du mot « Collyre »

Le terme de collyre est apparu pour la première fois dans la Grèce antique « Kollyrion ». <sup>10</sup> Parmi les nombreux mots grecs que Rome a assimilé il y'a le diminutif collyrium. Ainsi, kollyrion est devenu collyrium. Le terme a évolué pour « collyre » en français. De nombreuses autres langues, y compris l'anglais, a conservé le nom latin « collyrium ». <sup>21</sup>

Petit à petit, la signification de « collyre » et ses dérivés ont commencé à se limiter à deux aspects. Il est venu se référer uniquement aux substances de nature liquide et uniquement à ceux appliqués aux yeux.



Figure 8 : Georg Bartisch (1535–1606) de Königsbrück (Allemagne), utilisant des collyres pour les yeux. Une aiguille transperce une éponge imbibée de collyre, et quand l'éponge est pressée, le collyre tombe de l'aiguille dans la surface oculaire. <sup>10</sup>

### 2.2.2. Les collyres au XIX<sup>e</sup> siècle

Parmi un assez grand nombre de pharmacopées, formulaires et traités médicaux et pharmaceutiques, nous pouvant citer quatre, datant tous du milieu du XIX<sup>e</sup> siècle :

- Le Codex de 1866 ;
- L'Officine de Dorvault de 1855 ;
- Le Traité de Pharmacie, de Henry et Guibourt, de 1841 ;
- Le Formulaire Pharmaceutique à l'usage des Hôpitaux Militaires français, de 1857.

Les collyres secs contenaient généralement du sucre et des sels de zinc, de borax, de calomel et d'aloès, tandis que les collyres liquides contenaient des sels de zinc et de cuivre, du camphre, de l'iode, des extraits de plantes et étaient souvent formulés avec de l'eau de rose ou du mucilage de coing.<sup>22</sup>

Deux notions importantes ont été développées dans la seconde partie du XIX<sup>e</sup> siècle : l'utilisation de nouveaux excipients tels que la vaseline, et la notion d'isotonie vers la fin du 19<sup>ème</sup> siècle pour améliorer la tolérance des collyres.<sup>22</sup>

Les drogues telles que l'atropine, la pilocarpine et la cocaïne ont également été découvertes et utilisées en ophtalmologie au XIX<sup>e</sup> siècle. Enfin, l'utilisation universelle du nitrate d'argent à 2% pour prévenir l'ophtalmie du nouveau-né a été introduite dans les années 1880.<sup>22</sup>



Figure 9 : Campagne de prévention contre la conjonctivite du nouveau née (Mount Holyoke College Library).<sup>23</sup>

Actuellement nous avons vu l'apparition de nombreux médicaments par voie ophtalmique, notamment on pourra citer :

- Anesthésiques ophtalmiques
- Anti-allergiques et décongestionnants ophtalmiques
- Anti-inflammatoires ophtalmiques
- Antibactériens ophtalmiques
- Antiglaucomeux
- Antiseptiques ophtalmiques
- Antiviraux ophtalmiques
- Cicatrisants ophtalmiques
- Homéopathie à visée ophtalmique
- Mydriatiques
- Produits de contactologie
- Solutions pour lavages oculaires externes
- Suppléance lacrymale

Nous avons vu également l'évolution des formes galéniques, du conditionnement (flacon en verre, flacon en polyéthylène) et l'apparition de formulation sans conservateurs (flacon multi-doses ou uni doses) ceci dans le but d'améliorer la tolérance et par conséquent l'observance notamment pour les médicaments ophtalmiques d'utilisation chronique.



Figure 10 : Flacon en verre moulé obturé par un bouchon en caoutchouc maintenu par une bague sertie, et coiffé d'un embout compte-gouttes plastique au moment de l'utilisation.<sup>24</sup>



Figure 11 : Flacons en polyéthylène stérilisé à l'oxyde d'éthylène.<sup>24</sup>

En effet, les Pharmacopées française et européenne ont rendu obligatoire l'addition de conservateurs dans les collyres en flacons multidoses. Les dérivés mercuriques tels que le Thiomersal ont été privilégiés. Ce conservateur antimicrobien, peu agressif pour la surface oculaire, est cependant très allergisant, ce qui a rapidement conduit les industriels à rechercher d'autres agents conservateurs.<sup>7</sup>

La préférence est allée aux ammoniums quaternaires, comme le chlorure de benzalkonium, peu allergisant, avec des propriétés à la fois antibactériennes et antifongiques puissantes.

Cependant après des années d'utilisation, des effets délétères sur la surface oculaire ont été démontrés. Par ailleurs la présence d'un conservateur n'est pas une garantie de non-contamination du contenu du flacon.<sup>12</sup>

L'émergence des effets indésirables de ces conservateurs, toxiques pour la surface oculaire, en particulier en cas de traitement chronique, a amené les industriels à privilégier les récipients unidoses dans les années 80. Ces unidoses, encore appelées dosettes ou monodoses, avaient été à l'origine développées en Angleterre à la demande du Ministère Britannique de la santé suite à une grave "épidémie" d'endophtalmies dans un hôpital de Birmingham.<sup>12</sup>

Initialement prévues pour limiter les infections nosocomiales, les unidoses sont aujourd'hui davantage utilisées pour leur absence de conservateur.

Ces unidoses sont fabriquées principalement selon le principe « blow-fill-seal process » et peuvent contenir moins de 1 ml de solution chacune ; leurs principaux inconvénients étant leur coût d'industrialisation très élevé et leur manipulation difficile par des personnes âgées.<sup>12</sup>

Le coût important d'industrialisation des unidoses a stimulé la recherche et le développement de flacons multidoses capables de délivrer plusieurs centaines de gouttes sans risque de contamination microbienne du contenu après ouverture.<sup>7</sup>



Figure 12 : Flacons unidoses.<sup>24</sup>

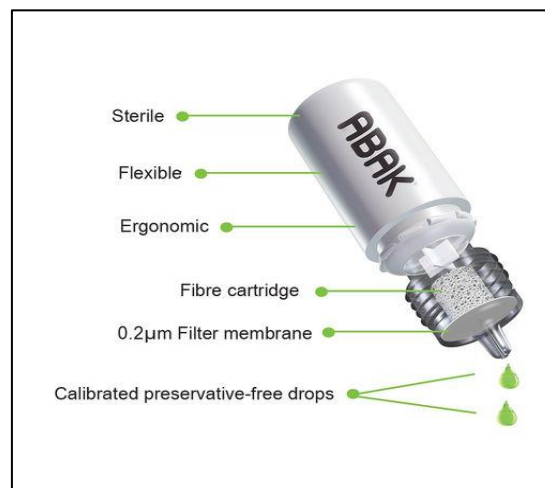


Figure 13 : Flacon ABAK.<sup>24</sup>

### 3. Les collyres fortifiés

Les collyres antibiotiques et antifongiques ont prouvé leur efficacité dans le traitement des kératites et des conjonctivites bactériennes et fongiques. Cependant les spécialités commercialisées sont trop faiblement dosées pour traiter de manière optimale les pathologies oculaires graves. Aussi, par leur effet rapide et leur capacité à apporter d'importantes concentrations d'anti-infectieux au niveau oculaire, les collyres fortifiés sont donc parfaitement indiqués pour répondre aux urgences ophtalmiques.<sup>25</sup>

En effet, les collyres fortifiés permettent d'obtenir de fortes concentrations cornéennes d'antibiotiques et sont indispensables dans le traitement des kératites bactériennes sévères.<sup>18</sup> Cependant, leur toxicité locale non négligeable induit très souvent un réflexe de larmoiement lors de l'instillation, qui a pour effet de diminuer la concentration de PA.<sup>26</sup> Ces collyres sont fabriqués par les pharmacies hospitalières à partir des antibiotiques destinés à l'usage systémique. Ils ne peuvent être délivrés que sur prescription d'un médecin hospitalier. Leur coût est relativement élevé et leur conservation est de courte durée (quelques jours au réfrigérateur).<sup>25</sup>

À l'inverse, les collyres disponibles en officines commerciales (fluoroquinolones, aminosides, cyclines), sont disponibles immédiatement, moins toxiques, moins chers que les renforcés mais moins efficaces pour les infections sévères.<sup>25,27</sup>

Au même titre que les collyres classiques, le choix de l'antibiotique fortifié est déterminé par son spectre d'action, la tolérance au produit. Il est réajusté selon les résultats de l'antibiogramme et les résistances connues des germes identifiés.

Ils sont toujours utilisés en association synergique de deux ou trois molécules, afin de couvrir un spectre bactérien très large et d'éviter l'apparition de résistances dont la fréquence augmente régulièrement. L'utilisation de l'association TGV (Ticarcline – Gentamicine – Vancomycine) est largement documentée.<sup>28</sup>

Les collyres fortifiés peuvent occasionner des effets secondaires liés notamment à leur toxicité locale sur la surface oculaire avec essentiellement des retards de cicatrisation, une nécrose conjonctivale ou des cas de réaction allergique.<sup>26</sup> Leur utilisation doit de toute manière rester temporaire, de l'ordre de quelques jours de traitement.<sup>25</sup>

Mis à part la gentamicine, aucune de ces molécules n'est disponible sur le marché sous une forme galénique compatible avec une administration oculaire, d'où le recours à des préparations hospitalières.<sup>29</sup>

### **3.1. Utilisation**

Les collyres fortifiés sont utilisés dans le traitement des infections du segment antérieur de l'œil. En effet, la diffusion intraoculaire de la plupart des substances médicamenteuses délivrées par voie systémique est très limitée en raison des barrières hémato-aqueuse et hémato-rétinienne qui s'y opposent. Par conséquent un traitement local est privilégié pour les affections oculaires superficielles voire même plus profondes.

Le traitement curatif d'une infection oculaire profonde (endophtalmie) est une urgence car son pronostic dépend de la rapidité de la mise en œuvre du traitement.<sup>16</sup>

Le traitement antibiotique par voie topique est débuté dès les prélèvements effectués, adapté à la gravité des lésions, à l'orientation clinique et aux résultats de l'examen direct.

De nombreux collyres antibiotiques sont disponibles en officine ou auprès des pharmacies hospitalières.<sup>29</sup>

### **3.2. Exigences de préparations**

La biodisponibilité oculaire des PA est très faible après instillation (< 5 %).

D'une part, l'élimination des PA est très rapide. Le clignement des paupières et le larmoiement vont contribuer à une dilution des PA puis à leur écoulement dans le canal lacrymal puis les fosses nasales. Il y a donc nécessité de répéter les prises.<sup>29</sup>

D'autre part, le passage transcornéen est relativement faible bien que suffisant pour permettre aux PA d'exercer leur action thérapeutique. En revanche, la conjonctive étant, elle, très vascularisée, les PA y sont facilement résorbés et risquent de causer des effets systémiques.<sup>7,29</sup>

Pour pallier à cette faible biodisponibilité, ont été développés depuis la fin des années 90 des collyres d'antibiotiques ou d'antifongiques dits « fortifiés » ou « renforcés », dont la concentration est supérieure à celle des collyres commercialisés. En effet, ils permettent d'obtenir rapidement des concentrations d'anti-infectieux efficaces, supérieures aux concentrations minimales inhibitrices (CMI) au niveau oculaire. Ils sont préparés et délivrés exclusivement en milieu hospitalier, sous le statut de préparation magistrale ou hospitalière.<sup>7,29</sup>

La préparation de collyres fortifiés doit être envisagée de façon à pouvoir maîtriser cinq critères essentiels du produit final :

- Sa stabilité physico-chimique
- Son efficacité thérapeutique
- Sa bonne tolérance physiologique auprès du patient
- Sa sécurité microbiologique avant et après ouverture du flacon
- Son innocuité

La formulation des collyres fortifiés doit ainsi être optimisée afin de pouvoir maîtriser ces points critiques. Le choix des excipients est notamment conditionné par ces critères de qualité.<sup>28</sup>

### **3.2.1. Stabilité physico-chimique**

Il est nécessaire d'obtenir une concentration stable en PA au niveau de la cornée pour cela le choix de la molécule reste primordial. Les molécules de PA doivent être de petite taille ayant une solubilité à la fois dans les milieux lipophiles et hydrophiles pour favoriser la pénétration cornéenne.<sup>28</sup>

Il est possible de jouer sur la viscosité de la solution préparée pour diminuer sa dilution dans les larmes et ainsi augmenter le temps de contact du collyre sur l'œil et donc sa biodisponibilité. L'acide hyaluronique ou les dérivés de cellulose sont des exemples d'agents viscosifiants adaptés aux formes ophtalmiques.<sup>25</sup>

La stabilité physico-chimique d'une solution s'apprécie également par l'évolution de ses caractères organoleptiques qui doivent rester constants le temps de sa conservation.<sup>29</sup>

### **3.2.2. Efficacité thérapeutique**

Les collyres fortifiés doivent avoir une concentration élevée en PA pour réduire leur effet de dilution par les larmes et en amener une quantité suffisante au site d'infection.<sup>25</sup>

### **3.2.3. Tolérance physiologique**

Afin d'améliorer le confort lors de l'instillation des collyres au patient plusieurs qualités sont requises, notamment au niveau de la pression osmotique, du pH ou de la contamination particulière.

#### **3.2.3.1. pH**

Le pH des solutions de collyres doit se rapprocher des valeurs usuelles du pH lacrymal, voisines de 7,4. Le pouvoir tampon des larmes permet une variation de pH dans l'intervalle 6,7 à 7,7 sans conséquence pour l'œil.<sup>28</sup> L'ajustement du pH ne peut être réalisé que si le PA est stable,

soluble et actif aux alentours du pH lacrymal. L'utilisation de tampons phosphates est largement répandu de même que celle de l'acide borique qui comporte en plus l'avantage de posséder un certain pouvoir antiseptique.<sup>25</sup>

### **3.2.3.2. L'osmolalité**

L'œil est particulièrement sensible aux variations de pression osmotique qui peuvent aussi, occasionner une gêne ou une douleur à l'instillation et précipiter l'élimination des substances responsables par des mécanismes réactionnels de larmoiement de l'œil.<sup>25,29</sup> Il est donc conseillé d'ajuster la pression osmotique à celle du liquide lacrymal située autour de 280 mOsm/kg. L'hypotonie améliore la perméabilité cornéenne des PAs mais est plus inconfortable.<sup>28</sup> Un collyre isotonique sera bien mieux toléré.

Les larmes ont une pression osmotique équivalente à celle d'une solution de chlorure de sodium (NaCl) à 0.9%. Le NaCl est donc généralement utilisé pour ajuster la pression osmotique. Le glucose à 5 % peut également être employé mais il présente l'inconvénient de coller aux paupières.<sup>25</sup>

### **3.2.3.3. La contamination particulière**

Selon les exigences de la Pharmacopée européenne, un collyre doit être pratiquement limpide et pratiquement exempt de particules.

## **3.2.4 Sécurité microbiologique**

La stérilité initiale des préparations est obtenue par l'application d'un des procédés de fabrication décrit par la pharmacopée. En fin de processus, les lots de collyres doivent satisfaire à l'essai de stérilité afin d'être libérés. Les collyres testés devront être stériles jusqu'à la fin de leur durée de péremption.<sup>28</sup>

L'agence européenne du médicament recommande de privilégier l'utilisation de collyres sans conservateur qui démontrent une même efficacité mais surtout une meilleure tolérance. La plupart des préparations de collyres réalisées à l'hôpital ne contiennent cependant pas de conservateur puisque leur PA présente déjà des propriétés antimicrobiennes.<sup>25</sup>

### **3.3. Formulation**

Sur le plan galénique, les choix en matière de composition et de conditionnement des préparations revêtent donc une importance indéniable afin de prendre en compte l'ensemble des spécificités des collyres, tout en restant en accordance avec les BPP.<sup>25</sup>

Les PA choisis doivent être d'une pureté suffisante. Cette condition est en général d'emblée remplie étant donné que les collyres hospitaliers sont fabriqués à partir d'antibiotiques ou d'antifongiques commercialisés et donc par définition conformes aux exigences de qualité requises par la réglementation. Les spécialités utilisées sont toutefois, pour la plupart, destinées uniquement à la voie parentérale. Le détournement de leur voie initiale pour un usage ophtalmique peut poser la question d'apparition possible d'effets secondaires au niveau de l'œil, dont les tissus sont particulièrement sensibles. Ce risque de toxicité locale est donc à évaluer préalablement à l'emploi sur le patient. La plupart des collyres se présentent sous la forme de solutions aqueuses obtenues par reconstitution ou par simple dilution du PA par un véhicule liquide. Ce véhicule est sélectionné pour sa compatibilité avec le PA afin qu'il ne perturbe pas les qualités ou la stabilité du mélange final. Les solvants les plus utilisés sont les solutions injectables de chlorure de sodium à 0,9 %, de glucose 5 %, d'eau pour préparation injectable (EPPI), ou encore de BSS (Bright Stock Solvent). Ce dernier représente certes un solvant de choix du fait de sa composition proche de l'humeur aqueuse mais il est souvent supplanté par les autres solvants. Leur manipulation est en effet plus aisée et surtout, leurs présentations prêtes à l'emploi en poches stériles de gros volumes ( $\geq 100$  mL) constituent un atout considérable pour la préparation de lots de grande taille. Plus rarement, pour des molécules très lipophiles, des solvants huileux peuvent également être employés.<sup>25,28,29</sup>

De manière générale, il convient de privilégier une formulation aussi simple que possible et comportant un nombre réduit en quantité comme en volume d'excipients, afin de limiter l'occurrence potentielle d'effets indésirables et d'améliorer la tolérance au traitement.

La formulation de collyres au niveau hospitalier a donc pour but d'obtenir des concentrations efficaces au niveau oculaire tout en restant inférieures aux concentrations toxiques et ce, pendant un temps de contact maximal, en privilégiant le confort du patient.

### **3.4. Principes actifs de base des collyres fortifiés**

#### **3.4.1. Vancomycine**

La vancomycine est un antibiotique de la famille des glycopeptides. Son spectre d'action est limité aux germes Gram positif, tous sensibles à la vancomycine. C'est l'antibiotique de choix

pour le traitement des infections liées à des staphylocoques résistants, en particulier les *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline (SARM). Son administration prolongée provoque toutefois un retard de cicatrisation des lésions à la surface de l'œil.<sup>28,30</sup>

La vancomycine est facilement soluble dans l'eau. Son solvant de reconstitution recommandé dans son résumé des caractéristiques du produit (RCP) est d'ailleurs l'eau PPI. Cependant la solution ainsi obtenue présente une osmolarité très faible, aux alentours de 30 mOsm/kg.<sup>30</sup>

L'utilisation de chlorure de sodium 0,9 % a donc été préférée pour notre fabrication, afin d'obtenir un collyre se rapprochant davantage de l'isotonie pour un meilleur confort du patient.<sup>25</sup>

Il a également fallu trouver un compromis au niveau du pH de la solution qui diminue la solubilité du PA au fur et à mesure qu'il se rapproche de la neutralité. Les collyres préparés présentent donc une légère acidité (pH compris entre 3 et 4).<sup>25,28</sup>

Enfin, la vancomycine pose également des problèmes de compatibilité avec d'autres molécules anti-infectieuses, notamment la ceftazidime dont elle entraîne la précipitation. En cas de traitements conjoints des deux molécules en collyres, un délai d'attente doit donc être observé entre les instillations de chaque collyre.<sup>25,28,30</sup>

### **3.4.2 Gentamicine**

La gentamicine appartient à la famille des aminosides et agit sur de nombreux mécanismes cellulaires, d'où leur effet bactéricide rapide et puissant.<sup>25</sup>

Elle possède donc un large spectre aussi bien sur les cocci Gram positif et les bacilles Gram négatif. Elle est particulièrement efficace contre les infections à *Pseudomonas*, *Klebsiella* ou *Enterobacter*. Des résistances aux *Pseudomonas* commencent à apparaître, auquel cas, la ceftazidime constitue une bonne alternative. La gentamicine est par ailleurs surtout utilisée en association pour éviter ces phénomènes de résistance.<sup>28,31</sup>

Les aminosides sont tout-de-même à utiliser avec précaution vu le risque de retard de cicatrisation significatif. La durée de traitement sous aminosides doit donc se limiter à cinq à sept jours au maximum.<sup>25</sup>

### **3.4.3 Ceftazidime**

La ceftazidime est une bêtalactamine de la famille des céphalosporines de troisième génération.

La ceftazidime possède un très large spectre, plus spécifique aux Gram négatif, dont *Pseudomonas aeruginosa* et les entérobactéries. Son effet synergique avec les aminosides présente un intérêt thérapeutique majeur.<sup>28</sup>

Cette molécule est très bien tolérée mais son inconvénient majeur réside dans sa très courte stabilité seulement sept jours au réfrigérateur après décongélation.<sup>25,32</sup>

Cette donnée a suscité le besoin de lui envisager une alternative thérapeutique en termes de collyres fortifiés : la pipéracilline.

#### **3.4.4 Pipéracilline**

La pipéracilline est donc également une bêtalactamine, appartenant cette fois à la famille des uréidopénicillines. Elle est bactéricide sur une très large gamme de germes et tout particulièrement sur les espèces produisant des céphalosporinases comme les entérobactéries ou *Pseudomonas aeruginosa* d'où sa substitution possible avec la ceftazidime.<sup>25</sup>

Elle a été retenue comme alternative à la ticarcilline en raison de son spectre d'action très similaire et de son action synergique avec la gentamicine, mais également au vu de ses conditions de stabilité en solution et de sa compatibilité avec une administration oculaire.<sup>28</sup>

#### **3.4.5 Ticarcilline**

La ticarcilline est un antibiotique appartenant à la famille des bêtalactamines et au groupe des carboxypénicillines. Son spectre d'activité comprend les bacilles à Gram négatif avec notamment une bonne activité sur *Pseudomonas aeruginosa*. Son statut est celui d'une préparation hospitalière.<sup>33</sup>

Le dosage à 6 mg/mL a été choisi d'après l'expérience acquise depuis plus d'une vingtaine d'année de confrères hospitaliers. Il permet d'obtenir une efficacité clinique (en prenant en compte les concentrations minimales inhibitrices des principaux germes cibles), une bonne tolérance et n'engendre pas de toxicité.<sup>28,33</sup>

Elle est utilisée en association synergique avec deux autres molécules : la gentamycine et la vancomycine (TGV).<sup>25</sup>

#### **3.4.6 Amphotéricine B**

L'amphotéricine B est un antifongique d'origine naturelle de la famille des polyènes.

L'amphotéricine B est utilisée dans le traitement des infections oculaires à levures essentiellement, surtout les *Candida*. La forme collyre est privilégiée dans les infections

oculaires en raison d'une importante toxicité systémique provoquant notamment des dommages rénaux et hématologiques.

Divers paramètres compliquent le processus de formulation des collyres d'amphotéricine B. La molécule à la base est, d'une part, pratiquement insoluble dans l'eau et incompatible avec le chlorure de sodium. Il faut donc employer le glucose comme solvant de reconstitution en dépit du risque plus important de contamination microbiologique lié à son emploi. L'étape de dissolution reste malgré tout encore longue et fastidieuse.<sup>34</sup>

Ensuite, une fois diluée, la solution est particulièrement sensible à la lumière. La préparation doit donc rapidement être stockée dans des conditions adéquates afin de limiter son exposition à la lumière. Enfin, la spécialité Fungizone® contient du désoxycholate de sodium, un tensioactif également ajouté pour faciliter la dissolution. Cet excipient provoque cependant une toxicité rétinienne et rend l'instillation plus douloureuse, compromettant d'emblée l'adhésion optimale au traitement.<sup>28,34</sup>

La forme liposomale serait mieux tolérée par l'œil puisque l'amphotéricine B y est coincée entre la bicouche lipidique des liposomes et n'entre donc plus en contact direct avec l'épithélium cornéen. La meilleure biodisponibilité des collyres fortifiés réalisés à partir d'une spécialité liposomale d'amphotéricine B (Ambisome®) a déjà pu être démontrée.<sup>25,34</sup>

### **3.4.7 Voriconazole**

Le voriconazole fait partie des antifongiques triazolés. Il empêche la croissance des champignons responsables d'infections en inhibant la synthèse de l'ergostérol de leur membrane cellulaire.

Le voriconazole est un azolé de deuxième génération et possède donc un spectre très étendu avec une efficacité particulièrement marquée contre les *Aspergillus*, les *Fusarium* et les *Candida*.<sup>25</sup>

Son administration par voie systémique comporte de nombreux effets secondaires comme des arythmies cardiaques, des troubles de la vision ou de la fonction hépatique, d'où l'intérêt majeur d'une forme topique. D'autant que le voriconazole, quelles que soient les conditions de conservation, se dégrade relativement peu et les collyres offrent donc une stabilité remarquable.<sup>34</sup>

Pour sa formulation, le voriconazole étant une molécule particulièrement lipophile, limitant ainsi son passage cornéen. Un excipient facilitant sa solubilité, a été ajouté à la spécialité utilisée (Vfend®) : le sulfobutyle éther bêta-cyclodextrine. Cette cyclodextrine présente l'inconvénient

de rendre les solutions reconstituées hyperosmolaires et donc inconfortable à l'instillation pour le patient. Pour y remédier, le solvant de reconstitution choisi est l'eau PPI plutôt que le chlorure de sodium.<sup>28</sup>

### 3.5. Revue de littérature des collyres fortifiés

Les collyres antibiotiques et antifongiques ont prouvé leur efficacité respectivement dans le traitement des kératites et des conjonctivites bactériennes et fongiques.

Les PAs ont été mis en solution principalement dans du NaCl 0,9 %, du sérum glucosé 5 %, de l'eau pour préparations injectables ou des larmes artificielles. Ont été également utilisées des solutions de balanced salt solution (BSS), des solutions avec conservateur, des solutions tamponnées ou une spécialité pharmaceutique contenant déjà le PA.

Le choix de la solution et de la température de stockage a bien évidemment son influence sur la stabilité à long terme de la préparation finale. Certains collyres « fortifiés » sont suffisamment stables d'un point de vue physico-chimique et peuvent être préparés à l'avance. La congélation permet toutefois d'augmenter notablement la stabilité à long terme des collyres fortifiés.

Ci-dessous, un tableau synthétique des études publiées concernant la préparation et la caractérisation de collyres fortifiés.

Tableau 1 : revue de littérature de différentes études ayant pour thème les collyres fortifiés.

Principe(s) actif(s)	Objectif de l'étude	Concentration initiale	Concentration finale	Résultats de l'étude	Réf
<b>Amikacine</b> <b>Ceftazidime</b> <b>Vancomycine</b>	Stabilité à -20°C des collyres antibiotiques fortifiés préparés avec trois solvants différents : NaCl 0.9%, glucose 5%, BSS (stabilité physicochimique et microbiologique)	54,7 ± 2,4 51,6 ± 1,0 51,7 ± 0,5 Concentration moyenne des PA (en mg/ml) à J0	52,6 ± 1,3 50,0 ± 0,5 50,0 ± 1,1 Concentration moyenne des PA (en mg/ml) à J75	la fabrication de masse de collyres fortifiés congelés à -20°C sur une période de 75 jours est possible pour les trois molécules étudiées.	<sup>27</sup>
<b>Vancomycine</b>	Évaluer la stabilité du collyre fortifié de vancomycine à 5 % préparé avec une solution saline équilibrée (BSS) et stocké à -20°C	100% J0	99,95% J90	Le collyre fortifié de vancomycine 5% préparée avec BSS a été stable lorsqu'il est conservé à -20°C pendant 90 jours. Après décongélation, cette formulation extemporanée	<sup>35</sup>

				est restée stable au réfrigérateur à 5°C pendant 30 jours.	
<b>Ceftazidime vancomycine</b>	stabilité et pouvoir antibactérien contre <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et <i>Staphylococcus aureus</i> , respectivement, sous différentes températures de stockage et conditions d'éclairage. Préparés avec une solution saline équilibrée (BSS) et conservée à 4° C et à 24° C avec et sans exposition à la lumière.	50 mg/ml 50 mg/ml	Le pouvoir antibactérien de la Ceftazidime a diminué à partir du j3 (24° C). mais n'a pas été affectée par la lumière. La valeur du pH a augmenté. Le pouvoir antibactérien de la Vancomycine est resté stable pendant la période de 4 semaines, mais son pH a augmenté.	Les collyres de ceftazidime dans le BSS semblent rester efficaces contre <i>Pseudomonas aeruginosa</i> pendant 7j conservé à 4 °C, mais était moins efficace lorsqu'il était conservé à 24 °C. En revanche, les collyres à la vancomycine dans le BSS peut être utilisé en toute sécurité pendant 4 semaines, conservé à 4° C ou 24° C.	36
<b>Vancomycine Gentamycine Ceftazidime Amphotéricine B Voriconazole</b>	étude de stabilité physicochimique menée sur les cinq PA avec trois conditions de stockage aux températures 25°C, 2-8°C et -20°C. formulations : vancomycine : NaCl 0.9% Gentamycine : NaCl 0.9% Ceftazidime : NaCl 0.9% Ampho B : G5% Voriconazole : EPPI	50mg/ml 14mg/ml 20mg/ml 5mg/ml 10mg/ml	limites de stabilité = variations <10 % de la valeur initiale (teneur en PA, pH, et osmolalité)	Dans des conditions ambiantes de stockage, les collyres sont restés stables pendant 15 j, sauf la ceftazidime stable 1j seulement. Dans des conditions de réfrigération (2-8 °C), l'ampho B et le voriconazole ont été stables pendant 60 j, la vancomycine et la gentamicine étaient stables pendant 30 j tandis que la ceftazidime n'était stable que pendant 15 j. Après 90 jours de congélation et de	34

				décongélation, le voriconazole est resté stable à 2-8 °C pendant 60 jours, la vancomycine et ampho B pendant 30 j et gentamycine seule pendant 21 j. La ceftazidime stable pendant seulement 7 j à 2-8 °C après 60 j de congélation.	
<b>Céfazoline</b> <b>Ceftazidime</b> <b>Vancomycine</b> <b>Amphotéricine B</b> <b>Méthyl- prednisolone</b>	déterminer la stabilité et la stérilité en cours d'utilisation des collyres fortifiés de céfazoline, ceftazidime, vancomycine, et méthylprednisolone préparés avec du SSI 0.9%, et amphotéricine B avec l'EPPI. Utilisation simulée avec et sans conteneur réfrigéré mobile. Chaque collyre a été préparé et stocké dans 4 conditions : utilisation simulée avec réfrigérateur mobile : stocké à 4°C et conservé dans le réfrigérateur mobile pendant le traitement 2) groupe sans-réfrigérateur mobile : stocké à 4°C et conservé sans réfrigérateur mobile à température ambiante pendant l'administration du médicament, 3) réfrigéré (4°C),	50 mg/mL 50 mg/mL 50 mg/mL 1 mg/mL 10 mg/mL	Concentration > 90 % de la concentration initiale. considérés comme stable pour chaque date à laquelle ils ont été testés. (J0, J4, J7, J14, J21, J28).	Le groupe sans-CRM a montré que le PA s'est rapidement dégradé pour la céfazoline, la ceftazidime et l'amphotéricine B. La mise en œuvre d'un CRM pourrait réduire la perte de concentration prévue par jour pour la céfazoline et la ceftazidime. L'activité antimicrobienne in vitro et la stérilité ont été conservées pendant 28j.	<sup>37</sup>

	4) température ambiante (moyenne 24,6°C).				
<b>Ceftazidime 1% Ceftazidime 5%</b>	stabilité des collyres fortifiés de ceftazidime 1 %, 5 % conservés pendant 30 jours à la température de 4°C et 20°C et à l'abri de la lumière. préparés dans des conditions aseptiques par dissolution de la formulation injectable sèche, dans un tampon citraté de pH 6,10-6,24. La viscosité du collyre a été augmenté avec de l'alcool polyvinylique, du borate phénylmercurique associé au phényléthanol.	10mg/ml 50mg/ml	Limite de stabilité = moins de 10% de diminution par rapport à la valeur initiale	Stabilité de la ceftazidime dans les collyres tamponnés à 1 % et 5 %, conservés à 4°C, était de 18 à 27j en collyre à 1% et de 12 à 21 j en collyre à 5%. Dans les collyres stockés à 20°C 10% de dégradation de la ceftazidime s'est produite le 3ème jour de stockage dans toutes les formulations 1 % et 5 %.	32
<b>Vancomycine</b>	étudier la stabilité des collyres de vancomycine dans une solution saline normale, une solution saline tamponnée au phosphate (PBS) et une solution saline équilibrée (BSS) lorsqu'elles sont stockées à température ambiante ou sous réfrigération.	50mg/ml	aucune diminution de la concentration de lors du stockage à température ambiante ou sous réfrigérateur à j7, j14, et j28.	Les collyres de vancomycine préparées à l'aide de PBS, de BSS et SSI étaient stables jusqu'au 28ème jour, quelle que soit leur température de stockage.	30
<b>Vancomycine</b>	étudier l'utilisation d'un produit de lavage oculaire en vente libre comme	10mg/ml 50mg/ml	98%-100% de la valeur initiale	Cette formulation de collyre était facile à préparer, présentait des propriétés satisfaisantes	38

	<p>véhicule et évaluer la stabilité physique et chimique de la nouvelle formule.</p> <p>Les solutions étaient conditionnées dans des flacons et stocké au congélateur pendant 14 jours suivis de 28 jours au réfrigérateur.</p>			<p>pour les applications ophtalmiques et restait stable chimiquement et physiquement lorsque conservé 14 jours au congélateur puis 28 jours au réfrigérateur.</p>	
<b>Vancomycine</b>	<p>L'objectif de cette étude est l'évaluation de la stabilité physico-chimique de collyres de vancomycine en flacon en PEBD (polyéthylène basse densité) conservés selon trois modalités différentes : au congélateur (-20°C), au réfrigérateur (2-8°C) et à température ambiante (20-25°C).</p>	50mg/ml	<p>A -20°C et à 2-8°C, la concentration moyenne en vancomycine est restée &gt; à 95% de la valeur initiale jusqu'à M6. A température ambiante, la concentration moyenne en vancomycine s'est maintenue au-dessus de 90% jusqu'à M1.</p>	<p>Dans le cadre de la pratique hospitalière ou en ambulatoire, la conservation au réfrigérateur semble la plus adaptée avec une stabilité démontrée jusqu'à 6 mois. Ce travail devrait être complété par une étude de stabilité microbiologique incluant également l'ouverture des flacons, simulant les conditions réelles d'utilisation.</p>	<sup>39</sup>
<b>Ticarcilline</b>	<p>L'objectif de cette étude est de déterminer la stabilité avant ouverture de ces solutions afin de définir la durée de</p>	6mg/ml	<p>Le collyre n'est utilisable que pour une concentration en</p>	<p>Les collyres de ticarcilline sont restés stables physico-chimiquement et stériles pendant 21 jours. À + 4 °C, la concentration en ticarcilline était supérieure à 90 % au bout</p>	<sup>33</sup>

	conservation à adopter.		ticarcilline supérieure à 90 % de la concentration initiale	de 17 jours ainsi qu'au bout de 3 jours à + 21 °C.	
<b>Gentamycine</b>	déterminer la stabilité de collyres fortifiés de gentamicine préparés de manière aseptique en diluant la formulation injectable de gentamycine disponible dans le commerce (40 mg/mL) avec du NaCl 0,9 %. Stockées sous forme de solutions mères à 2–8 °C ou ont été soumises aux conditions d'utilisation des patients à 2–8 °C ou température ambiante de 26 °C. Dans les conditions d'utilisation simulée, les solutions ophtalmiques ont été agitées puis ouvertes toutes les quatre heures entre 10h et 18h tous les jours, sauf le dimanche.	8 mg/ml 14mg/ml	>90% de la valeur initiale	Les collyres de 8 et 14 mg/mL étaient stables pendant 42 jours lorsqu'ils étaient conservés entre 2 et 8 °C sous forme de solutions mères. Collyres de 8 et 14 mg/mL conservés aux mêmes températures, mais régulièrement agités puis ouverts pour simuler les conditions d'utilisation des patients, étaient stables pendant 35 et 42 jours, respectivement. Cependant, lorsqu'il est conservé à température ambiante et soumis aux mêmes conditions d'utilisation des patients, Les solutions à 8 et 14 mg/mL se sont révélées stables pendant seulement sept et 14 jours.	<sup>31</sup>

### **3.6. Conditionnement**

Concernant le conditionnement, la Pharmacopée européenne dicte également certaines exigences relatives aux collyres. Le conditionnement primaire en contact direct avec la préparation a pour rôle de garantir sa stabilité microbiologique et physicochimique. Ses matériaux de fabrication sont donc prévus pour répondre à ces critères.<sup>29</sup> En PUI, il s'agit souvent de flacons en verre de type 1, qui présente l'avantage d'être totalement neutre et inerte chimiquement. Autre atout, il peut être stérilisé et donc réutilisé. Le verre teinté est particulièrement utile en cas de PA sensible à la lumière. Le verre demeure toutefois plus fragile que le plastique. De plus, des fuites sont parfois rapportées au niveau de la connexion de l'embout compte-goutte avec le flacon. Des flacons en polyéthylène ou en polypropylène trouvent donc également un intérêt.<sup>25,28</sup>

## **4. Problématique**

Malgré l'évolution fulgurante des produits ophtalmiques, certaines indications obligent l'ophtalmologiste à avoir recours à des formulations magistrales et des préparations hospitalières, notamment les infections sévères de l'œil nécessitant l'utilisation d'antibiotiques à large spectre et à forte concentration.

La vancomycine est connue pour être efficace dans le traitement de la kératite bactérienne, mais cette molécule thérapeutique n'est pas disponible dans le commerce sous une forme pharmaceutique appropriée pour une administration ophtalmique. Par conséquent, les laboratoires de chimie analytique et de pharmacie galénique de la faculté de médecine de Tizi-Ouzou (Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou) en collaboration avec le laboratoire central et le service d'ophtalmologie de l'hôpital Belloua (CHU de Tizi-Ouzou) ont pris l'initiative de mettre au point un protocole interne pour la préparation de collyres fortifiés à base de vancomycine, et de contrôler la qualité du produit fini.

Deuxième partie :

**Partie expérimentale**

## 1. Matériel et méthodes

### 1.1. Matériel

#### 1.1.1. Matériel utilisé lors de la préparation des collyres fortifiés

Afin d'assurer une préparation optimisée des collyres fortifiés de vancomycine, notre étude a nécessité l'utilisation de :

- Vancomycine : Vancomycine Mylan<sup>®</sup> flacon de 500mg, poudre pour solution à diluer pour perfusion ou pour solution buvable, Laboratoire Mylan ;
- Solution aqueuse isotonique de NaCl (0,9%), Biolyse<sup>®</sup> laboratoire IMC, Flacon de 500ml.
- Seringues en polypropylène 2,5 ml, Nipro<sup>®</sup>.
- Conditions environnantes lors de la préparation : bloc opératoire aseptique, avec un flux d'air stérile assuré par une armoire de Traitement d'air SteriBloc Unitair.
- Autres : champs stériles, gants stériles, réfrigérateur (+4°C).

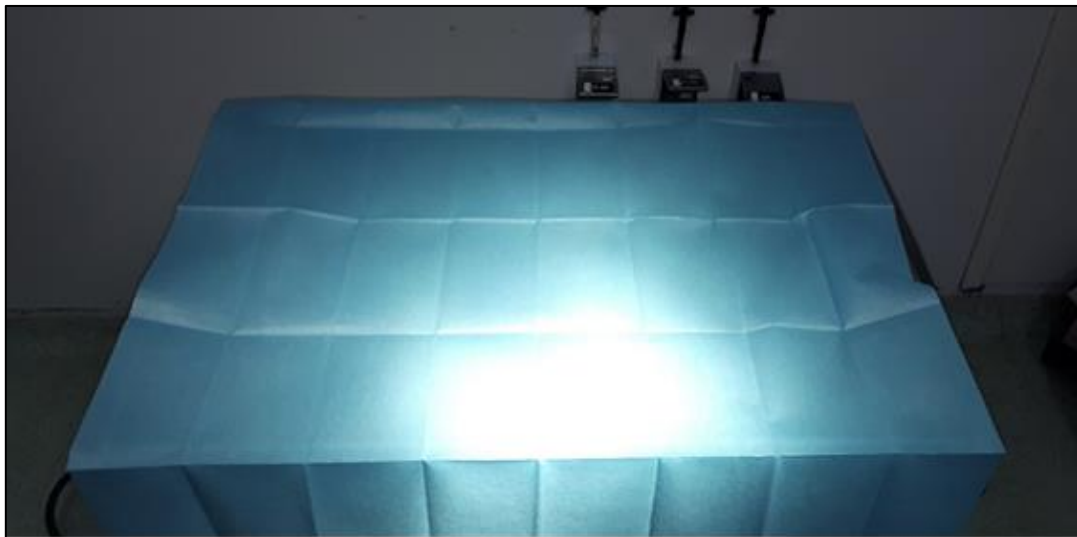


Figure 14 : Environnement de préparation des collyres fortifiés

#### 1.1.2. Matériel utilisé lors des études de contrôle qualité

Les études de contrôle qualité menées sur notre préparation de collyre fortifié ont nécessité l'utilisation d'un certain nombre de produits chimiques et d'appareillages.

Les produits utilisés sont résumés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 2 : Produits utilisés au cours des études de contrôle qualité

Produit	Fournisseur	Propriétés physico-chimiques
Céfotaxime (poudre pour préparation injectable flacon 1g)	Laboratoire Sopal	Formule brute : $C_{16}H_{17}N_5O_7S_2$ MM = 455,465 ± 0,027 g/mol Pureté ≥ à 90% N° CAS : 63527-52-6
Méthanol	HONEYWELL Riedel-de-Haën™	Formule brute : $CH_3OH$ MM = 32,04 g/mol Pureté ≥ à 99,9% ; Grade HPLC N° CAS : 67-56-1
Phosphate de sodium monobasique	SIGMA-ALDRICH	Formule brute : $NaH_2PO_4$ MM = 119,98 g/mol Pureté : 98-100,5 % N° CAS : 7558-80-7
Acide phosphorique	HONEYWELL Fluka™	Formule brute : $H_3PO_4$ MM = 98 g/mol Pureté : 85-88% N° CAS : 7664-38-2
Eau purifiée	Laboratoire central - Hôpital Belloua (CHU de Tizi-Ouzou)	Formule brute : $H_2O$ MM = 18,02 g /mol N° CAS : 7732-18-5

S'agissant de l'appareillage, une chaîne HPLC « SHIMADZU LC20 » a été utilisée. Elle est constituée d'une pompe type Lc-20AT ; un injecteur automatique SIL-20A ; un contrôleur CBM-20A ; un Compartiment de colonne CTO-20A ; une colonne Purospher STAR C18 (Dim°. : Øi 4.6 x L 250 mm et Taille des particules de silices = 5 µm) ; un détecteur Spectrophotomètre UV- Visible SPD-20AV ; et un logiciel d'exploration LC-solution.



Figure 15 : Chaîne HPLC utilisée au cours de l'étude.

Les autres équipements utilisés sont indiqués dans le tableau ci-dessous :

Tableau 3 : Autres équipements et appareillage utilisé au cours de l'étude.

Désignation	Spécification	Usage
<b>Spectrophotomètre UV-Visible</b>	(Perkin Elmer Lambda 25) Double faisceaux	Réalisation d'un scan pour obtenir les longueurs d'onde d'absorption optimales.
<b>Pompe à vide</b>	Fisher bioblock scientific (Pmax = 4 bar)	Filtration de la phase mobile sous vide.
<b>Agitateur magnétique</b>	NAHITA Model 690-1	Homogénéisation des solutions.
<b>Agitateur vortex</b>	IKA MS 3 digital	Agitation par vibration des tubes.
<b>Balances analytiques</b>	KERN METTLER TOLEDO	Pesée des différentes poudres.
<b>Etuve</b>	MEMMERT	Séchage de la verrerie.
<b>Hotte</b>	FUME HOOD LabTech	Extraction des vapeurs toxiques des produits utilisés lors des manipulations.
<b>pH-mètre</b>	METTLER TOLEDO	Détermination du pH du tampon de la phase mobile.
<b>Purificateur d'eau</b>	ELGA	Production de l'eau purifiée.



Figure 16 : de gauche à droite : Vortex, pH-mètre, Montage d'aspiration sous vide.

S'agissant de la verrerie et du petit matériel utilisés, ils sont résumés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 4 : Verrerie utilisée au cours de l'étude.

Verrerie	Matériel consommable	Matériel accessoire
- Fioles jaugées : 25 mL, 50 mL, 100 mL, 250 mL ; - Bêchers ; - Pipettes jaugées : 5 mL, 10 mL, 15 mL, 20 mL ; - Entonnoirs ; - Vials pour HPLC ; - Erlenmeyers ; - Eprouvette 50 mL ; 100 mL.	- Tubes à essai ; - Embouts bleus et jaunes ; - Filtre membrane 47 mm, pores 0,45 µm millipores ; - Gants.	- Comptes gouttes ; - Pompe à crémaillère ; - Pissettes ; - Spatules ; - Bouchons ; - Micropipettes 1000 µL ; - Portoirs ; - Barreaux magnétiques

## 1.2. Méthodes

Deux méthodes de préparation distinctes des collyres fortifiés ont été retenues. D'une part, la méthode dite « non optimisée », qui était adoptée en routine au sein du service d'ophtalmologie, et de l'autre, la méthode dite « optimisée » sensée améliorer la qualité et stabilité des collyres fortifiés, et qui fait l'objet de notre étude.

Méthode non optimisée :

- Les collyres sont préparés au service d’ophtalmologie en atmosphère non contrôlée ;
- Une dissolution avec 10 mL de solution aqueuse de NaCl isotonique pour chaque flacon de Vancomycine 500 mg a été réalisée ;
- Les flacons ont été homogénéisés jusqu’à obtention d’une solution limpide ;
- La préparation a été conditionnée dans des flacons compte-gouttes de 5 ml ;

Conservation : température ambiante (env. 20°C).

Méthode optimisée :

- Les collyres de Vancomycine à 50mg/mL ont été reconstitués selon les bonnes pratiques applicables à l’hôpital, au bloc opératoire sous flux d’air stérile, sur champs stériles ;
- La dissolution de la vancomycine a été réalisée de manière aseptique au bloc opératoire dans une solution aqueuse de NaCl isotonique ;
- Les préparations ont été homogénéisées jusqu’à obtention d’une solution limpide ;
- La préparation est ensuite conditionnée dans des seringues en polypropylène 2,5 ml, étiquetée, puis conservée au réfrigérateur a une température de +4°C.



Figure 17 : Seringue contenant une préparation de collyre fortifié de vancomycine préparé selon le « procédé optimisé »



Figure 18 : Flacon contenant une préparation de collyre fortifié de vancomycine « méthode non optimisée ».

### **1.3. Contrôle qualité**

Dix (10) échantillons de chaque méthode de préparation des collyres sont prélevés pour réaliser :

- Etude de stabilité physico-chimique : dosage du PA par HPLC à J0 puis à J+3.
- Contrôle visuel :
  - ✓ Contrôle de la limpidité.
  - ✓ Contrôle de la couleur.
- Test de stérilité.

#### **1.3.1. Etude de stabilité physicochimique**

##### **1.3.1.1. Principe de dosage**

Vingt (20) échantillons ont été prélevés pour la détermination de la teneur en Vancomycine ; dix échantillons prélevés à partir des collyres préparés suivant la méthode optimisée et ont été conservés à + 4 °C, et dix autres prélevés à partir des collyres préparés suivant la méthode non optimisée et conservés à température ambiante (env. 20°C).

Tous les échantillons ont été conservés à l'abri de la lumière.

La teneur en Vancomycine a été déterminée par chromatographie liquide haute performance à détection par UV (HPLC-UV), technique qui met à profit la capacité de la vancomycine à absorber dans le domaine de l'ultraviolet à une longueur d'onde de 220nm.

La quantification a été permise par étalonnage interne afin d'améliorer la répétabilité et la reproductibilité de la méthode en corrigeant les pertes liées à la préparation de l'échantillon et son analyse. Le céfotaxime a ainsi été choisi comme étalon interne (EI) car doué de propriétés physicochimiques proches de celles de la vancomycine.<sup>40</sup>

La Vancomycine est une molécule ionisable, il est donc nécessaire de tamponner les solutions pour s'opposer aux variations du pH et par conséquent à sa dégradation. À cette fin, le tampon phosphate monosodique a été choisi en pH acide (pH=3,15) pour le maintien de la forme stable de la molécule.

### **1.3.1.2. Conditions expérimentales**

La méthode de dosage a été validée au cours d'une précédente étude.<sup>40</sup>

#### **1.3.1.2.1. Choix de la dilution**

À partir des échantillons de Vancomycine, des solutions filles diluées ont été préparées avec un facteur de dilution de 200.

#### **1.3.1.2.2. Choix du diluant**

Pour une meilleure solubilité et stabilité de la Vancomycine et du Céfotaxime (EI), l'eau purifiée reste le diluant de choix. En effet, en plus de bien solubiliser ces poudres, d'être compatible avec la phase mobile et le système chromatographique en général, il est disponible et moins coûteux.

### **1.3.1.3. Préparation de la phase mobile**

- Préparation du tampon phosphate : dans une fiole de 250 mL, 5,5 g de phosphate monosodique  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  ont été pesés puis dissous par agitation manuelle dans un volume d'eau purifiée, le mélange a été complété au trait de jauge avec le même solvant puis homogénéisé par retournement. Dans une autre fiole de 250 mL, 270  $\mu\text{L}$  d'acide phosphorique ont été additionnés à l'aide d'une micropipette à un petit volume d'eau purifiée, le mélange a été ajusté au trait de jauge avec le même diluant puis homogénéisé par retournement. Les deux solutions obtenues ont été mélangées dans un bécher de 500 mL puis homogénéisées au moyen d'un agitateur magnétique.

- Le pH de la solution finale a été vérifié à l'aide d'un pH mètre, le pH ciblé étant de 3,15.

- La phase mobile préparée a été filtrée avant d'être utilisée avec un dispositif de filtration sous vide sur membrane 0,45  $\mu\text{m}$ , fournie par Millipore.

### **1.3.1.4. Préparation des échantillons d'analyse**

#### **1.3.1.4.1 Préparation de la solution d'étalon interne (EI)**

- Dans une fiole jaugée de 100 mL, 25 mg de Céfotaxime ont été pesés puis solubilisés manuellement avec un certain volume d'eau purifiée.

- Le mélange a été complété au trait de jauge avec le même diluant puis homogénéisé par retournement, la concentration de la solution mère de l'étalon interne est 0,25mg/mL.

#### **1.3.1.4.2 Préparation des solutions de Vancomycine**

- Ces solutions mères correspondent aux échantillons de collyre fortifiés préparées au service d'ophtalmologie. La concentration cible de ces préparations étant de 50 mg/mL.

#### **1.3.1.4.3 Préparation des solutions filles de Vancomycine**

Un facteur de dilution de 200 a été appliqué pour la préparation des solutions filles à analyser, et ce de la manière suivante :

- À partir de chaque solution mère un volume de 250 $\mu$ L a été prélevé à l'aide d'une micropipette puis transféré dans des fioles jaugées de 50mL ;
- Ces volumes ont été complétés au trait de jauge avec de l'eau purifiée puis homogénéisés par retournement.

#### **1.3.1.5 Préparation des vials pour analyse HPLC**

- Un volume de 150  $\mu$ L de chaque solution fille a été prélevé à l'aide d'une micropipette dans un tube à essais en plastique auquel 150  $\mu$ L de Céfotaxime et 1600  $\mu$ L d'eau purifiée ont été additionnés, l'ensemble a été homogénéisé manuellement.
- Les vingt mélanges obtenus correspondant aux vingt échantillons préparés ont été introduits dans des vials puis injectés dans l'automate d'HPLC.

#### **1.3.1.6 Préparation des blancs-échantillons**

Deux blancs-échantillons ont été préparés : Blanc-échantillon collyre optimisé et Blanc-échantillon collyre non optimisé. Les blancs-échantillons ont été préparés dans les mêmes conditions correspondantes mais sans contenir le PA (présence uniquement de sérum salé isotonique).

Ces blancs-échantillons ont subi la même dilution puis un volume de 150 $\mu$ L a été prélevé, auquel on a rajouté un volume de 1750 $\mu$ L d'eau purifiée.

#### **1.3.1.7 Conditions d'analyse chromatographique**

Les conditions d'analyse chromatographique appliquées dans notre étude sont résumées dans le tableau ci-dessous :

Tableau 5 : Conditions d'analyse chromatographique de la méthode de dosage.

<b>Système de pompage</b>	<b>Pompe quaternaire permettant des gradients basse pression.</b>	
<b>Phase mobile</b>	- Phase (A) Tampon phosphate de sodium monobasique à pH = 3,15. - Phase (B) Méthanol.	
<b>Gradient d'élution</b>	<p>Le diagramme illustre le gradient d'élution en fonction du temps (min) et du pourcentage de méthanol. Les points de transition sont : 0 min (24%), 2 min (42%), 4 min (42%), 7 min (24%), 11 min (24%) et 14 min (24%).</p>	
<b>Débit</b>	<b>1 mL/min.</b>	
<b>Colonne</b>	<b>Longueur de la colonne</b>	<b>25 cm</b>
	<b>Diamètre de la colonne</b>	<b>4,6 mm</b>
	<b>Diamètre des particules</b>	<b>5 µm</b>
	<b>Phase stationnaire</b>	<b>Gel de silice octadécylsilylé (C18)</b>
<b>Injecteur</b>	<b>Injecteur et passeur automatiques</b> <b>Volume d'injection = 60 µL</b>	
<b>Temps d'analyse</b>	<b>14 minutes</b>	
<b>Température</b>	<b>30° C</b>	
<b>Détection</b>	<b>Spectrophotomètre UV-Visible, Longueur d'onde <math>\lambda = 220</math> nm.</b>	

## 2. Résultats

### 2.1. Traitement des données et calcul statistique

- Chaque échantillon a été analysé à J0 et J+3. Les concentrations en vancomycine ont été exprimées en pourcentage de la concentration cible de 50mg/ml, correspondant à 100 % ;
- Le collyre n'est utilisable que pour une concentration en Vancomycine supérieure à 90 % de la concentration de référence.<sup>35</sup>
- L'incertitude associée au dosage a été déterminée à partir des données de validation de la méthode.

## 2.2. Stabilité physico-chimique

### 2.2.1. Limpidité

Les échantillons préparés étaient tous limpides et incolores à J0 et à J+3, peu importe leur méthode de préparation.

### 2.2.2. Dosage

Le dosage de la vancomycine dans les échantillons préparés s'est fait par HPLC.

Pour chaque échantillon analysé un chromatogramme avec un pic caractéristique de la vancomycine, et un pic caractéristique de la céfotaxime (EI) a été obtenu.

La mesure de l'aire sous la courbe du pic de vancomycine permet d'obtenir un rapport (Y) à partir duquel la mesure de la concentration de la vancomycine (X) peut être déterminée et ce, en se basant sur une courbe d'étalonnage pré établi.

## 2.3. Comparaison des chromatogrammes obtenus du dosage de la Vancomycine et du Céfotaxime (étalon interne).

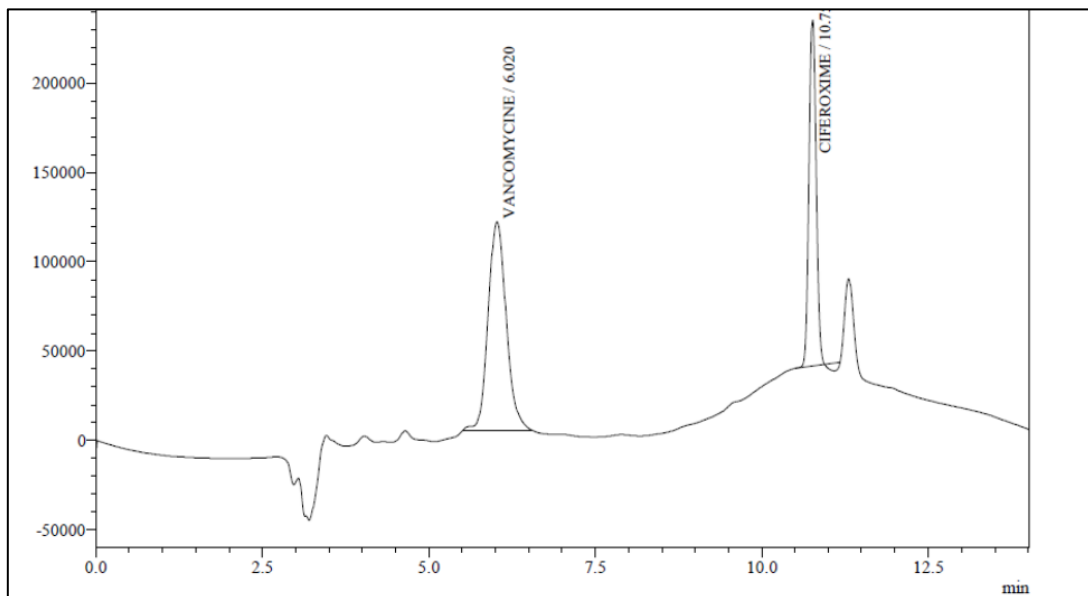


Figure 19 : Chromatogramme de l'échantillon de collyre non optimisé analysé à j0

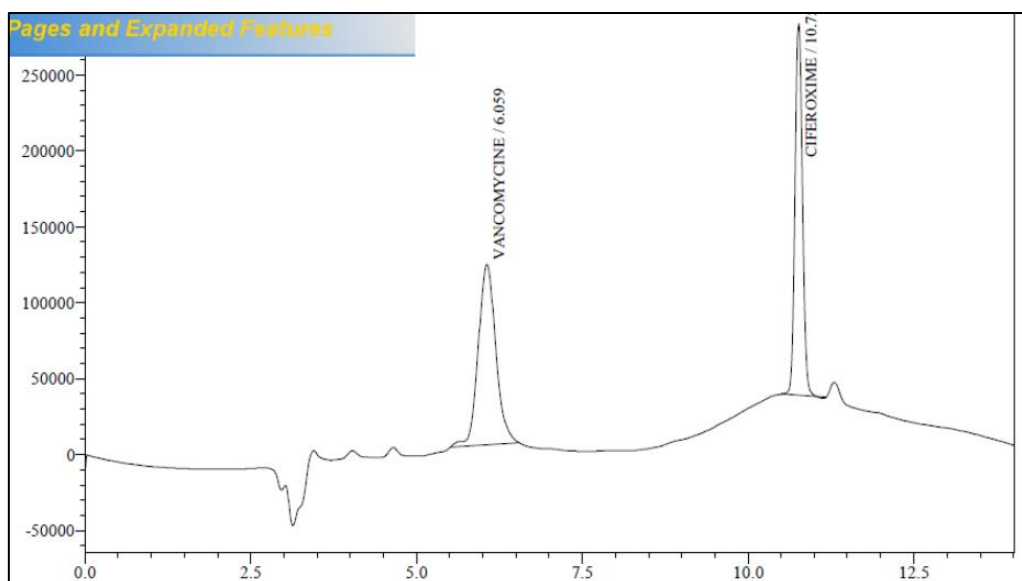


Figure 20 : Chromatogramme de l'échantillon de collyre non optimisé analysé à j3

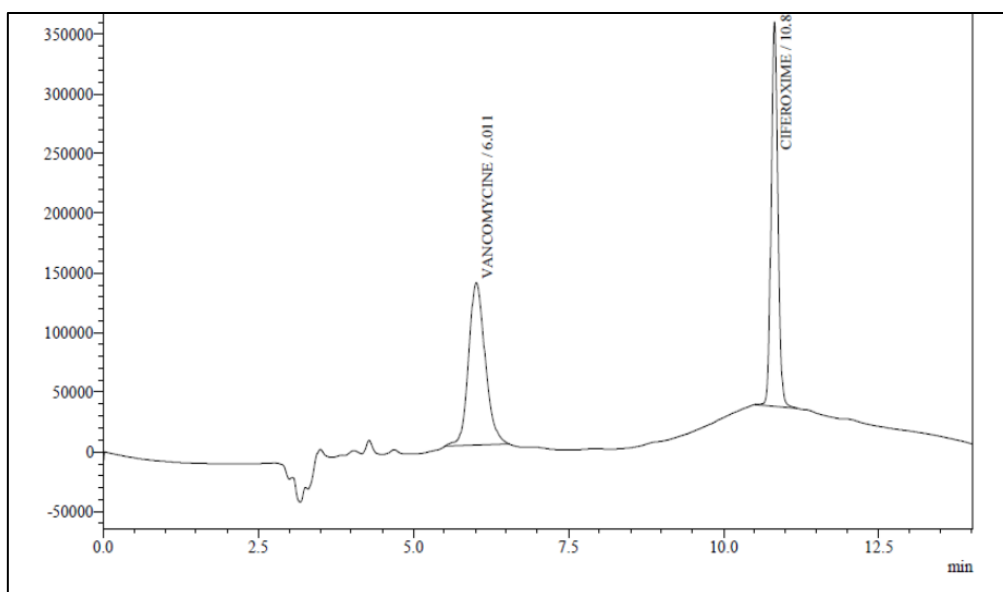


Figure 21 : Chromatogramme de l'échantillon de collyre optimisé analysé à j0

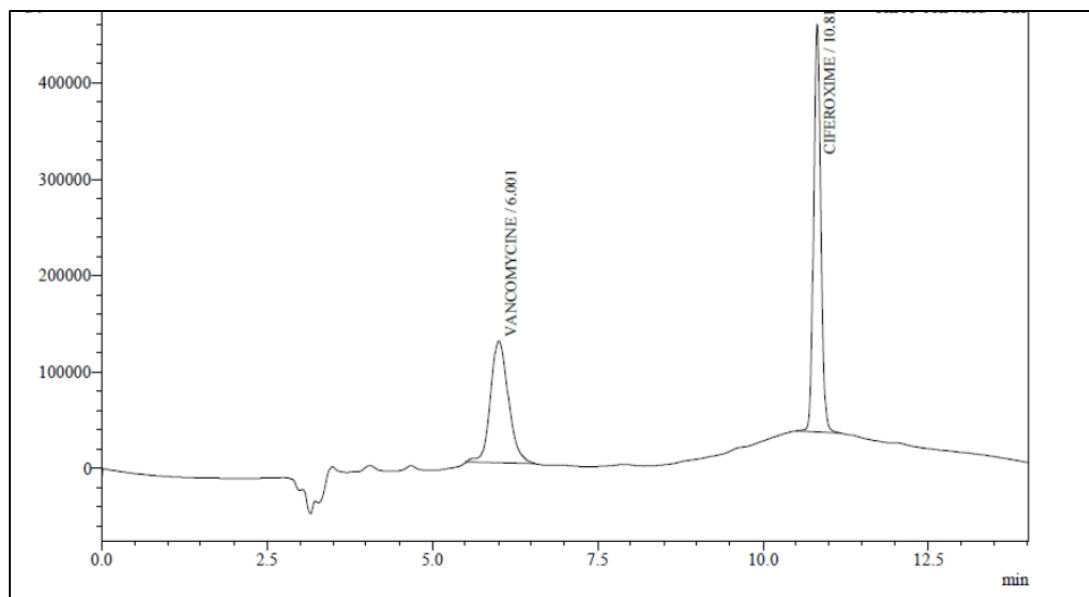


Figure 22 : Chromatogramme de l'échantillon de collyre optimisé analysé à j3

L'analyse qualitative des chromatogrammes obtenus a permis de mettre en évidence en comparant les échantillons de collyres optimisés avec les échantillons de collyres non optimisés, des différences en nombres de pic, pouvant être dû à la présence d'autres PAs (contaminants) en plus de la vancomycine et de l'étalon interne : cefotaxime.

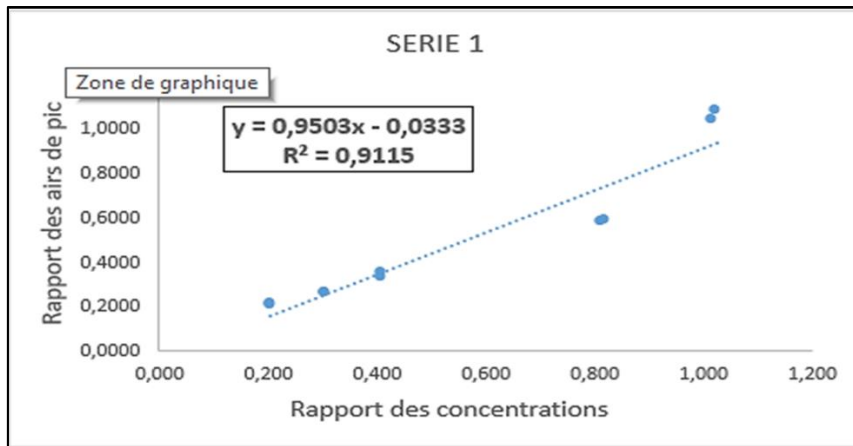
#### 2.4. Courbe d'étalonnage

Lors de notre étude nous avons choisi un modèle d'étalonnage qui a donné les meilleurs résultats de validation à savoir :

- Un intervalle de dosage le plus étendu ;
- Un intervalle de tolérance le plus étroit ;
- Une simplicité d'utilisation et de transformation lors du calcul des concentrations.

La fonction de réponse qui répond le mieux à ses critères est :  $y = ax + b$ .

Cette courbe a été précédemment établit au cours d'une étude réalisé au niveau du laboratoire de chimie analytique, qui a pour thème : « Mise au point et validation d'une nouvelle méthode de dosage de la Vancomycine dans le plasma par HPLC ». <sup>40</sup>

Figure 23 : Courbe d'étalonnage de la Vancomycine obtenue avec la fonction  $y = ax + b$ .<sup>40</sup>

## 2.5. Résultats obtenus avec les collyres optimisés

Tableau 6 : Concentrations calculées de la Vancomycine.

	J0 mg/ml	J0 %	J3 mg/ml	J3 %
Ech 1	50,00	100	49,87	99,75
Ech 2	51,90	103,80	50,67	101,35
Ech3	50,71	101,42	50,57	101,15
Ech4	49,86	99,73	49,39	98,79
Ech5	49,77	99,54	49,77	99,54
Ech6	51,22	102,45	51,05	102,10
Ech7	51,45	102,91	51,00	102,01
Ech8	51,72	103,44	50,58	101,16
Ech9	52,61	105,23	52,80	105,60
Ech10	52,47	104,95	51,73	103,46

## 2.6. Résultats obtenus avec les collyres non optimisés

Tableau 7 : Concentrations calculées de la Vancomycine.

	J0 mg/ml	J0 %	J3 mg/ml	J3 %
Ech 1	51,84	103,69	49,84	99,69
Ech 2	50,60	101,21	50,20	100,40
Ech3	49,50	99,01	45,49	90,99
Ech4	50,07	100,14	50,41	100,82
Ech5	51,33	102,66	47,96	95,92
Ech6	51,90	103,81	50,23	100,46
Ech7	52,97	105,95	48,69	97,39
Ech8	52,92	105,84	50,23	100,47
Ech9	53,42	106,85	50,88	101,76
Ech10	53,91	107,82	49,07	98,14

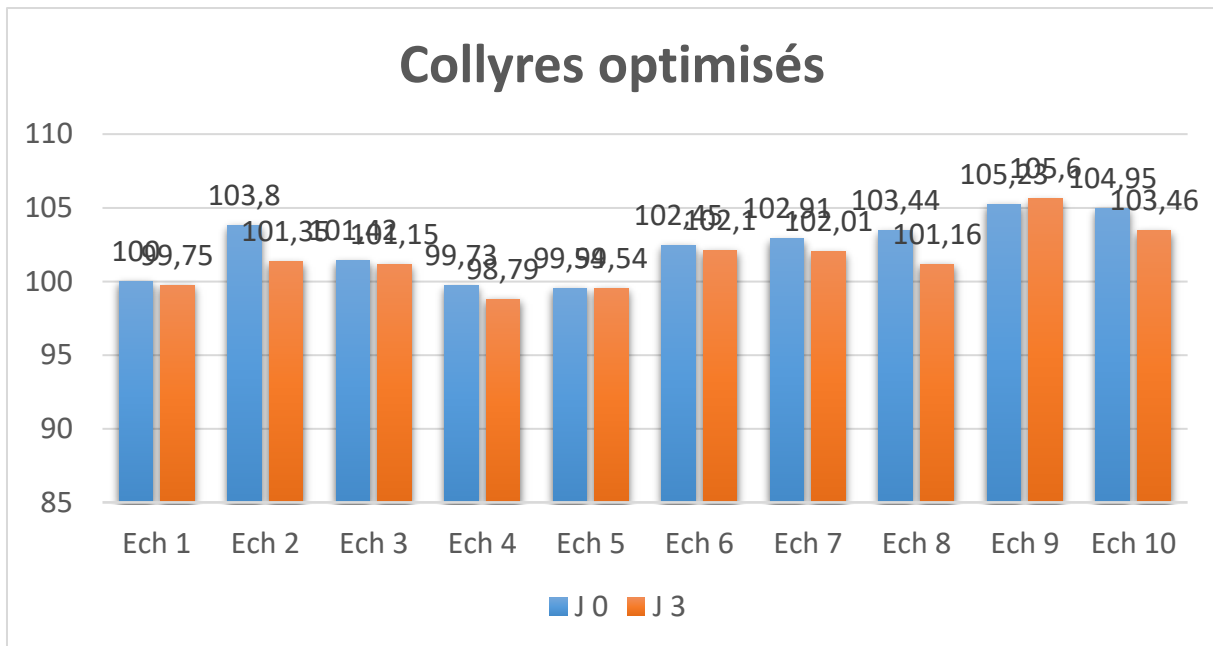


Figure 24 : Histogramme des concentrations de vancomycine retrouvées après analyse des collyres optimisés.

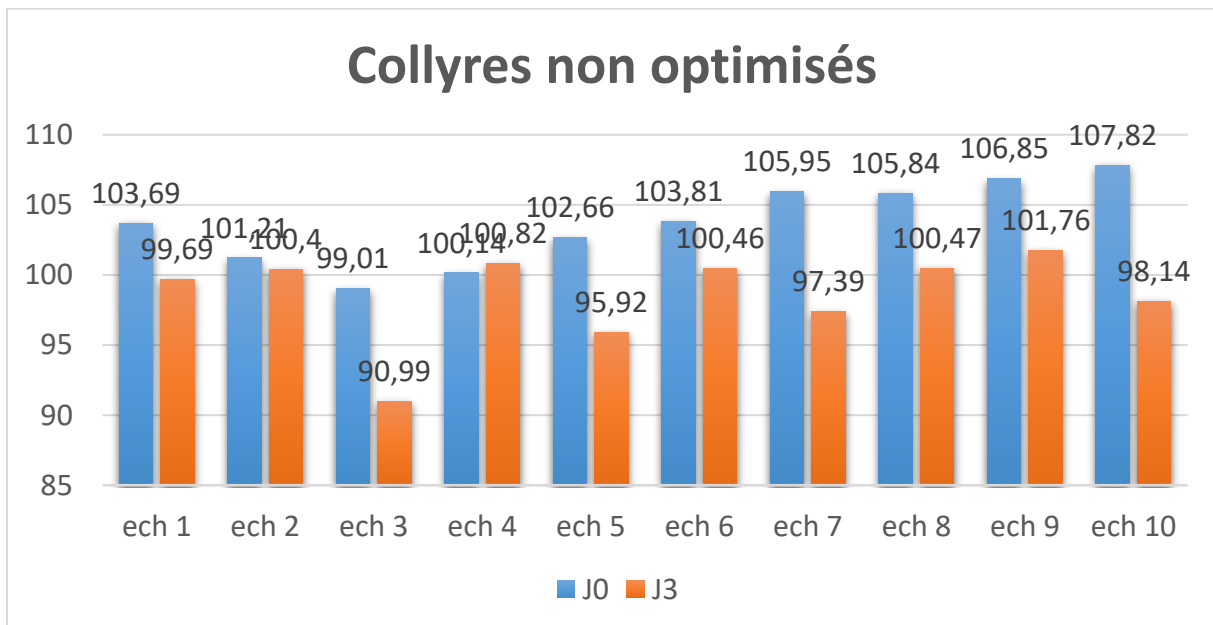


Figure 25 : Histogramme des concentrations de vancomycine retrouvées après analyse des collyres non optimisés.

### 3. Discussion

Il n'y a pas eu formation de particules ou signe de précipitation pendant l'étude dans aucune des solutions ophtalmiques, quelle que soit les conditions de stockage.

Pas de changements de couleur ou de turbidité ont été observés dans l'un des flacons non plus.

En ce qui concerne l'analyse HPLC, la concentration de vancomycine est restée entre 90% et 110% de la valeur initiale au temps 0 pendant les 3 jours d'utilisation.

Ecart type des collyres conservés à + 4°C : SD j0 = 1,05 / SD j3 = 0,99

Ecart type des collyres conservés à +21°C : SD j0 = 1,47 / SD j3 = 1,60

L'étude contribue à l'ensemble des preuves compilées dans des études antérieures en montrant la stabilité d'une vancomycine à 50mg/ml solution ophtalmique préparée avec du sérum salé isotonique et stocké dans une seringue en polypropylène au réfrigérateur (+4°C).

Ces conditions sont censées favoriser le confort du patient et l'adhésion. La solution est stable pendant les 03 jours d'utilisation, suite à quoi un renouvellement de la solution sera nécessaire.

Dans le cadre de la pratique hospitalière ou en ambulatoire, la conservation au réfrigérateur semble la plus adaptée avec une stabilité démontrée sur le plan physicochimique.

Des analyses micro-bactériologiques ont été réalisées sur différents échantillons de collyres préparés au cours de notre études, tous revenus négatifs.

Néanmoins, ce travail devrait être complété par une étude de stabilité microbiologique incluant également l'ouverture des flacons, simulant les conditions réelles d'utilisation.

## **Conclusion**

La prescription de solutions antibiotiques ophtalmiques de concentration élevées s'avère indispensable dans certaines situations. Ces solutions ne sont pas commercialisées et seront donc préparées par la pharmacie, sous hotte à flux d'air laminaire.

De nombreuses études ont été réalisées pour déterminer la stabilité de ces préparations.

Ce travail a permis d'analyser celles concernant la stabilité des collyres fortifiés de vancomycine préparés dans des seringues et stockés à +4°C.

## Bibliographie

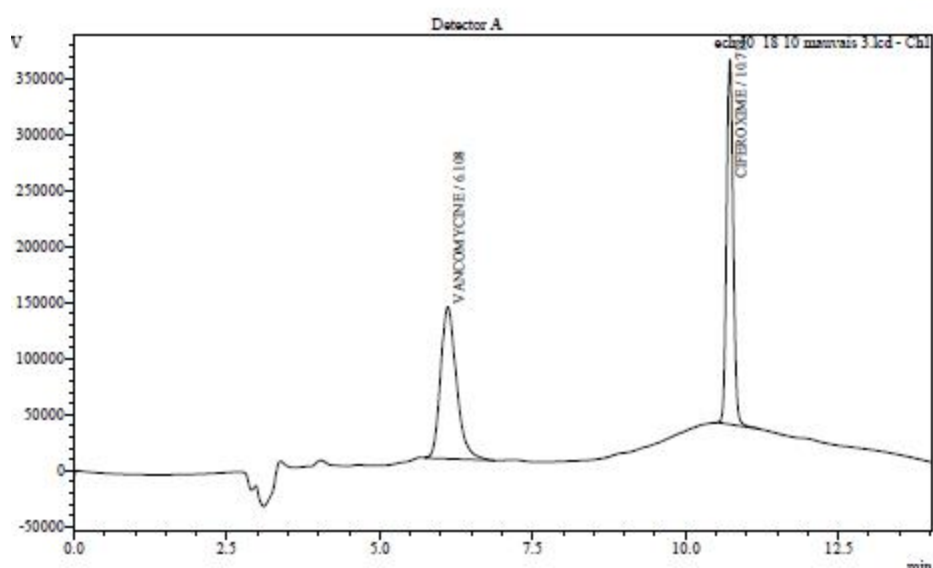
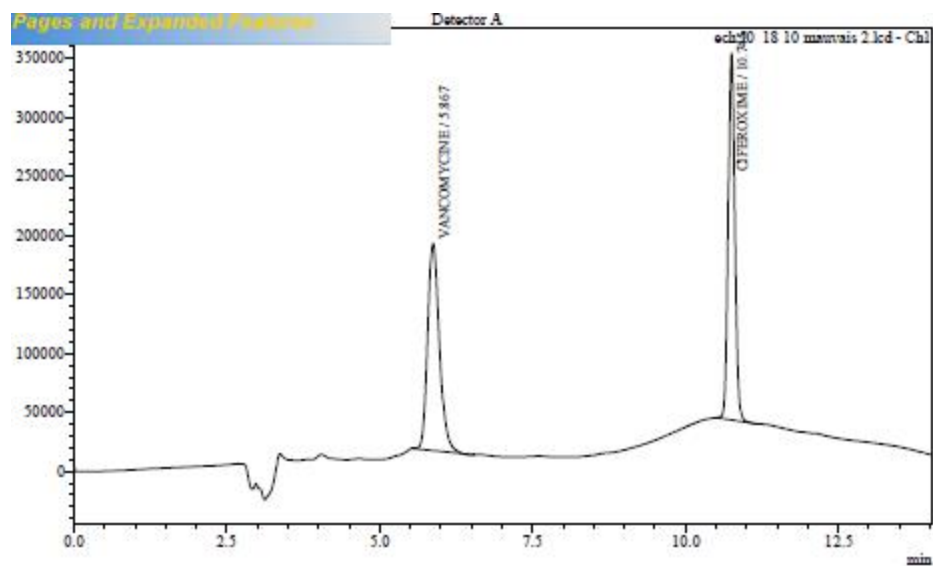
1. Berthélémy, S. Anatomie de l'œil et de ses annexes. *Actualités Pharmaceutiques* **48**, 10–11 (2009).
2. Rocher, N. Anatomie et physiologie de l'œil humain. *Soins* **1650**, 1–60 (2010).
3. Robert, P., Robert, P.-Y. & Rocher, M. Anatomie et physiologie de l'œil. *Actualités Pharmaceutiques* **61**, 16–20 (2022).
4. Behar-Cohen, F., Gelizé, E., Jonet, L. & Lassiaz, P. Anatomie de la rétine. *Med Sci (Paris)* **36**, 594–599 (2020).
5. Silverthorn, D. U. & Brun, J. F. *Physiologie humaine: une approche intégrée*. (Pearson, 2018).
6. Dilly, P. N. Structure and Function of the Tear Film. in *Lacrimal Gland, Tear Film, and Dry Eye Syndromes* (ed. Sullivan, D. A.) vol. 350 239–247 (Springer US, 1994).
7. Pisella, P.-J., Baudouin, C. & Hoang-Xuan, T. *Surface oculaire: rapport 2015 [présenté à la] Société française d'ophtalmologie*. (Elsevier Masson, 2015).
8. Tiffany, J. M. Composition and Biophysical Properties of the Tear Film: Knowledge and Uncertainty. in *Lacrimal Gland, Tear Film, and Dry Eye Syndromes* (ed. Sullivan, D. A.) vol. 350 231–238 (Springer US, 1994).
9. Stahl, U., Willcox, M. & Stapleton, F. Osmolality and tear film dynamics. *Clinical and Experimental Optometry* **95**, 3–11 (2012).
10. Pflugfelder, S. C. & Stern, M. E. Biological functions of tear film. *Experimental Eye Research* **197**, 108115 (2020).
11. Creuzot-Garcher, C. Influence des anomalies du film lacrymal sur la surface oculaire. *Journal Français d'Ophtalmologie* **29**, 1053–1059 (2006).

12. Vaede, D., Baudouin, C., Warnet, J.-M. & Brignole-Baudouin, F. Les conservateurs des collyres : vers une prise de conscience de leur toxicité. *Journal Français d'Ophtalmologie* **33**, 505–524 (2010).
13. Labetoulle, M., Frau, É. & Le Jeune, C. Systemic adverse effects of topical ocular treatments. *La Presse Médicale* **34**, 589–595 (2005).
14. Creuzot-Garcher, C. Surface oculaire et pharmacocinétique. *Journal Français d'Ophtalmologie* **30**, 410–413 (2007).
15. Notice patient - MONOPROST 50 microgrammes/ml, collyre en solution en récipient unidose - Base de données publique des médicaments. <https://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/affichageDoc.php?specid=67303969&typedoc=N>.
16. Doft, B. H. The Endophthalmitis Vitrectomy Study. *Arch Ophthalmol* **109**, 487 (1991).
17. Trigui, A., Khaldi, N., Maazoun, M. & Feki, J. Utilisation des collyres antibiotiques fortifiés dans l'endophtalmie. *Le Pharmacien Hospitalier* **44**, 22–26 (2009).
18. Bourcier, T., Chatel, M.-A., Chaumeil, C., Borderie, V. & Laroche, L. Kératites bactériennes. *EMC - Ophtalmologie* **4**, 1–9 (2007).
19. Bourcier, T. Bacterial keratitis: predisposing factors, clinical and microbiological review of 300 cases. *British Journal of Ophthalmology* **87**, 834–838 (2003).
20. *Pharmacopée européenne*. (2017).
21. Murube, J. Collyrium: Where Does This Word Come From? *The Ocular Surface* **5**, 264–268 (2007).
22. Faure, Michel.-H. Les médicaments ophtalmiques français au XIXe siècle. *Revue d'histoire de la pharmacie* **61**, 393–400 (1973).
23. disability history museum--Special 'Drops'.  
<https://www.disabilitymuseum.org/dhm/lib/detail.html?id=3242>.

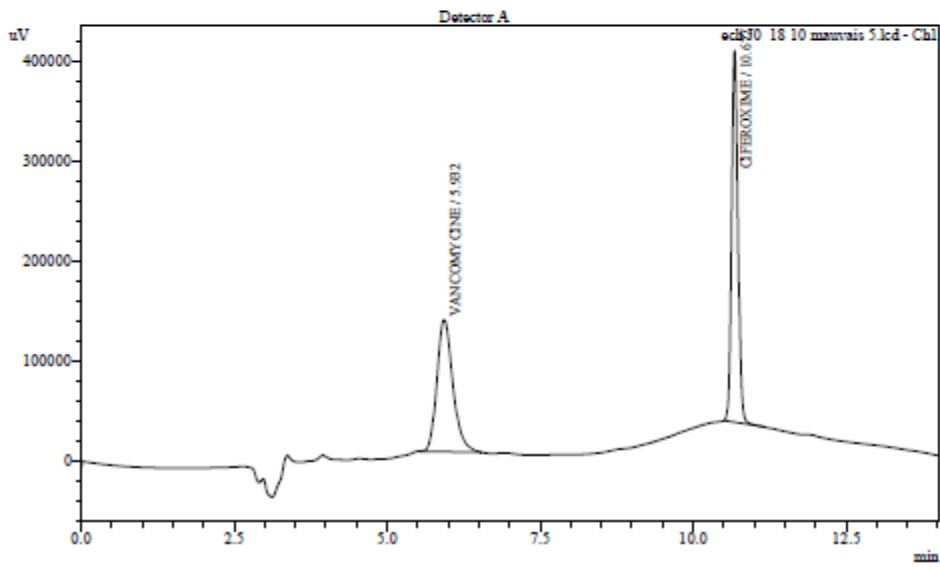
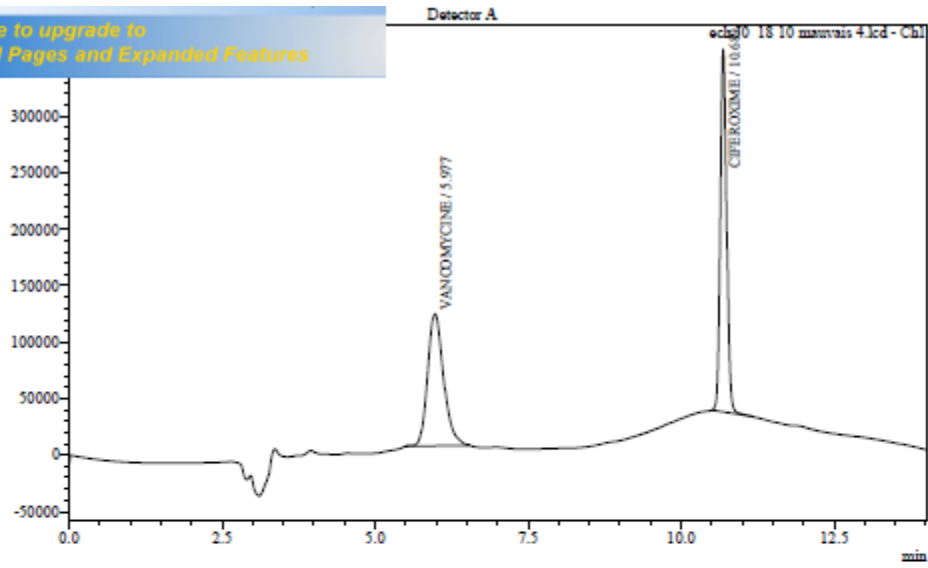
24. un concentré de technologie dans un flacon. [https://www.laboratoires-thea.com/medias/abak\\_brochure\\_fr.pdf](https://www.laboratoires-thea.com/medias/abak_brochure_fr.pdf).
25. Fodimbi, J. Évaluation de l'activité des préparations hospitalières de collyres et impact économique pour l'APHM.
26. Baudouin, C. Allergic reaction to topical eyedrops. *Current Opinion in Allergy & Clinical Immunology* **5**, 459–463 (2005).
27. Chédru-Legros, V. *et al.* Stabilité à – 20°C des collyres antibiotiques renforcés (amikacine, ceftazidime, vancomycine). *Journal Français d'Ophtalmologie* **30**, 807–813 (2007).
28. Mazet, R. Étude de faisabilité de préparations ophtalmiques au Centre Hospitalier Universitaire de Grenoble. (2012).
29. van Gong, L. L. Les collyres: intérêts et application en officine. (2017).
30. Ross, C. *et al.* Stability Evaluation of Extemporaneously Compounded Vancomycin Ophthalmic Drops: Effect of Solvents and Storage Conditions. *Pharmaceutics* **13**, 289 (2021).
31. Ho, P. C., Soh, H., Lim, S. M. & Yow, K. L. Stability of Extemporaneously Prepared Gentamicin Ophthalmic Solutions. *Ann Pharmacother* **35**, 1293–1294 (2001).
32. KODYM, A., HAPKA-ØMICH, D., GOŁ•B, M. & GWIZDAŁA, M. STABILITY OF CEFTAZIDIME IN 1% AND 5% BUFFERED EYE DROPS DETERMINED WITH HPLC METHOD. **68**, 99–107 (2011).
33. Olivier, G. *et al.* Étude de stabilité d'un collyre à 6 mg/mL de ticarcilline. *Le Pharmacien Hospitalier* **42**, 171–176 (2007).
34. Curti, C. *et al.* Stability studies of five anti-infectious eye drops under exhaustive storage conditions. *Pharmazie* 741–746 (2017) doi:10.1691/ph.2017.7089.

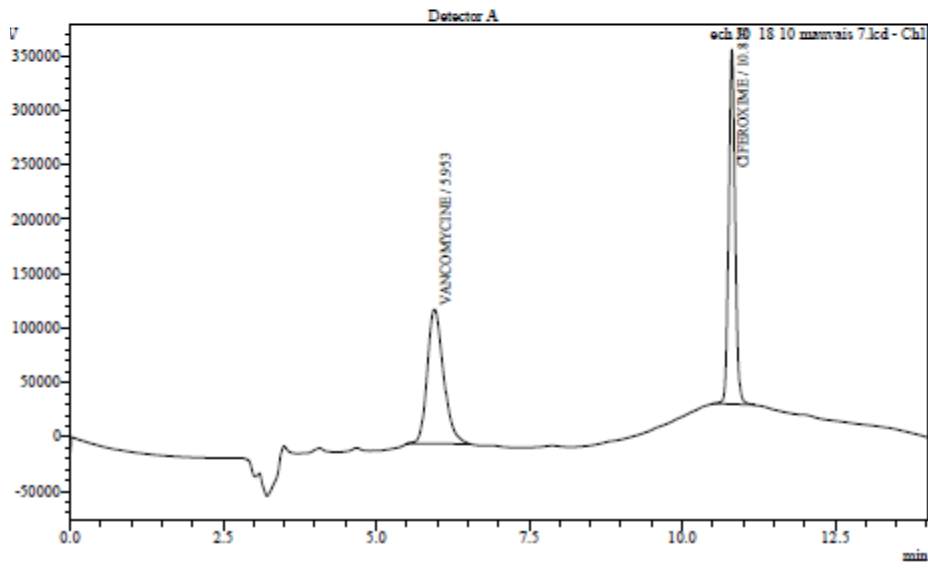
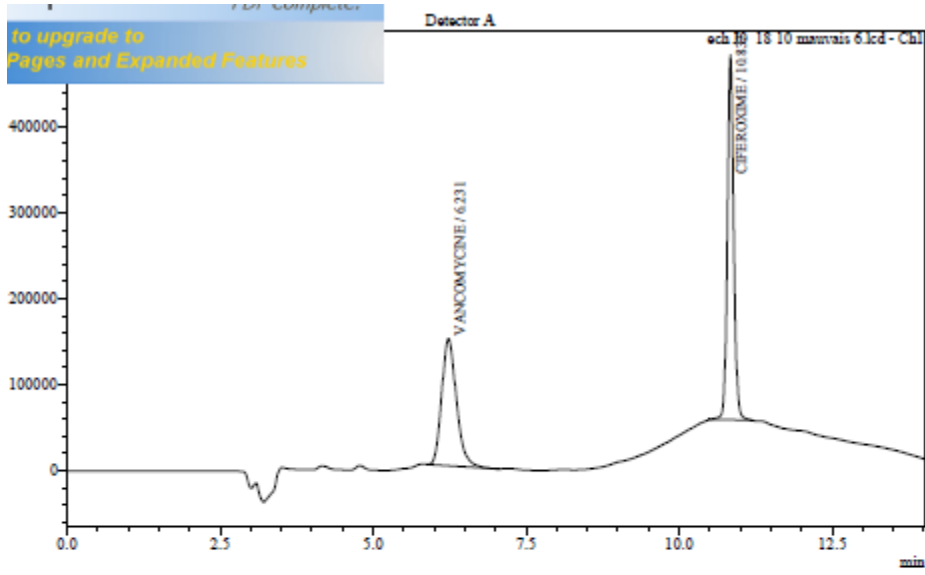
35. Roura-Turet, J., Rodriguez-Reyes, M., Guerrero-Molina, L., Soy-Muner, D. & López-Cabezas, C. Stability of 5% vancomycin ophthalmic solution prepared using balanced salt solution after freezing for 90 days. *American Journal of Health-System Pharmacy* **78**, 1444–1447 (2021).
36. Karampatakis, V. *et al.* Stability and antibacterial potency of ceftazidime and vancomycin eyedrops reconstituted in BSS<sup>®</sup> against *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. *Acta Ophthalmologica* **87**, 555–558 (2009).
37. Ratprasatporn, N. *et al.* Stability and Sterility of Extemporaneously Prepared Nonpreserved Cefazolin, Ceftazidime, Vancomycin, Amphotericin B, and Methylprednisolone Eye Drops. *Cornea* **38**, 1017–1022 (2019).
38. Chen, P. *et al.* An Exploratory Study of a New Vancomycin Eye Drops Formulation for Extemporaneous Compounding. *Hosp Pharm* **57**, 69–75 (2022).
39. HELESBEUX, M. *et al.* Stabilité de collyres de vancomycine à 50 mg/mL en flacon en polyéthylène basse densité (PEBD). (2020).
40. Mounine, D., Taleb, C., Nadji, A. & Bouaziz, T. Mise au point et validation d'une nouvelle méthode de dosage de la Vancomycine dans le plasma par HPLC. (Université Mouloud MAMMERY, 2022).

**Annexe : Données brutes de l'analyse chromatographique de la vancomycine et de l'étalon interne (céfotaxime).**

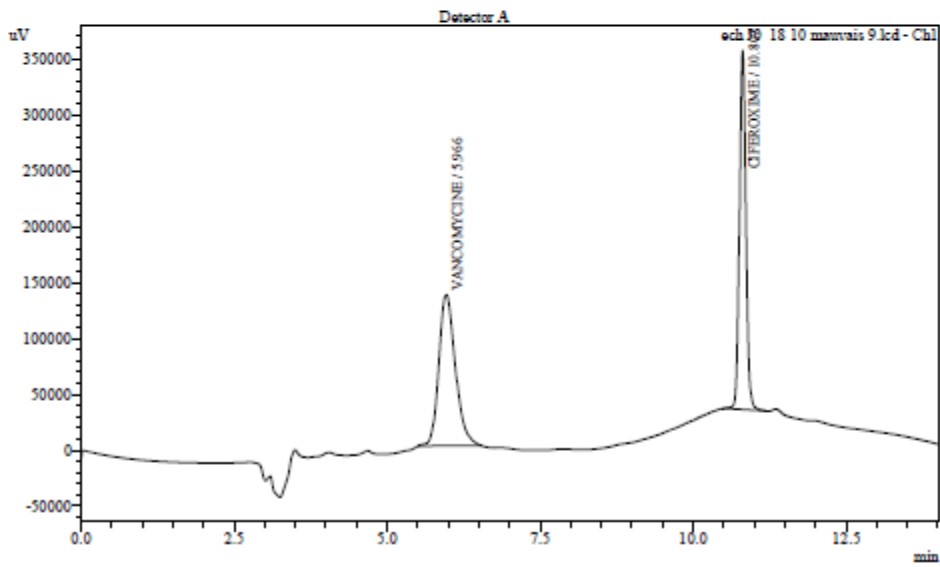
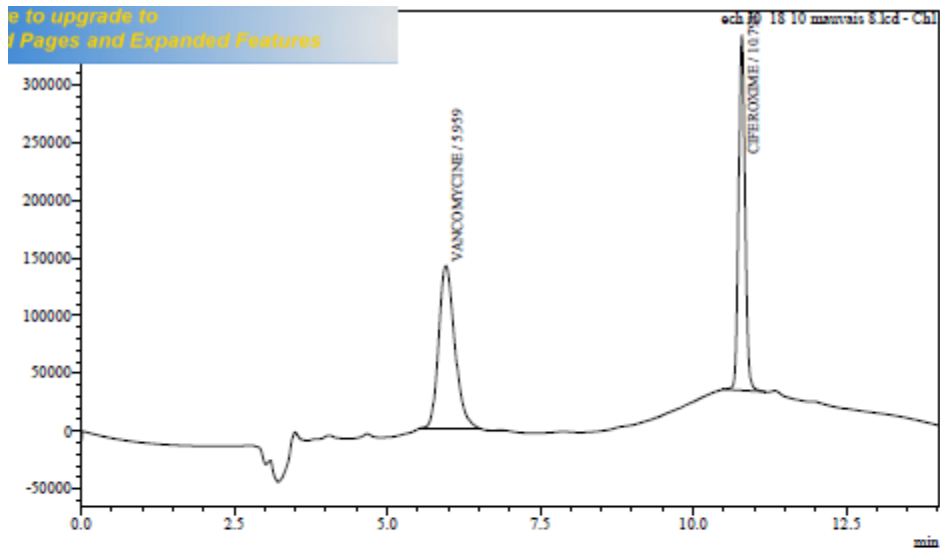


ire to upgrade to  
ed Pages and Expanded Features

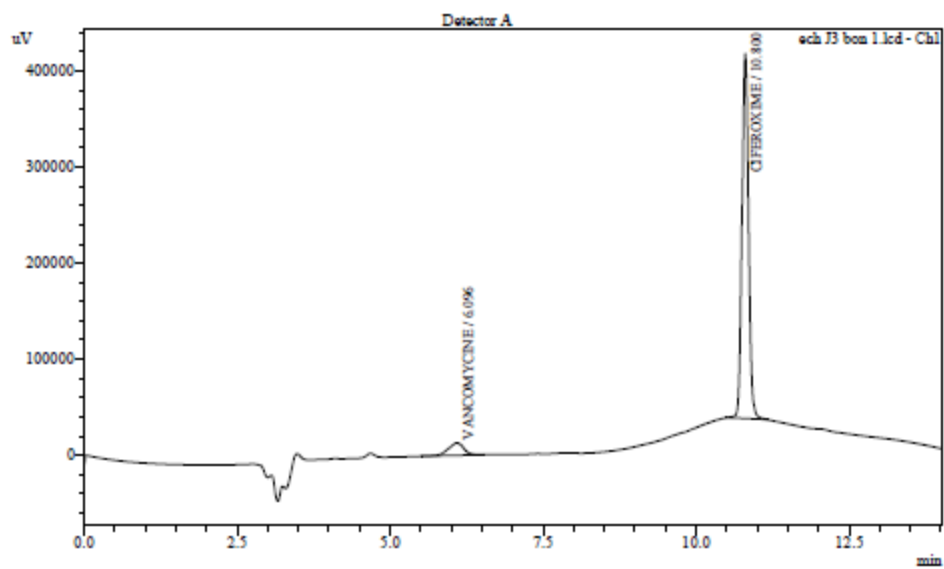
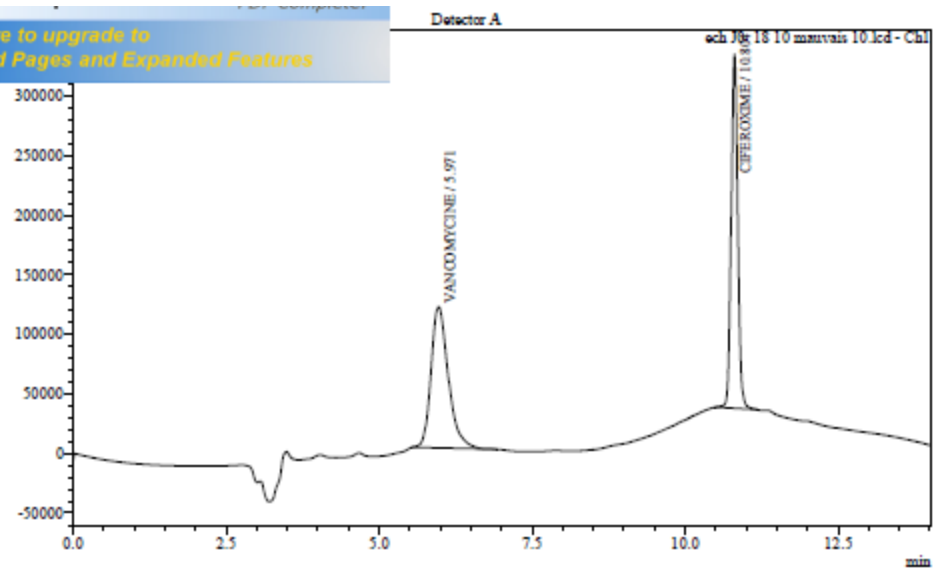




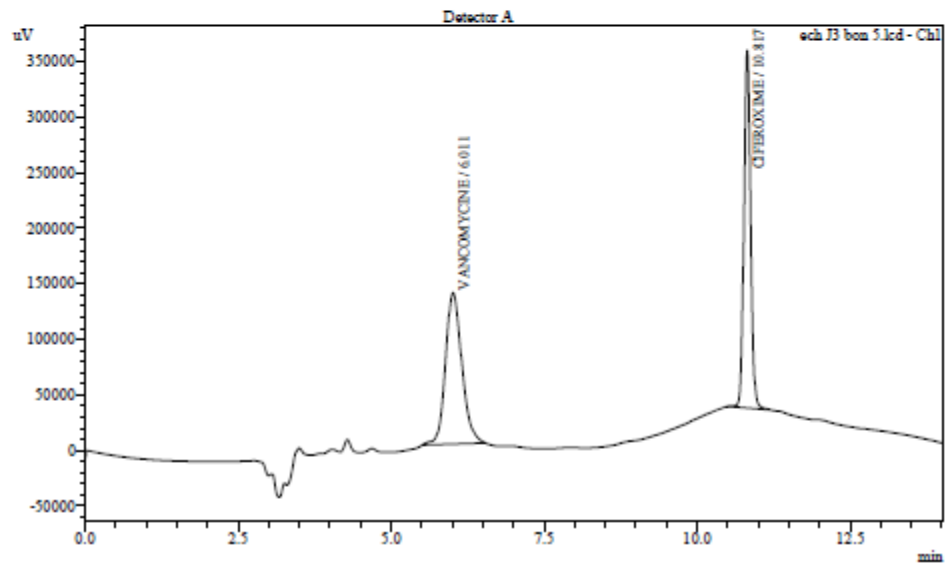
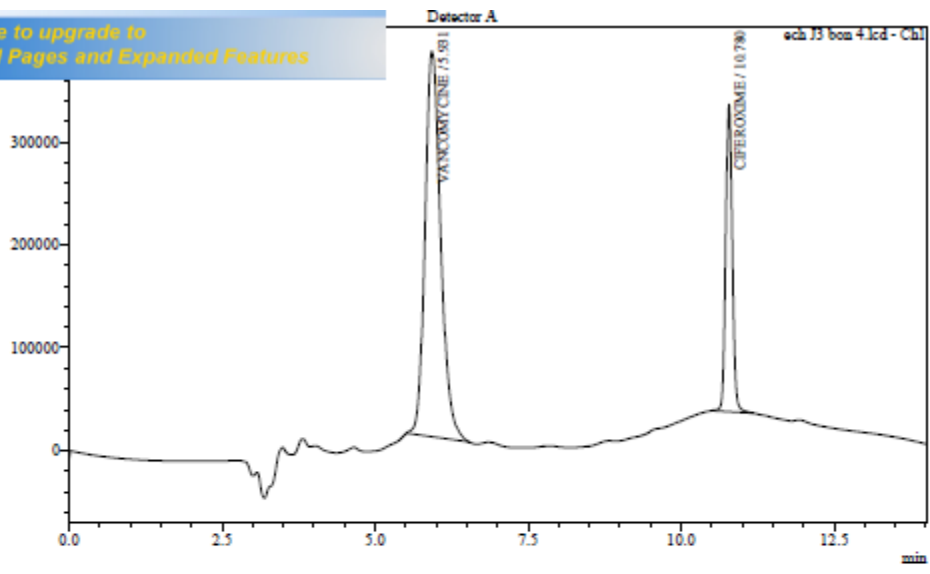
Click here to upgrade to  
Full Pages and Expanded Features



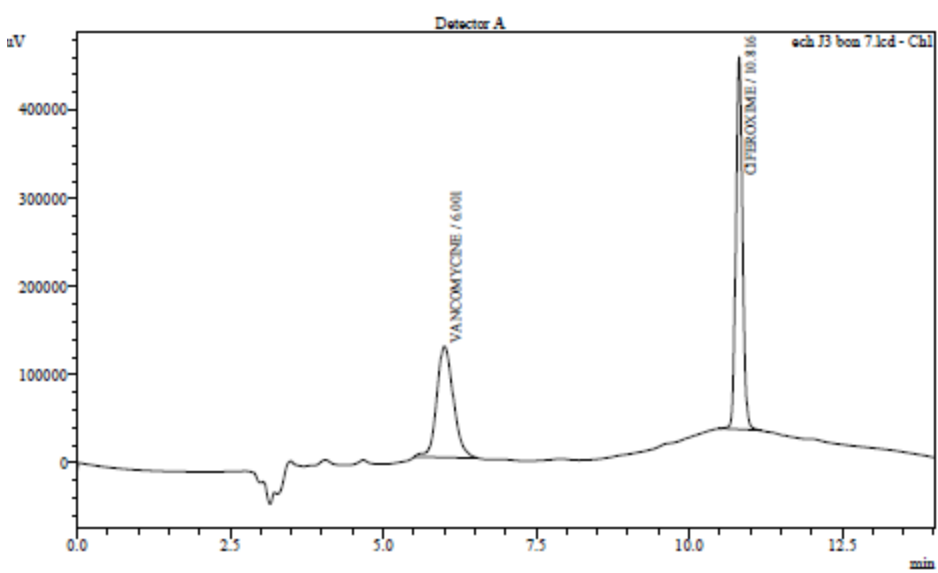
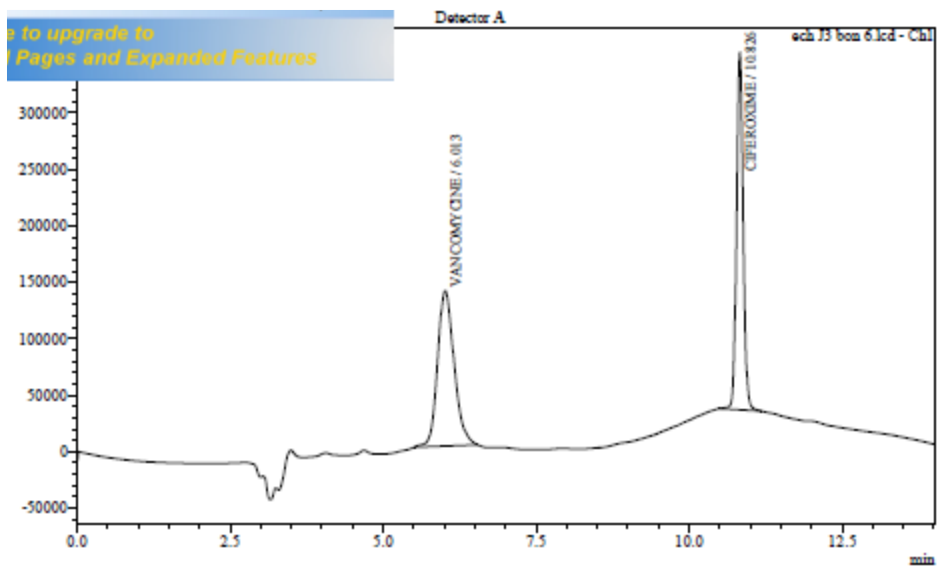
re to upgrade to  
d Pages and Expanded Features



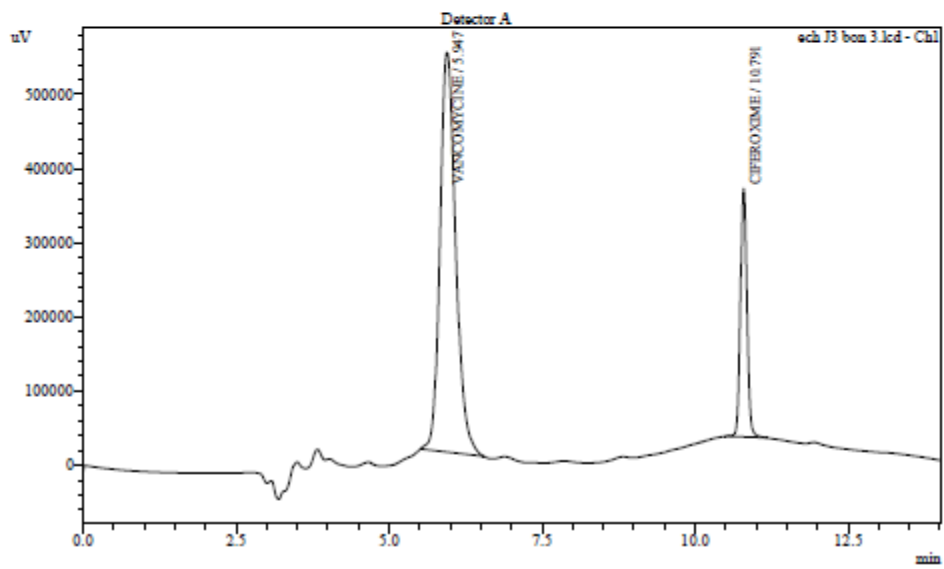
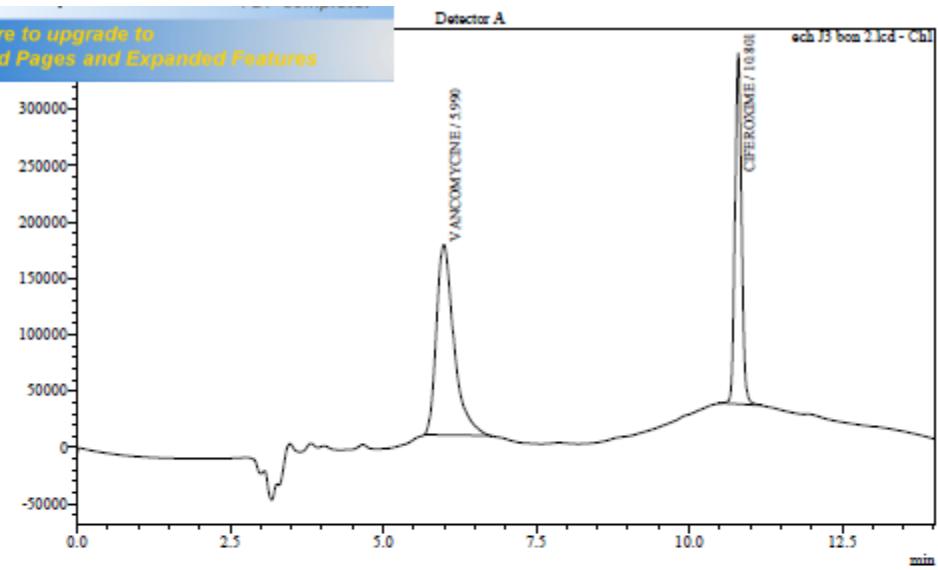
re to upgrade to  
of Pages and Expanded Features

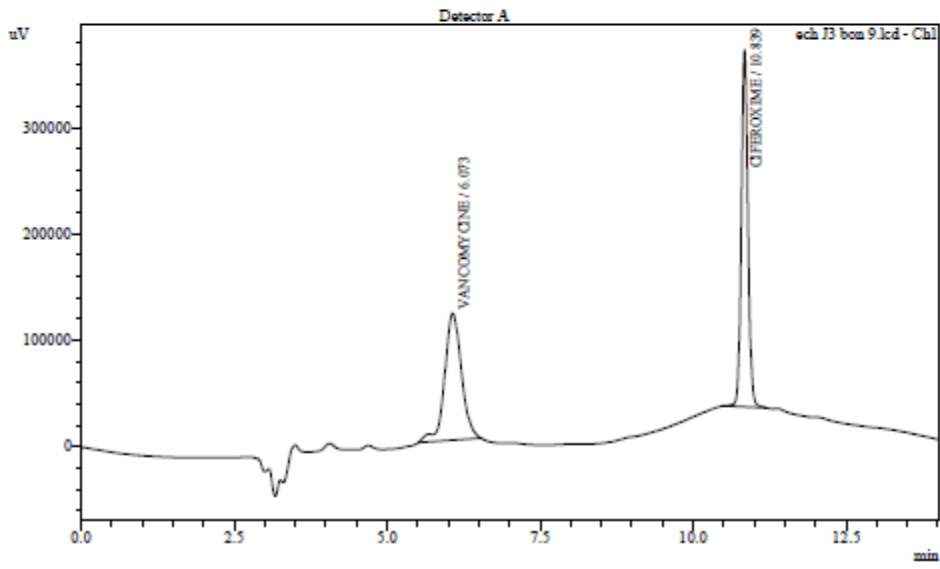
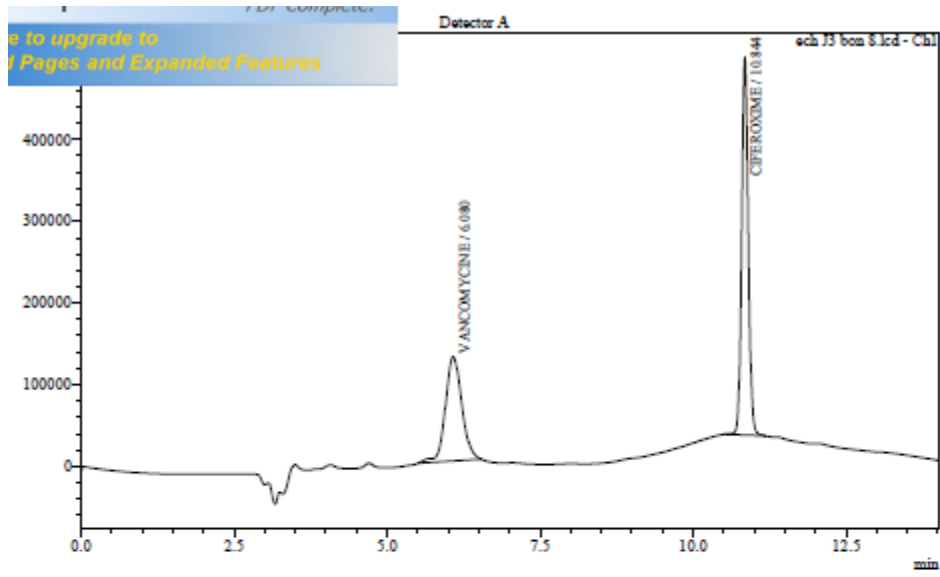


to upgrade to  
Pages and Expanded Features

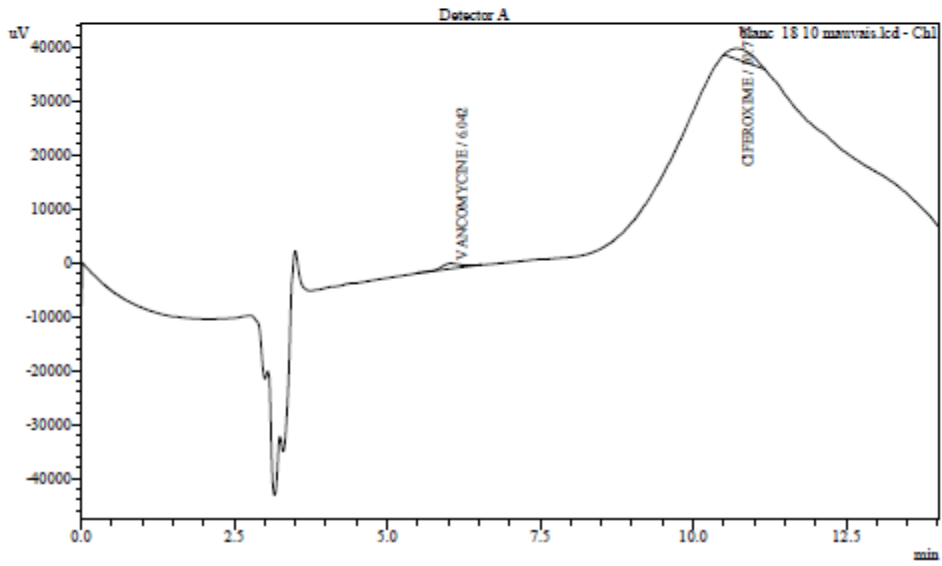
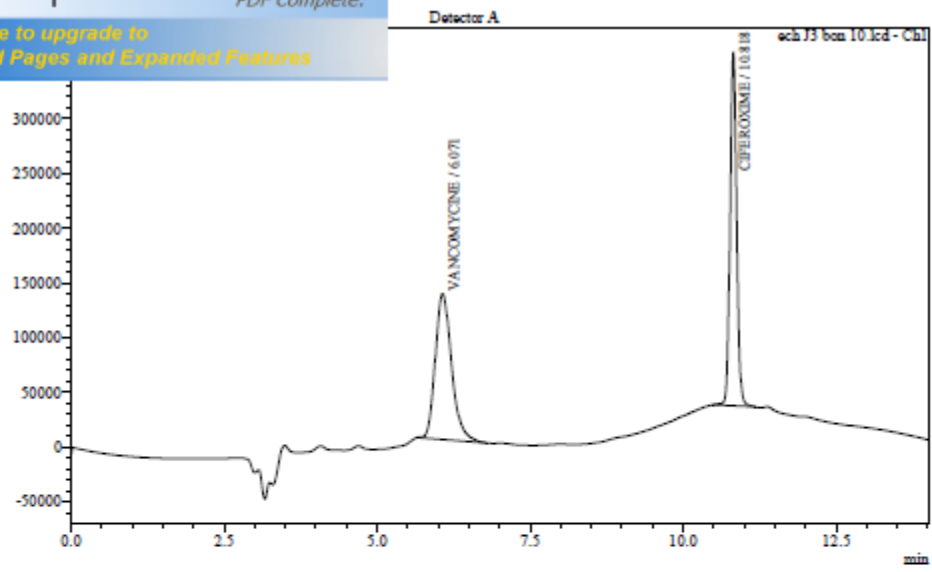


ire to upgrade to  
d Pages and Expanded Features

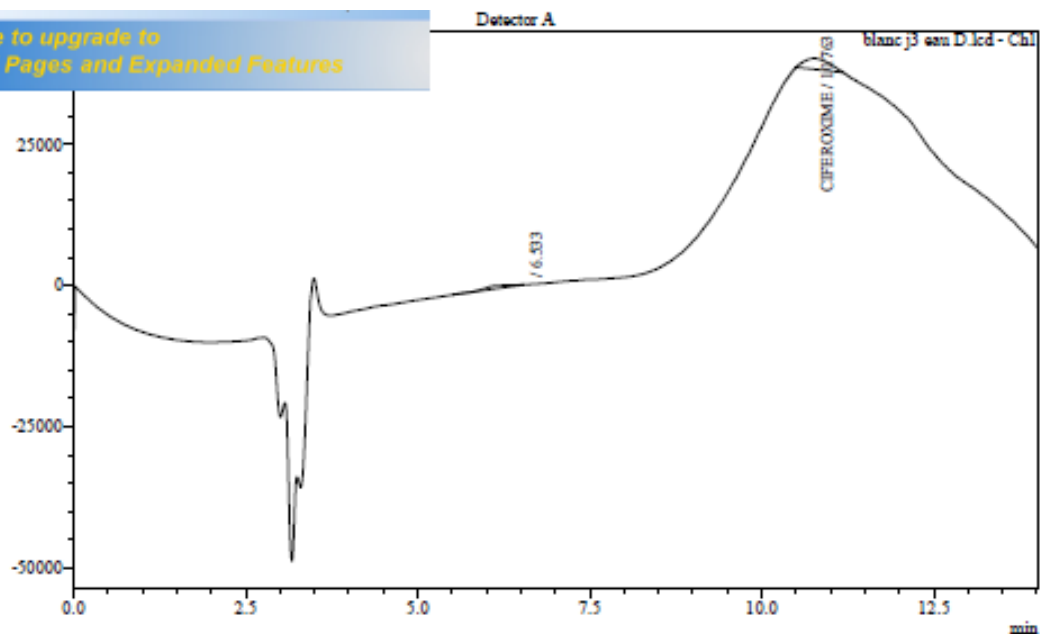




PDF Complete.  
are to upgrade to  
ed Pages and Expanded Features



Here to upgrade to  
 lited Pages and Expanded Features



<< Detector A >>

Title	Sample Name	Sample ID	ANCOMYCIN	CIFERONIME
ech J0 18 10 mauvais 2.lcd	ech J3 mauvais	ech	2350398	2363643
ech J0 18 10 mauvais 3.lcd	ech J3 mauvais	ech	2448627	2421571
ech J0 18 10 mauvais 4.lcd	ech J3 mauvais	ech	2125854	2342074
ech J0 18 10 mauvais 5.lcd	ech J3 mauvais	ech	2399702	2703964
ech J0 18 10 mauvais 6.lcd	ech J3 mauvais	ech	2476131	3121595
ech J0 18 10 mauvais 7.lcd	ech J3 mauvais	ech	2291608	2403997
ech J0 18 10 mauvais 8.lcd	ech J3 mauvais	ech	2605666	2270841
ech J0 18 10 mauvais 9.lcd	ech J3 mauvais	ech	2539858	2382483
ech J0 18 10 mauvais 10.lcd	ech J3 mauvais	ech	2325772	2245271
ech J3 bon 1.lcd	ech J3 bon 1	ech	232367	2853249
ech J3 bon 2.lcd	ech J3 bon 2	ech	3390320	2337876
ech J3 bon 3.lcd	ech J3 bon 3	ech	9597928	2502749
ech J3 bon 4.lcd	ech J3 bon 4	ech	6672813	2221386
ech J3 bon 5.lcd	ech J3 bon 5	ech	2545371	2460291
ech J3 bon 6.lcd	ech J3 bon 6	ech	2584310	2429336
ech J3 bon 7.lcd	ech J3 bon 7	ech	2389426	3229367
ech J3 bon 8.lcd	ech J3 bon 8	ech	2397788	3524772
ech J3 bon 9.lcd	ech J3 bon 9	ech	2286340	2564950
ech J3 bon 10.lcd	ech J3 bon 10	ech	2483612	2451682
blanc 18 10 mauvais.lcd	blanc J3 mauva	bl	22387	56919
blanc i3 eau D.lcd	blanc i3 eau D	cl	0	46981
Average			2807314	2330228
%RSD			72.321	35.677
Maximum			9597928	3524772
Minimum			22387	46981
Standard Deviation			2030277	831348

## **Résumé :**

Les collyres ont constitué depuis l'antiquité une arme thérapeutique indispensable pour traiter les différentes pathologies oculaires notamment les infections de l'œil.

Néanmoins pour certaines infections, les plus sévères surtout, une utilisation de collyres dit fortifiés est nécessaire. Ainsi, l'émergence d'infections oculaires de plus en plus sévères à germe résistant, a accentué le recours aux collyres fortifiés en ophtalmologie.

De ce fait, notre travail s'est penché sur les conditions pharmacologiques de préparations qu'il faudrait respecter lors de la formulation des collyres fortifiés de vancomycine, et leurs contrôles qualités.

L'étude a montré la stabilité d'une solution ophtalmique de vancomycine à 50mg/ml préparée avec du sérum salé isotonique et stocké dans une seringue en polypropylène au réfrigérateur (+4°C). La solution est stable pendant les 03 jours d'utilisation, suite à quoi un renouvellement de la solution sera nécessaire. Dans le cadre de la pratique hospitalière ou en ambulatoire, la conservation au réfrigérateur semble la plus adaptée avec une stabilité démontrée sur le plan physicochimique.

**Mots clés :** Collyre Fortifié, Vancomycine, HPLC, Stabilité Physicochimique.

## **Summary :**

Since antiquity, eye drops have been an essential therapeutic weapon for treating various ocular pathologies, in particular eye infections.

However, for certain infections, especially the most severe, the use of so-called fortified eye drops is necessary. Thus, the emergence of increasingly severe ocular infections with resistant germs has accentuated the use of fortified eye drops in ophthalmology.

As a result, our work has focused on the pharmacological conditions of preparations that should be respected when formulating eye drops fortified with vancomycin, and their quality controls.

The study showed the stability of an ophthalmic solution of vancomycin at 50mg/ml prepared with isotonic saline and stored in a polypropylene syringe in the refrigerator (+4°C). The solution is stable during the 03 days of use, after which a renewal of the solution will be necessary. In the context of hospital or outpatient practice, storage in the refrigerator seems the most suitable with proven physicochemical stability.

**Keywords:** Fortified Eye Drops, Vancomycin, HPLC, Physicochemical Stability.