

LES SPECTRES D'ANTHRACYCLINES PASSÉS AU CRIBLE

Chetritt Aurore, Malin Marie-Sara, Le Meur Lucie, Rigal Marthe, Falconieri Lorenzo, Jacolot Anne, Apparuit Maxime
Hôpital Avicenne, Unité des préparations cytotoxique et Laboratoire de Contrôle;

Introduction

L'identification de 4 molécules d'anthracyclines : Epirubicine (EPI), Daunorubicine (DAUNO), Doxorubicine (DOXO) et Idarubicine (IDA), est non spécifique par analyse au spectrophotomètre QCRx® (en UV - Raman) obligeant à un double contrôle d'identification visuelle du flacon, systématique. Afin d'améliorer ce contrôle, une analyse des spectres de ces molécules est menée en chromatographie liquide haute pression (HPLC) en fonction de la température et dérivation, dans l'objectif de vérifier si elles présentent des différences spectrales.

Objectifs



Réalisation d'une analyse des données spectrales des anthracyclines, en fonction de la température et dérivation des spectres

Matériel & Méthodes



Analyse des
anthracyclines

- Méthode Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP)
- Shimadzu Nexera X2®, détecteur UV-Vis (190-700nm)
- Injection direct
- Logiciel Labsolutions®



Elaboration d'une
bibliothèque
spécifique

- Librairie spectrale constitué de 8 échantillons par anthracyclines à concentration croissante
- à 3 températures différentes (Ambiante, 15°C et 10°C),
- À 3 dérivées (sans dérivée-SD, première dérivée-1D et seconde dérivée-2D).
- Echantillon dilué avec du NaCl 0,9%
- Produits utilisés :
 - Idarubicine 1mg/ml – PFIZER®
 - Epirubicine 2mg/ml – MEDAC®
 - Daunorubicine 5mg/ml – SANOFI®
 - Doxorubicine 2mg/ml – ACCORD®



Analyse des
spectres

- Analyse des spectres acquis entre 0,260 et 0,265min par similarité (lambda min/max) avec des variations dans la méthode (température) et des variations d'analyses.
- 6 identifications par échantillon analysé
- 6 scores de ressemblance



Analyse statistique

- Une identification différente de l'échantillon permet de calculer le taux d'erreur (TE) par molécule
- Les analyses statistiques sont réalisées sur Excel® et XLStat®.

Résultats

Les résultats sont présentés avec :

Les paramètres testés - Les résultats de l'identification de l'échantillon testé (6 résultats par échantillon) avec la bibliothèque spectrale
- Les résultats du score de ressemblance (%RESS) de l'échantillon avec les spectres de la bibliothèque spectrale

Température	Dérivé	DCI / Concentration / Fournisseur	ID 1	ID 2	ID 3	ID 4	ID 5	ID 6	RESS1	RESS2	RESS3	RESS4	RESS5	RESS6	V/F
214003	10°C	1ere DAUNO	Daunorubi	Epirubicine	Epirubicine	Daunorubi	Daunorubi	Epirubicine	0,981507	0,918226	0,916445	0,907475	0,878794	0,86202	VRAI
214003	15°C	1ere DAUNO	Daunorubi	Epirubicine	Daunorubi	Doxorubici	Daunorubi	Epirubicine	0,997396	0,992852	0,992091	0,98848	0,968584	0,963613	VRAI
214003	Ambiant	1ere DAUNO	Daunorubi	Epirubicine	Doxorubici	Epirubicine	Daunorubi	Doxorubici	0,991529	0,99042	0,989121	0,983833	0,967408	0,961839	VRAI
214003	10°C	2nd DAUNO	Daunorubi	Epirubicine	Daunorubi	Epirubicine	Daunorubi	Daunorubi	0,90643	0,724143	0,680598	0,580881	0,578759	0,468476	VRAI
214003	15°C	2nd DAUNO	Daunorubi	Epirubicine	Doxorubici	Epirubicine	Doxorubici	Epirubicine	0,990112	0,975115	0,954424	0,949975	0,936335	0,93614	VRAI
214003	Ambiant	2nd DAUNO	Daunorubi	Doxorubici	Epirubicine	Epirubicine	Epirubicine	Doxorubici	0,976873	0,905327	0,891876	0,887261	0,879315	0,878928	VRAI
214003	Ambiant	Sans dérivée DAUNO	Daunorubi	Epirubicine	Doxorubici	Daunorubi	Epirubicine	Daunorubi	0,998891	0,998339	0,997917	0,997736	0,997654	0,997255	VRAI
214003	15°C	Sans dérivée DAUNO	Daunorubi	Doxorubici	Daunorubi	Epirubicine	Daunorubi	Epirubicine	0,999518	0,998788	0,9983	0,998075	0,997852	0,997779	VRAI
214003	10°C	Sans dérivée DAUNO	Daunorubi	Epirubicine	Doxorubici	Doxorubici	Epirubicine	Daunorubi	0,999078	0,988318	0,987384	0,987192	0,986849	0,986677	VRAI

→ 47 échantillons (DOXO=14, EPI = 14, DAUNO=8, IDA=7) ont été analysés pour un total de 383 données spectrales

Les TE par DCI, toutes températures et dérivées confondues, obtenus sont :

	DOXO	EPI	DAUNO	IDA
VRAI	107	73	46	60
FAUX	30	49	17	3
TOTAL	137	122	63	63
TE (%)	22%	40%	27%	5%

Seul l'IDA présente des TE à 0%
notamment à température ambiante et +15°C, quelque soit la dérivée

→ Analyse complémentaire pour l'IDA :

Un test de comparaison de moyenne des scores de ressemblance (score de 1^{er}%RESS conforme=IDA vs score de 2^{ème}%RESS non conforme= non IDA) a permis de mettre en évidence une différence significative entre le 1^{er}% et le 2^{ème}%

Différence	0,369
t (Valeur observée)	13,102
t (Valeur critique)	1,980
ddl	118
p-value (bilatérale)	<0,0001
alpha	0,05

Un ANOVA sur mesures répétées des données de scores de ressemblance 1^{er}%RESS conforme=IDA vs 2^{ème}%RESS non conforme= non IDA a permis de mettre en évidence une différence plus marquée pour les spectres de 1D et 2D entre les deux scores :

Dérivé*Reco / Tukey (HSD) / Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95% :					
Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur Critiq	Pr > Diff	Significatif
Dérivé-2nd*Reco-1R vs Dérivé-2nd*Reco-2R	0,568	312,022	2,936	< 0,0001	Oui
Dérivé-1ere*Reco-1R vs Dérivé-1ere*Reco-2R	0,460	253,076	2,936	< 0,0001	Oui
Dérivé-Sans dérivé*Reco-1R vs Dérivé-Sans dérivé*Reco-2R	0,057	31,212	2,936	< 0,0001	Oui

Les TE, en fonction de la température et de la dérivée des spectres, obtenues sont :

Dérivé	SD	1D	2D
VRAI	88	100	100
FAUX	39	28	28
TOTAL	127	128	128
TE (%)	31%	22%	22%

Test du Khi² négatif. Pas
différence significative entre les
différentes proportions = pas
d'impact de la dérivée sur le TE

Température	Amb SD	15° SD	10° SD
VRAI	33	30	25
FAUX	13	11	15
TOTAL	46	41	40
TE (%)	28%	27%	38%

Test du Khi² négatif
(p-value = 0,526)

Pas
différence
significative
entre les
différentes
proportions =
pas d'impact
de la
température
sur le TE

Température	Amb 1D	15° 1D	10° 1D
VRAI	35	32	33
FAUX	11	9	8
TOTAL	46	41	41
TE (%)	24%	22%	20%

Test du Khi² négatif
(p-value = 0,884)

Température	Amb 2D	15° 2D	10° 2D
VRAI	33	34	33
FAUX	13	7	8
TOTAL	46	41	41
TE (%)	28%	17%	20%

Test du Khi² négatif
(p-value = 0,410)

Discussion & Conclusion



L'analyse des données spectrales en HPLC des anthracyclines a permis de montrer un TE et une analyse statistique significative uniquement pour IDA, qui permettrait de s'affranchir d'un contrôle visuel du flacon.
→ difficile d'extrapoler les résultats à la méthode de contrôle utilisée en routine et une analyse complémentaire devra être menée.