



## Étude de stabilité d'un collyre à 6 mg/mL de ticarcilline

*Stability of a 6 mg/mL ticarcillin ophthalmic solution*

GALVEZ Olivier<sup>1</sup>,  
MULLOT Jean-Ulrich<sup>2</sup>,  
MULLOT Hélène<sup>3</sup>,  
SIMON Laurent<sup>4</sup>,  
GRIPPI Raphaël<sup>1</sup>,  
PAYEN Catherine<sup>1</sup>,  
BONNEAU Dominique<sup>5</sup>,  
HUART Bruno<sup>6</sup>,  
GENTES Patrick<sup>7</sup>

1. Docteur en Pharmacie, Hôpital d'Instruction des Armées du Val de Grâce, Paris, France.

2. Docteur en Pharmacie, pharmacien ingénieur, Institut de Médecine Aéronautique du Service de Santé des Armées, Brétigny sur Orge, France.

3. Docteur en Pharmacie, Hôpital d'Instruction des Armées Bégin, Saint Mandé, France.

4. Docteur en Pharmacie, Hôpital d'Instruction des Armées Percy, Clamart, France.

5. Technicien de laboratoire, Institut de Médecine Aéronautique du Service de Santé des Armées, Brétigny sur Orge, France.

6. Docteur en pharmacie, chef du Service de Toxicologie, Environnementale et Chimie Analytique, Institut de Médecine Aéronautique du Service de Santé des Armées, Brétigny sur Orge, France.

7. Docteur en pharmacie, chef de service, Hôpital d'Instruction des Armées du Val de Grâce, Paris, France.

Auteur correspondant :  
GALVEZ Olivier,  
Hôpital d'Instruction des Armées  
Legouest,  
service pharmacie,  
27 Avenue de Plantières  
57998 Metz Armées.

oliviergalvez@yahoo.fr

Article reçu le 05/07/06

Accepté le 08/06/07

### Résumé

**Objectif** : La dégradation de la ticarcilline limite la durée de conservation des collyres à 6 mg/mL, en solution dans du chlorure de sodium à 0,9 %. L'objectif de cette étude est de déterminer la stabilité avant ouverture des ces solutions afin de définir la durée de conservation à adopter. **Méthodes** : Différents paramètres ont été étudiés : pH, osmolarité, limpidité, concentration en ticarcilline (dosage par chromatographie liquide haute performance), stérilité. Les collyres ont été conservés à + 4 °C et à + 21 °C, à l'abri de la lumière. **Résultats** : Les collyres à 6 mg/mL 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 de 17 jours ainsi qu'au bout de 3 jours à + 21 °C. **Discussion** : Avec un intervalle de confiance relatif à 95 % de  $\pm 5$  % à + 4 °C et avant ouverture, les collyres de ticarcilline à 6 mg/mL restent stables pendant 16 jours et pendant 3 jours à + 21 °C. **Conclusion** : Les collyres de ticarcilline peuvent donc être préparés à l'avance pour une utilisation en urgence la nuit ou les week-ends. Du fait de l'absence de conservateur et afin de conserver une activité antibactérienne satisfaisante nous recommandons une conservation à + 4 °C.

**Mots-clés** : Collyre, Ticarcilline disodique, Stabilité, Chromatographie liquide haute performance.

### Summary

**Objective**: Degradation of ticarcillin limits the shelf life of 6 mg/mL ophthalmic solutions diluted in 0.9% sodium chloride. The aim of this study is to determine the duration of stability of these ophthalmic solutions, before use, in order to set their shelf life. **Methods**: Various parameters were studied: pH, osmolarity, limpidity, ticarcillin concentration (determined by high performance liquid chromatography), sterility. Ophthalmic solutions were stored at +4 °C and at +21 °C, with protection from light. **Results**: 6 mg/ml ticarcillin ophthalmic solutions remained physically stable and sterile up to 21 days. When vials were stored at +4 °C, ticarcillin concentration remained superior to 90% after 17 days but only 3 days at +21 °C. **Discussion**: Ticarcillin ophthalmic solutions when diluted and stored in glass vials, if they are not opened, can be used up to 16 days when kept at +4 °C and three days at +21 °C, with

95% confidence. **Conclusion:** Ticarcillin ophthalmic solutions can be manufactured in advance for a utilisation in emergencies during the night or off duty days. We recommend that such solutions should be stored at +4 °C because they do not contain preservatives in order to maintain a satisfactory degree of activity.

**Key-words:** Eye-drop, Ticarcillin disodium, Stability, High performance liquid chromatography.

## INTRODUCTION

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 (*Proteus*, *Serratia marcescens*), avec notamment une bonne activité sur *Pseudomonas aeruginosa*. Les infections de la cornée sont une des causes majeures de morbidité oculaire et de cécité à travers le monde, la nature et la sensibilité des bactéries responsables des kératites microbiennes varient en fonction de l'origine géographique [1]. En cas d'infection grave ou afin d'augmenter la pénétration des antibiotiques, des collyres à forte concentration, appelés collyres « fortifiés » peuvent être utilisés [2]. Ces derniers ne sont pas disponibles sur le marché malgré le vaste choix de spécialités pharmaceutiques ophtalmologiques. La réalisation de collyres à base de ticarcilline à 6 mg/mL est donc parfois nécessaire pour le traitement des kératites bactériennes ou des ulcères cornéens [3].

Le service de pharmacie à usage intérieur réalise actuellement un collyre à base de ticarcilline disodique<sup>1</sup> à 6 mg/mL sur prescription des praticiens du service d'ophtalmologie. Son statut est celui d'une préparation hospitalière, une déclaration à l'Afssaps est fixée par arrêté [4].

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. Il n'existe pas à notre connaissance de données de la littérature concernant la pertinence clinique d'une concentration particulière des collyres à base de ticarcilline.

L'objectif de ce travail est de déterminer la stabilité physico-chimique et le maintien de la stérilité du collyre non ouvert à + 4 °C et à + 21 °C, afin de définir la durée de conservation à adopter et pouvoir ainsi disposer d'un stock utilisable en urgence la nuit ou les week-ends. Différentes études ont été réalisées sur la stabilité de la ticarcilline mais aucune avec les mêmes contenants, solvants de reconstitution, de dilution, concentration ou conditions de conservation [5-10]. Blondeel *et al.* [11] ont réalisé

l'étude d'un collyre ouvert à 5 mg/mL de ticarcilline. Lynn rapporte qu'une concentration élevée en ticarcilline peut entraîner la polymérisation des bêtalactamines avec une activité immunologique du polymère formé [12]. Une étude de stabilité de notre collyre à 6 mg/mL avant utilisation est donc nécessaire et vient en complément des travaux précédemment réalisés.

## MATÉRIELS ET MÉTHODES

### Préparation des collyres et conditions de conservation

Les collyres de ticarcilline à 6 mg/mL ont été reconstitués selon les bonnes pratiques applicables à l'hôpital [13, 14]. La dissolution de la ticarcilline a été réalisée de manière aseptique sous hotte à flux d'air laminaire avec 20 mL d'eau pour préparations injectables (Pharmacie Centrale des Armées). La solution à 50 mg/mL obtenue a été diluée au 1:10 dans du chlorure de sodium 0,9 % (Aguettant) afin d'obtenir un collyre le plus isotonique possible aux larmes et de concentration finale à 6 mg/mL. La solution de ticarcilline (1,2 mL) puis le chlorure de sodium 0,9 % (8,8 mL) ont été introduits à travers un filtre Millex® (diamètre de pores de 0,22 µm, Millipore) dans un flacon de verre (Prince Emballage) qui a constitué le conditionnement du collyre (verre de type II). Un compte gouttes stérile a été ensuite placé sur le flacon (Prince Emballage).

Pour une condition de conservation donnée, la taille minimale de l'échantillon pour avoir des résultats statistiquement significatifs, a été déterminée à dix collyres [15]. Au total, 48 collyres à 6 mg/mL de ticarcilline ont été préparés. Vingt échantillons ont été réalisés pour la mesure de pH et d'osmolarité, dix ont été conservés à + 4 °C et dix à + 21 °C. Vingt échantillons ont été préparés pour les dosages de ticarcilline, dix ont été conservés à + 4 °C et dix à + 21 °C, huit échantillons pour le contrôle du maintien de la stérilité [16]. Tous les échantillons ont été conservés à l'abri de la lumière. La plage de tolérance des temps d'entreposage était de plus ou moins 30 minutes.

Le collyre n'est utilisable que pour une concentration en ticarcilline supérieure à 90 % de la concentration initiale [17] et si la limite inférieure de l'intervalle de confiance à 95 % est supérieure à 90 %.

1. Ticarpen®, GlaxoSmithKline.



## Stabilité physico-chimique : limpidité, pH, osmolarité

Le jour de la préparation et le dernier jour de l'étude ont été réalisés :

- l'observation des collyres à l'œil nu, sur fond noir en éclairage latéral par rapport à une solution aqueuse, afin de détecter toute modification de couleur, voire l'apparition de cristaux ;
- la mesure du pH a été effectuée sur un pH-mètre Accumet OSI model 20 calibré chaque jour d'analyse avec des solutions tampons à pH 4,0 et pH 7,5 à + 25 °C, sur les collyres ramenés à température ambiante ;
- la mesure de l'osmolarité a été réalisée à l'aide d'un osmomètre Advanced Instruments Model 3D3. La calibration a été réalisée quotidiennement avec des solutions à 50 et 850 mOsm/kg.

## Dosage de la ticarcilline par Chromatographie Liquide Haute Performance

La concentration en ticarcilline a été déterminée par chromatographie liquide haute performance (CLHP).

### Appareillage et conditions chromatographiques

Le système chromatographique comprenait : une chaîne CLHP Alliance Waters 2695 avec une colonne Nucléosil® C18 120 Å, 5 µm, 250 x 4,6 mm, un détecteur spectrophotométrique Jasco UV 975 opérant à une longueur d'onde de 230 nm ainsi qu'un logiciel de traitement informatisé du signal.

La phase mobile utilisée était constituée d'un mélange méthanol tampon phosphate d'ammonium (10 mM, pH 7), 50 % - 50 % (v/v) constituant le solvant A et du même tampon de phosphate d'ammonium constituant le solvant B.

La séparation chromatographique a été réalisée en mode gradient de la façon suivante : 0 minute : 100 % solvant B ; 20 minutes : 55 % de solvant A et 45 % de solvant B ; 25 minutes : 45 % de solvant A et 55 % de solvant B. Le débit était de 0,8 mL/min, le volume injecté de 10 µL, la température de la colonne de 28 °C.

L'absence d'interférence avec les produits de dégradation a été vérifiée d'une part après traitement d'un collyre à 6 mg/mL par de l'acide chlorhydrique 0,1 N et d'autre part par de l'hydroxyde de sodium 0,1 N puis 12 heures au bain-marie à + 50 °C. Les pénicillines sont en effet sensibles à la dégradation acide et basique, qui provoque l'ouverture de la chaîne β-lactame [18]. Les produits de dégradation obtenus avaient des temps de rétention différents de celui de la ticarcilline et n'ont pas interféré. De plus, la surface des pics de ticarcilline est devenue nulle, et donc aucun produit de dégradation ne pouvait se trouver

dissimulé derrière ceux-ci. Le polymère de ticarcilline n'a pas été recherché spécifiquement.

### Réactifs

Tous les réactifs utilisés étaient de qualité chromatographique. Le méthanol, l'acide chlorhydrique et l'hydroxyde de sodium provenaient du laboratoire SDS®, le phosphate d'ammonium monobasique du laboratoire Sigma®, l'acide orthophosphorique du laboratoire Fischer Scientific®.

### Validation de la méthode de dosage de la ticarcilline

La méthode a été validée par le service de toxicologie environnementale et chimie analytique (STECA) de l'Institut de Médecine Aéronautique du Service de Santé des Armées, selon un protocole inspiré de la norme AFNOR XP T 90-210 [19] (selon le plan A, C, D, le plan B qui recherche les effets de matrice, n'a pas été testé puisque la gamme d'étalonnage a été réalisée dans la matrice).

### Gamme d'étalonnage

Les points de la gamme étalon ont été réalisés chaque jour de l'étude, avec de la ticarcilline sodique SCR Pharmacopée Européenne afin d'être certain de l'identification du produit et de la mise au point de la méthode. Les solutions mères de ticarcilline ont été obtenues en pesant la quantité souhaitée dans une solution de chlorure de sodium 0,9 % (5, 6, 7, 8, 9 mg/mL de ticarcilline [20]). Les solutions filles ont été préparées par dilution (1 %) des solutions mères dans le tampon phosphate d'ammonium à pH 7.

### Précision

La répétabilité a été testée sur les concentrations : 1 ; 2 ; 3 ; 3,8 ; 4,97 ; 5,95 ; 6,99 ; 7,93 ; 8,99 ; 10,02 mg/mL. Chaque échantillon a été analysé trois fois. La précision intermédiaire a été testée à trois niveaux de concentration 5, 7, 9 mg/mL avec trois répétitions chacun pendant dix jours [20].

### Traitement des données et calcul statistique

Chaque échantillon a été analysé trois fois chaque jour d'analyse. Les concentrations en ticarcilline ont été exprimées en pourcentage de la concentration initiale, la concentration à J0 correspondant à 100 %.

L'incertitude associée à la détermination d'une concentration proche de 6 mg/mL a été déterminée à partir des données de validation de la méthode (essai de répétabilité pendant dix jours). L'écart-type relatif de répétabilité sur la gamme 5-7 mg/mL valait au maximum 1,4 % (9 d.d.l.) soit un intervalle de confiance relatif à 95 % de [- 3,2 % ; + 3,2 %]. Pour la détermination des ratios (concentration

à un jour donné/concentration initiale), il convient de comptabiliser deux fois cette incertitude puisque ces derniers correspondent à deux mesures de concentration différentes, soit un écart type relatif de 2 % (racine carrée ( $2$ )  $\times$  1,4 % - 9 d.d.l.) et un intervalle de confiance relatif à 95 % de [- 4,5 % ; + 4,5 %]. Cette valeur a été arrondie à 5 %.

### Contrôle de la stérilité

La stérilité a été évaluée conformément à la monographie de la Pharmacopée Européenne 5<sup>e</sup> édition par filtration sur membrane [16]. Les dix mL de chaque échantillon ont été filtrés sur des membranes de porosité de 0,45  $\mu$ m (Millipore). Chaque membrane a été rincée trois fois avec dix mL d'eau distillée stérile afin d'éliminer la ticarcilline.

Les membranes ont été ensuite transférées sur un milieu Sabouraud ou sur un milieu trypticase soja, et incubées respectivement à 20-25 °C et 30-35 °C. Les géloses ont été examinées quotidiennement pendant 14 jours.

## RESULTATS

### Stabilité physico-chimique : limpidité, pH, osmolarité

Le jour de la préparation à Jo, le pH moyen était de 5,5 et l'osmolarité moyenne de 295 mOsm/kg. Les collyres étaient tous limpides et incolores. Ils sont restés limpides pendant 21 jours à température ambiante et à + 4 °C sur les 20 échantillons réalisés.

Pendant la durée de l'étude, le pH des collyres conservés à + 4 °C a diminué au maximum de 0,3 unités. A température ambiante il a diminué au maximum de 0,2 unités. L'osmolarité est restée stable pendant toute la durée de l'étude :  $295 \pm 3$  mOsm/kg à + 4 °C et  $296 \pm 5$  mOsm/kg à + 21 °C (moyenne  $\pm$  écart type).

### Validation de la méthode de dosage de la ticarcilline

Les pics des isomères de position de la ticarcilline [21, 22], et ceux des impuretés étaient bien résolus. La ligne de base était stable. Les temps de rétention des épimères de la ticarcilline étaient de 14,5 et 15,3 minutes (figure 1). La méthode était linéaire dans l'intervalle de concentration étudié, de 1 à 10 mg/mL. La limite de détection était de 0,08 mg/mL. La précision intermédiaire était satisfaisante puisque le coefficient de variation était inférieur à 1 % pour toutes les concentrations testées (trois répétitions par jour pendant dix jours). Une représentation de la droite d'étalonnage a été jointe en figure 2.

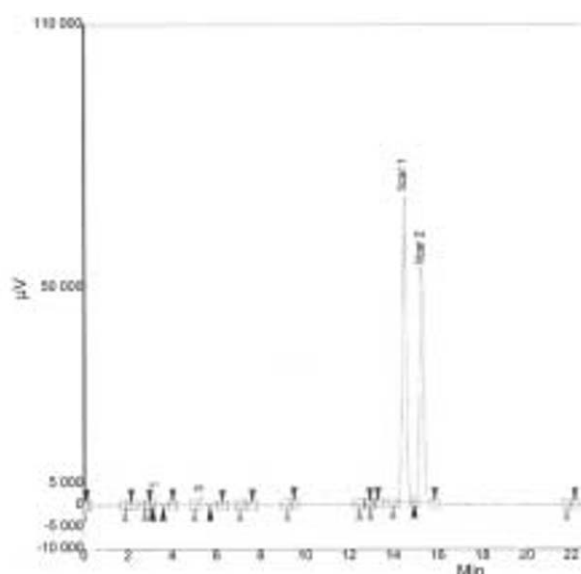


Figure 1. Chromatogramme d'un collyre à Jo. Les pics indiqués par ticar 1 et ticar 2 représentent chaque épimère de la ticarcilline.

Figure 1. Chromatogram of an eye drops at Jo. Peaks indicated by ticar 1 and ticar 2 represent each of the ticarcillin epimers.

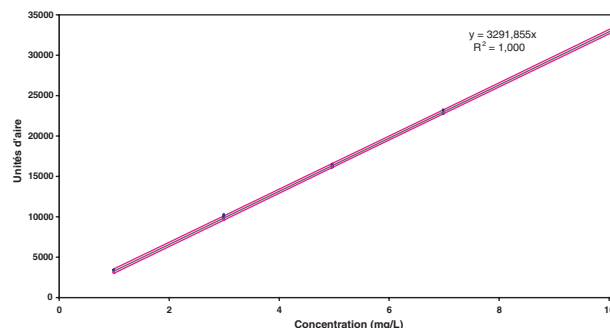


Figure 2. Droite d'étalonnage et limites de l'intervalle de confiance à 95 %.

Figure 2. Calibration curve and limits with 95% confidence.

### Stabilité de la ticarcilline

L'évolution de la concentration en ticarcilline exprimée en pourcentage par rapport à la concentration initiale a été représentée dans le tableau I. Les produits de dégradation de la ticarcilline apparaissant au bout de 17 jours ont été présentés figure 3. Ils n'ont pas été identifiés ou quantifiés en raison de l'absence de témoin. Seule une analyse qualitative a été réalisée.

### Contrôle de la stérilité

Les collyres non ouverts sont restés stériles pendant 21 jours ; aucune contamination n'est intervenue lors de la conservation.

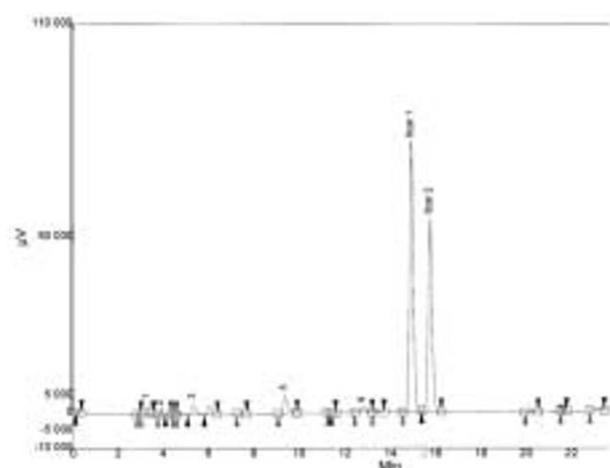


Jours	+ 4 °C <sup>a</sup>	Limite inférieure de l'intervalle de confiance à 95 %	Température ambiante <sup>a</sup>	Limite inférieure de l'intervalle de confiance à 95 %
J0	100 ± 1 (6,32 <sup>b</sup> mg/mL)	95	100 ± 1 (6,27 <sup>b</sup> mg/mL)	95
J3	99,5 ± 1	94,5	99,2 ± 1	94
J4	98,8 ± 1	93,8	90 ± 1	85,5
J5	97,7 ± 1	92,7	86,5 ± 1	82,1
J7	96,5 ± 1	91,7	78,1 ± 1	
J10	95,7 ± 1	90,9	71,6 ± 1	
J14	95,3 ± 1	90,5	67,3 ± 1	
J16	94,8 ± 1	90,4	66,2 ± 1	
J17	91,1 ± 1	86,5	61,4 ± 1	
J18	89,4 ± 1		59,3 ± 1	
J21	87,9 ± 1		54,9 ± 1	

<sup>a</sup> Les données représentent la moyenne des dix mesures ± l'écart type.  
<sup>b</sup> Concentration mesurée à J0 (prise pour le 100 %).

**Tableau I.** Concentration en ticarcilline exprimée en pourcentage par rapport à la concentration initiale.

**Table I.** Percentage of initial ticarcillin concentration.



**Figure 3.** Chromatogramme d'un collyre à J17. Les pics indiqués par ticar 1 et ticar 2 représentent chaque épimère de la ticarcilline.

**Figure 3.** Chromatogram of an eye drops at J17. Peaks indicated by ticar 1 and ticar 2 represent each of the ticarcillin epimers.

## DISCUSSION

Pour une tolérance ophtalmique optimale, le pH d'un collyre doit se situer entre 6,4 et 9,6. Le film lacrymal exerce cependant un pouvoir tampon qui permet de ramener à une valeur de pH tolérable les solutions de pH comprises entre 3,5 et 10,5 [2]. L'osmolarité est restée stable, comprise dans l'intervalle de tolérance ophtalmique : 225 à 482 mOsm/kg [23]. Tous les collyres sont restés limpides, aucune précipitation n'est apparue et tous sont restés stériles pendant les 21 jours de l'étude. Le conditionnement permet donc de maintenir la stérilité.

Les principaux produits de dégradation de la ticarcilline sont les acides pénicilloïques et acides pénilloïques de ticarcilline, inactifs et non toxiques. La nature des autres produits de dégradation ainsi que leur toxicité éventuelle n'est pas décrite dans la littérature. Leur dosage n'a pu être réalisé en raison de l'absence d'étalon et de l'absence de donnée sur leur nature (secret industriel).

La stabilité avant utilisation a été définie pour une concentration en ticarcilline supérieure à 90 % de la concentration initiale. Compte tenu de l'intervalle de confiance à 95 % précédemment déterminé, la stabilité des collyres de ticarcilline à 6 mg/mL, en flacons de verre de type II, est de 16 jours à + 4 °C et 3 jours à + 21 °C.

Les études de stabilité réalisées précédemment [5-10] concernent la ticarcilline utilisée par voie parentérale, à des concentrations différentes de la nôtre, dont les données de stabilité ne sont pas extrapolables à notre utilisation, celle-ci pouvant varier avec la concentration.

A + 4 °C la durée de stabilité rapportée par Blondeel *et al.* [11] pour un collyre ouvert (deux fois par jour) à 5 mg/mL de ticarcilline préparé d'une manière identique au nôtre est de 7 jours. L'ouverture du collyre dans leur étude, accélérant probablement la dégradation de ce dernier, pourrait expliquer la différence de stabilité retrouvée dans notre étude. Cependant, le type de verre utilisé par ces auteurs n'est pas précisé et pourrait également avoir une influence sur la stabilité physico-chimique du produit.

Ces mêmes auteurs [11] ont montré une stabilité de 3 jours à + 25 °C. Nos résultats viennent donc en complément de ces derniers et montrent que ces différences de concentration (5 ou 6 mg/mL), et conditions

de conservation (collyre ouvert à + 25 °C et non ouvert à + 21 °C) ne modifient pas la durée de stabilité à température ambiante, la teneur en ticarcilline restant supérieure à 90 % de la concentration initiale au bout de 3 jours. Il convient de remarquer que dans la pratique clinique les administrations de collyre à base de ticarcilline peuvent être réalisées de quatre fois par jour à une fois par heure, ce qui modifierait encore la durée de stabilité.

Dans cette étude préliminaire, la stabilité des collyres ouverts n'a pas été réalisée, une étude complémentaire devra cependant être menée en prenant en compte le mieux possible la réalité de la pratique clinique.

Du fait de l'absence de conservateur, et afin de conserver une activité microbiologique satisfaisante nous recommandons une conservation à + 4 °C [24].

## CONCLUSION

Les collyres à base de ticarcilline peuvent donc être préparés à l'avance de manière à toujours disposer d'un stock d'urgence pour la nuit ou les week-ends, et permettre l'instauration immédiate d'un traitement. La préparation peut ainsi être qualifiée de préparation hospitalière avec les conséquences réglementaires que ce statut entraîne.

## RÉFÉRENCES

1. Fong CF, Tseng CH, Hu FR, Wang IJ, Chen WL, Hou YC. Clinical characteristics of microbial keratitis in a university hospital in Taiwan. *Am J Ophthalmol* 2004 ; 137 : 329-36.
2. Anonyme. Produits en ophtalmologie. Dossier du CNIMH, 1993 ; 14 (2-3) : 92.
3. Steinert RF. Current therapy for bacterial keratitis and bacterial conjunctivitis. *Am J Ophthalmol* 1991 ; 112 (4 Suppl) : 10S-14S.
4. Arrêté du 29 décembre 2003 fixant le contenu du dossier de déclaration des préparations hospitalières prévues à l'article L.5121-2 (2°) du code de la santé publique. *Journal Officiel* du 24 janvier 2004 (20) : 1809.
5. Nicholas E, Hess G, Colten HR. Degradation of penicillin, ticarcillin and carbenicillin resulting from storage of unit doses. *N Engl J Med* 1982 ; 306 (9) : 547-8.
6. Young D, Fadiran EO, Chang KT, Sagraves R, Forrester L. Stability of ticarcillin disodium in polypropylene syringes. *Am J Health-Syst Pharm* 1995 ; 52 (8) : 890-2.
7. Zhang Y, Trissel LA. Stability of piperacillin and ticarcillin in AutoDose infusion system bags. *Ann Pharmacother* 2001 ; 35 (11) : 1360-3.
8. Das Gupta V, Stewart KR. Stability of metronidazole and ten antibiotics when mixed with magnesium sulfate solutions. *J Clin Hosp Pharm* 1985 ; 10 : 67-2.
9. Holmes CJ, Ausman RK, Kudsins RB, Walter CW. Effect of freezing and microwave thawing on the stability of six antibiotic admixtures in plastic bags. *Am J Hosp Pharm* 1982 ; 39 (1) : 104-8.
10. Trissel LA. Handbook on injectable drugs 13th edition. Houston, USA: American Society of Health-System Pharmacists, 2003 : 1304-10.
11. Blondeel S, Pelloquin A, Pointereau-Bellanger A, Thuillier A, Fernandez C. Effect of freezing on stability of fortified 5 mg/mL ticarcillin ophthalmic solution. *Can J Hosp Pharm* 2005 ; 58 (2) : 65-70.
12. Lynn B. Ticarcillin: Stability and compatibility studies. *Progress in chemotherapy : Proceedings of the 8th International Congress of Chemotherapy, Athens 1974* ; 2 : 127-30.
13. Arrêté du 22 juin 2001 relatif aux bonnes pratiques de pharmacie hospitalière. *Journal Officiel* du 3 juillet 2001 (152) : 10612.
14. Bonnes pratiques de préparation à l'hôpital. Saint Denis, France : Agence Française de Sécurité Sanitaire des produits de Santé. Projet 15 juillet 2002.
15. Souvay P. Statistique et qualité études de cas. Paris, France : AFNOR, 1994 : 6-7.
16. Pharmacopée Européenne V<sup>e</sup> édition. Strasbourg, France : Direction Européenne de la Qualité du Médicament, Conseil de l'Europe, 2005 : 153-7.
17. Fleury J. Les études de stabilité. Introduction à l'usage des méthodes statistiques en pharmacie. Genève, Suisse : Médecine et Hygiène, 1987 : 68-9.
18. Deshpande AD, Baheti KG, Chatterjee NR. Degradation of  $\beta$ -lactams antibiotiques. *Curr Sci* 2004 ; 87 (12) : 1684-95.
19. Norme AFNOR XPT 90-210.
20. Directives tripartites harmonisées de la CIH. Validation des méthodes d'analyse : méthodologie. Disponible sur le site [www.hc-sc.gc.ca](http://www.hc-sc.gc.ca) : consulté le 1<sup>er</sup> mars 2005.
21. Haginaka J, Wakai J. Liquid chromatographic determination of penicillins by postcolumn degradation with sodium hypochlorite. *Anal Chem* 1986 ; 58 (8) : 1896-8.
22. Shull VH, Dick JD. Determination of ticarcillin levels in serum by high-pressure liquid chromatography. *Antimicrob Agents Chemother* 1985 ; 28 (5) : 597-600.
23. Achach K, Peroux X. Solutions ophtalmiques antibiotiques : étude de stabilité. *J Pharm Clin* 1999 ; 18 (1) : 65-6.
24. Lynn B. The stability and administration of intravenous penicillins. *Br J Intravenous Therapy* 1981 ; 3 : 1-8.