

COMPATIBILITÉ PHYSICO-CHIMIQUE DU MÉLANGE LIDOCAÏNE 1%/KÉTOPROFÈNE.

S. Boisgard¹, A. Claeys², B. Collard³, A. Eschalier^{4*},
S. Lille⁵, S. Malige⁶, J. Pascal³, A. Pinet⁷, J. Pinguet⁴,

D. Richard^{4**}, K. Robert⁶, Ch. Tarbouriech⁸.

¹ PU-PH, Service d'orthopédie-traumatologie, CHU de Clermont-Ferrand (63), France.

² Généraliste, Chappes (63), France.

³ Internes de médecine générale des hôpitaux d'Auvergne, France.

⁴ Laboratoire de Pharmacologie et Toxicologie du CHU de Clermont-Ferrand (63), France.

* PU-PH, Chef de Service

**PH

⁵ Assistant, Urgences-SMUR, CH de Montluçon (03), France.

⁶ Médecins généralistes remplaçants sur la région Auvergne, France.

⁷ Généraliste, Le Cheylard (07), France.

⁸ Anesthésiste-Réanimateur remplaçante, Beaumont (63), France.

MOTS-CLÉS

kétoprofène, lidocaïne, mésothérapie, mélange, stabilité physico-chimique, genou, arthrose, douleur.

ABSTRACT

Physicochemical compatibility of the lidocaine 1%/ketoprofen mixture

Introduction. The lidocaine/ketoprofen mixture is frequently used in mesotherapy, in the symptomatic treatment of the arthrosic pathology of the knee. Its analgesic, anti-inflammatory and vasomotric combined action is well-known by mesotherapy practitioners. The objective of our study was to evaluate the physicochemical stability of the active ingredients of these two molecules in the mixture prepared before injection. **Method.** Experimental pharmacological study, led into the university hospital of Clermont-Ferrand. The degradation of these 2 molecules, exposed to the air and the light, at ambient temperature, were studied separately and mixed, to 5, 10, 30, and 180 minutes, by high performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry. **Results.** After opening of the bulb, ketoprofen was degraded up to 24% after 5 minutes. Its degradation was stable thereafter (79% of active product remaining at 180 minutes). The lidocaine was less quickly degraded (89% of remaining product at 5 minutes and 80% to 180 minutes). Within the mixture, ketoprofen seemed to be more stable: 94% to 5 and 10 minutes, 87% to 30 minutes. The kinetics of degradation of the lidocaine was not modified: 88% to 5 minutes, 85% to 10 minutes. The products were less stable over the length within the mixture: 72% to 180 minutes for the lidocaine, 75% for ketoprofen. **Conclusion.** The ketoprofen/lidocaine association has a good physicochemical compatibility, justifying its current use in mesotherapy in arthrosic pa-

thology of the knee.

RÉSUMÉ

Introduction. Le mélange lidocaïne/kétoprofène est fréquemment utilisé en mésothérapie, dans le traitement symptomatique de la pathologie arthrosique du genou. Son action combinée antalgique, anti-inflammatoire et vasomotrice est bien connue des mésothérapeutes. L'objectif de notre étude était d'évaluer la stabilité physico-chimique des principes actifs de ces deux molécules dans le mélange préparé avant injection. **Méthode.** Etude expérimentale, pharmacologique, menée au CHU de Clermont-Ferrand. La dégradation de ces 2 molécules, exposées à l'air et à la lumière, à température ambiante, ont été étudiées séparément et mélangées, à 5, 10, 30, et 180 minutes, par chromatographie en phase aqueuse à haute performance couplée à un spectromètre de masse. **Résultats.** Après ouverture de l'ampoule, le kétoprofène a été dégradé à 24% après 5 minutes. Sa dégradation était stable, en plateau, par la suite (79% de produit actif restant à 180 minutes). La lidocaïne était moins rapidement dégradée (89% de produit restant à 5 minutes et 80% à 180 minutes). Au sein du mélange, le kétoprofène semblait plus stable : 94% dosé à 5 et 10 minutes, 87% à 30 minutes. La cinétique de dégradation de la lidocaïne était peu modifiée : 88% dosé à 5 minutes, 85 % à 10 minutes. Les produits étaient moins stables sur la durée, au sein du mélange : 72 % à 180 minutes pour la lidocaïne, 75 % pour le kétoprofène. **Conclusion.** La dégradation des produits actifs étudiés étant moins rapide au sein du mélange que dosés séparément (jusqu'à 30 minutes après préparation), l'association kétoprofène/lidocaïne présente une compatibilité physico-chimique satisfaisante, justifiant son utilisation courante en mésothérapie dans la patho-

logie arthrosique du genou.

INTRODUCTION

La mésothérapie est une allopathie injectable par voie intradermique ou sous-cutanée, locorégionale, polyvalente et micro-dosée; soit «peu, rarement et au bon endroit» (Pistor M. [1]). C'est une technique qui rapproche l'injection des produits pharmaceutiques du lieu de la douleur et permet d'utiliser les propriétés pharmacocinétiques spécifiques de la voie cutanée. Les médicaments ainsi utilisés atteignent leur cible thérapeutique rapidement, en concentration efficace, tout en évitant un passage massif dans la circulation systémique et une dégradation plasmatique, digestive ou hépatique. La mésothérapie est proposée comme alternative dans le traitement antalgique de la pathologie arthrosique du genou (gonarthrose fémoro-tibiale interne, syndrome fémoro-patellaire, etc.). Le mélange de chlorhydrate de lidocaïne, anesthésiant local, et de kétoprofène, anti-inflammatoire non stéroïdien (AINS), est couramment utilisé dans cette indication par voie intradermique profonde (IDP).

Rappels anatomiques sur l'articulation fémoro-tibiale

[2-4]. L'articulation fémoro-tibiale est une articulation synoviale bicondylienne qui constitue le genou avec l'articulation fémoro-patellaire. Elle est formée de deux pièces osseuses : le fémur et le tibia. Les surfaces articulaires (condyles fémoraux et tibiaux) sont recouvertes de cartilage hyalin facilitant les glissements. Deux ménisques sont interposés entre les pièces osseuses pour augmenter la congruence articulaire. La membrane synoviale est commune avec l'articulation fémoro-patellaire et possède un volumineux récessus supérieur nommé cul de sac sous-quadricipital. Les moyens d'unions stabilisant l'articulation sont constitués de la capsule articulaire, des coques condyliennes (renforts fibreux postérieurs de la capsule articulaire), des ligaments collatéraux (collatéral médial et latéral) et des ligaments croisés antérieurs et postérieurs. L'appareil extenseur constitué du tendon quadricipital et rotulien, de la patella et des rétinaculum des extenseurs participe avec les tendons des autres muscles de la cuisse (patte d'oie, et biceps fémoral) à la stabilité du genou donc de l'articulation fémoro-tibiale. Cette articulation est une zone richement innervée de rameaux nerveux sensitifs afférents. Ces terminaisons nerveuses se distribuent dans les tissus interstitiels, périvasculaires et sous synoviaux de la capsule. La synoviale présente également une innervation sympathique [2]. Le cartilage n'est pas innervé. Selon Wyke et Freeman [3-4], quatre types de récepteurs sont retrouvés au niveau articulaire : des mécanorécepteurs capsulaires à adaptation lente (type I), des mécanorécepteurs à adaptation rapide (type II), des récepteurs ligamentaires à haut seuil à adaptation très lente (type III) et des terminaisons libres non myélinisées, disséminées dans l'articulation, constituant les

nocicepteurs articulaires (type IV).

Physiopathologie de l'arthrose [5-6]. La physiopathologie de l'arthrose n'est pas encore complètement comprise. Il existerait un déséquilibre entre le catabolisme et la réparation de la matrice cartilagineuse. Le point de départ serait la stimulation des mécanorécepteurs à la surface des chondrocytes. Ceci aboutirait à une activation aberrante des chondrocytes, puis des synoviocytes. En résulte la production de cytokines (ITL1, TNF α), de prostaglandines via les cyclooxygénases, d'oxyde nitrique, de radicaux libres et d'enzymes protéolytiques (métalloprotéases) qui débordent les mécanismes régulateurs physiologiques inhibiteurs (IL4, IL10, TIMP, IL1-Ra...). L'os sous-chondral pourrait également jouer un rôle important dans le processus inflammatoire. Accompagnant cette majoration des processus cataboliques, il existe, au moins au début, une tentative de réparation physiologique des premières lésions du cartilage, par l'intermédiaire de l'action de différents facteurs de croissance (IGF1, TGF β). Cette réparation incomplète aboutit à la synthèse d'une matrice défaillante avec accumulation de collagènes fibrillaires (type 1 et type 3) et de fibronectine. Parallèlement, le chondrocyte subit une maturation cellulaire qui le transforme en chondrocyte hypertrophique puis apoptotique, l'évolution terminale étant marquée par une chondrolyse totale.

Physiopathologie de la douleur arthrosique. Les phénomènes inflammatoires arthrosiques détectés par les nocicepteurs sont richement relayés par le système nerveux sensitif, à l'origine de l'information douloureuse. La douleur arthrosique est de rythme mécanique, calmée par le repos, aggravée par la mise en charge de l'articulation et les efforts, avec un dérouillage matinal inférieur à 20 minutes. Les poussées congestives, qui présentent un rythme d'allure inflammatoire, sont favorisées par le surmenage articulaire ou un traumatisme. Elles sont en rapport avec une inflammation de la synoviale où la congestion vasculaire est plus marquée avec une chondrolyse aigue irréversible. L'appareil capsulo-ligamentaire est souvent fibrosé dans l'articulation arthrosique, rétracté et soumis à des contraintes d'étirements lors des mouvements. La sclérose et les micro-fractures trabéculaires de l'os sous-chondral, l'ostéophytose et les géodes intra-osseuses pourraient être algogènes. D'autres facteurs étiologiques peuvent intervenir : anomalies de lubrification articulaire, hyperpression intra-osseuse épiphysaire avec stase médullaire et contracture musculaire de voisinage.

Pharmacologie du kétoprofène [7-9]. Le kétoprofène est un AINS dérivé de l'acide arylcarboxylique du groupe des propioniques. Cette molécule a de nombreuses propriétés : antalgique périphérique et centrale, antipyrétique, anti-inflammatoire et anti-agrégante plaquettaire. Ces dernières sont liées à l'inhibition de la

voie de synthèse des prostaglandines (inhibition des cyclooxygénases). Sa biodisponibilité orale est quasi-totale, avec une diffusion presque complète dans tous les compartiments de l'organisme (plus rapide après injection intramusculaire (IM)). Sa présence dans le liquide synovial a été démontrée, à des concentrations atteignant plus de 70% [14] de celles retrouvées dans le compartiment plasmatique. En mésothérapie, les indications du kétoprofène sont: le traitement symptomatique des rhumatismes aigus et chroniques (dont l'arthrose, les arthrites microcristallines, les lombalgies et radiculalgies), celui des poussées aiguës de pathologies abarticulaires, des douleurs post-opératoires et des dysménorrhées essentielles. Les effets indésirables les plus fréquemment rencontrés sont la douleur à l'injection, les nécroses cutanées et les gastralgies (liées à un faible passage systémique). Les effets indésirables sont moindres en mésothérapie qu'avec les autres voies d'administration (PO, IV, IM). La photosensibilité des topiques cutanés [9] n'est pas alléguée à la voie intradermique. Ses contre-indications sont: une hypersensibilité connue au kétoprofène, antécédent d'ulcère gastroduodénal (UGD), la grossesse et l'allaitement. L'utilisation du kétoprofène doit être évitée en association avec un traitement par anticoagulant oral, acide acétylsalicylique ou un autre AINS.

Pharmacologie de la lidocaïne [10-12]. La lidocaïne est un anesthésique local qui bloque de façon réversible et dose-dépendante la conduction nerveuse des fibres sensitives, motrices et sympathiques, en réduisant la perméabilité des canaux sodiques neuronaux. Elle induit une vasodilatation par blocage sympathique, favorisant la résorption systémique. Elle présente un effet anti-arythmique par blocage des canaux sodiques sur la conduction auriculo-ventriculaire (anti-arythmique de classe IB) et un effet anti-inflammatoire par dépression de l'activation des leucocytes. Elle inhibe l'agrégation plaquettaire *in vivo* et *in vitro*. Au niveau pharmacocinétique, par absorption systémique, quelque-soit la voie d'injection, sa biodisponibilité est totale. Il n'existe pas de passage transplacentaire. En mésothérapie, la lidocaïne est également utilisée comme solvant du mélange pour ses propriétés vasodilatatrices. Ses effets indésirables sont rares en mésothérapie. Ses contre-indications absolues sont l'hypersensibilité à la lidocaïne, l'arythmie supra-ventriculaire, la myasthénie et la porphyrie. Des précautions sont nécessaires chez les sportifs et les enfants, en cas de grossesse ou de troubles de la conduction. Les effets neurotoxiques et cardiotoxiques n'ont pas été retrouvés aux doses employées en mésothérapie.

Efficacité du mélange kétoprofène-lidocaïne en mésothérapie [13-16]. Le kétoprofène et la lidocaïne agissent de façon différente pour diminuer le phénomène douloureux : l'anti-inflammatoire (kétoprofène), en traitant la cause, avec notamment une diminution de la synthèse

des prostaglandines par inhibition des cyclooxygénases ; la lidocaïne, tout comme la procaïne, en agissant au niveau de la membrane neuronale, empêche la dépolarisation neuronale et la propagation du flux nerveux. Michel PISTOR aimait à dire « *je ne sais pas comment, je ne sais pas pourquoi, mais ça marche !* ». Cependant, depuis ces découvertes, la recherche a permis d'apporter des bases scientifiques pour expliquer l'efficacité empirique de la mésothérapie. Les deux molécules que nous allons étudier, kétoprofène et lidocaïne, ont notamment prouvé leur intérêt par voie intradermique au niveau de l'articulation du genou. M. Pitzurra en 1982 [13], sur des genoux de cobayes, a comparé les voies intramusculaires et intradermiques, pour étudier le devenir d'un mélange procaïne/kétoprofène. L'anti-inflammatoire, par voie intradermique, était retrouvé en quantité significative dans l'articulation, avec un passage lent et persistant mais pratiquement nul dans la circulation générale. Au contraire, l'injection IM était suivie d'un passage rapide et court dans la circulation générale, mais ne permettait pas de retrouver de trace du produit dans l'articulation. L'intérêt de l'administration d'AINS par voie intradermique fut confirmé par Le Coz [14] en 1983. Il mit à profit des arthroscopies du genou réalisées chez des sportifs. Avant arthroscopie, un anti-inflammatoire dilué dans du sérum physiologique était injecté en regard du genou, soit par voie intradermique (papule), soit par voie sous-cutané, soit par voie intramusculaire. Pour ces trois voies, le produit était retrouvé dans l'articulation. Les prélèvements synoviaux réalisés lors de l'arthroscopie, 1 à 3 heures après l'injection, étaient insuffisants et n'ont pas permis de dosage quantitatif. Par contre, le dosage sanguin du produit injecté était équivalent pour la voie intramusculaire et sous-cutanée, mais quatre fois moindre pour la voie intradermique. R. Questel [15] s'est intéressé aux effets de l'adjonction d'un anesthésiant proche de la lidocaïne, la procaïne. Il utilisa ce médicament coloré au bleu de méthylène par voie intradermique chez des patients justifiant d'une arthroscopie, versus témoins (sérum physiologique coloré ou mésothérapie sèche). On retrouvait uniquement du colorant intra-articulaire chez les patients qui avaient reçu de la procaïne colorée. Elle était retrouvée en concentration importante, augmentant avec le temps. Cela confirmait l'intérêt de la procaïne sur sa diffusion intra-articulaire. Costantino et coll. [16] ont étudié en 2010 les effets antalgiques de la mésothérapie et d'un traitement médical conventionnel dans la lombalgie aiguë dans une étude italienne comparative, randomisée, de non infériorité. Un groupe recevait un traitement médical conventionnel à base de kétoprofène IM, méthylprednisolone et un inhibiteur de la pompe à protons (IPP) par voie orale. Le deuxième groupe recevait un traitement par mésothérapie dont le mélange comprenait de la lidocaïne, du kétoprofène et de la méthylprednisolone. En France, l'utilisation de la cortisone en mésothérapie est proscrite par la Société Française de Mésothérapie (SFM), en raison du risque

d'atrophie du tissu cellulaire cutané. Les critères de jugement étaient l'intensité douloureuse évaluée grâce à l'échelle visuelle analogique (EVA) et le retentissement fonctionnel par le questionnaire de Roland-Morris avant, à la fin et 6 mois après le traitement. Aucune différence significative n'a été démontrée entre les deux groupes, suggérant que la mésothérapie est une alternative au moins équivalente au traitement conventionnel dans la lombalgie aiguë. On peut extrapoler, d'après ces données expérimentales et cliniques, que le mélange kétoprofène/lidocaïne est probablement efficace dans la pathologie arthrosique du genou.

Technique d'injection au niveau du genou. Les points d'injection dépendent de la pathologie à traiter. Classiquement, les zones gâchettes sont traitées en point par point (PPP) en intradermique superficiel (IDS) ou profond (IDP).

Hypothèse de travail. Notre travail a été d'évaluer la dégradation dans le temps du kétoprofène et de la lidocaïne in vitro, après ouverture des ampoules, exposés à l'air et la lumière à température ambiante. Notre hypothèse de travail était que les deux molécules se dégradent plus rapidement au sein du mélange que séparément.

Question de recherche. Notre question de recherche était: «Les principes actifs se dégradent-ils plus rapidement, à l'air libre et à la lumière, à température ambiante, dans le mélange préparé dans la seringue que pris isolément dans leur ampoule?».

Objectifs de l'étude. L'objectif principal de notre étude était de connaître la stabilité et donc la compatibilité physicochimiques de ces molécules au sein du mélange. Les objectifs secondaires étaient de tester la stabilité physico-chimique de ces deux médicaments dosés isolément et de savoir s'ils laissaient une plus grande marge de manœuvre au mésothérapeute entre temps de préparation et temps d'utilisation.

MÉTHODE

Le but de notre étude était de déterminer la stabilité dans le temps des principes actifs de la lidocaïne et du kétoprofène, seuls puis en association, lorsqu'ils sont mis au contact de la lumière naturelle et de l'air, à température ambiante (correspondant aux conditions environnementales habituelles d'un cabinet de mésothérapie). Pour ce faire, les dégradations dans le temps du kétoprofène et de la lidocaïne non mélangés et celle des deux mélangés ont été analysées. Les produits ont été fournis par le laboratoire PHARMY II: MESOCAINE 1% ® 50mg/5ml et KETOPROFENE® 100 mg/2ml. Les tests physico-chimiques ont été effectués au sein du laboratoire de pharmacologie et de toxicologie du CHU de Clermont-Ferrand. La grande sensibilité des

analyseurs utilisés pour notre étude a nécessité la dilution des produits expérimentés (tableaux 1 à 3). Les conditions du laboratoire étaient: air climatisé à 19°C, paillasse propre, tubes à hémolyse légèrement teintés.

Tableau 1: Protocole de manipulation pour la dilution de la lidocaïne (MESOCAINE PHARMY II ®)

- Solution mère (SM): Lidocaïne Chlorhydrate 10 mg/ml (soit 8.67 mg/mL de Lidocaïne)
- SF1: dilution 1/86.7 de SM: 11.40 µL de SM + 988.6µL H₂O (soit 100 µg/mL de Lidocaïne)
- SF2: dilution 1/100 de SF1: 10 µL de SF1 + 25 µL de solution Proadifen (Etalon interne à 4 µg/mL) + 965 µL H₂O (soit 1 µg/mL de Procaïne)
- SF3: dilution 1/2 de SF2: 500µL de SF2 + 500 µL H₂O (soit 500 ng/mL de Lidocaïne)
- Injection de 20 µl de solution SF3 en LC/MS

Les analyses étaient effectuées à T0 (dès l'ouverture des ampoules), T1 (5min), T2 (10min), T3 (30min) et T4 (180min). Une ampoule neuve pour chaque produit était utilisée à chaque cinétique (T0 à T4). Le temps T1 correspondait à l'utilisation du mélange préparé avant antiseptie du patient. Le temps T2 correspondait à l'utilisation, si nécessaire, d'une deuxième seringue avec un mélange différent du premier, également préparé en début de consultation. Le temps T3 était assimilé à l'utilisation d'ampoules déjà ouvertes pour la consultation suivante, en considérant qu'une séance de mésothérapie dure environ 30 min. Le temps T4 considérerait l'utilisation d'ampoules déjà ouvertes 3 heures auparavant, chez des praticiens n'ayant pas une activité de mésothérapie exclusive. Cependant, il n'est pas recommandé d'utiliser la même ampoule pour plusieurs consultations. Il est d'usage de réaliser nos mélange selon l'adage suivant: «une ampoule, un mélange, un patient». Nous avons analysé 3 échantillons de chaque produit séparés et du mélange. Chaque échantillon était testé selon le même protocole en 5 temps (T0 à T4). Le résultat était moyenné pour les 3 échantillons.

Tableau 2: Protocole de manipulation pour la dilution du kétoprofène (KETOPROFENE PHARMY II ®)

- Solution mère (SM): Kétoprofène 50 mg/ml
- SF1: dilution 1/100 de SM: 10 µL de SM + 990µL H₂O (soit 500 µg/mL de Kétoprofène)
- SF2: dilution 1/100 de SF1: 10 µL de SF1 + 125 µL de solution Proadifen (Etalon interne à 400 ng/mL) + 865 µL H₂O (soit 5 µg/mL de Kétoprofène)
- SF3: dilution 1/10 de SF2 : 100µL de SF2 + 900 µL H₂O (soit 500 ng/mL de Kétoprofène)
- Injection de 20 µl de solution SF3 en LC/MS

Un volume de 20 µl de la solution SF3 était déposé dans un tube à hémolyse à température ambiante sur la paillasse pendant le temps T défini. Il était ensuite vortexé, puis injecté en LC/MS (liquid chromatography/mass spectrometry), dans une machine, pour analyse. La séparation des différents constituants du mélange a été réalisée à l'aide d'un appareil de chromatographie

(Agilent SL 1200) en phase aqueuse à haute performance. Le couplage de cette technique à un spectromètre de masse (Orbitrap) a permis une détection et une identification des différents composants isolés, en fonction de leur masse. Cette technique s'appelle: High performance liquid chromatography-mass spectrometry (HPLC-MS).

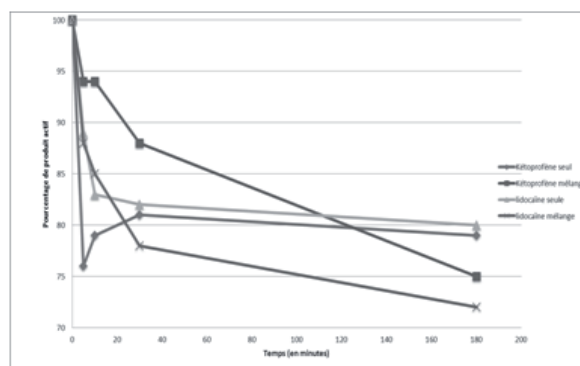
Tableau 3: Protocole de manipulation pour la dilution du mélange Lidocaïne/Kétoprofène
(2 volumes de Lidocaïne pour 1 volume de Kétoprofène)

- Solution mère (SM): 1 mL de Mésocaïne (10 mg/mL) + 0.5 mL de Kétoprofène (50 mg/mL) (soit une solution finale à 5.78 mg/mL de Lidocaïne et 16.666mg/mL de Kétoprofène)
- SF1: dilution 1/100 de SM2: 10 µL de SM2 + 990 µL H2O
- SF2: 10 µL de SF1 + 25 µL de solution Proadifen (EI à 4 µg/mL) + 965µL H2O
- SF3: dilution 1/2 de SF2: 500µL de SF2 + 500 µL H2O (soit une solution finale à 289 ng/mL de Lidocaïne et 833.33 ng/mL de Kétoprofène)
- Injection de 20 µL de solution SF3 en LC/MS

RÉSULTATS

Kétoprofène seul. Nous avons constaté une dégradation rapide du kétoprofène: 76% de produit actif est retrouvé en moyenne, 5 minutes après ouverture de l'ampoule (tableau 4). Cette dégradation ne se poursuivait pas dans le temps (graphique 1). Nous avons constaté une stabilité identique voire augmentée à la 10^{ème} (78,8 % de principe actif restant) et à la 30^{ème} minute (80,7%). La quantité de produit retrouvée 180 minutes après ouverture de l'ampoule était proche de celle retrouvée aux temps T2 et T3 (79,25 %). Les résultats n'étaient pas homogènes pour les trois échantillons (tableau 1). L'étude de la cinétique de dégradation du kétoprofène tube par tube était superposable à la cinétique de la moyenne pour les tubes 2 et 3. Le tube 1 présentait une dégradation progressive dans le temps du kétoprofène jusqu'à T3 (70.7%). Celle-ci ne se poursuivait pas à T4 (76,1%).

Lidocaïne seule. Nous avons constaté une dégradation de la lidocaïne dès les 5 premières minutes (moyenne de 88,8% de principe actif retrouvé à T1). Elle se poursuivait de manière progressive dans le temps, s'infléchissant à 10 minutes (graphique 1) et devenant quasiment nulle par la suite (tableau 4). Au temps T3, 82,4% de la lidocaïne était retrouvée dans nos échantillons. Après 180 minutes, 80,2% de lidocaïne active restait dans le tube. Nos résultats n'ont pas été homogènes, tube par tube. Au temps T3, le pourcentage de lidocaïne restant dans le tube variait de 75,6% pour le tube 1 à 97 % dans le tube 3. Contrairement aux tubes 2 et 3, la cinétique de dégradation de la lidocaïne pour le tube 1 ne correspondait pas à celle des valeurs moyennes des trois échantillons: la proportion de lidocaïne retrouvée semblait augmenter aux temps T3 et T4.



Graphique 1: cinétique de dégradation de la lidocaïne et du kétoprofène seuls ou au sein du mélange

Cinétique au sein du mélange. En moyenne, nous avons constaté une dégradation progressive du kétoprofène dans le mélange (tableau 4 et graphique 1). Celle-ci était modérée jusqu'à T3: 87,5 % était retrouvé dans les échantillons. Après 180 minutes, 75,4 % du kétoprofène persistait au sein du mélange. Les résultats concernant les tubes 1 et 3 étaient superposables, retrouvant une dégradation modérée jusqu'à T2, en s'accroissant par la suite. Dans le tube 2, nous avons retrouvé une stabilité du kétoprofène dans le temps avec 96,9% du produit retrouvé 180 minutes après constitution du mélange. Pour la lidocaïne, nous avons constaté une dégradation progressive et linéaire dans le temps (tableau 4 et graphique 1). Après 180 minutes, 72% de la lidocaïne en moyenne persistait au sein des échantillons analysés. Les résultats de chaque échantillon étaient différents. Dans le tube 1, la dégradation de la lidocaïne suit la même cinétique que la moyenne des 3 tubes. L'analyse du tube 2 retrouvait une stabilité de la lidocaïne lors des 30 premières minutes (100,8% à T3) puis une dégradation rapide avec 84,5% de lidocaïne restante à T4. Dans le tube 3, la lidocaïne était rapidement et durablement dégradée (70,6% à T1; 64,5% à T4). Le kétoprofène était plus stable au sein du mélange que dosé séparément, entre la 5^{ème} et la 10^{ème} minute. A T1, 94% du kétoprofène persistait dans le mélange versus 76% pris isolément. A T2, les pourcentages de kétoprofène restant étaient respectivement de 93,6 % au sein du mélange versus 78,8% seul. La dégradation de la lidocaïne était progressive dans le temps jusqu'à 180 minutes, qu'elle soit seule ou au sein du mélange. Aucune différence significative de vitesse de dégradation de la lidocaïne n'a été retrouvée entre la lidocaïne mélangée et celle séparée au temps T1 (88,3% vs 88,8%), T2 (84,7% vs 88,8%), et T3 (77,8% vs 82,4%). Après 180 minutes, la lidocaïne était moins stable dans le mélange (72 % vs 80,2%).

DISCUSSION

Analyse des résultats

Stabilité de la lidocaïne seule. Ce produit anesthésiant présente le même profil de destruction que celui de la procaine dans l'étude réalisée par Blondel R. et coll. [17]. Ce résultat montre que selon un procédé qu'il ne nous a pas été possible d'étudier, plus de 10 % de la

lidocaïne est dégradée dès l'ouverture de l'ampoule. Après, elle tend à se dégrader plus lentement. On peut envisager une réaction physico-chimique au contact de l'air et de la lumière, à température ambiante (oxydation, etc.).

Stabilité du kétoprofène seul. Le kétoprofène se dégrade à la lumière contrairement à la lidocaïne. Sa dégradation semble en effet plus importante. Elle présente une cinétique inconstante. Le produit actif n'est plus dégradé entre la 10^{ème} et la 180^{ème} minute: la concentration de la forme active tendrait même à ré-augmenter. Cette cinétique inattendue a été confirmée à deux reprises.

Cette constatation nous évoque trois hypothèses:

- soit une destruction à la lumière arrivant à saturation;
- soit une erreur de la technique;
- soit un équilibre physico-chimique se mettant en place dans des conditions d'air, de luminosité et de température ambiantes.

Pour les échantillons présentant un pourcentage de produit restant supérieur à 100 % après T0, l'imprécision dans les dilutions, conjuguée à la variabilité des appareils de mesure, expliquerait ces phénomènes.

Intérêt du dosage à 180 minutes. La certaine stabilité de ces deux produits, 3 heures après l'ouverture des ampoules, serait suffisante pour envisager l'utilisation d'une même ampoule pour plusieurs consultations. Cette constatation ne légitime pas de telles pratiques. L'utilisation d'une même ampoule pour plusieurs patients enfreint les règles élémentaires d'asepsie rigoureuse et est formellement déconseillée par les autorités sanitaires. Une ampoule ouverte doit être utilisée immédiatement, et pour un seul patient.

Stabilité des deux principes actifs au sein du mélange.

Le kétoprofène s'avère plus stable au sein du mélange que seul pendant les 30 premières minutes. Le phénomène de potentialisation du mélange, correspondant à une augmentation synergique des effets, ne peut pas être évoqué, car non étudié. Ce gain de stabilité du kétoprofène, en présence de la MESOCAÏNE, peut être dû à l'excipient de l'anesthésique local, l'hydroxyde de sodium, en quantité suffisante pour obtenir un pH à 6,5 dans l'ampoule de MESOCAÏNE. Nous savons en effet que le fait de placer des molécules pures dans des solutions acides augmente la stabilité des solutions. Le pH de la MESOCAÏNE, plus acide (pH=6,5) que celui du kétoprofène (pH = 6,7 +/- 0,1 selon PHARMY II ® et pH = 6 à 7,5 selon le VIDAL 2011 ®), semblerait responsable de la meilleure stabilité du kétoprofène dans le mélange.

Par contre, la stabilité de la lidocaïne n'est pas initialement modifiée au sein du mélange.

Le mélange des deux produits n'a donc pas d'effet sur la stabilité de la lidocaïne mais stabilise le kétoprofène

au cours des 30 premières minutes. A partir de 30 minutes, la dégradation du kétoprofène s'accélère. Après 180 minutes, il reste autant de kétoprofène sous forme active qu'il soit utilisé seul ou dans le mélange.

Ces constatations font de notre mélange un «cocktail» stable, et surtout pharmacologiquement actif pour le mésothérapeute, renforçant l'intérêt de ce mélange simple, utilisé en pratique courante dans la pathologie arthrosique du genou. Cette constatation rejette notre hypothèse de travail puisque les principes actifs sont plus stables initialement au sein du mélange que séparément.

COMPARAISON À UNE AUTRE ÉTUDE

Nous avons constaté que l'exposition de la lidocaïne et du kétoprofène à la lumière naturelle, à l'air et à température ambiante était responsable de leur dégradation. Blondel R. et coll. [17] avaient montré une altération significative des principes actifs de la procaïne, du thiocolchicoside et du piroxicam, dans les mêmes conditions; et ce, d'autant plus s'ils étaient associés. Cependant, notre étude a montré une plus grande stabilité du kétoprofène et de la lidocaïne au sein du mélange que séparés. Rappelons que cette bonne stabilité du mélange pourrait être expliquée par le pH plus acide de la lidocaïne. Le mélange n'a pas eu d'effet délétère sur les produits actifs mais un effet protecteur sur l'AINS. Nos résultats sont en contradiction avec ceux de l'étude de Blondel R. et coll. qui retrouvaient une déstabilisation des trois molécules analysées dans leur mélange (piroxicam, procaïne et thiocolchicoside). Le thiocolchicoside pourrait être un facteur expliquant la moins bonne stabilité du mélange. Il pourrait être judicieux d'utiliser ce dernier seul, dans une deuxième seringue, dans le cas où son action myorelaxante s'avérerait nécessaire, en association avec un AINS et un anesthésique local.

LIMITES DE L'ÉTUDE

Les limites de cette étude sont inhérentes à son caractère mono-centrique. Il aurait été intéressant de la mener dans différents laboratoires, afin de comparer les résultats d'un laboratoire à l'autre (milieu environnant, qualité des tubes, différences entre les techniques, etc.). Aussi, les conditions particulières du laboratoire ne seront pas strictement celles retrouvées au cabinet du mésothérapeute : ampoules transparentes et température ambiante non régulée, souvent supérieure à 20°C. Il faut considérer une dégradation plus importante dans le milieu ambiant du cabinet qu'au laboratoire. Concernant les différences de dosages entre chaque tube, un manque de fiabilité technique peut être évoqué. La technique analytique utilisée présente, cependant, un biais de reproductibilité faible. Afin de limiter ce biais, l'analyse a été effectuée à l'aide d'un étalon interne: substance pure et de concentration connue, servant de référence pour l'analyse quantitative (ici: le prodi-

fen). Si le matériel analytique avait présenté un biais important sur un des échantillons, ce dernier aurait été retrouvé sur la mesure de l'étalon interne, permettant de corriger cette erreur. Une répétabilité de 3 échantillons a donc été réalisée pour chaque temps de stabilité et pour chaque molécule. Les résultats de nos analyses ne sont pas parfaitement homogènes; ce qui s'explique par l'imprécision lors des dilutions (technique manuelle) et lors des analyses par les machines. Cependant, les coefficients de variation entre les tubes sont restés faibles (< 20 %). Ils pourraient être encore plus faibles, par augmentation du nombre d'échantillons testés. Nous ne nous sommes pas attachés à déterminer quels sont les facteurs responsables prédominants de l'instabilité des produits. Nous n'avons pas également analysé les excipients éventuellement responsables. Cette étude ne s'appliquerait que pour les spécialités étudiées. On ne peut pas extrapoler la stabilité du mélange de ces deux molécules étudiées au sein d'un traitement plus complexe, associant en plus, par exemple, un vasodilatateur, de la calcitonine de saumon ou un soluté polyvitaminique.

PERSPECTIVES

Les différences retrouvées entre les trois échantillons testés, pour chaque analyse, étant importantes, l'analyse d'un plus grand nombre d'échantillons aurait permis d'affiner nos résultats. Des mélanges de 3 ou 4, voire 5 produits pouvant être réalisés par les mésothérapeutes, il serait intéressant d'évaluer la stabilité des différents principes actifs dans ces mélanges complexes.

CONCLUSION

La meilleure stabilité des principes actifs, au sein du mélange, que pris séparément, prouve l'intérêt de l'association lidocaïne/kétoprofène, chaque molécule gardant probablement toutes ses caractéristiques (efficacité pharmacologique). Ce mélange est donc compatible et stable (avant 30 minutes) sur le plan physico-chimique. Il doit être privilégié à d'autres associations, qui n'ont pas fait la preuve de leur compatibilité. Nous conseillons, dans la pratique courante, un mélange immédiat de ces deux produits et une séance de mésothérapie précoce, afin de préserver au maximum les effets anti-inflammatoire et antalgique du traitement dans la pathologie arthrosique du genou. Nous déconseillons le mélange d'un AINS avec le thiocolchicoside, semblant jouer un rôle déstabilisant au sein du mélange. D'après les éléments de la littérature, les résultats et constatations de notre étude, nous nous proposons d'instaurer la «*Règle des pH*». En effet, il conviendrait de respecter l'ordre des pH dans la préparation des mélanges, afin de gagner en stabilité physico-chimique, en commençant notre mélange par le produit le plus acide, pour finir par l'adjonction du produit le plus basique.

FINANCEMENT DE L'ÉTUDE ET CONFLIT D'INTÉRÊT

Cette étude a été financée par la SFM et les laboratoires PHARMY II® qui nous ont fourni les ampoules de MESOCAINE PHARMY II® et KETOPROFENE PHARMY II® nécessaires à la réalisation des dosages.

REMERCIEMENTS

Nous souhaitons remercier la SFM et les laboratoires PHARMY II® pour le financement de notre étude, le Pr. A. ESCHALIER et son association CREPTA pour sa rigueur méthodologique et l'utilisation de son laboratoire, et enfin le Dr A. WALTER et le Dr JP MARTIN, pour leur aide dans ce travail et les enseignements qu'ils nous ont prodigués, avec sagesse et brio.

RÉFÉRENCES

1. SFM, Historique de la mésothérapie, in: <http://www.sfm-mesotherapie.com> [En ligne].
2. Schaible HG, Grubb BD, Afferent and spinal mechanisms of joint pain. Pain, 1993; 55: 55-4.
3. Chanussot JC, Danowski RG, in: Rééducation en traumatologie du sport : membre inférieur et rachis, 1999, p. 35
4. Pelissier J, in: Douleur et médecine physique et de réadaptation, E Viel, p.124
5. COFER, Rhumatologie, Elsevier Masson, 2008 (3e éd), pp. 47-52
6. <http://www.rhumato.info/Physiopatharthrose.htm>[En ligne]
7. Dorosz P, Guide pratique des médicaments, 2011.
8. Kantor TG. Ketoprofen: a review of its pharmacologic and clinical properties, Pharmacotherapy, 1986; 6(3):93-103.
9. Baudot S.,Milpied B.,Larousse C. Kétoprofène gel et effets secondaires cutanés. Congrès annuel de la Société Française de Pharmacologie N°2, Nancy.
10. Mazoit JX. Mode d'action et toxicité des anesthésiques locaux, SFAR, Conférences d'actualisation 1996. Paris; Elsevier 1996:249-262
11. Eledjam JJ, Viel E, Bruelle P, De la Coussaye JE. Pharmacologie des anesthésiques locaux. Encycl Méd Chir, Anesthésie Réanimation, 1996 : 36-320-A-10
12. Murat I, anesthésiques locaux transcutanés. Pharmacologie en anesthésie-réanimation, vol.14. Arnette.
13. Multedo JP, Mésothérapie, La nouvelle voie, Editions Eucalyptus

La revue de Mésothérapie

14. Le Coz J, Dupont JY, L'injection en regard du genou par voie mésothérapique donne de bonnes concentrations intra-articulaires. Quot. Med, 1983

15. Questel R. et al, Mise en évidence par arthroscopie de l'activité sur la microcirculation de soluté injectable de procaïne 2% par voie intradermique, Bull. S

16. Costantino C, Marangio E, Coruzzi G Mesotherapy versus

Systemic Therapy in the Treatment of Acute Low Back Pain: A Randomized Trial. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2011 : 1983 (58): 17

17. Blondel R, Boisgard S., Ceysson C., Guittard F., Pinguet J. Stabilité physico chimique de 3 produits régulièrement utilisés seuls ou en association en mésothérapie, Mémoire du DIU de Mésothérapie de Clermont-Ferrand, Congrès de la SFM, 2010.

Variable	échantillon	T0c	T0%	T1c	T1%	T2c	T2%	T3c	T3%	T4c	T4%
Temps (min)		0		5			10		30		180
Kétoprofène seul											
Tubes	N°1	0,311	100,00	0,275	88,42	0,259	83,28	0,220	70,740	0,237	76,21
	N°2	0,377	100,00	0,263	69,76	0,270	71,62	0,301	79,840	0,278	73,74
	N°3	0,323	100,00	0,231	71,52	0,268	82,97	0,295	91,330	0,286	88,54
Variation moyenne		0,337		0,256		0,265		0,272		0,267	
Ecart type (SD)		0,035		0,023		0,006		0,045		0,027	
Coef de variat (CV)		10,418		8,943		2,263		16,694		9,973	
% moyen restant			100,00		75,96		78,80		80,70		79,25
Lidocaïne seule											
Tubes	n°1	4,101	100,00	3,914	95,44	3,102	75,64	3,703	90,32	3,890	94,85
	n°2	5,291	100,00	3,722	70,34	4,087	77,24	3,930	74,28	3,914	73,97
	n°3	4,145	100,00	4,380	105,67	4,023	97,06	3,524	85,01	3,055	73,70
Variation moyenne		4,512		4,005		3,737		3,719		3,620	
SD		0,675		0,338		0,551		0,203		0,489	
CV		14,949		8,450		14,752		5,468		13,509	
% moyen restant			100,00		88,77		82,83		82,42		80,22
Lidocaïne au sein du mélange lidoc/ kétopf											
Tubes	n°1	2,987	100,00	2,863	95,85	2,543	85,13	2,176	72,85	2,109	70,60
	n°2	2,628	100,00	2,732	103,96	2,445	93,04	2,649	100,80	2,221	84,51
	n°3	3,571	100,00	2,520	70,57	2,794	78,24	2,325	65,11	2,287	64,04
Variation moyenne		3,062		2,705		2,594		2,383		2,206	
SD		0,476		0,173		0,180		0,241		0,090	
CV		15,548		6,388		6,924		10,132		4,092	
% moyen restant			100,00		88,34		84,72		77,84		72,04
Kétoprofène au sein du mélange lidoc/ kétopf											
Tubes	n°1	0,036	100,00	0,032	88,89	0,035	97,22	0,030	83,33	0,022	61,11
	n°2	0,032	100,00	0,035	109,38	0,030	93,75	0,030	93,75	0,031	96,88
	n°3	0,040	100,00	0,034	85,00	0,035	87,50	0,034	85,00	0,028	70,00
Variation moyenne		0,036		0,034		0,033		0,031		0,027	
SD		0,004		0,002		0,003		0,002		0,004	
CV		11,650		5,415		8,070		6,727		16,152	
% moyen restant			100,00		93,96		93,54		87,51		75,36

Tableau 4. Résultats des analyses des 3 tubes du kétoprofène seul, de la lidocaïne seule et de la lidocaïne et du kétoprofène dans le mélange.