

À PROPOS DE L'AUTEURE

Chloé E. Ward, MD, FRCPC

La Dre Chloé Ward détient une double certification à titre de fellow du Collège royal des médecins du Canada (FRCPC) en dermatologie et du Diplomate of the American Board of Dermatology (DABD). Elle a obtenu son doctorat en médecine (MD) et fait une résidence de cinq ans en dermatologie à l'Université d'Ottawa. Elle a ensuite obtenu une bourse de recherche sur l'utilisation du laser en chirurgie de la peau et en dermatologie esthétique. La Dre Ward exerce actuellement en tant que dermatologue à Ottawa, où elle se spécialise dans l'utilisation du laser en chirurgie de la peau à la clinique Laserderm. Elle est membre du personnel médical des Soins continus Bruyère, où elle a le privilège de travailler au programme Soins aux aînés, Service de dermatologie. Elle est également membre l'American Academy of Dermatology et membre de plusieurs organisations professionnelles – l'Association canadienne de dermatologie, l'American Academy of Dermatology, l'American Society for Laser Medicine and Surgery, l'American Society for Dermatologic Surgery et l'European Academy of Dermatology and Venereology.



RECONSTITUTION DES NEUROMODULATEURS EN PRATIQUE CLINIQUE

Les neuromodulateurs sont utilisés dans la pratique clinique depuis des décennies, tant pour des applications thérapeutiques que cosmétiques. Ce sont des agents bloquant la transmission neuromusculaire qui inhibent la libération d'acétylcholine (ACh). En dermatologie, on les utilise habituellement pour améliorer temporairement l'apparence des lignes dynamiques et, dans une certaine mesure, statiques. Le vieillissement au niveau du visage est le résultat d'une multitude de facteurs extrinsèques et intrinsèques, notamment les rayons ultraviolets, la gravité, l'atrophie et le remodelage des structures adipeuses, osseuses et cartilagineuses, ainsi que des modifications de l'activité musculaire de la musculature faciale¹. Les neuromodulateurs peuvent être utilisés dans les traitements contre l'hyperactivité musculaire, les mouvements musculaires indésirables contribuant à la formation des rides et les asymétries. Ils peuvent également être utilisés dans les traitements contre l'hyperhidrose.

La neurotoxine botulique (BoNT) agit en se liant de manière sélective et irréversible aux récepteurs cholinergiques dans les terminaisons nerveuses, bloquant ainsi la libération d'ACh par clivage enzymatique de la protéine SNAP-25¹. Elle empêche la contraction musculaire des muscles traités en bloquant l'influx nerveux qui provoque la dépolarisation de la membrane musculaire, et la production de sueur en bloquant la libération d'ACh dans les fibres cholinergiques autonomes des fibres sympathiques des glandes sudoripares¹. Il existe sept sérotypes différents, dénommés A à G¹. L'utilisation de la neurotoxine botulinique de type A (Bont-A) et de la neurotoxine botulinique de type B (Bont-B) a été approuvée chez les humains. Différents produits BoNT-A sont offerts sur le marché au Canada pour un usage cosmétique.

L'onabotulinumtoxinA (ONA) (BOTOX COSMÉTIQUE®, Allergan Inc, Irvine, CA), commercialisé sous le nom de Botox®, a été le premier neuromodulateur à avoir été homologué pour combattre l'effet de l'âge. Ce

produit a été le seul agent thérapeutique de ce type sur le marché pendant de nombreuses années. Il est devenu un traitement cosmétique de premier plan pour atténuer l'apparence des rides indésirables. D'autres joueurs sont entrés sur le marché par la suite. L'abobotulinumtoxinA (ABO) (DYSPOUR AESTHETIC^{MC}, Ipsen Ltd, Maidenhead, R.-U.), et l'incobotulinumtoxinA (INCO) (XEOMIN COSMETIC^{MC}, Merz Pharmaceuticals, Francfort, Allemagne) sont deux concurrents couramment utilisés. Ces deux produits ont également connu un grand succès en pratique clinique pour leurs applications cosmétiques.

Bien que ces produits soient tous des neurotoxines botuliniques de type A (BoNT-A) qui provoquent une paralysie neuromusculaire, les différences de fabrication de ces neuromodulateurs offerts sur le marché leur confèrent des propriétés uniques. Les différences entre les méthodes de purification et les ingrédients inactifs ajoutés peuvent jouer un rôle dans la détermination des caractéristiques de chaque produit, telles que l'affinité pour leur cible, les effets sur la paralysie musculaire, l'antigénicité et la durée d'efficacité.

La dose de chaque produit de BoNT-A est mesurée en unités (U) d'activité biologique. L'activité biologique est déterminée chez les animaux. Une unité est calculée comme la dose létale médiane (DL₅₀) du produit reconstitué. Elle est ensuite injectée par voie intrapéritonéale chez la souris². La puissance des BoNT-A varie d'un produit à l'autre. Les unités figurant sur leur libellé ne peuvent donc pas être converties directement d'un produit à l'autre. Par conséquent, ces produits ne sont pas interchangeables³⁻⁵.

Les produits sont tous conditionnés sous forme de poudre lyophilisée et doivent être reconstitués avant d'être utilisés³⁻⁵. L'INCO est une poudre blanche visible, tandis que l'ONA et l'ABO sont plus incolores. L'ONA doit être conservé au congélateur (< 5 °C), l'ABO au réfrigérateur (2 à 8 °C) et l'INCO peut être conservé à la température ambiante (< 25 °C) jusqu'à sa reconstitution³⁻⁵. Les monographies des trois produits recommandent la reconstitution avec une solution saline (NaCl) à 0,9 %, stérile et sans agent de conservation³⁻⁵. En pratique clinique, le NaCl est toutefois souvent utilisé hors indication en association avec des agents de conservation, car ils ont tendance à réduire significativement l'intensité de la douleur, l'inconfort et la sensation de brûlure chez les patients au moment de l'injection. Des études ont démontré que les agents de conservation ne compromettent pas l'efficacité de ces agents, qu'ils prolongent la durée de conservation après reconstitution et réduisent le risque de contamination bactérienne⁶.

Une aiguille biseautée de calibre 20-27 peut être utilisée pour aspirer le NaCl dans une seringue aux fins de reconstitution avant l'injection⁴⁻⁵. La partie exposée du bouchon en caoutchouc de la fiole doit être nettoyée avec de l'alcool avant d'insérer l'aiguille verticalement dans la fiole à travers le bouchon en caoutchouc. Après avoir inséré l'aiguille de la seringue contenant le diluant dans la fiole, le diluant doit être aspiré dans la fiole. La seringue est ensuite retirée de la fiole, et le neuromodulateur et le NaCl sont mélangés en faisant soigneusement tourner la fiole pour l'ONA et l'ABO, et en agitant et en inversant la fiole pour s'assurer que toute la poudre blanche est dissoute pour l'INCO³⁻⁵. Si le vide n'aspire pas facilement le diluant

dans la fiole et que le sceau est brisé, la fiole doit être jetée³⁻⁵. Comme la formation de bulles ou toute agitation violente provoquant un bouillonnement dénature les neurotoxines, le diluant doit être injecté tout doucement dans la fiole. Le produit reconstitué doit être limpide, incolore et ne contenir aucune particule. La date et l'heure peuvent être inscrites sur l'étiquette ou, dans la pratique, sur la boîte.

Santé Canada a homologué différents modes de reconstitution pour les trois produits. L'ONA peut être reconstitué selon l'indication approuvée pour les rides avec du NaCl à 0,9 % stérile et sans agent de conservation, à raison de 1,3 à 4,0 millilitres (mL) par fiole de 100 U, ce qui donne des dilutions de 7,5 à 2,5 U, par 0,1 mL (**Tableau 1**)³.

La monographie du produit recommande des dilutions variant entre 4,0 et 7,0 U par 0,1 mL, et la notice de conditionnement suggère d'utiliser 2,5 mL pour diluer une fiole de 100 U, ce qui donne une dose de 4 U par 0,1 mL²⁻³. En général, un volume de reconstitution plus faible avec une concentration plus élevée est souhaitable pour les injections administrées à des fins cosmétiques, ce qui permet d'obtenir une plus grande précision lors de l'injection du produit et de réduire ainsi le risque de diffusion et de complications. En pratique, de nombreux cliniciens utilisent une dilution de 10,0 U par 0,1 mL pour l'ONA, ce qui correspond à 1 U par marque de 0,01 mL sur une seringue. Cette formule de dilution ne figure pas dans le libellé homologué par Santé Canada, ni dans la notice de conditionnement de l'ONA. Elle l'est toutefois pour la formulation thérapeutique de l'ONA, qui comporte de nombreuses indications différentes⁷. La reconstitution recommandée dans le libellé de l'ONA pour l'hyperhidrose axillaire

Produit	Unités par fiole	Volume de diluant	Dilution par 0,1 mL
ONA (BOTOX COSMÉTIQUE ^{®(1)})	100 U	4,0 mL	2,5 U
		2,0 mL	5,0 U
		1,3 mL	7,5 U
ONA (BOTOX ^{®(2)})	100 U	4,0 mL	2,5 U
INCA (XEOMIN COSMÉTIQUE ^{MC})	100 U	4,0 mL	2,5 U
		2,5 mL	4,0 U
		2,0 mL	5,0 U
		1,25 mL	8,0 U
		1,0 mL	10,0 U
ABO (DYSPORE AESTHETIC ^{MC})	300 U	3,0 mL	10,0 U
		2,5 mL	12 U
		1,5 mL	20 U

Tableau 1 Volumes de reconstitution homologués par Santé Canada avec une solution saline stérile sans agent de conservation^{3-5,7}.

Remarques (1) Pour les rides faciales (2) Pour l'hyperhidrose axillaire.

est de 4,0 mL pour une fiole de 100 U (**Tableau 1**)⁷. En pratique, il est courant de diluer l'ONA avec 5,0 mL de NaCl pour l'hyperhidrose, puisqu'une plus grande diffusion est souhaitable. Dans le cas de l'INCO, les volumes de dilutions homologués dans la monographie du produit permettent d'obtenir 10,0 à 2,5 U par 0,1 mL, avec des dilutions variant de 1,0 à 4,0 mL de NaCl pour une fiole de 100 U (**Tableau 1**).

Dans le cas de l'ABO⁴, les volumes de dilution homologués dans la monographie du produit permettent d'obtenir 20 à 10 U par 0,1 mL, avec des dilutions de 1,5 - 4,0 mL de NaCl pour une fiole de 300 U (**Tableau 1**)⁵.

Bien que les unités ne soient pas équivalentes d'un neuromodulateur sur le marché à l'autre, des rapports d'équivalence peuvent être utilisés pour déterminer une posologie et des résultats cliniques comparables. Des

études laissent entendre que 1 U d'ONA équivaut à 2-2,5 U d'ABO, compte tenu de l'efficacité, de l'intensité, de la sécurité et de la durée de la paralysie ou de l'anhydrose recherchée⁸⁻¹⁰. Une autre étude a démontré qu'un rapport d'équivalence de dose de 2,1 U (ABO:ONA) entraîne des effets de champ similaires sur l'activité des muscles et des glandes sudoripares. Mais, à une équivalence de dose plus élevée, soit 2,5:1 (ABO:ONA), l'ABO se propage sur une plus grande surface et un plus grand diamètre horizontal¹¹. Il convient d'en tenir compte lors de l'injection de ce produit afin d'éviter toute propagation ou toute complication indésirable.

À la même dose, l'ONA et l'INCO permettent généralement d'obtenir des résultats comparables¹²⁻¹⁴. En pratique, de nombreux cliniciens reconstituent un flacon de 300 U d'ABO avec 1,0 mL, 1,1 mL ou 1,2 mL de NaCl bactériostatique

pour un rapport approximatif de 1:3 (ONA:ABO); ce qui est considéré comme comparable à 1 mL de diluant pour une fiole de 100 U d'ONA ou une fiole de 100 U d'INCO. Ces dilutions hors indication permettent d'injecter les mêmes volumes de l'ABO et d'ONA pour obtenir les mêmes résultats sur le plan clinique. Les rapports d'équivalence de 1:2, 1:2,5 ou 1:3 pour l'ABO (ONA:ABO) peuvent être obtenus respectivement avec les volumes suivants dans les tableaux 2.1 à 2.3.

S'il est reconstitué avec du NaCl sans agent de conservation, le produit doit être réfrigéré entre 2 et 8 °C³⁻⁵. Les produits ne doivent pas être congelés une fois reconstitués. Les monographies des produits recommandent d'utiliser les produits dans les 24 heures suivant leur reconstitution. Des études indiquent toutefois que certains de ces produits (ONA et ABO) peuvent être encore efficaces et sécuritaires pendant 2 à 6 semaines¹⁵⁻¹⁷.

Diluant pour 100 U d'ONA (BOTOX COSMÉTIQUE® ou BOTOX®) (mL)	Diluant pour 100 U d'INCO (XEOMIN COSMÉTIQUE ^{MC} ou BOTOX®) (mL)	Diluant pour une fiole de 300 U d'ABO (DYSPORT AESTHETIC ^{MC}) (mL)
1	1	1,5
2	2	3
2,5	2,5	3,75

Tableau 2.1 Dilutions régulières de 0,8 mL, 1 mL, 2 mL et 2,5 mL pour l'ONA et l'INCO afin d'obtenir la dose équivalente de 1:2 U pour l'ABO

Diluant pour 100 U d'ONA (BOTOX COSMÉTIQUE® ou BOTOX®) (mL)	Diluant pour 100 U d'INCO (XEOMIN COSMÉTIQUE ^{MC} ou BOTOX®) (mL)	Diluant pour une fiole de 300 U d'ABO (DYSPORT AESTHETIC ^{MC}) (mL)
1	1	1,2
2	2	2,4
2,5	2,5	3

Tableau 2.2 Dilutions régulières de 0,8 mL, 1 mL, 2 mL et 2,5 mL pour l'ONA et l'INCO afin d'obtenir la dose équivalente de 1:2 U pour l'ABO

Diluant pour 100 U d'ONA (BOTOX COSMÉTIQUE® ou BOTOX®) (mL)	Diluant pour 100 U d'INCO (XEOMIN COSMÉTIQUE ^{MC} ou BOTOX®) (mL)	Diluant pour une fiole de 300 U d'ABO (DYSPORT AESTHETIC ^{MC}) (mL)
1	1	1 – 1,2
2	2	2
2,5	2,5	2,5

Tableau 2.3 Dilutions régulières de 0,8 mL, 1 mL, 2 mL et 2,5 mL pour l'ONA et l'INCO afin d'obtenir la dose équivalente de 1:2 U pour l'ABO

Différentes seringues peuvent être utilisées pour administrer le produit reconstitué par voie intramusculaire pour les rides, ou par voie intradermique pour l'hyperhidrose⁷. Pour le confort du patient et pour minimiser les complications, comme les saignements, les hématomes et un positionnement accidentel du produit, il est recommandé d'utiliser une aiguille stérile courte et de petit calibre. La monographie d'ONA recommande une seringue à tuberculine de 1,0

mL, la monographie de l'ABO une aiguille de calibre 30, et la monographie de l'INCO une aiguille de calibre 30-33 de 13 mm de long³⁻⁵. En pratique clinique, une seringue BD Ultra-Fine II, soit 0,3 ou 0,5 mL, avec une aiguille courte de calibre 30 fonctionne bien. Elles sont précises et leur petit diamètre minimise l'inconfort chez le patient.

Plusieurs autres subtilités propres à l'ABO, à l'INCO et à l'ONA rendent chaque produit unique. Il est important de tenir compte

de nombreux facteurs au moment de faire le choix qui répond correctement aux besoins de chaque patient.

L'effet de l'ONA et de l'INCO commence à se faire sentir une semaine après le traitement, mais peut prendre jusqu'à deux semaines pour agir pleinement, tandis que l'effet de l'ABO commence à se faire sentir plus rapidement. Avec INCO, la relaxation musculaire peut être observée entre 2 et 5 jours après le

Nom générique	onabotulinumtoxinA	incobotulinumtoxinA	abobotulinumtoxinA
Marque	BOTOX COSMÉTIQUE®/ BOTOX®	XEOMIN COSMÉTIQUE ^{MC}	DYSPORE AESTHETIC ^{MC}
Indications homologuées par Santé Canada en dermatologie	<ul style="list-style-type: none"> Hyperhidrose axillaire chez les patients âgés de 18 ans ou plus Rides de la partie supérieure du visage, y compris les rides du front, les rides de la commissure externe des paupières et les sillons intersourciliers chez les adultes 	<ul style="list-style-type: none"> Rides horizontales du front, rides de la commissure externe des paupières et rides glabellaires modérées à sévères chez les adultes 	<ul style="list-style-type: none"> Rides glabellaires moyennement ou très prononcées et/ou rides canthales latérales (pattes-d'oise) moyennement ou très prononcées chez les adultes < 65 ans.
Contre-indications	<ul style="list-style-type: none"> Hypersensibilité Infection aux points d'injection proposés 	<ul style="list-style-type: none"> Hypersensibilité Infection ou inflammation aux points d'injection proposés Troubles généralisés de l'activité musculaire (p. ex. myasthénie grave, syndrome de Lambert Eaton) 	<ul style="list-style-type: none"> Hypersensibilité Infection aux points d'injection proposés Allergie à la protéine du lait de vache Troubles généralisés de l'activité musculaire (p. ex. myasthénie grave, syndrome de Lambert Eaton ou sclérose latérale amyotrophique)
Masse moléculaire du complexe purifié de neurotoxine	900 kD	150 kD	150 kD
Substance active	BoNT-A avec protéines complexantes	BoNT-A sans protéines complexantes	BoNT-A avec protéines complexantes
Nombre d'unités par fiole	100	100	300
Rapport posologique équivalent suggéré pour 1 U d'ONA	1 U	1:1	1:2 – 1:3
Charge protéique de la toxine dans la plage d'équivalence de dose	5 ng/ 100 U	0,6 ng/ 100 U	2,7 ng/ 300 U
Fréquence d'administration	Tous les 3 mois	Tous les 3 mois	Tous les 3 mois
Conservation avant reconstitution	-5 °C	< 25 °C	2 à 8 °C
Conservation après reconstitution avec du NaCl (sans agent de conservation)	2 à 8 °C	2 à 8 °C	2 à 8 °C
Durée de conservation (non ouvert)	36 mois	36 mois	24 mois
Durée de conservation après reconstitution	< 24 heures	< 24 heures	< 24 heures
Excipients	<ul style="list-style-type: none"> Albumine humaine : 0,5 mg NaCl : 0,9 mg 	<ul style="list-style-type: none"> Albumine humaine : 1 mg Sucrose : 4,7 mg 	<ul style="list-style-type: none"> Albumine humaine : 0,125 mg Lactose : 2,5 mg

Tableau 3 Comparaison des préparations commerciales de BoNT-A couramment utilisées au Canada^{1-5,7}
Remarques Kilodaltons (kD), unité (U), nanogramme (ng), milligramme (mg), degrés Celsius (°C)

traitement, avec un début médian après 7 jours, un effet maximal après 2 semaines et une durée de l'effet variant de 9 à 16 semaines⁴. L'ONA atténue la gravité des rides faciales pendant jusqu'à 120 jours³. L'effet de de l'ABO se fait sentir plus rapidement, avec des résultats observables dès 24 heures, et un délai médian d'apparition de trois jours⁵. Cette option répond bien aux besoins des patients qui souhaitent obtenir des résultats rapidement. L'effet du traitement par ABO dure jusqu'à 4 mois⁵. On sait que l'effet clinique de l'ABO migre localement plus loin que celui de l'ONA ou de l'INCO. Il faut donc également tenir compte de ce facteur au moment de déterminer la dose. Cette option est bonne dans les zones anatomiques où plusieurs injections sont nécessaires, mais les cliniciens doivent tenir compte du phénomène de migration dans les zones anatomiques où la propagation doit être minimisée pour éviter les complications. Selon des signalements anecdotiques, les effets de l'INCO s'estomperaient plus rapidement chez certains patients. Plusieurs études cliniques comparant l'INCO à l'ONA dans le traitement contre l'hyperhidrose axillaire, le blépharospasme, la dystonie cervicale et les rides au visage, notamment à l'aide d'un modèle bicéphale, n'ont toutefois révélé aucune différence significative en ce qui a trait à la durée de l'efficacité clinique. Les résultats varient d'un patient à l'autre et sont proportionnels à la dose. On pense également que le volume, l'angle et la vitesse d'injection, la taille de l'aiguille, la masse musculaire et l'épaisseur de la peau pourraient avoir un effet sur le champ de traitement.

L'ONA et l'ABO contiennent une protéine accessoire pour transporter la toxine botulique,

et on croit que la formation d'anticorps peut se produire au fil du temps, ce qui réduirait l'efficacité avec une utilisation continue. L'INCO, en comparaison, est commercialisé comme étant un produit qui ne contient pas d'additifs ou de protéines accessoires, car le composant thérapeutique du complexe toxinique est isolé des protéines accessoires, ce qui réduit par le fait même le risque d'immunogénicité ou de réaction allergique à la protéine accessoire présente dans d'autres produits. Malgré les différences dans les poids moléculaires des complexes protéiques purifiés, la variance de taille entre les produits est maintenant considérée comme sans conséquence en ce qui concerne les résultats clinique¹. Une étude a démontré que la dilution des complexes concentrés d'ONA et de d'ABO avec une solution saline normale entraîne la dissociation ou la libération de 85 % ou plus de la neurotoxine libre de 150 kDa, avant l'injection du traitement¹⁸. Si un patient cesse de répondre au traitement par ONA au fil du temps, il peut toujours être traité avec ABO ou INCO, et vice versa.

En ce qui a trait aux coûts, le prix de la dose d'INCO est très similaire à celui de la dose d'ONA, quoiqu'il soit généralement légèrement moins élevé. L'ABO nécessite plus d'unités du produit pour obtenir les mêmes résultats. Le coût par unité est toutefois moins que celui de l'ONA.

En résumé, l'ONA, l'ABO et l'INCO sont tous considérés comme des traitements cosmétiques sûrs et efficaces contre les rides et les asymétries faciales. De plus, avec une bonne sélection des patients, l'expérience et l'expertise de la personne qui administre l'injection, les cliniciens peuvent

être sûrs d'obtenir d'excellents résultats pour leurs patients. Ces traitements font tous appel à la même source bactérienne, le clostridium botulinum, et sont synthétisés sous forme de BoNT-A. Leur innocuité et leur efficacité ont été démontrées par des essais cliniques, la surveillance et l'approbation réglementaires, et une vaste utilisation à l'échelle internationale. Malgré des différences subtiles entre les produits offerts sur le marché, les trois produits permettent d'obtenir des résultats similaires en paralysant temporairement les muscles ciblés pour masquer les rides ou corriger l'asymétrie.

References:

1. Hexsel D, Hexsel CL. Botulinum Toxins. In: Robinson JK, ed. *Surgery of the Skin: Procedural Dermatology*, 3e. London, New York, Oxford, Philadelphia, St Louis, Sydney, Toronto: Saunders Elsevier Inc; 2015: 427-440.
2. BOTOX Cosmétique (onabotulinum-toxinA). Dépliant de conditionnement. Allergan, inc. 2020.
3. Santé Canada; 2020. Monographie de produit BOTOX COSMÉTIQUE®. Accessible à l'adresse : https://pdf.hres.ca/dpd_pm/00057424.PDF
4. Santé Canada; 2019. Monographie de produit XEOMIN COSMÉTIQUEMC. Accessible à l'adresse : https://pdf.hres.ca/dpd_pm/00051826.PDF
5. Santé Canada; 2020. Monographie de produit DYSPORT AESTHETICMC. Accessible à l'adresse : https://pdf.hres.ca/dpd_pm/00058836.PDF
6. Hexsel D, Mazzuco R, Dal'Forno T, et al.: Botulinum toxin for facial wrinkles: history and future. *Expert Rev Dermatol.* 2007; 2:417-427.
7. Santé Canada; 2021. Monographie de produit BOTOX®. Accessible à l'adresse : https://pdf.hres.ca/dpd_pm/00048145.PDF

8. Carruthers JA, Lowe NJ, Menter MA, et al.: A multicenter, double-blind, randomized, placebo-controlled study of the efficacy and safety of botulinum toxin type A in the treatment of glabellar lines. *J Am Acad Dermatol.* 2002;46:840-849 2002.
9. Ascher B, Zakine B, Kestemont P, et al.: A multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled study of efficacy and safety of 3 doses of botulinum toxin A in the treatment of glabellar lines. *J Am Acad Dermatol.* 2004;51:223-233.
10. Monheit G, Carruthers A, Brandt F, et al.: A randomized, double-blind, placebo-controlled study of botulinum toxin type A for the treatment of glabellar lines: determination of optimal dose. *Dermatol Surg.* 2007;33(Suppl. 1):51-59.
11. Hexsel D, Brum C, do Prado DZ, et al.: Field effect of two commercial preparations of botulinum toxin type A: a prospective, double-blind, randomized clinical trial. *J Am Acad Dermatol.* 2012;67(2):226-232.
12. Kerscher M, Roll S, Becker A: Comparison of the spread of three botulinum toxin type A preparations. *Arch Dermatol Res.* 2012;304:155-161.
13. Dressler D, Mander G, Fink K: Measuring the potency labelling of onabotulinumtoxinA (Botox®) and incobotulinumtoxinA (Xeomin®) in an LD50 assay. *J Neural Transm.* 2012;119(1):13-15.
14. de Moraes OO, Reis-Filho EM, Pereira LV, et al.: Comparison of four botulinum neurotoxin type A preparations in the treatment of hyperdynamic forehead lines in men: a pilot study. *J Drugs Dermatol.* 2012;11(2):216-219.
15. Hexsel DM, Almeida AT, Rutowitsch M, et al.: Multicenter, double-blind study of the efficacy of injections with botulinum toxin type A reconstituted up to six consecutive weeks before application. *Dermatol Surg.* 2003;29:523-529.
16. Hexsel D, Castro IA, Zechmeister D, et al.: Multicenter, double-blind study of the efficacy of injections with botulinum toxin A reconstituted up to six consecutive weeks before application. *Dermatol Surg.* 2004;30:823.
17. Hexsel D, Rutowitsch M, Castro LC, et al.: Blind multicenter study of the efficacy and safety of injections of a commercial preparation of botulinum toxin type A reconstituted up to 15 days before injection. *Dermatol Surg.* 2009;35:933-939.
18. Eisele KH, Fink K, Vey M, et al.: Studies on the dissociation of botulinum neurotoxin type A complexes. *Toxicon.* 2011; 57(4):555-565.