

ACADÉMIE D'ORLÉANS-TOURS
UNIVERSITÉ DE TOURS

FACULTE DE PHARMACIE « Philippe-Maupas »

Année 2020

N° 63

MÉMOIRE DE DIPLÔME D'ÉTUDES SPÉCIALISÉES

Spécialité Innovation Pharmaceutique et Recherche

TENANT LIEU DE THÈSE D'EXERCICE

pour le

DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Par

Sébastien Lalanne Parpaleix, né le 28 août 1990 à Ciboure

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 06 NOVEMBRE 2020

Facteurs de variabilité de la réponse aux bêta-lactamines

JURY

Président :

Monsieur le Professeur Daniel ANTIER (Professeur des Universités, Praticien Hospitalier)

Membres :

Monsieur le Docteur François BENEZIT (Chef de Clinique, Assistant)

Madame le Docteur Caroline PIAU (Praticien Hospitalier)

Madame le Docteur Sophie POTIN (Maitre de conférences des universités, Praticien Hospitalier)

Madame le Docteur Camille TRON (Assistant Hospitalo-Universitaire)

Madame le Docteur Marie-Clémence VERDIER (dir.) (Maitre de conférences des universités, Praticien Hospitalier)

LISTE DES ENSEIGNANTS



ANNEE : 2020 - 2021

Directrice : Pr Véronique MAUPOIL

Directeur Adjoint : M. Hervé MARCHAIS

Assesseurs : Pr Daniel ANTIER, M. Matthieu JUSTE, Pr Karine MAHEO, Mme Audrey OUDIN

ENSEIGNANTS

16 PROFESSEURS

ALLOUCHI	Hassan	CHIMIE PHYSIQUE
ANTIER	Daniel	PHARMACIE CLINIQUE
BRAND	Denys	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE
CHEVALIER	Stéphane	BIOCHIMIE GENERALE & BIOTHERAPIE
CHOURPA	Igor	CHIMIE ANALYTIQUE & HYDROLOGIE
CLASTRE	Marc	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
DIMIER-POISSON	Isabelle	IMMUNOLOGIE PARASITAIRE
EMOND	Patrick	BIOPHYSIQUE & MATHEMATIQUES
ENGUEHARD-GUEIFFIER	Cécile	PHARMACOGNOSIE
GIRAUDEAU	Bruno	BIOPHYSIQUE & MATHEMATIQUES
LANOTTE	Philippe	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE
MAHEO	Karine	PHYSIOLOGIE
MAUPOIL-DAVID	Veronique	PHARMACOLOGIE
POUPLARD	Claire	HEMATOLOGIE
THIBAUT	Gilles	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE
VIAUD-MASSUARD	Marie-Claude	CHIMIE ORGANIQUE

3 PROFESSEURS EMERITES

AGAFONOV	Viatcheslav	CHIMIE PHYSIQUE
GUILLOTEAU	Denis	BIOPHYSIQUE & MATHEMATIQUES
BARIN	Francis	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE

38 MAITRES DE CONFERENCES

ALLARD-VANNIER	Emilie	PHARMACIE GALENIQUE
ARLICOT	Nicolas	BIOPHYSIQUE & MATHEMATIQUES
AUBREY	Nicolas	BIOCHIMIE GENERALE & BIOTHERAPIE
BAKRI	Françoise	HYGIENE SANTE PUBLIQUE & TOXICOLOGIE
BESSON	Pierre	PHYSIOLOGIE
BIRER-WILLIAMS	Caroline	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
BONNIER	Franck	CHIMIE ANALYTIQUE & HYDROLOGIE
BORDY	Romain	PHARMACOLOGIE
BOUDESOCQUE-DELAYE	Leslie	PHARMACOGNOSIE
BOUVIN-PLY	Mélanie	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE
BRAIBANT	Martine	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE
BREDELOUX	Pierre	PHARMACOLOGIE
DAVID	Stéphanie	PHARMACIE GALENIQUE
DEBIERRE-GROCKIEGO	Françoise	IMMUNOLOGIE PARASITAIRE

DELAIE	Pierre-Olivier	CHIMIE THERAPEUTIQUE
DENEVAULT	Caroline	CHIMIE THERAPEUTIQUE
DOUZIECH-EYROLLES	Laurence	AFFAIRE REGLEMENTAIRE ET MANAGEMENT DE LA QUALITE
DUMAS	Jean-François	BIOCHIMIE GENERALE ET BIOTHERAPIE
GERMON	Stéphanie	IMMUNOLOGIE PARASITAIRE
GLEVAREC	Gaëlle	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
HERVE-AUBERT	Katel	CHIMIE ANALYTIQUE & HYDROLOGIE
JUSTE	Matthieu	IMMUNOLOGIE PARASITAIRE
LAJOIE	Laurie	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE
LANOUE	Arnaud	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
MARC	Jillian	BIOMOLECULES ET BIOTECHNOLOGIES VEGETALES
MARCHAIS	Hervé	PHARMACIE GALENIQUE
MAVEL	Sylvie	CHIMIE THERAPEUTIQUE
MUNNIER	Emilie	PHARMACIE GALENIQUE
OMBETTA-GOKA	Jean-Edouard	CHIMIE ORGANIQUE
ODIN	Audrey	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
PASQUALIN	Côme	PHARMACOLOGIE
PRIE	Gildas	CHIMIE ORGANIQUE
RESAUD	Renaud	CHIMIE ANALYTIQUE & HYDROLOGIE
SOUCE	Martin	CHIMIE ANALYTIQUE & HYDROLOGIE
TAUBER	Clovis	BIOPHYSIQUE & MATHEMATIQUES
VELGE-ROUSSEL	Florence	IMMUNOLOGIE PARASITAIRE
VERCOUILLIE	Johnny	BIOPHYSIQUE & MATHEMATIQUES
VERGOTE	Jackie	AFFAIRE REGLEMENTAIRE ET MANAGEMENT DE LA QUALITE
VIERRON	Emilie	BIOPHYSIQUE & MATHEMATIQUES
ZHANG	Bei-Li	PHARMACOLOGIE

1 CONTRAT D'ENSEIGNEMENT

VANIER	Antoine	BIOPHYSIQUE & MATHEMATIQUES
--------	---------	-----------------------------

1 DIRECTEUR DE RECHERCHE

CHALON	Sylvie	INSERM
--------	--------	--------

2 CHARGES DE RECHERCHE

MEVELEC	Marie-Noëlle	INRA
MOIRE	Nathalie	INRA

1 PRAG

WALTERS-GALOPIN	Susan	ANGLAIS
-----------------	-------	---------

1 PAST

JOYEUX	VINCENT	Filière Pharmacie
--------	---------	-------------------

3 AHU

FOUCAULT	Amélie	HEMATOLOGIE
FOUCAULT-FRUCHARD	Laura	PHARMACIE CLINIQUE
MARLET	Julien	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE



SERMENT DE GALIEN

En présence des Maîtres de la Faculté, je fais le serment :

D'honorer ceux qui m'ont instruit(e) dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle aux principes qui m'ont été enseignés et d'actualiser mes connaissances ;

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de Déontologie, de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers la personne humaine et sa dignité ;

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels ;

De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession ;

De faire preuve de loyauté et de solidarité envers mes collègues pharmaciens ;

De coopérer avec les autres professionnels de santé ;

Que les Hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert(e) d'opprobre et méprisé(e) de mes confrères si j'y manque.

Date : 16/09/2020

L'étudiant

Sébastien Lalanne Paroaleix

Le Doyen de la Faculté

Professeuse Véronique Maupoil

REMERCIEMENTS

A monsieur le Professeur Daniel Antier, professeur des Universités à l'UFR des sciences pharmaceutiques de Tours, praticien hospitalier au CHU de Tours : merci d'avoir accepté de présider ce jury, j'espère que ce travail vous donnera satisfaction. Veuillez trouver ici toute ma reconnaissance.

A monsieur le Docteur François Bénézit, chef de clinique des universités à l'UFR de médecine de Rennes, assistant des hôpitaux au CHU de Rennes : un grand merci pour avoir accepté de te plonger dans les profondeurs du tubule rénal, ta simplicité et ta disponibilité sont un plaisir.

A madame le Docteur Caroline PIAU, praticien hospitalier au CHU de Rennes, merci encore d'avoir accepté de faire partie de ce jury et de supporter mon obsession pour les valves cardiaques !

A madame le Docteur Sophie Potin, maître de conférence des universités à l'UFR des sciences pharmaceutiques de Rennes, praticien hospitalier au CHU de Rennes, merci d'avoir accepté d'être membre de mon jury, tu n'es pas étrangère à certains de mes choix professionnels en début d'internat.

A madame le Docteur Camille Tron, assistant hospitalo-universitaire à l'UFR de médecine de Rennes et au CHU de Rennes, merci de faire partie de ce jury, quatre ans que tu assures une bonne partie du service après-vente de mes questions pharmacologiques et analytiques, ce n'est pas négligeable !

A madame le Docteur Marie-Clémence Verdier, maître de conférence des universités à l'UFR de médecine de Rennes, praticien hospitalier au CHU de Rennes, un immense merci pour avoir dirigé cette thèse qui n'est que la partie émergée des différents projets dans lesquels tu m'encadres. Pour ta bonne humeur qui ne connaît pas la variabilité à laquelle nous sommes tellement habitués en pharmacologie, ta disponibilité et ta patience qui rendent le travail à tes côtés si agréable.

A tous les collègues du laboratoire de pharmacologie,

Vous avec qui je partage mon quotidien depuis presque 4 ans, travailler au sein d'une équipe si soudée est vraiment un privilège, les techniciens Yolande, Kilian, Patrice et Laugan, les biologistes Christelle et Fabrice, que d'échanges professionnels et humains tout simplement ! Je n'oublie pas Florian, ta rencontre à la faveur d'un cours d'UE en début d'internat a été décisive pour m'orienter vers la pharmacologie. Aux co-internes venus découvrir la pharmacologie, je pense notamment à Marion, JB, Nicolas et Youri.

Aux collègues du service de pharmacologie clinique,

Je pense à l'ensemble de l'équipe de pharmacovigilance, également à Claire et Christelle au CMG dont je garde un si bon souvenir.

Je remercie aussi le Professeur Pascal Le Corre sans qui, il faut le rappeler, je n'aurais pas pu effectuer ce parcours.

Côté recherche,

Je pense bien sûr à Gwendal, Marie Jo et Julie au CIC, Marc Le Vée et Mr Fardel à l'IRSET qui m'ont permis de découvrir le monde des transporteurs.

A ceux avec qui travail et amitié se sont mêlés, la fine équipe de l'U1230, je pense à Guillaume, Killian et Sophie, pour le temps passé à m'expliquer le b.a.-ba en microbio et biomol je ne pouvais pas rêver mieux comme arrivée en thèse ! Killian, j'ai appris à te connaître depuis nos glorieux débuts, ton amitié m'est précieuse, tes qualités humaines ne le sont pas moins, tu prends ton envol, et comment !

Aux amitiés forgées au long de l'internat,

Maxime, Mylène, vous êtes un peu plus loin maintenant mais votre présence compte réellement pour moi.

Aux amitiés bordelaises,

A Mario et Stella que d'éclats de rires, de potins divers et variés, mais aussi de conversations très sérieuses le « trio » que nous formons me plaît tant, merci d'être là.

A Thomas, notre amitié n'est pas si ancienne mais après avoir franchi quelques ronces et barbelés, on tombe sur quelqu'un de bien, puisses-tu croiser le bon jardinier,

A Marc, « survivant » de l'équipe luzienne de P1, même si nous nous voyons rarement, j'apprécie toujours autant ta compagnie, savant mélange de retenue et de décontraction.

Et bien sûr Florian, ce fil rouge de plus de dix ans d'amitié m'est particulièrement précieux, pour nos échanges mais aussi nos divergences qui m'enrichissent, ta présence, tu fais partie de ceux qui me connaissent le mieux. Internet n'existerait pas, nous aurions fait la fortune des opérateurs téléphoniques !!

Une pensée également pour Jean-Louis Crémieux-Brilhac, discret serviteur de ce pays, de la France Libre au Conseil d'Etat, ces heures d'entretien avec lui marquent une vie. Son rôle auprès de Pierre Mendès-France dans le développement d'une politique de recherche scientifique moderne ne doit pas tomber dans l'oubli.

A ma famille,

Nous ne faisons pas dans la quantité mais dans la qualité !

Aux «normands», toujours présents en cas de besoin,

A ceux qui ne sont plus là, mais qui sont malgré tout avec moi,

A mon père, qui m'a permis d'effectuer ces longues études à l'abri de tout problème matériel, je sais qu'il n'a pas eu cette chance, j'en saisis tout le privilège, merci d'être là.

A ma mère, sans qui je n'aurais jamais franchi le cap de la première année de pharma, le temps incommensurable consacré à mon éducation, à ma réussite scolaire, les valeurs qu'elle m'a transmises, je voudrais qu'elle sache à quel point sa présence aujourd'hui comme demain m'est capitale.

Sommaire

1.	Introduction.....	11
2.	Partie bibliographique.....	11
2.1	Pharmacologie.....	11
2.1.1	Mécanisme d'action	12
2.1.2	Spectre.....	14
2.1.3	Pharmacocinétique.....	19
2.1.4	Profil de sécurité.....	19
2.1.5	Modes d'administration	20
2.1.6	Lien pharmacocinétique-pharmacodynamique	21
2.2	Suivi thérapeutique pharmacologique des bêta-lactamines	25
2.2.1	Principes généraux et réalisation	25
2.2.2	Facteurs de variabilité de la réponse aux bêta-lactamines.....	26
2.2.3	Embuches analytiques.....	29
3.	Travaux personnels : étude de la variabilité pharmacocinétique lors de l'excrétion de la cloxacilline	30
3.1	Spécificités de la cloxacilline	31
3.2	Créatinine et clairance de la cloxacilline	31
3.3	Rôle du tubule rénal dans l'excrétion de la cloxacilline et conséquences sur le suivi thérapeutique pharmacologique	33
3.4	Etude <i>in vitro</i> des interactions entre cloxacilline et transporteurs.....	34
3.5	Rôle des interactions médiées par les transporteurs dans l'élimination de la cloxacilline : étude clinique rétrospective	50
3.5.1	Matériel et méthodes	50
3.5.2	Résultats	51
3.6	Discussion	57
4.	Conclusion	61

LISTE DES ABREVIATIONS :

ANAM : N-acétyl muramique

ABC : Adenosine triphosphate binding cassette

ANSM : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé

BLSE : Bêta-lactamases à spectre élargi

CMB : Concentration minimale bactéricide

CMI : Concentration minimale inhibitrice

C1G : Céphalosporines de première génération

C2G : Céphalosporines de deuxième génération

C3G : Céphalosporines de troisième génération

CG : Cockcroft et Gault

Ci₅₀ : Concentration inhibitrice 50

CKD-EPI : Chronic kidney disease epidemiology collaboration

CLR : Clairance de réabsorption tubulaire

CIS : Clairance de sécrétion tubulaire

C_{min} : Concentrations résiduelles

CMI_b : Concentration minimale inhibitrice du biofilm

CME_b : Concentration minimale éradiquant le biofilm

C_{ss} : Concentration à l'équilibre

CV : Coefficient de variation

D-ALA : D-Alanine

DBO : Diazabicyclooctanes

DFG : Débit de filtration glomérulaire

EI : Endocardite infectieuse

EUCAST : European committee on antimicrobial susceptibility testing

FDA : Food and Drug Administration

FS : Fenêtre de sélection

Fu : Fraction libre

HPLC-UV : chromatographie liquide haute performance couplée à une détection dans l'ultraviolet

HPLC-MS : chromatographie liquide haute performance couplée à une détection par spectrométrie de masse

IPP : Inhibiteur de la pompe à proton

IRA : Insuffisance rénale aiguë

KIM : Kidney injury molecule

K_m : Constante de Michaelis

KPC : *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase

MDRD : Modification of diet in renal disease

NAG : N-acétyl glucosamine

NTIA : Néphropathie tubulo-interstitielle immuno-allergique

OAT : Organic anion transporters

PLPs : Protéines liant la pénicilline

PK : Pharmacocinétique

PK/PD : Pharmacocinétique-pharmacodynamique PK/PD

RA : Résistances acquises

SAMS : Staphylocoque sensible à la méticilline

SARM : Staphylocoque résistant à la méticilline

SFAR : Société française d'anesthésie-réanimation

SFPT : Société française de pharmacologie et thérapeutique

SLC : Solute carrier

6-CF : 6-carboxy-fluoresceine

STP : Suivi thérapeutique pharmacologique

V_d : Volume de distribution

TABLE DES ILLUSTRATIONS :

Figures

Figure 1 : structure des différentes classes de bêta-lactamines	12
Figure 2 : structure de la paroi bactérienne.....	13
Figure 3 : répartition polarisée des transporteurs tubulaires rénaux selon Giacomini et al... 35	
Figure 4 : répartition des étiologies bactériennes.	51
Figure 5 : répartition des diagnostics retenus justifiant un traitement par cloxacilline.....	53
Figure 6: répartition des concentrations à l'équilibre, de la dose journalière et de la clairance de réabsorption/sécrétion de la cloxacilline au sein de la population à l'étude.....	49
Figure 7 : répartition des concentrations à l'équilibre, de la dose journalière et de la clairance de réabsorption /sécrétion de la cloxacilline lors de la première mesure des concentrations plasmatiques.	51
Figure 8 : simulations d'évolution des concentrations plasmatiques en fonction du temps selon la fraction excrétée par sécrétion tubulaire (f) selon C.A.M. van Ginneken et al.....	60

Tableaux

Tableau 1 : classification des bêta-lactamases selon Ambler.	17
Tableau 2 : concentrations cibles plasmatiques recommandées en réanimation et/ou infections sévères (selon consensus SFPT-SFAR 2018).	Erreur ! Signet non défini. 24
Tableau 3 : caractéristiques générales de la population à l'étude.	52
Tableau 4 : caractéristiques des patients à la première mesure des concentrations plasmatiques.	55

1. Introduction

Les bêta-lactamines forment une famille d'antibiotiques parmi les plus utilisées dans le monde tant en secteur hospitalier qu'en ville. Leur usage en clinique humaine est une histoire récente apparue dans les années 1940, Contrairement aux idées reçues, les bêta lactamines ne sont pas la première famille d'antibiotiques mise sur le marché en France, mais arrivent plusieurs années après la commercialisation des Sulfamides (Septoplix®, disponible en France à partir de 1936)[1].

L'histoire retient que la pénicilline est née avec la célèbre découverte de Flemming en 1928. La réalité est plus complexe car Flemming a mis en évidence un effet antibactérien du *Penicilium notatum* et suggère dans le *British Journal of Experimental Pathology* en 1929 que cet effet pourrait être attribué à une substance que ce champignon sécrète en lui donnant le nom de pénicilline. Tout le potentiel d'une telle observation n'est pas immédiatement exploité et près de dix ans s'écoulent entre la mise en évidence de l'effet de la pénicilline et son isolement. Même si sa première utilisation en clinique date de 1940, la pénicilline reste alors très difficile à produire en grande quantité.

La pénicilline devient la première d'une longue série de bêta-lactamines à être produite en masse seulement à partir de l'année 1943 sous l'impulsion du *War Production Board* aux Etats Unis[2]. A noter que sa production débute aussi à partir d'octobre 1943 en France par les laboratoires Rhône-Poulenc -alors sous étroit contrôle de la firme allemande Bayer- avec de premières utilisations chez l'Homme en janvier 1944[3].

Son usage dans l'hexagone sera cependant largement démocratisé par les armées américaines à la Libération. Entre les années 1950 et les années 1980, chaque décennie ou presque verra naître de nouvelles classes de bêta-lactamines dont certaines sont largement utilisées de nos jours.

2. Partie bibliographique

2.1 Pharmacologie

Les bêta-lactamines ont pour motif structural commun, un noyau bêta-lactame (un hétérocycle présentant une fonction amide) autour duquel vont pouvoir prendre place différents groupements qui vont caractériser les principales classes composant la famille des bêta-lactamines : pénicillines, céphalosporines, carbapénèmes et monobactames. (**figure 1**)

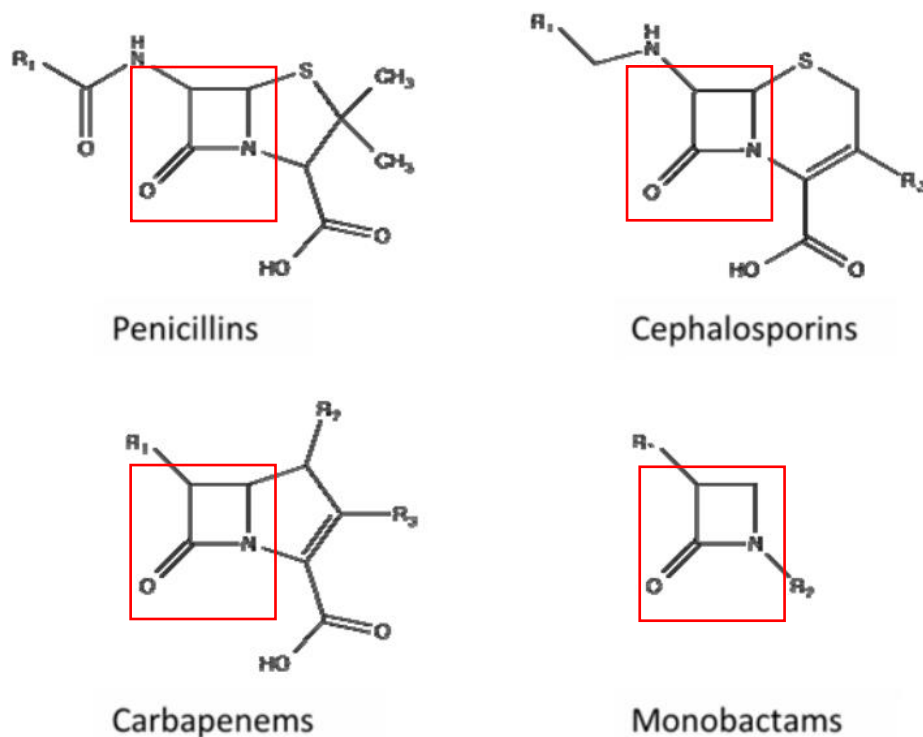


Figure 1 : structure des différentes classes de bêta-lactamines (structure commune encadrée en rouge)

2.1.1 Mécanisme d'action

L'ensemble des bêta-lactamines présente un mode d'action similaire en inhibant la synthèse de la paroi bactérienne par fixation aux protéines liant la pénicilline (PLPs). La paroi des bactéries Gram positif comme négatif présente un motif commun, à savoir le peptidoglycane. Ce peptidoglycane est par définition constitué de chaînes de glycanes et de peptides. Les glycanes sont formées par l'alternance de deux sucres, N-acetyl glucosamine (NAG) et acide N-acetyl muramique (ANAM). Par ailleurs, quatre acides aminés sont reliés à l'acide N-acetyl muramique formant des sous-unités tetrapeptidiques. Des ponts interpeptidiques relient les sous-unités tetrapeptidiques entre elles ce qui permet de relier deux chaînes de glycanes adjacentes (**figure 2**).

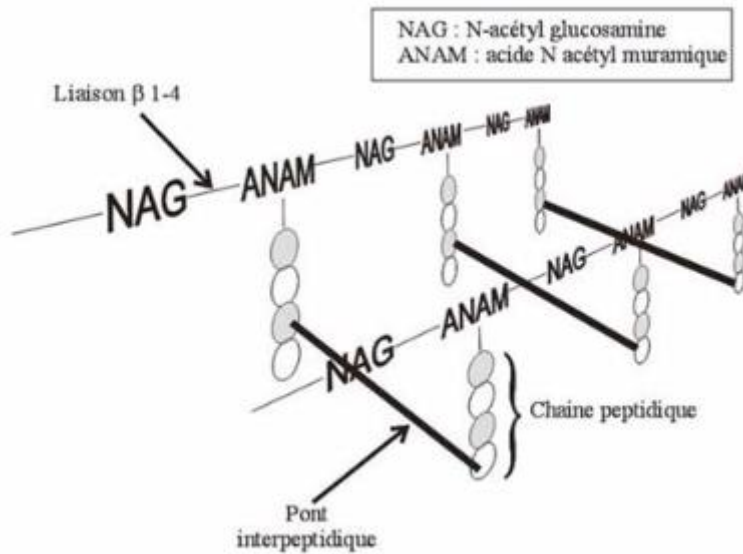


Figure 2 : structure de la paroi bactérienne[4].

La synthèse de la paroi s'effectue en trois étapes de l'intérieur vers l'extérieur des structures bactériennes : cytoplasmique, membranaire puis pariétale.

L'étape cytoplasmique consiste en la synthèse du motif du N-acétyl muramyl-pentapeptide dont le motif est terminé par deux D-Alanines (D-ALA). Cet ensemble est relié au NAG. Lors de l'étape membranaire, un transporteur lipidique permet le passage de la membrane cytoplasmique du disaccharide pentapeptidique venant d'être formé dans le cytoplasme.

La phase pariétale permet l'allongement de la chaîne de peptidoglycane en rajoutant l'ensemble N-acétyl muramyl-NAG -pentapeptide néoformé au peptidoglycane existant par rupture de la liaison D-ALA-D-ALA libérant l'énergie nécessaire à la formation d'une liaison peptidique. On obtient alors la structure, NAG-ANAM-tétrapeptide définissant le peptidoglycane.

L'enchaînement des unités disaccharidiques est permis par les transglycosylases et la réticulation de l'ensemble par les transpeptidases qui mettent en place les ponts interpeptidiques. Cette étape de synthèse des peptidoglycane est régulée par des carboxypeptidases et par les autolysines.

Les bêta-lactamines agissent précisément sur cette phase pariétale de deux manières[5] :

- Un effet bactériostatique par inhibition compétitive des transpeptidases et des carboxypeptidases. Cette inhibition est permise par l'analogie structurale entre le noyau bêta-lactame et la liaison D-ALA-DALA. Ces deux enzymes-cibles sont les PLPs
- Un effet bactéricide est obtenu par un déclenchement anarchique des autolysines

La réponse bactérienne à l'antibiotique peut prendre la forme de la synthèse d'enzymes inactivant les bêta-lactamines : les bêta-lactamases.

2.1.2 Spectre

Les bêta-lactamines dans leur ensemble possèdent un spectre large avec une activité sur les bactéries à Gram positif et négatif, les anaérobies et les spirochètes. Comme évoqué précédemment, les pénicillines, céphalosporines, carbapénèmes et monobactames se distinguent par leurs groupements chimiques autour du noyau bêta-lactame. Ces différences structurales sont à l'origine d'une variation de leurs spectres pour chaque classe[6].

Pénicillines

Les pénicillines sont caractérisées par un noyau pénème constitué par le noyau bêta-lactame et un cycle thiazolidine. Il existe trois « générations » de pénicillines

- La première génération comporte la pénicilline G molécule « historique », la benzathine benzylpénicilline, et la pénicilline V. Ces antibiotiques présentent un spectre étroit avec une activité essentiellement limitée aux Gram positif (streptocoque) et aux spirochètes. Sa seule indication reste dans le traitement des pathologies à spirochètes. Seule la pénicilline V, grâce à son groupement phoxyméthyl permet une administration par voie orale. L'ensemble de ces molécules est inactivé par les pénicillinases bactériennes.
- Les pénicillines M (pour méticilline) de deuxième génération, oxacilline et cloxacilline sont actives sur le staphylocoque sensible à la méticilline (SAMS) et le streptocoque. Elles sont actuellement indiquées dans les infections à SAMS. La présence d'un groupement isoxazoline permet une résistance aux pénicillinases des staphylocoques. La cloxacilline reste la seule pénicilline M à être administrée par voie orale.
- Les pénicillines de 3ème génération dites antipyrécyaniques comptent :
 - Les aminopénicillines (ampicilline, pro-ampicilline, amoxicilline) qui présentent un spectre élargi par rapport aux pénicillines M avec une activité sur les bactéries Gram négatif (méningocoque, entérobactéries). Elles restent inhibées par les pénicillinases bactériennes. La présence d'un groupement phénol dans la structure de l'amoxicilline permet une administration par voie orale.

- Les amidinopénicillines (pivmecillinam), présentent un spectre limité aux bacilles Gram négatif.
- Les carboxypénicillines comprennent la ticarcilline et la témocilline. La ticarcilline présente un spectre élargi par rapport aux aminopénicillines et est indiquée dans les infections sévères à bactérie Gram négatif.
La témocilline possède un spectre beaucoup plus étroit mais est la seule pénicilline présentant une activité sur les entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE). En effet elle est stable vis-à-vis de la plupart des bêta-lactamases.
- Les uréido pénicillines (pipéracilline) présentent un spectre d'activité similaire à la ticarcilline.

Céphalosporines

Les céphalosporines sont, quant à elles, caractérisées par un groupement céphème, constitué du cycle bêta-lactame associé à un cycle dihydrothiazine. Elles comptent également plusieurs générations :

- les céphalosporines de première génération (C1G), principalement représentées par la céfazoline, seule céphalosporine de première génération injectable. On retrouve d'autres antibiotiques de cette génération administrés par voie orale comme le cefaclor, le cefadroxil et la céfalexine. L'administration par voie orale est permise par le remplacement du groupement ester présent pour la cefazoline par un dérivé méthylé, évitant la dégradation en pré systémique. Cette génération présente un spectre étroit, surtout anti Gram positif, elle est inhibée par les céphalosporinases bactériennes.
- la deuxième génération de céphalosporines (C2G) comprend les céphamycines (céfoxitine, voie intra veineuse), les alpha-alcoxy iminées (céfuroxime-axetil, voie orale) et les hydroxylées (céfamandole). Leur spectre est similaire à la génération précédente avec néanmoins une résistance aux céphalosporinases augmentée. Leur usage est généralement réservé à l'antibioprophylaxie.
- les céphalosporines de troisième et quatrième génération (C3G/C4G) et apparentées sont largement utilisées en ville et à l'hôpital car elles présentent un spectre élargi aux bactéries Gram négatif avec une résistance accrue aux céphalosporinases. Elles restent inhibées par les bactéries productrices de BLSE. Elles sont disponibles par voie injectable (cefotaxime, ceftazidime, ceftriaxone, céfépime). La ceftazidime se distingue par une

action antipyocyanique. Les C3G sont également administrées par voie orale (cefixime, cefpodoxime-proxetil, cefotiam hexétil).

- Il existe une « cinquième » génération de céphalosporines, représentée par la ceftaroline et le ceftobiprole. Ces deux antibiotiques sont les seuls de leur famille à exercer une action sur les staphylocoques résistants à la méticilline (SARM). Le ceftolozane est généralement considéré comme une céphalosporine de 5^{ème} génération, il présente une activité antipyocyanique lors de résistances à la ceftazidime et à l'imipénem.

Carbapénèmes

Les carbapénèmes présentent un groupe pénème qui leur est spécifique. Il se différencie chimiquement du noyau pénème des pénicillines par un atome de carbone remplaçant un soufre et la présence d'une liaison insaturée. Ce sont des antibiotiques de réserve disponibles uniquement par voie parentérale, réservés aux infections sévères en traitement probabiliste et aux germes multirésistants pour une infection documentée. Leur spectre est étendu aux Gram positif et négatif avec une stabilité vis-à-vis des BLSE pour l'ensemble de ses représentants, imipénem, méropénem, et ertapénem dans leur ordre d'apparition. Ils se différencient des autres bêta-lactamines par un effet post-antibiotique *in vitro* exercé sur les bacilles Gram négatif, permettant une absence de croissance des bactéries à des concentrations inférieures à leur CMI[7]. L'imipénem est associé à la cilastatine pour inhiber les déhydropeptidases, enzymes physiologiquement présentes au niveau du tubule rénal, qui dégradent l'imipénem. L'ertapénem présente un spectre plus étroit car dépourvu d'activité antipyocyanique.

Monobactames

Les monobactames sont seulement représentés par l'aztréonam, antibiotique de réserve utilisé dans les infections sévères à bacille à Gram négatif. L'aztréonam est inhibé par les bactéries productrices de BLSE.

Inhibiteurs de bêta-lactamases

Les bêta-lactamases sont des enzymes bactériennes constitutives ou inductibles synthétisées par les bactéries Gram négatif. Elles sont divisées en quatre classes selon la classification d'Ambler (**tableau 1**).

Ces enzymes ouvrent le cycle bêta-lactame empêchant de ce fait l'analogie structurale avec la liaison D-ALA-D-ALA nécessaire à l'inhibition des transpeptidases et des carboxypeptidases bactériennes. Les inhibiteurs de bêta-lactamases ne sont pas des bêta-lactamines à proprement parler mais sont généralement rattachés à cette famille et utilisés en combinaison avec elles.

Les principaux inhibiteurs de bêta-lactamases sont l'acide clavulanique, associé à l'amoxicilline et la ticarcilline, le tazobactam associé à la pipéracilline et au ceftolozane. Ils sont actifs sur les bêta-lactamases de classe A. De nouveaux inhibiteurs de bêta-lactamases ont été mis sur le marché comme l'avibactam (famille des diazabicyclooctanes, DBO) en combinaison avec la ceftazidime. En perdant sa structure bêta-lactame, son activité s'est élargie aux bêta-lactamases de classe C.

Tableau 1 : classification des bêta-lactamases selon Ambler.

Classe	Enzymes (gènes)	Pénicillines	C1G	C2G/C3G	Bêta-lactamines+ inhibiteurs bêta-lactamases	Carbapénèmes
A	Pénicillinases (<i>TEM, SHV</i>)					
	Pénicillinases TRI					
	BLSE (<i>bla CTXM</i>)					
	Carbapénèmases (<i>KPC GES</i>)					
B	Carbapénèmases (<i>NDM, VIM, IMP</i>)				
C	Céphalosporinases (<i>AmpC</i>)					
D	Carbapénèmases (<i>Oxa 48</i>)		

 Classes de bêta-lactamines inactivées

Nouvelles bêta-lactamines à l'étude

Parmi les nouvelles bêta-lactamines nouvellement ou bientôt mises au marché on ne retrouve pas de nouvelles classes mais généralement une association entre principes actifs nouvellement créés et une deuxième molécule déjà existante.

- Le cefidérol est une nouvelle céphalosporine anti Gram négatif. Son mécanisme d'action est original car elle se chélate au fer ce qui conduit à son entrée dans la bactérie par l'utilisation de transporteurs actifs du fer présents dans la membrane externe de la bactérie. Elle est stable vis-à-vis des bêta-lactamases de classe A, B et D (carbapénémases) et fait actuellement l'objet de deux essais de phase III (pneumonies associées au soin et infection à bacille Gram négatif résistant aux carbapénèmes)[8].
- le sulopénem est un nouvel antibiotique de la famille des carbapénèmes actuellement en essai de phase III comparé à l'ertapénem, il possède un spectre similaire à l'ertapénem mais présenterait l'avantage d'une administration *per os*[9].
- l'association méropénem- vaborbactam qui vient d'être mise sur le marché dans le cadre d'infections compliquées à enterobactéries résistantes au méropénem. L'association méropénem-vaborbactam présente une forte activité sur les carbapénémases de type KPC (classe A) et aussi sur les bêta-lactamases de classe C.[10], [11]
- le relebactam, une nouvelle DBO est actuellement en essai de phase III combinée à l'imipénem dans la prise en charge de pneumonies à *Klebsiella pneumoniae* productrices de carbapénémases de classe A.
- l'aztreonam-avibactam est également en essai de phase III dans la prise en charge d'infections urinaires et intra abdominales compliquées. L'aztreonam n'est pas hydrolysable par les bêta-lactamases de classe B et l'avibactam ayant une activité élargie aux bêta-lactamases de classe A et C, cette association pourrait être prometteuse.

2.1.3 Pharmacocinétique

Les bêta-lactamines présentent une pharmacocinétique (PK) variable selon les molécules. L'absorption de celles administrables par voie orale reste variable avec une biodisponibilité de 40 à 100% selon les molécules. Leur fixation aux protéines (l'albumine, principalement) varie entre 2 et 90%. Cette fixation détermine la fraction libre du médicament, c'est-à-dire la fraction généralement considérée comme pharmacologiquement active. Ce critère sera à prendre en compte dans l'étude de la relation pharmacocinétique-pharmacodynamique (PK/PD) mais aussi dans le caractère dialysable ou non de ces antibiotiques. La distribution est également caractérisée par le volume de distribution. Celui-ci reste relativement faible pour l'ensemble des bêta-lactamines, témoignant d'une diffusion tissulaire plutôt faible (0,1 à 0,5 L/Kg). En effet ces molécules sont pour la plupart d'entre elles hydrophiles, leur diffusion en dehors du compartiment plasmatique reste donc limitée. Cette diffusion tissulaire est faible en particulier dans l'œil, la prostate et le LCR dans un contexte non inflammatoire[6].

La majorité des bêta-lactamines reste très peu métabolisée hormis l'amoxicilline, la pipéracilline, la ceftriaxone, le cefotaxime et l'oxacilline. La majorité subit une excrétion rénale par filtration glomérulaire et réabsorption/sécrétion tubulaire sous forme inchangée. Leur demi-vie d'élimination est généralement très courte, une à deux heures chez un patient normorénal, sauf pour la ceftriaxone qui présente une $\frac{1}{2}$ vie de 8 heures. Ce critère sera également décisif pour l'étude du lien PK/PD.

2.1.4 Profil de sécurité

Les bêta-lactamines présentent des effets indésirables limités au regard de l'importante fréquence de leur utilisation en ville comme à l'hôpital. Leur consommation est en légère augmentation depuis 2004 en ville et reste stable en établissements de santé français avec un usage prépondérant des pénicillines dans les deux cas. On note cependant une forte augmentation de l'usage de la ceftriaxone et des carbapénèmes en milieu hospitalier entre 2004 et 2014. Les taux de déclaration d'effets indésirables sont estimés entre 0,5 et 2,1/100,000 doses journalières dispensées[12]. Les bêta-lactamines figurent donc parmi les antibiotiques pour lesquels sont *déclarés* le moins d'effets indésirables, mais ces données ne précisent pas l'origine hospitalière ou non des déclarations.

Les principaux effets indésirables rencontrés sont une hypersensibilité immédiate due au caractère immunogène du groupe bêta-lactame. Elle est traduite le plus souvent par des lésions dermatologiques (rash, prurit, urticaire), un érythème maculo-papuleux retrouvé pour les pénicillines A, plus rarement un choc anaphylactique. Le pourcentage de réactions d'hypersensibilité croisées entre pénicillines et céphalosporines (dus à des analogies entre les chaînes latérales substituant le cycle bêta-lactame) est désormais estimé à moins de 10% [13].

Des troubles neurologiques de type abaissement du seuil épileptogène, myoclonie, encéphalopathie (caractérisée à électroencéphalogramme) et confusion sont également documentés. Le mécanisme à l'origine de la neurotoxicité serait dû à un antagonisme compétitif au niveau du récepteur à l'acide gamma-aminobutyrique GABA-a[14]. Ces troubles neurologiques surviennent en particulier en cas d'insuffisance rénale, l'insuffisance rénale amenant mécaniquement à une augmentation de l'exposition aux bêta-lactamines. Les données de pharmacovigilance mettent en évidence un signal de neurotoxicité qui concerne plus particulièrement la céfépime, laquelle a fait l'objet de deux alertes de l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM) en 2014 et 2018[15], [16].

Les bêta-lactamines peuvent être aussi à l'origine d'une insuffisance rénale aiguë (IRA) et sont à l'origine d'une néphropathie tubulo-interstitielle immuno-allergique (NTIA) [17]. Une toxicité tubulaire directe (considérée comme *dose dépendante*) associée ou non à une précipitation tubulaire a été documentée pour les pénicillines notamment l'amoxicilline et la cloxacilline[18]. Ainsi le surdosage peut être la cause comme la conséquence d'une IRA. Ces IRA sont généralement réversibles. Il est important de noter que ces atteintes rénales sont retrouvées chez des patients traités par bêta- lactamines à fortes doses par voie parentérale. L'association de bêta-lactamines avec des inhibiteurs du système rénine/angiotensine et d'aminosides augmente le risque de survenue d'une IRA.

Des troubles digestifs sont également rapportés (nausées, vomissements, diarrhées). Ces effets digestifs sont plus marqués avec les bêta-lactamines à large spectre par perturbation de l'équilibre de la flore intestinale.

2.1.5 Modes d'administration

Lors de leur administration par voie parentérale, les bêta-lactamines peuvent être administrées selon plusieurs schémas. Ceci est permis par une demi-vie d'élimination courte pour la plupart d'entre elles (1 à 2h chez un patient normorénal) mais aussi par leur mode d'action dit temps-dépendant (voir infra). Une administration dite discontinue consiste à fractionner la dose totale journalière en plusieurs administrations réalisées à un intervalle régulier (par exemple toutes les 8 heures soit trois fois par jour avec chaque administration dite en « flash »).

Cette administration discontinue peut être optimisée par l'usage de plusieurs perfusions prolongées au cours de la journée tout en conservant la même dose journalière (par exemple toutes les 8 heures, injection sur 2 heures).

La dernière forme d'optimisation de l'administration peut être réalisée sous forme de perfusion continue, en général à la seringue électrique, de telle sorte que l'administration soit répartie sur la journée entière et à débit constant (exemple toutes les 8 heures sur 8 heures). Bien qu'atteignant l'état d'équilibre pharmacocinétique en moins de 12 heures

après l'initiation du traitement, une dose de charge est recommandée pour atteindre le plus rapidement possible des concentrations à l'équilibre.

La question de l'administration continue soulève celle de la stabilité des bêta-lactamines dans leur solvant tout au long de la perfusion. La température est un facteur décisif dans leur stabilité. Il a été mis en évidence que la plupart d'entre elles est stable dans les solvants de perfusion habituels à 25°C pendant 24 heures. Cependant ce n'est pas le cas des carbapénems pour lesquels une administration en continu nécessite une réfrigération de la poche dans laquelle ils sont préparés/reconstitués[19].

2.1.6 Lien pharmacocinétique-pharmacodynamique

2.1.6.1 Lien concentration-efficacité

Pré clinique

L'ensemble des bêta-lactamines présente une activité bactéricide, inoculum et temps-dépendante. Cette activité s'exerce principalement sur des bactéries en phase de croissance[20], [21].

Le critère pharmacocinétique-pharmacodynamique (PK/PD) prédictif de leur activité est donc « *le temps au cours duquel la concentration plasmatique reste supérieure à [...] un multiple de la concentration minimale inhibitrice (CMI).* » Ce critère « *s'exprime en pourcentage de l'intervalle du temps entre deux administrations $\%T > k \times CMI$* » [22].

La fraction d'antibiotique pharmacologiquement active étant la fraction libre, il convient de la prendre en compte. Le critère PK/PD est donc pondéré par la valeur f , qui est le pourcentage de fraction libre de l'antibiotique, et devient donc **$f\%T > k \times CMI$** .

Il faut d'abord noter que ce caractère bactéricide et temps-dépendant a été mis en évidence sur des modèles précliniques d'infection en répétant plusieurs expériences de quantification de la charge bactérienne au cours du temps pour une concentration en antibiotique donnée (courbes de bactéricidie). Dans certains cas, ces données ont été confirmées par la mise en évidence de la corrélation entre mortalité animale et temps où les concentrations en antibiotiques sont supérieures à la CMI du germe[21].

La question soulevée par la mise en évidence de ce lien PK/PD est la valeur du pourcentage de temps effectif à passer au-dessus de la CMI ainsi que la valeur du multiple de la CMI k . Cette valeur dépend non seulement de la nature de l'antibiotique mais aussi du germe incriminé. Différentes valeurs ont été proposées par Mac Gowan *et al.* pour des modèles d'infection à entérobactéries, à *Pseudomonas aeruginosa*, pneumocoque, *Haemophilus influenzae* et *Staphylococcus aureus*[23]. Ces données indiquent $f\%T > CMI$ de 35% pour les pénicillines, 45% pour les céphalosporines et 15% pour les carbapénèmes. En d'autres

termes, au moins 35% de l'intervalle entre deux administrations à une concentration libre supérieure à la CMI est nécessaire à l'obtention d'un effet bactéricide pour les pénicillines etc. Sinnollareddy *et al.* mettent en évidence un effet bactéricide sur modèle animal pour une cible %fT > CMI de 50 % pour les pénicillines, 60-70 % pour les céphalosporines et 40 % pour les carbapénèmes[24].

Si l'étude du lien concentration-efficacité évalue en premier lieu la bactéricidie comme critère d'efficacité, la notion de bénéfice écologique doit être également prise en compte. En effet, au sein d'une population bactérienne, il existe naturellement une sous-population de mutants résistants qui présente une CMI plus élevée que celle mesurée dans la population prise dans sa globalité. Cette CMI prend le nom de concentration de prévention de sélection des mutants résistants, ou CPM. La CPM n'est actuellement pas mesurée en routine. L'écart entre la CMI et la CPM détermine une fenêtre de sélection (FS), ce qui signifie que si la concentration en antibiotique se situe dans la zone de la FS, une sous-population résistante est susceptible d'être sélectionnée[19]. Des ratios de concentrations résiduelles (C_{min}) par la CMI (C_{min}/CMI) prévenant la sélection de sous populations résistantes ont été identifiés *in vitro* en particulier pour le méropénem sur le bacille pyocyanique où un rapport $C_{min}/CMI \geq 6.2$ prévenait l'émergence de population résistante[25]. Les recommandations actuelles visent une cible entre 4 et 8 fois la CMI 100% du temps pour la prévention de l'apparition de sous populations bactériennes résistantes aux bêta-lactamines[22].

Clinique

Si de nombreux articles dans la littérature sont consacrés à l'atteinte d'un objectif PK/PD fixé pour les bêta-lactamines, les données permettant de faire un lien direct entre atteinte de cet objectif et un critère d'amélioration clinique sont moins nombreuses dans les essais. Plusieurs auteurs ont néanmoins mis en évidence dans des essais prospectifs en service de réanimation un lien entre une amélioration clinique et l'atteinte d'une cible de concentration entre 4 et 6 fois la CMI 100% du temps[26]–[28].

D'autres auteurs ont trouvé une association significative entre des concentrations supérieures à la CMI 100% du temps et une amélioration clinique pour la ceftazidime et la céfépime et également pour l'amoxicilline, la pipéracilline et le méropénem[29]–[31].

Une cible PK/PD, basée sur des critères pharmacodynamiques cliniques, supérieure à celle mise en évidence dans les modèles préclinique, est expliquée selon certains auteurs par une diffusion dans le liquide interstitiel limitée chez l'humain, ce qui nécessite une exposition plasmatique supérieure pour obtenir une exposition similaire à celle dans le tissu interstitiel de l'animal, chez lequel l'atteinte des objectifs PK/PD a été démontrée[32]. En cohérence avec ces études, les données issues d'un consensus d'experts pharmacologues et réanimateurs fixent donc un objectif PK/PD de concentrations libres entre 4 et 8 fois la CMI 100 % du temps chez les patients de réanimation (**tableau 2**), d'autant que l'échec à atteindre cet objectif dès les premières 48 heures de traitement est souvent associé à un risque d'échec clinique[6]. Un récent consensus de sociétés européennes de réanimation, de

microbiologie et de pharmacologie fixe une cible de concentration plus faible, recommandant des concentrations libres entre 50 et 100 % du temps supérieures à la CMI pour les bêta-lactamines[33].

Plusieurs auteurs ont discuté de l'apport de la perfusion prolongée ou continue pour atteindre ces cibles. Ainsi des études de pharmacocinétique de population mettent en évidence que pour des bactéries présentant des CMI élevées, les objectifs PK/PD étaient atteints uniquement lors d'une administration en continu. C'est le cas pour le méropénem et l'imipénem pour lesquels cette problématique est d'autant plus importante qu'il s'agit d'antibiotiques de réserve[34], [35].

Par ailleurs, la récente méta-analyse réalisée dans le cadre de la prise en charge réanimatoire d'infections respiratoires de Lee *et al.* met en évidence une amélioration significative de la guérison clinique chez des patients présentant les scores cliniques les plus graves dans le groupe traité par bêta-lactamines en perfusion continue versus en perfusion discontinue[36]. Des résultats proches ont été mis en évidence pour la pipéracilline/tazobactam en perfusion prolongée de 4 heures où Fan *et al.* ainsi que Lodise *et al.* ont mis en évidence une mortalité significativement inférieure dans le groupe de patients les plus graves comparé au bras traité par des perfusion courtes[37], [38]. L'ensemble de ces résultats, confirmé par une méta-analyse[39], met donc en évidence un bénéfice clinique à l'administration des bêta-lactamines en perfusion prolongée permettant d'atteindre les objectifs PK/PD ce au moins pour les patients réanimatoires les plus sévères.

2.1.6.2 Lien concentration-toxicité

La neurotoxicité des bêta-lactamines est bien documentée [40]–[42]. Un lien concentration-neurotoxicité (confusion, convulsion, encéphalopathie, myoclonies) a été décrit pour certaines bêta-lactamines administrées par voie intraveineuse et permet de fixer des concentrations maximales à ne pas dépasser pour éviter tout risque de toxicité neurologique. La céfépime est à ce jour la bêta-lactamine pour laquelle le lien concentration-toxicité est le mieux établi et aussi avec le seuil de concentrations toxiques les plus faibles. Une augmentation du risque de 50% de développer une neurotoxicité imputée aux bêta-lactamines a été mise en évidence pour des concentration supérieures à 35mg/L pour une administration continue de céfépime[43].

Pour des administrations en discontinu, les valeurs-seuils de concentrations résiduelles sont de 64 mg/L pour le méropénem, 360 mg/L pour la piperacilline et 100 mg/L pour la ceftriaxone[44], [45].

Ces données montrent une hétérogénéité dans les valeurs des concentrations associées à une augmentation de la toxicité pour les différentes bêta-lactamines. Une détérioration de l'état neurologique a été mise en évidence pour des concentrations libres en pipéracilline-tazobactam, ceftazidime, céfépime et méropénem supérieures à 8 fois la CMI critique du *Pseudomonas aeruginosa* chez les patients réanimatoires[46]. Le consensus actuel reste en faveur d'une cible maximale de 8 fois la CMI 100% du temps en réanimation[22].

Ces données, ainsi qu'un signal de toxicité tubulaire directe dose-dépendante, sont à prendre en compte dans la balance bénéfice/risque dès l'initiation du traitement par voie injectable. Ainsi, tout patient bénéficiant d'un traitement par bêta-lactamines à forte dose par voie intraveineuse devrait être considéré comme à risque de surdosage, justifiant le suivi de ses concentrations en antibiotiques[47], [48].

Tableau 2 : concentrations cibles plasmatiques recommandées en réanimation et/ou infections sévères (selon consensus SFPT-SFAR 2018 [22]).

Bêta-lactamine	Concentrations totales recommandées à l'équilibre	CMI seuil
Amoxicilline	40-80 mg/L	8mg/L (<i>E. coli</i>)
Céfazoline	40-80 mg/L	2 mg/L (<i>S. aureus</i>)
Céfépime	5-35 mg/L	1 mg/L (Entérobactéries)
Cefotaxime	25-60 mg/L	4 mg/L (<i>S. aureus</i>)
Ceftazidime	35-80 mg/L	8mg/L (<i>P.aeruginosa</i>)
Ceftriaxone	20-100 mg/L	0,5 mg/L (<i>E. cloacae</i>)
Cloxacilline	20-50 mg/L	0,5 mg/L (<i>S. aureus</i>)
Ertapénème	5-10 mg/L	0,125 mg/L (<i>H. influenzae</i>)
Imipénème	2.5-5 mg/L	0,5 mg/L (<i>E. coli</i>)
Méropénème	8-16 mg/L	2mg/L (<i>P.aeruginosa</i>)
Pipéracilline	80-160 mg/L	16mg/L (<i>P.aeruginosa</i>)

2.2 Suivi thérapeutique pharmacologique des bêta-lactamines

2.2.1 Principes généraux et réalisation

Le suivi thérapeutique pharmacologique (STP) est un outil d'individualisation des traitements pratiqué par les laboratoires de pharmacologie biologique. Il s'agit donc d'une activité de biologie médicale spécialisée. Le STP consiste à mesurer les concentrations sanguines des médicaments administrés à un patient pour adapter si besoin les posologies, en regard d'une zone thérapeutique préalablement établie.

La pratique du STP repose sur plusieurs principes :

- il existe un rationnel scientifique permettant d'établir un lien concentration-effet
- la marge thérapeutique du médicament dosé est étroite
- le médicament présente une variabilité pharmacocinétique inter et intra-individuelle
- il n'y a pas de relation directe entre la dose et l'effet clinique

Les bêta-lactamines ont longtemps été considérées comme un mauvais candidat pour le STP, cependant l'amélioration des connaissances sur la variabilité de leur exposition, l'individualisation croissante des prises en charge, la description d'effets indésirables liés à l'atteinte de concentrations élevées ainsi que l'émergence des résistances bactériennes ont permis le développement du suivi de leurs concentrations comme outil d'optimisation thérapeutique ces dernières années[49].

Ce STP est réalisé depuis plusieurs années au laboratoire de pharmacologie du CHU de Rennes. Il consiste concrètement à mesurer les concentrations en bêta-lactamines dans le plasma de patients la plupart du temps quand elles sont administrées par voie intra veineuse. Le prélèvement est effectué à l'état d'équilibre pharmacocinétique, en résiduelle dans le cas d'administration discontinue et en cours de perfusion lors d'administration en continu. Le STP y est préférentiellement pratiqué dans des situations cliniques particulières : services de réanimation, infection graves et profondes, bactéries multirésistantes, patient obèse, patient insuffisant rénal ou dialysé, inefficacité de l'antibiothérapie, suspicion de surdosage.

Le STP se place donc au cœur d'un système « médicament-patient-infection ». Ces trois composantes sont chacune à l'origine de nombreuses sources de variabilité de la pharmacocinétique et de la réponse aux anti-infectieux.

2.2.2 Facteurs de variabilité de la réponse aux bêta-lactamines

2.2.2.1 Pharmacocinétiques

Une importante variabilité pharmacocinétique des bêta-lactamines est désormais clairement décrite pour les patients recevant ces antibiotiques par voie injectable. Cette variabilité, déjà observée pour certaines molécules comme le céfépime et la céfazoline chez le volontaire sain[50], [51] est particulièrement marquée chez les patients hospitalisés en service de réanimation, où elles sont très largement utilisées[22], [52].

Dans un contexte d'infection sévère, de nombreuses variations physiopathologiques sont à l'origine de variations, parfois dans un court intervalle de temps, de la distribution et de l'élimination des bêta-lactamines.

Les deux grandeurs caractérisant la distribution sont concernées par ces changements : le volume de distribution (Vd) et la fixation aux protéines plasmatiques. Lors d'un sepsis ou d'un choc septique le volume de distribution est augmenté par hyperperméabilité capillaire, ce qui conduit à une diminution de l'exposition aux bêta-lactamines dans le compartiment sanguin. Parallèlement, les patients de réanimation sont susceptibles de présenter un syndrome de réponse inflammatoire systémique ou de graves brûlures. Ces différentes situations peuvent entraîner une diminution de l'albuminémie, ou une brusque augmentation de sa concentration lors d'une supplémentation. Ces variations entraînent des fluctuations dans la fraction libre des bêta-lactamines, ces variations sont d'autant plus importantes qu'elles concernent des bêta-lactamines fortement fixées aux protéines[53], [54]. Cette variation de la fraction libre est un des principaux paramètres influençant le Vd puisque seule la fraction libre peut diffuser dans les tissus. La problématique de la diffusion au site infectieux concerne particulièrement les infections profondes dans lesquelles les bêta-lactamines ont une indication : infections ostéo-articulaires, endocardites, médiastinites, système nerveux central etc. Cette question est d'autant plus problématique que les bêta-lactamines sont globalement hydrophiles et présentent des capacités intrinsèques de diffusion limitées (on estime par exemple la diffusion des bêta-lactamines dans l'os à 30%), ce qui nécessite l'administration de fortes doses dans ces contextes infectieux dans l'espoir d'une concentration *in situ* suffisante. Cependant il ne faut pas considérer une augmentation de la fraction libre comme un phénomène indépendant des autres paramètres pharmacocinétiques, en effet, une augmentation de la fraction libre augmentera la clairance de filtration glomérulaire du médicament.

Les variations de l'élimination des bêta-lactamines concernent principalement le rein puisqu'elles sont très peu métabolisées et excrétées par voie rénale. Les patients réanimatoires sont particulièrement susceptibles d'être à risque de défaillance d'organes (un épisode d'IRA survient en moyenne chez la moitié des patients de réanimation). Une augmentation de la clairance rénale des patients de réanimation a été aussi décrite[55], possiblement due à un effet du syndrome inflammatoire systémique sur la vascularisation rénale, on parle de patients hyperfiltrants (clairance de la créatinine supérieure à 130 ml/min). A ces processus physiopathologiques s'ajoutent les diverses techniques de prise en charge réanimatoire (remplissage vasculaire, épuration extra rénale, usage de catécholamines etc.), sources supplémentaires de variations des concentrations en antibiotique.

Ces variations physiopathologiques ont des conséquences directes sur l'exposition aux bêta-lactamines, des différences inter-individuelles des concentrations plasmatiques allant jusqu'à un facteur 100 ont été décrites[30], [56]. Le Vd et la clairance de bêta-lactamines fortement liées aux protéines plasmatiques comme l'ertapénem et la ceftriaxone ont été multipliés par 2 chez des patients en hypoalbuminémie [57]. Les patients hyperfiltrants ont par ailleurs été associés à une augmentation du risque de retrouver des concentrations inférieures à la limite de quantification des méthodes de dosage employées[58], [59].

La variabilité des concentrations en bêta-lactamines mise en évidence par le STP est principalement attribuable à des variations de la distribution et de l'excrétion des bêta-lactamines, cependant le STP étant basé sur l'atteinte de cibles PK/PD, d'autres paramètres rentrent en jeu dans l'interprétation des concentrations mesurées.

2.2.2.2 Pharmacodynamiques

La CMI

Situé au cœur de l'ensemble patient-pathologie-bactérie, le STP doit prendre en compte la concentration minimale inhibitrice (CMI) du germe identifié. Il s'agit de la concentration en antibiotique la plus faible à partir de laquelle la croissance de la bactérie est inhibée. Cette détermination n'est valable que dans l'hypothèse d'une infection documentée pour laquelle une CMI a été mesurée. Dans le cas d'un traitement probabiliste et/ou en l'absence de CMI, il convient de considérer la valeur maximale de la CMI correspondant au seuil de sensibilité du germe suspecté. Cette valeur critique épidémiologique est déterminée par l'Eucast à l'échelle européenne (EUropean Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) et fait l'objet d'une réévaluation annuelle. Cette valeur critique correspond à « la CMI la plus élevée des souches sans mécanisme de résistance phénotypiquement exprimé. »

La détermination de la CMI du germe identifié fait également partie de l'individualisation de la prise en charge du patient. Celle-ci peut être demandée par le prescripteur après identification du germe à l'examen direct et détermination de son profil de sensibilité à

l'antibiogramme. Elle peut être mesurée en milieu liquide (gamme de différentes concentrations croissantes en antibiotique), ou en milieu solide sur gélose ou bandelettes (E-test®). La CMI caractérise donc une bactériostase et non une bactéricidie comme la Concentration Minimale Bactéricide (CMB) et le rapport CMB/CMI.

Par ailleurs la valeur de la CMI n'est pas à considérer comme une valeur fixe et invariable. L'obtention de celle-ci doit être considérée comme une probabilité de distribution au sein d'une souche identifiée pour un essai donné[60]. Une augmentation significative des CMI tout au long de l'infection a été démontrée chez *Pseudomonas aeruginosa* pour la céfépime, le méropénem et la ceftazidime par exemple[61].

La CMI ne permet pas de reproduire avec exactitude l'interaction antibiotique-bactérie telle qu'elle survient chez le patient. Certaines espèces productrices de biofilm pourraient ainsi avoir des CMI très différentes sous forme sessiles, la méthode de détermination de la CMI étant réalisée avec des bactéries planctoniques. La détermination de la concentration minimale inhibitrice du biofilm (CMIb) ou éradiquant le biofilm (CMEb) pourraient représenter des alternatives à la méthode classique mais il n'existe pas de réel consensus méthodologique à ce jour[62].

Un dernier élément source de variabilité lors de la détermination de la CMI, est la stabilité de l'antibiotique lui-même. En effet la CMI nécessitant 24h d'incubation à 37°, les bêta-lactamines sont susceptibles de se dégrader dans ces conditions expérimentales. Il a été démontré que l'amoxicilline présentait une demi-vie de dégradation sur gélose Mueller Hinton de 27h à 37° et d'environ 24h pour le cefotaxime par méthode de microdilution sériée[63]. Cette dégradation surestime donc les valeurs des CMI. Cependant, la CMI est une donnée pharmacodynamique qui résulte de l'effet obtenu au bout de 24 heures d'incubation et ne peut être réduite à la concentration en bêta-lactamines mesurée au bout de ces 24 heures. Par ailleurs, cette dégradation entraîne une mésestimation de la CMI de l'ordre d'une dilution au ½ au maximum, approximation considérée comme acceptable au regard des variabilités propres à la détermination de la CMI[63].

Les résistances acquises

Plusieurs mécanismes de résistances peuvent contribuer à la variabilité pharmacodynamique des bêta-lactamines. Ces résistances acquises (RA) vont caractériser une souche de bactérie et non un groupe, c'est ce qui les différencie des résistances naturelles qui sont intrinsèques. Les mécanismes de RA les plus fréquents sont la synthèse d'enzymes (« attaque »), une modification de la cible (« évitement »), l'imperméabilité/efflux (« élimination »).

On retrouve chez les bactéries Gram positif :

- Une modification des PLPs par acquisition d'une cassette de gènes codant pour une PLP (PLP2A) du SARM (conférant une résistance à l'ensemble des bêta-lactamines sauf la ceftaroline et le ceftobiprole), une hyperproduction de la PLP5 d'*Enterococcus faecium*
- l'acquisition de gènes de PLP « mosaïques » (exemple, sensibilité diminuée à la pénicilline chez *Streptococcus pneumoniae*)
- une production de pénicillinases (*Staphylococcus aureus*)

Chez les Gram négatif :

- Une diminution de la perméabilité membranaire (exemple, mutation de la porine D2 de *Pseudomonas aeruginosa*)
- Une synthèse d'enzymes d'inactivation : pénicillinase, céphalosporinase, bêta-lactamase à spectre étendu, carbapénémases
- La surexpression d'une pompe d'efflux (exemple, pompe MexAB-OprM de *Pseudomonas aeruginosa*)

2.2.3 Embuches analytiques

Aux facteurs clinico-biologiques cités ci-dessus s'ajoutent des facteurs purement analytiques pouvant contribuer à la variabilité des concentrations plasmatiques.

Variabilité issue de l'étape pré-analytique

La stabilité physicochimique des bêta-lactamines est un facteur à prendre en considération. La température est un paramètre majeur influençant la stabilité de cette classe d'antibiotiques. Dans le cas du STP le problème de la dégradation des antibiotiques intervient dès le moment de la réalisation du prélèvement sanguin destiné au STP. Les données de stabilité dans le sang total sont disponibles pour la pipéracilline, la ceftazidime, le méropénem, la flucloxacilline, le tazobactam, le céfépime [64]–[66]. A température ambiante, et pour des concentrations habituellement retrouvées chez les patients indiquent une stabilité des échantillons au moins pendant 4 heures avant l'apparition d'une dégradation significative (perte supérieure à 15% de la concentration initiale) pour ces bêta-lactamines. Le méropénem et la pipéracilline apparaissant comme les plus sensibles dans ces conditions selon certains auteurs[64]. Dans une matrice plasmatique, seul l'imipénem présente une sensibilité plus importante à la température avec une dégradation supérieure à 15% à 4 heures dans ces conditions[67]. Le méropénem et la pipéracilline restent également les plus sensibles bien que stables après 4 heures à température ambiante[64], [65].

Très concrètement cela signifie que le délai maximal entre le prélèvement et sa prise en charge pré analytique (centrifugation, aliquotage) doit être de 4 heures si le prélèvement est conservé à température ambiante.

Variabilité issue de l'étape analytique

Le choix des méthodes de dosage des bêta-lactamines peut générer une variabilité analytique. Les méthodes actuelles de référence sont basées sur les techniques séparatives : chromatographie liquide couplée à une détection dans l'ultraviolet (HPLC-UV) ou couplée à une détection par spectrométrie de masse (HPLC-MS). Ces méthodes ont progressivement remplacé les dosages par méthodes microbiologiques, par nature moins précises et plus lentes.

Le consensus d'experts pharmacologues et réanimateurs préconise l'usage des méthodes séparatives[22]. En effet, ces méthodes chromatographiques permettent un dosage précis des concentrations en antibiotiques avec un délai de rendu plus rapide que les méthodes microbiologiques auparavant utilisées. Ces méthodes séparatives font l'objet de critères de validation précis, édictés par les autorités de santé[68]. Parmi les critères de validation de ces méthodes, la justesse et la précision sont évaluées lors de la validation de la répétabilité et de la reproductibilité de l'analyse et ne doivent pas varier de plus de 15% au maximum. Le STP des bêta-lactamines au CHU de Rennes suit donc l'ensemble des critères de validation[69]. Dans des contextes cliniques où la réactivité est un paramètre clé, la recherche d'un délai de rendu de résultat encore plus rapide reste une gageure, ce délai est actuellement de 48 heures en semaine au CHU de Rennes.

3. Travaux personnels : étude de la variabilité pharmacocinétique lors de l'excrétion de la cloxacilline

La variabilité pharmacocinétique des bêta-lactamines a été largement documentée chez le patient en réanimation puisqu'il s'agit sans doute de la situation où la pharmacocinétique et la pharmacodynamie sont dans des conditions les plus défavorables au patient. Les deux principales recommandations issues de sociétés savantes européennes en faveur d'une pratique systématique du STP des bêta-lactamines concernent *a fortiori* le patient de réanimation[22],[33]. Cependant le STP est également pratiqué dans d'autres services, en particulier lors du traitement d'infections profondes. C'est notamment le cas du STP de la cloxacilline qui représente environ 20% des dosages de bêta-lactamines au laboratoire de pharmacologie au CHU de Rennes.

3.1 Spécificités de la cloxacilline

La cloxacilline est un antibiotique largement utilisé à l'hôpital notamment par voie injectable (Orbénine®). La présence d'un atome de chlore dans sa structure permet également son administration par voie orale en ville. Cependant la cloxacilline injectable est peu utilisée aux Etats-Unis, ses dérivés dicloxacilline et flucloxacilline lui sont préférés, ce qui limite les données disponibles dans la littérature à son sujet.

La cloxacilline est une pénicilline M principalement utilisée dans la prise en charge des infections à SAMS et streptocoques, elle est indiquée dans nombreuses infections (pulmonaires, ORL, cutanées...) mais aussi dans le cas d'infections profondes (ostéo-articulaire, méningite, endocardite, arthrite septique...) qui nécessitent l'administration de fortes doses (jusqu'à 150 mg/kg/J) parfois pendant plusieurs semaines, conduisant fréquemment à l'administration de 12 g/jour pendant 4 à 6 semaines, dans le cas des endocardites infectieuses (EI) par exemple. La diffusion méningée de la cloxacilline est mal documentée mais semble être faible comparée à la céfazoline [70].

Nous nous focaliserons sur l'usage de la cloxacilline par voie intra veineuse car, comme évoqué, le STP concerne cette voie d'administration.

La cloxacilline présente un volume de distribution compris entre 0,1 et 0,2L/Kg, elle se distingue des autres bêta-lactamines par sa fixation aux protéines très élevée (90 à 98%) ce qui engendre une fraction libre beaucoup faible que la plupart des autres bêta-lactamines. Certains auteurs avancent que la fixation aux protéines serait concentration dépendante pour la cloxacilline ce qui entrainerait une augmentation de la fraction libre avec l'augmentation des concentrations en cloxacilline[71] (loi d'action de masse). Sa distribution dans le liquide interstitiel et sa diffusion tissulaire restent faible[72]. Elle n'est que très peu métabolisée et ses métabolites représentent 9% de l'activité antibactérienne environ chez le volontaire sain[73]. Elle est excrétée à 80% par le rein sous forme inchangée et à 20% par la bile[74]. Sa demi-vie d'élimination est très courte chez le volontaire sain (45 min). Compte tenu de ses caractéristiques pharmacocinétiques, la fonction rénale apparaît donc être une des principales hypothèses pouvant expliquer la variabilité pharmacocinétique de la cloxacilline.

3.2 Créatinine et clairance de la cloxacilline

La clairance rénale de la cloxacilline est calculée selon l'application de la formule :

$$\text{Clairance rénale} = DFG \times Fu + ClS - ClR \text{ (Formule 1)}$$

Avec *DFG*: débit de filtration glomérulaire, *Fu*: fraction libre (%), *ClS*: clairance de sécrétion tubulaire, *ClR*: clairance de réabsorption tubulaire. La clairance de filtration glomérulaire de la cloxacilline est estimée par le DFG pondéré par la fraction libre.

Les données chez le volontaire sain indiquent une clairance rénale de 102 ± 22 mL/min. Le débit de filtration glomérulaire de ces volontaires sains est estimé à 141 ± 32 mL/min, soit une clairance de filtration glomérulaire de la cloxacilline d'environ 7 mL/min pour une fraction libre de 5% [75]. Ce résultat souligne la part minoritaire de la filtration glomérulaire dans le processus d'excrétion rénale de la cloxacilline. Compte-tenu d'un tel résultat, il paraît opportun de discuter de la pertinence du biomarqueur « créatinine » pour l'estimation du DFG puisque la clairance de filtration glomérulaire de la cloxacilline est estimée par le DFG.

Le DFG est impossible à estimer directement et nécessite l'utilisation de biomarqueurs. Les méthodes par usage des biomarqueurs exogènes non réabsorbés ni sécrétés (inuline, iohexol) restent les méthodes de références mais sont complexes à réaliser en pratique. La créatinine est un des biomarqueurs endogènes de la filtration glomérulaire et permet par le calcul de sa clairance une estimation du DFG. Plusieurs méthodes de détermination de la clairance de la créatinine existent. Les méthodes les plus fréquemment utilisées en routine privilégient l'utilisation d'une formule basée sur la créatinine sérique, l'âge, le sexe et l'ethnie comme la « CKD-EPI » (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration), la formule « MDRD » (Modification of Diet in Renal Disease) basée sur la créatinine sérique, l'albuminémie, l'urée sanguine et l'âge ainsi que celle de Cockcroft et Gault (CG) utilisant la créatinine sérique, le poids, l'âge et le sexe.

Les conclusions du rapport de la HAS concernant l'estimation du DFG soulignent que l'usage de la formule CG est basé sur des méthodes de dosage de la créatinine qui ne sont plus pratiquées et ne devrait plus être utilisée (alors qu'il s'agit de la méthode de référence pour l'adaptation des posologies dans le résumé des caractéristiques du produit). Les formules CKD-EPI et MDRD bien qu'imparfaites sont équivalentes pour un DFG inférieur à 60 mL/mn, la formule CKD-EPI prenant l'avantage sur la formule MDRD pour un DFG supérieur à 60 mL/min en terme de justesse et de précision. L'analyse des études comparant à la fois l'estimation du DFG par les formules MDRD et CKD par rapport au DFG mesuré met en évidence un biais inférieur à 20% [76].

L'ensemble de ces formules s'appuie sur la mesure de la créatinine sérique. Le type de méthode de dosage de la créatininémie (colorimétrique, enzymatique, chromatographique) mais aussi des variations physiopathologiques (masse musculaire, fonction hépatique) peuvent également expliquer des variations de la mesure de la clairance de la créatinine. Les recommandations de la HAS sont en faveur de l'usage de la formule CKD-EPI avec un dosage de la créatinine par méthode enzymatique. Il n'y a actuellement pas de consensus sur l'usage d'une formule chez les patients de plus de 75 ans.

Le consensus d'expert pharmacologues et réanimateurs (SFPT-SFAR) recommande chez le patient réanimatoire l'utilisation de la mesure directe de la clairance de la créatinine à partir de la détermination de la créatinine sérique et urinaire suivant la formule

$$\text{Clairance de la créatinine} = \frac{UxV}{P} \text{ (Formule 2)}$$

Avec U : créatininurie, V : volume de recueil des urines et P : créatininémie. En effet ce type de recueil a mis en évidence une meilleure sensibilité et spécificité à détecter un sous dosage en bêta-lactamine que par le calcul de la clairance de la créatinine[77]. Au-delà de la complexité du recueil urinaire, certains auteurs avancent que ce mode de calcul par le recueil pourrait amener à une surestimation du DFG car la créatinine subit également une sécrétion tubulaire[78], [79].

L'ensemble des recommandations indique des différences significatives entre les méthodes d'estimation de la clairance de la créatinine mais en dépit de nombreux biais, l'estimation du DFG par la clairance de la créatinine reste incontournable. Aussi approximative soit-elle, l'estimation du DFG ne peut expliquer que la valeur de la clairance rénale de la cloxacilline soit si supérieure à celle de sa clairance de filtration glomérulaire. Cette donnée est donc bien en faveur d'un processus d'excrétion tubulaire substantielle de la cloxacilline.

3.3 Rôle du tubule rénal dans l'excrétion de la cloxacilline et conséquences sur le suivi thérapeutique pharmacologique

A la différence de la filtration glomérulaire qui est un phénomène de diffusion passive, l'excrétion tubulaire est un mécanisme saturable. L'excrétion tubulaire des bêta lactamines est documentée dans la littérature mais rarement quantifiée. Pour les pénicillines, seule la pénicilline G est documentée comme excrétée à 90% par sécrétion tubulaire[80]. La cloxacilline ayant une liaison aux protéines supérieure à la pénicilline G on peut supposer que le tubule joue un rôle prépondérant dans son excrétion. Les données chez le volontaire sain[75] confirment le rôle de la réabsorption/sécrétion tubulaire avec une clairance liée au tubule estimée à 95 mL/min soit 93% d'excrétion tubulaire. Ces 95 mL/min concernent l'ensemble de la réabsorption et de la sécrétion, la clairance de réabsorption venant en soustraction puisqu'il s'agit d'un phénomène opposé à la clairance de sécrétion (voir **formule 1**). Ce résultat chez le volontaire sain souligne donc l'importance de la sécrétion tubulaire de la cloxacilline.

La cloxacilline étant quasi-exclusivement éliminée par voie rénale, l'estimation du débit de filtration glomérulaire par la clairance de la créatinine pourrait suffire à déterminer l'exposition à la cloxacilline mesurée lors du STP. Or la corrélation entre ce paramètre et les concentrations plasmatiques mesurées est imparfaite. Chez le volontaire sain Nauta *et al.*[75] avaient déjà souligné l'absence de corrélation entre la clairance rénale de la cloxacilline et la clairance de la créatinine. Chez le patient de soin critique, Visser *et al.*[81] ont montré une accumulation en cloxacilline administrée en perfusion continue chez des

patients de soins critiques, sans parvenir à prédire les concentrations des patients présentant une clairance de la créatinine inférieure à 10mL/min suggérant l'importance d'un mécanisme de sécrétion tubulaire. Cette faible corrélation a été directement mise en évidence par Verdier *et al.* avec un coefficient de corrélation inférieur à 0,4[82].

Ces constatations viennent en appui des récentes alertes concernant des cas rapportés de neurotoxicité parfois mortels suite à un surdosage en bêta-lactamines pour lesquelles il est pourtant prévu une adaptation des posologies à la fonction rénale[15]. Ces surdosages imprévisibles, malgré une adaptation *a priori* de la posologie en fonction de la clairance de la créatinine, contribuent à s'interroger sur l'impact de la fonction tubulaire sur l'élimination des bêta-lactamines et plus précisément sur l'impact de la fonction tubulaire sur la variabilité des concentrations en cloxacilline observées lors du STP.

3.4 Etude *in vitro* des interactions entre cloxacilline et transporteurs

Les processus de réabsorption et de sécrétion tubulaire sont des phénomènes de transport actif assurés par des transporteurs membranaires. Ces transporteurs pourraient contribuer à expliquer les variabilités de l'exposition de bêta-lactamines pour lesquelles le caractère substrat vis-à-vis de ces transporteurs est avancé. Ces transporteurs sont présents notamment dans divers tissus dont le tubule rénal, plus particulièrement au niveau du tubule contourné proximal. Ils prennent en charge des molécules exogènes et endogènes et se classent en deux groupes : les SLC (SoLute Carrier) qui permettent principalement l'influx d'un xénobiotique et ABC (ATP Binding Cassette) qui permettent l'efflux du substrat en dehors de la cellule. Parmi les SLC, il existe plusieurs familles dont les SLC22 à laquelle appartiennent les OAT (Organic Anion Transporters). L'épithélium tubulaire étant polarisé, ces transporteurs sont présents soit au niveau du pôle basal (interface sang/cellule tubulaire) soit au niveau du pôle apical (interface cellule tubulaire/urine). (**figure 3**)

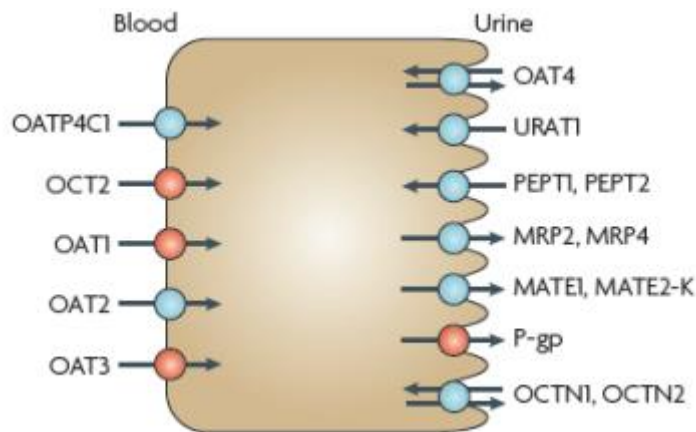


Figure 3 : répartition polarisée des transporteurs tubulaires rénaux selon Giacomini et al.[83].

Parmi les dix isoformes connues chez l'Homme, il existe OAT1 et OAT3 que l'on retrouve en particulier au niveau du tubule rénal. OAT1 et OAT3 se situent au niveau du pôle basolatéral (sanguin) du tubule et contribuent à la première étape de la sécrétion tubulaire des médicaments qu'ils transportent. Plusieurs interactions entre des bêta-lactamines et le probénécide, un uricosurique, puissant inhibiteur des transporteur OAT, ont déjà mis en évidence en clinique des augmentations d'exposition de 137% pour la céfoxitine et de 65% pour la pipéracilline par exemple[84]. Dans une situation d'infections complexes, de telles variations d'exposition peuvent avoir un impact clinique. Cependant les données d'interaction médiées par le transport tubulaire, tant cliniques qu'*in vitro*, ne sont pas documentées pour la cloxacilline alors qu'elle est particulièrement utilisée en Europe. Cette absence de données dans la littérature nous a conduits à étudier l'interaction de la cloxacilline avec les transporteurs OAT sur modèle cellulaire surexprimant ces transporteurs. Ces résultats ont fait l'objet d'un article original, accepté le 31 janvier 2020 dans la revue *Fundamental & Clinical Pharmacology*.

RESUME

La cloxacilline (CLX) est un antibiotique largement utilisé en milieu hospitalier dont la pharmacocinétique présente une large variabilité inter-individuelle. Afin de mieux comprendre l'origine de cette variabilité, l'identification précise des mécanismes impliqués dans l'élimination de la CLX est nécessaire, en particulier lors de l'étape de sa sécrétion tubulaire dont on sait qu'elle joue un rôle notable dans l'excrétion de la CLX. Ce travail a donc été conçu pour évaluer les interactions de la CLX avec les transporteurs d'anions organiques (OAT) 1 et OAT3 qui sont majoritairement impliqués dans la sécrétion tubulaire. Ces transporteurs sont situés au niveau du pôle basolatéral des cellules proximales rénales, ils contribuent donc à la première étape de la sécrétion tubulaire des xénobiotiques qui en sont les substrats. Les interactions entre CLX et OAT ont été évaluées sur des lignées de cellules HEK sur-exprimant OAT1 et OAT3. Il a ainsi été mis en évidence que la CLX inhibait l'activité d'OAT1 et OAT3. La concentration inhibitrice 50 (CI_{50}) de la cloxacilline vis-à-vis d'OAT3 (13 μM) mesurée s'est révélée largement inférieure à celle d'OAT1 (560 μM) ; l'inhibition de l'activité de ces transporteurs pourrait donc être cliniquement significative pour OAT3, mais pas pour OAT1. Il a ensuite été démontré que la CLX était substrat d'OAT3, et non d'OAT1. La mise en évidence d'une saturation du transport de la CLX par OAT3 ($K_m=10,7 \mu M$) est compatible avec une potentielle saturation *in vivo* de ce processus à des concentrations plasmatiques élevées en CLX. OAT3 est donc susceptible de jouer un rôle central dans la sécrétion rénale de CLX. Les polymorphismes génétiques d'OAT3 ainsi que la présence concomitante de médicaments inhibant l'activité *in vivo* d'OAT3 doivent être considérés comme des sources potentielles de variabilité pharmacocinétique de la CLX.

ORIGINAL
ARTICLE

doi: 10.1111/fcp.12541

Differential interactions of the β -lactam cloxacillin with human renal organic anion transporters (OATs)

Sébastien Lalanne^{a*}, Marc Le Vée^b, Florian Lemaitre^a,
Pascal Le Corre^c, Marie-Clémence Verdier^a, Olivier Fardel^c

^aLaboratory of Experimental and Clinical Pharmacology, Faculty of Medicine, Univ Rennes, CHU Rennes, 2 avenue du Professeur Léon Bernard F-35000, Rennes, France

^bInserm, EHESP, Irset (Institut de Recherche en Santé, Environnement et Travail) - UMR_S 1085, Univ Rennes, 2 avenue du Professeur Léon Bernard F-35000, Rennes, France

^cInserm, EHESP, Irset (Institut de Recherche en Santé, Environnement et Travail) - UMR_S 1085, CHU Rennes, Univ Rennes, 2 avenue du Professeur Léon Bernard F-35000, Rennes, France

Keywords

Cloxacillin,
drug transporter,
drug,
drug interaction,
OAT1,
OAT3,
Pharmacokinetics,
renal secretion

Received 20 September 2019;
revised 27 January 2020;
accepted 31 January 2020

*Correspondence and reprints:
sebastien.lalanne@chu-rennes.fr

ABSTRACT

The β -lactam penicillin antibiotic cloxacillin (CLX) presents wide inter-individual pharmacokinetics variability. To better understand its molecular basis, the precise identification of the detoxifying actors involved in CLX disposition and elimination would be useful, notably with respect to renal secretion known to play a notable role in CLX elimination. The present study was consequently designed to analyze the interactions of CLX with the solute carrier transporters organic anion transporter (OAT) 1 and OAT3, implicated in tubular secretion through mediating drug entry at the basolateral pole of renal proximal cells. CLX was first shown to block OAT1 and OAT3 activity in cultured OAT-overexpressing HEK293 cells. Half maximal inhibitory concentration (IC₅₀) value for OAT3 (13 μ M) was however much lower than that for OAT1 (560 μ M); clinical inhibition of OAT activity and drug–drug interactions may consequently be predicted for OAT3, but not OAT1. OAT3, unlike OAT1, was next shown to mediate CLX uptake in OAT-overexpressing HEK293 cells. Kinetic parameters for this OAT3-mediated transport of CLX (K_m = 10.7 μ M) were consistent with a possible in vivo saturation of this process for high CLX plasma concentrations. OAT3 is consequently likely to play a pivotal role in renal CLX secretion and consequently in total renal CLX elimination, owing to the low plasma unbound fraction of the antibiotic. OAT3 genetic polymorphisms as well as co-administered drugs inhibiting in vivo OAT3 activity may therefore be considered as potential sources of CLX pharmacokinetics variability.

INTRODUCTION

Cloxacillin (CLX) is a β -lactam antibiotic frequently used in hospital centers for methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA) infection treatment. High intravenous CLX dosages are recommended for therapeutic management of deep infections (i.e., osteomyelitis, septic arthritis, and endocarditis) [1,2], up to 6 weeks of treatment. Intravenous CLX pharmacokinetics in healthy volunteers is well characterized, with a

reported volume of distribution ranging from 0.1 to 0.2 L/kg [3,4], a limited metabolism [5], a high binding to plasma proteins (>90%) and a major renal excretion (representing 80% of the administered dose [6]). CLX is excreted through both glomerular filtration and tubular secretion [7]. As for other β -lactams, CLX presents a wide inter-individual PK variability in patients, particularly in intensive care units [8,9]. This variability can lead to an increased risk of antibiotic resistance in case of underexposure, as well as

neurotoxicity or renal impairment in case of overexposure [10]. The sole glomerular filtration rate is not sufficient to explain the inter-individual variability in CLX clearance [11]. CLX tubular mechanisms of excretion may therefore have a role in this variability and should consequently be accurately characterized.

The tubular secretion of drugs involves solute carriers (SLC) transporters, such as organic anion transporter (OAT) 1 and OAT3, located at the basolateral pole of proximal tubular cells [12] and implicated in the entry of anionic drugs into proximal tubular cells from blood, that is, the first step of the renal drug secretion [13]. Another OAT, that is, OAT4, is located at the apical pole of renal tubular cells and is thought to act as a bi-directional transporter involved in both drug secretion and reabsorption [14]. OAT1 and OAT3, unlike OAT4, are considered major renal drug transporters by drug regulatory agencies such as the US Food and Drug Agency (FDA) [12]. They have therefore to be studied during the development of new molecular entities, together with the renal organic cation transporter 2 (OCT2), also located at the vascular pole of proximal tubular cells [15]. OAT1 and OAT3 have been previously shown to handle various β -lactams, especially cephalosporins [16]. Murine Oat3 has been reported to transport CLX in a sole study [17], but the known inter-species-related differences with respect to handling of substrates by transporters [17–19] preclude to definitively assume that the antibiotic is a substrate for human OAT3. The potential transport of CLX by human OAT1 and the interactions between CLX and OAT4 are not known. The present study was consequently designed to precisely characterize the potential interactions of CLX with human OAT1, OAT3, and OAT4.

MATERIAL AND METHODS

Chemicals

CLX was supplied by Santa-Cruz (Heidelberg, Germany). Amitriptyline, 6-carboxy-fluorescein (6-CF), omeprazole, lansoprazole, pantoprazole, furosemide, probenecid, oxacillin, and acetonitrile were provided by Sigma-Aldrich (Saint-Quentin Fallavier, France). Phosphate-buffered saline (PBS) was from Euromedex (Souffelweyersheim, France) and 4-(4-(dimethylamino)styryl)-N-methylpyridinium (DiASP), formic acid and methanol from Fischer

Scientific (Waltham, USA). [6, 7- 3 H (N)]-Estrone-3-sulfate (E3S) (specific activity = 54 Ci/mmol) was provided by Perkin-Elmer (Boston, MA, USA).

Cell culture

HEK293 cells stably overexpressing human OAT1 (HEK-OAT1 cells), human OAT3 (HEK-OAT3 cells), human OAT4 (HEK-OAT4 cells), or human OCT2 (HEK-OCT2 cells), as well as control HEK-MOCK cells, have been previously described [20]. They were cultured as previously reported by Jouan *et al.* [21]. Briefly, cells were routinely cultivated in DMEM (Dulbecco Modified Eagle medium) containing 4.5 g/L D-glucose, 2 mM glutamine, 110 mg/L pyruvate, supplemented with 10% fetal calf serum, 20 UI/mL penicillin, 20 μ g/mL streptomycin, 1% non-essential amino acids and 1 μ g/mL insulin. For transport assays, cells were plated in multiwell poly-D-lysine plates (Biocoat[®] (Horsham, USA)) and experiments were realized when cells reached confluency.

SLC transporter inhibition assay

OAT1 and OAT3 activities were assessed by determining accumulation of the reference substrate 6-CF (used at 10 μ M), in the presence or absence of the OAT reference inhibitor probenecid (used at 2 mM) [22]. OAT4 activity was investigated with E3S as a reference substrate (used at 4.4 nM), in the presence or absence of 4 mM probenecid, whereas that of OCT2 was measured with 10 μ M DiASP and 200 μ M amitriptyline, as reference substrate and inhibitor, respectively. Incubation with substrates was performed at 37°C for 5 min in a defined transport-assay medium, composed of 5.3 mM KCl, 1.1 mM, KH_2PO_4 , 0.8 mM MgSO_4 , 1.8 mM CaCl_2 , 11 mM D-glucose, 10 mM HEPES, and 136 mM NaCl and adjusted to pH = 7.4 [23]. After incubation, cells were washed with PBS and lysed in water. Reference substrate accumulations were assessed by spectrofluorimetry (for 6-CF and DiASP), using a SpectraMax Gemini[®] spectrofluorimeter (Molecular Devices, San Jose, CA, USA), or scintillation counting (for E3S). They were normalized according to protein concentration determined by the Bradford method [24]. Values were finally expressed as percent of substrate accumulation as compared to control cells not exposed to drugs. For OAT activities, data were alternatively expressed as percentage of transporter activity, as previously reported [20] and using the following equation:

$$(\%) \text{OAT transporter activity} = \frac{(\text{Accumulation}_{\text{Drug}} - \text{Accumulation}_{\text{Reference inhibitor}})}{(\text{Accumulation}_{\text{Control}} - \text{Accumulation}_{\text{Reference inhibitor}})} \times 100 \quad (1)$$

where $\text{Accumulation}_{\text{Drug}} = \text{Accumulation of reference substrate in the presence of the investigated drug}$, $\text{Accumulation}_{\text{Reference inhibitor}} = \text{Accumulation of reference substrate in the presence of the reference inhibitor (probenecid)}$ and $\text{Accumulation}_{\text{ntrol}} = \text{Accumulation of reference substrate in control untreated cells}$.

Half maximal inhibitory concentration (IC_{50}) of drugs toward OAT3 and OAT4 activities were determined by modeling the inhibitory effects of various drug concentrations through a 4 parameters-based nonlinear regression approach with Prism 5.0 software (GraphPad Software, La Jolla, CA, USA), using the following equation:

$$A = \frac{100}{1 + 10^{((I] - \text{LogIC}_{50})/n)}} \quad (2)$$

with A = percentage of transporter activity determined using equation (1), $[I]$ = drug concentration and n = Hill slope describing the steepness of the curve.

Cloxacillin accumulation assay

HEK-OAT1, HEK-OAT3, and HEK-MOCK cells were incubated with CLX in transport-assay medium defined above in the presence of absence of 2 mM probenecid for 5 min at 37°C. After washing with PBS, cells were lysed in water. Cell lysate was next diluted in acetonitrile and incubated at 4°C for 30 min. Each sample was mixed and centrifuged at 11 180 *g* for 10 min. CLX concentration in the supernatant was finally measured using a liquid chromatography–tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) method. The chromatographic system consisted of a Surveyor Autosampler and an HPLC Surveyor MS pump interfaced with a triple-stage quadrupole spectrometer Finnigan™ TSQ Quantum Discovery Max (Thermo Fisher, San Jose, CA, USA) with subsequent detection by electrospray ionization source (ESI+). The compounds were separated on an Atlantis® T3 analytical column (100 × 2.1 mm, 3 μm, Waters, Saint-Quentin, France). The mobile phase consisted of an aqueous 0.1% formic acid solution and methanol in a linear gradient. The $[M + H]^+$ transition m/z 436.0 → m/z 276.9 was monitored for CLX and 402.0 m/z → 159.9 m/z for oxacillin used as internal standard. CLX concentrations were finally normalized to cellular protein content determined by the Bradford method.

Kinetics parameters (V_{max} and K_m) of OAT3-mediated CLX uptake rate were determined with the Prism 5.0 software according to the following Michaelis–Menten equation:

$$V = \frac{V_{\text{max}}[S]}{K_m + [S]} \quad (3)$$

where V = OAT3-mediated transport rate of CLX (corresponding to uptake rate of CLX in HEK-OAT3 cells minus that in control HEK-MOCK cells), $[S]$ = CLX concentration, K_m = Michaelis–Menten affinity constant and V_{max} = maximum uptake rate.

Prediction of drug–drug interactions

Prediction of drug–drug interactions due to inhibition of OAT activity was performed using the criterion of the FDA, that is, a compound, called perpetrator and known to inhibit *in vitro* OAT activity, is likely to inhibit *in vivo* OAT if the ratio $I_{\text{max,u}}/\text{IC}_{50} \geq 0.1$, with $I_{\text{max,u}}$ = the maximal unbound plasma concentration of the interacting drug. Marketed OAT3 inhibitors were identified from the survey of the scientific literature and selected based on their frequency of combination with cloxacillin. The proton pump inhibitors lansoprazole, omeprazole, and pantoprazole and the loop diuretic furosemide were selected for testing. Their IC_{50} values toward OAT3 activity were determined as determined above allowing to next calculate the ratio $I_{\text{max,u}}/\text{IC}_{50}$ and to consequently predict the risk of clinical drug–drug interaction.

Statistical analysis

Quantitative data were usually expressed as means ± standard error of mean (SEM) from at least three independent experiments, each being performed in triplicate. Data were analyzed through analysis of variance (ANOVA) followed by Dunnett's or Tukey's post hoc test, using Prism 5.0 software. The level of significance was $P < 0.05$.

RESULTS

Inhibition of human OAT activities by cloxacillin

The effects of 0.1 mM and 1 mM CLX on accumulation of the reference OAT substrate 6-CF were assessed in HEK-OAT1 and HEK-OAT3 cells. As shown in Figure 1a, 0.1 mM CLX moderately inhibited accumulation of 6-CF in HEK-OAT1 cells (by 35.7 ± 16.0 %) and more markedly in HEK-OAT3 cells (by 92.6 ± 4.6 %). At the higher concentration of 1 mM, CLX almost fully inhibited accumulation of 6-CF in HEK-OAT1 and HEK-OAT3 cells, to a level close to that observed in the

presence of the reference OAT inhibitor probenecid (Figure 1a). CLX used at 0.1 mM and 1 mM also markedly reduced accumulation of the OAT4 substrate E3S in HEK-OAT4 cells (Figure 1a), but failed to impair uptake of the OCT2 substrate DiASP in HEK-OCT2 cells (Figure S1). The inhibitory effects of CLX toward OAT activities were next shown to be concentration-dependent, with IC_{50} values ranging from 0.013 mM (for OAT3 inhibition) to 0.021 mM (for OAT4 inhibition) and 0.56 mM (for OAT1 inhibition) (Figure 1b).

Cloxacillin accumulation assays

Cloxacillin uptake in HEK-OAT1, HEK-OAT3, and HEK-MOCK cells was analyzed in the presence or absence of probenecid. Cells were incubated with 100 μ M CLX. HEK-OAT1 cells display similar accumulation of CLX than HEK-MOCK cells (Figure 2a). By contrast, HEK-OAT3 cells exhibit enhanced uptake of CLX (by a 2.16-fold factor) when compared to HEK-MOCK cells (Figure 2a). Probenecid significantly decreased CLX accumulation in HEK-OAT3 cells (by 70%), but not in HEK-MOCK and HEK-OAT1 cells (Figure 2a). Accumulation of CLX in HEK-OAT3 cells was finally shown to be saturable; the kinetic parameters were as follows: $K_m = 10.66 \pm 5.38$ μ M and $V_{max} = 0.34 \pm 0.05$ μ M/min/mg protein (Figure 2b).

Prediction of OAT-related drug–drug interactions for cloxacillin

For clinical drug–drug interactions (DDIs) involving OATs, CLX may act as perpetrator, that is, it impairs OAT-mediated handling of a co-administered drug, or as a victim, that is, OAT3-mediated transport of CLX is inhibited by a co-administered drug. Prediction of CLX acting as a perpetrator was performed using the criterion of the FDA. For this purpose, the upper limit of the target range of CLX steady-state concentrations in case of continuous administration (50 μ g/mL), and a CLX unbound fraction of 0.1, has been considered for retaining 10 μ M as an approximated $I_{max,u}$ for CLX [25]. Using this CLX concentration, OAT3 and OAT4, unlike OAT1, may be blocked by CLX in vivo (Table I). For CLX as a victim, all drugs known to in vivo inhibit OAT3 activity according to the FDA criteria reported above may impair OAT3-mediated transport of CLX. Examples of marketed drugs acting as OAT3 inhibitors are listed in Table SI. To preliminary address the potential relevance of these listed drugs as causing clinical inhibition of OAT3-mediated renal transport of CLX, we focused on proton pump inhibitors and the loop diuretic furosemide. Lansoprazole,

omeprazole, pantoprazole, and furosemide were confirmed to inhibit OAT3 activity, using 6-CF as a generic substrate for OAT3; IC_{50} values ranged from 1.7 μ M (for lansoprazole) to 8.7 μ M (for omeprazole) (Figure S2). However, when applying the FDA criterion for predicting potential in vivo inhibition of OAT3, only lansoprazole may cause DDI for OAT3 substrates like CLX (Table SII).

DISCUSSION

The data reported in the present study indicated that CLX interacts with human OAT transporters. CLX notably blocks OAT1 and OAT3 activity, but not that of OCT2, ruling out therefore the hypothesis of a non-specific and overall inhibition of SLC transporters by the β -lactam. Human OAT1 activity is less sensitive to CLX inhibition than that of OAT3, that is, CLX IC_{50} toward OAT1 is 42.3-fold higher than that for OAT3, consistently with previously results on murine Oat [17]. When applying the FDA criteria for transporter-related clinical DDI, OAT3 inhibition by CLX, unlike that of OAT1, is likely to have clinical consequences in terms of DDI. Co-administration of drug substrates for OAT3 with CLX may therefore theoretically deserve caution in terms of potential DDI. This point is noteworthy because OAT3 transports various marketed drugs, including other β -lactam antibiotics like benzylpenicillin and cefazolin, angiotensin-converting enzyme inhibitors like captopril, angiotensin II receptor blockers like olmesartan, loop diuretics (furosemide, bumetanide), HMG CoA reductase inhibitors (statins), and nonsteroidal anti-inflammatory drugs [13]. Nevertheless, no clinical DDI has been yet reported for these drugs as victims and CLX as a perpetrator, according to the best of our knowledge. This lack of in vitro to in vivo translation could be due to the fact that OAT3-mediated secretion of these OAT3 drug substrates may contribute in only a minor way to their pharmacokinetics. In the same way, inhibition of OAT4 by CLX is predicted to potentially occur in vivo, but is unlikely to be clinically relevant because no DDI has been up to now attributed to this transporter; OAT4 is therefore not considered as priority by drug agencies. The potent in vitro inhibition of OAT4 by CLX reported in our study however confirms that β -lactams can block this transporter, as already demonstrated for penicillin G [26] and various cephalosporins [19].

OAT3, unlike OAT1, was found to transport CLX. OAT3 has already been shown to preferentially handle cephalosporins [16], thus highlighting the major role of this OAT isoform in the renal secretion of β -lactams.

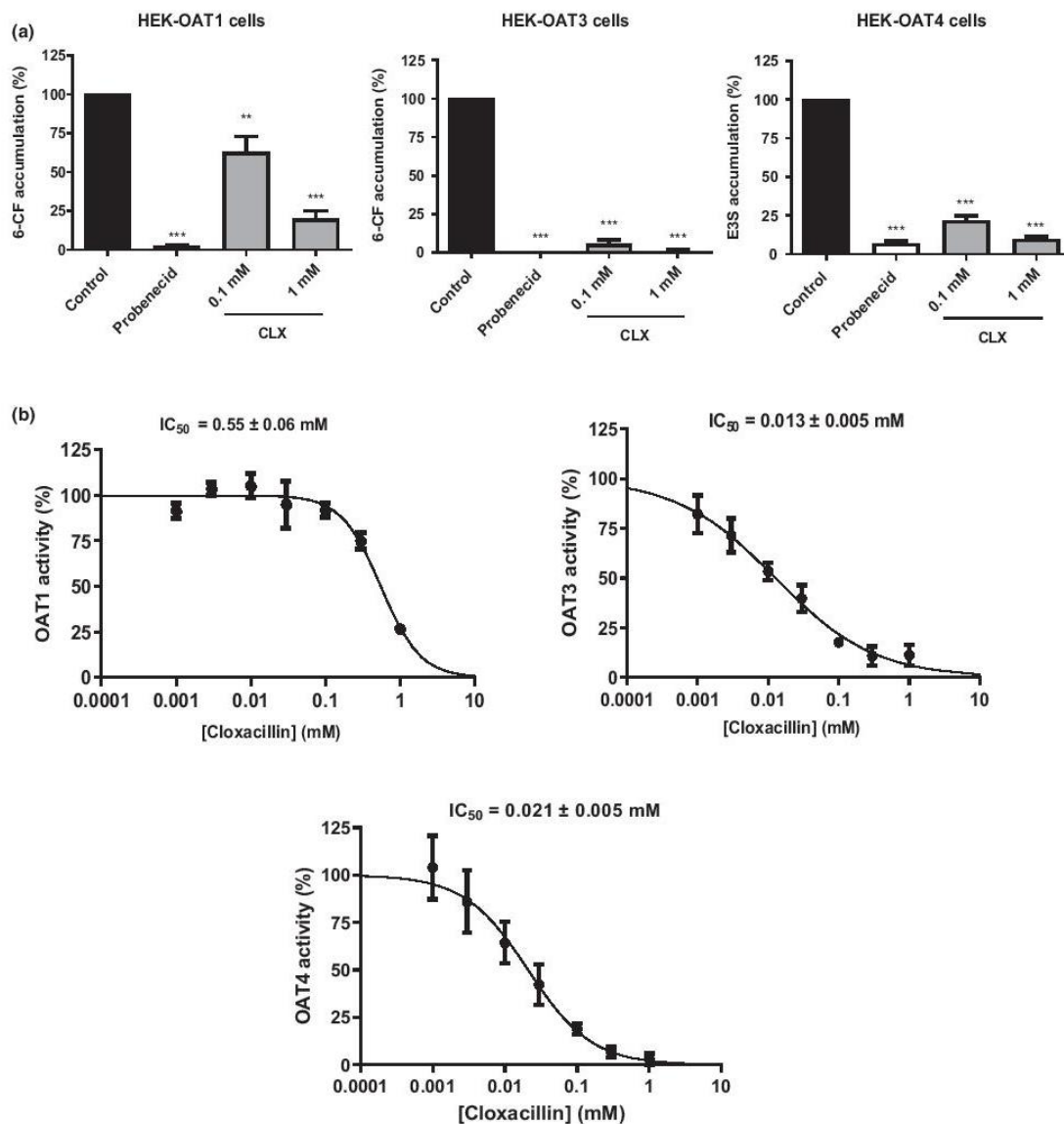


Figure 1 Inhibition of OAT activities by CLX. (a) HEK-OAT cells were incubated with reference substrates (6-CF for HEK-OAT1 and HEK-OAT3 cells and E3S for HEK-OAT4 cells) in the absence (control) or presence of CLX (used at 0.1 or 1 mM) or probenecid (used here as a reference OAT inhibitor) for 5 min at 37°C. After washing, intracellular accumulations of 6-CF or E3S were determined by spectrofluorimetry or scintillation counting. Data are expressed as % of accumulation of reference substrate in control cells and are the means \pm SEM of at least three independent assays. **, $P < 0.01$; ***, $P < 0.001$ when compared to control cells (ANOVA followed by Dunnett's post hoc test). (b) HEK-OAT cells were incubated with reference substrates for 5 min in the absence or presence of various concentrations of CLX or of the reference OAT inhibitor probenecid. OAT activities were next calculated as described in Materials and Methods and are expressed as percentage of those found in control cells, arbitrarily set at 100%. Data are the means \pm SEM of at least three independent assays. CLX IC_{50} values are indicated on the top of each graph

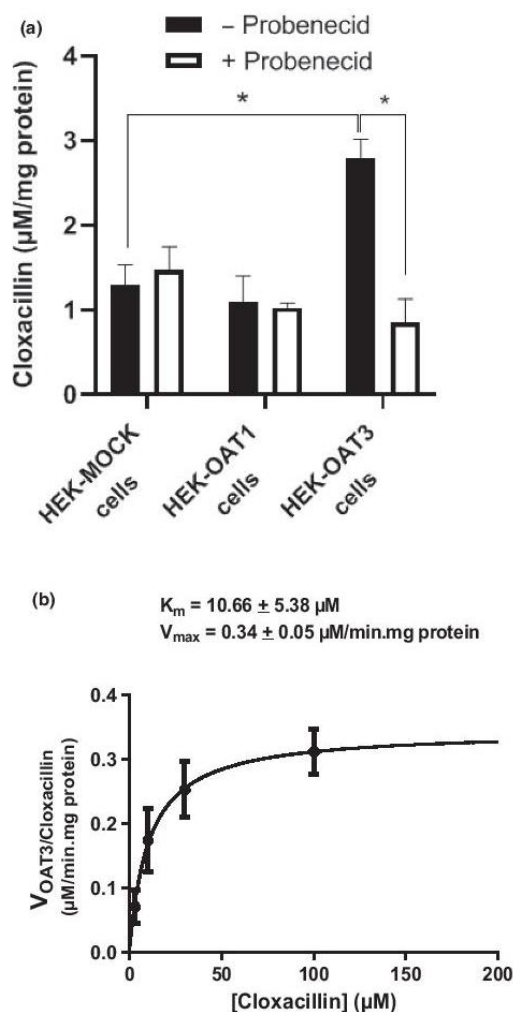


Figure 2 Transport of CLX by OAT3. (a) HEK-MOCK, HEK-OAT1, and HEK-OAT3 cells were incubated with 100 μM CLX for 5 min at 37°C, in the absence or presence of 2 mM probenecid. After washing, intracellular accumulation of CLX was determined by LC-MS/MS and normalized to protein content. Data are the means \pm SEM of at least three independent assays. *, $P < 0.05$ (ANOVA followed by Tukey's post hoc test). (b) HEK-OAT3 and HEK-MOCK cells were incubated with various concentrations of CLX for 5 min at 37°C. Intracellular accumulation of CLX was next assessed by LC-MS/MS and normalized to protein content. Data are expressed as OAT3-mediated CLX uptake rate, that is, uptake rate of CLX in HEK-OAT3 cells minus that in control HEK-MOCK cells, and are the means \pm SEM of at least three independent assays. Kinetic parameters (K_m and V_{max} values) are indicated at the top of the graph

Table I Prediction of potential drug–drug interactions (DDI) for cloxacillin-mediated inhibitions of OATs according to FDA criterion^a

Transporter	CLX IC_{50}	CLX $I_{\text{max,u}}$	$I_{\text{max,u}}/IC_{50}$	DDI prediction
OAT1	550 μM	10 μM	0.02	No DDI
OAT3	13 μM	10 μM	0.77	DDI
OAT4	21 μM	10 μM	0.48	DDI

^aAccording to FDA, a potential clinical DDI may be predicted when $I_{\text{max,u}}/IC_{50} \geq 0.1$ (with $I_{\text{max,u}}$ = maximal unbound plasma perpetrator concentration).

Interestingly, the K_m value (10.66 μM) of CLX for OAT3 ($K_m = 10.66$) is close to CLX $I_{\text{max,u}}$ (10 μM). This suggests that OAT3 may be at least partly saturated by CLX for high concentrations of CLX, notably those occurring in response to intravenous perfusion of the antibiotic or CLX overdose. OAT3-mediated secretion of CLX can therefore account for the well-established saturable renal secretion of the β -lactam [27]. OAT3 could additionally play a role in CLX nephrotoxicity [28], through directly favoring CLX accumulation in the kidney [29]. Besides, it is noteworthy that HEK-MOCK cells displayed probenecid-insensitive CLX accumulation. This may reflect some passive diffusion of the antibiotic across plasma membrane or, alternatively, its handling by a yet uncharacterized transporter expressed by HEK-MOCK cells and not inhibited by probenecid.

Individual factors impairing OAT3 activity are likely to affect OAT3-mediated renal secretion of CLX. By this way, they may be responsible for the pharmacokinetics variability. This can concern relevant non-silent OAT3 single-nucleotide polymorphisms (SNPs). In support to this hypothesis, three OAT3 variants have been associated with more than 80% decrease in OAT3-mediated transport of the reference substrate E3S or cimetidine; their allelic frequency in the general population is however low (<1%) [30,31]. I305F (rs11568482) non-silent mutation (3.5% frequency in Asian population [31]) was found to significantly reduce OAT3-mediated E3S uptake, but not that of cimetidine [30,31]. However, only Yee *et al.* assessed clinical consequence of these polymorphisms on β -lactam excretion [32]. A significant reduction of cefotaxime renal secretory clearance ($33.3 \pm 31.8 \text{ mL/min}$ versus $97.0 \pm 42.2 \text{ mL/min}$) and total cefotaxime renal clearance ($84.8 \pm 32.1 \text{ mL/min}$ versus $158 \pm 44.1 \text{ mL/min}$) in heterozygous patients for the I305F variant versus wild-type patients was thus observed. In this context, it is noteworthy that CLX exhibits an unbound plasma fraction much lower

than that of cefotaxime (0.1 versus 0.6) [25,32]; renal secretion of CLX, unlike its glomerular filtration, may consequently account for a relevant part of the total renal clearance of the antibiotic, measured at 97 ± 21 mL/min in healthy volunteers [33]. Such a high plasma protein binding of CLX has therefore likely to be taken into account in order to evaluate the putative consequences of OAT3 SNPs toward the total renal clearance of CLX in further studies.

Drug–drug interaction interactions with CLX as a victim through impairment of OAT3-mediated secretion of the antibiotic have also to be considered as a possible cause of CLX pharmacokinetics variability. This hypothesis is worthy of interest because various marketed drugs can inhibit OAT3 activity (Table SI) and can therefore act as potential perpetrators. Notably, proton pump inhibitors as well as furosemide are OAT3 inhibitors, with IC_{50} values in the 1–10 μ M range. Unbound concentrations of these drugs have however also to be considered for estimating putative in vivo inhibition of OAT3. Thus, the ratio $I_{max,u}/IC_{50}$ for these compounds predicts potential DDI for OAT3 substrates like CLX only with lansoprazole. Such a CLX–lansoprazole interaction has nevertheless not been clinically reported according to the best of our knowledge. Further studies are therefore required to determine whether drug-related inhibition of OAT3-mediated CLX renal secretion may clinically contribute to CLX pharmacokinetics variability. In this context, specific attention should be paid to antibiotics frequently co-administered with CLX and known to inhibit OAT3 activity, such as rifampicin [34].

In summary, CLX was found to differentially interact with renal OATs. The antibiotic potently inhibits OAT3 and OAT4 activity, and more moderately that of OAT1. It is transported by OAT3, but not OAT1. The potential clinical relevance of these in vitro findings, notably in terms of CLX pharmacokinetics variability, remains however to be established.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors thank Dr Y. Parmentier, Dr C. Denizot and Technologie Servier (Orléans, France) for helpful support with HEK293 cell clones overexpressing SLC transporters.

ABBREVIATIONS

ANOVA – Analysis of variance

CLX – Cloxacillin

DDI – Drug–drug interaction

DMEM – Dulbecco Modified Eagle medium

DiASP – 4-(4-(dimethylamino)styryl)-N-methylpyridinium

E3S – [6, 7-3H (N)]-Estrone-3-sulfate

FDA – Food and drug agency

HEK – Human embryonic kidney

IC_{50} – Half maximal inhibitory concentration

$I_{max,u}$ – Maximal unbound plasma concentration

K_m – Michaelis–Menten affinity constant

LC-MS/MS – Liquid chromatography–

tandem mass spectrometry

MSSA – Methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*

OAT – Organic anion transporter

OCT – Organic cation transporter

PBS – Phosphate-buffered saline

SLC – Solute carriers

SEM – Standard error of mean

SNP – Single-nucleotide polymorphism

6-CF – 6-carboxy-fluorescein

V_{max} – Maximum uptake rate

REFERENCES

- Habib G., Lancellotti P., Antunes M.J., et al. ESC Guidelines for the management of infective endocarditis: the Task Force for the Management of Infective Endocarditis of the European Society of Cardiology (ESC). Endorsed by: European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS), the European Association of Nuclear Medicine (EANM). *Eur. Heart J.* (2015) **2015**(36) 3075–128.
- WHO Model Prescribing Information. Prescribing Information: Drugs used in Bacterial Infections: Cardiovascular infections: Infective endocarditis n.d. <http://apps.who.int/medicinedocs/en/d/js5406e/12.html>. Accessed March 26, 2019.
- Grayson M.L., Cosgrove S.E., Crowe S., et al. Kucers' the use of Antibiotics: a clinical review of antibacterial, antifungal, antiparasitic, and antiviral drugs, 7th edn, CRC Press, Boca Raton, 2017.
- Nauta E.H., Mattie H. Dicloxacillin and cloxacillin: pharmacokinetics in healthy and hemodialysis subjects. *Clin Pharmacol Ther* (1976) **20** 98–108.
- Agence Nationale de Sécurité du Médicament. Cloxacillin summary of product characteristics n.d. <http://agence-prd.ansm.sante.fr/php/ecodex/rp/R0190954.htm>. Accessed April 29, 2019.
- Demain A.L., Solomon N.A. Antibiotics: containing the beta-lactam structure. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 1983.
- Nauta E.H., Mattie H. Pharmacokinetics of flucloxacillin and cloxacillin in healthy subjects and patients on chronic intermittent haemodialysis. *Br. J. Clin. Pharmacol.* (1975) **2** 111–121.

- 8 Roberts J.A., Paul S.K., Akova M., et al. DALL: defining antibiotic levels in intensive care unit patients: are current β -lactam antibiotic doses sufficient for critically ill patients? *Clin. Infect. Dis.* (2014) **58** 1072–1083.
- 9 Huttner A., Harbarth S., Hope W.W., Lipman J., Roberts J.A. Therapeutic drug monitoring of the β -lactam antibiotics: what is the evidence and which patients should we be using it for? *J. Antimicrob. Chemother.* (2015) **70** 3178–83.
- 10 Neuville M., El-Helali N., Magalhaes E., et al. Systematic overdosing of oxa- and cloxacillin in severe infections treated in ICU: risk factors and side effects. *Ann. Intensive. Care.* (2017) **7** 34.
- 11 Verdier M.C., Tribut O., Tattevin P., Michelet C., Bentué-Ferrer D. Assessment of interindividual variability of plasma concentrations after administration of high doses of intravenous amoxicillin or cloxacillin in critically ill patients. *J. Chemother.* (2011) **23** 277–281.
- 12 International Transporter Consortium Giacomini, Huang K.M., Tweedie S.-M. et al. Membrane transporters in drug development. *Nat. Rev. Drug Discov.* (2010) **9** 215–236.
- 13 Burckhardt G. Drug transport by Organic Anion Transporters (OATs). *Pharmacol. Ther.* (2012) **136** 106–130.
- 14 Burckhardt G., Burckhardt B.C. In vitro and in vivo evidence of the importance of organic anion transporters (OATs) in drug therapy. *Handb. Exp. Pharmacol.* (2011) **201** 29–104.
- 15 Fujita T., Urban T.J., Leabman M.K., Fujita K., Giacomini K.M. Transport of drugs in the kidney by the human organic cation transporter, OCT2 and its genetic variants. *J. Pharm. Sci.* (2006) **95** 25–36.
- 16 Ueo H., Motohashi H., Katsura T., Inui K. Human organic anion transporter hOAT3 is a potent transporter of cephalosporin antibiotics, in comparison with hOAT1. *Biochem. Pharmacol.* (2005) **70** 1104–1113.
- 17 Wolman A.T., Gionfriddo M.R., Heindel G.A., et al. Organic anion transporter 3 interacts selectively with lipophilic β -lactam antibiotics. *Drug. Metab. Dispos.* (2013) **41** 791–800.
- 18 Tahara H., Shono M., Kusuha H., et al. Molecular cloning and functional analyses of OAT1 and OAT3 from cynomolgus monkey kidney. *Pharm. Res.* (2005) **22** 647–660.
- 19 Takeda M., Babu E., Narikawa S., Endou H. Interaction of human organic anion transporters with various cephalosporin antibiotics. *Eur. J. Pharmacol.* (2002) **438** 137–142.
- 20 Sayyed K., Le Vee M., Abdel-Razzak Z., Fardel O. Inhibition of organic anion transporter (OAT) activity by cigarette smoke condensate. *Toxicol. In Vitro.* (2017) **44** 27–35.
- 21 Jouan E., Le Vee M., Denizot C., Da Violante G., Fardel O. The mitochondrial fluorescent dye rhodamine 123 is a high-affinity substrate for organic cation transporters (OCTs) 1 and 2. *Fundam. Clin. Pharmacol.* (2014) **28** 65–77.
- 22 Food and Drug Administration. Clinical Drug Interaction Studies — Study Design, Data Analysis, and Clinical Implications Guidance for Industry | FDA n.d. <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/clinical-drug-interaction-studies-study-design-data-analysis-and-clinical-implications-guidance>. Accessed June 26, 2019.
- 23 Jigorel E., Le Vee M., Boursier-Neyret C., Bertrand M., Fardel O. Functional expression of sinusoidal drug transporters in primary human and rat hepatocytes. *Drug. Metab. Dispos.* (2005) **33** 1418–1422.
- 24 Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* (1976) **72** 248–254.
- 25 Guilhaumou R., Benaboud S., Bennis Y., et al. Optimization of the treatment with beta-lactam antibiotics in critically ill patients-guidelines from the French Society of Pharmacology and Therapeutics (Société Française de Pharmacologie et Thérapeutique-SFPT) and the French Society of Anaesthesia and Intensive Care Medicine (Société Française d'Anesthésie et Réanimation-SFAR). *Crit. Care.* (2019) **23** 104.
- 26 Cha S.H., Sekine T., Kusuha H., et al. Molecular cloning and characterization of multispecific organic anion transporter 4 expressed in the placenta. *J. Biol. Chem.* (2000) **275** 4507–4512.
- 27 Bins J.W., Mattie H. Saturation of the tubular excretion of beta-lactam antibiotics. *Br. J. Clin. Pharmacol.* (1988) **25** 41–50.
- 28 Tune B.M. Renal tubular transport and nephrotoxicity of beta lactam antibiotics: structure-activity relationships. *Miner. Electrolyte. Metab.* (1994) **20** 221–31.
- 29 Lavergne A., Vigneau C., Polard E., et al. Acute kidney injury during treatment with high-dose cloxacillin: a report of 23 cases and literature review. *Int. J. Antimicrob. Agents.* (2018) **52** 344–9.
- 30 Urban T.J., Sebro R., Hurowitz E.H., et al. Functional genomics of membrane transporters in human populations. *Genome. Res.* (2006) **16** 223–30.
- 31 Erdman A.R., Mangravite L.M., Urban T.J., et al. The human organic anion transporter 3 (OAT3; SLC22A8): genetic variation and functional genomics. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* (2006) **290** F905–F912.
- 32 Yee S.W., Nguyen A.N., Brown C., et al. Reduced renal clearance of cefotaxime in asians with a low-frequency polymorphism of OAT3 (SLC22A8). *J. Pharm. Sci.* (2013) **102** 3451–7.
- 33 Nergelius G., Vinge E., Bengtsson H.L., Björkman R., Grubb A. No effect of diclofenac on the pharmacokinetics of cloxacillin. *Pharmacol. Toxicol.* (1997) **81** 26–30.
- 34 Parvez M.M., Kaiser N., Shin H.J., Jung J.A., Shin J.-G. Inhibitory interaction potential of 22 antituberculosis drugs on organic anion and cation transporters of the SLC22A family. *Antimicrob. Agents. Chemother.* (2016) **60** 6558–6567.

SUPPORTING INFORMATION

Additional supporting information may be found online in the Supporting Information section at the end of the article.

Supplementary Material
Fundamental and Clinical Pharmacology

Differential interactions of the β -lactam cloxacillin with human renal organic anion transporters (OATs)

Sébastien Lalanne^a, Marc Le Vée^b, Florian Lemaitre^a, Pascal Le Corre^c, Marie-Clémence Verdier^a, Olivier Fardel^c

^aUniv Rennes, CHU Rennes, Faculty of Medicine, Laboratory of Experimental and Clinical Pharmacology, 2 avenue du Professeur Léon Bernard, F-35000, Rennes, France.

^bUniv Rennes, Inserm, EHESP, Irset (Institut de recherche en santé, environnement et travail) - UMR_S 1085, 2 avenue du Professeur Léon Bernard, F-35000 Rennes, France.

^cUniv Rennes, CHU Rennes, Inserm, EHESP, Irset (Institut de recherche en santé, environnement et travail) - UMR_S 1085, 2 avenue du Professeur Léon Bernard F-35000 Rennes, France.

Table SI Examples of drugs inhibiting OAT3 activity and potentially co-administered with cloxacillin

Pharmacological class	Drug	Reference
Diuretic	Bumetanide	[1]
	Furosemide	[2, 3]
	Hydrochlorothiazide	[1]
	Indapamide	[2]
Renin-angiotensin system-related drug	Captopril	[4]
	Olmesartan	[5]
	Sacubitril	[6]
	Valsartan	[6]
HMG-CoA reductase inhibitor	Atorvastatin	[7]
	Pravastatin	[7, 8]
	Rosuvastatin	[7]
	Simvastatin	[7]
Non-steroidal anti-inflammatory drug	Diclofenac	[3]
	Ibuprofen	[2, 9]
	Indomethacin	[9]
Proton pump inhibitor	Lansoprazole	[3]
	Omeprazole	[3]
	Pantoprazole	[3]

Table SII Prediction of potential drug-drug interactions (DDI) for lansoprazole, omeprazole, pantoprazole and furosemide-mediated OAT3 inhibition according to FDA criterion^a

Drug	IC ₅₀ (OAT3 inhibition)	I _{max,u} (dose)	I _{max,u} /IC ₅₀	DDI prediction	Reference
Lansoprazole	1.7 µM	0.25 µM (30 mg)	0.15	DDI	[10]
Omeprazole	8.2 µM	0.12 µM (20 mg)	0.01	No DDI	[11]
Pantoprazole	5.7 µM	0.22 µM (40 mg)	0.04	No DDI	[12]
Furosemide	4.1 µM	0.09 µM (40 mg)	0.02	No DDI	[13]

^aAccording to FDA, a potential clinical DDI may be predicted when $I_{\max,u}/IC_{50} \geq 0.1$ (with $I_{\max,u}$ = maximal unbound plasma perpetrator concentration).

References

- [1] Hasannejad H, Takeda M, Taki K, Shin HJ, Babu E, Jutabha P, et al. Interactions of human organic anion transporters with diuretics. *J Pharmacol Exp Ther* 2004;308:1021–9. doi:10.1124/jpet.103.059139.
- [2] Chu X-Y, Bleasby K, Yabut J, Cai X, Chan GH, Hafey MJ, et al. Transport of the dipeptidyl peptidase-4 inhibitor sitagliptin by human organic anion transporter 3, organic anion transporting polypeptide 4C1, and multidrug resistance P-glycoprotein. *J Pharmacol Exp Ther* 2007;321:673–83. doi:10.1124/jpet.106.116517.
- [3] Juhász V, Beéry E, Nagy Z, Bui A, Molnár E, Zolnercijs JK, et al. Chlorothiazide is a substrate for the human uptake transporters OAT1 and OAT3. *J Pharm Sci* 2013;102:1683–7. doi:10.1002/jps.23491.
- [4] Ueo H, Motohashi H, Katsura T, Inui K. Human organic anion transporter hOAT3 is a potent transporter of cephalosporin antibiotics, in comparison with hOAT1. *Biochem Pharmacol* 2005;70:1104–13. doi:10.1016/j.bcp.2005.06.024.
- [5] Yamada A, Maeda K, Kamiyama E, Sugiyama D, Kondo T, Shiroyanagi Y, et al. Multiple human isoforms of drug transporters contribute to the hepatic and renal transport of olmesartan, a selective antagonist of the angiotensin II AT1-receptor. *Drug Metab Dispos* 2007;35:2166–76. doi:10.1124/dmd.107.017459.
- [6] European Medicines Agency. Entresto® Assessment report n.d. https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/entresto-epar-public-assessment-report_en.pdf (accessed August 26, 2019).
- [7] Windass AS, Lowes S, Wang Y, Brown CDA. The contribution of organic anion transporters OAT1 and OAT3 to the renal uptake of rosuvastatin. *J Pharmacol Exp Ther* 2007;322:1221–7. doi:10.1124/jpet.107.125831.
- [8] Khamdang S, Takeda M, Shimoda M, Noshiro R, Narikawa S, Huang X-L, et al. Interactions of human- and rat-organic anion transporters with pravastatin and cimetidine. *J Pharmacol Sci* 2004;94:197–202.
- [9] Khamdang S, Takeda M, Noshiro R, Narikawa S, Enomoto A, Anzai N, et al. Interactions of human organic anion transporters and human organic cation transporters with nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *J Pharmacol Exp Ther* 2002;303:534–9. doi:10.1124/jpet.102.037580.
- [10] Ieiri I, Kishimoto Y, Okochi H, Momiyama K, Morita T, Kitano M, et al. Comparison of the kinetic disposition of and serum gastrin change by lansoprazole versus rabeprazole during an 8-day dosing scheme in relation to CYP2C19 polymorphism. *Eur J Clin Pharmacol* 2001;57:485–92. doi:10.1007/s002280100342.
- [11] Yasuda S, Horai Y, Tomono Y, Nakai H, Yamato C, Manabe K, et al. Comparison of the kinetic disposition and metabolism of E3810, a new proton pump inhibitor, and omeprazole in relation to S-mephenytoin 4'-hydroxylation status. *Clin Pharmacol Ther* 1995;58:143–54. doi:10.1016/0009-9236(95)90192-2.
- [12] Pue MA, Laroche J, Meineke I, de Mey C. Pharmacokinetics of pantoprazole following single intravenous and oral administration to healthy male subjects. *Eur J Clin Pharmacol* 1993;44:575–8. doi:10.1007/bf02440862.
- [13] Lesne M. Comparison of the pharmacokinetics and pharmacodynamics of torasemide and furosemide in healthy volunteers. *Arzneimittelforschung* 1988;38:160–3.

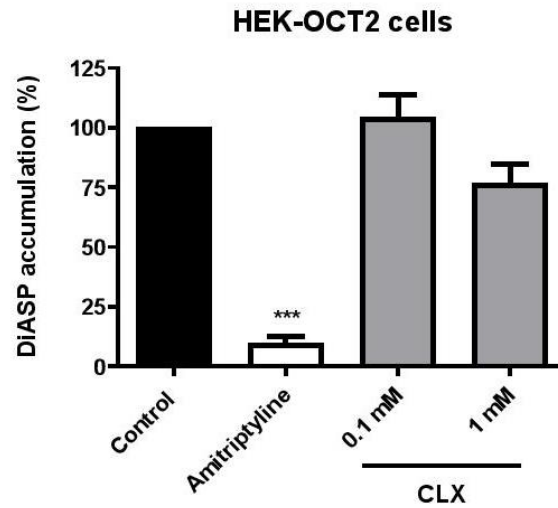


Figure S1. Lack of CLX effects towards OCT2 activity. HEK-OCT2 cells were incubated with the reference OCT2 substrate DiASP in the absence (control) or presence of CLX (used at 0.1 or 1 mM) or 200 μ M amitriptyline (used here as a reference OCT2 inhibitor) for 5 min at 37°C. After washing, intracellular accumulation of DiASP was determined by spectrofluorimetry. Data are expressed as % of DiASP accumulation in control cells, set at 100%, and are the means \pm SEM of three independent assays. ***, $p < 0.001$ when compared to control cells.

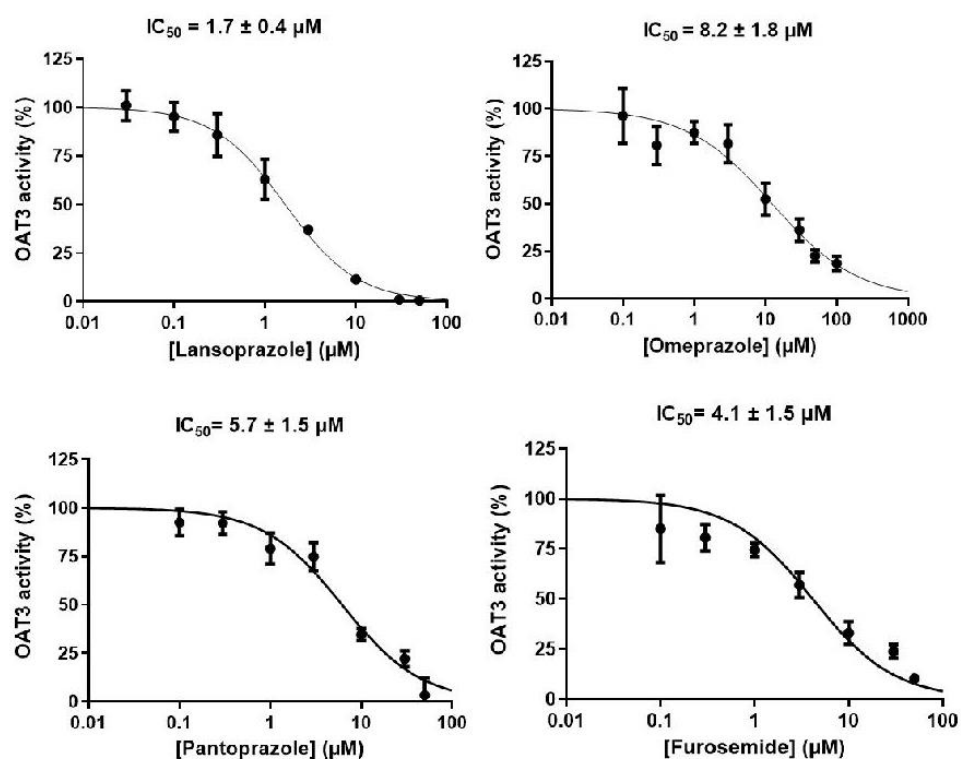


Figure S2. Concentration-dependent inhibitory effects of lansoprazole, omeprazole, pantoprazole and furosemide towards OAT3 activity. HEK-OAT3 cells were incubated with 6-CF for 5 min in the absence or presence of various concentrations of lansoprazole, omeprazole, pantoprazole or furosemide or of the reference OAT inhibitor probenecid. OAT activities were next calculated as described in Materials and Methods and are expressed as percentage of those found in control cells, arbitrarily set at 100%. Data are the means \pm SEM of three independent assays. Drug IC_{50} values towards OAT3 activities are indicated on the top of each graph.

3.5 Rôle des interactions médiées par les transporteurs dans l'élimination de la cloxacilline : étude clinique rétrospective

La première partie de ce travail a permis de mettre en évidence *in vitro* le caractère substrat d'OAT3 de la cloxacilline et de potentielles interactions entre les inhibiteurs de la pompe à protons (IPP) et OAT3. Ainsi le lansoprazole apparaît comme un candidat possible et pourrait conduire à une diminution de la sécrétion tubulaire de la cloxacilline lorsque qu'ils sont co-administrés.

L'objectif principal de cette étude est de vérifier si l'inhibition de la sécrétion tubulaire de la cloxacilline par le lansoprazole se confirme ou non dans une cohorte de patients en « vraie vie ». Les objectifs secondaires sont de confirmer la variabilité des concentrations en bêta-lactamines en service de médecine et de caractériser des interactions au niveau tubulaire pouvant contribuer à la variabilité pharmacocinétique de la cloxacilline. Ainsi, si le lansoprazole est un inhibiteur cliniquement significatif, les concentrations et/ou la clairance de réabsorption/sécrétion tubulaire de la cloxacilline doivent être modifiées dans le groupe sous lansoprazole. Cette hypothèse doit être vérifiée sur le terrain pour confirmer ou non l'existence d'une interaction entre cloxacilline et lansoprazole.

3.5.1 Matériel et méthodes

Il s'agit d'une étude rétrospective, cas-témoin (1:3), incluant 84 patients traités par cloxacilline en perfusion continue et ayant fait l'objet d'un Suivi Thérapeutique Pharmacologique dans des services de médecine (maladies infectieuses, orthopédie, rhumatologie). Les patients « témoin » ne sont pas traités par IPP sur la période où ils bénéficient d'un STP de la cloxacilline. Les patients témoins sont traités par lansoprazole sur la période où le STP de la cloxacilline est réalisé. Les concentrations en cloxacilline sont mesurées par chromatographie liquide haute performance à détection dans l'ultra-violet selon une méthode dérivée de la méthode publiée par l'équipe du laboratoire de pharmacologie biologique du CHU de Rennes[69].

Les variables suivantes sont relevées : âge, poids, sexe, mesure de la créatinine sérique, clairance estimée de la créatinine selon la formule CKD-EPI, posologie de la cloxacilline et du lansoprazole. Sont également relevés l'indication du traitement antibiotique, le type d'infection, la ou les bactéries identifiées. La clairance totale de la cloxacilline est calculée selon la formule suivante :

$$Clairance \text{ (L/h)} = \frac{\text{Dose (g)}}{\text{Aire sous la courbe (g/Lxh)}} \quad \textbf{(Formule 3)}$$

La clairance rénale de la cloxacilline est la résultante des clairances de filtration, de réabsorption et de sécrétion. Elle se calcule à l'aide de la **formule 1** évoquée plus haut.

Considérant que la cloxacilline est très peu métabolisée, la clairance rénale est égale à la clairance totale.

Les variables relevées sont comparées entre les groupes cas et témoins à l'aide d'un test de Student. La différence est considérée significative si $p < 0.05$.

3.5.2 Résultats

Population générale

86 patients ont été inclus sur la période Janvier 2017- Avril 2019 pour 184 dosages de cloxacilline. L'ensemble des administrations est réalisé en perfusion continue. La dose journalière de cloxacilline administrée est en moyenne de 9g/24h (min 3g/24h, max 20g/24h). L'âge moyen des patients bénéficiant d'un STP est de 65 ans, la population est en majorité masculine (70% de l'effectif). 21 patients étaient sous lansoprazole et sous cloxacilline, respectant le ratio choisi. Les principales caractéristiques des patients inclus sont résumées dans le **tableau 3**.

Parmi les 86 patients inclus, 81 (94%) présentent une infection documentée. La majorité des patients présente une infection monobactérienne (87%). 88% des patients présentent un prélèvement positif à SAMS (88%) et 3,5% des patients présentent un prélèvement positif à *Staphylococcus epidermidis* sensible à la méticilline. La répartition des étiologies bactériennes traitées par cloxacilline est résumée dans la **figure 4**.

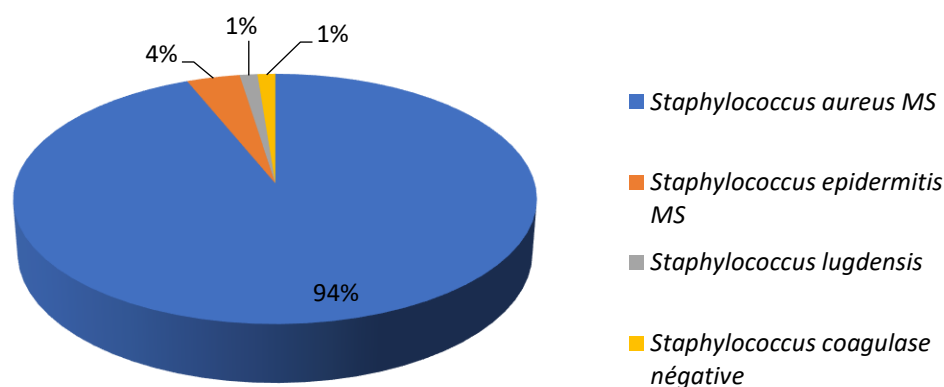


Figure 4 : répartition des étiologies bactériennes.

Tableau 3 : caractéristiques générales de la population à l'étude.

Critère	Cas	Témoins	P value
Age moyen \pm écart type	66 \pm 13	64 \pm 17	0,4
Poids moyen \pm écart type (kg)	81 \pm 14	71 \pm 15	0,01
Clairance de la créatinine moyenne \pm écart type (mL/min)	74 \pm 37	67 \pm 33	0,3
Protides totaux moyens \pm écart type (g/L)	72 \pm 8	67 \pm 9	0,007
Albumine sérique moyenne \pm écart type (g/L)	32 \pm 6	28 \pm 4	0,09
Dose de cloxacilline journalière moyenne \pm écart type (g)	9 \pm 4	9 \pm 3	0,8
Concentration en cloxacilline moyenne à l'équilibre \pm écart type (μ g/mL)	39 \pm 18	41 \pm 22	0,6
Concentration en cloxacilline médiane à l'équilibre \pm écart type (μ g/mL)	35 \pm 18	34 \pm 22	-
Clairance rénale de la cloxacilline moyenne \pm écart type (mL/min)	200 \pm 127	205 \pm 138	0,8
Clairance de filtration glomérulaire de la cloxacilline moyenne \pm écart type (mL/min)	7 \pm 3	7 \pm 4	0,2
Clairance (réabsorption/sécrétion) de la cloxacilline moyenne \pm écart type (mL/min)	194 \pm 136	198 \pm 136	0,88

Pour les patients présentant des prélèvements pluribactériens associés au SAMS, on retrouve des prélèvements positifs à *Enterococcus faecalis* (2), *Pseudomonas aeruginosa* (2), *Escherichia coli* (1), *Streptococcus dysgalactiae* (1) *Pseudomonas putida* (1), *Klebsiella pneumoniae* (1). Les principaux diagnostics retenus dans les comptes rendus d'hospitalisation et de consultation, justifiant la mise sous cloxacilline, sont une infection ostéo-articulaire (41% des patients), une endocardite infectieuse (31%) ou une bactériémie sans autre indication (8%). A noter que 49% des patients présentent une infection sur matériel (prothèse de genou, de hanche, bioprothèse valvulaire principalement).

L'ensemble des diagnostics conduisant à une mise sous cloxacilline est résumé dans la **figure 5**. La concentration moyenne en cloxacilline à l'équilibre est de 40 ± 20 µg/mL. 6% des dosages sont en faveur d'un surdosage franc (supérieur à 80 µg/mL) et 25% des dosages sont en dehors de la zone cible recommandée (10-50 µg/mL). La proportion de concentrations en dehors de la cible à la première mesure est de 34% contre 25% sur l'ensemble des concentrations mesurées.

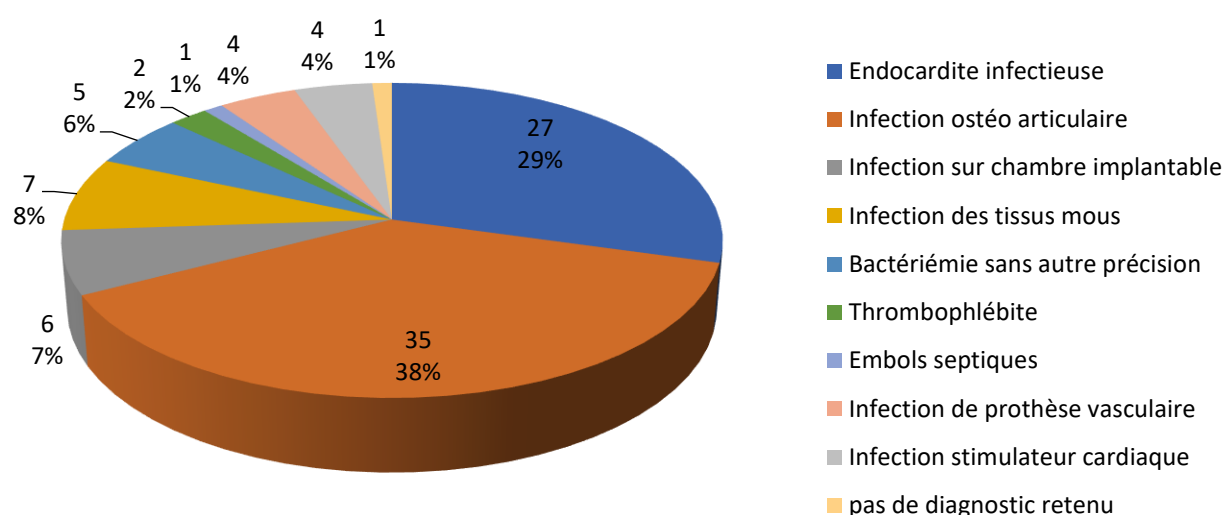


Figure 5 : répartition des diagnostics retenus justifiant un traitement par cloxacilline.

Analyse en sous-groupe

Parmi les 21 patients recevant du lansoprazole, 13 reçoivent 15 mg/j (29 concentrations de cloxacilline mesurées) et 8 reçoivent 30 mg/j (20 concentrations de cloxacilline mesurées). Ni les doses journalières (9 g/24h dans les deux cas) ni les concentrations en cloxacilline (39 versus 41 µg/mL) ne sont significativement différentes entre les deux groupes ($p=0,8$ et $p=0,6$) (**Figure 6**). Les deux groupes diffèrent sur la variable poids (81 kg pour les cas et 71 kg pour les témoins, $p=0,01$) ainsi que pour les protéides totaux (72 g/L pour les cas versus 67

g/L pour les témoins, $p=0,007$). La clairance de la créatine moyenne est de 71 ± 36 mL/min. Il n'y a pas de différence significative de la fonction glomérulaire entre les deux groupes ($p=0,3$). La clairance rénale de la cloxacilline ne diffère pas entre les deux groupes (200 versus 205 mL/min, $p=0,8$), il en est de même pour la clairance de filtration glomérulaire de 7 mL/min dans chaque groupe ($p=0,2$). Le calcul de la clairance de réabsorption/sécrétion tubulaire de la cloxacilline, basé sur la clairance de la créatinine des patients (formule CKD-EPI) est de 194 mL/min pour le groupe sous lansoprazole et de 198 mL/min dans le groupe témoin ($p=0,88$). **(Figure 6)**

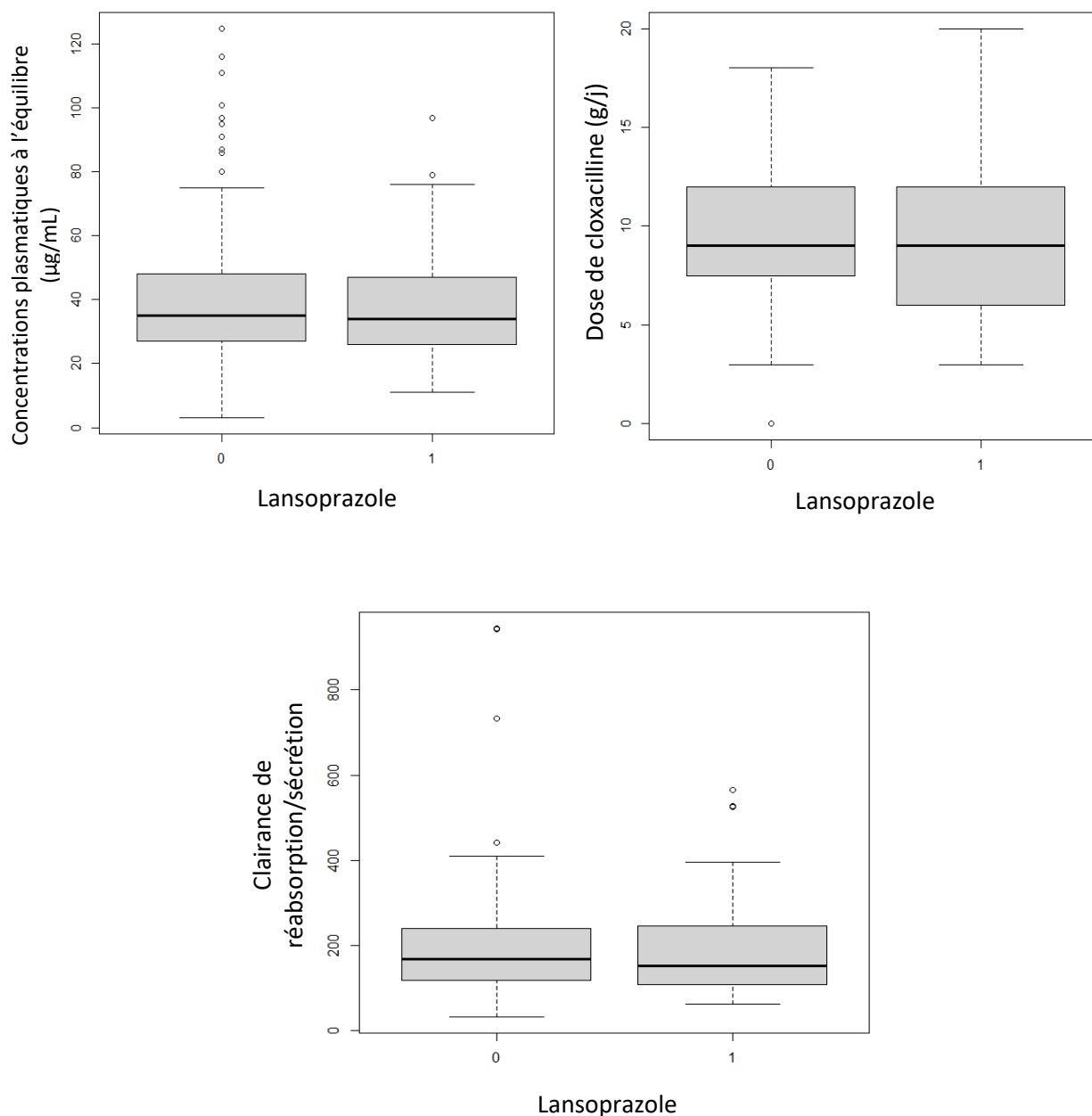


Figure 6 : répartition des concentrations à l'équilibre (mg/L) ($n=188$), de la dose journalière (g/24h) ($n=185$) et de la clairance de réabsorption/sécrétion de la cloxacilline (mL/min) ($n=184$) au sein de la population à l'étude.

Les principales caractéristiques des patients à la première mesure des concentrations plasmatiques sont résumées dans le **tableau 4**.

En se focalisant sur la première mesure de concentration en cloxacilline, donc avant adaptation de la posologie selon les recommandations du STP, les doses journalières ne sont pas significativement différentes entre les deux groupes (11 ± 3 et 10 ± 2 g/24h, $p=0,6$) et le ratio dose/poids ne diffère pas non plus entre les deux groupes ($0,13 \pm 0,04$ versus $0,15 \pm 0,04$ g/kg/j, $p=0,1$). Les concentrations mesurées ne sont pas significativement différentes entre les deux groupes (respectivement 41 ± 21 µg/mL pour les cas et 44 ± 24 µg/mL pour les témoins, $p=0,7$). Il en est de même pour les valeurs des clairances de réabsorption/sécrétion tubulaire de la cloxacilline (206 ± 161 et 218 ± 141 ml/min $p=0,7$, **Figure 7**).

Tableau 4 : caractéristiques des patients à la première mesure des concentrations plasmatiques.

Critère	Cas	Témoins	P value
Clairance de la créatinine moyenne \pm écart type (mL/min)	71 ± 35	75 ± 37	0,7
Posologie moyenne \pm écart type (g)	11 ± 3	10 ± 2	0,6
Doses-poids moyenne \pm écart type (g/kg)	$0,13 \pm 0,04$	$0,15 \pm 0,04$	0,1
Concentration en cloxacilline moyenne à l'équilibre \pm écart type (µg/mL)	41 ± 21	44 ± 24	0,7
Clairance totale de la cloxacilline moyenne \pm écart type (mL/min)	225 ± 143	214 ± 163	0,7
Clairance (réabsorption/sécrétion) de la cloxacilline moyenne \pm écart type (mL/min)	218 ± 140	206 ± 161	0,7

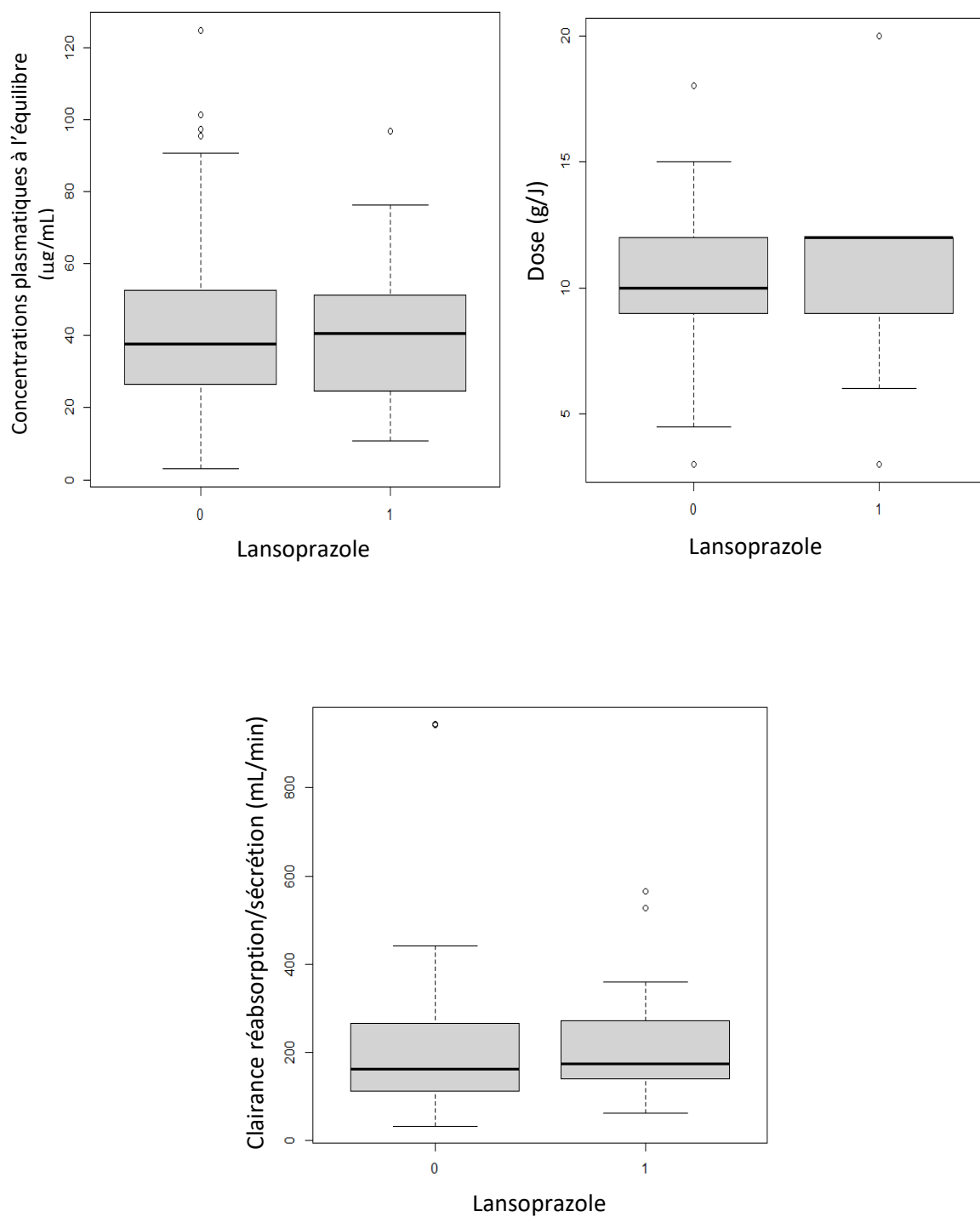


Figure 7 : répartition des concentrations à l'équilibre (mg/L) (n=86), de la dose journalière (g/24h) (n=86) et de la clairance de réabsorption /sécrétion de la cloxacilline (mL/min) (n=85) lors de la première mesure des concentrations plasmatiques.

En se focalisant sur les 58 patients ayant eu plusieurs mesures de concentrations, la fréquence médiane des dosages réalisés est de deux en sept jours. Ni la concentration moyenne (39.8 µg/mL) ni la clairance de la créatinine (72±40 mL/min) ne permettent de distinguer ce sous-groupe du reste des patients ayant bénéficié d'un unique STP. La variation de posologie journalière médiane entre la première et la dernière mesure des concentrations chez ces patients est de 0 g (min -12g, max +6g).

3.6 Discussion

La population incluse dans l'étude rétrospective est une population âgée (65 ans en moyenne), présentant une insuffisance rénale légère [90] prise en charge dans des services de médecine spécialisée, notamment en service de maladies infectieuses. Ces patients traités par de fortes doses de cloxacilline bénéficient d'un STP des bêta-lactamines systématique. La totalité des patients bénéficie d'une administration en continu, ce qui souligne la modification des pratiques d'administration depuis 2011 au CHU de Rennes où 80% des patients avaient bénéficié d'un STP de la cloxacilline avec une administration en discontinu[82]. L'administration par voie IV de la cloxacilline indique que les patients inclus sont généralement dans la phase initiale de la prise en charge de leur pathologie. En effet, selon le type d'infection et le contexte clinique, un relais *per os* ultérieur peut être envisagé à distance du J0 d'une antibiothérapie efficace[91]. C'est en toute logique que les indications « infection ostéo-articulaire » et « endocardite infectieuse » représentent 62% des patients inclus. En effet la prévalence des EI et des IOA à *Staphylococcus aureus* a augmenté ces dernières décennies chez une population dont l'âge a lui-même augmenté[92], [93]. Or l'étiologie prédominante chez l'ensemble des patients étudié est le SAMS.

La majorité de ces patients a bénéficié d'une hospitalisation en service d'infectiologie ou d'un avis d'un infectiologue pour la prise en charge médicale de sa pathologie, ces praticiens sont rompus au STP des bêta-lactamines depuis plus de dix ans et aux modalités d'administration nécessaires à l'atteinte des cibles de concentration ce qui explique, pour partie, que 66% des premiers dosages effectués soient dans la cible. Il apparaît que les concentrations plasmatiques en cloxacilline dans l'ensemble de la population présentent une large variabilité interindividuelle avec un coefficient de variation (cv) de 50% chez des patients qui ne sont pas hospitalisés en soins critiques. Les dosages de cloxacilline administrée en continu en service de réanimation du CHU de Rennes, centre précurseur dans l'activité de dosages des bêta-lactamines, présentaient un cv de 26% en 2011 pour une population de patients certes moindre (n=14). Ces données confirment, chez des patients proches de leur J0 de traitement, que la variabilité pharmacocinétique de la cloxacilline ne concerne pas que le patient de réanimation. Cette variabilité n'est pas sans conséquences puisqu'environ un tiers de ces patients en phase précoce de leur infection est en dehors des zones cibles lors du premier suivi des concentrations effectué.

Interactions médiées par les transporteurs tubulaires et cloxacilline

Concernant l'étude d'interaction, peu de données d'interaction des bêta-lactamines avec des transporteurs tubulaires sont documentées sur modèles cellulaires[84] mais la description d'interactions en clinique impliquant des inhibiteurs de transporteurs et les bêta-lactamines sont encore plus rares dans la littérature. Elles concernent majoritairement le probénécide. La seule pénicilline M faisant l'objet d'une interaction documentée chez l'homme est la flucloxacilline avec la pipéracilline [85]. Cette interaction modélisée par une analyse PK compartimentale retrouve une diminution significative de la clairance rénale de la flucloxacilline (1 g) en présence de la pipéracilline (3 g), de 5.5 L/h à 2.1 L/h. En revanche la clairance rénale de la pipéracilline est peu influencée par la flucloxacilline. Cette différence, modélisée par les auteurs sous la forme d'une inhibition compétitive, est expliquée par une affinité supérieure de la pipéracilline pour OAT. Cette interaction se traduit concrètement par un doublement du temps passé par la flucloxacilline à des concentrations supérieures à la CMI.

Dans notre étude de recherche d'interaction cloxacilline-lansoprazole, les caractéristiques des patients ne diffèrent significativement que sur les critères de poids (81 ± 14 versus 71 ± 15 kg) et de protidémie (72 ± 8 versus 67 ± 9 g/L). Cette différence de poids est prise en compte par le clinicien puisque le ratio dose/poids ne diffère pas entre les deux groupes à l'initiation du STP. La différence d'albuminémie entre les deux groupes n'est pas significative, l'albumine étant la principale protéine de liaison de la cloxacilline[86], on peut estimer qu'il n'y a pas de différence due à la fixation protéique entre les deux groupes.

Les concentrations à l'équilibre mesurées lors de l'initiation du STP, mettent en évidence une exposition similaire entre les patients sans et avec lansoprazole. Par ailleurs il n'existe pas de différence entre les deux groupes sur la dose (9g/24h dans les deux groupes), ni sur la clairance de filtration glomérulaire (74 et 67 mL/min). Nous pouvons donc nous permettre de comparer les clairances de réabsorption/sécrétion en cloxacilline entre les deux groupes en s'affranchissant d'éléments confondants cités ci-dessus. Les clairances de réabsorption/sécrétion n'étant pas significativement différentes entre les deux groupes, le lansoprazole n'est pas un inhibiteur cliniquement pertinent de la réabsorption/sécrétion tubulaire de la cloxacilline. En l'absence de marqueur spécifique de la sécrétion tubulaire, il est difficile d'isoler un effet concernant spécifiquement la sécrétion tubulaire de la cloxacilline, cependant la valeur élevée de la clairance de réabsorption/sécrétion indique que la sécrétion est le phénomène majoritaire au niveau tubulaire. Parmi les hypothèses avancées, le lansoprazole pourrait présenter une faible puissance d'inhibition d'OAT3 chez l'homme. En effet le lansoprazole a été jugé un bon candidat pour être un inhibiteur potentiellement cliniquement significatif sur la seule base du rapport des concentrations maximales libres ($I_{max,u}$) sur la concentration inhibitrice 50 (CI_{50}) supérieur à 0,1. La CI_{50} est

issue de la mise en évidence de l'inhibition du transport par OAT3 d'un substrat de référence (la 6-carboxy-fluoresceine, 6-CF). Or la valeur de la CI_{50} peut être variable en fonction du protocole de l'étude d'inhibition utilisé mais aussi du choix du substrat de référence. La CI_{50} du lansoprazole en présence de cloxacilline n'a pas été directement démontrée. Le caractère inhibiteur du lansoprazole pourrait être moins puissant en présence de la cloxacilline que du 6-FC ce qui pourrait modifier la valeur du ratio $I_{max,u}/CI_{50}$. Il n'existe également pas de données concernant l'inhibition d'OAT3 qui pourrait être compensée par d'autres mécanismes de transport ou de diffusion passive. Les connaissances concernant l'étape finale de la sécrétion tubulaire au niveau apical de la cellule tubulaire ne permettent pas actuellement de caractériser le transporteur à l'origine de la sortie de la cloxacilline vers le compartiment urinaire cependant il est probable que l'étape limitante dans la sécrétion tubulaire vienne du pôle basolatéral, c'est-à-dire celui où est localisé OAT3[80]. En tout état de cause, cette étude en « vraie vie » ne confirme pas l'interaction caractérisée *in vitro*. Ces données ne sont donc pas en faveur d'une interaction entre lansoprazole et cloxacilline chez les patients.

Tubule rénal et variabilité pharmacocinétique

Avec des clairances rénales de la cloxacilline largement variables (200 ± 127 et 205 ± 138 mL/min dans chaque groupe), la fonction rénale semble bien être à l'origine d'une partie non négligeable de la variabilité pharmacocinétique de la cloxacilline, comme évoqué par Visser *et al.*[81]. En se basant sur un pourcentage de fraction libre relevé chez le volontaire sain, la clairance de réabsorption/sécrétion de la cloxacilline est bien une voie d'excrétion majeure de celle-ci (194 et 198 mL/min dans chaque groupe). La fonction glomérulaire joue donc *a priori* un rôle de faible importance dans l'excrétion de la cloxacilline, même si elle peut être légèrement sous-estimée du fait de l'hypoalbuminémie observée chez les patients de l'étude. En effet, les concentrations libres en cloxacilline, comme celles des autres bêta-lactamines fortement fixées aux protéines, varient *a fortiori* de manière plus importante lors d'une hypoprotéinémie[94].

Cette variabilité des concentrations en cloxacilline trouve donc principalement son origine dans la variabilité de la fonction tubulaire.

Pour identifier de manière plus précise le mécanisme d'excrétion rénale à l'origine de cette variabilité, se pose la question des liens entre fonction glomérulaire et tubulaire : lors d'une atteinte tubulaire, la modification de pression intra-tubulaire est à l'origine d'une diminution du débit de filtration glomérulaire. Cependant la corrélation entre fonction glomérulaire et fonction tubulaire est mauvaise[95]. Cette absence de relation pourrait contribuer à expliquer la mauvaise corrélation entre concentrations en antibiotique et fonction glomérulaire, au moins lors du premier dosage, car la posologie initiale est généralement prescrite sur la base de la clairance de la créatinine. Hori *et al.*[96] ont mis en évidence que des patients atteints de glomérulonéphrite et présentant une sécrétion tubulaire non altérée, nécessitaient des doses plus importantes d'ampicilline. A l'inverse, les patients présentant une glomérulonéphrite avec atteinte tubulaire nécessitaient des doses plus faibles que prévues lorsqu'elles se basaient sur la clairance de la créatinine. Comme évoqué

précédemment, filtration glomérulaire et excrétion tubulaire répondent à des mécanismes très différents.

Par ailleurs, la saturabilité du transport de la cloxacilline a été démontrée par Bins et Mattie[71] chez 9 volontaires sains bénéficiant d'une administration continue de cloxacilline ; ces auteurs mettent en évidence une saturation de 50% de la fonction tubulaire pour des concentrations libres de $7 \pm 2.3 \mu\text{g/mL}$, soulignant l'affinité spécifique de la cloxacilline pour les cellules tubulaires. Ainsi, à des concentrations proches des concentrations thérapeutiques le processus d'excrétion tubulaire est partiellement saturé. Ceci conduit à une perte de la linéarité de la pente d'élimination, décrite pour des molécules dont l'excrétion tubulaire représente plus de 20% de l'excrétion totale[97], ce qui semble être le cas pour la cloxacilline et pour des concentrations supérieures au K_m identifié (**figure 8**). Ceci expliquerait la difficulté à prédire les concentrations en cloxacilline [81]. Ce résultat est cohérent avec la mise en évidence d'une saturation du transport de la cloxacilline par OAT3 *in vitro* ce qui contribuerait à expliquer la variabilité PK.

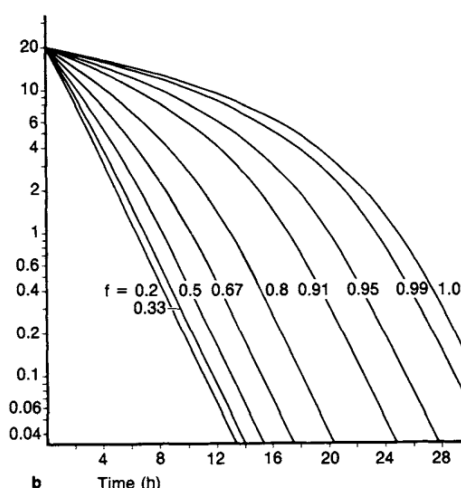


Figure 8 : simulations d'évolution des concentrations plasmatiques en fonction du temps selon la fraction excrétée par sécrétion tubulaire (f). Selon C.A.M. van Ginneken et al.[97].

Cette étude rétrospective permet donc de mettre en évidence l'importance de la fonction tubulaire rénale dans l'excrétion d'une pénicilline fortement fixée aux protéines plasmatiques comme la cloxacilline et suggère un lien entre la saturation du transporteur OAT3 dont elle est le substrat et la difficulté de prédire les concentrations par la seule fonction glomérulaire. Cependant un marqueur biologique de la fonction de sécrétion tubulaire mais aussi une évaluation du volume de distribution pour chaque individu sont nécessaires pour chercher à établir un lien solide entre la variabilité des concentrations rapportées et cette même fonction tubulaire. Pour mieux caractériser le rôle d'OAT3 il faudrait pouvoir évaluer la fonction de sécrétion tubulaire de la cloxacilline seule mais il n'existe pas de marqueur spécifique de la sécrétion tubulaire en clinique et donc pas non plus d'outil d'individualisation du traitement prenant en compte la fonction tubulaire[87].

Enfin, une approche de pharmacocinétique de population à l'aide d'un modèle intégrant la saturabilité de l'excrétion tubulaire sous la forme d'une équation de Michaelis Menten dans

le processus d'élimination[80], à l'instar d'une récente étude mettant en évidence la saturation de l'élimination de la pipéracilline[89], pourrait permettre une meilleure prédiction des doses de cloxacilline à administrer, en particulier chez des sujets à risque de surdosage.

4. Conclusion

L'étude du transport tubulaire de la cloxacilline en culture cellulaire a permis de mettre en évidence son caractère substrat du transporteur tubulaire OAT3 et d'identifier une interaction avec le lansoprazole susceptible d'être cliniquement significative. Une étude clinique rétrospective comparant une population de patients bénéficiant d'un suivi thérapeutique pharmacologique sous cloxacilline seul et sous cloxacilline et lansoprazole n'a pas permis de confirmer cette interaction en vraie vie. Les données collectées mettent cependant en évidence une large variabilité interindividuelle des concentrations en cloxacilline dans un contexte hors soins critiques avec près d'un tiers des patients en dehors de la zone thérapeutique lors de la première mesure des concentrations. Les résultats obtenus soulignent également l'importance de la fonction tubulaire dans la variabilité pharmacocinétique de la cloxacilline. La fixation aux protéines et le transport tubulaire apparaissent comme deux variables essentielles à mieux documenter pour obtenir dans les meilleurs délais des concentrations thérapeutiques en antibiotiques. Le suivi thérapeutique pharmacologique reste donc à l'heure actuelle un outil nécessaire à l'obtention de concentrations thérapeutiques en cloxacilline dans ces contextes d'infections profondes et/ou complexes.

REFERENCES

- [1] V. Quirke, *Collaboration in the pharmaceutical industry: changing relationships in Britain and France, 1935 - 1965*. New York, NY: Routledge, 2008.
- [2] D. Papp, 'Histoire des antibiotiques.', *rhs*, vol. 7, no. 2, pp. 124–138, 1954, doi: 10,3406/rhs.1954.3405.
- [3] B. Bonnemain, 'La comparaison des formulaires français et américain en 1945 : des écarts multiples ayant pour origine des divergences techniques, sociales et politiques', *pharm*, vol. 97, no. 366, pp. 169–182, 2010, doi: 10,3406/pharm.2010,22170,
- [4] Pharmacomédicale, site du Collège National de Pharmacologie Médicale, 'Bêta-lactamines (pénicillines, céphalosporines)'. <https://pharmacomedicale.org/medicaments/par-specialites/item/beta-lactamines-penicillines-cephalosporines> (accessed Jul. 30, 2020).
- [5] L. Gutmann and R. Williamson, 'Paroi bactérienne et bêta-lactamines', *Med Sci (Paris)*, vol. 3, no. 2, p. 75, 1987, doi: 10,4267/10608/3625.
- [6] Collège national de pharmacologie médicale (CNPM), M.-C. Verdier-Lorne, and Société française de pharmacologie et de thérapeutique, *Pharmacologie des anti-infectieux*. 2018.
- [7] M. Wolff, M. Jolyguillou, and O. Pajot, 'Le point sur les carbapénèmes', *Réanimation*, vol. 17, no. 3, pp. 242–250, May 2008, doi: 10,1016/j.reaurg.2008.03.001.
- [8] Yoshinori Yamano, 'Mode of action of cefiderocol, a novel siderophore cephalosporin, active against highly resistant Gram-negative bacteria including carbapenem-resistant strains of Enterobacteriaceae and non-fermenting bacteria (ECCMID 2017, oral session)'. https://www.escmid.org/escmid_publications/escmid_elibrary/material/?mid=52612 (accessed Apr. 25, 2020).
- [9] Iterum Therapeutics, 'Sulopenem Versus Ertapenem for Complicated Intra-abdominal Infection (cIAI)'. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03358576> (accessed Apr. 20, 2020).
- [10] Haute autorité de Santé, 'Commission de la Transparence, avis du 22 janvier 2020, méropénème/vaborbactam'. https://www.has-sante.fr/jcms/p_3152689/fr/vaborem (accessed Apr. 20, 2020).
- [11] 'European Medicine Agency, Vaborem®'. <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/vaborem> (accessed Apr. 20, 2020).
- [12] Institut national de veille sanitaire (InVS), Agence nationale de sécurité du médicament et and des produits de santé (ANSM), 'Consommation d'antibiotiques et résistance aux antibiotiques en France'. <https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/infections-associees-aux-soins-et-resistance-aux-antibiotiques/resistance-aux-antibiotiques/documents/rapport-synthese/consommation-d-antibiotiques-et-resistance-aux-antibiotiques-en-france->

necessite-d-une-mobilisation-determinee-et-durable.-bilan-des-donnees-de-s2 (accessed Apr. 20, 2020).

- [13] Polard E, 'La pharmacovigilance des antibiotiques. Exemples de quelques effets indésirables rapportés avec les bêtalactamines, les fluoroquinolones, les macrolides et les cyclines.', *La Lettre du Pneumologue* 2006; IX(4):142-148.
- [14] D. V. Amakhin, E. B. Soboleva, and A. V. Zaitsev, 'Cephalosporin antibiotics are weak blockers of GABA_A receptor-mediated synaptic transmission in rat brain slices', *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, vol. 499, no. 4, pp. 868–874, 23 2018, doi: 10.1016/j.bbrc.2018.04.008.
- [15] Agence Nationale de Sécurité du Médicament, 'Céfépime (Axepim® et ses génériques) : rappel des risques d'effets indésirables neurologiques graves lors du non-respect des posologies recommandées notamment en cas d'insuffisance rénale - Lettre aux professionnels de santé (Avr. 2018)'. <https://ansm.sante.fr/S-informer/Informations-de-securite-Lettres-aux-professionnels-de-sante/Cefepime-Axepim-R-et-ses-generiques-rappel-des-risques-d-effets-indesirables-neurologiques-graves-lors-du-non-respect-des-posologies-recommandees-notamment-en-cas-d-insuffisance-renale-Lettre-aux-professionnels-de-sante> (accessed Apr. 20, 2020).
- [16] Agence Nationale de Sécurité du Médicament, 'Céfépime: rappel des risques de réactions graves lors du non respect des posologies recommandées notamment en cas de d'insuffisance rénale - Point d'Information (Oct. 2014)'. <https://ansm.sante.fr/S-informer/Points-d-information-Points-d-information/Cefepime-rappel-des-risques-de-reactions-graves-lors-du-non-respect-des-posologies-recommandees-notamment-en-cas-de-d-insuffisance-renale-Point-d-Information> (accessed Apr. 20, 2020).
- [17] S. Caillard and B. Moulin, 'Néphropathie interstitielle immuno-allergique Drug-induced acute interstitial nephritis', *Réanimation*, vol. 12, no. 4, pp. 306–312, Jun. 2003, doi: 10.1016/S1624-0693(03)00060-4.
- [18] A. Lavergne *et al.*, 'Acute kidney injury during treatment with high-dose cloxacillin: a report of 23 cases and literature review', *Int. J. Antimicrob. Agents*, vol. 52, no. 3, pp. 344–349, Sep. 2018, doi: 10.1016/j.ijantimicag.2018.04.007.
- [19] F. Jehl and D. Levêque, 'Perfusion continue des bêtalactamines : intérêts, inconvénients, modalités pratiques', *Réanimation*, vol. 18, no. 4, pp. 343–352, Jun. 2009, doi: 10.1016/j.reaurg.2009.03.009.
- [20] B. Vogelmann and W. A. Craig, 'Kinetics of antimicrobial activity', *J. Pediatr.*, vol. 108, no. 5 Pt 2, pp. 835–840, May 1986, doi: 10.1016/s0022-3476(86)80754-5.
- [21] D. Andes and W. A. Craig, 'Animal model pharmacokinetics and pharmacodynamics: a critical review', *International Journal of Antimicrobial Agents*, vol. 19, no. 4, pp. 261–268, Apr. 2002, doi: 10.1016/S0924-8579(02)00022-5.
- [22] R. Guilhaumou *et al.*, 'Optimization of the treatment with beta-lactam antibiotics in critically ill patients—guidelines from the French Society of Pharmacology and Therapeutics (Société Française de Pharmacologie et Thérapeutique—SFPT) and the French Society of Anaesthesia and Intensive Care Medicine (Société Française d'Anesthésie et Réanimation—SFAR)', *Crit Care*, vol. 23, no. 1, p. 104, Dec. 2019, doi: 10.1186/s13054-019-2378-9.
- [23] A. MacGowan, 'Revisiting Beta-lactams – PK/PD improves dosing of old antibiotics', *Current Opinion in Pharmacology*, vol. 11, no. 5, pp. 470–476, Oct. 2011, doi: 10.1016/j.coph.2011.07.006.

- [24] M. G. Sinnollareddy, M. S. Roberts, J. Lipman, and J. A. Roberts, 'β-lactam pharmacokinetics and pharmacodynamics in critically ill patients and strategies for dose optimization: a structured review', *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, vol. 39, no. 6, pp. 489–496, Jun. 2012, doi: 10.1111/j.1440-1681.2012.05715.x.
- [25] V. H. Tam, A. N. Schilling, S. Neshat, K. Poole, D. A. Melnick, and E. A. Coyle, 'Optimization of Meropenem Minimum Concentration/MIC Ratio To Suppress In Vitro Resistance of *Pseudomonas aeruginosa*', *AAC*, vol. 49, no. 12, pp. 4920–4927, Dec. 2005, doi: 10.1128/AAC.49.12.4920-4927.2005.
- [26] J. F. Mohr, A. Wanger, and J. H. Rex, 'Pharmacokinetic/pharmacodynamic modeling can help guide targeted antimicrobial therapy for nosocomial gram-negative infections in critically ill patients', *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 48, no. 2, pp. 125–130, Feb. 2004, doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2003.09.010.
- [27] C. Li, X. Du, J. L. Kuti, and D. P. Nicolau, 'Clinical pharmacodynamics of meropenem in patients with lower respiratory tract infections', *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 51, no. 5, pp. 1725–1730, May 2007, doi: 10.1128/AAC.00294-06.
- [28] R. E. Ariano, A. Nyhlén, J. P. Donnelly, D. S. Sitar, G. K. M. Harding, and S. A. Zelenitsky, 'Pharmacokinetics and pharmacodynamics of meropenem in febrile neutropenic patients with bacteremia', *Ann Pharmacother*, vol. 39, no. 1, pp. 32–38, Jan. 2005, doi: 10.1345/aph.1E271.
- [29] P. S. McKinnon, J. A. Paladino, and J. J. Schentag, 'Evaluation of area under the inhibitory curve (AUC) and time above the minimum inhibitory concentration (T>MIC) as predictors of outcome for cefepime and ceftazidime in serious bacterial infections', *Int. J. Antimicrob. Agents*, vol. 31, no. 4, pp. 345–351, Apr. 2008, doi: 10.1016/j.ijantimicag.2007.12.009.
- [30] J. A. Roberts *et al.*, 'DALI: defining antibiotic levels in intensive care unit patients: are current β-lactam antibiotic doses sufficient for critically ill patients?', *Clin. Infect. Dis.*, vol. 58, no. 8, pp. 1072–1083, Apr. 2014, doi: 10.1093/cid/ciu027.
- [31] A. E. Muller, N. Punt, and J. W. Mouton, 'Optimal exposures of ceftazidime predict the probability of microbiological and clinical outcome in the treatment of nosocomial pneumonia', *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 68, no. 4, pp. 900–906, Apr. 2013, doi: 10.1093/jac/dks468.
- [32] F. B. Sime, M. S. Roberts, S. L. Peake, J. Lipman, and J. A. Roberts, 'Does Beta-lactam Pharmacokinetic Variability in Critically Ill Patients Justify Therapeutic Drug Monitoring? A Systematic Review', *Ann Intensive Care*, vol. 2, no. 1, p. 35, Jul. 2012, doi: 10.1186/2110-5820-2-35.
- [33] M. H. Abdul-Aziz *et al.*, 'Antimicrobial therapeutic drug monitoring in critically ill adult patients: a Position Paper', *Intensive Care Med*, vol. 46, no. 6, pp. 1127–1153, Jun. 2020, doi: 10.1007/s00134-020-06050-1.
- [34] W. A. Krueger *et al.*, 'Evaluation by monte carlo simulation of the pharmacokinetics of two doses of meropenem administered intermittently or as a continuous infusion in healthy volunteers', *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 49, no. 5, pp. 1881–1889, May 2005, doi: 10.1128/AAC.49.5.1881-1889.2005.
- [35] S. G. Sakka *et al.*, 'Population pharmacokinetics and pharmacodynamics of continuous versus short-term infusion of imipenem-cilastatin in critically ill patients in a randomized, controlled trial', *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 51, no. 9, pp. 3304–3310, Sep. 2007, doi: 10.1128/AAC.01318-06.

- [36] Y. R. Lee, P. D. Miller, S. K. Alzghari, D. D. Blanco, J. D. Hager, and K. S. Kuntz, 'Continuous Infusion Versus Intermittent Bolus of Beta-Lactams in Critically Ill Patients with Respiratory Infections: A Systematic Review and Meta-analysis', *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*, vol. 43, no. 2, pp. 155–170, Apr. 2018, doi: 10.1007/s13318-017-0439-5.
- [37] S.-Y. Fan, H.-P. Shum, W.-Y. Cheng, Y.-H. Chan, S.-Y. M. Leung, and W.-W. Yan, 'Clinical Outcomes of Extended Versus Intermittent Infusion of Piperacillin/Tazobactam in Critically Ill Patients: A Prospective Clinical Trial', *Pharmacotherapy*, vol. 37, no. 1, pp. 109–119, 2017, doi: 10.1002/phar.1875.
- [38] T. P. Lodise, B. Lomaestro, and G. L. Drusano, 'Piperacillin-tazobactam for *Pseudomonas aeruginosa* infection: clinical implications of an extended-infusion dosing strategy', *Clin. Infect. Dis.*, vol. 44, no. 3, pp. 357–363, Feb. 2007, doi: 10.1086/510590.
- [39] A. Lal, P. Jaoude, and A. A. El-Solh, 'Prolonged versus Intermittent Infusion of β -Lactams for the Treatment of Nosocomial Pneumonia: A Meta-Analysis', *Infect Chemother*, vol. 48, no. 2, pp. 81–90, Jun. 2016, doi: 10.3947/ic.2016.48.2.81.
- [40] A. De Sarro, D. Ammendola, M. Zappala, S. Grasso, and G. B. De Sarro, 'Relationship between structure and convulsant properties of some beta-lactam antibiotics following intracerebroventricular microinjection in rats', *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 39, no. 1, pp. 232–237, Jan. 1995, doi: 10.1128/aac.39.1.232.
- [41] J. E. Fugate, E. A. Kalimullah, S. E. Hocker, S. L. Clark, E. F. M. Wijdsicks, and A. A. Rabinstein, 'Cefepime neurotoxicity in the intensive care unit: a cause of severe, underappreciated encephalopathy', *Crit Care*, vol. 17, no. 6, p. R264, Nov. 2013, doi: 10.1186/cc13094.
- [42] S. Deshayes, A. Coquerel, and R. Verdon, 'Neurological Adverse Effects Attributable to β -Lactam Antibiotics: A Literature Review', *Drug Saf*, vol. 40, no. 12, pp. 1171–1198, 2017, doi: 10.1007/s40264-017-0578-2.
- [43] L. E. Payne *et al.*, 'Cefepime-induced neurotoxicity: a systematic review', *Crit Care*, vol. 21, no. 1, p. 276, Dec. 2017, doi: 10.1186/s13054-017-1856-1.
- [44] S. Imani, H. Buscher, D. Marriott, S. Gentili, and I. Sandaradura, 'Too much of a good thing: a retrospective study of β -lactam concentration-toxicity relationships', *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 72, no. 10, pp. 2891–2897, 01 2017, doi: 10.1093/jac/dkx209.
- [45] Paul Le Turnier, 'Is there a concentration threshold for ceftriaxone toxicity? Preliminary results of "High-Dose Ceftriaxone in Central Nervous System Infections". Poster ECCMID 2017', Accessed: Apr. 20, 2020, [Online]. Available: https://www.escmid.org/escmid_publications/escmid_elibrary/material/%3Fmid%3D41749+%&cd=2&hl=fr&ct=clnk&gl=fr.
- [46] M. Beumier *et al.*, 'Elevated β -lactam concentrations associated with neurological deterioration in ICU septic patients', *Minerva Anesthesiol*, vol. 81, no. 5, pp. 497–506, May 2015.
- [47] V. Zeller, D. Puyraimond-Zemmour, T. Sené, O. Lidove, V. Meyssonier, and J.-M. Ziza, 'Amoxicillin Crystalluria, an Emerging Complication with an Old and Well-Known Antibiotic', *Antimicrob Agents Chemother*, vol. 60, no. 5, p. 3248, Apr. 2016, doi: 10.1128/AAC.00359-16.
- [48] Société de réanimation de Langue Française, 'Dosons les Pénis M en réanimation !' <https://www.srlf.org/reactu/surdosage-penim/> (accessed Apr. 20, 2020).

- [49] Thomas Glück, 'Comment on Wong G et al. β -Lactam pharmacodynamics in Gram-negative bloodstream infections in the critically ill. J Antimicrob Chemother 2019', *New England Journal of Medicine*.
- [50] H. Derendorf, Ed., *Fundamentals of antimicrobial pharmacokinetics and pharmacodynamics*. New York: Springer, 2014.
- [51] Société Française de Réanimation, 'Optimisation du traitement par bêta-lactamines chez le patient de soins critiques', Sep. 29, 2018. <https://sfar.org/optimisation-du-traitement-par-beta-lactamines-chez-le-patient-de-soins-critiques/> (accessed Apr. 25, 2020).
- [52] R. Garraffo and T. Lavrut, 'Signification clinique des corrélations pharmacocinétique/pharmacodynamie des antibiotiques chez les patients de réanimation', *Réanimation*, vol. 14, no. 4, pp. 264–275, Jun. 2005, doi: 10.1016/j.reaurg.2005.04.006.
- [53] G. Wong *et al.*, 'Protein binding of β -lactam antibiotics in critically ill patients: can we successfully predict unbound concentrations?', *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 57, no. 12, pp. 6165–6170, Dec. 2013, doi: 10.1128/AAC.00951-13.
- [54] U. Liebchen, A. Kratzer, S. G. Wicha, F. Kees, C. Kloft, and M. G. Kees, 'Unbound fraction of ertapenem in intensive care unit patients', *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 69, no. 11, pp. 3108–3111, Nov. 2014, doi: 10.1093/jac/dku226.
- [55] J. A. Roberts *et al.*, 'Individualised antibiotic dosing for patients who are critically ill: challenges and potential solutions', *Lancet Infect Dis*, vol. 14, no. 6, pp. 498–509, Jun. 2014, doi: 10.1016/S1473-3099(14)70036-2.
- [56] J. Zander *et al.*, 'Piperacillin concentration in relation to therapeutic range in critically ill patients – a prospective observational study', *Crit Care*, vol. 20, 2016, doi: 10.1186/s13054-016-1255-z.
- [57] M. Uldemolins, J. A. Roberts, J. Rello, D. L. Paterson, and J. Lipman, 'The Effects of Hypoalbuminaemia on Optimizing Antibacterial Dosing in Critically Ill Patients', *Clinical Pharmacokinetics*, vol. 50, no. 2, pp. 99–110, Feb. 2011, doi: 10.2165/11539220-000000000-00000.
- [58] A. Huttner *et al.*, 'Augmented renal clearance, low β -lactam concentrations and clinical outcomes in the critically ill: An observational prospective cohort study', *International Journal of Antimicrobial Agents*, vol. 45, no. 4, pp. 385–392, Apr. 2015, doi: 10.1016/j.ijantimicag.2014.12.017.
- [59] C. Carrié *et al.*, 'Association between augmented renal clearance, antibiotic exposure and clinical outcome in critically ill septic patients receiving high doses of β -lactams administered by continuous infusion: a prospective observational study', *International Journal of Antimicrobial Agents*, vol. 51, no. 3, pp. 443–449, Mar. 2018, doi: 10.1016/j.ijantimicag.2017.11.013.
- [60] J. W. Mouton, A. E. Muller, R. Canton, C. G. Giske, G. Kahlmeter, and J. Turnidge, 'MIC-based dose adjustment: facts and fables', *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, vol. 73, no. 3, pp. 564–568, Mar. 2018, doi: 10.1093/jac/dkx427.
- [61] M. Riou *et al.*, 'In vivo development of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from the lower respiratory tract of Intensive Care Unit patients with nosocomial pneumonia and receiving antipseudomonal therapy', *International Journal of Antimicrobial Agents*, vol. 36, no. 6, pp. 513–522, Dec. 2010, doi: 10.1016/j.ijantimicag.2010.08.005.

- [62] L. Thieme *et al.*, 'MBEC Versus MBIC: the Lack of Differentiation between Biofilm Reducing and Inhibitory Effects as a Current Problem in Biofilm Methodology', *Biol Proced Online*, vol. 21, no. 1, p. 18, Dec. 2019, doi: 10.1186/s12575-019-0106-0,
- [63] E. A. Lallemand, M. Z. Lacroix, P.-L. Toutain, S. Boullier, A. A. Ferran, and A. Bousquet-Melou, 'In vitro Degradation of Antimicrobials during Use of Broth Microdilution Method Can Increase the Measured Minimal Inhibitory and Minimal Bactericidal Concentrations', *Front. Microbiol.*, vol. 7, Dec. 2016, doi: 10.3389/fmicb.2016.02051.
- [64] N. Pinder, T. Brenner, S. Swoboda, M. A. Weigand, and T. Hoppe-Tichy, 'Therapeutic drug monitoring of beta-lactam antibiotics – Influence of sample stability on the analysis of piperacillin, meropenem, ceftazidime and flucloxacillin by HPLC-UV', *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, vol. 143, pp. 86–93, Sep. 2017, doi: 10.1016/j.jpba.2017.05.037.
- [65] J. S. Mortensen, B. P. Jensen, M. Zhang, and M. Doogue, 'Preanalytical Stability of Piperacillin, Tazobactam, Meropenem, and Ceftazidime in Plasma and Whole Blood Using Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry', *Ther Drug Monit*, vol. 41, no. 4, pp. 538–543, 2019, doi: 10.1097/FTD.0000000000000650,
- [66] R. D'Cunha *et al.*, 'Quantification of Cefepime, Meropenem, Piperacillin, and Tazobactam in Human Plasma Using a Sensitive and Robust Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Method, Part 2: Stability Evaluation', *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 62, no. 9, 2018, doi: 10.1128/AAC.00861-18.
- [67] E. Dailly, R. Bouquié, G. Deslandes, P. Jolliet, and R. Le Floch, 'A liquid chromatography assay for a quantification of doripenem, ertapenem, imipenem, meropenem concentrations in human plasma: Application to a clinical pharmacokinetic study', *Journal of Chromatography B*, vol. 879, no. 15–16, pp. 1137–1142, May 2011, doi: 10.1016/j.jchromb.2011.03.038.
- [68] European Medicines Agency, 'Guideline on bioanalytical method validation'. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-bioanalytical-method-validation_en.pdf (accessed Apr. 20, 2020).
- [69] M.-C. Verdier, O. Tribut, P. Tattevin, Y. Le Tulzo, C. Michelet, and D. Bentué-Ferrer, 'Simultaneous determination of 12 beta-lactam antibiotics in human plasma by high-performance liquid chromatography with UV detection: application to therapeutic drug monitoring', *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 55, no. 10, pp. 4873–4879, Oct. 2011, doi: 10.1128/AAC.00533-11.
- [70] P. Le Turnier *et al.*, 'Should we reconsider cefazolin for treating staphylococcal meningitis? A retrospective analysis of cefazolin and cloxacillin cerebrospinal fluid levels in patients treated for staphylococcal meningitis', *Clinical Microbiology and Infection*, p. S1198743X20302743, May 2020, doi: 10.1016/j.cmi.2020.04.046.
- [71] J. W. Bins and H. Mattie, 'Saturation of the tubular excretion of beta-lactam antibiotics', *Br J Clin Pharmacol*, vol. 25, no. 1, pp. 41–50, Jan. 1988, doi: 10.1111/j.1365-2125.1988.tb03280.x.
- [72] M. L. Grayson *et al.*, *Kucers' The Use of Antibiotics : A Clinical Review of Antibacterial, Antifungal, Antiparasitic, and Antiviral Drugs, Seventh Edition*. CRC Press, 2017.
- [73] H. H. W. Thijssen and H. Mattie, 'Active Metabolites of Isoxazolympenicillins in Humans', *Antimicrob Agents Chemother*, vol. 10, no. 3, pp. 441–446, Sep. 1976, Accessed: Apr. 29, 2019. [Online]. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC429767/>.
- [74] A. L. Demain and N. A. Solomon, *Antibiotics: Containing the Beta-Lactam Structure*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 1983.

- [75] E. H. Nauta and H. Mattie, 'Dicloxacillin and cloxacillin: pharmacokinetics in healthy and hemodialysis subjects', *Clin. Pharmacol. Ther.*, vol. 20, no. 1, pp. 98–108, Jul. 1976.
- [76] Haute Autorité de Santé, 'Évaluation du débit de filtration glomérulaire, et du dosage de la créatininémie dans le diagnostic de la maladie rénale chronique chez l'adulte'. https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2011-12/rapport_dfg_creatininemie.pdf.
- [77] C. Carrié, S. Rubin, P. Sioniac, D. Breilh, and M. Biais, 'The kinetic glomerular filtration rate is not interchangeable with measured creatinine clearance for prediction of piperacillin underexposure in critically ill patients with augmented renal clearance', *Crit Care*, vol. 22, no. 1, p. 177, Dec. 2018, doi: 10.1186/s13054-018-2117-7.
- [78] R. D. Perrone, N. E. Madias, and A. S. Levey, 'Serum creatinine as an index of renal function: new insights into old concepts', *Clin. Chem.*, vol. 38, no. 10, pp. 1933–1953, Oct. 1992.
- [79] O. Shemesh, H. Golbetz, J. P. Kriss, and B. D. Myers, 'Limitations of creatinine as a filtration marker in glomerulopathic patients', *Kidney Int.*, vol. 28, no. 5, pp. 830–838, Nov. 1985, doi: 10.1038/ki.1985.205.
- [80] L. L. Brunton, L. S. Goodman, A. Gilman, and B. A. Chabner, Eds., *Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics*, 12. ed. New York, NY: McGraw-Hill Medical, 2011.
- [81] L. G. Visser, P. Arnouts, R. van Furth, H. Mattie, and P. J. van den Broek, 'Clinical pharmacokinetics of continuous intravenous administration of penicillins', *Clin. Infect. Dis.*, vol. 17, no. 3, pp. 491–495, Sep. 1993, doi: 10.1093/clinids/17.3.491.
- [82] M. C. Verdier, O. Tribut, P. Tattevin, C. Michelet, and D. Bentué-Ferrer, 'Assessment of Interindividual Variability of Plasma Concentrations after Administration of High Doses of Intravenous Amoxicillin or Cloxacillin in Critically Ill Patients', *Journal of Chemotherapy*, vol. 23, no. 5, pp. 277–281, Oct. 2011, doi: 10.1179/joc.2011.23.5.277.
- [83] International Transporter Consortium *et al.*, 'Membrane transporters in drug development', *Nat Rev Drug Discov*, vol. 9, no. 3, pp. 215–236, Mar. 2010, doi: 10.1038/nrd3028.
- [84] A. Ivanyuk, F. Livio, J. Biollaz, and T. Buclin, 'Renal Drug Transporters and Drug Interactions', *Clin Pharmacokinet*, vol. 56, no. 8, pp. 825–892, 2017, doi: 10.1007/s40262-017-0506-8.
- [85] C. B. Landersdorfer, C. M. J. Kirkpatrick, M. Kinzig, J. B. Bulitta, U. Holzgrabe, and F. Sörgel, 'Inhibition of Flucloxacillin Tubular Renal Secretion by Piperacillin', *British Journal of Clinical Pharmacology*, Jul. 2008, doi: 10.1111/j.1365-2125.2008.03266.x.
- [86] L. Hergren, M. Ehrenbo, and L. O. Boréus, 'Drug Binding to Plasma Proteins During Human Pregnancy and in the Perinatal Period', *Dev Pharmacol Ther*, vol. 6, no. 2, pp. 110–124, 1983, doi: 10.1159/000457284.
- [87] R. F. Eyler and K. Shvets, 'Clinical Pharmacology of Antibiotics', *CJASN*, vol. 14, no. 7, pp. 1080–1090, Jul. 2019, doi: 10.2215/CJN.08140718.
- [88] Food & Drug Administration, 'Qualification Determination Letter'. <https://www.fda.gov/media/115635/download> (accessed Jul. 29, 2020).
- [89] S. A. M. Dhaese *et al.*, 'Saturable elimination of piperacillin in critically ill patients: implications for continuous infusion', *International Journal of Antimicrobial Agents*, vol. 54, no. 6, pp. 741–749, Dec. 2019, doi: 10.1016/j.ijantimicag.2019.08.024.

- [90] Haute Autorité de Santé, 'Maladie Rénale Chronique de l'adulte'. https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2012-04/guide_parours_de_soins_mrc_web.pdf (accessed Jul. 27, 2020).
- [91] Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française, 'Recommandations de pratique clinique Infections ostéo-articulaires sur matériel (prothèse, implant, ostéosynthèse)'.
- [92] T. J. Cahill and B. D. Prendergast, 'Infective endocarditis', *The Lancet*, vol. 387, no. 10021, pp. 882–893, Feb. 2016, doi: 10.1016/S0140-6736(15)00067-7.
- [93] S. Y. C. Tong, J. S. Davis, E. Eichenberger, T. L. Holland, and V. G. Fowler, 'Staphylococcus aureus Infections: Epidemiology, Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Management', *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 28, no. 3, pp. 603–661, Jul. 2015, doi: 10.1128/CMR.00134-14.
- [94] J. A. Roberts, F. Pea, and J. Lipman, 'The Clinical Relevance of Plasma Protein Binding Changes', *Clin Pharmacokinet*, vol. 52, no. 1, pp. 1–8, Jan. 2013, doi: 10.1007/s40262-012-0018-5.
- [95] A. Chapron, D. Shen, B. Kestenbaum, C. Robinson-Cohen, J. Himmelfarb, and C. Yeung, 'Does Secretory Clearance Follow Glomerular Filtration Rate in Chronic Kidney Diseases? Reconsidering the Intact Nephron Hypothesis: Secretion and filtration in chronic kidney disease', *Clinical And Translational Science*, vol. 10, no. 5, pp. 395–403, Sep. 2017, doi: 10.1111/cts.12481.
- [96] R. Hori, K. Okumura, A. Kamiya, H. Nihira, and H. Nakano, 'Ampicillin and cephalexin in renal insufficiency', *Clin Pharmacol Ther*, vol. 34, no. 6, pp. 792–798, Dec. 1983, doi: 10.1038/clpt.1983.251.
- [97] C. A. M. van Ginneken and F. G. M. Russel, 'Saturable Pharmacokinetics in the Renal Excretion of Drugs', *Clinical Pharmacokinetics*, vol. 16, no. 1, pp. 38–54, Jan. 1989, doi: 10.2165/00003088-198916010-00003.

Je, soussigné LALANNE PARPALEIX Sébastien, déclare être pleinement conscient(e) que le plagiat de documents ou d'une partie d'un document publiés constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée. (Décret n°92-657 du 13 juillet 1992) En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées pour écrire ce mémoire.



SIGNATURES DU DIRECTEUR DE THESE ET DU DOYEN

N° Étudiant : 21508652.

N° Thèse : ...63.....


Nom et Prénom : LALANNE PARPALEIX Sébastien

Sujet : Facteurs de variabilité de la réponse aux bêta-lactamines

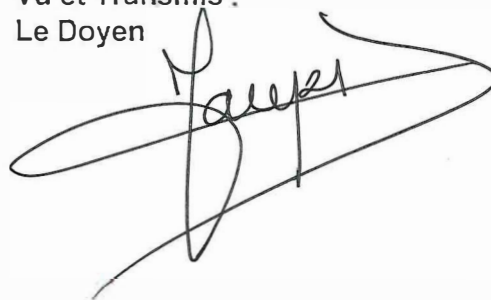
.....

Tours, le : 12/09/2021

Le(s) Directeur(s) de Thèse :

Nani Clemencia Verdeir 

Vu et Transmis :
Le Doyen



LALANNE PARPALEIX Sébastien	Thèse N° 63
Facteurs de variabilité de la réponse aux bêta-lactamines	
<p>Le suivi thérapeutique pharmacologique (STP) des bêta-lactamines est une pratique hospitalière qui a pris son essor avec l'augmentation de son niveau de preuve dans le cadre d'infections sévères et profondes en réanimation. L'objectif de ce travail est de recenser les différents facteurs à l'origine la variabilité de la réponse à ces antibiotiques, tant pharmacocinétiques que pharmacodynamiques puis de se focaliser sur l'impact du tubule rénal sur la variabilité pharmacocinétique des bêta-lactamines. La cloxacilline est une pénicilline M fréquemment dosée en laboratoire de pharmacologie mais pour laquelle les interactions avec les transporteurs rénaux ne sont pas documentées dans la littérature. Nous avons consacré deux études à la recherche du rôle du tubule rénal dans la variabilité pharmacocinétique de la cloxacilline.</p> <p>La première étude <i>in vitro</i> est menée sur modèle cellulaire surexprimant des transporteurs tubulaires rénaux de type organic anion transporter (OAT). Les données de cette étude ont permis d'identifier la cloxacilline comme un substrat d'OAT3. Par ailleurs une inhibition marquée de l'activité d'OAT3 par un inhibiteur de la pompe à protons fréquemment co-prescrit, le lansoprazole, a pu être mise en évidence.</p> <p>Une étude clinique rétrospective cas/témoin a été menée pour vérifier cette potentielle interaction chez 86 patients hospitalisés au CHU de Rennes, bénéficiant d'un STP de la cloxacilline, les cas correspondant à des patients sous lansoprazole et cloxacilline, les témoins à des patients sous cloxacilline seule. Les résultats de cette étude n'ont pas permis d'identifier de diminution significative de la clairance de réabsorption/sécrétion de la cloxacilline en présence de lansoprazole, permettant d'exclure une interaction significative entre lansoprazole et cloxacilline. Les données de concentrations recueillies confirment que la variabilité des concentrations en cloxacilline ne se limite pas au patient de réanimation. Par ailleurs, les données de clairance calculées soulignent l'importance de la fonction tubulaire dans le processus d'excrétion de cet antibiotique, en cohérence avec le caractère substrat d'OAT3 démontré dans l'étude <i>in vitro</i>.</p>	
Antibiotiques, sécrétion tubulaire, suivi thérapeutique pharmacologique	
<p style="text-align: center;"><u>JURY</u></p> <p>PRÉSIDENT :</p> <p>Monsieur le Professeur Daniel ANTIER (Professeur des Universités, Praticien Hospitalier)</p> <p>MEMBRES :</p> <p>Monsieur le Docteur François BENEZIT (Chef de Clinique, Assistant)</p> <p>Madame le Docteur Caroline PIAU (Praticien Hospitalier)</p> <p>Madame le Docteur Sophie POTIN (Maitre de conférences des universités, Praticien Hospitalier)</p> <p>Madame le Docteur Camille TRON (Assistant Hospitalo-Universitaire)</p> <p>Madame le Docteur Marie-Clémence VERDIER (dir.) (Maitre de conférences des universités, Praticien Hospitalier)</p>	
Soutenue à Rennes le 06 novembre 2020	