

UNIVERSITE TOULOUSE III – PAUL SABATIER
FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

ANNÉE 2020

THÈSE 2020/TOU3/2031

THÈSE

POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement par

Camille MANÉ

Le 10 septembre 2020 à Toulouse

**INFLUENCE DU SYSTÈME D'OXYGÉNATION PAR MEMBRANE EXTRA-
CORPORELLE SUR LA PHARMACOCINÉTIQUE DE L'ASSOCIATION
CEFTOLOZANE/TAZOBACTAM**

Directeur de thèse : M. le Docteur Clément DELMAS

JURY

Président : M^{me} le Professeur Peggy GANDIA
1^{er} assesseur : M. le Professeur Bertrand MARCHEIX
2^{ème} assesseur : M^{me} le Docteur Stéphanie RUIZ
3^{ème} assesseur : M. le Docteur Cyril LEVEN

UNIVERSITE TOULOUSE III – PAUL SABATIER
FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

ANNÉE 2020

THÈSE 2020/TOU3/2031

THÈSE

POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement par

Camille MANÉ

Le 10 septembre 2020 à Toulouse

**INFLUENCE DU SYSTÈME D'OXYGÉNATION PAR MEMBRANE EXTRA-
CORPORELLE SUR LA PHARMACOCINÉTIQUE DE L'ASSOCIATION
CEFTOLOZANE/TAZOBACTAM**

Directeur de thèse : M. le Docteur Clément DELMAS

JURY

Président : M^{me} le Professeur Peggy GANDIA
1^{er} assesseur : M. le Professeur Bertrand MARCHEIX
2^{ème} assesseur : M^{me} le Docteur Stéphanie RUIZ
3^{ème} assesseur : M. le Docteur Cyril LEVEN

**PERSONNEL ENSEIGNANT
de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques de l'Université Paul Sabatier
au 2 mars 2020**

Professeurs Emérites

M. BENOIST H.	Immunologie
M. BERNADOU J.	Chimie Thérapeutique
M. CAMPISTRON G.	Physiologie
M. CHAVANT L.	Mycologie
M. GAIRIN J.E.	Pharmacologie
Mme NEPVEU F.	Chimie analytique
M. ROUGE P.	Biologie Cellulaire
M. SALLES B.	Toxicologie
M. SIE P.	Hématologie

Professeurs des Universités

Hospitalo-Universitaires

Mme AYYOUB M.	Immunologie
M. CHATELUT E.	Pharmacologie
Mme DE MAS MANSAT V.	Hématologie
M. FAVRE G.	Biochimie
Mme GANDIA P.	Pharmacologie
M. PARINI A.	Physiologie
M. PASQUIER C. (Doyen)	Bactériologie - Virologie
Mme ROQUES C.	Bactériologie - Virologie
Mme ROUSSIN A.	Pharmacologie
Mme SALLERIN B.	Pharmacie Clinique
M. VALENTIN A.	Parasitologie

Universitaires

Mme BARRE A.	Biologie
Mme BERNARDES-GÉNISSON V.	Chimie thérapeutique
Mme BOUTET E.	Toxicologie - Sémiologie
Mme COUDERC B.	Biochimie
M. CUSSAC D. (Vice-Doyen)	Physiologie
M. FABRE N.	Pharmacognosie
Mme GIROD-FULLANA S.	Pharmacie Galénique
M. GUIARD B.	Pharmacologie
Mme MULLER-STAU MONT C.	Toxicologie - Sémiologie
Mme REYBIER-VUATTOUX K.	Chimie analytique
M. SEGUI B.	Biologie Cellulaire
Mme SIXOU S.	Biochimie
M. SOUCHARD J-P.	Chimie analytique
Mme TABOULET F.	Droit Pharmaceutique
M. VERHAEGHE P.	Chimie Thérapeutique

Maîtres de Conférences des Universités

Hospitalo-Universitaires

M. GESTAC P. (*)	Pharmacie Clinique
Mme JUILLARD-CONDAT B.	Droit Pharmaceutique
M. PUISSET F.	Pharmacie Clinique
Mme ROUZAUD-LABORDE C.	Pharmacie Clinique
Mme SERONIE-VIVIEN S (*)	Biochimie
Mme THOMAS F. (*)	Pharmacologie

Universitaires

Mme ARELLANO C. (*)	Chimie Thérapeutique
Mme AUTHIER H.	Parasitologie
M. BERGE M. (*)	Bactériologie - Virologie
Mme BON C.	Biophysique
M. BOUJILA J. (*)	Chimie analytique
M. BROUILLET F.	Pharmacie Galénique
Mme CABOU C.	Physiologie
Mme CAZALBOU S. (*)	Pharmacie Galénique
Mme CHAPUY-REGAUD S.	Bactériologie - Virologie
Mme COLACIOS C.	Immunologie
Mme COSTE A. (*)	Parasitologie
M. DELCOURT N.	Biochimie
Mme DERA EVE C.	Chimie Thérapeutique
Mme ECHINARD-DOUIN V.	Physiologie
Mme EL GARAH F.	Chimie Pharmaceutique
Mme EL HAGE S.	Chimie Pharmaceutique
Mme FALLONE F.	Toxicologie
Mme FERNANDEZ-VIDAL A.	Toxicologie
Mme HALOVA-LAJOIE B.	Chimie Pharmaceutique
Mme JOUANJUS E.	Pharmacologie
Mme LAJOIE-MAZENC I.	Biochimie
Mme LEFEVRE L.	Physiologie
Mme LE LAMER A-C.	Pharmacognosie
M. LEMARIE A.	Biochimie
M. MARTI G.	Pharmacognosie
Mme MONFERRAN S.	Biochimie
M. OLICHON A.	Biochimie
M. SAINTE-MARIE Y.	Physiologie
M. STIGLIANI J-L.	Chimie Pharmaceutique
M. SUDOR J. (*)	Chimie Analytique
Mme TERRISSE A-D.	Hématologie
Mme TOURRETTE-DIALLO A. (*)	Pharmacie Galénique
Mme VANSTEELANDT M.	Pharmacognosie
Mme WHITE-KONING M. (*)	Mathématiques

(*) Titulaire de l'habilitation à diriger des recherches (HDR)

Enseignants non titulaires

Assistants Hospitalo-Universitaires

Mme LARGEAUD L.	Immunologie
M. LE LOUEDEC F.	Pharmacologie
M. MOUMENI A.	Biochimie
M. PAGES A.	Pharmacie Clinique
Mme SALABERT A.S	Biophysique

Assistants Hospitalo-Universitaires

Mme ROUCH L.	Pharmacie Clinique
--------------	--------------------

REMERCIEMENTS

A Madame le Professeur Peggy Gandia, Présidente de jury

Je tiens à vous remercier d'avoir accepté de présider ce jury et de m'avoir encadrée pour l'élaboration et la rédaction de ce travail. Je vous suis reconnaissante de m'avoir partagé votre passion de la pharmacocinétique et de tout ce que vous m'avez appris pendant ces années au Laboratoire qui ont fait de moi une pharmacologue. Merci également pour toutes vos qualités humaines qui m'auront autant apporté que vos compétences professionnelles.

A Monsieur le Docteur Clément Delmas, Directeur de thèse

Je tiens à te remercier pour ton encadrement de chaque instant sans lequel ce travail n'aurait pu aboutir. Je te suis très reconnaissante d'y avoir consacré le temps nécessaire malgré tes nombreuses responsabilités professionnelles et familiales. Par-dessus tout, merci pour ton enthousiasme communicatif et ton accessibilité qui m'ont permis de réaliser ce travail dans les meilleures conditions.

A Monsieur le Professeur Bertrand Marcheix, Assesseur

Je tiens à vous remercier de l'attention que vous avez bien voulu porter à ce travail, de nous avoir mis à disposition les locaux pour le réaliser et de me faire l'honneur de le juger. Soyez assuré de ma profonde reconnaissance.

A Madame le Docteur Stéphanie Ruiz, Assesseur

Je tiens à vous remercier d'avoir accepté de siéger à ce jury. Je vous suis reconnaissante pour votre participation à l'élaboration ce projet ainsi qu'à l'aide que vous avez apportée à sa réalisation.

A Monsieur le Docteur Cyril Leven, Assesseur

Je tiens à te remercier d'avoir accepté de siéger à ce jury pour y apporter ton expertise en modélisation ainsi que ta connaissance du sujet. Je te suis reconnaissante pour ton accueil et ta confiance pour développer la pharmacologie brestoise !

Pour leur aide dans la réalisation de ce travail, je tiens à remercier :

Le Professeur Didier Concordet, le Professeur Patrick Verwaerde, le Docteur Bernard Georges, le Docteur Jean Porterie, le Docteur Géraldine Jourdan, le Docteur Michel Lavit, Romain et Sarah pour leur participation à l'élaboration et la réalisation de ce travail.

Le Professeur Alain Bousquet-Mélou, l'Équipe des Perfusionnistes du CHU de Rangueil et le Professeur Xavier Sudre du CREFRE- US006 pour l'aide matérielle qu'ils ont apportée à la réalisation des expérimentations de ce travail.

Patrick Seraissol pour son aide précieuse sur les aspects analytiques de ce travail.

Pour le rôle qu'ils ont eu dans ma formation, je tiens à remercier :

Toute l'équipe de recherche « Innovations Thérapeutiques et Résistances », pour m'avoir partagé leur expérience pendant mon stage de Master et même en dehors. Merci également aux plus jeunes pour toutes les super soirées que nous avons passées ensemble.

Toute l'équipe du Laboratoire de Pharmacocinétique et Toxicologie et du Plateau des Techniques Spécialisées du CHU de Toulouse pour tout ce que vous m'avez appris au cours de ces années avec vous, dans une bonne ambiance à toute épreuve. Mention spéciale à Michel, Patrick et surtout Thomas pour m'avoir fait découvrir les mystères de l'analytique. Ce sera toujours un plaisir pour moi de revenir vous voir.

Toute l'équipe du Laboratoire de Pharmacologie-Toxicologie-Pharmacovigilance du CHU de Limoges pour m'avoir partagé votre expertise pendant le semestre passé avec vous.

Toute l'équipe de la Pharmacie de Mondétour pour m'avoir partagé votre respect du patient et votre amour de l'officine même si ce n'est pas, finalement, la voie que j'ai choisie.

A tous ceux qui m'ont accompagnée pendant ces années d'études :

A tous mes cointernes, pour ce que vous m'avez apporté aussi bien au niveau professionnel que personnel au cours des stages, des gardes comme des soirées et pour les bons souvenirs que je garderai. Mention spéciale à Alexandre et Marc, vous avez fait de ce court semestre avec vous le meilleur de mon internat !

A mes amis de la Faculté de Pharmacie de Châtenay-Malabry, Cécile, Delphine, Amélie, Antoine, Pauline et compagnie. Je vous remercie pour les fous rires et le soutien

pendant la préparation du concours de l'internat mais surtout de répondre toujours présents pour le traditionnel restaurant de retrouvailles dès que j'ai un peu de temps à Paris.

A mes amis de plus longue date, Lea, Mehdi, Marine, Camille, Kim et Nico, Nath, Frédo, Alexis, Flore, Lauriane et les autres dont j'ai moins de nouvelles, pour tous les souvenirs partagés et ceux à venir.

A Sarah, cointerne en or, amie précieuse. Sans toi, ma fin d'internat n'aurait pas été la même. Il sera étrange de ne plus travailler avec toi au quotidien mais j'espère que cela ne nous empêchera pas de continuer à tout partager.

A ceux qui m'ont entourée depuis plus longtemps encore :

A mes parents. Merci pour votre présence, votre amour et votre soutien pendant toutes ces années malgré les aléas. J'espère que le résultat est à la hauteur de ce que vous m'avez apporté.

A mon frère, ma sœur et sa petite famille. Merci pour toutes les années passées ensemble, les grands débats, les vacances entre jeunes et votre disponibilité encore aujourd'hui quand votre petite sœur a besoin de vous.

A Guilhem, ma moitié depuis tant d'années. Merci pour ta présence, ton humour, ta patience et ton ouverture d'esprit malgré mes grandes idées de folie. Merci pour ton soutien à notre projet d'avenir contre vents et marées. Merci pour ton amour, vivement janvier !

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	5
TABLE DES MATIÈRES	8
LISTE DES ABRÉVIATIONS	10
LISTE DES FIGURES	11
LISTE DES TABLEAUX	13
INTRODUCTION.....	14
GÉNÉRALITÉS ET REVUE DE LA LITTÉRATURE.....	15
1. La pharmacocinétique	16
1.1. Les différentes étapes pharmacocinétiques.....	16
1.2. Les principaux paramètres pharmacocinétiques	17
1.3. Les méthodes de détermination des paramètres pharmacocinétiques.....	19
1.4. Modélisation non linéaire à effets mixtes	25
2. L'oxygénation par membrane extracorporelle	29
2.1. Historique.....	29
2.2. Indications.....	30
2.3. Circuit	30
2.4. Complications et devenir des patients sous ECMO.....	36
2.5. Influence sur la pharmacocinétique des médicaments administrés	38
3. Les modèles d'étude de l'influence de l'ECMO sur la pharmacocinétique des médicaments.....	45
4. L'association Ceftolozane / Tazobactam	46
4.1. Mécanismes d'action	46
4.2. Indications.....	48
4.3. Pharmacocinétique du Ceftolozane et du Tazobactam	48
4.4. Évaluation de l'efficacité par critère pharmacocinétique-pharmacodynamique ...	49
5. Influence de l'ECMO sur la pharmacocinétique de l'association Ceftolozane/Tazobactam.....	52

ÉTUDE EXPÉRIMENTALE.....	53
PRÉSENTATION DE L'ÉTUDE.....	54
MATÉRIELS ET MÉTHODES.....	55
1. Circuits d'ECMO	55
2. Expérimentations sur le modèle ex vivo	55
3. Expérimentations sur le modèle in vivo.....	57
4. Dosage du Ceftolozane et du Tazobactam	59
5. Analyse pharmacocinétique du Ceftolozane et du Tazobactam.....	60
RÉSULTATS	62
1. Dosage du Ceftolozane et du Tazobactam	62
2. Expérimentations sur le modèle ex vivo	62
3. Expérimentations sur le modèle in vivo.....	64
3.1. Approche non compartimentale.....	65
3.2. Approche de modélisation non linéaire à effets mixtes.....	66
DISCUSSION	73
CONCLUSION.....	78
BIBLIOGRAPHIE	79
ANNEXES	86
ABSTRACT.....	99

LISTE DES ABRÉVIATIONS

- 2LL	-2 fois le logarithme népérien de la vraisemblance (likelihood)
AIC	Akaike Information Criterion
AMM	Autorisation de Mise sur le Marché
ASC	Aire sous la Courbe
BIC	Bayesian Information Criterion
CHU	Centre Hospitalier Universitaire
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
COFRAC	Comité Français d'Accréditation
CV	Coefficient de Variation
DFG	Débit de Filtration Glomérulaire
ECMO	Extracorporeal Membrane Oxygenation
IV	Intraveineuse
LC-MS/MS	Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem
MTE	Marge Thérapeutique Étroite
PAVM	Pneumopathies Acquisées sous Ventilation Mécanique
PK-PD	Pharmacocinétique-Pharmacodynamique
PVC	Polyvinyl chloride
PTA	Probability of Target Attainment
SAEM	Stochastic Approximation of Expectation-Maximization
VPC	Visual Predictive Check

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Répartition des formes libre/liée et ionisée/non ionisée d'une molécule.....	16
Figure 2 : Détermination graphique des paramètres secondaires par approche non compartimentale.....	20
Figure 3 : Représentation d'un profil cinétique devant être représenté par un modèle bicompartimental.....	21
Figure 4 : Représentation du modèle monocompartimental avec administration IV bolus	22
Figure 5 : Détermination graphique des paramètres secondaires dans le cas du modèle monocompartimental avec administration IV bolus	22
Figure 6 : Représentation du modèle bicompartimental avec administration IV bolus.....	23
Figure 7 : Détermination graphique des paramètres secondaires dans le cas du modèle bicompartimental avec administration IV bolus	24
Figure 8 : Schéma d'un circuit d'ECMO	31
Figure 9 : Schéma d'une pompe péristaltique et d'une pompe centrifuge.....	31
Figure 10 : Schéma d'une membrane à fibres creuses.....	32
Figure 11 : Types de circuit et d'implantation classiques d'ECMO.	35
Figure 12 : Système de reperfusion du membre.....	36
Figure 13 : Représentation schématique des liaisons spécifiques et non spécifiques.....	38
Figure 14 : Part du volume de solution d'amorçage du circuit d'ECMO et du volume vasculaire natif du patient dans le volume sanguin circulant total selon l'âge du patient	42
Figure 15 : Effet de l'ECMO sur le système Rénine-Angiotensine-Aldostérone.....	42
Figure 16 : Structure du Ceftriaxone et du Tazobactam.....	46
Figure 17 : Schéma de la synthèse du peptidoglycane et site d'action des bêta-lactamines	47
Figure 18 : Schéma des critères d'efficacité pharmacocinétiques-pharmacodynamiques retrouvés pour les antibiotiques.....	50
Figure 19 : Pourcentage de profils simulés répondant au critère PK-PD d'efficacité du Ceftriaxone au niveau plasmatique et au niveau pulmonaire pour une posologie standard et distribution des CMI des entérobactéries et de <i>P. aeruginosa</i> isolés des patients hospitalisés pour pneumopathies	51
Figure 20 : Modèle ex vivo	56
Figure 21 : Plan d'administration et de prélèvements pour les expérimentations in vitro.....	57
Figure 22 : Modèle in vivo.....	58
Figure 23 : Plan d'administration et de prélèvements pour les expérimentations in vivo	59

Figure 24 : Concentrations obtenues avec le modèle ex vivo pour les hautes concentrations de Cefotolozane et de Tazobactam et les basses concentrations de Cefotolozane et de Tazobactam	63
Figure 25 : Profils cinétiques moyens obtenus avec le modèle in vivo pour le Cefotolozane et le Tazobactam dans le groupe ECMO et le groupe contrôle	65
Figure 26 : Concentrations observées de Cefotolozane en fonction des concentrations prédites avec les paramètres de population et avec les paramètres individuels du modèle bicompartimental.....	66
Figure 27 : Graphiques des résidus pondérés individuels en fonction du temps post-administration et en fonction des concentrations prédites de Cefotolozane	67
Figure 28 : Représentation des 5 ^{ème} , 50 ^{ème} et 95 ^{ème} percentiles des concentrations simulées à partir du modèle du Cefotolozane pour chaque instant de prélèvement (VPCs) et concentrations observées	69
Figure 29 : Concentrations observées de Tazobactam en fonction des concentrations prédites avec les paramètres de population et avec les paramètres individuels du modèle bicompartimental.....	69
Figure 30 : Graphiques des résidus pondérés individuels en fonction du temps post-administration et en fonction des concentrations prédites de Tazobactam	70
Figure 31 : Représentation des 5 ^{ème} , 50 ^{ème} et 95 ^{ème} percentiles des concentrations simulées à partir du modèle du Tazobactam pour chaque instant de prélèvement (VPCs) et concentrations observées.....	72

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Pourcentage de survie des patients mis sous ECMO selon l'indication et l'âge des patients	37
Tableau 2 : Coefficients du modèle linéaire de Shekar et al.(46)	40
Tableau 3 : Résumé des mécanismes expliquant l'impact de l'ECMO sur la pharmacocinétique des médicaments	44
Tableau 4 : Valeurs critiques du Ceftolozane-Tazobactam déterminée pour différentes espèces bactériennes d'après l'EUCAST	48
Tableau 5 : Posologies recommandées de Ceftolozane/Tazobactam selon la fonction rénale	49
Tableau 6 : Résultats des contrôles de qualité obtenus avec la méthode de dosage du Ceftolozane et du Tazobactam dans le plasma citaté.....	62
Tableau 7 : Variations de concentrations en Ceftolozane observées avec le modèle ex vivo .	64
Tableau 8 : Variations de concentrations en Tazobactam observées avec le modèle ex vivo .	64
Tableau 9 : Moyenne (coefficient de variation) des paramètres pharmacocinétiques individuels déterminés par approche non compartimentale.....	66
Tableau 10 : Paramètres de population estimés à partir du modèle du Ceftolozane sans et avec covariable.....	68
Tableau 11 : Paramètres de population estimés à partir du modèle du Tazobactam sans et avec covariable	71

INTRODUCTION

Le système d'oxygénation par membrane extra-corporelle (Extracorporeal Membrane Oxygenation, ECMO) est une technique d'assistance temporaire utilisée de plus en plus fréquemment en cas de défaillance respiratoire et/ou de défaillance cardiaque réversible ou en pont à un projet terminal (greffe ou assistance chronique).(1,2) Or il a été documenté que ce système peut être à l'origine de profondes modifications de la pharmacocinétique des médicaments via des mécanismes multiples dont les principaux sont l'adsorption dans le circuit, l'hémodilution et l'altération de la fonction rénale.(3)

Le ZERBAXA® est une association médicamenteuse récente entre une nouvelle céphalosporine, le Ceftolozane, et un inhibiteur de bêta-lactamase, le Tazobactam, indiqué dans le traitement de certaines infections compliquées à bacille à Gram négatif. En raison de son arrivée récente sur le marché, il existe peu de données sur l'influence de l'ECMO sur la pharmacocinétique du Ceftolozane et du Tazobactam, et ces données sont contradictoires. Les travaux de Cies *et al.* font état de pertes massives de Ceftolozane par adsorption dans le circuit d'ECMO sur un modèle *ex vivo* alors qu'un cas clinique publié rapporte un profil cinétique sous ECMO similaire à celui rapporté sans ECMO.(4,5)

Face à ces résultats alarmants et afin de pouvoir émettre des recommandations pour la pratique hospitalière, notre projet avait pour objectif de documenter l'influence de l'ECMO sur la pharmacocinétique de l'association Ceftolozane/Tazobactam.

Après une présentation du contexte et une revue des données existantes dans la littérature, ce mémoire détaillera les deux études expérimentales menées dans le cadre de ce travail. Dans un premier temps, une approche *ex vivo* a été menée à l'aide de circuits fermés d'ECMO et amorcés avec du sang total, afin de caractériser la perte de Ceftolozane et de Tazobactam par adsorption selon deux critères : la variation de la concentration plasmatique en fonction du temps de contact avec le circuit et en fonction de la dose injectée. De façon complémentaire, une étude pilote *in vivo* a été menée sur un modèle porcin. Les données obtenues ont été analysées selon une approche pharmacocinétique non compartimentale et selon une approche de modélisation non linéaire à effet mixte. Les résultats obtenus au cours des études seront présentés puis discutés à la fin du mémoire.

GÉNÉRALITÉS ET REVUE DE LA LITTÉRATURE

1. La pharmacocinétique

La pharmacocinétique a pour but de décrire l'évolution en fonction du temps des concentrations en molécule et/ou en métabolites dans l'organisme, et principalement dans le sang en raison de sa facilité d'accès.

1.1. Les différentes étapes pharmacocinétiques

La pharmacocinétique d'une molécule peut se découper en quatre étapes : l'absorption (A), la distribution (D), la métabolisation (M) et l'excrétion (E)

1.1.1. Absorption

L'absorption décrit le parcours de la molécule depuis son site de dépôt (peau, muqueuse sublinguale, bouche...) jusqu'à son arrivée dans le compartiment sanguin. Cette étape inclut la résorption, c'est-à-dire le passage transmembranaire de la molécule (paroi intestinale, etc.). Au cours de ce processus, la molécule peut être soumise à un effet de premier passage, c'est-à-dire à une métabolisation immédiate avant d'atteindre la circulation générale. Cet effet de premier passage survient le plus souvent au niveau intestinal, hépatique ou pulmonaire.

1.1.2. Distribution

La distribution est la répartition d'une molécule (principe actif et/ou métabolites) dans les différents compartiments de l'organisme à partir de la circulation générale. Selon ses caractéristiques physico-chimiques, la molécule se liera plus ou moins aux protéines plasmatiques et sa forme libre sera présente dans le sang sous forme ionisée et non ionisée (Figure 1). Une molécule présente majoritairement sous forme non ionisée au niveau de la circulation générale pourra franchir librement les membranes cellulaires pour se distribuer dans les tissus périphériques.

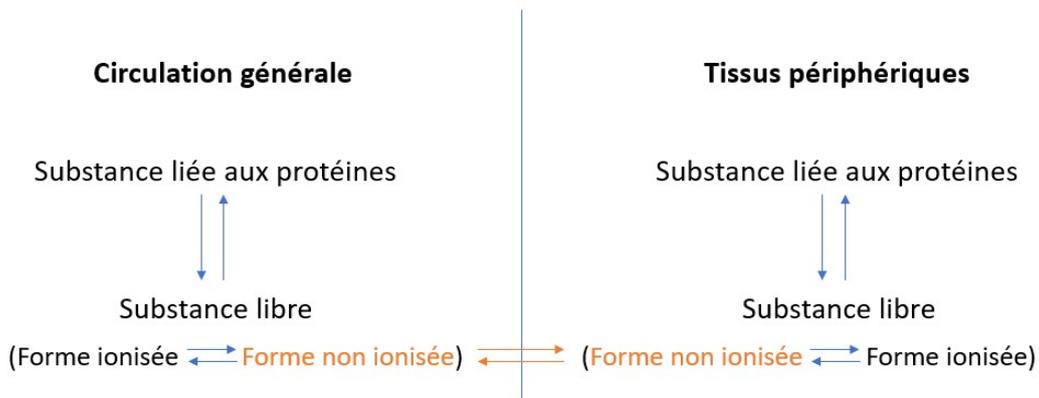


Figure 1 : Répartition des formes libre/liée et ionisée/non ionisée d'une molécule

1.1.3. Métabolisation

La métabolisation regroupe les différentes transformations auxquelles peut être soumise une molécule pour permettre son élimination de l'organisme. Ces transformations se déroulent principalement dans les hépatocytes et font intervenir différentes enzymes. La métabolisation peut être une fonctionnalisation (oxydation, réduction, hydroxylation, déalkylation...de la molécule) et/ou une conjugaison de la molécule avec un sulfate, un acide glucuronique, un acétyl, un méthyl ou une molécule de glutathion. A l'issue de ces transformations, un transport actif peut intervenir pour permettre la sortie du métabolite de l'hépatocyte.

1.1.4. Excrétion

L'excrétion rassemble les différents mécanismes permettant de faire sortir une molécule et/ou son(s) métabolite(s) de l'organisme. Les voies d'élimination principales sont l'excrétion biliaire et l'excrétion rénale mais d'autres voies minoritaires existent (excrétion pulmonaire, cutanée...)

Ces différentes étapes pharmacocinétiques sont chacune caractérisée par des paramètres pharmacocinétiques.

1.2. Les principaux paramètres pharmacocinétiques

Les paramètres pharmacocinétiques ont pour vocation de décrire de façon précise les étapes de la pharmacocinétique décrites précédemment. D'après le Groupe des Enseignants en Pharmacocinétique (GEPK), les trois paramètres principaux sont la biodisponibilité, le volume de distribution et la clairance d'élimination décrits ci-dessous.(6)

1.2.1. Biodisponibilité

Le concept de biodisponibilité s'applique aux médicaments administrés par voie extravasculaire. L'objectif de la mesure de biodisponibilité est de rendre compte de la disponibilité de la molécule d'intérêt au site d'action à l'issue de l'absorption. Ce site d'action étant généralement peu accessible, la biodisponibilité rend souvent compte de la disponibilité de la molécule dans le plasma. La biodisponibilité se définit comme la vitesse d'absorption de la molécule et l'intensité de son absorption. Par conséquent, la biodisponibilité est caractérisée par deux paramètres : la constante de vitesse d'absorption (k_a) et le coefficient de biodisponibilité (F).

Pour la suite de ce mémoire, nous nous intéresserons uniquement à la voie d'administration intraveineuse (IV). La biodisponibilité ne sera donc pas étudiée.

1.2.2. Volume de distribution

Le volume de distribution évalue la capacité de distribution de la molécule d'intérêt dans les tissus périphériques après son administration. Il est défini comme le facteur de proportionnalité entre la quantité de molécule présente dans l'organisme $Q(t)$ et sa concentration dans le plasma $C(t)$ à un instant donné t :

$$V_d = \frac{Q(t)}{C(t)} \quad (1)$$

Pour une même quantité de molécule administrée, moins la molécule se distribue dans les tissus, plus la concentration plasmatique sera importante et plus le volume de distribution sera faible. Inversement, une molécule ayant une diffusion tissulaire importante présentera un volume de distribution important.

Le volume de distribution varie en fonction du moment après l'administration où on s'y intéresse. Les volumes de distribution d'intérêt sont au nombre de trois (7) :

Le volume de distribution initial est le volume de distribution calculé juste après administration de la molécule par voie intraveineuse (avant toute distribution ou élimination). Il revient au rapport de la dose administrée sur la concentration initiale.

Le volume de distribution calculé à l'état de pseudo-équilibre est déterminé lorsque la distribution de la molécule d'intérêt dans l'organisme a eu lieu (échanges nuls entre le compartiment plasmatique et les tissus) et que la variation de la quantité de molécule dans le sang est uniquement due à son élimination. Par conséquent, le volume de distribution à l'état de pseudo-équilibre dépend de la clairance de la molécule et peut donc être facilement faussé en cas de modification de l'élimination. Il est habituellement noté V_z , $V_{d\beta}$ ou $V_{d_{area}}$.

Le volume de distribution à l'état d'équilibre, habituellement noté V_{SS} , est déterminé lorsque l'état d'équilibre des concentrations est atteint. Celui-ci présente l'intérêt d'être indépendant de la clairance d'élimination de la molécule d'intérêt. Il peut donc être utilisé pour déterminer la posologie des doses de charge.

1.2.3. Clairance d'élimination

La clairance d'élimination représente le volume sanguin ou le volume plasmatique totalement épuré de la molécule d'intérêt par unité de temps. Elle illustre les capacités d'élimination totale de l'individu pour cette molécule. La clairance d'élimination plasmatique est le facteur de proportionnalité entre la vitesse d'élimination $v_e(t)$, exprimée en quantité de médicament par unité de temps, et la concentration plasmatique $C(t)$.

$$Cl = \frac{v_e(t)}{C(t)} \quad (2)$$

1.3. Les méthodes de détermination des paramètres pharmacocinétiques

La détermination des paramètres pharmacocinétiques principaux est faite à partir de plusieurs mesures de concentration réalisées après administration de la molécule d'intérêt permettant d'obtenir un profil cinétique. Cette détermination se fait en deux temps. Tout d'abord, la représentation graphique de la cinétique de la molécule d'intérêt permet de déterminer les paramètres pharmacocinétiques secondaires aussi appelés paramètres graphiques (la concentration initiale, la constante d'élimination, la concentration maximale et le temps post-administration auquel celle-ci est observée...). Ces paramètres secondaires servent ensuite à déterminer les paramètres pharmacocinétiques principaux présentés précédemment (clairance d'élimination, volume de distribution, biodisponibilité).

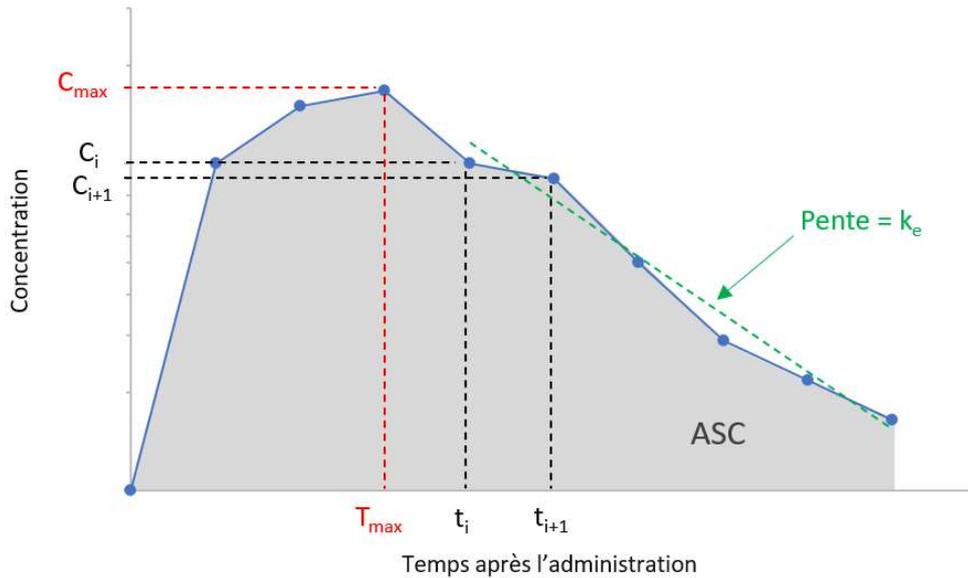
Ces déterminations peuvent être faites selon deux approches : une approche compartimentale ou une approche non compartimentale.

1.3.1. Approche non compartimentale

Avec l'approche non compartimentale, les paramètres pharmacocinétiques sont déterminés sans chercher à connaître l'équation régissant l'évolution des concentrations en fonction du temps.

A partir des points expérimentaux, sont déterminés la concentration observée la plus élevée (C_{\max}) et le temps de prélèvement pour lequel la concentration est la plus élevée (T_{\max}) qui est un reflet de la vitesse d'absorption (Figure 2).

Le calcul de la pente d'élimination k_e est obtenue par régression linéaire sur les derniers points de la cinétique et sert ensuite au calcul de l'aire sous la courbe des concentrations en fonction du temps (ASC) par la méthode des trapèzes avec n mesures de concentrations (Figure 2) :



$$ASC_{0 \rightarrow \infty} = \sum_{i=1}^{n-1} \frac{C_i + C_{i+1}}{2} (t_{i+1} - t_i) + \frac{C_n}{k_e} \quad (3)$$

Figure 2 : Détermination graphique (échelle semi-logarithmique) des paramètres secondaires par approche non compartimentale

Ainsi, la clairance et le volume de distribution V_z sont déterminés grâce aux équations ci-dessous :

$$Cl = \frac{Dose}{ASC} \quad (4)$$

$$V_z = \frac{Cl}{k_e} \quad (5)$$

Le calcul du volume de distribution à l'équilibre fait appel à des équations plus complexes non détaillées ici.

L'approche non compartimentale présente l'avantage d'être simple et rapide. Elle ne nécessite pas d'hypothèse sur le modèle. En revanche, cette méthode est uniquement descriptive sur les données disponibles et ne permet pas de décrire les profils de concentration en dehors de l'espace d'expérimentation (pas d'extrapolation aux compartiments tissulaires ni de simulation de profils plasmatiques pour d'autres schémas posologiques). La robustesse des résultats est liée au nombre de points de mesure de concentration. Si les points sont trop peu nombreux ou s'arrêtent trop précocement après l'administration, les valeurs d'ASC, de clairance et de volume de distribution ne seront pas représentatives de la réalité chez l'individu.

Pour s'affranchir des limites de cette approche, il faut s'orienter vers une approche compartimentale.

1.3.2. Approche compartimentale

L'objectif de l'approche compartimentale est de déterminer l'équation mathématique qui décrit l'évolution des concentrations de la molécule d'intérêt en fonction du temps suite à son administration ($C(t) = f(t)$). Pour cela, un modèle mathématique est construit pour permettre de décrire de la façon la plus simple possible les données expérimentales (i.e concentrations en fonction du temps). L'organisme est considéré comme un nombre limité de compartiments (1 à 3 généralement) à la place de la complexité tissulaire de l'organisme. Un compartiment est défini comme un espace virtuel de distribution dans lequel la molécule est considérée comme instantanément répartie de manière homogène. Le compartiment central est celui dans lequel sont faites les observations des concentrations, habituellement le compartiment sanguin. Il représente donc toujours au minimum le volume sanguin.

Le nombre de compartiments nécessaire au modèle est déterminé en fonction du nombre de segments de droite visible sur la représentation en échelle semi-logarithmique du profil pharmacocinétique (Figure 3).

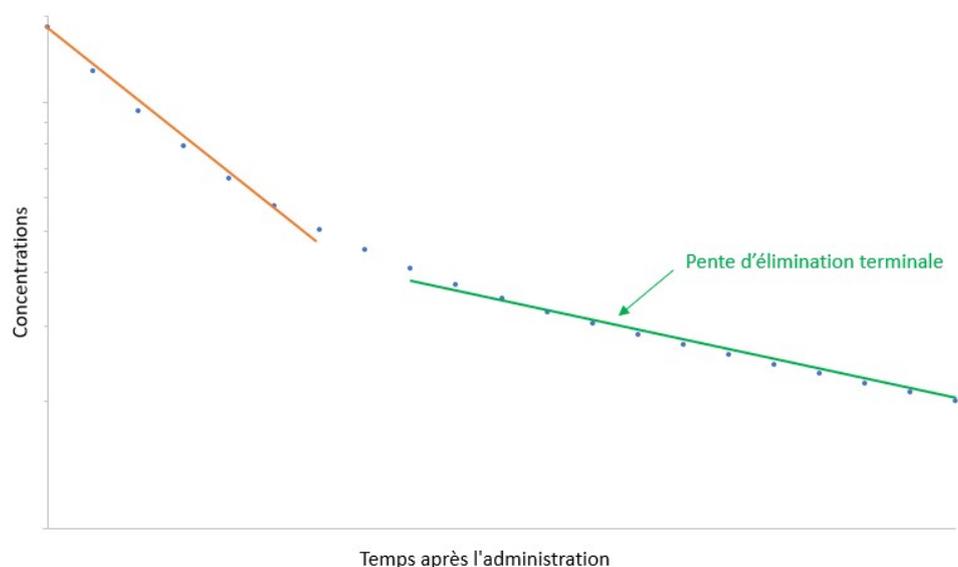


Figure 3 : Représentation en échelle semi-logarithmique d'un profil cinétique devant être représenté par un modèle bicompartimental

La détermination des paramètres pharmacocinétiques en utilisant l'approche compartimentale est détaillée ci-dessous pour les modèles mono- et bicompartimentaux avec une administration intraveineuse. Seuls ces modèles sont présentés car ils seront utilisés dans la suite de ce travail.

- Cas du modèle monocompartmental avec administration IV bolus

Le modèle monocompartmental avec administration IV bolus est présenté Figure 4.

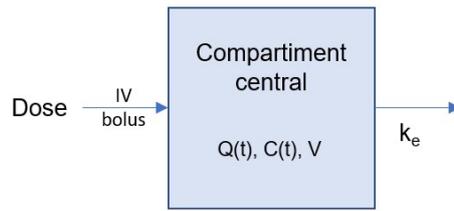


Figure 4 : Représentation du modèle monocompartmental avec administration IV bolus avec Dose la dose administrée, $Q(t)$, $C(t)$ et V la quantité, la concentration et le volume du compartiment central, respectivement et k_e la constante d'élimination

Ce modèle est décrit par une unique équation différentielle :

$$\frac{dQ}{dt} = -k_e \cdot Q \quad \text{avec à } t_0: \frac{dQ}{dt} = Dose \quad (6)$$

De l'équation 5 est déduite l'équation qui décrit l'évolution des concentrations en molécule en fonction du temps :

$$C(t) = C_0 \cdot e^{-k_e \cdot t} \quad (7)$$

Les paramètres secondaires à déterminer sont donc la concentration initiale C_0 et la constante d'élimination k_e . La détermination graphique de ces paramètres est détaillée dans la Figure 5.

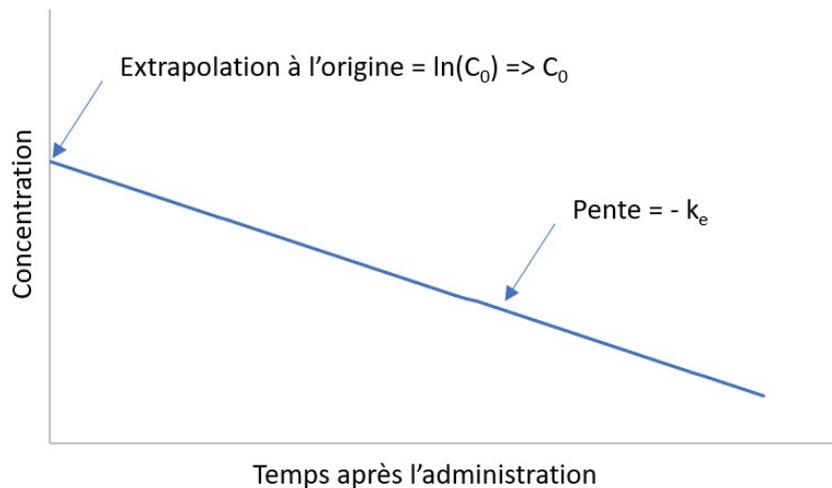


Figure 5 : Détermination graphique (échelle semi-logarithmique) des paramètres secondaires dans le cas du modèle monocompartmental avec administration IV bolus

A partir de ces paramètres secondaires et de la dose administrée, les paramètres pharmacocinétiques principaux peuvent être déterminés :

- La clairance Cl par le calcul intermédiaire de l'aire sous la courbe (ASC) :

$$ASC = \frac{C_0}{k_e} \quad (8) \quad d'où \quad Cl = \frac{Dose}{ASC} \quad (4)$$

- Les différents volumes de distribution présentés précédemment (en particulier le volume de distribution calculé à l'état de pseudo-équilibre (V_z) et le volume de distribution à l'état d'équilibre (V_{ss})) sont égaux dans le cas particulier du modèle monocompartimental :

$$V_z = V = V_{ss} = \frac{Dose}{C_0} = \frac{Cl}{k_e} \quad (9)$$

- Cas du modèle bicompartmental avec administration IV bolus

Le modèle bicompartmental avec administration IV bolus est présenté Figure 6.

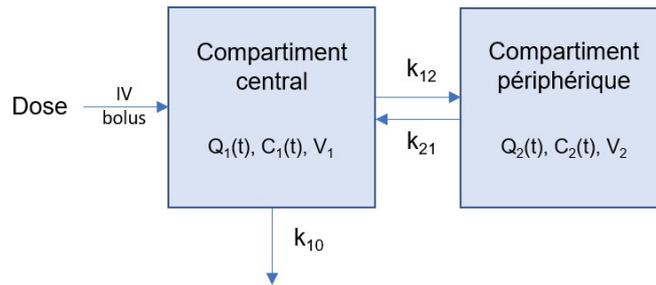


Figure 6 : Représentation du modèle bicompartmental avec administration IV bolus avec Dose la dose administrée, $Q_1(t)$, $C_1(t)$ et V_1 la quantité, la concentration et le volume du compartiment central, respectivement ; $Q_2(t)$, $C_2(t)$ et V_2 la quantité, la concentration et le volume du compartiment périphérique, respectivement et k_{10} , k_{12} et k_{21} les microconstantes représentant pour k_{10} la constante d'élimination et pour k_{12} et k_{21} les constantes de transfert inter-compartimental

Le modèle bicompartmental est décrit par deux équations différentielles :

$$\frac{dQ_1}{dt} = -k_{10} \cdot Q_1 + k_{21} \cdot Q_2 - k_{12} \cdot Q_1 \quad \text{avec à } t_0: \frac{dQ_1}{dt} = Dose \quad (11)$$

$$\frac{dQ_2}{dt} = -k_{21} \cdot Q_2 + k_{12} \cdot Q_1 \quad \text{avec à } t_0: \frac{dQ_2}{dt} = 0 \quad (12)$$

Des équations 11 et 12 sont déduites les équations qui décrivent l'évolution des concentrations en fonction du temps :

$$\begin{cases} C_1(t) = A_1 \cdot e^{-\alpha_1 \cdot t} + B_1 \cdot e^{-\beta_1 \cdot t} \\ C_2(t) = A_2 \cdot e^{-\alpha_2 \cdot t} + B_2 \cdot e^{-\beta_2 \cdot t} \end{cases} \quad (13)$$

Les paramètres secondaires à déterminer pour décrire le profil observé au niveau sanguin sont donc les macroconstantes A_1 , B_1 , α_1 et β_1 . La détermination graphique de ces paramètres est plus complexe. Un résumé est présenté Figure 7.

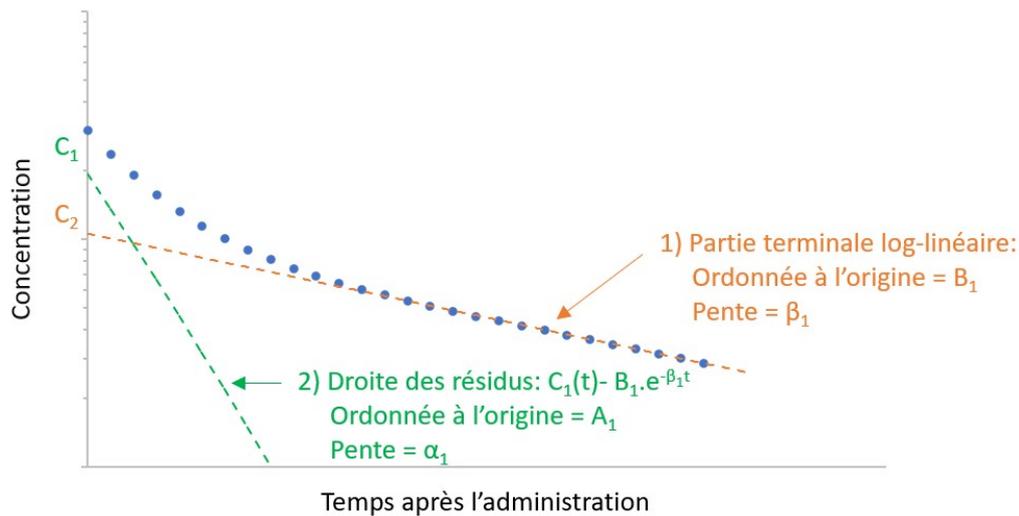


Figure 7 : Détermination graphique (en échelle semi-logarithmique) des paramètres secondaires dans le cas du modèle bicompartmental avec administration IV bolus

A partir de ces paramètres secondaires et de la dose administrée, les paramètres pharmacocinétiques principaux peuvent être déterminés :

- La clairance Cl par le calcul intermédiaire de l'ASC :

$$ASC = \frac{A_1}{\alpha_1} + \frac{B_1}{\beta_1} \quad (14) \quad d'o\grave{u} \quad Cl = \frac{Dose}{ASC} \quad (15)$$

- Le volume de distribution du compartiment central V_1 et le volume de distribution à l'état d'équilibre V_{ss} :

$$V_1 = \frac{Dose}{A_1 + B_1} \quad (16) \quad V_{ss} = V_1 + V_2 \quad (17)$$

L'approche compartimentale permet de détailler toute la pharmacocinétique (i.e absorption, distribution, élimination). Une fois l'équation déterminée, il est possible de faire des simulations de situations non testées expérimentalement (extrapolation, changement de dose, doses répétées). Cependant, le choix du modèle final est fondamental en vue d'une utilisation a posteriori. En effet, il doit assurer la plus grande similitude entre les données estimées et les données expérimentales

Les approches compartimentale et non compartimentale permettent d'étudier le profil cinétique d'un individu donné. Afin de pouvoir extrapoler les résultats obtenus à toute une population, une approche par modélisation a été développée en utilisant les données de plusieurs individus pour déterminer de façon globale la pharmacocinétique de la molécule d'intérêt.

1.4. Modélisation non linéaire à effets mixtes

1.4.1. Concept et objectifs

Cette modélisation, aussi appelée approche pharmacocinétique de population, a pour objectif de déterminer la relation décrivant l'évolution de la concentration de la molécule d'intérêt en fonction du temps mais aussi d'autres variables indépendantes appelées covariables. Pour cela, des données issues de différents individus sont utilisées de façon simultanée, d'où l'appellation d'approche de population.

Cette modélisation est non linéaire car la relation entre la concentration de la molécule d'intérêt et les variables d'intérêt (i.e le temps et les paramètres pharmacocinétiques individuels) n'est pas linéaire. Par ailleurs, elle est constituée de deux types d'effets, les effets fixes f et les effets aléatoires g . Les effets fixes sont des données dont les valeurs sont les mêmes pour tous les individus (ex : la dose, les paramètres pharmacocinétiques moyens dans la population) à la différence des effets aléatoires qui varient d'un individu à l'autre.

$$C_{ij} = f(t_j, \psi_i) + g(t_j, \psi_i) \quad (18)$$

avec C_{ij} la concentration de l'individu i à l'instant t_j et ψ_i les paramètres pharmacocinétiques de l'individu i .

A l'issue de cette analyse, sont estimés les paramètres pharmacocinétiques moyens de la population et leur variance mais aussi les sources de variabilité des profils cinétiques entre les individus (i.e variabilités pharmacocinétiques inter-individuelles) et pour un même individu (i. e variabilité pharmacocinétique inter-occasion). Ces sources de variabilité sont identifiées et quantifiées, et permettent de déduire la variabilité non expliquée par le modèle appelée variabilité résiduelle.

La variabilité inter-individuelle peut être expliquée par la variation de certaines caractéristiques des individus appelées covariables et qui peuvent être des caractéristiques démographiques (âge du patient, sexe, etc), biologiques (créatininémie, etc) ou autre (statut fumeur/non-fumeur).

L'analyse de population peut être conduite de deux façons selon qu'une hypothèse soit faite sur la distribution normale (i.e gaussienne) des valeurs des paramètres pharmacocinétiques individuels (approche paramétrique) ou non (approche non paramétrique). Seule l'approche paramétrique sera décrite dans ce mémoire car il s'agit de l'approche utilisée lors des travaux présentés par la suite.

L'analyse de population a trois objectifs principaux : (i) décrire tous les profils pharmacocinétiques possibles au sein d'une population ; (ii) expliquer la variabilité entre les

profils pharmacocinétiques ; (iii) prédire les profils pharmacocinétiques d'un individu (approche bayésienne).

1.4.2. Modèles de structure et de variabilité

Le modèle de structure est le modèle compartimental (mono-, bi-, tricompartimental...) qui décrit le mieux le profil cinétique au vu des données disponibles. Les valeurs des paramètres pharmacocinétiques déterminées sont les valeurs des paramètres moyens dans la population.

Les modèles de variabilité sont des modèles statistiques qui permettent de décrire les données individuelles estimées (paramètres pharmacocinétiques individuels, concentrations,) comme des variables aléatoires associées à une distribution autour d'une valeur moyenne. La variabilité est habituellement subdivisée entre la variabilité inter-individuelle (variabilité d'un individu à l'autre) et la variabilité résiduelle (variabilité non expliquée) qui inclut la variabilité inter-occasion (variabilité d'un jour à l'autre chez un même individu) mais qui ne sera pas détaillée ici car non utilisée par la suite.

Pour la variabilité inter-individuelle, le modèle couramment utilisé en pharmacocinétique est une distribution lognormale des paramètres pharmacocinétiques :

$$P_i = P_{pop} * e^{\eta_i} \quad (19)$$

avec P_i un paramètre pharmacocinétique individuel, P_{pop} la valeur moyenne de population et η_i la variabilité inter-individuelle de l'individu i et qui suit une distribution normale de moyenne 0 et de variance ω^2 .

Pour la variabilité résiduelle, plusieurs modèles dits d'erreur peuvent être utilisés car la variabilité résiduelle inclut la variabilité due aux erreurs sur les temps de prélèvements par rapport aux temps indiqués, la variabilité analytique sur la mesure des concentrations, etc. Les modèles d'erreur les plus communs sont le modèle additif (Équation 21), le modèle proportionnel (Équation 22) et le modèle combiné ou mixte (Équation 23) :

$$C_{ij} = C_{mj} + \varepsilon_{i_1} \quad (20)$$

$$C_{ij} = C_{mj} * (1 + \varepsilon_{i_2}) \quad (21)$$

$$C_{ij} = C_{mj} + C_{mj} * \varepsilon_{i_1} + \varepsilon_{i_2} \quad (22)$$

avec C_{ij} la concentration pour l'individu j à l'instant i , C_{mj} la concentration estimée avec les effets fixes et la variabilité inter-individuelle à l'instant i pour l'individu j , ε_{i_1} l'erreur additive et ε_{i_2} l'erreur proportionnelle qui suivent une distribution normale de moyenne 0 et de variance σ_1^2 et σ_2^2 .

1.4.3. Estimation des paramètres de population et détermination des covariables

Il n'existe pas de méthode directe et parfaite d'estimation des paramètres. La méthode utilisée est donc un processus par « tâtonnement » où les valeurs des paramètres (paramètres pharmacocinétiques moyens et leur variance) sont estimées puis utilisées pour déterminer les concentrations estimées. Ces valeurs de concentration estimée chez chaque individu sont ensuite comparées avec les concentrations observées et le résultat est exprimé par une valeur de vraisemblance (likelihood en anglais). En fonction des résultats obtenus, de nouvelles valeurs de paramètres sont utilisées et le processus recommence. L'objectif est de diminuer au maximum la différence entre les concentrations estimées et les concentrations observées afin d'augmenter la vraisemblance du modèle et des paramètres estimés. Cet objectif est couramment décrit de façon mathématique par la fonction $f = -2 \cdot \ln(\text{vraisemblance})$, abrégé en -2LL, dont on cherche le minimum. Différents algorithmes mathématiques ont été mis au point afin de rendre ce processus par « tâtonnement » le plus efficace possible (Stochastic Approximation of Expectation-Maximization, First Order...).

Cette méthode est utilisée en premier lieu pour déterminer le modèle de structure puis le modèle statistique d'erreur le plus adapté aux données en comparant les valeurs de vraisemblance (-2LL) obtenues avec le modèle mono et bicompartimental puis pour un modèle de structure donné en comparant un modèle d'erreur avec un autre.

De façon similaire, pour valider l'intérêt d'une covariable, on compare les valeurs de vraisemblance (-2LL) obtenues avec le modèle avec et sans cette covariable. Une diminution significative de la vraisemblance confirme l'intérêt de la covariable. Cependant, si trop de covariables sont intégrées dans le modèle par rapport aux données de départ utilisées pour mettre au point le modèle, le modèle perd en fiabilité. On peut donc conclure à tort sur l'intérêt de certaines covariables. Par conséquent, lorsque qu'un grand nombre de covariables sont à tester, la validation des covariables est faite selon une approche « forward-backward ». Cela signifie qu'une fois toutes les covariables significatives incluses, on essaie de les retirer du modèle pour voir si la vraisemblance varie significativement en fixant un seuil de significativité plus drastique. Si la vraisemblance varie significativement, cela signifie que la covariable est réellement d'intérêt. Si non, celle-ci a été incluse à tort et doit donc être retirée du modèle final.

1.4.4. Validation du modèle

Les méthodes de validation d'un modèle non linéaire à effets mixtes sont des tests d'invalidation. En l'absence d'invalidation, le modèle est considéré comme valide.

Les tests internes les plus simples à faire sont les graphiques diagnostiques. En revanche, ce sont ceux qui sont les moins robustes pour invalider le modèle. Ces graphiques diagnostiques peuvent être de deux types :

- La représentation graphique des concentrations observées en fonction des concentrations prédites afin de confirmer que les points sont proches de la droite d'identité ($y = x$) et également répartis autour.
- La représentation des résidus pondérés (différence entre concentrations prédites et observées pondérées divisée par la concentration observée) en fonction du temps post-administration et en fonction des concentrations prédites afin de confirmer que les résidus ont des valeurs proches de 0 et sont également répartis autour.

Des tests internes plus poussés existent : le bootstrap et l'évaluation graphique des capacités prédictives du modèle. Le bootstrap est une technique de rééchantillonnage des données observées, c'est-à-dire qu'un nouveau jeu de données est créé en tirant au hasard les valeurs des données parmi les valeurs représentées dans les données initiales. Ce test permet de valider la robustesse du modèle et l'exactitude des paramètres estimés. L'évaluation graphique des capacités prédictives du modèle, plus couramment appelée sous sa dénomination anglaise Visual Predictive Check (VPC) est une technique basée sur de multiples simulations à partir du modèle et des données d'origine. Ces tests présentent l'avantage d'être assez faciles à mettre en œuvre tout en présentant une meilleure qualité que les tests décrits précédemment

Enfin, la méthode de référence est la validation externe qui consiste à utiliser des données non exploitées pour la mise au point du modèle afin de vérifier que les valeurs prédites sont bien en adéquation avec les valeurs observées pour ces nouvelles données. Cette méthode nécessite d'avoir les données d'un nombre suffisant d'individus pour pouvoir se permettre de ne pas en utiliser une partie pour la mise au point du modèle.

Une fois le modèle validé, il peut être utilisé pour une estimation des paramètres pharmacocinétiques individuels ou pour déterminer les conséquences en clinique d'une covariable sur la pharmacocinétique de la molécule d'intérêt. C'est cette seconde application qui sera utilisée dans la suite de ce travail pour déterminer l'influence de l'oxygénation par membrane extracorporelle sur la pharmacocinétique de notre molécule d'intérêt.

2. L'oxygénation par membrane extracorporelle

L'oxygénation par membrane extra-corporelle ou Extracorporeal Membrane Oxygenation (ECMO) est un système d'assistance circulatoire et/ou respiratoire dérivé des systèmes de circulation extracorporelle (CEC) utilisés en chirurgie cardiaque.(8) L'ECMO fait partie, avec les systèmes d'épuration extra-corporelle du CO₂ (Extracorporeal Carbon Dioxide Removal, ECCO2R), des systèmes d'assistance extracorporelle (Extracorporeal Life Support, ECLS).

2.1. Historique

Les premiers patients mis sous ECMO datent du début des années 1970.(9,10) Au début des années 80, les résultats prometteurs de deux études montrant une amélioration du taux de survie des nouveau-nés sous ECMO par rapport à ceux recevant une prise en charge ventilatoire conventionnelle marquent le début du développement de l'utilisation de l'ECMO dans la prise en charge des détresses respiratoires en Pédiatrie et Néonatalogie.(11,12) En revanche, une étude menée chez les adultes à la même époque ne met pas en évidence d'amélioration de la survie dans cette population avec un taux de décès de 90% en raison de nombreuses complications liées au manque de biocompatibilité des matériaux constitutifs du circuit.(13,14) C'est la raison pour laquelle, l'utilisation de l'ECMO chez l'adulte est restée longtemps très marginale. Progressivement, l'amélioration technologique des circuits (matériaux présentant une meilleure biocompatibilité, amélioration de la durée de vie des circuits...) et les avancées dans les autres domaines des soins intensifs ont permis une amélioration de la survie des patients sous ECMO.(15) Les résultats favorables de l'étude CESAR (Conventional Ventilatory Support versus Extracorporeal Membrane Oxygenation for Severe Adult Respiratory Failure) et surtout l'utilisation de l'ECMO en cas de syndrome de détresse respiratoire aigu pendant la pandémie de grippe H1N1 de 2009 ont favorisé le développement de l'utilisation de l'ECMO chez les adultes.(16,17) Ainsi, la fréquence d'utilisation de l'ECMO dans les services de Réanimation adulte est en croissance constante depuis plus de 10 ans en passant au niveau mondial d'une centaine de cas en 2005 à plus de 2000 en 2015.(18)

2.2. Indications

La mise en place d'une ECMO peut être envisagée en cas de défaillance respiratoire aigüe et/ou de défaillance cardio-circulatoire. En raison des complications sévères et fréquentes de cette technique lourde, la mise sous ECMO n'est envisagée que dans deux situations : (1)

- Si les chances d'une récupération de la fonction ventriculaire et/ou pulmonaire sont raisonnables
- Si une transplantation n'est pas contre-indiquée ou, dans le cadre d'une défaillance cardiaque, si l'implantation d'une assistance ventriculaire définitive est possible.

La principale cause de défaillance cardio-circulatoire pour laquelle l'intérêt de l'ECMO a été documenté est le choc cardiogénique réfractaire « d'étiologie médicale » comme l'infarctus du myocarde,(19) la myocardite fulminante,(20,21) l'intoxication aigüe par substance cardiotoxique,(22–24) le rejet aigu de greffe cardiaque,(25) etc... L'ECMO est aussi indiquée en post-chirurgie cardiaque immédiate lorsque le sevrage de la CEC est impossible.(1) L'ECMO peut également être utilisée dans le cadre de réanimation post arrêt cardiaque (Extracorporeal Cardiopulmonary Resuscitation, ECPR) avec un taux de survie faible, de l'ordre de 30% chez l'adulte (18) et dans le cadre du maintien de la perfusion sanguine chez les donneurs décédés après arrêt cardiaque jusqu'au prélèvement des organes afin d'en maintenir la viabilité (Extracorporeal Interval Support for Organ Retrieval, EISOR)

Dans le contexte de défaillance respiratoire aigüe, la cause majeure de mise sous ECMO est le syndrome de détresse respiratoire aigüe. Cette indication est communément acceptée avec une utilisation croissante depuis la pandémie de grippe H1N1 de 2009.(16,17) Cependant l'amélioration de la survie des patients mis sous ECMO par rapport à ceux bénéficiant d'une prise en charge ventilatoire conventionnelle restent controversée.(16,26)

2.3. Circuit

Vendus individuellement ou en circuit préassemblé, les éléments essentiels composant un circuit d'ECMO sont une canule de décharge sanguine, une pompe sanguine mécanique, un oxygénateur à membrane, un échangeur de chaleur et une canule de réinjection relié entre eux par des tubulures en polychlorure de vinyle (PVC) (Figure 8). (27) La présence d'un échangeur de chaleur (Élément A Figure 8) pour réchauffer le sang avant sa réinjection chez le patient est rendue nécessaire par la déperdition de chaleur lors de son passage dans le circuit.(28)

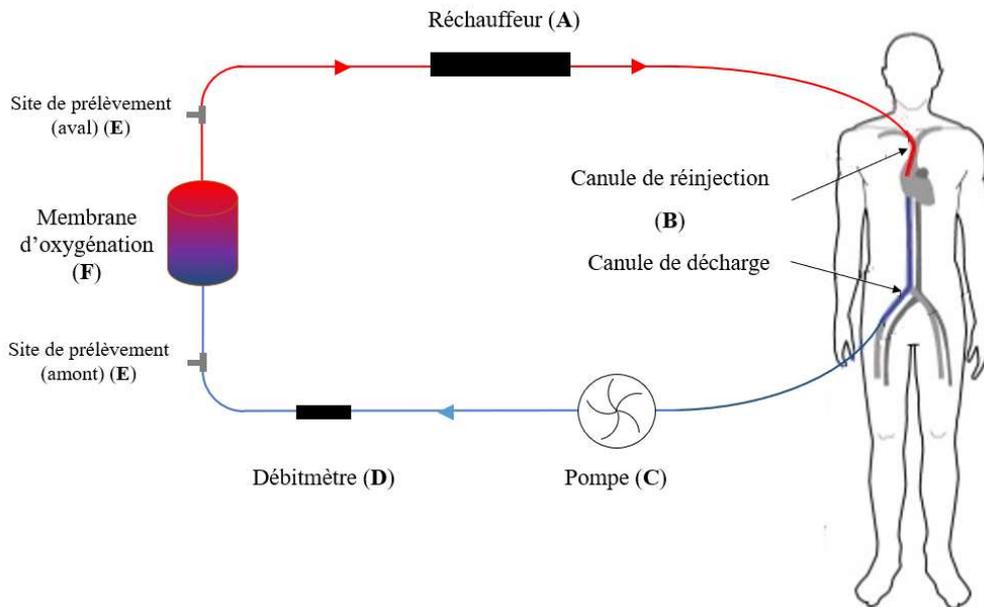


Figure 8 : Schéma d'un circuit d'ECMO

2.3.1. Pompes

La pompe (Élément C Figure 8) permet d'assurer la circulation sanguine chez le patient grâce au réglage de son débit. Le débit est surveillé afin de limiter la pression au niveau du circuit pour éviter une rupture du circuit et pour prévenir le phénomène de cavitation en amont de la pompe. Ce phénomène se produit en cas de dépression importante et conduit à une hémolyse massive.(28)

Les pompes péristaltiques ont été les premières pompes mises au point (Figure 9). Elles nécessitent un moteur de taille importante et la tubulure écrasée à répétition par la tête de pompe finit par se dégrader augmentant le risque de thrombose du circuit et de rupture de la tubulure. Par conséquent, les pompes centrifuges, mises au point plus récemment, sont majoritairement utilisées en raison de leur durée de vie supérieure, de leur aspect compact mais aussi parce qu'elles entraînent moins d'hémolyse.(28,29)

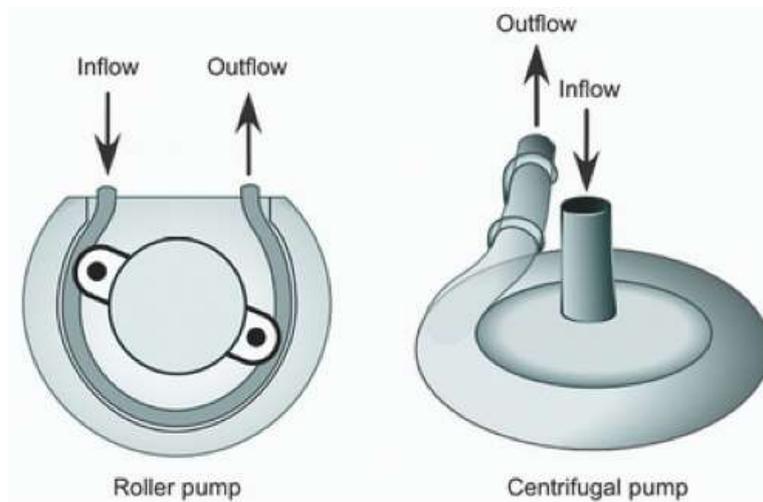


Figure 9 : Schéma d'une pompe péristaltique (gauche) et d'une pompe centrifuge (droite)(30)

2.3.2. Oxygénateurs à membrane

L'oxygénateur (Élément F Figure 8) est un dispositif d'échange gazeux assurant l'apport en dioxygène et l'élimination du dioxyde de carbone du sang. Différents types de membranes ont été développées (28) :

- Membrane en silicone : misent au point depuis plus de 50 ans, l'échange gazeux y est assuré grâce au passage du sang le long de la membrane de l'autre côté de laquelle circule de l'air à un débit donné et plus ou moins enrichi en dioxygène (balayage). Ce type de membrane permet de bons échanges gazeux mais il est nécessaire d'adapter la taille de la membrane utilisée à la taille du patient. Cela entraîne des contraintes logistiques d'avoir toutes les tailles disponibles. De plus, elles sont assez encombrantes donc non adaptées pour le transport.
- Membrane à fibres creuses : de conception plus récente, elles sont constituées de fibres en polyméthylpentène dans lesquelles passent l'air et autour desquelles passe le sang du patient (Figure 10). Ce type de membrane permet un très bon échange gazeux tout en limitant les fuites de plasma. La taille de la membrane peut donc être plus réduite et n'a pas besoin d'être adaptée au patient. Elles ont une durée de vie plus longue, s'adaptent mieux aux pompes centrifuges et présentent une meilleure biocompatibilité grâce aux revêtements qu'elles peuvent présenter.

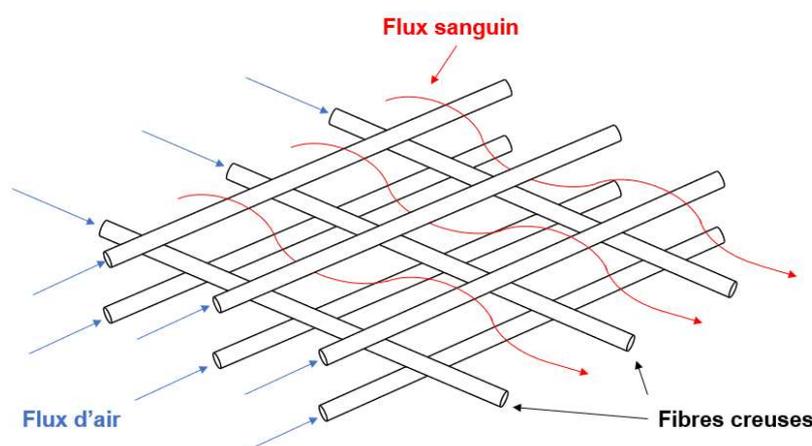


Figure 10 : Schéma d'une membrane à fibres creuses

2.3.3. Canules

Les canules (Élément C Figure 8) sont choisies en fonction de la configuration d'implantation du circuit d'ECMO. Leur longueur et leur diamètre sont choisis selon la taille du patient, les troncs vasculaires choisis pour l'implantation et l'assistance nécessaire en termes de débit d'ECMO. Il existe également des canules à deux lumières dans le cas où un abord unique pour la décharge et la réinjection est recherché.

2.3.4. *Éléments additionnels du circuit*

D'autres éléments peuvent être ajoutés au circuit. Néanmoins, leur ajout n'est pas anodin car ils augmentent le risque de stase sanguine ou de perturbation du flux sanguin. Ces modifications de la rhéologie sanguine ainsi que l'importance de la surface de contact entre le sang et les matériaux du circuit, sont à l'origine de l'activation de la réponse inflammatoire systémique et de la cascade de la coagulation.(31) Afin de limiter ces réponses, il est possible d'utiliser des circuits avec des tubulures plus courtes pour limiter la surface de contact et/ou des tubulures avec un revêtement améliorant leur biocompatibilité.(32) Le choix des éléments supplémentaires du circuit sont faits selon les équipes en fonction des protocoles de suivi des patients.

Ces éléments complémentaires sont :

- Des sites de branchement (robinets) pour réaliser les prélèvements et les injections et qui peuvent se situer à différents niveaux du circuit dont un site en amont et un en aval de l'oxygénateur (Élément E Figure 8).
- Un pont de tubulure reliant la tubulure de décharge veineuse et celle de réinjection permettant de suspendre temporairement l'assistance pour tester, par exemple, si le patient peut être sevré de l'ECMO. Cependant, la circulation dans le pont et son clampage-déclampage entraîne des perturbations du flux sanguin. Par conséquent, certains centres préfèrent ne pas en avoir.(28)
- Des moniteurs continus de la pression sanguine pouvant être installé à plusieurs niveaux : en amont de la pompe afin de détecter toute succion excessive au niveau de la canule de décharge, en amont et en aval de l'oxygénateur. Ce positionnement autour de l'oxygénateur permet, en cas d'augmentation de la pression dans le circuit, d'en déterminer la cause : augmentation de la résistance au niveau de l'oxygénateur si seule la pression en amont est augmentée ou augmentation de la résistance au niveau de la canule de réinjection si les deux pressions sont augmentées.
- Des débitmètres (Élément D Figure 8), des moniteurs de saturation en dioxygène, etc...

2.3.5. *Implantation du circuit*

Dans un premier temps, il est nécessaire d'amorcer et débuller le circuit d'ECMO, le plus souvent avec du sérum physiologique mais le protocole varie selon les centres avec l'utilisation de cristalloïdes, d'héparine...(33) Cette étape peut être réalisée à l'avance et le circuit maintenu dans sa solution d'amorçage stérile. L'implantation du circuit se fait en moins de 20 minutes par voie percutanée (méthode de Seldinger) au lit du patient ou en chirurgie ouverte.

Différents types de circuits et de sites d'implantation des canules chez le patient sont possibles pour l'ECMO (Figure 11). Le choix va dépendre de l'indication de mise sous ECMO. Les configurations les plus fréquentes, rapportées par l'Extracorporeal Life Support Organization, sont celles décrites ci-dessous.(34)

Un contexte de suppléance cardiaque nécessite un circuit d'ECMO veinoartériel (ECMO VA) où la canule de décharge est implantée au niveau d'une veine de gros calibre et la canule de réinjection au niveau d'une artère. En cas de mise sous ECMO en relais d'une CEC, l'implantation est souvent faite en intrathoracique avec la canule de décharge implantée au niveau de l'oreillette droite et la canule de réinjection au niveau de l'aorte thoracique ascendante. Dans les autres cas, le circuit d'ECMO VA est classiquement implanté par voie périphérique au niveau fémoro-fémoral.

Un contexte de suppléance respiratoire seule nécessite un circuit d'ECMO veinoveineux (ECMO VV) où les deux canules sont implantées au niveau veineux soit en un seul site à l'aide d'une canule à double lumière souvent implantée dans la veine jugulaire interne, soit en deux sites distincts souvent en configuration fémoro-jugulaire.

En cas de suppléance cardio-respiratoire, un circuit d'ECMO veinoveinoartériel (ECMO VVA) est possible avec un drainage veineux au niveau fémoral et deux retours, un veineux au niveau jugulaire et un artériel au niveau fémoral.

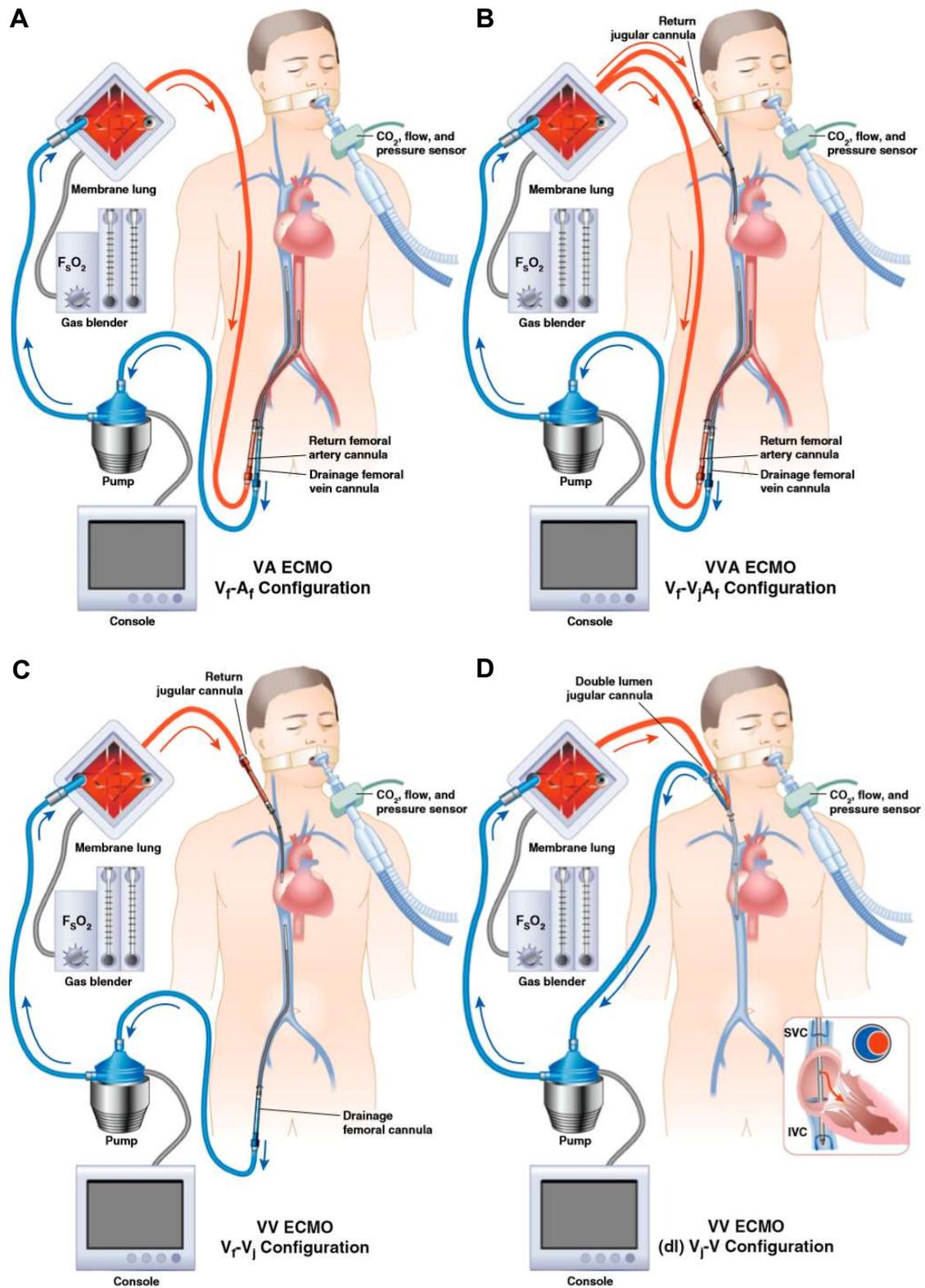


Figure 11 : Types de circuit et d'implantation classiques d'ECMO. Circuit veinoartériel (A), veinoveinoartériel (B), veinoveineux en deux sites (C) et en un seul site (D). Adapté de Conrad et al. 2018 (34)

2.4. Complications et devenir des patients sous ECMO

Les complications possibles chez les patients mis sous ECMO, quel que soit le type d'implantation sont les saignements, pouvant aller jusqu'à l'hémorragie (entre 6.3 et 29.3% selon l'âge du patient et l'indication de l'ECMO) et les thromboses du dispositif (bien que de plus en plus rares avec le développement des circuits avec revêtement biocompatible). Cela justifie un suivi rapproché de l'anticoagulation. Par ailleurs, le risque d'infection reste important avec l'ECMO avec une fréquence entre 5.8 et 17.5% selon l'âge et l'indication d'ECMO.(18)

Dans le cadre de l'ECMO VA, il existe un risque d'ischémie de membre en cas d'implantation de la canule de réinjection dans l'artère fémorale. Afin de prévenir l'ischémie, une ligne de réinjection est implantée en même temps que le circuit d'ECMO assurant la reperfusion du membre (Figure 12).

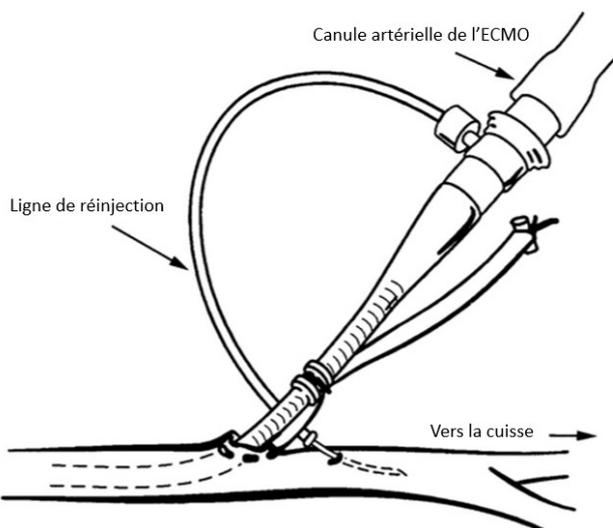


Figure 12 : Système de reperfusion du membre (1)

Si un flux rétrograde trop important (de l'aorte vers le ventricule gauche) est engendré par l'ECMO VA, celui-ci expose à une sur-distension du ventricule gauche, un risque de thrombose intra-cavitaire et une augmentation des pressions capillaires pulmonaires aboutissant à un œdème aigu du poumon. Dans ce cas, l'association à une décharge ventriculaire gauche par un ballon de contre-pulsion ou un dispositif de type Impella® doit être envisagée.

En cas de récupération de la fonction cardiaque, le flux d'éjection cardiaque peut entrer en compétition avec le flux rétrograde de l'ECMO VA avec une ligne de partage des eaux se situant plus ou moins loin dans l'aorte. En cas de dysfonction pulmonaire, le sang issu de l'éjection cardiaque est plus ou moins bien oxygéné et peut entraîner une ischémie cérébrale et coronaire, appelé syndrome d'Arlequin. La surveillance clinique se fait par la mesure des gaz du sang à partir d'un cathéter artériel radial droit, reflet de l'hématose la plus

distale du flux rétrograde de l'ECMO VA et donc permettant de surveiller l'oxygénation cérébrale. En cas de syndrome d'Arlequin, la configuration du circuit d'ECMO peut être revue en ECMO VVA avec l'ajout d'une canule veineuse jugulaire en plus de la canule artérielle fémorale.(35)

Dans le cadre de l'ECMO VV, il existe un risque de recirculation, c'est-à-dire que le sang oxygéné réinjecté au patient soit directement réaspiré dans la canule de décharge entraînant une hypoxémie chez le patient. Ce phénomène peut être prévenu en assurant un écartement suffisant entre les extrémités des deux canules.

La mise sous ECMO peut déboucher sur quatre situations : l'arrêt des thérapeutiques actives en cas de dégradation de l'état du patient avec possible prélèvement des organes, la récupération partielle ou complète de la fonction cardiaque et/ou respiratoire du patient (« ECMO as bridge to recovery »), l'implantation d'une assistance circulatoire de longue durée (pompe axiale, cœur artificiel, etc...) (« ECMO as bridge to bridge ») ou la transplantation d'organe (« ECMO as bridge to transplant »)(34)

Le taux de survie des patients dépend de leur âge (nouveau-né, enfant ou adulte) et de l'indication de mise sous ECMO (défaillance cardiaque, défaillance respiratoire ou réanimation cardiopulmonaire). Le Registre de l'Extracorporeal Life Support Organization fait état dans son Rapport International de 2016 d'une survie moyenne des patients de 70% au sevrage de l'ECMO et de 58% à la sortie de l'hôpital.(18) Les meilleurs taux de survie sont observés dans l'indication d'assistance respiratoire et dans la population des patients de Néonatalogie (Tableau 1). En effet, l'ECMO VV mise en place en cas de défaillance respiratoire est associée à un risque plus faible de complication que l'ECMO VA d'où une mortalité plus faible. En ce qui concerne l'âge, les patients de Néonatalogie présentent une meilleure survie en raison du recul plus important sur l'utilisation de l'ECMO dans la population de Néonatalogie par rapport à la population adulte et des différences d'indications de l'ECMO entre ces deux populations.

	Indications	Survie au sevrage de l'ECMO (%)	Survie à la sortie d'hospitalisation (%)
Néonatalogie	Respiratoire	84	74
	Cardiaque	62	42
Pédiatrie	Respiratoire	67	58
	Cardiaque	67	51
Adulte	Respiratoire	66	58
	Cardiaque	56	41

Tableau 1 : Pourcentage de survie des patients mis sous ECMO selon l'indication et l'âge des patients

Un autre critère influençant la survie des patients est l'habitude des équipes soignantes à prendre en charge un patient sous ECMO. En effet, il a été montré que les hôpitaux rapportant plus de 30 cas/an de patients sous ECMO ont une mortalité plus faible que ceux qui n'ont que peu de cas annuels (< 6 cas/an). (25)

2.5. Influence sur la pharmacocinétique des médicaments administrés

Dès son apparition, l'ECMO s'est révélée être à l'origine de perturbations de la pharmacocinétique des médicaments chez les patients. Ces perturbations ont été étudiées depuis les années 1980 à l'aide de systèmes *ex vivo* (36) et chez les patients de Néonatalogie,(37) puis dans la population pédiatrique et plus tardivement dans la population adulte en lien avec l'évolution de l'utilisation de l'ECMO dans ces populations. Il a été documenté que l'ECMO induit des modifications de la pharmacocinétique par trois mécanismes principaux décrit ci-dessous.(38)

2.5.1. Adsorption dans le circuit

Le phénomène d'adsorption est la rétention sur une surface solide des molécules d'un gaz ou d'une substance en solution ou en suspension. Cette rétention est due à des interactions de type liaisons hydrophobes, liaisons ioniques, liaisons hydrogènes et/ou forces de Van der Waals. D'après les données de la littérature, la fixation sur le circuit d'ECMO serait non spécifique.(39–41) Cela signifie qu'elle ne fait pas intervenir de récepteurs précis mais peut survenir à n'importe quel endroit de la surface du circuit, et plus particulièrement dans les tubulures et/ou sur la membrane de l'oxygénateur (Figure 13).

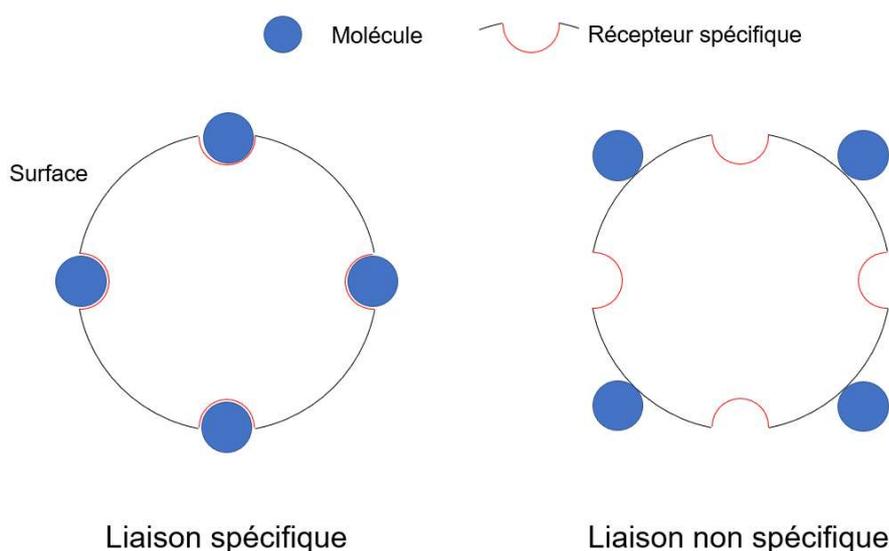


Figure 13 : Représentation schématique des liaisons spécifiques et non spécifiques

L'adsorption non spécifique dépend des caractéristiques de liaison classique : le nombre de sites de liaison, l'affinité de la molécule pour la surface et l'interaction entre la

molécule et la surface.(3) De ces deux premières caractéristiques dépendent l'importance et la réversibilité de l'adsorption.

L'importance de l'adsorption des médicaments a beaucoup été étudié à l'aide de systèmes d'ECMO *in vitro* et *ex vivo* où les circuits d'ECMO sont étudiés isolés en boucle fermée et amorcés avec du sérum physiologique (*in vitro*) ou du sang (*ex vivo*).(36,40,42–48) Ces modèles seront plus détaillés par la suite. En l'absence de patient, toute diminution de concentration dans ces circuits est due à l'adsorption dans le circuit ou la dégradation de la molécule. Les molécules étudiées présentant la plus forte adsorption sont les anesthésiques comme le Midazolam et le Propofol avec une diminution des concentrations sanguines de 70% et 54% respectivement en 30 min (42) ainsi que le Fentanyl avec une diminution de 95% en 24h.(43)

D'après les données issues de la littérature (36,45), il n'a jamais été réellement déterminé si le phénomène d'adsorption des molécules dans le circuit d'ECMO était un phénomène saturable. Cela signifie qu'il n'est pas certain qu'il existe une quantité maximale de molécule pouvant s'adsorber sur le circuit, au-delà de laquelle le phénomène d'adsorption ne survient plus. En théorie, les mécanismes de fixation non spécifique ne sont pas saturables. De fait, l'adsorption des médicaments sur le circuit d'ECMO ne devrait pas l'être. Cet aspect reste encore à documenter plus en détails.

Dans le cas de l'ECMO, l'adsorption dépend d'une part des caractéristiques physico-chimiques de la molécule et d'autre part du circuit.

Les caractéristiques physico-chimiques d'une molécule influençant son adsorption sont sa taille, sa constante d'acidité (pKa), sa lipophilicité et son taux de liaison aux protéines plasmatiques.(38) En effet, la constante d'acidité de la molécule détermine le pourcentage de la molécule présente sous forme ionisée, en fonction du pH sanguin, selon l'équation d'Henderson-Hasselbach:

$$\text{pH} = \text{pKa} + \log \left(\frac{[A^-]}{[AH]} \right) \quad (23)$$

Ce pourcentage d'ionisation impacte la nature des interactions électrostatiques entre la molécule et la surface. Concernant la lipophilicité (caractérisé par le logP) et le taux de liaison aux protéines plasmatiques (f_b), il a été mis en évidence une tendance plus forte à l'adsorption chez les molécules fortement lipophiles et/ou présentant une forte liaison aux protéines plasmatiques.(45,46) Un modèle linéaire a été mis au point par Shekar *et al* pour prédire le pourcentage restant de la concentration initiale au bout de 24h dans le circuit

d'ECMO en fonction de ces deux paramètres.(46) Ce modèle a été mis au point en étudiant six molécules (Ceftriaxone, Ciprofloxacine, Linézolide, Fluconazole, Caspofungine et Thiopentone) injectées à une concentration connue dans un circuit d'ECMO en boucle fermée amorcé avec du sang total et dans lequel les concentrations de ces molécules étaient suivies pendant 24h. Le modèle obtenu est décrit par l'équation suivante :

$$F_{c24} = a + b \cdot \log P + c \cdot f_B \quad (24)$$

Avec F_{c24} le pourcentage de la concentration initiale de la molécule retrouvé dans le circuit au bout de 24h, $\log P$ le coefficient de partage octanol/eau utilisé comme valeur de lipophilicité de la molécule, f_B le taux de liaison de la molécule aux protéines plasmatiques et a , b et c les coefficients dont les valeurs estimées sont présentées ci-dessous dans le Tableau 2. Ce modèle présentait une corrélation (R^2) de 0.88.

Coefficient	Valeur moyenne	Intervalle de confiance
a	1.21	
b	- 0.17	[-0.17, - 0.13]
c	- 0.69	[-0.86, - 0.52]

Tableau 2 : Coefficients du modèle linéaire de Shekar et al.(46)

Cependant, des discordances entre ce modèle et la réalité ont été mises en évidence par Leven *et al.*(48) En effet, 62% de la concentration initiale d'Oxacilline ont été retrouvés au bout de 24h alors que le modèle prédisait 15%. Pour le Céfotaxime, le pourcentage observé était de 46% pour un pourcentage prédit de 102%. Cela montre les limites de ce modèle qui n'inclut que deux variables ($\log P$ et f_B) et qui a été mis au point à partir des données issues de molécules lipophiles. Par conséquent, ce modèle n'est pas adapté pour prédire l'adsorption de toutes les molécules administrées aux patients sous ECMO.

Concernant le circuit, les caractéristiques influençant l'adsorption sont d'une part la longueur des tubulures et la surface de la membrane et, d'autre part les matériaux composant le circuit et leur revêtement. En effet, les tubulures et la membrane constitue la surface potentielle d'adsorption et donc déterminent le nombre de sites d'adsorption. Le matériau constituant en particulier la membrane et les tubulures ainsi que leur revêtement déterminent la nature des interactions pouvant avoir lieu avec les molécules.(40,41,45) Les interactions sont majoritairement des interactions hydrophobes avec les polymères constituant le circuit et des interactions électrostatiques en présence de revêtement.(3) Ainsi, Wildschut *et al.* ont comparé le devenir du Midazolam et du Fentanyl dans des circuits de type 1 avec pompe péristaltique et membrane en silicone par rapport à des circuits de type 2 avec pompe centrifuge et membrane en fibres creuses.(45) En comparant les concentrations mesurées au

bout de 24h dans les circuits à celles mesurées dans le contrôle négatif, des taux de 0.62% et 63.4% de Midazolam et de 0.35% et 33.8% de Fentanyl ont été retrouvés, respectivement dans les circuits de type 1 et 2. Par ailleurs, les tubulures avec revêtement présentent une capacité d'adsorption inférieure aux tubulures nues, à nuancer selon la nature du revêtement comme cela a été démontré pour le Fentanyl. En effet, dans un circuit sans oxygénateur avec des tubulures nues, une perte de 80% est observée en 2h quand la perte est entre 40 et 75% dans le même circuit si les tubulures ont un revêtement.(41) L'évolution technique des circuits d'ECMO, en plus d'améliorer la biocompatibilité, a permis de diminuer le phénomène d'adsorption des médicaments.

L'effet de l'« âge » du circuit, c'est-à-dire le nombre de jours d'utilisation du circuit d'ECMO, sur le niveau d'adsorption n'est pas clairement démontré. En effet, l'âge du circuit pourrait entraîner une altération du circuit et de ses revêtements à l'origine d'une modification des interactions entre le circuit et les molécules, et donc une modification de l'adsorption des molécules. Cependant, la littérature n'est pas consensuelle : l'« âge » du circuit a été rapporté comme diminuant l'adsorption (36), l'augmentant (49) ou n'ayant pas d'effet.(45)

La nature réversible du phénomène d'adsorption n'a pas été démontrée. Cela signifie qu'on ne sait pas si le circuit adsorbe définitivement les molécules ou si le circuit sert de réservoir pour la molécule adsorbée qui peut être relarguée par la suite. (36,43) D'un point de vue pharmacocinétique, l'adsorption revient à un mécanisme de clairance dans le premier cas alors que dans le second cas, elle entraîne une augmentation du volume de distribution via l'ajout d'un compartiment pour le circuit d'ECMO comme cela est décrit ci-dessous.

2.5.2. Augmentation du volume de distribution

Plusieurs mécanismes sont à l'origine des variations du volume de distribution. Cela entraîne une modification du profil des concentrations en fonction du temps pour les médicaments administrés de façon discontinue.

Le premier est l'adsorption des molécules dans le circuit décrit ci-dessus où le circuit peut être considéré comme un compartiment supplémentaire.

Le circuit est également à l'origine d'une hémodilution par ajout du volume de la solution d'amorçage du circuit (minimum 250 mL mais variable selon le circuit) au volume vasculaire du patient lors de l'implantation du circuit puis de l'ajout d'autres volumes de soluté afin de maintenir un débit sanguin suffisant.(33) L'impact de cette hémodilution dépend de l'âge du patient selon une relation inversement proportionnelle (Figure 14). En effet, le volume du circuit d'ECMO est supérieur au volume sanguin d'un nouveau-né mais cette valeur est beaucoup plus faible pour un adulte.(3)

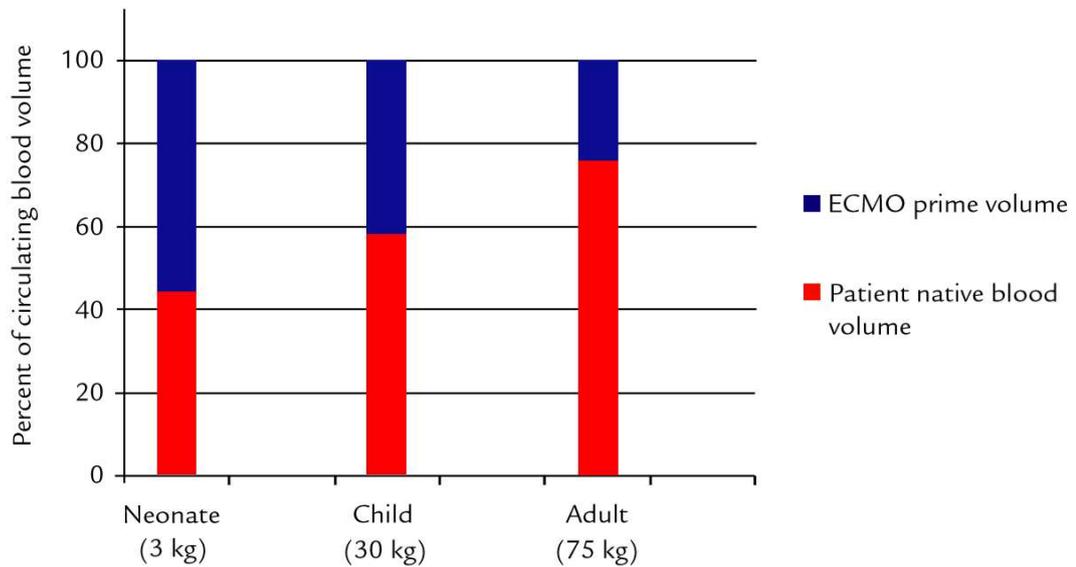


Figure 14 : Part du volume de solution d'amorçage du circuit d'ECMO et du volume vasculaire natif du patient dans le volume sanguin circulant total selon l'âge du patient d'après Sherwin et al.(3)

De plus, l'ECMO provoque des modifications physiologiques comme une modification du débit sanguin rénal, décrit plus en détails dans le prochain chapitre concernant les mécanismes d'altération de la clairance. Cette modification de débit entraîne l'activation du système rénine-angiotensine-aldostérone d'où une augmentation du volume vasculaire et de l'hémodilution (Figure 15).(50) L'ECMO entraîne également une activation de la réponse inflammatoire avec des fuites vasculaires pouvant aller jusqu'à la formation d'œdèmes associés à une augmentation du volume de distribution.(51,52)

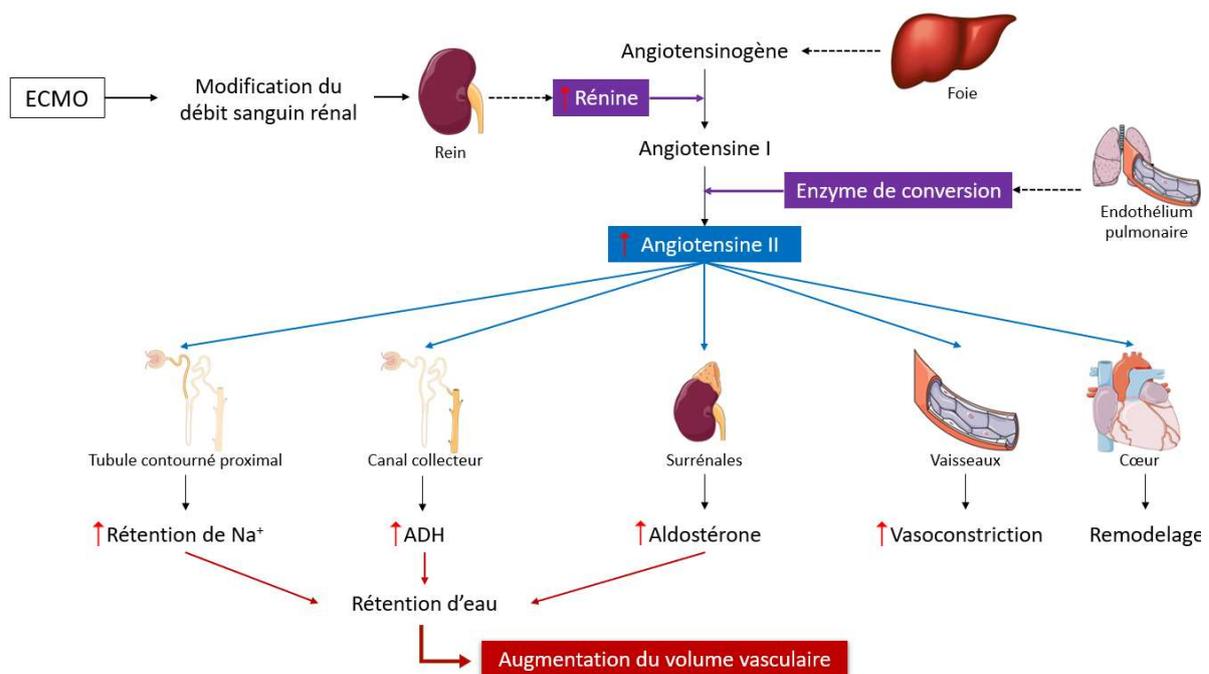


Figure 15 : Effet de l'ECMO sur le système Rénine-Angiotensine-Aldostérone (d'après le cours du Pr Véronique Leblais)

Cette augmentation du volume de distribution par hémodilution est particulièrement marquée pour les molécules hydrophiles dont le volume de distribution est similaire au volume vasculaire. En revanche, l'hypothèse a été formulée par Sherwin *et al* que le volume de distribution des molécules ayant une forte diffusion tissulaire pourrait être moins impacté car l'adsorption pourrait être compensée par une redistribution à partir des compartiments tissulaires (similaire à l'effet rebond).(3) Cette hypothèse n'a pas été vérifiée par les auteurs.

Cependant, les mécanismes par lesquels l'ECMO modifie le volume de distribution sont peu explicités car la grande majorité des études ont été conduites sur des modèles *ex vivo* qui ne permettent pas de les étudier, ou chez les nouveau-nés dont la pharmacocinétique diffère de celle décrite dans la population adulte avec une liaison aux protéines plasmatiques de certaines molécules plus faible et une proportion hydrique plus élevée .(53,54)

2.5.3. Altération de la clairance

L'ECMO induit une diminution de la clairance par divers mécanismes qui s'ajoutent à ceux liés à l'état critique du patient.

Le premier est l'insuffisance rénale aiguë dont la fréquence chez les patients sous ECMO est de l'ordre de 70 à 80%.(55) Celle-ci peut être la conséquence d'une hypoperfusion rénale avant la mise sous ECMO entraînant une dysfonction rénale non immédiatement réversible lors de la mise en place de l'assistance.(33)

En plus de cette dysfonction rénale fréquente, un autre mécanisme d'altération de la clairance s'ajoute théoriquement en cas d'utilisation d'ECMO VA : L'ECMO VA impose un débit sanguin continu , au lieu du débit pulsatile cardiaque, associé à une diminution du débit de filtration glomérulaire.(56) Une diminution de la clairance rénale en est donc la conséquence. Cependant, une étude sur la Gentamicine chez des nouveau-nés sous ECMO, qui comparait ECMO VA et ECMO VV (débit cardiaque pulsatile maintenu), n'a pas mis en évidence de différence de clairances entre les deux groupes.(57) Cette hypothèse semble donc infondée. Par ailleurs, la mise sous épuration extra-rénale est fréquente chez les patients sous ECMO, ce qui est à l'origine de modifications supplémentaires de la pharmacocinétique, certaines molécules étant dialysables et d'autres non.

De la même manière, en cas de diminution du débit sanguin hépatique chez les patients sous ECMO, une diminution de la clairance métabolique des médicaments est attendue, surtout pour les médicaments à fort coefficient d'extraction hépatique. Cette hypothèse est très peu documentée dans la littérature.(58) Par ailleurs, au vu de la réponse inflammatoire observée chez les patients sous ECMO, (32) une diminution de l'activité

enzymatique métabolique induite par l'inflammation est à attendre.(59–61) Une diminution de la clairance hépatique serait donc cohérente.

En outre, en cas de diminution du débit sanguin pulmonaire chez les patients sous ECMO, on peut s'attendre à une diminution de l'élimination pulmonaire. La diminution de la clairance pulmonaire en cas de diminution du débit de perfusion a été documentée pour plusieurs molécules (anesthésiques, opioïdes, etc.) sur des modèles animaux et/ou chez des patients sous circulation extra-corporelle pour chirurgie cardiaque.(62) Cette hypothèse n'a pas été vérifiée chez les patients sous ECMO.

Une diminution de la clairance d'élimination a largement été étudiée en Néonatalogie. Toutefois, chez les nouveau-nés, la fonction rénale et la métabolisation hépatique ne sont pas matures ; ceci pourrait constituer un biais.(63) Par conséquent, il faut donc extrapoler les résultats observés en Néonatalogie à l'adulte avec prudence.

Alors que l'adsorption des molécules dans le circuit peut réduire les concentrations circulantes en raison des différents mécanismes pouvant altérer la clairance totale, les concentrations circulantes peuvent être supérieures aux valeurs attendues avec un risque de toxicité pour les médicaments à marge thérapeutique étroite (MTE). Par conséquent, la seule option consiste à faire un suivi thérapeutique pharmacologique pour tous les médicaments à MTE dont la pharmacocinétique peut être modifiée en raison de l'utilisation de l'ECMO.

L'ensemble des mécanismes décrits précédemment sont résumé dans le Tableau 3.

Paramètre	Effet	Mécanismes
Volume de distribution	Augmentation	Adsorption réversible Hémodilution par l'ajout du volume du circuit au volume vasculaire Activation du système Rénine-Angiotensine-Aldostérone
Clairance	Diminution	Adsorption irréversible Insuffisance rénale aigue antérieure à la mise sous EMCO Débit sanguin continu imposé par l'ECMO VA Diminution de la clairance hépatique (diminution de la perfusion hépatique et diminution de l'activité enzymatique)

Tableau 3 : Résumé des mécanismes expliquant l'impact de l'ECMO sur la pharmacocinétique des médicaments

L'ECMO peut donc être à l'origine de nombreuses modifications de la pharmacocinétique des médicaments. Ces modifications sont spécifiques à une molécule et ne peuvent pas toujours être anticipées. Il est donc nécessaire d'étudier l'influence de l'ECMO sur la pharmacocinétique de la molécule d'intérêt afin de déterminer si un schéma posologique propre aux patients sous ECMO est nécessaire. Pour cela, plusieurs modèles ont été mis au point.

3. Les modèles d'étude de l'influence de l'ECMO sur la pharmacocinétique des médicaments

Les premières études réalisées sur l'adsorption dans le circuit d'ECMO se sont intéressées à un élément précis du circuit (tubulures, membrane, etc.). Pour cela, l'élément de circuit étudié était isolé et mis au contact d'une solution contenant la (les) molécule(s) d'intérêt radiomarquée(s).(64)

Les premiers modèles mis au point sur circuit d'ECMO complet sont des modèles *in vitro*. Ils consistent en un circuit d'ECMO en boucle fermée dans lequel est injecté le(s) médicament(s) d'intérêt pour étudier la cinétique de perte liée au phénomène d'absorption. Ces circuits peuvent être amorcés avec du sérum physiologique ou du sang total humain.(36,44,49) Dans ce dernier cas, les modèles sont habituellement appelés modèle *ex vivo*.(44) Ces modèles continuent à être utilisés pour l'exploration de l'adsorption des médicaments sur les circuits d'ECMO.(4,65) Cependant, ces modèles font appel à du matériel plus ou moins ancien (membrane en silicone ou à fibres creuses). Par conséquent, il est délicat de comparer les résultats obtenus mais aussi de les extrapoler aux pratiques actuelles.

Plus récemment, un modèle *in vivo* a été mis au point par Shekar *et al.*(66) Il s'agit de deux modèles ovins : un modèle de brebis saine séditée et mise sous ECMO et un modèle de brebis séditée présentant une atteinte pulmonaire aigue par inhalation de fumée et mise sous ECMO. Le modèle ovin a été choisi en raison de la similitude des états physio-pathologiques avec ceux retrouvés chez l'homme.(67,68) Pour cette raison, des modèles ovins ont déjà été développés pour étudier différentes conditions physio-pathologiques dont la circulation extra-corporelle, la reperfusion myocardique et les atteintes pulmonaires aiguës.(69–71) Shekar *et al* ont utilisé leurs modèles pour comparer la pharmacocinétique de plusieurs médicaments utilisés en clinique humaine, selon 3 conditions : brebis saine, brebis saine sous ECMO et brebis malade sous ECMO. Huit anti-infectieux fréquemment administrés aux patients sous ECMO ont été étudiés : la Ceftriaxone, la Gentamicine, le Méropénème, la Vancomycine, le Doripénème, la Ciprofloxacine, le Fluconazole et la Caspofungine.(47)

Un autre modèle animal semble pertinent. Il s'agit du cochon qui présente de grandes similitudes avec l'homme au niveau anatomique, physiologique et biochimique concernant le système cardiovasculaire, le tractus gastro-intestinal, le foie, les surrénales, la peau et le rein (72,73) Ainsi, le volume vasculaire moyen, le débit cardiaque ainsi que les troncs artériels et veineux sont compatibles avec les systèmes d'ECMO et ses canules de diamètre important. Cela en fait un modèle fréquemment retrouvé dans la littérature (74,75) De plus, ces similarités en font également un modèle fréquemment utilisé pour les études de pharmacocinétique et de toxicologie en vue d'une extrapolation des données animales à l'homme (72,76)

C'est pour l'ensemble de ces raisons que nous avons utilisé le modèle porcin pour réaliser notre étude comme cela sera détaillé par la suite.

Au cours de nos travaux, nous nous sommes intéressés à l'association Ceftolozane/Tazobactam, présentée ci-dessous avant une revue bibliographique des données disponibles concernant l'influence de l'ECMO sur sa pharmacocinétique.

4. L'association Ceftolozane / Tazobactam

Le Ceftolozane et le Tazobactam sont commercialisés depuis 2016 en association fixe sous le nom ZERBAXA® par le Laboratoire Merck Sharp & Dohme.

4.1. Mécanismes d'action

Le Ceftolozane et le Tazobactam font partie des antibiotiques de la famille des bêta-lactamines (Figure 16)

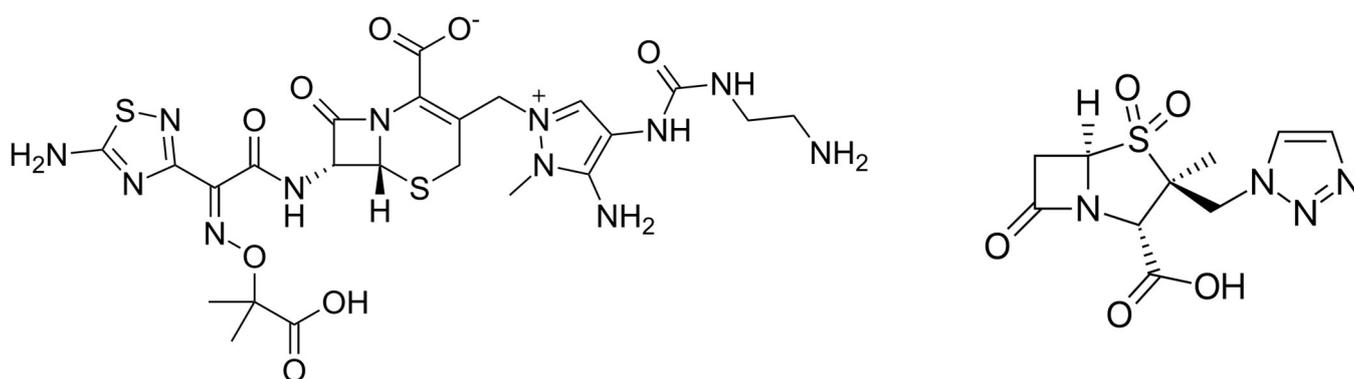


Figure 16 : Structure du Ceftolozane (à gauche) et du Tazobactam (à droite)

Le Ceftolozane est une céphalosporine. Il agit par inhibition compétitive des PLP (Protéines Liant les Pénicillines), transpeptidases extra-cytoplasmiques qui assurent la réticulation du peptidoglycane (Figure 17). Cette inhibition, en perturbant la synthèse du peptidoglycane qui constitue la paroi bactérienne, est à l'origine de l'activité bactéricide.

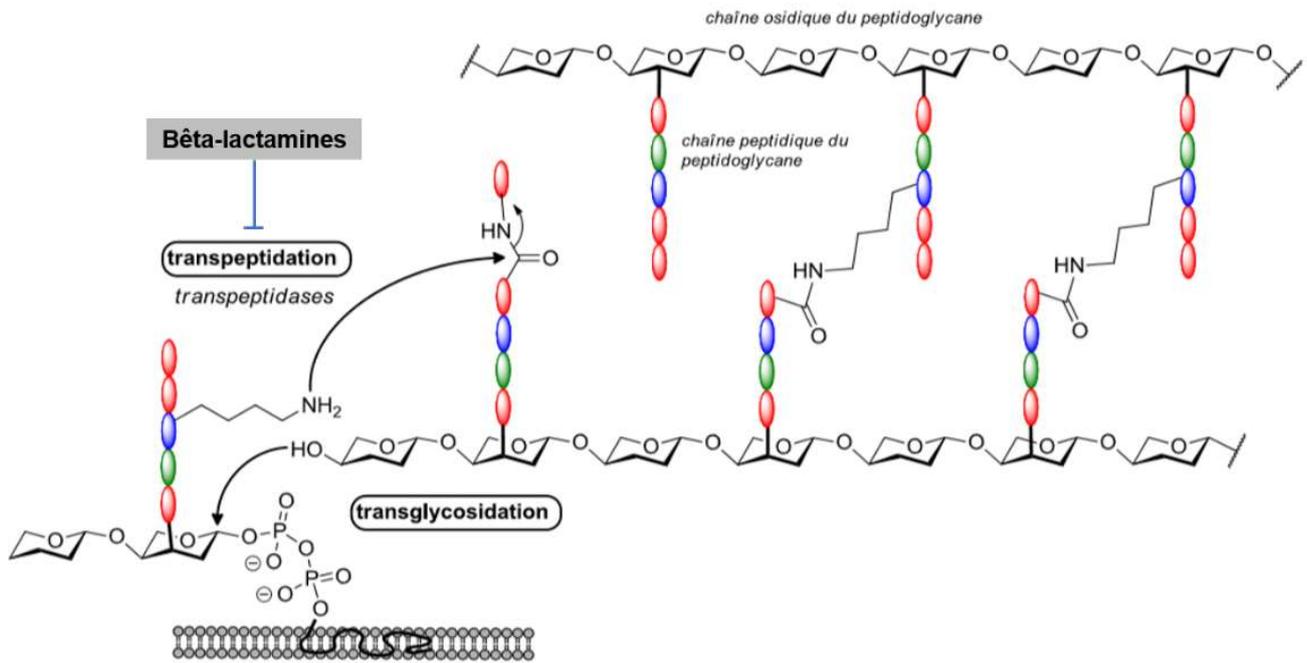


Figure 17 : Schéma de la synthèse du peptidoglycane et site d'action des bêta-lactamines (d'après le cours du Pr Erwan Poupon)

Le Tazobactam est un inhibiteur de bêta-lactamases, enzymes bactériennes dégradant les bêta-lactamines et qui font partie des mécanismes de résistance fréquents des bactéries aux antibiotiques de la famille des bêta-lactamines.

L'association des deux molécules permet de couvrir un spectre large incluant les bactéries à Gram négatif et certains cocci à Gram positif. L'efficacité clinique a été démontrée pendant le développement du médicament sur *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca et pneumonia*, *Proteus mirabilis* et *Pseudomonas aeruginosa* parmi les bactéries à Gram négatif et *Streptococcus anginosus*, *S. constellatus* et *S. salivarius* parmi les bactéries à Gram positif.(77) La plus forte activité bactéricide de l'association est observée contre *Pseudomonas aeruginosa* (Tableau 4).(77) En revanche, l'activité est limitée sur les bactéries anaérobies. Grâce au Tazobactam, l'activité bactéricide est maintenue chez certaines bactéries présentant une bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE) comme certaines bêta-lactamases de Classe A (CTX-M, SHV et TEM) mais inactif sur AmpC, les carbapénémases KPC, NDM et OXA.

Espèce bactérienne	Concentration critique	
	S ≤	R >
<i>Enterobacterales</i>	2	2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4	4
<i>Haemophilus influenzae</i>	0.5	0.5
Non relié à une espèce	4	4

Tableau 4 : Valeurs critiques du Cefotolozane-Tazobactam déterminée pour différentes espèces bactériennes d'après le European Committee on Antimicrobial Testing ('EUCAST)

4.2. Indications

Cette association fixe de Cefotolozane/Tazobactam a été mise sur le marché dans l'indication du traitement des infections intra-abdominales et urinaires compliquées à bacille à Gram négatif, notamment les entérobactéries du groupe 3, certaines entérobactéries à bêta-lactamase à spectre étendu et *Pseudomonas aeruginosa* à la posologie de 1g/0.5g x 3/24h en perfusion de 1 heure.(78)

A la suite de l'étude de Phase III ASPECT-NP (NCT02070757), les indications de l'autorisation de mise sur le marché (AMM) ont été étendues en 2019 au traitement des pneumopathies acquises sous ventilation mécanique (PAVM) à la posologie de 2g/1g x 3/24h en perfusion de 1 heure.(79)

4.3. Pharmacocinétique du Cefotolozane et du Tazobactam

Il a été démontré au cours du développement du médicament que, pour une dose comprise entre 0.25 et 3 g de Cefotolozane et entre 0.5 et 1.5 g de Tazobactam, leur pharmacocinétique était linéaire, c'est-à-dire que les concentrations observées étaient proportionnelles à la dose administrée.(77)

Leur liaison aux protéines plasmatiques est faible, entre 16 et 21% pour le Cefotolozane et 30% pour le Tazobactam. Après une administration intraveineuse unique chez des hommes sains, le volume de distribution moyen (coefficient de variation) observé est de 13.5 L (21%) et 18.2 L (25%) pour le Cefotolozane et le Tazobactam, respectivement. Ces valeurs sont proches du volume de liquide extracellulaire de l'organisme, ce qui signifie que ces deux molécules y diffusent vraisemblablement librement.

Le Cefotolozane n'est pas métabolisé et est éliminé sous forme inchangée dans les urines (> 95%). Sa clairance rénale est comprise entre 3.41 et 6.69 L/h, ce qui correspond aux valeurs de clairance plasmatique (4.10 – 6.73 L/h) et au débit de filtration glomérulaire de la fraction libre de Cefotolozane. Cela est évocateur d'une élimination rénale du Cefotolozane par

filtration glomérulaire, sans phénomène de réabsorption ou sécrétion tubulaire (ou se compensant). Le Tazobactam est éliminé majoritairement sous forme inchangée dans les urines (> 80%). La fraction restante est hydrolysée au niveau du noyau bêta-lactame pour former le métabolite M1 qui est également éliminé dans les urines. La demi-vie d'élimination du Ceftolozane est d'environ 3 h chez l'adulte sain présentant une fonction rénale normale. Celle du Tazobactam est d'environ 1 h.

En l'absence de métabolisation hépatique, l'insuffisance hépatocellulaire n'a pas d'impact sur la pharmacocinétique du Ceftolozane et du Tazobactam.

En cas d'insuffisance rénale, l'exposition en Ceftolozane (exprimée sous forme de moyenne géométrique de l'ASC) est 1.26, 2.5 et 5 fois supérieure à celle observée chez les sujets sains en cas d'insuffisance rénale légère, modérée et sévère, respectivement. Dans les mêmes conditions, l'exposition en Tazobactam est 1.3, 2 et 4 fois supérieure. Il est donc nécessaire d'adapter la posologie administrée au patient selon sa fonction rénale estimée selon la formule de Cockcroft et Gault (Tableau 5).(80)

Clairance rénale estimée (mL/min)	Posologie recommandée
> 50	Ceftolozane 1000 mg / Tazobactam 500 mg IV toutes les 8 h
30 à 50	Ceftolozane 500 mg / Tazobactam 250 mg IV toutes les 8 h
15 à 29	Ceftolozane 250 mg / Tazobactam 125 mg IV toutes les 8 h
Sous hémodialyse	Dose de charge de Ceftolozane 500 mg / Tazobactam 250 mg suivi d'une administration toutes les 8 h de Ceftolozane 100 mg / Tazobactam 50 mg

Tableau 5 : Posologies recommandées de Ceftolozane/Tazobactam selon la fonction rénale

4.4. Évaluation de l'efficacité par critère pharmacocinétique-pharmacodynamique

Le critère d'efficacité pharmacocinétique-pharmacodynamique (PK-PD) appliqué au Ceftolozane est celui usuellement retrouvé avec les bêta-lactamines : la fraction de temps entre deux administrations pendant laquelle la concentration libre, c'est-à-dire non liée aux protéines plasmatiques, est au-dessus de la concentration minimale inhibitrice (CMI) ou d'un multiple de la CMI (Figure 18). Pour le Tazobactam, le critère d'efficacité PK-PD est la fraction de temps entre deux administrations pendant laquelle la concentration est au-dessus d'un seuil. Ce seuil est déterminé en fonction de la souche bactérienne, du type de bêta-lactamase et de la quantité produite. Ces paramètres ne pouvant pas être déterminés en pratique hospitalière, le seuil habituellement utilisé est de 1 mg/L.(81)

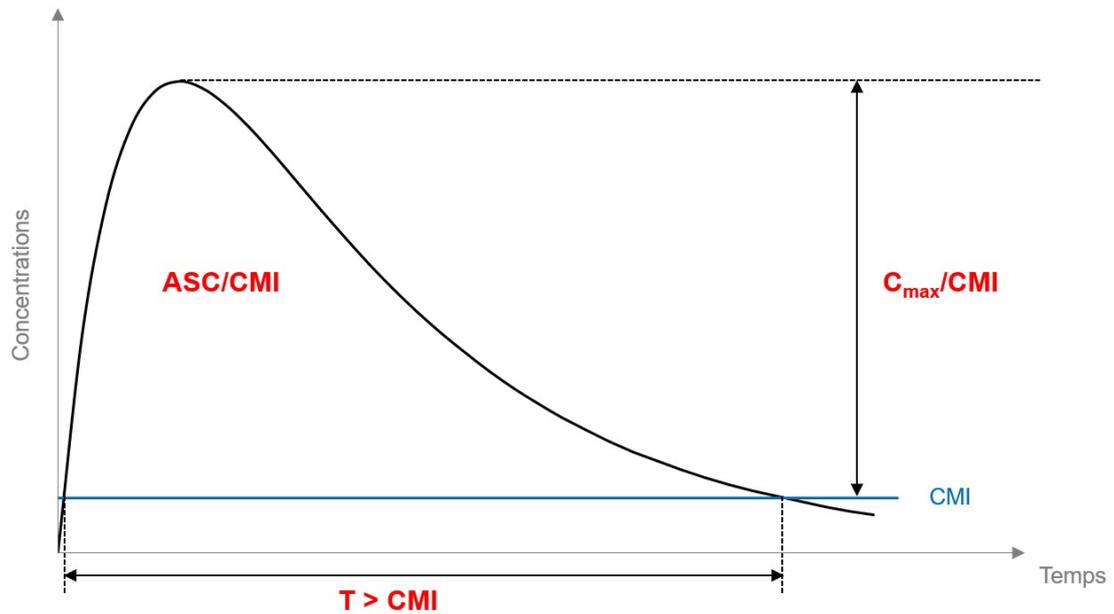


Figure 18 : Schéma des critères d'efficacité pharmacocinétiques-pharmacodynamiques retrouvés pour les antibiotiques : temps-dépendant ($T > CMI$), concentration-dépendant (C_{max}/CMI) et exposition-dépendant (ASC/CMI)

D'après les études réalisées *in vitro* et *in vivo* sur un modèle murin, la valeur critique du critère PK-PD pour le Ceftolozane se trouve entre 25 et 40%.^(82,83) Dans le contexte des patients de Réanimation, le seuil communément retenu est celui d'une concentration libre plasmatique supérieure à 4 fois la CMI pendant 100% du temps ($100\% fT > 4 \times CMI$) afin de s'assurer de l'efficacité malgré la variabilité intra-individuelle chez ces patients.⁽⁸⁴⁾

En amont de l'étude de Phase III ASPECT-NP en vue de l'extension d'AMM pour le traitement des pneumopathies, Xiao *et al* ont réalisés des simulations de profils cinétiques de Ceftolozane au niveau plasmatique et pulmonaire à l'aide du modèle de pharmacocinétique de population publié par Chandorkar *et al.*^(85,86) Ils présentent leurs résultats sous forme de pourcentage de profils simulés répondant au critère PK-PD (Probability of Target Attainment, PTA) en fonction de la CMI du germe. Lorsque le critère PK-PD est $50\% fT > CMI$, le PTA au niveau plasmatique est de 79% pour un germe présentant une CMI de 8 mg/L et descend à 59% au niveau pulmonaire (Figure 19). Le seuil habituellement utilisé pour les PTA pour déterminer l'efficacité d'une posologie est de 90%. Leurs résultats suggèrent donc que la posologie usuelle de 1g/0.5g x 3/24h en perfusion de 1 heure, conformément à l'AMM, est largement insuffisante pour atteindre la valeur critique du critère PK-PD du Ceftolozane dans le cadre des infections pulmonaires.

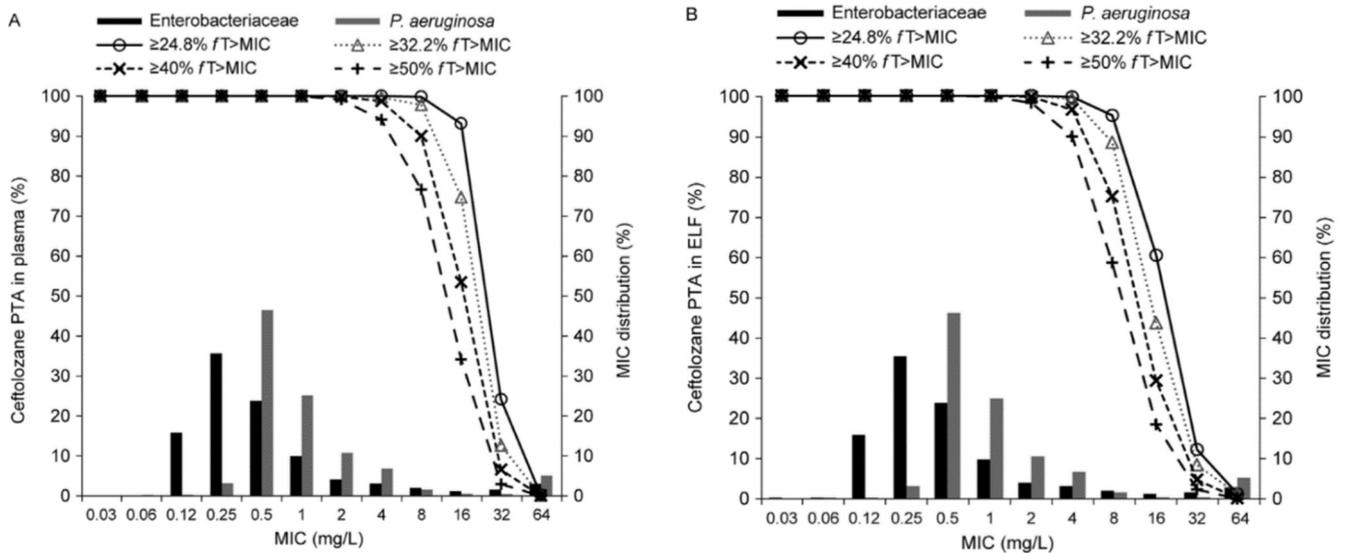


Figure 19 : Pourcentage de profils simulés répondant au critère PK-PD d'efficacité du Ceftolozane au niveau plasmatique et au niveau pulmonaire pour une posologie standard de Ceftolozane/Tazobactam et distribution des CMI des entérobactéries et de *P. aeruginosa* isolés des patients hospitalisés pour pneumopathies d'après les données de surveillance américaines et européennes de 2012 d'après Xiao et al.(85)

En raison de ces résultats, la posologie retenue pour l'étude ASPECT-NP et, par la suite, pour l'extension d'AMM pour les PAVM, est de 2g/1g x 3/24h en perfusion de 1 heure. Outre l'augmentation de posologie, l'autre élément permettant d'atteindre le critère PK-PD du Ceftolozane est l'utilisation de perfusions prolongées.(87) Cette hypothèse est actuellement étudiée par l'équipe de Réanimation Polyvalente de l'hôpital Rangueil du Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Toulouse, associée au Laboratoire de Pharmacocinétique et Toxicologie du CHU de Toulouse et à l'UMR 1436 INTHERES au travers de l'étude de pharmacocinétique de population CEFTOREA (NCT03581370). Le but de cette étude est de déterminer pour la population des patients de Réanimation le schéma posologique le plus adapté pour répondre aux objectifs thérapeutiques et documenter la variabilité inter-individuelle de cette association dans cette population.

Un autre critère potentiel de variabilité inter-individuelle non étudié dans le protocole CEFTOREA est la présence d'une assistance par EMCO. Ce paramètre a donc été étudié au cours du travail présenté ici en commençant par une revue de la littérature et complété par le travail expérimental réalisé par la suite.

5. Influence de l'ECMO sur la pharmacocinétique de l'association Cefotolozane/Tazobactam

Une étude réalisée sur un modèle *ex vivo* s'est intéressée à l'influence de l'ECMO sur la pharmacocinétique du Cefotolozane et du Tazobactam. Elle rapporte une diminution des concentrations en Cefotolozane d'environ 50% en 5h et de 92% en 24h.(4) Ce résultat préliminaire est particulièrement alarmant car il remet en question l'efficacité du traitement chez les patients sous ECMO, population déjà fragile chez qui tout retard de mise en place d'un traitement efficace peut avoir des conséquences fatales.

Cependant, les modèles *ex vivo* ne permettent d'étudier que l'adsorption des molécules dans le circuit d'ECMO. Ils ne reflètent donc que partiellement ce qui se passe *in vivo* et ne suffisent pas pour documenter l'influence de l'ECMO sur la pharmacocinétique des médicaments chez le patient. A titre d'exemple, des résultats discordants pour le Méropénem ont été rapportés entre les études *ex vivo* et une étude de pharmacocinétique menée chez les patients sous ECMO.(43,45,88) De la même manière, pour le Cefotolozane/Tazobactam, contrairement à ce que l'on pouvait attendre des résultats obtenus *ex vivo*, les concentrations mesurées en Cefotolozane sont restées supérieures au seuil d'efficacité PK-PD chez une patiente transplantée pulmonaire sous ECMO pour laquelle les concentrations en Cefotolozane et Tazobactam ont été suivies pendant 96h.(5)

Face à cette discordance de résultats, des études complémentaires étaient nécessaires afin de déterminer l'influence réelle de l'ECMO sur la pharmacocinétique de l'association Cefotolozane/Tazobactam. La deuxième partie de ce mémoire présente les travaux réalisés pour répondre à ce besoin.

ÉTUDE EXPÉRIMENTALE

PRÉSENTATION DE L'ÉTUDE

Notre projet avait pour objectif de documenter l'influence de l'ECMO sur la pharmacocinétique de l'association Ceftolozane/Tazobactam. Pour cela, nous avons réalisé deux études expérimentales complémentaires.

Dans un premier temps, nous avons réalisé une étude sur un modèle *ex vivo*. Dans l'hypothèse d'une éventuelle perte de Ceftolozane et/ou Tazobactam dans le sang circulant par adsorption dans le circuit d'ECMO à l'image des travaux de Cies *et al*,(4) nous avons pour objectif de caractériser le profil de perte. Cette caractérisation incluait la documentation du mécanisme impliqué (fixation saturable ou non saturable) en étudiant des administrations répétées et différents niveaux de concentration en Ceftolozane/Tazobactam.

Dans un second temps, nous avons réalisé une étude *in vivo* sur un modèle porcin. Notre objectif était de documenter l'influence de l'ECMO sur la pharmacocinétique du Ceftolozane et du Tazobactam de façon plus complète en se rapprochant du contexte clinique des patients mis sous ECMO. Pour cela nous avons comparé la pharmacocinétique observée sur un modèle porcin sous ECMO ou non afin de déterminer si l'ECMO avait une influence significative.

Par souci de clarté, seront décrits dans un premier temps les matériels et méthodes des deux études. Dans un second temps nous traiterons des résultats obtenus pour ces études et nous clôturerons par une discussion sur l'ensemble des résultats expérimentaux.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

1. Circuits d'ECMO

Les circuits d'ECMO utilisés étaient des circuits préassemblés pour adulte comprenant une pompe centrifuge Revolution®, des tubulures en polyvinyl chloride (PVC) de diamètre 3/8 pouces (9.525 mm) et un oxygénateur EOS ECMO à fibres creuses en polyméthylpentène recouvertes de phosphorylcholine (P.H.Y.S.I.O[®] coating) pour une meilleure biocompatibilité avec le sang (Sorin Group, LivaNova, Londres, Royaume-Uni). Ces circuits étaient installés sur une console SCPC (Sorin Group, LivaNova, Londres, Royaume-Uni) qui permettait de régler le débit de la pompe et le balayage en dioxygène. Ces circuits sont ceux utilisés en clinique chez les patients du CHU de Toulouse.

2. Expérimentations sur le modèle *ex vivo*

Les expérimentations ont été réalisées sur six circuits. Les circuits ont été amorcés et débullés avec du sérum physiologique (NaCl 0,9%) puis le sérum physiologique a été remplacé par du sang total (volume moyen de 480mL). Le sang total a été fourni par l'Établissement Français du Sang sous forme de poche anticoagulée par du citrate et prélevée depuis moins de 24h. Pour se rapprocher des conditions observées en clinique chez les patients sous ECMO, la température du circuit a été maintenue à 37°C, l'hémoglobinémie entre 80 et 110 g/L, le pH entre 7,20 et 7,50 par ajout de bicarbonates au besoin et le débit de l'ECMO entre 2,5 et 3 L/min pendant les 24h de l'expérimentation. Une anticoagulation était maintenue dans le circuit pendant toute la durée de la cinétique grâce à l'injection initiale de 5 000 UI d'héparine non fractionnée. Le modèle *ex vivo* est représenté Figure 20.

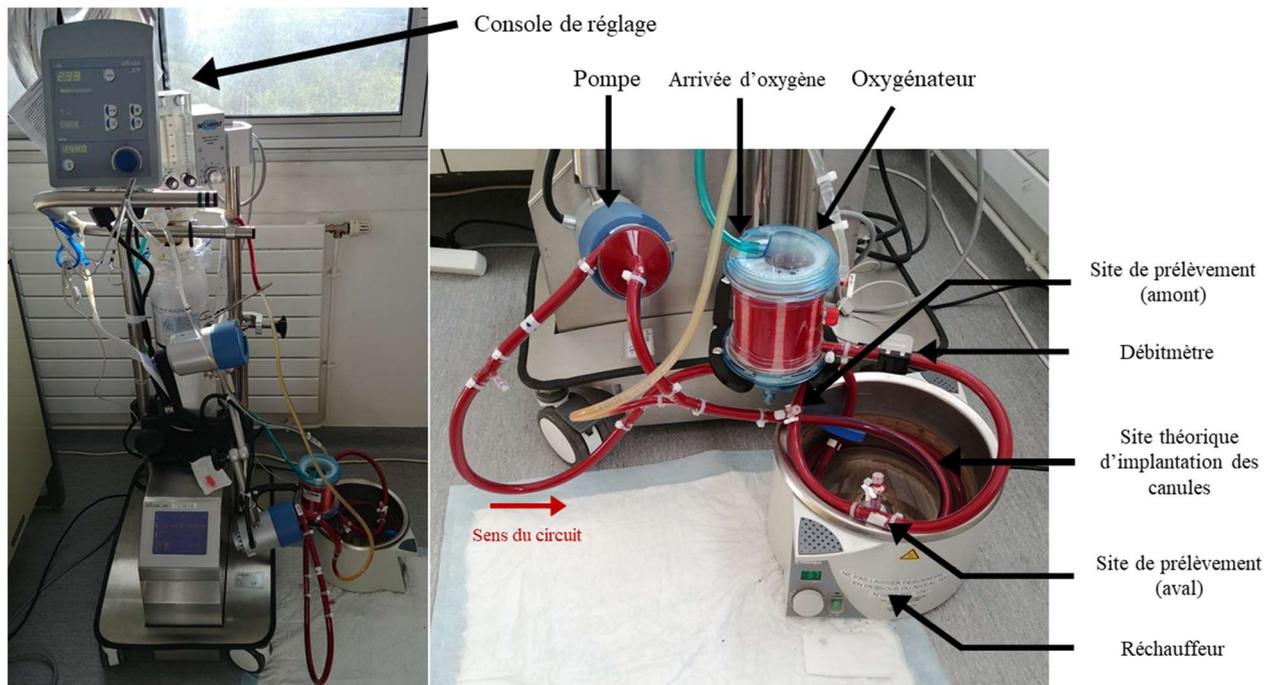


Figure 20 : Modèle ex vivo

Circuit d'ECMO comprenant une pompe, une membrane d'oxygénation et un réchauffeur en circuit fermé monté sur une console permettant de régler le débit de la pompe

L'injection de Ceftolozane/Tazobactam à la dose de 9 mg/4.5 mg (groupe basse concentration) a été réalisée dans le circuit en amont de l'oxygénateur. A l'issue de la première injection, des prélèvements sanguins ont été effectués sur une période de 8 heures, délai entre deux administrations selon l'AMM. Une deuxième et troisième administration de Ceftolozane/Tazobactam à la même dose ont été réalisées au bout de 8h (T8) et de 16h (T16) et des prélèvements sanguins ont été effectués sur 8 heures à chaque fois. Ce plan expérimental a été reproduit à la dose de 25 mg/12.5 mg (groupe haute concentration) de façon à explorer les variations de concentrations plasmatiques en fonction du temps de contact avec le circuit mais aussi de la dose injectée, en couvrant l'étendue des concentrations plasmatiques retrouvées en pratique clinique et tout particulièrement chez les patients de Réanimation.

Des prélèvements sur tube sec (Eppendorf, Hambourg, Allemagne) ont été réalisés en aval de l'oxygénateur à T0-5min, T30min, T1h, T2h, T3h, T4h, T6h et T8h après chaque administration, soit 24 prélèvements au total par expérimentation (Figure 21). Les prélèvements ont été centrifugés à 2000 g pendant 10 min dans les 30 min suivant le prélèvement puis aliquotés et conservés à 4°C jusqu'à la fin de l'expérimentation avant d'être conservés à -80°C jusqu'au dosage.

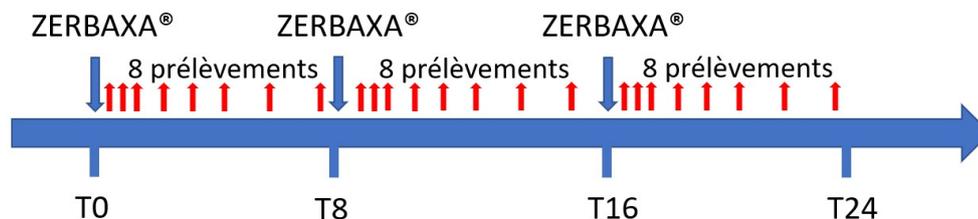


Figure 21 : Plan d'administration et de prélèvements pour les expérimentations in vitro

En parallèle, des témoins (n=3) ont été réalisés pour chaque groupe, basses et hautes concentrations, afin de déterminer la dégradation spontanée du Ceftolozane et du Tazobactam à 37°C dans le sang total. Pour cela, du sang total a été mis dans des tubes en verre et surchargé en Ceftolozane et Tazobactam pour retrouver les mêmes concentrations que celles observées dans les circuits à T0. Les tubes ont été maintenus à 37°C sous agitation et des prélèvements sur tube sec (Eppendorf, Hambourg, Allemagne) ont été réalisés à T0-5min, T30min, T1h, T2h, T3h, T4h, T6h et T8h, soit 8 prélèvements au total par témoin. De la même manière, les prélèvements ont été centrifugés à 2000 g pendant 10 min dans les 30 min suivant le prélèvement puis aliquotés et conservés à 4°C jusqu'à la fin de l'expérimentation avant d'être conservés à -80°C jusqu'au dosage.

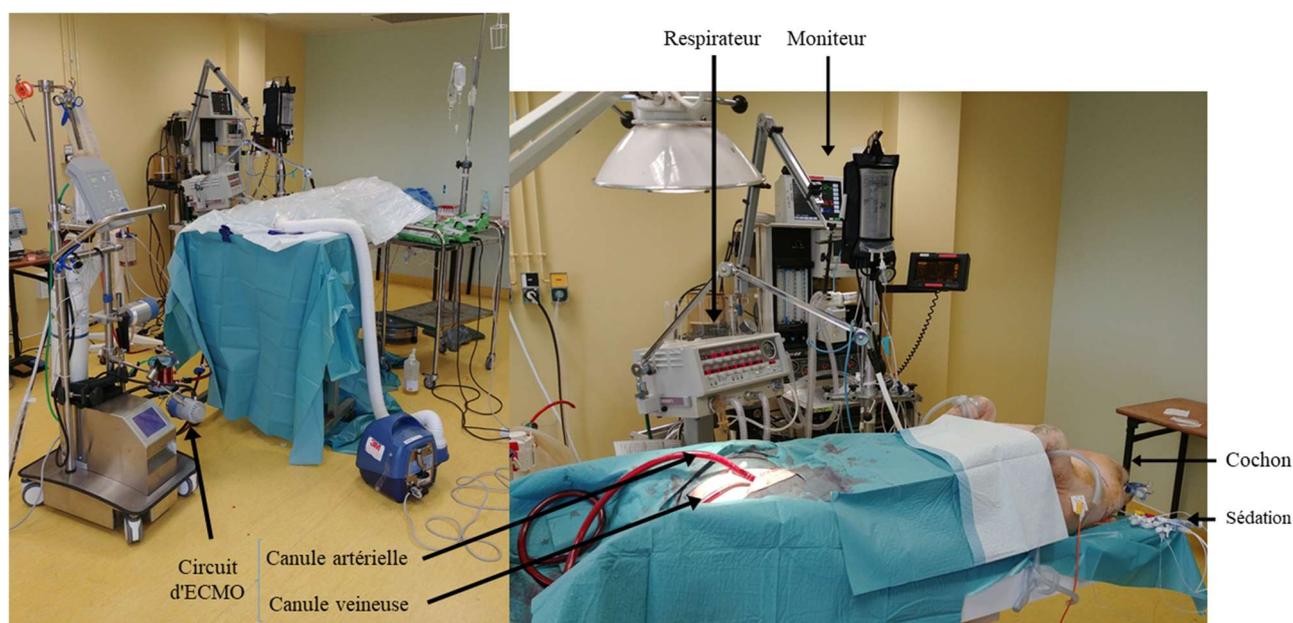
Pour chaque interdose (T0-T8, T8-T16, T16-T24) et pour les témoins (T0-T8), une régression linéaire des concentrations a été réalisée. La pente de chaque interdose a été comparée à la pente du témoin à l'aide d'un test de Dunnett. Grâce à l'équation de droite obtenue par régression linéaire, la perte sur 8h a été déterminée selon le rapport $\frac{C_i - C_f}{C_i}$ avec C_i et C_f les concentrations calculées au début et à la fin de l'interdose, respectivement.

3. Expérimentations sur le modèle in vivo

Un modèle porcin (cochons Landrace x White Large de 70kg environ, MARQUIER Éric, agrément 09GNE) a été utilisé pour cette étude pilote. Les expérimentations ont été menées sur 6 cochons répartis en deux groupes : un groupe sous ECMO (n=3) et un groupe contrôle (n=3).

Après une pré-anesthésie par Kétamine 500 mg, Midazolam 50 mg et Azapérone 120 mg, les cochons des deux groupes ont été intubés, ventilés et maintenus sédatés par Propofol, Midazolam et Sulfentanyl (en perfusion continue) et curarisés par Cisatracurium (bolus toutes les heures) pendant toute la durée de l'expérimentation aux posologies initiales de 200 mg/h, 50 mg/h, 20 µg/h et 50 mg, respectivement, puis en adaptant les posologies à la réponse clinique.

L'ECMO a été implantée en abord veino-artériel au niveau fémoral après amorçage et débullage du circuit par du sérum physiologique. De l'héparine non fractionnée a été utilisée pour maintenir une anticoagulation efficace afin de prévenir une thrombose dans le circuit d'ECMO. Le débit d'ECMO a été fixé entre 3 et 4 L/min selon la tolérance hémodynamique. En cas de besoin, des antihypertenseurs de type dihydropyridines ont été utilisés pour maintenir une pression artérielle moyenne inférieure à 100 mmHg. Le balayage en dioxygène de l'ECMO a été adapté entre 1.5 et 2.5 L d'O₂/min selon les résultats de gazométrie sanguine artérielle. L'homéothermie a été maintenue à l'aide d'une couverture chauffante. Le modèle *in vivo* est représenté sur la Figure 22.



*Figure 22 : Modèle in vivo
Cochon sédaté et ventilé sous ECMO veino-artérielle par abord fémoral avec monitoring des constantes vitales*

Dans les deux groupes, le Ceftolozane/Tazobactam a été administré à la dose de 2 g de Ceftolozane et 1 g de Tazobactam en perfusion de 1 heure, conformément aux recommandations à venir dans le cadre d'une PAVM.

Des prélèvements sur tube sec (BD Vacutainer®, Franklin Lakes, États-Unis) ont été réalisés, sur une voie centrale différente de celle utilisée pour l'administration du Ceftolozane/Tazobactam, aux temps suivants : avant l'administration (T0), toutes les 15 min pendant la perfusion (T0.25, T0.5, T0.75 et T1), 30 min (T1.5) et 1 h (T2) après la fin de la perfusion puis toutes les heures jusqu'à 10 h après la fin de la perfusion (T3, T4, T5, T6, T7, T8, T9, T10 et T11), soit 16 prélèvements au total par cochon (Figure 23). Les prélèvements ont été centrifugés à 2000 g pendant 10 min dans les 30 minutes suivant le prélèvement puis

aliquotés et conservés à +4°C jusqu'à la fin de l'expérimentation avant d'être conservés à -80°C jusqu'au dosage.

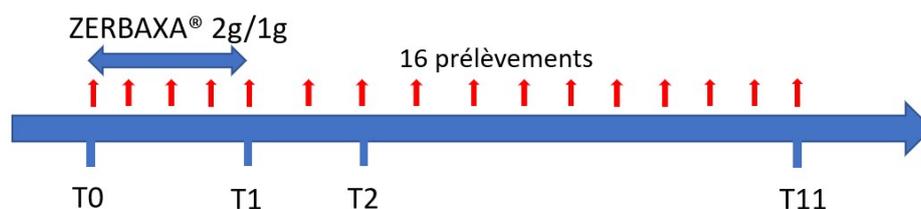


Figure 23 : Plan d'administration et de prélèvements pour les expérimentations *in vivo*

4. Dosage du Ceftolozane et du Tazobactam

La technique analytique employée est celle utilisée au Laboratoire de Pharmacocinétique et Toxicologie du CHU de Toulouse pour le suivi thérapeutique des antibiotiques. Cette méthode est accréditée par le Comité Français d'Accréditation (COFRAC) depuis 2018. Il s'agit d'une technique de chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS) utilisant une colonne Kinetex-Polar-C18 (Phenomenex, Le Pecq, France) sur un système HPLC Prominence (Shimadzu, Marne-la-Vallée, France) couplé à un QTRAP® 4500 (SCIEX, Villebon-sur-Yvette, France). Cette méthode a été validée pour deux matrices : sérum et plasma hépariné. Le domaine de linéarité de la méthode de dosage s'étend de 0.4 à 20 mg/L et de 0.1 à 5 mg/L pour le Ceftolozane et le Tazobactam, respectivement. Les étalons internes utilisés sont le Ceftolozane $^{15}\text{N}_2^2\text{H}_4$ et le Tazobactam $^{13}\text{C}_2^{15}\text{N}_1$. La reproductibilité de la méthode de dosage du Ceftolozane/Tazobactam est caractérisée par le coefficient de variation (CV) déterminé à deux niveaux de concentrations. Le CV (%) est de 5.9% et 8.7% pour des concentrations en Ceftolozane de 1.2 mg/L et de 16 mg/L, respectivement. Pour le Tazobactam, le CV est de 4.9% et 5.7% pour une concentration de 0.3 et 4 mg/L, respectivement.

Cette méthode a été utilisée en l'état pour le dosage des prélèvements des expérimentations *in vivo*. En revanche, une adaptation de la méthode analytique a été nécessaire pour doser les prélèvements issus du modèle *ex vivo*. En effet, la matrice étudiée (i.e. plasma citraté) était différente des matrices initialement validées. L'adaptation de la méthode a également inclus une adaptation du domaine de linéarité afin de couvrir les concentrations attendues avec le modèle *ex vivo* via l'utilisation de points de gamme préparés par surcharge dans du plasma citraté aux concentrations suivantes pour les deux molécules : 5, 10, 25, 50, 100 et 200 mg/L. Les contrôles de qualité ont été préparés également par surcharge dans du plasma citraté aux concentrations de 15, 75 et 150 mg/L pour les deux molécules.

5. Analyse pharmacocinétique du Ceftolozane et du Tazobactam

Dans un premier temps, l'étude pharmacocinétique des données issues du modèle *in vivo* a été réalisée selon une approche non compartimentale avec PK Solver dans Microsoft Excel.(89) La constante d'élimination était estimée par régression linéaire sur les 5 derniers points des cinétiques.

Dans un deuxième temps, une approche de modélisation non linéaire à effets mixtes a été réalisée avec le logiciel Monolix 2018 R2 (Lixoft, Antony, France). Les valeurs moyennes des paramètres pharmacocinétiques individuels obtenues avec l'approche non compartimentale ont été utilisées comme valeurs initiales lors de l'estimation des paramètres de population. Le modèle de structure (mono ou bicompartimental) a été choisi en fonction d'un critère graphique (i.e. représentation des concentrations mesurées en fonction des concentrations prédites).

Le premier modèle d'erreur initialement appliqué a été un modèle combiné (erreur additive et proportionnelle), selon l'équation suivante :

$$Y_{ij} = f(t_{ij}, \psi_i) + (\sigma_1 + \sigma_2 \cdot f(t_{ij}, \psi_i)) * \varepsilon' \quad (25)$$

avec Y_{ij} la concentration pour l'individu j à l'instant i , t_{ij} l'instant de prélèvement i du patient j , ψ_i les paramètres pharmacocinétiques de l'individu i , σ_1 l'erreur additive, σ_2 l'erreur proportionnelle, ε' le résidu qui suit une distribution normale de moyenne 0 et de variance 1.

Le modèle d'erreur a été choisi en fonction d'un critère graphique (i.e. représentation des résidus pondérés en fonction du temps post-administration et des concentrations prédites).

Une distribution lognormale des paramètres pharmacocinétique a été appliquée. Dans le cas d'un modèle bicompartimental :

$$Cl = Cl_{pop} * e^{\eta_{Cl}} \quad (26) \quad V_1 = V_{1pop} * e^{\eta_{V_1}} \quad (28)$$

$$Q = Q_{pop} * e^{\eta_Q} \quad (27) \quad V_2 = V_{2pop} * e^{\eta_{V_2}} \quad (29)$$

avec Cl la clairance d'élimination, V_1 le volume du compartiment central, Q la clairance inter-compartimentale et V_2 le volume du compartiment périphérique, Cl_{pop} , V_{1pop} , Q_{pop} , V_{2pop} les paramètres de population de Cl , V_1 , Q et V_2 , respectivement, et η_{Cl} , η_{V_1} , η_Q et η_{V_2} la variabilité inter-individuelle de Cl , V_1 , Q et V_2 , respectivement de moyenne 0 et de variance Ω avec Ω la matrice de variance-covariance :

$$\Omega = \begin{pmatrix} \omega_{Cl}^2 & & & \\ \omega_{Cl/V_1} & \omega_{V_1}^2 & & \\ \omega_{Cl/Q} & \omega_{V_1/Q} & \omega_Q^2 & \\ \omega_{Cl/V_2} & \omega_{V_1/V_2} & \omega_{Q/V_2} & \omega_{V_2}^2 \end{pmatrix} \quad (30)$$

avec $\omega_{x/y}$ la covariance de x et y et ω_z^2 la variance de z

Le choix du modèle de structure ainsi que celui du modèle d'erreur retenu a été confirmé à l'aide de trois critères : vraisemblance (-2LL), Akaike Information Criterion (AIC) et Bayesian Estimation Criterion (BIC) estimés à l'aide de l'algorithme Stochastic Approximation of Expectation-Maximization (SAEM).

Pour expliquer la variabilité inter-individuelle des paramètres pharmacocinétiques, deux covariables, l'ECMO et le sexe, ont été testés selon une approche « forward ». La(es) covariable(s) retenue(s) a(ont) été choisi(es) selon les critères d'évaluation suivants : la vraisemblance, l'AIC, le BIC et le test de Wald. Une covariable a été retenue en cas de diminution significative de la vraisemblance (> 3.84 : valeur du χ^2 à 1 degré de liberté), de l'AIC, du BIC et d'un test de Wald significatif. Les concentrations inférieures à la limite de quantification ont été exploitées en utilisant une censure statistique. La censure statistique permet de définir un intervalle dans lequel se situe une valeur d'observation non connue avec précision, par exemple entre zéro et la limite inférieure de quantification dans le cadre de notre étude. La vraisemblance est calculée en limitant le poids donné à ces données censurées par rapport aux valeurs mesurées avec précision.

Le choix du modèle final a été confirmé par la réalisation de Visual Predictive Checks (VPCs) représentant les 5^e, 50^e et 95^e percentiles des concentrations simulées à partir du modèle, pour chaque temps de prélèvement. Si le modèle final permet de correctement décrire les concentrations mesurées, alors, pour chaque temps de prélèvement, 5% des concentrations observées doivent se situer en-dessous et au-dessus des 5^e et 95^e percentiles, respectivement.

RÉSULTATS

1. Dosage du Ceftolozane et du Tazobactam

Les résultats de reproductibilité (CV%) obtenus avec la méthode adaptée pour la matrice plasma citraté, sur un effectif de 10 échantillons par niveau, sont présentés dans le Tableau 6.

	Niveau	Valeur théorique (mg/L)	Moyenne observée (mg/L)	Écart-type (mg/L)	Précision (%)	Biais (%)
Ceftolozane	Bas	15.00	15.39	0.75	4.88	2.60
	Moyen	75.00	73.82	3.21	4.35	- 1.57
	Haut	150.00	146.4	11.32	7.73	- 2.40
Tazobactam	Bas	15.00	15.11	0.68	4.47	0.73
	Moyen	75.00	73.75	4.86	6.58	- 1.67
	Haut	150.00	144.7	5.70	3.94	-3.5

Tableau 6 : Résultats des contrôles de qualité obtenus avec la méthode de dosage du Ceftolozane et du Tazobactam dans le plasma citraté

2. Expérimentations sur le modèle ex vivo

Pour les deux niveaux de concentrations et pour les deux molécules étudiées, une augmentation des concentrations a été constatée à chaque administration du médicament avec une augmentation d'un facteur 2 entre la 1^{ère} et la 2^e administration et d'un facteur 3 entre la 1^{ère} et la 3^e administration. Ce facteur d'accumulation est cohérent avec les doses de Ceftolozane/Tazobactam réadministrées (Figure 24).

Le rapport moyen (\pm écart-type) des concentrations de Ceftolozane sur les concentrations de Tazobactam a été de 2.37 (\pm 0.11).

Sur la première expérimentation, les prélèvements T0, T8 et T16 ont été réalisés juste après l'administration. Les concentrations mesurées se sont révélées très différentes des concentrations attendues et de celles observées sur la suite de la cinétique (moyenne) : < 5 vs 54.3 mg/L, 145 vs 110 mg/L et 198 vs 167 mg/L pour le Ceftolozane et <5 vs 23.5 mg/L, 62.8 vs 46.5 mg/L et 86.3 vs 70.0 mg/L pour le Tazobactam. Ces concentrations discordantes sont probablement dues à un temps d'homogénéisation insuffisant dans le circuit entre l'administration du médicament et le prélèvement. Par la suite, un délai de 5 min entre l'administration et le prélèvement a été respecté et ces concentrations discordantes ont été considérées comme aberrantes et n'ont pas été exploitées.

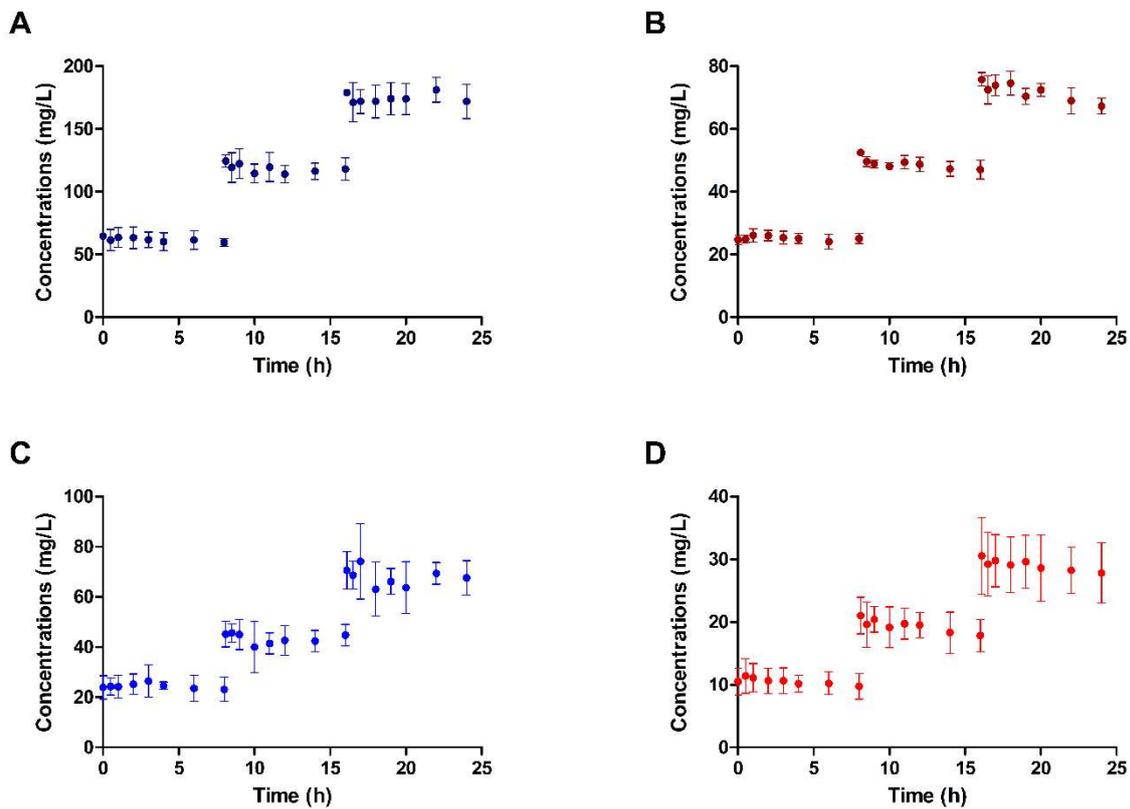


Figure 24 : Concentrations obtenues avec le modèle ex vivo pour les hautes concentrations de Ceftolozane (A) et de Tazobactam (B) et les basses concentrations de Ceftolozane (C) et de Tazobactam (D)

Les variations de concentrations sur 8h dans les circuits d'ECMO étaient comprises entre -5.73 et 1.26% pour le Ceftolozane et entre -12.95 et -2.89 % pour le Tazobactam. Celles observées dans les groupes témoins étaient comprises entre - 1.94 et 1.33 % pour le Ceftolozane et entre - 11.74 et - 5.14 % pour le Tazobactam. Aucune différence significative n'a été mise en évidence parmi les différentes tranches horaires par rapport aux témoins à l'aide du test de Dunnett (valeur critique $d_{0.05}(3,40) = 2.44$). Les résultats sont présentés Tableau 7 et 8.

Groupe	Tranche horaire	Pente (SE)	Test de Dunnett	Variation sur 8h (%)
Ceftolozane BC	T0-T8	- 0.133 (0.309)	0.391	- 4.28
	T8-T16	- 0.144 (0.414)	0.433	- 2.63
	T16-T24	- 0.345 (0.646)	0.773	- 4.00
	Témoin	- 0.0627 (0.120)	/	- 1.94
Ceftolozane HC	T0-T8	- 0.454 (0.478)	1.146	- 5.73
	T8-T16	- 0.600 (0.675)	1.147	- 3.99
	T16-T24	0.274 (0.869)	0.260	1.26
	Témoin	0.168 (0.298)	/	1.33

Tableau 7 : Variations de concentrations en Ceftolozane observées avec le modèle ex vivo
BC et HC : basse et haute concentration ; SE : erreur standard

Groupe	Tranche horaire	Pente (SD)	Test de Dunnett	Variation sur 8h (%)
Tazobactam BC	T0-T8	- 0.154 (0.140)	0.019	- 11.20
	T8-T16	- 0.331 (0.190)	0.524	- 12.95
	T16-T24	- 0.282 (0.318)	0.441	- 7.51
	Témoin	- 0.157 (0.020)	/	- 11.74
Tazobactam HC	T0-T8	- 0.0919 (0.132)	1.295	- 2.89
	T8-T16	- 0.423 (0.156)	0.340	- 6.75
	T16-T24	- 0.909 (0.247)	0.693	- 9.72
	Témoin	- 0.275 (0.107)	/	- 5.14

Tableau 8 : Variations de concentrations en Tazobactam observées avec le modèle ex vivo
BC et HC : basse et haute concentration ; SE : erreur standard

3. Expérimentations sur le modèle in vivo

Pour le Tazobactam, sur les 96 prélèvements pour 6 cochons, 71 concentrations ont été déterminées et 25 concentrations ont été associées à une censure car 20 concentrations étaient inférieures à la limite de quantification (0.1 mg/L) et 5 concentrations d'une même cinétique étaient incohérentes (concentrations constantes autour de 0.4 mg/L sur les cinq dernières heures de la cinétique). Après la vérification analytique, l'hypothèse envisagée est une souillure de la voie centrale utilisée lors des prélèvements. Quarante-seize concentrations

de Cefotolozane ont été obtenues pour l'ensemble des 6 cochons. D'après la représentation semi-logarithmique des concentrations en fonction du temps (Figure 25), nous avons jugé que ces profils pouvaient être décrits par un modèle monocompartimental pour le Cefotolozane et un modèle bicompartimental pour le Tazobactam.

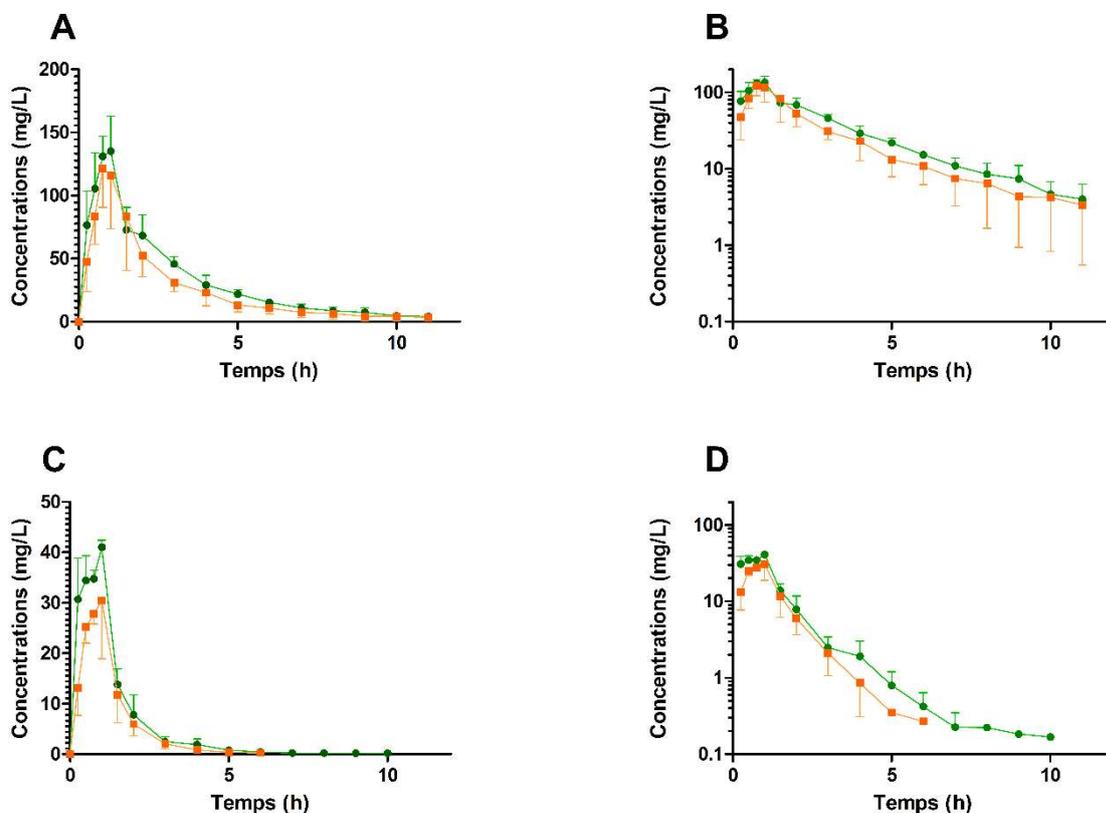


Figure 25 : Profils cinétiques moyens (\pm écart-type) obtenus avec le modèle in vivo pour le Cefotolozane (échelle décimale (A) et logarithmique (B)) et le Tazobactam (échelle décimale (C) et logarithmique (D)) dans le groupe ECMO (vert) et le groupe contrôle (orange)

3.1. Approche non compartimentale

L'approche de pharmacocinétique non compartimentale a permis de déterminer pour le Cefotolozane et le Tazobactam les paramètres pharmacocinétiques individuels. Leur moyenne et coefficient de variation sont mentionnés dans le Tableau 9.

Paramètre	Ceftolozane 2000 mg		Tazobactam 1000 mg	
	ECMO	Control	ECMO	Control
ASC (mg/h/l)	375.3 (14.6)	308.6 (34.9)	58.8 (10.7)	42.8 (20.5)
V_z (l)	20.85 (39.9)	31.31 (48.5)	34.93 (44.2)	29.35 (23.6)
V_{ss} (l)	15.33 (33.0)	19.09 (44.9)	13.88 (30.7)	16.99 (16.8)
Cl (l/h)	5.41 (15.7)	6.99 (32.0)	17.13 (10.7)	24.98 (19.1)
$T_{1/2}$ (h)	2.64 (32.0)	3.18 (40.1)	1.40 (42.9)	0.89 (40.5)

Tableau 9 : Moyenne (coefficient de variation) des paramètres pharmacocinétiques individuels déterminés par approche non compartimentale; ASC : Aire Sous Courbe, V_z : Volume de distribution calculé à l'état de pseudo-équilibre, V_{ss} : Volume de distribution à l'état d'équilibre, Cl : Clairance d'élimination, $T_{1/2}$: demi-vie

3.2. Approche de modélisation non linéaire à effets mixtes

Pour le Ceftolozane, le modèle retenu a été un modèle bicompartmental avec un modèle d'erreur proportionnelle. Le modèle bicompartmental, comparé au modèle monocompartmental, a été retenu car la représentation des observations (concentrations mesurées) en fonction des prédictions de population et individuelles montrait une meilleure répartition des points autour de la droite d'identité ($y=a.x$), témoin d'un modèle de structure plus approprié pour décrire les profils de concentrations mesurées (Figure 26).

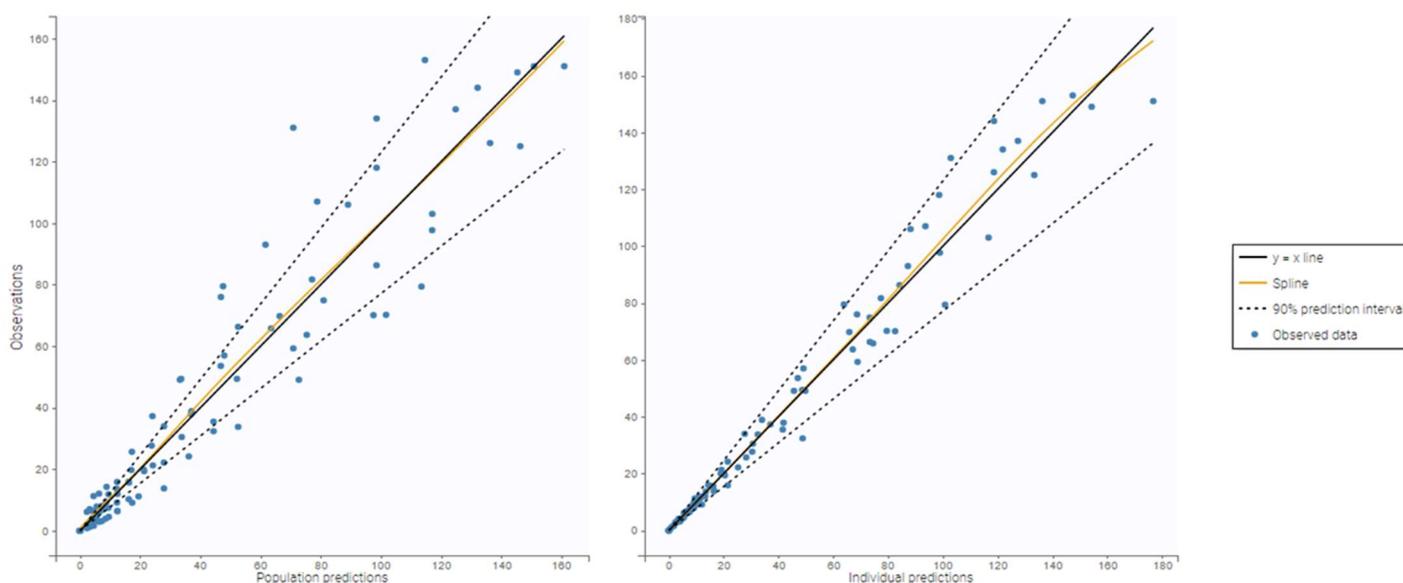


Figure 26 : Concentrations observées de Ceftolozane en fonction des concentrations prédites avec les paramètres de population (à gauche) et avec les paramètres individuels (à droite) du modèle bicompartmental. Tendence représentée par une spline d'interpolation (en jaune)

Un modèle d'erreur proportionnelle a été retenu car la représentation des résidus pondérés en fonction du temps post-administration et en fonction des concentrations prédites montrait une répartition homogène des points autour de zéro (Figure 27). En outre, dans le modèle d'erreur combinée, la part additive était négligeable ($2,22 \cdot 10^{-16}$).

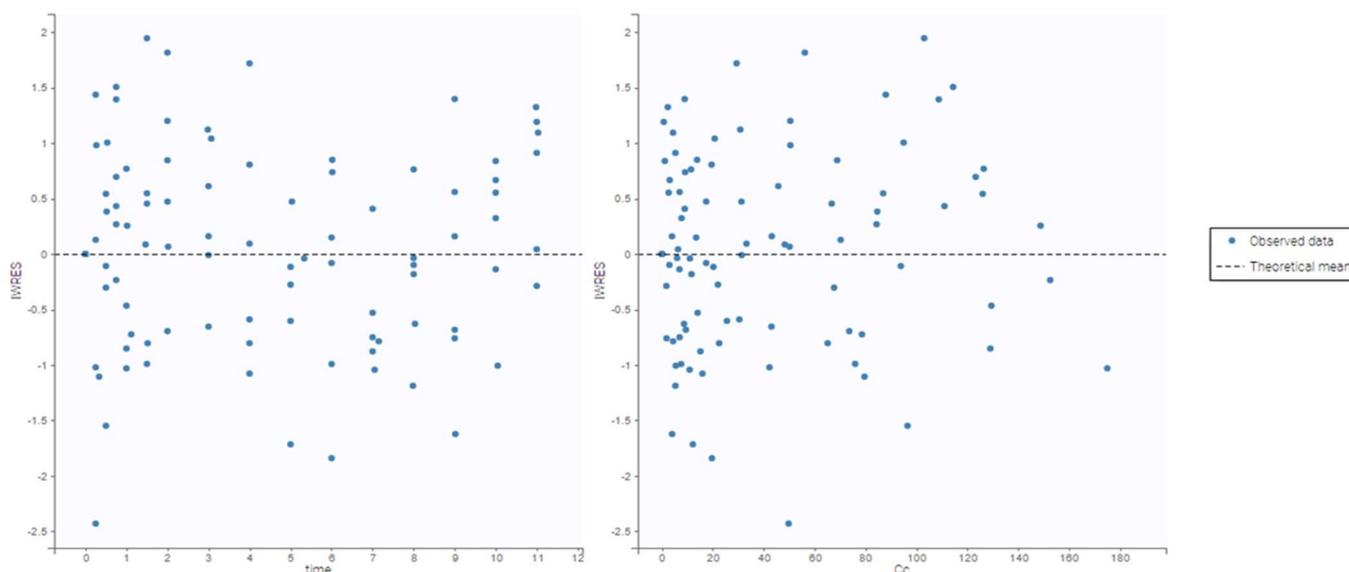


Figure 27 : Graphiques des résidus pondérés individuels en fonction du temps post-administration et en fonction des concentrations prédites de Cefotolozane

Le choix d'un modèle bicompartimental avec une erreur proportionnelle par rapport à un modèle monocompartimental avec une erreur combinée a été confirmé par les valeurs de vraisemblance (111.20 vs. 249.75), d'AIC (129.20 vs. 261.75) et de BIC (127.32 vs. 260.51).

Les paramètres de population estimés avec le modèle retenu sont indiqués dans le Tableau 10. La variabilité inter-individuelle du volume central et de la clairance inter-compartimentale étant supérieure à 30% (seuil habituellement appliqué), nous avons dans un premier temps cherché à expliquer ces valeurs à l'aide des covariables renseignées (i.e. sexe et ECMO). D'après la distribution des paramètres pharmacocinétiques individuels en fonction des covariables potentielles (boîte à moustaches ; Annexe 1) et l'analyse de variance des paramètres pharmacocinétiques individuels pour les facteurs sexe et ECMO ($p=0.028$), seul le sexe a été testé comme covariable du volume central. Une diminution de la vraisemblance (100.18 vs 111.2), de l'AIC (120.18 vs.129.2), du BIC (118.1 vs. 127.32) et de la variabilité inter-individuelle (2.48 % vs 59 %) par rapport aux résultats obtenus avec le modèle sans covariable (modèle null), ainsi qu'un test de Wald significatif ($p=0.00439$) ont conduit à retenir cette covariable (Tableau 10). Ainsi, le volume central peut être décrit selon l'équation ci-après :

$$V_1 = V_{1pop} * e^{\beta_{SEX} * SEX} * e^{\eta_{V_1}} \quad (31)$$

avec V_{1pop} la valeur médiane estimée du paramètre de population, β_{SEX} l'effet fixe estimé de la covariable SEX, SEX la covariable sexe égale à 1 pour les mâles et à 0 pour les femelles, η_{V_1} la variabilité inter-individuelle de V_1

Contrairement à nos attentes, l'ECMO n'a pas été identifiée comme une covariable explicative de la variabilité inter-individuelle pour aucun des paramètres pharmacocinétiques.

Paramètre		Moyenne	RSE (%)
Effets fixes	Cl (l/h)	6.13	9.83
	V ₁ (l)	5.67	29.1
	Q (l/h)	9.07	32.8
	V ₂ (l)	9.75	13.9
Variabilité inter individuelle (%)	Cl	23.7	30.3
	V ₁	59	42.9
	Q	60.4	35.3
	V ₂	23.5	48.6
Variabilité résiduelle (%)		13.7	8.71

Paramètre		Moyenne	RSE (%)
Effets fixes	Cl (l/h)	6.15	9.83
	V ₁ (l)	3.41	36.9
	β_{sex/V_1}	0.998	35.1
	Q (l/h)	9.66	36.1
	V ₂ (l)	9.92	15.2
Variabilité inter individuelle (%)	Cl	23.5	31.4
	V ₁	2.48	119
	Q	68.7	36.8
	V ₂	26.6	38.3
Variabilité résiduelle (%)		13.9	8.77

Tableau 10 : Paramètres de population estimés (médiane, variabilité inter-individuelle et résiduelle) à partir du modèle du Cefotolozane sans (à gauche) et avec (à droite) covariable

La validation du modèle a été complétée par la réalisation de VPCs en fonction du sexe (covariable retenue). En effet, pour chaque instant de prélèvement, 5% des concentrations mesurées se situent respectivement en-dessous et au-dessus des 5^{ème} et 95^{ème} percentiles des concentrations simulées, suggérant un modèle adapté aux profils cinétiques mesurés (Figure 28).

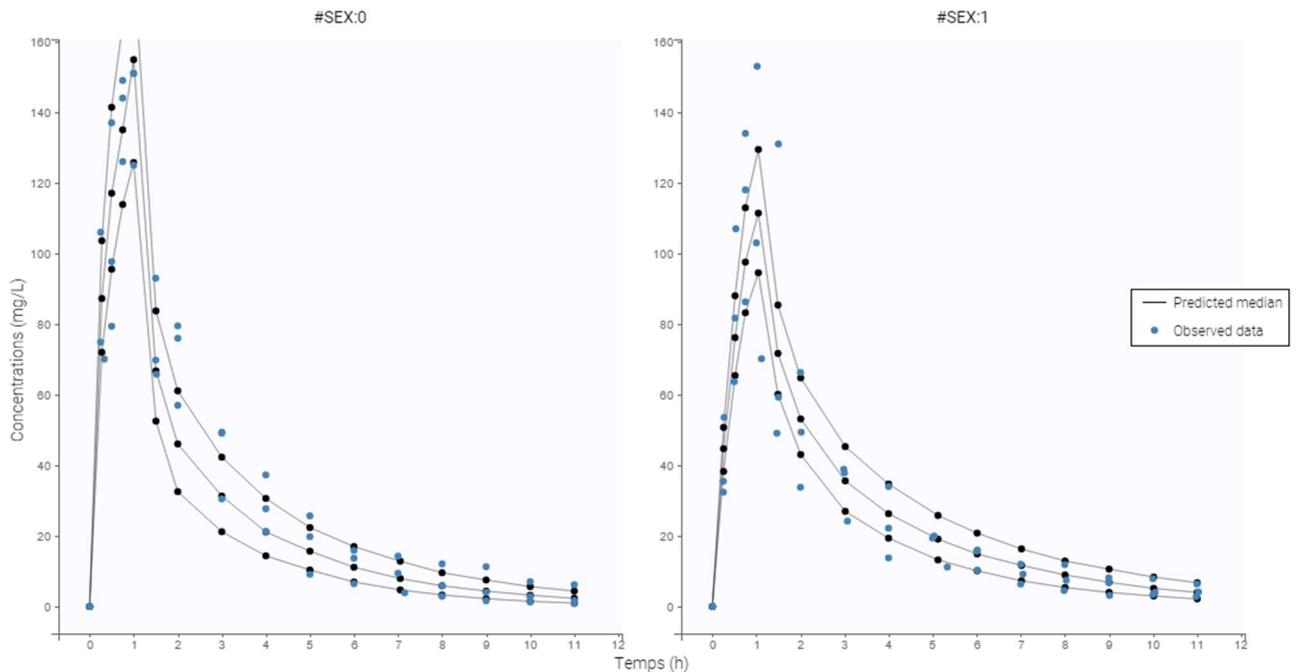


Figure 28 : Représentation des 5^{ème}, 50^{ème} et 95^{ème} percentiles des concentrations simulées à partir du modèle du Cefotolozane pour chaque instant de prélèvement (VPCs ; points noirs et courbes grises) et concentrations observées (points bleus)

Pour le Tazobactam, le modèle retenu a également été un modèle bicompartimental avec un modèle d'erreur proportionnelle. Le modèle bicompartimental, comparé au modèle monocompartimental, a été retenu car la représentation des observations (concentrations mesurées) en fonction des prédictions de population et individuelles montrait une meilleure répartition des points autour de la droite d'identité, témoin d'un modèle de structure plus adapté (Figure 29).

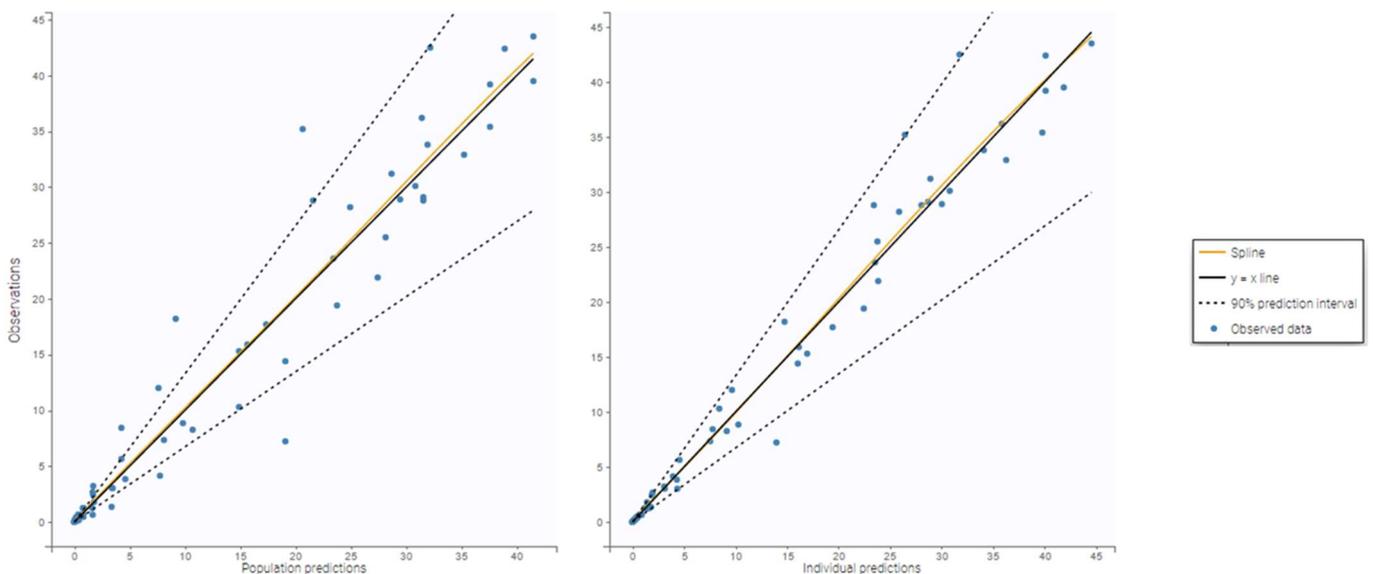


Figure 29 : Concentrations observées de Tazobactam en fonction des concentrations prédites avec les paramètres de population et avec les paramètres individuels du modèle bicompartimental

Comme pour le Cefotolozane, un modèle d'erreur proportionnel a été retenu car la représentation des résidus pondérés en fonction du temps post-administration et en fonction des observations (concentrations mesurées) montrait une répartition homogène des points autour de zéro (Figure 30). Deux points présentaient des résidus supérieurs à 3 écarts-types. Ces deux points correspondent à des concentrations censurées dont la valeur estimée est très faible. En outre, dans le modèle d'erreur combiné, la part additive était suffisamment faible pour être négligée comme pour le Cefotolozane.

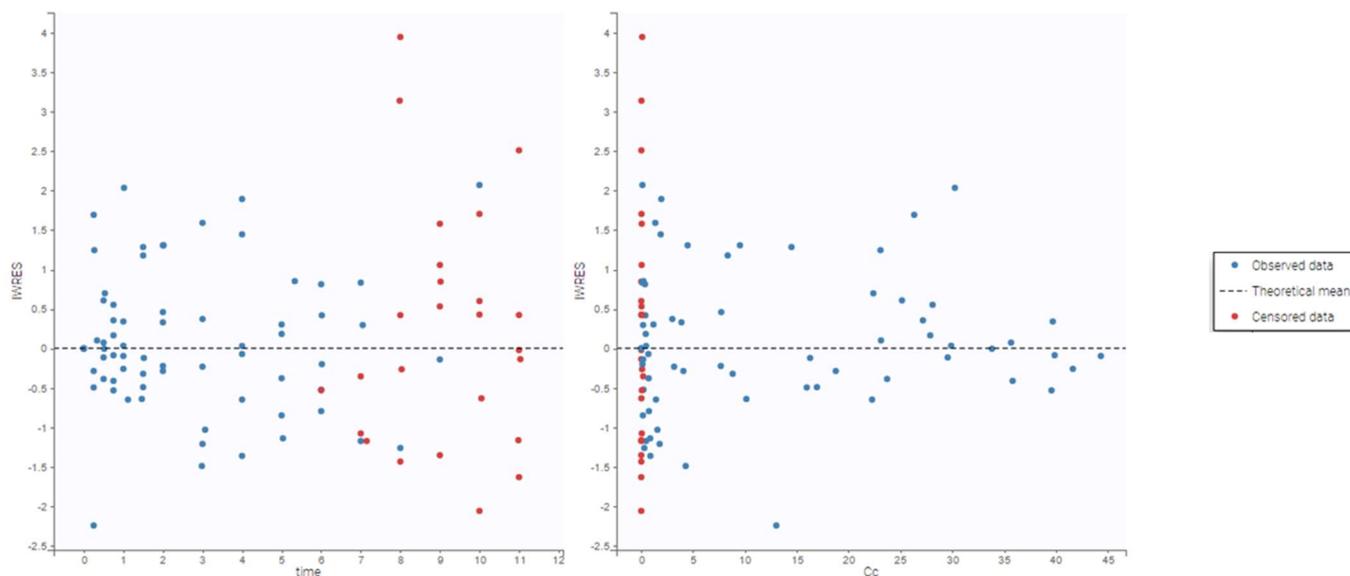


Figure 30 : Graphiques des résidus pondérés individuels en fonction du temps post-administration et en fonction des concentrations prédites de Tazobactam

Le choix d'un modèle bicompartimental avec une erreur proportionnelle par rapport à un modèle monocompartimental avec une erreur combinée a été confirmé par les valeurs de vraisemblance (- 204.88 vs. - 63.44), d'AIC (- 186.88 vs. - 53.44) et de BIC (- 188.76 vs. - 54.48).

Les paramètres de population estimés avec le modèle retenu sont indiqués dans le Tableau 11. Seule la variabilité inter-individuelle de la clairance inter-compartmentale était supérieure à 30%. Cependant, ni le sexe ni l'ECMO n'ont été retenues *in fine* comme covariables explicatives (Annexe 2).

Malgré une variabilité inter-individuelle inférieure à 30% pour les autres paramètres pharmacocinétiques, l'ECMO a été testé comme covariable pour chacun d'entre eux. L'ECMO s'est révélée être une covariable explicative de la clairance d'élimination. En effet, la prise en compte de cette covariable a conduit à une diminution de la vraisemblance (- 211.02 vs - 204.88), de l'AIC (- 191.02 vs. - 186.88), du BIC (- 193.10 vs - 188.76) et de la variabilité inter-individuelle de la clairance d'élimination (11.3% vs 19 %) par rapport au

modèle sans covariable, ainsi qu'à un test de Wald significatif ($p = 0.00449$). Ainsi, la clairance d'élimination peut être décrite selon l'équation suivante :

$$Cl = Cl_{pop} * e^{\beta_{ECMO} * ECMO} * e^{\eta_{Cl}} \quad (32)$$

avec Cl_{pop} la valeur médiane estimée du paramètre de population, β_{ECMO} l'effet fixe estimé de la covariable ECMO, ECMO la covariable égale à 1 pour les cochons sous ECMO et à 0 pour les cochons témoins, η_{Cl} la variabilité inter-individuelle de Cl

Paramètre		Moyenne	RSE (%)
Effets fixes	Cl (l/h)	20.9	8.25
	V ₁ (l)	8.6	14.7
	Q (l/h)	7.62	24
	V ₂ (l)	6.57	12.9
Variabilité inter individuelle (%)	Cl	19	32
	V ₁	29.3	38.1
	Q	33.6	39.6
	V ₂	16.6	49.5
Variabilité résiduelle (%)		20.0	11.4

Paramètre		Moyenne	RSE (%)
Effets fixes	Cl (l/h)	24.2	7.86
	$\beta_{ECMO/Cl}$	- 0.304	35.2
	V ₁ (l)	8.71	16.6
	Q (l/h)	7.19	26.4
	V ₂ (l)	6.37	14.1
Variabilité inter individuelle (%)	Cl	11.3	44.9
	V ₁	32.4	38.7
	Q	31.9	44.5
	V ₂	V ₂	15.1
Variabilité résiduelle (%)		19.9	10.8

Tableau 11 : Paramètres de population estimés (médiane, variabilité inter-individuelle et résiduelle) à partir du modèle du Tazobactam sans (à gauche) et avec (à droite) covariable

La validation du modèle a été complétée par la réalisation de VPCs en fonction de l'ECMO (covariable retenue). Les VPCs montrent que, pour chaque instant de prélèvement, 5% des concentrations mesurées se situent en-dessous et au-dessus des 5^{ème} et 95^{ème} percentiles respectivement (Figure 31).

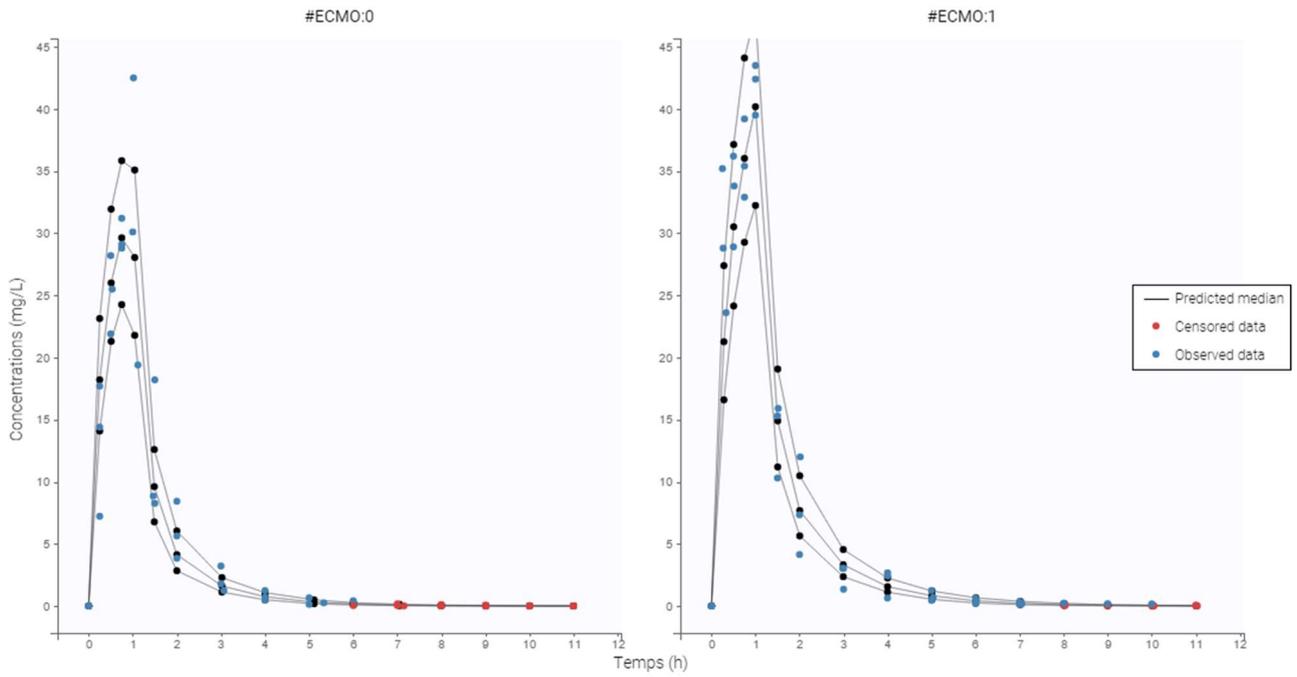


Figure 31 : Représentation des 5^{eme}, 50^{eme} et 95^{eme} percentiles des concentrations simulées à partir du modèle du Tazobactam pour chaque instant de prélèvement (VPCs ; points noirs et courbes grises) et concentrations observées (points bleus) ; les points rouges représentent les concentrations censurées.

DISCUSSION

L'utilisation des antibiotiques chez les patients de Réanimation est habituellement complexe en raison de la variabilité inter-individuelle importante des paramètres pharmacocinétiques chez ces patients.(84) A cela s'ajoute la variabilité liée aux systèmes d'assistance extra-corporelle dont fait partie l'ECMO. Cette variabilité peut avoir des conséquences très importantes en diminuant l'efficacité des traitements.

En raison des résultats de Cies *et al.* rapportant une perte importante de Cefotolozane par adsorption sur le circuit d'ECMO dans un modèle *ex vivo*, ce projet avait comme objectif de documenter l'influence de l'ECMO sur la pharmacocinétique de l'association Cefotolozane/Tazobactam. Dans un premier temps, une approche *ex vivo* a été menée afin de caractériser la perte de Cefotolozane attendue, selon le temps de contact avec le circuit et selon la dose injectée (faible ou forte dose, injections unique ou répétées). De façon complémentaire, une étude pilote *in vivo* a été réalisée sur un modèle porcin avec une analyse pharmacocinétique des données obtenues selon une approche non compartimentale et selon une modélisation non linéaire à effets mixtes.

Les tests sur le modèle *ex vivo* ont montré que les concentrations en Cefotolozane sont stables dans le sang total à 37°C dans le circuit d'ECMO comme dans les tubes en verre témoins. En revanche, les concentrations en Tazobactam baissent sur 8h dans les circuits d'ECMO mais de façon non significativement différente des témoins. Ce résultat est en faveur d'une dégradation du Tazobactam indépendante de l'ECMO. On peut donc déduire de nos résultats que le Cefotolozane/Tazobactam ne se fixe pas sur les circuits d'ECMO, ce qui va à l'encontre des résultats retrouvés dans la littérature.(4)

Dans l'étude précédemment publiée, Cies *et al.* ont testé des circuits pédiatrique et adulte comprenant une pompe péristaltique (Sorin Goup, Liva Nova, Londres, Royaume-Uni), des tubulures en PVC SuperTygon (PVC fait pour l'usage prolongé avec une pompe péristaltique) et comprenant ou non un oxygénateur Quadrox-iD (Maquet, Rastatt, Allemagne). Une perte d'environ 90% du Cefotolozane et de 25% du Tazobactam en 24h a été mise en évidence en présence de l'oxygénateur pour les circuits pédiatrique et adulte. Ces valeurs diminuaient à 25% pour le Cefotolozane et à 25-30% pour le Tazobactam en l'absence d'oxygénateur. Les concentrations en Cefotolozane et en Tazobactam restaient constantes dans les échantillons témoins, ce qui était en faveur d'une dégradation des deux molécules liée à la présence de l'ECMO.

Les deux hypothèses pouvant être avancées pour expliquer la discordance entre nos résultats et les leurs sont, d'une part une différence de valeurs des paramètres mimant la physiologie (pH, température...) appliqués au circuit et, d'autre part une différence de matériaux entrant dans la composition du circuit d'ECMO. Contrairement à la seconde hypothèse, la première semble peu probable dans la mesure où les valeurs des paramètres appliqués dans notre étude ont été très semblables à celles mentionnées par Cies *et al.* (pH entre 7.35 et 7.45; température à 37°C). Concernant la différence entre les circuits utilisés, les éléments du circuit pouvant être impliqués dans un phénomène d'adsorption sont les tubulures et la membrane de l'oxygénateur. Les circuits utilisés dans notre étude étaient intégralement recouverts de phosphorylcholine (P.H.I.S.I.O Coating®), tubulures et oxygénateur inclus. Dans l'étude de Cies *et al.*, la membrane de l'oxygénateur était recouverte d'albumine et d'héparine recombinante (BIOLINE Coating®) et les tubulures étaient sans revêtement. La différence d'adsorption peut donc venir de la différence de nature du revêtement de ces éléments.

En outre, les propriétés physico-chimiques du Cefotolozane et du Tazobactam sont en faveur de nos résultats : le caractère hydrophile du Cefotolozane (logP de - 3.2 d'après PubChem) et sa faible liaison aux protéines plasmatiques (20%) n'en fait pas un bon candidat à l'adsorption, tout comme le Tazobactam (logP de -2 et liaison aux protéines de 30%). En effet, il a été démontré que les substances lipophiles et/ou à forte liaison aux protéines plasmatiques s'adsorbaient plus fréquemment sur le circuit d'ECMO.(46)

A l'issue de cette première partie, notre conclusion est que l'ECMO n'entraîne pas de perte de Cefotolozane ni de Tazobactam par adsorption sur le circuit. La discordance entre nos résultats et ceux publiés par Cies *et al.* est probablement due à la différence de revêtement de la membrane et des tubulures. Ce point reste à documenter.

Pour l'étude *in vivo*, le modèle porcin a été retenu car le cochon présente de grandes similitudes physiologiques et anatomiques avec l'homme (volume vasculaire, débit cardiaque, diamètre des troncs vasculaires...) le rendant compatible avec les systèmes d'ECMO destinés aux patients adultes d'une part, et permettant de simuler les voies d'élimination empruntées par les médicaments administrés chez les patients d'autre part. Ces similitudes en font un modèle fréquemment utilisé dans les études non cliniques de pharmacocinétique et de toxicologie nécessaires au développement des médicaments.(72,76)

L'analyse non compartimentale des données obtenues avec le modèle *in vivo* a permis de déterminer des paramètres pharmacocinétiques individuels moyens pour le Cefotolozane de

6.20 L/h et 17.21 L pour la clairance d'élimination et le volume de distribution à l'état d'équilibre respectivement, et de 20.56 L/h et 15.44 L pour la clairance d'élimination et le volume de distribution à l'état d'équilibre pour le Tazobactam respectivement. Ces valeurs sont cohérentes avec celles obtenues par la suite avec l'approche de modélisation non linéaire à effets mixtes (Ceftolozane : 6.15 L/h et 15.42 L pour Cl et V_{SS} respectivement ; Tazobactam : 20.9 L/h et 15.08 L pour Cl et V_{SS} respectivement) avec V_{SS} calculé comme la somme des volumes de distribution des compartiments central et périphérique.

Un modèle bicompartimental a été retenu pour les deux substances. Le choix de ce modèle de structure avait déjà été fait par Motos *et al.* lors de l'étude du Ceftolozane administré à la dose de 30 mg/kg chez des porcs de 30 kg.(90) La particularité de ce modèle est que les auteurs ont arbitrairement identifié le compartiment périphérique comme étant le compartiment pulmonaire. Il est par conséquent impossible de comparer les valeurs des paramètres pharmacocinétiques obtenues dans leur étude et celles obtenues dans la nôtre. Une autre étude pharmacocinétique sur le Ceftolozane a été conduite chez le cochon de 30 kg avec une analyse non compartimentale.(91) Les valeurs moyennes des paramètres pharmacocinétiques individuels rapportées sont 3.83 L/h pour la clairance d'élimination, 11.2 L pour le volume de distribution calculé et 204.8 mg.h/L pour l'exposition (ASC) pour une dose de 30 mg/kg équivalente à celle administrée dans notre étude. Ces valeurs sont plus faibles que celles retrouvées dans le groupe témoin de notre étude lors de l'analyse non compartimentale (6.99 L/h, 31.31 L et 308.6 mg.h/L pour la clairance d'élimination, le volume de distribution calculé et l'ASC, respectivement). Cette différence de valeurs peut être due à la différence d'âge des cochons: un cochon atteint un poids de 30 kg vers l'âge de 2 mois et un poids de 70 kg vers l'âge de 4 mois.(92) Dans les deux cas, le cochon n'a pas atteint l'âge adulte et est en pleine croissance. On peut s'attendre à retrouver une variation des paramètres pharmacocinétiques au cours de la croissance du cochon comme cela est le cas dans la population humaine pédiatrique.(93)

Chez l'homme, les modèles de pharmacocinétique de population publiés pour le Ceftolozane et le Tazobactam sont également des modèles bicompartimentaux.(85,94) Les valeurs de clairance retrouvées dans notre étude sont en adéquation avec celles publiées (6.15 vs 4.84 et 6.3 L/h pour le Ceftolozane et 20.9 vs 16.4 et 24.5 L/h pour le Tazobactam). Ceci nous conforte dans l'idée que le cochon est un bon modèle pour décrire les voies d'élimination de ces substances chez l'homme. En revanche, les valeurs de volume central sont plus faibles que celles de la littérature (5.7 vs 11.3 et 10.3 L pour le Ceftolozane ; 8.7 vs 14.2 et 15 L pour le Tazobactam) et les valeurs de clairance inter-compartimentale (9.66 vs 1.19 et 3.39 L/h pour le Ceftolozane ; 7.19 vs 3.13 et 3.91 L/h pour le Tazobactam) et de

volume périphérique plus élevées (V_2 , 9.92 vs 2.88 et 3.76 L pour le Ceftolozane ; 6.37 vs 4.29 et 4.42 L pour le Tazobactam). Ceci peut provenir de différences inter-espèces concernant le rapport tissu gras/tissu maigre. Toutefois, si les volumes de distribution V_1 et V_2 sont discordants entre les modèles humains et porcins, les volumes de distribution à l'équilibre (V_1+V_2) sont similaires (15.36 vs. 14.18 et 14.06 L pour le Ceftolozane ; 15.07 vs. 18.49 et 19.42 L pour le Tazobactam).

D'après nos résultats, l'ECMO entraîne une diminution de la clairance d'élimination du Tazobactam (17.13 vs. 24.98 L/h) d'après l'approche de modélisation, et de celle du Ceftolozane (5.41 vs. 6.99 L/h) d'après l'analyse non compartimentale. Ces deux molécules étant majoritairement éliminées par le rein (>95% pour le Ceftolozane et > 80% pour le Tazobactam), cette diminution de clairance totale suggère une diminution de clairance rénale. Trois mécanismes contrôlent la clairance rénale Cl_R : le débit de filtration glomérulaire (DFG), le phénomène de sécrétion Cl_{sec} impliquant un(des) transporteur(s) présent(s) au niveau du tubule contourné proximal et le phénomène de réabsorption $Cl_{réab}$ par diffusion passive au niveau du tubule contourné distal :

$$Cl_R = Cl_{FG} + Cl_{sec} - Cl_{réab} \quad (33) \quad \text{avec} \quad Cl_{FG} = f_u * DFG \quad (34)$$

avec Cl_{FG} la clairance de filtration glomérulaire, f_u la fraction libre et DFG le débit de filtration glomérulaire

En cas de modification du débit sanguin rénal, le débit de filtration glomérulaire est alors modifié.(95) Or, lors de l'utilisation de l'ECMO VA, le débit sanguin rénal devient continu alors qu'il est physiologiquement pulsatile.(56) Bien que nous n'ayons pas eu la possibilité de le démontrer dans notre étude, il est fort probable que l'effet de l'ECMO touche principalement le DFG sans effet sur la sécrétion ni la réabsorption tubulaires. En effet, les mécanismes de sécrétion rénale sont peu variables en l'absence de co-prescriptions ou d'accumulation de produits endogènes. Une accumulation de substances endogènes sous ECMO serait alors une conséquence de la diminution du DFG, ce qui conforte notre hypothèse. La réabsorption tubulaire, quant à elle, est fonction des caractéristiques physico-chimiques des molécules. Le Ceftolozane est sous forme non ionisée pour les pH allant de 2.49 à 9.11 ; cela englobe les valeurs de pH urinaire physiologiques (entre 4.5 et 7.5). En cas de variation importante du pH urinaire due à l'ECMO, on s'attendrait à une diminution de la réabsorption plutôt qu'à une augmentation comme cela pourrait être le cas d'après les résultats de notre étude. Concernant le Tazobactam, cette substance porte une charge négative pour un pH supérieur à 2.86. Or la réabsorption n'intervient que pour les molécules sous forme non chargée suggérant que ce phénomène est donc négligeable pour le Tazobactam.

Pour le volume de distribution du Cefotolozane et du Tazobactam, le volume de distribution semble plus faible en cas d'utilisation de l'ECMO. Cela va à l'encontre de ce qui a été publié et de ce qui était attendu.(3) En effet, le circuit d'ECMO entraîne une augmentation du volume vasculaire (environ 0.5 L avec le type de circuit utilisé dans notre étude), ce qui devrait conduire à une augmentation du volume de distribution tout particulièrement pour les substances hydrophiles telles que le Cefotolozane et le Tazobactam.(3) Cependant, la plupart des études ayant évalué l'influence de l'ECMO sur la pharmacocinétique des médicaments ont été menées en néonatalogie, population pour laquelle les paramètres pharmacocinétiques peuvent être très différents de la population adulte.(3) Par conséquent, la comparaison de nos résultats aux données publiées doit être réalisée avec prudence.

Le sexe, quant à lui, s'est révélé avoir un effet sur le volume de distribution du Cefotolozane : les mâles présentent un volume de distribution du compartiment central plus important (9.25 L) que les femelles (3.41 L). Cette différence de volume de distribution n'a jamais été décrite chez le cochon et cette différence reste sans explication.

A l'issue de cette deuxième partie, notre conclusion est que l'ECMO diminue la clairance d'élimination du Tazobactam. Un effet similaire a été retrouvé pour le Cefotolozane sans qu'il soit possible de conclure sur sa significativité. Si ce résultat est retrouvé en clinique humaine, cela signifie que l'ECMO ne remet pas en cause l'efficacité attendue du Cefotolozane chez les patients de Réanimation. La diminution de clairance conduirait alors à une légère surexposition en Cefotolozane et Tazobactam probablement sans conséquences cliniques en termes d'effets indésirables.

CONCLUSION

Ce travail avait pour objectif de documenter l'influence de l'ECMO sur la pharmacocinétique de l'association Cefotolozane/Tazobactam en raison des résultats alarmants rapportés par Cies *et al.* avec, dans un premier temps, une étude *ex vivo* et, dans un deuxième temps, une étude pilote *in vivo* sur un modèle porcin.

Aucun phénomène d'absorption significatif sur le circuit d'ECMO n'a été mis en évidence avec le modèle *ex vivo* pour aucune des deux molécules. L'analyse des résultats du modèle *in vivo* par approche non compartimentale et complété par une approche de modélisation non linéaire à effets mixtes, a permis d'observer une variation des paramètres pharmacocinétiques chez les cochons sous ECMO avec une diminution de la clairance d'élimination, en particulier du Tazobactam. Ces résultats préliminaires sont rassurants quant à l'exposition en Cefotolozane et en Tazobactam chez le patient de Réanimation sous ECMO.

Ce travail a permis de mettre en évidence l'importance de la nature des circuits, matériaux et revêtements, sur l'adsorption des médicaments. Ce constat a déjà été fait mais sur des circuits plus anciens. Nos résultats prouvent que malgré l'amélioration des circuits en termes de biocompatibilité, le problème de l'adsorption persiste toujours. Il serait intéressant de répéter les expérimentations *ex vivo* avec des circuits ayant des revêtements différents du nôtre, et pour des molécules différentes, afin de comparer les résultats.

Le modèle *in vivo* pourra être amélioré afin de se rapprocher de la réalité clinique en travaillant sur un modèle porcin en état de choc cardiogénique nécessitant une assistance par ECMO. Ainsi, la pharmacocinétique observée sera le reflet des variations observées chez les individus en état critique et sur laquelle pourra être étudiée l'influence de l'ECMO.

Malgré les résultats rassurants obtenus dans notre étude, il reste nécessaire de confirmer ces résultats au niveau clinique en réalisant un suivi thérapeutique pharmacologique rapproché pour les patients sous ECMO traités par l'association Cefotolozane/Tazobactam.

BIBLIOGRAPHIE

1. Combes A, Leprince P, Luyt C-E, Trouillet J-L, Chastre J. Assistance cardiorespiratoire par extracorporeale membrane oxygenation (ECMO). *Réanimation*. juill 2009;18(5):420-7.
2. Abrams D, Combes A, Brodie D. Extracorporeal membrane oxygenation in cardiopulmonary disease in adults. *J Am Coll Cardiol*. 1 juill 2014;63(25 Pt A):2769-78.
3. Sherwin J, Heath T, Watt K. Pharmacokinetics and Dosing of Anti-infective Drugs in Patients on Extracorporeal Membrane Oxygenation: A Review of the Current Literature. *Clin Ther*. sept 2016;38(9):1976-94.
4. Cies JJ, Moore WS, Giliam N, Low T, Enache A, Chopra A. Oxygenator Impact on Ceftolozane and Tazobactam in Extracorporeal Membrane Oxygenation Circuits: *Pediatr Crit Care Med*. nov 2019;1.
5. Arena F, Marchetti L, De Angelis LH, Maglioni E, Contorni M, Cassetta MI, et al. Ceftolozane-tazobactam pharmacokinetics during extracorporeal membrane oxygenation in a lung transplant recipient. *Antimicrob Agents Chemother*. 14 janv 2019;
6. Groupe des Enseignants de Pharmacocinétique (GEPK) coordonnée par E. Chatelut. *La pharmacocinétique : Les fondamentaux*. Edimark. Paris; 2018. 408 p.
7. Toutain PL, Bousquet-Melou A. Volumes of distribution. *J Vet Pharmacol Ther*. déc 2004;27(6):441-53.
8. Reichman RT, Joyo CI, Dembitsky WP, Griffith LD, Adamson RM, Daily PO, et al. Improved patient survival after cardiac arrest using a cardiopulmonary support system. *Ann Thorac Surg*. janv 1990;49(1):101-4; discussion 104-105.
9. Bartlett RH. Esperanza: The First Neonatal ECMO Patient. *ASAIO J Am Soc Artif Intern Organs* 1992. déc 2017;63(6):832-43.
10. Bartlett RH. 2002 Radvin lecture in basic science. Artificial organs: basic science meets critical care. *J Am Coll Surg*. févr 2003;196(2):171-9.
11. Bartlett RH, Gazzaniga AB, Jefferies MR, Huxtable RF, Haiduc NJ, Fong SW. Extracorporeal membrane oxygenation (ECMO) cardiopulmonary support in infancy. *Trans - Am Soc Artif Intern Organs*. 1976;22:80-93.
12. Bartlett RH, Andrews AF, Toomasian JM, Haiduc NJ, Gazzaniga AB. Extracorporeal membrane oxygenation for newborn respiratory failure: forty-five cases. *Surgery*. août 1982;92(2):425-33.
13. Zapol WM, Snider MT, Hill JD, Fallat RJ, Bartlett RH, Edmunds LH, et al. Extracorporeal membrane oxygenation in severe acute respiratory failure. A randomized prospective study. *JAMA*. 16 nov 1979;242(20):2193-6.
14. Fortenberry J, Lorusso R. The history and development of extracorporeal support. In: Brogan T, Lequier L, Lorusso R, MacLaren G, Peek G, éditeurs. *Extracorporeal life*

- support: the ELSO Red Book 5th ed. Ann Arbor, MI: Extracorporeal Life Support Organization; 2017. p. 1–15.
15. Mosier JM, Kelsey M, Raz Y, Gunnerson KJ, Meyer R, Hypes CD, et al. Extracorporeal membrane oxygenation (ECMO) for critically ill adults in the emergency department: history, current applications, and future directions. *Crit Care*. déc 2015;19(1):431.
 16. Peek GJ, Mugford M, Tiruvoipati R, Wilson A, Allen E, Thalanany MM, et al. Efficacy and economic assessment of conventional ventilatory support versus extracorporeal membrane oxygenation for severe adult respiratory failure (CESAR): a multicentre randomised controlled trial. *Lancet Lond Engl*. 17 oct 2009;374(9698):1351-63.
 17. Zangrillo A, Biondi-Zoccai G, Landoni G, Frati G, Patroniti N, Pesenti A, et al. Extracorporeal membrane oxygenation (ECMO) in patients with H1N1 influenza infection: a systematic review and meta-analysis including 8 studies and 266 patients receiving ECMO. *Crit Care Lond Engl*. 13 févr 2013;17(1):R30.
 18. Thiagarajan RR, Barbaro RP, Rycus PT, McMullan DM, Conrad SA, Fortenberry JD, et al. Extracorporeal Life Support Organization Registry International Report 2016: ASAIO J. 2017;63(1):60-7.
 19. Chen J-S, Ko W-J, Yu H-Y, Lai L-P, Huang S-C, Chi N-H, et al. Analysis of the outcome for patients experiencing myocardial infarction and cardiopulmonary resuscitation refractory to conventional therapies necessitating extracorporeal life support rescue. *Crit Care Med*. avr 2006;34(4):950-7.
 20. Feldman AM, McNamara D. Myocarditis. *N Engl J Med*. 9 nov 2000;343(19):1388-98.
 21. Pozzi M, Banfi C, Grinberg D, Koffel C, Bendjelid K, Robin J, et al. Veno-arterial extracorporeal membrane oxygenation for cardiogenic shock due to myocarditis in adult patients. *J Thorac Dis*. juill 2016;8(7):E495-502.
 22. Mégarbane B, Deye N, Baud FJ. Assistance circulatoire périphérique au cours des intoxications aiguës par cardiotropes. *Réanimation*. juill 2009;18(5):428-38.
 23. Holzer M, Sterz F, Schoerhuber W, Behringer W, Domanovits H, Weinmar D, et al. Successful resuscitation of a verapamil-intoxicated patient with percutaneous cardiopulmonary bypass. *Crit Care Med*. déc 1999;27(12):2818-23.
 24. Goodwin DA, Lally KP, Null DM. Extracorporeal membrane oxygenation support for cardiac dysfunction from tricyclic antidepressant overdose. *Crit Care Med*. avr 1993;21(4):625-7.
 25. Kittleson MM, Patel JK, Moriguchi JD, Kawano M, Davis S, Hage A, et al. Heart transplant recipients supported with extracorporeal membrane oxygenation: outcomes from a single-center experience. *J Heart Lung Transplant Off Publ Int Soc Heart Transplant*. nov 2011;30(11):1250-6.
 26. Combes A, Hajage D, Capellier G, Demoule A, Lavoué S, Guervilly C, et al. Extracorporeal Membrane Oxygenation for Severe Acute Respiratory Distress Syndrome. *N Engl J Med*. 24 mai 2018;378(21):1965-75.
 27. Toomasian JM, Lawson S, Harris W. The circuit. In: Brogan T, Lequier L, Lorusso R, MacLaren G, Peek G, éditeurs. Extracorporeal life support: the ELSO Red Book 5th ed. Ann Arbor, MI: Extracorporeal Life Support Organization; 2017. p. 1–15.

28. Lequier L, Horton SB, McMullan DM, Bartlett RH. Extracorporeal Membrane Oxygenation Circuitry: *Pediatr Crit Care Med*. juin 2013;14:S7-12.
29. Byrnes J, McKamie W, Swearingen C, Prodhan P, Bhutta A, Jaquiss R, et al. Hemolysis during cardiac extracorporeal membrane oxygenation: a case-control comparison of roller pumps and centrifugal pumps in a pediatric population. *ASAIO J Am Soc Artif Intern Organs* 1992. oct 2011;57(5):456-61.
30. Thiagarajan R. Extracorporeal Membrane Oxygenation in Infants and Children [Internet]. *Thoracic Key*. 2016 [cité 24 févr 2020]. Disponible sur: <https://thoracickey.com/extracorporeal-membrane-oxygenation-in-infants-and-children/>
31. Peek GJ, Firmin RK. The inflammatory and coagulative response to prolonged extracorporeal membrane oxygenation. *ASAIO J Am Soc Artif Intern Organs* 1992. août 1999;45(4):250-63.
32. Millar JE, Fanning JP, McDonald CI, McAuley DF, Fraser JF. The inflammatory response to extracorporeal membrane oxygenation (ECMO): a review of the pathophysiology. *Crit Care*. 28 nov 2016 [cité 19 sept 2019];20.
33. Shekar K, Fraser JF, Smith MT, Roberts JA. Pharmacokinetic changes in patients receiving extracorporeal membrane oxygenation. *J Crit Care*. déc 2012;27(6):741.e9-741.e18.
34. Conrad SA, Broman LM, Taccone FS, Lorusso R, Malfertheiner MV, Pappalardo F, et al. The Extracorporeal Life Support Organization Maastricht Treaty for Nomenclature in Extracorporeal Life Support. A Position Paper of the Extracorporeal Life Support Organization. *Am J Respir Crit Care Med*. 15 août 2018;198(4):447-51.
35. Amour J, Léger P. Assistance temporaire par ECMO: ce que doit savoir tout anesthésiste- réanimateur. *Congrès SFAR*. 2015;27.
36. Dagan O, Klein J, Gruenwald C, Bohn D, Barker G, Koren G. Preliminary studies of the effects of extracorporeal membrane oxygenator on the disposition of common pediatric drugs. *Ther Drug Monit*. août 1993;15(4):263-6.
37. Koren G, Crean P, Klein J, Goresky G, Villamater J, MacLeod SM. Sequestration of fentanyl by the cardiopulmonary bypass (CPBP). *Eur J Clin Pharmacol*. 1984;27(1):51-6.
38. Buck ML. Pharmacokinetic Changes During Extracorporeal Membrane Oxygenation: Implications for Drug Therapy of Neonates. *Clin Pharmacokinet*. 2003;42(5):403-17.
39. Harthan AA, Buckley KW, Heger ML, Fortuna RS, Mays K. Medication Adsorption into Contemporary Extracorporeal Membrane Oxygenator Circuits. 2014;19(4):8.
40. Preston TJ, Hodge AB, Riley JB, Leib-Sargel C, Nicol KK. In vitro drug adsorption and plasma free hemoglobin levels associated with hollow fiber oxygenators in the extracorporeal life support (ECLS) circuit. *J Extra Corpor Technol*. déc 2007;39(4):234-7.
41. Preston TJ, Ratliff TM, Gomez D, Olshove VE, Nicol KK, Sargel CL, et al. Modified surface coatings and their effect on drug adsorption within the extracorporeal life support circuit. *J Extra Corpor Technol*. sept 2010;42(3):199-202.

42. Lemaitre F, Hasni N, Leprince P, Corvol E, Belhabib G, Fillâtre P, et al. Propofol, midazolam, vancomycin and cyclosporine therapeutic drug monitoring in extracorporeal membrane oxygenation circuits primed with whole human blood. *Crit Care*. 2015;19(1):40.
43. Shekar K, Roberts JA, McDonald CI, Fisquet S, Barnett AG, Mullany DV, et al. Sequestration of drugs in the circuit may lead to therapeutic failure during extracorporeal membrane oxygenation. *Crit Care*. 2012;16(5):R194.
44. Mehta NM, Halwick DR, Dodson BL, Thompson JE, Arnold JH. Potential drug sequestration during extracorporeal membrane oxygenation: results from an ex vivo experiment. *Intensive Care Med*. 24 mai 2007;33(6):1018-24.
45. Wildschut ED, Ahsman MJ, Allegaert K, Mathot RAA, Tibboel D. Determinants of drug absorption in different ECMO circuits. *Intensive Care Med*. déc 2010;36(12):2109-16.
46. Shekar K, Roberts JA, McDonald CI, Ghassabian S, Anstey C, Wallis SC, et al. Protein-bound drugs are prone to sequestration in the extracorporeal membrane oxygenation circuit: results from an ex vivo study. *Crit Care*. 2015;19(1).
47. Shekar K, Roberts JA, Barnett AG, Diab S, Wallis SC, Fung YL, et al. Can physicochemical properties of antimicrobials be used to predict their pharmacokinetics during extracorporeal membrane oxygenation? Illustrative data from ovine models. *Crit Care*. 2015;19(1).
48. Leven C, Fillâtre P, Petitcollin A, Verdier M-C, Laurent J, Nessler N, et al. Ex Vivo Model to Decipher the Impact of Extracorporeal Membrane Oxygenation on Beta-lactam Degradation Kinetics: *Ther Drug Monit*. avr 2017;39(2):180-4.
49. Bhatt-Meht V, Annich G. Sedative clearance during extracorporeal membrane oxygenation. *Perfusion*. oct 2005;20(6):309-15.
50. Bartlett RH. Extracorporeal life support for cardiopulmonary failure. *Curr Probl Surg*. oct 1990;27(10):621-705.
51. Seghaye MC, Grabitz RG, Duchateau J, Busse S, Däbritz S, Koch D, et al. Inflammatory reaction and capillary leak syndrome related to cardiopulmonary bypass in neonates undergoing cardiac operations. *J Thorac Cardiovasc Surg*. sept 1996;112(3):687-97.
52. Anderson HL, Coran AG, Drongowski RA, Ha HJ, Bartlett RH. Extracellular fluid and total body water changes in neonates undergoing extracorporeal membrane oxygenation. *J Pediatr Surg*. août 1992;27(8):1003-7; discussion 1007-1008.
53. Friis-Hansen B. Water Distribution in the Foetus and Newborn Infant. *Acta Pædiatrica*. 21 janv 2008;72:7-11.
54. McNamara PJ, Alcorn J. Protein binding predictions in infants. *AAPS PharmSci*. 28 mars 2002;4(1):19-26.
55. Askenazi DJ, Selewski DT, Paden ML, Cooper DS, Bridges BC, Zappitelli M, et al. Renal replacement therapy in critically ill patients receiving extracorporeal membrane oxygenation. *Clin J Am Soc Nephrol*. août 2012;7(8):1328-36.

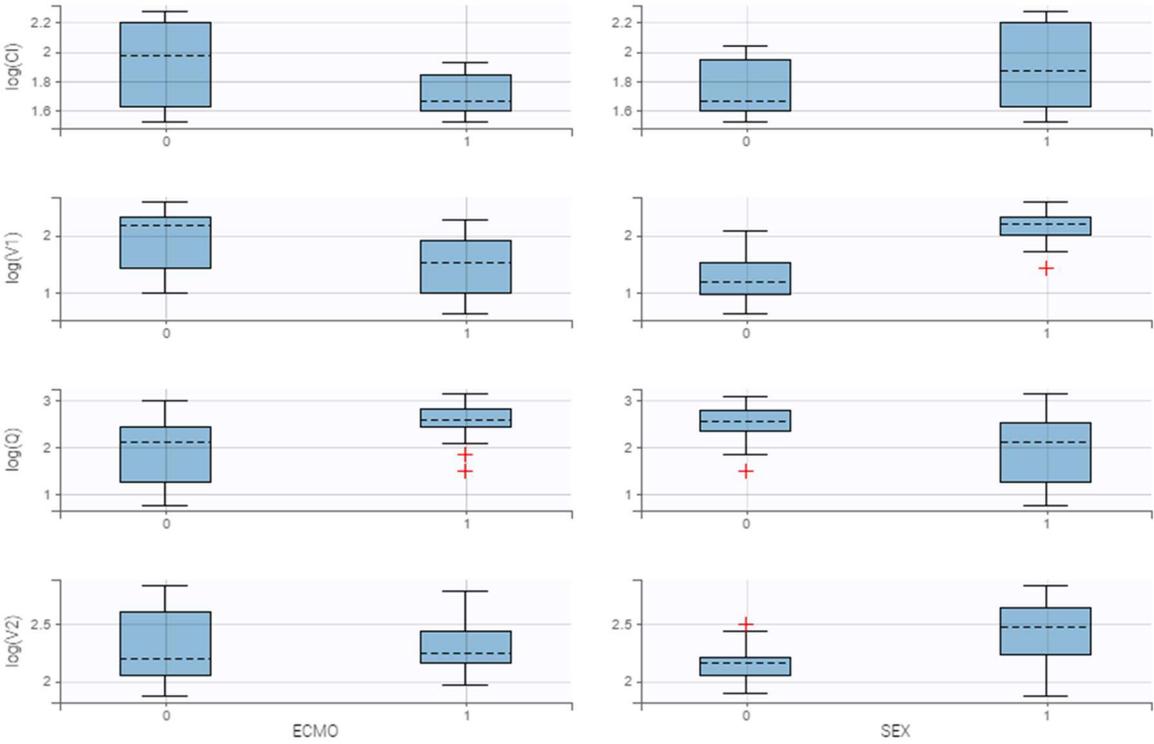
56. Many M, Soroff HS, Birtwell WC, Giron F, Wise H, Deterling RA. The physiologic role of pulsatile and nonpulsatile blood flow. II. Effects on renal function. *Arch Surg Chic Ill* 1960. nov 1967;95(5):762-7.
57. Bhatt-Mehta V. Gentamicin Pharmacokinetics in Term Neonates Receiving Extracorporeal Membrane Oxygenation. 1992;12(1):5.
58. Lawson G, Mulla H, Upton DR, Firmin R. Drug disposition during Extra Corporeal Membrane Oxygenation ECMO. *Pediatr Perinat Drug Ther.* 2001
59. Abdel-Razzak Z, Loyer P, Fautrel A, Gautier JC, Corcos L, Turlin B, et al. Cytokines down-regulate expression of major cytochrome P-450 enzymes in adult human hepatocytes in primary culture. *Mol Pharmacol.* oct 1993;44(4):707-15.
60. Rivory LP, Slaviero KA, Clarke SJ. Hepatic cytochrome P450 3A drug metabolism is reduced in cancer patients who have an acute-phase response. *Br J Cancer.* 29 juill 2002;87(3):277-80.
61. Siewert E, Bort R, Kluge R, Heinrich PC, Castell J, Jover R. Hepatic cytochrome P450 down-regulation during aseptic inflammation in the mouse is interleukin 6 dependent. *Hepatology Baltim Md.* juill 2000;32(1):49-55.
62. Boer F. Drug handling by the lungs. *Br J Anaesth.* 1 juill 2003;91(1):50-60.
63. Routledge PA. Pharmacokinetics in children. *J Antimicrob Chemother.* août 1994;34 Suppl A:19-24.
64. Rosen DA, Rosen KR, Silvasi DL. In vitro variability in fentanyl absorption by different membrane oxygenators. *J Cardiothorac Anesth.* juin 1990;4(3):332-5.
65. Cies JJ, Moore WS, Giliam N, Low T, Enache A, Chopra A. Impact of ex-vivo extracorporeal membrane oxygenation circuitry on daptomycin. *Perfusion.* nov 2018;33(8):624-9.
66. Shekar K, Fung YL, Diab S, Mullany DV, McDonald C, Dunster KR, et al. Development of simulated and ovine models of ECLS to improve understanding of circuit-host interactions. *Crit Care Resusc.* 2012;14(2):8.
67. Cox RA, Soejima K, Burke AS, Traber LD, Herndon DN, Schmalstieg FC, et al. Enhanced pulmonary expression of endothelin-1 in an ovine model of smoke inhalation injury. *J Burn Care Rehabil.* déc 2001;22(6):375-83.
68. Carlton DP, Albertine KH, Cho SC, Lont M, Bland RD. Role of neutrophils in lung vascular injury and edema after premature birth in lambs. *J Appl Physiol Bethesda Md* 1985. oct 1997;83(4):1307-17.
69. Kim WG, Lee BH, Seo JW. Light and electron microscopic analyses for ischaemia-reperfusion lung injury in an ovine cardiopulmonary bypass model. *Perfusion.* mai 2001;16(3):207-14.
70. Ko W, Hawes AS, Lazenby WD, Calvano SE, Shin YT, Zelano JA, et al. Myocardial reperfusion injury. Platelet-activating factor stimulates polymorphonuclear leukocyte hydrogen peroxide production during myocardial reperfusion. *J Thorac Cardiovasc Surg.* août 1991;102(2):297-308.

71. Herlihy JP, Vermeulen MW, Joseph PM, Hales CA. Impaired alveolar macrophage function in smoke inhalation injury. *J Cell Physiol.* 1995;163(1):1-8.
72. Swindle MM, Makin A, Herron AJ, Clubb FJ, Frazier KS. Swine as Models in Biomedical Research and Toxicology Testing. *Vet Pathol.* mars 2012;49(2):344-56.
73. Doyle RE, Garb S, Davis LE, Meyer DK, Clayton FW. Domesticated farm animals in medical research. *Ann N Y Acad Sci.* 27 mars 1968;147(4):129-204.
74. Ni L, Chen Q, Zhu K, Shi J, Shen J, Gong J, et al. The influence of extracorporeal membrane oxygenation therapy on intestinal mucosal barrier in a porcine model for post-traumatic acute respiratory distress syndrome. *J Cardiothorac Surg.* 15 févr 2015;10:20.
75. Chen Q, Yu W, Shi J, Shen J, Hu Y, Gong J, et al. The effect of extracorporeal membrane oxygenation therapy on systemic oxidative stress injury in a porcine model. *Artif Organs.* mai 2014;38(5):426-31.
76. Tang H, Mayersohn M. Porcine Prediction of Pharmacokinetic Parameters in People: A Pig in a Poke? *Drug Metab Dispos.* nov 2018;46(11):1712-24.
77. European Medicines Agency. ZERBAXA® - European Public Assessment Report [Internet]. 2019. Disponible sur: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/zerbaxa-epar-product-information_en.pdf
78. ZERBAXA (ceftolozane-tazobactam) [package insert]. Whitehouse Station, NJ: Merck & Co., Inc.; 2015.
79. European Medicines Agency. Post-authorisation summary of positive opinion for Zerbaxa [Internet]. 2019. Disponible sur: EMA/CHMP/409666/2019
80. Cockcroft DW, Gault H. Prediction of Creatinine Clearance from Serum Creatinine. *Nephron.* 1976;16(1):31-41.
81. VanScoy B, Mendes RE, Nicasio AM, Castanheira M, Bulik CC, Okusanya OO, et al. Pharmacokinetics-Pharmacodynamics of Tazobactam in Combination with Ceftolozane in an *In Vitro* Infection Model. *Antimicrob Agents Chemother.* juin 2013;57(6):2809-14.
82. Craig WA, Andes DR. In Vivo Activities of Ceftolozane, a New Cephalosporin, with and without Tazobactam against *Pseudomonas aeruginosa* and Enterobacteriaceae, Including Strains with Extended-Spectrum β -Lactamases, in the Thighs of Neutropenic Mice. *Antimicrob Agents Chemother.* 4 janv 2013;57(4):1577-82.
83. Lepak AJ, Reda A, Marchillo K, Van Hecker J, Craig WA, Andes D. Impact of MIC Range for *Pseudomonas aeruginosa* and *Streptococcus pneumoniae* on the Ceftolozane *In Vivo* Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Target. *Antimicrob Agents Chemother.* oct 2014;58(10):6311-4.
84. Guilhaumou R, Benaboud S, Bennis Y, Dahyot-Fizelier C, Dailly E, Gandia P, 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.* déc 2019;23(1):104.

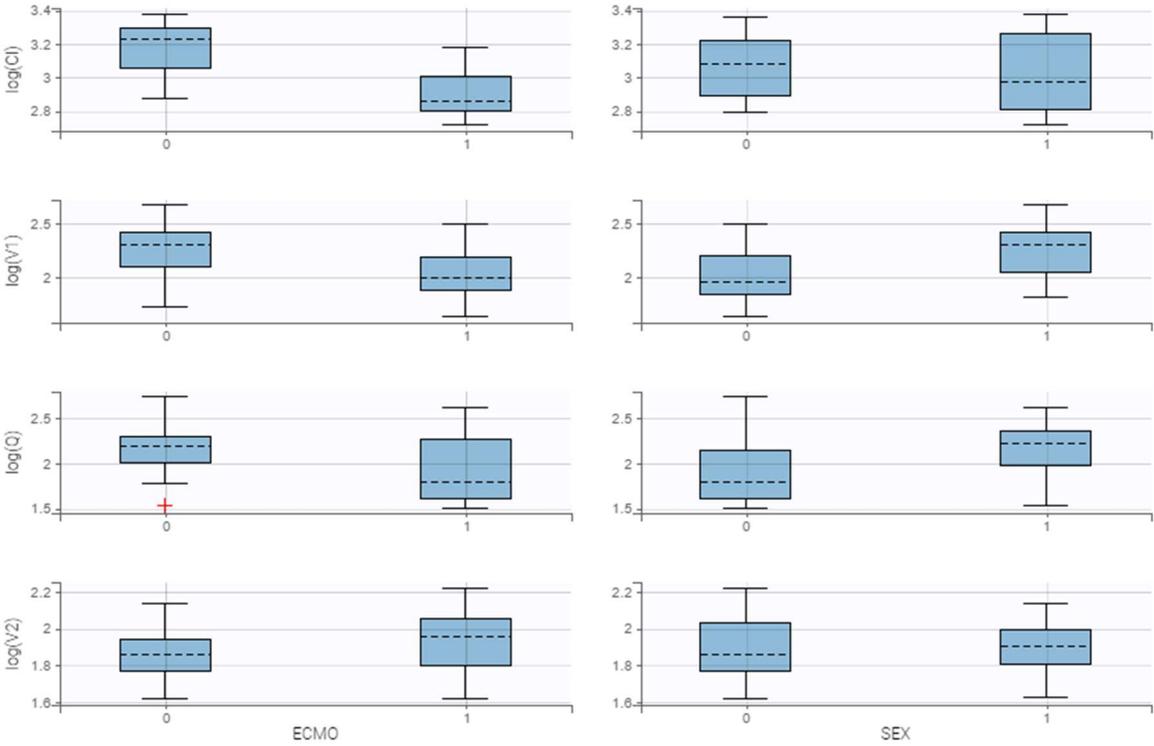
85. Xiao AJ, Miller BW, Huntington JA, Nicolau DP. Ceftolozane/tazobactam pharmacokinetic/pharmacodynamic-derived dose justification for phase 3 studies in patients with nosocomial pneumonia. *J Clin Pharmacol*. 1 janv 2016;56(1):56-66.
86. Chandorkar G, Huntington JA, Gotfried MH, Rodvold KA, Umeh O. Intrapulmonary penetration of ceftolozane/tazobactam and piperacillin/tazobactam in healthy adult subjects. *J Antimicrob Chemother*. 1 oct 2012;67(10):2463-9.
87. Lodise TP, Drusano GL. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics: Optimal Antimicrobial Therapy in the Intensive Care Unit. *Crit Care Clin*. janv 2011;27(1):1-18.
88. Donadello K, Antonucci E, Cristallini S, Roberts JA, Beumier M, Scolletta S, et al. β -Lactam pharmacokinetics during extracorporeal membrane oxygenation therapy: A case-control study. *Int J Antimicrob Agents*. mars 2015;45(3):278-82.
89. Zhang Y, Huo M, Zhou J, Xie S. PKSolver: An add-in program for pharmacokinetic and pharmacodynamic data analysis in Microsoft Excel. *Comput Methods Programs Biomed*. sept 2010;99(3):306-14.
90. Motos A, Kuti JL, Li Bassi G, Torres A, Nicolau DP. Is One Sample Enough? β -lactam Target Attainment and Penetration into Epithelial Lining Fluid based on Multiple Bronchoalveolar Lavage Sampling Time Points in a Swine Pneumonia Model. *Antimicrob Agents Chemother*. 3 déc 2018
91. Bassi GL, Nicolau D, Senussi T, Motos A, Sutherland C, Iodone FA, et al. Characterization Of The Pharmacokinetic/pharmacodynamic Profile Of Ceftolozane In An Animal Model Of Severe P. Aeruginosa Pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med*. 2017;(195):A3915.
92. Aubry A, Quiniou N, Cozler YL, Querné M. Modélisation de la croissance et de la consommation d'aliment des porcs de la naissance à l'abattage : actualisation des coefficients appliqués aux critères standardisés de performances en Gestion Technico-Economique. *Journ Rech Porc*. 2004;14.
93. Batchelor HK, Marriott JF. Paediatric pharmacokinetics: key considerations: Paediatric pharmacokinetics. *Br J Clin Pharmacol*. mars 2015;79(3):395-404.
94. Chandorkar G, Xiao A, Mouksassi M-S, Hershberger E, Krishna G. Population pharmacokinetics of ceftolozane/tazobactam in healthy volunteers, subjects with varying degrees of renal function and patients with bacterial infections. *J Clin Pharmacol*. févr 2015;55(2):230-9.
95. Shipley RE, Study RS. Changes in Renal Blood Flow, Extraction of Inulin, Glomerular Filtration Rate, Tissue Pressure and Urine Flow With Acute Alterations of Renal Artery Blood Pressure. *Am J Physiol-Leg Content*. 30 nov 1951;167(3):676-88.

ANNEXES

Annexe 1 : Distribution des paramètres pharmacocinétiques individuels du Cefotolozane en fonction des covariables potentielles



Annexe 2 : Distribution des paramètres pharmacocinétiques individuels du Tazobactam en fonction des covariables potentielles



Annexe 3 : Article original publié sur ces travaux

Mané C, Delmas C, Porterie J, Jourdan G, Verwaerde P, Marcheix B, et al. Influence of extracorporeal membrane oxygenation on the pharmacokinetics of ceftolozane/tazobactam: an ex vivo and in vivo study. *J Transl Med.* 2020;18(1):213.

RESEARCH

Open Access



Influence of extracorporeal membrane oxygenation on the pharmacokinetics of ceftolozane/tazobactam: an ex vivo and in vivo study

Camille Mané^{1,2}, Clément Delmas^{3,4}, Jean Porterie^{4,5}, Géraldine Jourdan⁶, Patrick Verwaerde⁷, Bertrand Marcheix⁵, Didier Concordet², Bernard Georges⁸, Stéphanie Ruiz⁸ and Peggy Gandia^{1,2*} 

Abstract

Background: Extracorporeal membrane oxygenation (ECMO) is increasingly used in intensive care units and can modify drug pharmacokinetics and lead to under-exposure associated with treatment failure. Ceftolozane/tazobactam is an antibiotic combination used for complicated infections in critically ill patients. Launched in 2015, sparse data are available on the influence of ECMO on the pharmacokinetics of ceftolozane/tazobactam. The aim of the present study was to determine the influence of ECMO on the pharmacokinetics of ceftolozane-tazobactam.

Methods: An ex vivo model (closed-loop ECMO circuits primed with human whole blood) was used to study adsorption during 8-h inter-dose intervals over a 24-h period (for all three ceftolozane/tazobactam injections) with eight samples per inter-dose interval. Two different dosages of ceftolozane/tazobactam injection were studied and a control (whole blood spiked with ceftolozane/tazobactam in a glass tube) was performed. An in vivo porcine model was developed with a 1-h infusion of ceftolozane-tazobactam and concentration monitoring for 11 h. Pigs undergoing ECMO were compared with a control group. Pharmacokinetic analysis of in vivo data (non-compartmental analysis and non-linear mixed effects modelling) was performed to determine the influence of ECMO.

Results: With the ex vivo model, variations in concentration ranged from -5.73 to 1.26% and from -12.95 to -2.89% respectively for ceftolozane (concentrations ranging from 20 to 180 mg/l) and tazobactam (concentrations ranging from 10 to 75 mg/l) after 8 h. In vivo pharmacokinetic exploration showed that ECMO induces a significant decrease of 37% for tazobactam clearance without significant modification in the pharmacokinetics of ceftolozane, probably due to a small cohort size.

Conclusions: Considering that the influence of ECMO on the pharmacokinetics of ceftolozane/tazobactam is not clinically significant, normal ceftolozane and tazobactam dosing in critically ill patients should be effective for patients undergoing ECMO.

Keywords: Ceftolozane, Tazobactam, Beta-lactam, Pharmacokinetics, ECMO

Background

Extracorporeal membrane oxygenation (ECMO) is a temporary life support technique used to aid respiratory and/or cardiac function in case of organ failure such as acute respiratory distress syndrome or refractory cardiogenic

*Correspondence: gandia.p@chu-toulouse.fr

¹ Pharmacokinetics and Toxicology Laboratory, Toulouse University Hospital, Toulouse, France

Full list of author information is available at the end of the article



© The Author(s) 2020. This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated in a credit line to the data.

shock [1]. The use of ECMO has considerably increased in adult intensive care units (ICU) due to the improvement in the risk–benefit profile as a result of advances in extracorporeal technology [1, 2]. The putative influence of ECMO on drug pharmacokinetics (PK) is based on three major mechanisms: drug extraction by adsorption on ECMO components, an increase in distribution volume and altered drug clearance [3–5].

Ceftolozane/tazobactam (C/T) (Zerbaxa, Merck & Co., Kenilworth, USA), a novel cephalosporin/beta-lactamase inhibitor combination, is effective against multi-drug resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa* and many extended spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing Gram-negative bacilli [6]. The C/T combination is a last-line antibiotic treatment for which exposure must be sufficient to ensure microbiological/clinical efficacy. However, the C/T combination was launched in 2015. Therefore, few general data are available and more precisely, data concerning the influence of ECMO on the pharmacokinetics of C/T. A study conducted by Cies et al. [7] reported a major loss of ceftolozane (40 to 60% in 5 h and ~90% in 24 h) using an ex vivo model. This information is particularly concerning for clinicians as it suggests a decrease in drug exposure that is enough to lead to therapeutic failure in the absence of any dose adjustment. However, these results provide only partial information on the influence of ECMO since adsorption is not the only modification reported in real life. In fact, inconsistent results of ex vivo and clinical studies on meropenem have been reported [4, 8–10]. Contrary to Cies' results, the kinetic profile of a patient undergoing ECMO and treated with C/T after lung transplant was similar to the PK profiles observed in patients without ECMO, suggesting no C/T loss [7, 11].

The aim of our study was to determine the influence of ECMO on C/T PK based on two successive and complementary studies: (i) an ex vivo study to document the mechanism of expected ceftolozane adsorption and (ii) an in vivo study for a more general exploration of the consequences of ECMO on the pharmacokinetics of C/T.

Methods

Experiments on the ex vivo model

Adult ECMO circuits including 3/8-in. polyvinylchloride tubing, a Revolution centrifugal pump and an EOS ECMO oxygenator (Sorin Group, LivaNova, London, United Kingdom) were maintained in a closed loop. Circuits were primed with normal saline solution which was then exchanged with fresh human blood (24 h old), provided by the Établissement Français du Sang (Toulouse, France). The temperature was set at 37 °C, the pH was maintained between 7.20 and 7.50, and the flow rate between 2.5 and 3 l/min and unfractionated heparin was

added to mimic conditions observed in patients undergoing ECMO. Pre-oxygenator C/T boluses (ZERBAXA®, MSD, France) were injected at T0, T8 and T16. Post-oxygenator blood samples were collected over the 8-h inter-dose interval each time (T0, T0.5, T1, T2, T3, T4, T6 and T8 post administration). A total of 24 samples were collected.

The same protocol was repeated three times *per* group for two groups: low (n=3) and high concentrations (n=3) corresponding to a 9 mg/4.5 mg and 25 mg/12.5 mg C/T dose.

Controls were prepared with glass tubes containing whole blood spiked with C/T in order to achieve the same C/T concentrations aimed at in the ECMO circuits [low (n=3) and high concentrations (n=3)]. For each control, nine blood samples were collected (T0, T0.5, T1, T2, T3, T4, T6, T8) in order to determine spontaneous C/T degradation.

C/T concentrations were quantified by a validated liquid chromatography–tandem mass spectrometry method using a Kinetex-Polar-C18 column (Phenomenex, Le Pecq, France) on a Prominence HPLC System (Shimadzu, Marne-la-Vallée, France) coupled with a QTRAP® 4500 (SCIEX, Villebon-sur-Yvette, France). For both molecules, the method was accurate and precise at a linearity range of 0.4–200 mg/l and 0.1–200 mg/l for ceftolozane and tazobactam, respectively. Intra-day and inter-day assay variability were below 10% for all control samples.

For each group studied (i.e. low and high concentration), differences in drug concentrations and recovery over the period studied were assessed for each inter-dose interval (T0–T8, T8–T16 and T16–T24) and the associated controls. To calculate the percentage of drug loss during the inter-dose interval, the difference between the concentration at the beginning and at the end of the inter-dose interval was divided by the concentration at the beginning of the inter-dose interval.

Experiments on the in vivo porcine model

All experiments were conducted with the approval of the Ethics Committee in the field of animal studies and handling of the animals was according to European guidelines. Six anesthetized and ventilated pigs (Landrace × White Large, 70 kg) were divided into an ECMO group (n=3) and a control group (n=3). Anesthesia was induced by ketamine/azaperone then maintained by propofol/midazolam/sufentanyl/cisatracurium in continuous infusion. Doses were adjusted according to the clinical response.

Femoral venoarterial ECMO was implanted. Anticoagulation was ensured by unfractionated heparin; the

flow rate was maintained between 3 and 4 l/min, and the gas flow was adapted between 1.5 and 2.5 l/min.

C/T (2 g/1 g) was administered in a 1-h infusion. Sixteen blood samples were collected *per* animal: T0 (before the initiation of the infusion), T0.25, T0.5, T0.75, T1, T1.5, T2 and then every hour from T3 to T11. The same analytical method was used to determine C/T concentrations.

Pharmacokinetic analysis

Pharmacokinetic exploration was performed by two conventional approaches, i.e. non-compartmental analysis using PK Solver software [12] and compartmental modeling using MONOLIX software 2018 R2 (Lixoft, Antony, France). Different approaches were tested, including one- or two-compartment modeling, to describe the C/T kinetic profile, while proportional and combined (additive + proportional) modeling were tested to describe the residual variability. Once the null model (i.e. model without factors explaining inter-individual variability) was selected, two documented covariates (ECMO and sex) were tested.

Model evaluation was based on the usual criteria: improvement of the likelihood, precision of the PK parameter estimation (relative standard error), diagnostic plot evaluation (observed vs. predicted concentrations; residual plots) and visual predictive check. The significant influence of a covariate to explain inter-individual variability was determined applying the likelihood ratio test (LRT).

The modeling methodology is more precisely described in Additional file 1.

Statistical analysis

Data are presented as means with standard deviations (SDs) for continuous variables.

Differences in drug concentrations and recovery over the period studied in the *ex vivo* model were assessed for each inter-dose interval (T0–T8, T8–T16 and T16–T24) and the associated control using a two-sided Dunnett test. A $p < 0.05$ was considered statistically significant. These statistical analyses were performed using Prism v. 6 (GraphPad Software, San Diego, USA).

To test potential covariate significance, likelihood ratio tests (LRT) were performed. A decrease of more than 3.84 in the likelihood ratio (p -value = 0.05, χ^2 distribution, 1 degree of freedom) was considered significant. These statistical analyses were performed using MONOLIX software 2018 R2 (Lixoft, Antony, France).

Results

Experiments on the *ex vivo* model

In all, 144 samples were collected from the six ECMO circuits and 54 samples from the six controls tubes. Three samples from the circuits had incoherent concentrations due to insufficient homogenization time between injection and sampling. Therefore, a total of 141 ceftolozane and tazobactam concentrations from the circuits were exploited.

For the two groups (low and high concentrations), ceftolozane and tazobactam concentrations increased respectively two- and three-fold after the second and the third administration, compared to the concentrations observed after the first administration (Fig. 1).

In the ECMO circuits, 8-h concentration variations ranged from -5.73 to 1.26% and from -12.95 to -2.89% for ceftolozane and tazobactam, respectively. In the control tubes, 8-h concentration variations ranged from -1.94 to 1.33% and from -11.74 to -5.14% for ceftolozane and tazobactam, respectively. No significant differences were observed between the loss in the ECMO circuits and in the control groups (Table 1).

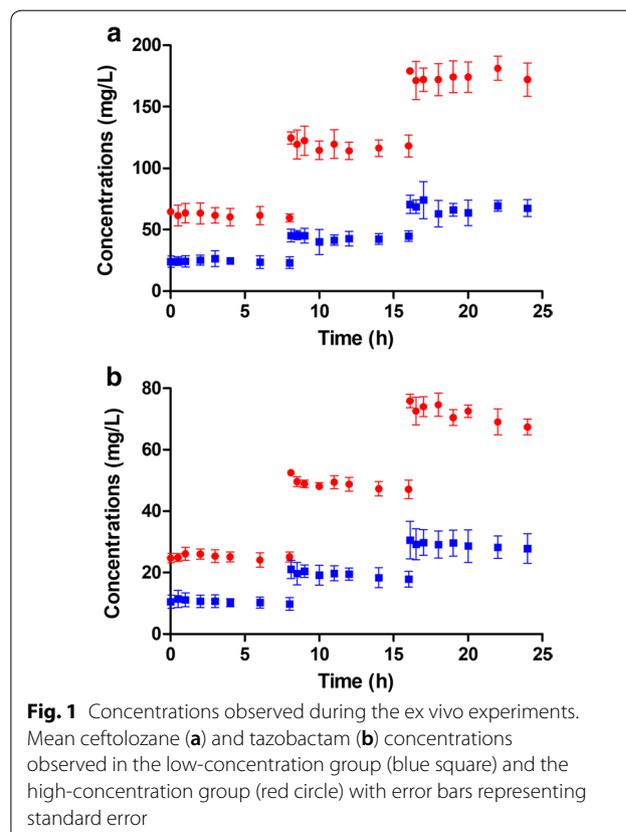


Table 1 C/T concentration variations measured using the ex vivo model

Group	Ceftolozane		Tazobactam	
	8-h variation (%)	Dunnett test value	8-h variation (%)	Dunnett test value
Low concentration				
T0–T8	−4.28	0.391	−11.20	0.019
T8–T16	−2.63	0.433	−12.95	0.524
T16–T24	−4.00	0.773	−7.51	0.441
Control	−1.94		−11.74	
High concentration				
T0–T8	−5.73	1.146	−2.89	1.295
T8–T16	−3.99	1.147	−6.75	0.340
T16–T24	1.26	0.260	−9.72	0.693
Control	1.33		−5.14	

Ceftolozane/tazobactam concentration variations measured in low and high concentration groups during the T0–T8, T8–T16 and T16–T24 inter-dose intervals and in the control glass tubes

Experiments on the in vivo model

A total of 96 serum samples from six pigs were collected and analyzed over 11 h. All 96 ceftolozane concentrations and only 71 tazobactam concentrations were measurable. Twenty-five tazobactam concentrations were below the LOQ (0.1 mg/l). Therefore, these concentrations were censored (concentrations in the 0–0.1 mg/l range without a precise value). Ceftolozane and tazobactam concentration profiles that were observed in ECMO and control groups are presented in Fig. 2.

Pharmacokinetic analysis

Based on the non-compartmental approach, the mean of individual C/T parameters determined in the ECMO and the control group are presented in Table 2. For both molecules, means were not significantly different between the two groups ($p > 0.05$).

The best-fitting model to describe the PK profile of ceftolozane was a two-compartment model with a proportional error model (i.e. the higher the concentration, the greater the unexplained variability). The inter-individual variability of the central compartment volume (V_1) was explained by sex ($LRT = 11.02$) while ECMO showed no effect on the inter-individual variability of any of the PK parameters. Estimations of the population parameters obtained with the final model are presented in Table 3.

For tazobactam, the best-fitting model was also a two-compartment model with a proportional error model. The only successful covariate was the ECMO that explains the inter-individual variability of the elimination clearance (Cl) ($LRT = 6.14$). Estimations of the

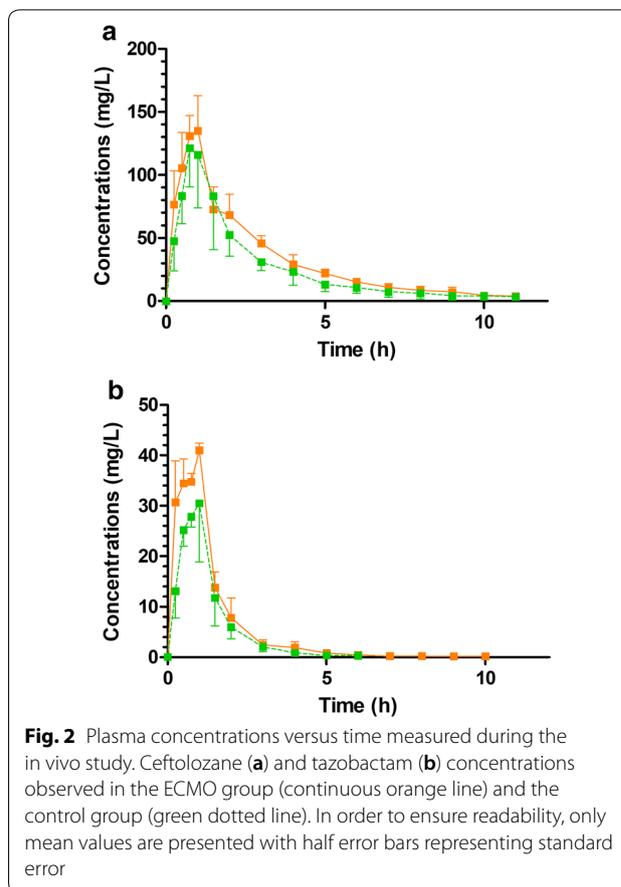


Fig. 2 Plasma concentrations versus time measured during the in vivo study. Ceftolozane (a) and tazobactam (b) concentrations observed in the ECMO group (continuous orange line) and the control group (green dotted line). In order to ensure readability, only mean values are presented with half error bars representing standard error

population parameters obtained with the final model are presented in Table 4.

More detailed results of the models developed are available in Additional file 1.

Table 2 Individual pharmacokinetic parameters determined for the in vivo model using a non-compartmental analysis

Parameter	Ceftolozane 2000 mg		Tazobactam 1000 mg	
	ECMO	Control	ECMO	Control
AUC (mg/h/l)	375.3 (14.6)	308.6 (34.9)	58.8 (10.7)	42.8 (20.5)
V_z (l)	20.85 (39.9)	31.31 (48.5)	34.93 (44.2)	29.35 (23.6)
V_{ss} (l)	15.33 (33.0)	19.09 (44.9)	13.88 (30.7)	16.99 (16.8)
Cl (l/h)	5.41 (15.7)	6.99 (32.0)	17.13 (10.7)	24.98 (19.1)
$T_{1/2}$ (h)	2.64 (32.0)	3.18 (40.1)	1.40 (42.9)	0.89 (40.5)

Mean (coefficient of variation) of parameters; AUC area under the curve; V_z volume of distribution during pseudo-equilibrium, V_{ss} volume of distribution at steady state, Cl elimination clearance, $T_{1/2}$ elimination half-life

Table 3 Estimated population parameters for ceftolozane using a modeling approach

Parameter	Model mean	RSE (%)
Fixed effects		
Cl (l/h)	6.15	9.83
V ₁ (l)	3.41	36.9
β _{SEX/V1}	0.998	35.1
Q (l/h)	9.66	36.1
V ₂ (l)	9.92	15.2
BSV (%)		
Cl	23.5	31.4
V ₁	2.48	119
Q	68.7	36.8
V ₂	26.6	38.3
Residual variability (%)	13.9	8.77

BSV between-subject variability, expressed as the coefficient of variation of the associated non-log-transformed parameter, RSE relative standard error

Table 4 Estimated population parameters for tazobactam using a modeling approach

Parameter	Model mean	RSE (%)
Fixed effects		
Cl (l/h)	24.2	7.86
β _{ECMO/Cl}	-0.304	35.2
V ₁ (l)	8.71	16.6
Q (l/h)	7.19	26.4
V ₂ (l)	6.37	14.1
BSV (%)		
Cl	11.3	44.9
V ₁	32.4	38.7
Q	31.9	44.5
V ₂	15.1	44.5
Residual variability (%)	19.9	10.8

BSV between-subject variability, expressed as the coefficient of variation of the associated non-log-transformed parameter, RSE relative standard error

Discussion

The use of antibiotics in critically ill patients is usually complex due to the extent of inter-individual variability of the pharmacokinetic parameters. One of the factors of variability is extracorporeal membrane oxygenation which induces considerable variability in antibiotic concentration for the same administered dose [13]. This point is particularly important as the pharmacokinetic–pharmacodynamic (PK–PD) criterion of beta-lactam efficacy depends on the percentage of the dosing interval that the free drug concentration remains above the minimal inhibitory concentration (% fT > MIC). For ceftolozane, the critical value of the PK–PD criterion, defined in

in vitro and mouse models, ranges between 25 and 40% [14, 15]. To date and for ICU patients, the critical value is 100% fT > 4–6 MIC in order to ensure treatment efficacy regardless of the intra-individual PK variability [13]. Consequently, variations in the ceftolozane PK profile can significantly decrease the probability of target attainment.

The objective of our study was to document the influence of ECMO on the pharmacokinetics of C/T. First, we used an ex vivo model to characterize expected ceftolozane loss, according to: (1) the elapsed time of contact between the drug and the ECMO circuit and (2) the injected dose (low or high dose; one or repeated administrations). A complementary in vivo study was conducted using a porcine model with pharmacokinetic analysis (non-compartmental analysis and nonlinear mixed effect modeling).

The results obtained with the ex vivo (no significant loss compared to the control) as well as with the in vivo model suggest no consequence on treatment efficacy. Moreover, they pointed out two key elements that should be confirmed in clinical studies.

First, C/T adsorption was negligible, contrary to the results provided by Cies et al. [7]. With their ex vivo model, a ceftolozane loss of 40 to 60% was observed after 5 h and 90% after 24 h. In contrast, tazobactam concentrations were stable. Contradictory results have already been reported between ex vivo models for ceftriaxone [16, 17]. These contradictory results were explained by various hypotheses. In our study, the main hypothesis to explain those conflicting results is a difference in ECMO circuit materials. Cies et al. used one pediatric and one adult ECMO circuit with a peristaltic pump (Sorin Group, Liva Nova, London, United-Kingdom), a Quadrox-iD oxygenator (Maquet, Rastatt, Germany) and 1/4-in. Super-Tygon polyvinylchloride tubing [7]. A difference in coating seems to be the most likely explanation. The circuit used in our study has a phosphorylcholine coating while the Quadrox-iD membrane is heparin and albumin coated and SuperTygon tubing coating is not specified. This difference in coating could explain a difference in drug interactions with the surface leading to a difference in adsorption. Moreover, the chemical properties of ceftolozane support our results. Being hydrophilic with low protein binding (20%), ceftolozane should not adsorb on the ECMO circuit.

The second point of interest is the influence of ECMO on the renal clearance of C/T. In our study, ECMO induced a decrease in tazobactam clearance (17.9 vs. 24.2 l/h) based on the modeling approach, and of ceftolozane clearance (5.41 vs. 6.99 l/h) according to a non-compartmental analysis. Since both molecules are eliminated mostly by the kidneys (>95% and >80% for ceftolozane and tazobactam, respectively), a decrease

in total clearance suggests a decrease in renal clearance. Three mechanisms control renal excretion: (i) glomerular filtration (GFR), (ii) secretion involving transporters located on the proximal convoluted tubule, and (iii) reabsorption, by passive diffusion in the distal convoluted tubule. Because venoarterial ECMO induces continuous renal blood flow, while it is physiologically pulsatile [18], it is likely that ECMO modifies renal blood flow and therefore, the GFR [19]. However, the impact on secretion and reabsorption is less evident. In fact, secretion mechanisms are unlikely to be modified in the absence of co-prescription or endogenous substance accumulation, while reabsorption depends on urine pH. This physiological information was lacking in our study. Consequently, if a decrease in ECMO-related clearance is suspected in patients, a slight over-exposure of ceftolozane and tazobactam can be expected, without any severe adverse effects.

For the *in vivo* experiments, a porcine model was chosen because of anatomical similarities (vascular volume, blood flow, etc.), which provided pigs compatible with the human adult ECMO device, and with physiological similarities that make them an interesting human pharmacokinetic model [20, 21]. A two-compartment model was selected for both ceftolozane and tazobactam as was the case in studies performed in humans [22, 23]. Clearance values reported in those studies are similar to our results (4.84 and 6.3 vs. 6.15 l/h; and 16.4 and 24.5 vs. 20.9 l/h for ceftolozane and tazobactam, respectively), which confirms the relevance of the pig model to describe drug elimination in humans.

While to our knowledge, this is the first study to investigate the pharmacokinetics of C/T with ECMO using both an *ex vivo* and an *in vivo* model, this study has several limits. Firstly, this was a pilot study with a small number of animals ($n=6$) and a low representativeness of what could happen in a larger population. Secondly, we did not induce sepsis and/or pneumonia in the pigs, which is unlike critically ill patients suffering from sepsis or severe ARDS and who require ECMO. In fact, this process is much too complex for this type of pilot study. Moreover, despite an apparent simplicity, this pilot study was highly time-consuming and required a well-trained multidisciplinary team. Consequently, our results do not completely reflect the pharmacokinetic changes in this specific population.

Conclusions

Using an *ex vivo* and an *in vivo* porcine model, our study provides preliminary evidence that normal ceftolozane and tazobactam dosing in ICU patients should

be effective in patients undergoing ECMO. Nevertheless, clinical data are required to confirm and validate these findings in order to implement dosing guidelines.

Supplementary information

Supplementary information accompanies this paper at <https://doi.org/10.1186/s12967-020-02381-1>.

Additional file 1. More precisions about modeling methodology and results.

Abbreviations

C/T: Ceftolozane/tazobactam; ECMO: Extracorporeal membrane oxygenation; GFR: Glomerular filtration rate; ICU: Intensive care unit; LRT: Likelihood ratio test; PK: Pharmacokinetics; PK-PD: Pharmacokinetics-pharmacodynamics.

Acknowledgements

The authors would like to acknowledge the IV therapy team of the Rangueil CHU Cardiovascular Surgery Department for facilitating this work and the Centre Régional d'Exploration Fonctionnelle et Ressources Expérimentales (CREFRE-US006), especially X. Sudre, for providing the premises and for logistical assistance.

Authors' contributions

CM designed and performed experiments, analyzed and interpreted data, and wrote the manuscript. CD and SR performed experiments, interpreted data, and wrote the manuscript. JP, GJ and PV performed experiments and corrected the manuscript. BG and BM designed experiments. DC and PG designed experiments, analyzed and interpreted data, and corrected the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

Funding

The authors declare that they have received no external funding.

Availability of data and materials

The datasets analyzed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

Ethics approval and consent to participate

All experiments were conducted with the approval of Ethics Committee in the field of animal studies and handling of the animals was according to European guidelines.

Consent for publication

Not applicable.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Author details

¹ Pharmacokinetics and Toxicology Laboratory, Toulouse University Hospital, Toulouse, France. ² INTHERES, INRAE, ENVT, Université de Toulouse, Toulouse, France. ³ Intensive Cardiac Care Unit, Rangueil University Hospital, Toulouse, France. ⁴ Institute of Metabolic and Cardiovascular Diseases (I2MC), UMR-1048, National Institute of Health and Medical Research (INSERM), Toulouse, France. ⁵ Cardiovascular Surgery Unit, Rangueil University Hospital, Toulouse, France. ⁶ Critical and Intensive Care Unit, Stomalab UMR 5273 CNRS/UPS-EFS-ENVT-INSERM U1031, Toulouse School of Veterinary Medicine, Toulouse, France. ⁷ Anesthesia-Emergency-Intensive Care Department, UPEC/IMRB-Inserm U955, Alfort School of Veterinary Medicine, Maisons-Alfort, France. ⁸ Anesthesia-General Intensive Care Division, Rangueil General Intensive Care Department, Toulouse University Hospital, Toulouse, France.

Received: 18 February 2020 Accepted: 16 May 2020

Published online: 27 May 2020

References

- Thiagarajan RR, Barbaro RP, Rycus PT, McMullan DM, Conrad SA, Fortenberry JD, et al. Extracorporeal life support organization registry international report 2016. *ASAIO J*. 2017;63(1):60–7.
- Abrams D, Combes A, Brodie D. Extracorporeal membrane oxygenation in cardiopulmonary disease in adults. *J Am Coll Cardiol*. 2014;63(25 Pt A):2769–78.
- Buck ML. Pharmacokinetic changes during extracorporeal membrane oxygenation: implications for drug therapy of neonates. *Clin Pharmacokinet*. 2003;42(5):403–17.
- Shekar K, Roberts JA, McDonald CI, Fisquet S, Barnett AG, Mullany DV, et al. Sequestration of drugs in the circuit may lead to therapeutic failure during extracorporeal membrane oxygenation. *Crit Care*. 2012;16(5):R194.
- Sherwin J, Heath T, Watt K. Pharmacokinetics and dosing of anti-infective drugs in patients on extracorporeal membrane oxygenation: a review of the current literature. *Clin Ther*. 2016;38(9):1976–94.
- Farrell DJ, Flamm RK, Sader HS, Jones RN. Antimicrobial activity of ceftolozane–tazobactam tested against enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa* with various resistance patterns isolated in U.S. Hospitals (2011–2012). *Antimicrob Agents Chemother*. 2013;57(12):6305–10.
- Cies JJ, Moore WS, Giliam N, Low T, Enache A, Chopra A. Oxygenator impact on ceftolozane and tazobactam in extracorporeal membrane oxygenation circuits. *Pediatr Crit Care Med*. 2020;21(3):276–82.
- Wildschut ED, Ahsman MJ, Allegaert K, Mathot RAA, Tibboel D. Determinants of drug absorption in different ECMO circuits. *Intensive Care Med*. 2010;36(12):2109–16.
- Shekar K, Fraser JF, Taccone FS, Welch S, Wallis SC, Mullany DV, et al. The combined effects of extracorporeal membrane oxygenation and renal replacement therapy on meropenem pharmacokinetics: a matched cohort study. *Crit Care*. 2014;18(6):565.
- Donadello K, Antonucci E, Cristallini S, Roberts JA, Beumier M, Scolletta S, et al. β -Lactam pharmacokinetics during extracorporeal membrane oxygenation therapy: a case–control study. *Int J Antimicrob Agents*. 2015;45(3):278–82.
- Arena F, Marchetti L, De Angelis LH, Maglioni E, Contorni M, Cassetta M, et al. Ceftolozane–tazobactam pharmacokinetics during extracorporeal membrane oxygenation in a lung transplant recipient. *Antimicrob Agents Chemother*. 2019. <https://doi.org/10.1128/AAC.02131-18>.
- Zhang Y, Huo M, Zhou J, Xie S. PKSolver: an add-in program for pharmacokinetic and pharmacodynamic data analysis in Microsoft Excel. *Comput Methods Programs Biomed*. 2010;99(3):306–14.
- Guilhaumou R, Benaboud S, Bennis Y, Dahyot-Fizelier C, Dailly E, Gandia P, 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(1):104.
- Craig WA, Andes DR. In vivo activities of ceftolozane, a new cephalosporin, with and without tazobactam against *Pseudomonas aeruginosa* and enterobacteriaceae, including strains with extended-spectrum β -Lactamases, in the thighs of neutropenic mice. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013;57(4):1577–82.
- Lepak AJ, Reda A, Marchillo K, Van Hecker J, Craig WA, Andes D. Impact of MIC range for *Pseudomonas aeruginosa* and *Streptococcus pneumoniae* on the ceftolozane in vivo pharmacokinetic/pharmacodynamic target. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014;58(10):6311–4.
- Shekar K, Roberts JA, McDonald CI, Ghassabian S, Anstey C, Wallis SC, et al. Protein-bound drugs are prone to sequestration in the extracorporeal membrane oxygenation circuit: results from an ex vivo study. *Crit Care*. 2015;19(1). <http://ccforum.com/content/19/1/164>. Accessed 8 Nov 2018.
- Leven C, Fillâtre P, Petitcollin A, Verdier M-C, Laurent J, Nessler N, et al. Ex vivo model to decipher the impact of extracorporeal membrane oxygenation on beta-lactam degradation kinetics. *Ther Drug Monit*. 2017;39(2):180–4.
- Many M, Soroff HS, Birtwell WC, Giron F, Wise H, Deterling RA. The physiologic role of pulsatile and nonpulsatile blood flow. II. Effects on renal function. *Arch Surg Chic Ill* 1960. 1967;95(5):762–7.
- Shiple RE, Study RS. Changes in renal blood flow, extraction of inulin, glomerular filtration rate, tissue pressure and urine flow with acute alterations of renal artery blood pressure. *Am J Physiol Leg Content*. 1951;167(3):676–88.
- Swindle MM, Makin A, Herron AJ, Clubb FJ, Frazier KS. Swine as models in biomedical research and toxicology testing. *Vet Pathol*. 2012;49(2):344–56.
- Tang H, Mayersohn M. Porcine prediction of pharmacokinetic parameters in people: a pig in a poke? *Drug Metab Dispos*. 2018;46(11):1712–24.
- Xiao AJ, Miller BW, Huntington JA, Nicolau DP. Ceftolozane/tazobactam pharmacokinetic/pharmacodynamic-derived dose justification for phase 3 studies in patients with nosocomial pneumonia. *J Clin Pharmacol*. 2016;56(1):56–66.
- Chandorkar G, Xiao A, Mouksassi M-S, Hershberger E, Krishna G. Population pharmacokinetics of ceftolozane/tazobactam in healthy volunteers, subjects with varying degrees of renal function and patients with bacterial infections. *J Clin Pharmacol*. 2015;55(2):230–9.

Publisher's Note

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Ready to submit your research? Choose BMC and benefit from:

- fast, convenient online submission
- thorough peer review by experienced researchers in your field
- rapid publication on acceptance
- support for research data, including large and complex data types
- gold Open Access which fosters wider collaboration and increased citations
- maximum visibility for your research: over 100M website views per year

At BMC, research is always in progress.

Learn more biomedcentral.com/submissions



Annexe 4 : Communication affichée lors de la 39e Réunion
Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse (Paris, 2019)

P-326

INFLUENCE OF EXTRACORPOREAL MEMBRANE OXYGENATION ON THE PHARMACOKINETICS OF CEFTOLOZANE/TAZOBACTAM

Mané C^{1,2}, Delmas C^{3,4}, Porterie J^{4,5}, Jourdan G⁶, Verwaerde P⁷, Marcheix B⁵, Concordet D², Georges B⁸, Ruiz S⁸, Gandia P^{1,2}

¹ Pharmacokinetics Laboratory, CHU de Toulouse, France; ² UMR 1436 – INTHERES, Toulouse, France; ³ Intensive Cardiac Care Unit, CHU de Toulouse, France; ⁴ UMR 1048 – I2MC, Toulouse, France; ⁵ Cardiovascular Surgery Unit, CHU de Toulouse, France; ⁶ Critical and Intensive Care Unit, Stromalab, ENVT, Toulouse, France; ⁷ Anesthesia-Emergency-Intensive Care Department, UPEC/IMRB-Inserm U955/ENVA, Maison-Alfort, France; ⁸ Rangueil General Intensive Care Department, CHU de Toulouse, France

Corresponding author: P. Gandia, gandia.p@chu-toulouse.fr; 0567690383

Introduction

Extracorporeal Membrane Oxygenation (ECMO)

- Temporary life support technique **increasingly used in ICU**
- Can **modify drug pharmacokinetics** (adsorption, hemodilution, etc.) and lead to **treatment failure** due to under-exposure

Ceftolozane/tazobactam (C/T)

- **Antibiotic combination** to treat complicated infections
- Sparse data are available on the influence of ECMO on the pharmacokinetics of C/T

Objective : To determine the influence of ECMO on the pharmacokinetics of ceftolozane/tazobactam

Methods

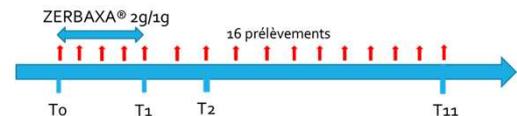
Experiments on *ex vivo* model



- Closed-loop ECMO circuits primed with human whole blood
- **Two doses:** 9mg/4,5mg (LC, n=3) and 25mg/12,5mg (HC, n=3)
- Linear regression and **8-hour variation estimation**

Experiments on *in vivo* porcine model

- **Two groups:** ECMO (n=3) and control (n=3)



- Pharmacokinetic analysis by **non-linear mixed effects modeling** (MONOLIX) to determine if ECMO was a significant covariate

Results

Experiments on *ex vivo* model (Figure 1)

Variations in concentration after 8 hours:

Ceftolozane : -5.73% to 1.26%

Tazobactam : -12.95 to -2.89%

Experiments on *in vivo* porcine model

Two-compartmental models developed (Table 1) with **proportional error model** and **exponential covariates**:

$$V_c = f(\text{sex}) \text{ for ceftolozane}$$

$$Cl = f(\text{ECMO}) \text{ for tazobactam}$$

Ceftolozane	Fixed effect (RSE %)	BSV (RSE %)	Tazobactam	Fixed effect (RSE %)	BSV (RSE %)
<i>Cl</i>	6.15 (9.83)	23.5 (31.4)	<i>Cl</i>	24,2 (7.86)	11.3 (44.9)
<i>V</i> ₁	3.41 (36.9)	2.48 (119)	$\beta_{\text{ECMO}/Cl}$	-0.304 (35.2)	
β_{SEX/V_1}	0.998 (35.1)		<i>V</i> ₁	8.71 (16.6)	32.4 (38.7)
<i>Q</i>	9.66 (36.1)	68.7 (36.8)	<i>Q</i>	7.19 (26.4)	31.9 (44.5)
<i>V</i> ₂	9.92 (15.2)	26.6 (38.3)	<i>V</i> ₂	6.37 (14.1)	15.1 (44.5)
<i>RUV</i> (%)	13.9 (8.77)		<i>RUV</i> (%)	19.9 (10.8)	

Cl: clearance, *V*₁/*V*₂: volume of distribution of central/peripheral compartments, *Q*: intercompartmental clearance, β : quantifies the influence of the associated covariate, *RUV*: residual unexplained variability

Table 1: Estimated population parameters for ceftolozane and tazobactam using a modeling approach

Significant 37% decrease in tazobactam clearance was due to ECMO.

No significant modification in the pharmacokinetics of ceftolozane (probably due to a small cohort size) (Figure 2)

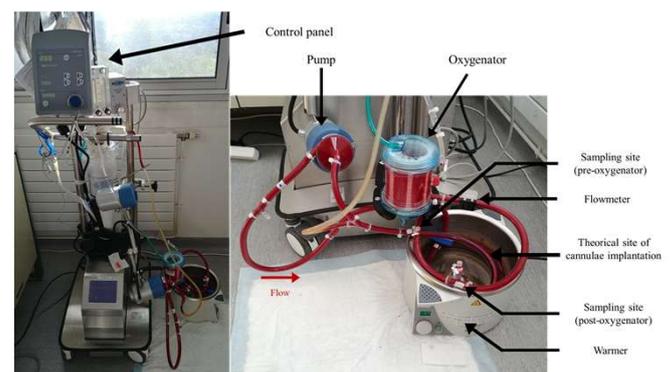


Figure 1: Ex vivo model

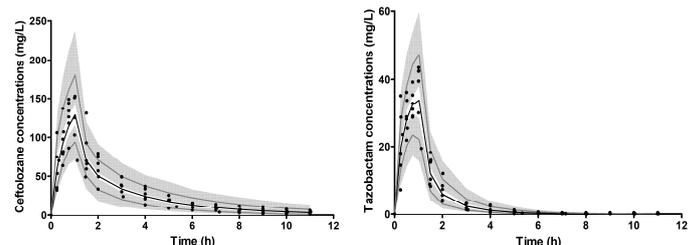


Figure 2: Visual predictive check of the final ceftolozane (left) and tazobactam models (right). Observed data (black circle), median (black line), 10th and 90th percentiles of the predictions (grey lines) with their 90% confidence intervals (shaded grey area)

Conclusions

No clinically significant influence of ECMO on the pharmacokinetics of C/T
 For patients undergoing ECMO, **normal C/T dosing in ICU patients** should be effective

ABSTRACT

INFLUENCE OF EXTRACORPOREAL MEMBRANE OXYGENATION ON THE PHARMACOKINETICS OF CEFTOLOZANE/TAZOBACTAM

Extracorporeal membrane oxygenation (ECMO) is a temporary life support technique increasingly used that can modify drug pharmacokinetics. Due to recent launching, sparse data are available on the influence of ECMO on the pharmacokinetics of the antibiotic association ceftolozane/tazobactam.

Thus, the objective of the current study was to determine the influence of ECMO on the pharmacokinetics of ceftolozane-tazobactam to issue clinical guidelines. First, *ex vivo* experiments were performed to characterize ceftolozane/tazobactam loss (plasmatic concentration variations according to drug-circuit contact time and injected dose). In a complementary way, *in vivo* experiments were performed in a porcine model with pharmacokinetics analysis (non-compartmental analysis and non-linear mixed effects modelling).

No significant drug loss was observed with the *ex vivo* model, suggesting no ceftolozane nor tazobactam adsorption on the circuits used. Ceftolozane and tazobactam kinetic profiles observed with the *in vivo* model were best described by a two-compartment model. The analysis of potential covariates explaining between-subject variability brought to light that ECMO decreases tazobactam elimination clearance. The same trend was observed for ceftolozane. Besides, more important central compartment volumes were observed in males.

To conclude, the influence of ECMO on the pharmacokinetics of ceftolozane and tazobactam is not clinically significant. Thus, normal ceftolozane and tazobactam dosing in ICU patients should be effective for patients undergoing ECMO without majoring side effects. Nevertheless, those preliminary results need to be confirmed in higher scale, especially with clinical data.

INFLUENCE DU SYSTEME D'OXYGENATION PAR MEMBRANE EXTRA-CORPORELLE SUR LA PHARMACOCINETIQUE DE L'ASSOCIATION CEFTOLOZANE/TAZOBACTAM

RESUME en français : Le système d'oxygénation par membrane extra-corporelle (Extracorporeal Membrane Oxygenation, ECMO) est une technique d'assistance respiratoire et/ou cardiaque temporaire utilisée de plus en plus fréquemment et qui peut être à l'origine de profondes modifications de la pharmacocinétique des médicaments. En raison de sa commercialisation récente, peu de données sont disponibles sur l'influence de l'ECMO sur la pharmacocinétique de l'association antibiotique Ceftolozane/Tazobactam.

L'objet de ce projet était donc de documenter l'influence de l'ECMO sur la pharmacocinétique de l'association Ceftolozane/Tazobactam afin de pouvoir émettre des recommandations pour la pratique hospitalière. Dans un premier temps, une approche *ex vivo* a été menée afin de caractériser la perte de Ceftolozane/Tazobactam (variation de la concentration plasmatique en fonction du temps de contact avec le circuit et de la dose injectée). De façon complémentaire, une étude pilote *in vivo* a été menée sur un modèle porcin avec une analyse pharmacocinétique non compartimentale et une approche non linéaire à effets mixtes des données obtenues.

Aucune perte significative n'a été mise en évidence avec le modèle *ex vivo*, suggérant une absence d'adsorption du Ceftolozane et du Tazobactam dans les circuits d'ECMO utilisés. L'étude *in vivo* a révélé que le profil cinétique du Ceftolozane et du Tazobactam pouvait être décrit par un modèle bicompartmental. L'analyse des covariables susceptibles d'expliquer la variabilité inter-individuelle des paramètres pharmacocinétiques a montré que l'ECMO diminue la clairance d'élimination du Tazobactam. La même tendance a été retrouvée pour le Ceftolozane. En outre, nos travaux ont mis en évidence que le volume de distribution du compartiment central du Ceftolozane était plus important chez les mâles.

En conclusion, l'ECMO ne semble pas avoir d'influence cliniquement significative sur la pharmacocinétique du Ceftolozane et du Tazobactam. Par conséquent, les posologies actuellement appliquées en Réanimation devraient permettre d'atteindre des expositions jugées efficaces d'un point de vue microbiologique, sans majoration marquée des effets indésirables. Toutefois, ces résultats préliminaires doivent être validés à plus grande échelle et tout particulièrement en clinique humaine.

TITRE et RESUME en Anglais : voir au recto de la dernière page de la thèse

DISCIPLINE administrative : Biologie Médicale

MOTS-CLES : Pharmacocinétique, Ceftolozane, Tazobactam, Extracorporeal Membrane Oxygenation (ECMO)

INTITULE ET ADRESSE DE L'UFR OU DU LABORATOIRE :

Faculté des Sciences Pharmaceutiques
Université Toulouse III - Paul Sabatier
35, chemin des Maraîchers - 31400 Toulouse

DIRECTEUR de thèse : Dr Clément DELMAS