UNIVERSITE DE NANTES

_____

FACULTE DE MEDECINE

_____

Année 2014 N° 028

THESE

Pour le

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE

DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES D'ANESTHESIE REANIMATION

par

Ludovic RONCHI

Né le 25 février 1982 à Senlis

_____

Présentée et soutenue publiquement le 11 avril 2014

_____

« CEFASLEEVE : Etude prospective, monocentrique, de pharmacocinétique tissulaire et plasmatique de la céfazoline dans l'antibioprophylaxie en chirurgie bariatrique. Résultats préliminaires »

_____

Président : Monsieur le Professeur ASEHNOUNE

Directeur de thèse : Monsieur le Docteur Romain DUMONT

Remerciements

Monsieur le Professeur ASEHNOUNE, tu me fais l'honneur de présider ce jury de thèse. Je te remercie infiniment pour le temps consacré, à ce projet entre autre, et pour ce que j'ai appris et vais apprendre à tes cotés.

Monsieur le Docteur DUMONT, tu me fais l'honneur de diriger ce travail. Je te remercie pour m'avoir permis de découvrir ce qu'est un travail de recherche, pour le temps passé à élaborer cette étude et pour le plaisir que j'ai de travailler à tes cotés.

Madame le Professeur LEJUS, pour l'honneur que vous me faîtes de juger ce travail, pour le temps que vous m'avez consacré pendant mon internat, veuillez trouver ici l'expression de toute ma reconnaissance et de mon profond respect.

Monsieur le Professeur DAILLY, pour l'honneur que vous me faîtes de participer à ce jury de thèse, pour votre disponibilité et votre investissement dans cette étude, je vous suis très reconnaissant.

Monsieur le Docteur LETESSIER, vous me faîtes l'honneur de juger ce travail. Retrouvez ici l'expression de ma reconnaissance pour votre investissement dans ce travail et pour le plaisir que j'ai eu à travailler avec vous.

A Delphine FLATTRES et Christelle GOUSSIN, pour l'aide précieuse apportée lors de la réalisation de ce travail.

A tous les médecins anesthésistes, IADE, infirmier(e)s, secrétaires et aides-soignant(e)s du pôle d'anesthésie réanimation du CHU de Nantes.

A mes maîtres, qui m'ont donné le goût pour la médecine, en particulier monsieur le professeur PLANCHON.

A mes camarades de la promotion 2008. Je vous remercie pour les 5 ans passés à vos cotés.

Aux amis de la faculté de médecine de Nantes : ca va faire un moment, on va se voir grandir ensemble, ca commence déjà à être drôle.

Aux amis de longue date toujours fidèles, Philippe, Jean-Charles. Tout ça, c'est aussi un peu grâce a vous.

A ma famille, pour son soutien sans faille durant toutes ces années.

A mes grands parents, que je sais fiers en ce moment, où qu'ils soient.

A Carmen et Pascal, pour l'accueil reçu et les (toujours) bons moments passés ensemble.

A mes parents. 30 ans après, on voit de nouveau le nom de Ronchi sur une thèse d'anesthésie réanimation. Merci pour tout ce que vous m'avez apporté pendant toutes ces années, pour tout ce que vous m'avez fait découvrir. A moi de prendre le relai, j'espère faire aussi bien que vous.

A Elodie. Pour les 8 ans de bonheur vécus avec toi. Pour toutes les aventures que nous avons passées ensemble. Pour la plus grande des aventures qui nous attend. Merci pour ton soutien de tous les instants, pour ta joie et ton entrain communicatifs. Je t'aime.

A Apolline. J'ai hâte de te rencontrer…

SOMMAIRE

Liste des abréviations ...…….... page 5

Introduction …….. page 6

Matériel et méthode …….. page 10

Résultats ……..... page 17

Discussion …… page 27

Conclusion …… page 36

Bibliographie …… page 38

Annexes …… page 43

LISTE DES ABREVIATIONS

ABP	AntioBioProphylaxie
AFSSAPS	Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé
AMM	Autorisation de Mise sur le Marché
ANAES	Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation en Santé
BPC	Bonnes Pratiques Cliniques
CPP	Comité de Protection des Personnes
CMB	Concentration Minimale Bactéricide
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
CNIL	Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés
CRF	Case Report Form (cahier d'observation)
IADE	Infirmière Anesthésiste Diplômée d'Etat
IDE	Infirmière Diplômée d'Etat
IMC	Indice de Masse Corporelle
INSERM	Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale
ISO	Infection de Site Opératoire
MDRD	Modification of the Diet in Renal Disease
RCP	Résumé des Caractéristiques d'un Produit
SFAR	Société Française d'Anesthésie Réanimation

INTRODUCTION

L'obésité peut se définir comme un excès de tissu adipeux par rapport aux valeurs normales compte tenu de l'âge et du sexe. On la classe en fonction de l'Indice de Masse Corporelle (IMC), exprimé en kg/m2. On parle d'obésité à partir d'un IMC ≥ 30, et d'obésité morbide pour un IMC ≥ 40. En France, une enquête épidémiologique nationale sur le surpoids et l'obésité menée en 2012 sur un échantillon de 25714 individus représentatifs de la population [1] fait apparaître que 15 % des français sont obèses, dont 1,2 % ont un IMC ≥ 40 kg/m2 (soit 550000 français). Cela représente une augmentation relative moyenne est de 5,9 % depuis 12 ans, soit 2922000 nouveaux obèses en 12 ans, sur une population totale d'obèse de 6922000 individus en 2012. L'augmentation de la prévalence de l'obésité se poursuit en France de façon diffuse, touchant les deux sexes et tous les niveaux socioprofessionnels. A l'échelle mondiale ce problème de santé publique est identique. Dans les pays en développement, l'obésité touche plus de 115 millions de personnes [2]. Les pays développés ont eux aussi tous connu une progression forte de l'obésité : aux USA en 2010, on recense 36 % d'adultes obèses, et 5 % d'obèses morbides [3] ; en Europe, on estime à 68,5 millions le nombre de personnes obèses [4]. La population mondiale d'obèse, en constante progression, approcherait les 400 millions d'individus, permettant même d'évoquer la notion de pandémie d'obésité [5]. Pour traiter l'obésité, une diminution des apports caloriques et une majoration de l'activité physique n'est généralement que modérément efficace [6]. La chirurgie de l'obésité, dans les situations définies par l'ANAES en 2001 [7], prend alors toute sa place pour compléter la prise en charge médicale. Il est actuellement admis que la chirurgie est le seul traitement efficace à long terme de l'obésité [8,9]. La France tient le second rang mondial de la chirurgie bariatrique (derrière les Etats-Unis où 171000 chirurgies bariatriques ont été réalisées en 2005) [10].

L'obésité a été identifiée comme étant un facteur de risque indépendant d'infection de site opératoire (ISO) [11-16]. En France, les ISO sont au troisième rang des infections

nosocomiales [17]. En 2007, 2492 ISO (1.16% des opérés) ont été identifiées par le Réseau d'Alerte, d'Investigation et de Surveillance des Infections Nosocomiales (sans données spécifiques concernant la chirurgie bariatrique) [18]. Aux Etats-Unis, les ISO sont la seconde cause d'infections nosocomiales [19,20]. On en récence approximativement 500000 par an [21]. De nouvelles définitions des ISO ont été émises en 2007, et elles sont maintenant différenciées en ISO superficielles et profondes [22]. La majorité des ISO sont superficielles [18, 23, 24].

Outre les mesures liées au patient, au personnel soignant et à la chirurgie, la prévention de ces ISO implique l'administration d'une antibioprophylaxie (ABP) adaptée aux germes les plus fréquemment rencontrés dans ce type de chirurgie. Mais l'ABP doit aussi répondre aux particularités pharmacocinétiques du patient obèse afin de maintenir des taux d'antibiotiques plasmatiques et tissulaires supérieurs aux concentrations minimales inhibitrices (CMI) des germes incriminés dans les ISO tout au long de la chirurgie. Or les modifications de la cinétique des médicaments chez l'obèse sont difficiles à appréhender. Il existe une modification du volume de distribution, et des modifications de la fonction rénale et de la fonction hépatique. Il existe peu de données dans la littérature étudiant l'ABP chez l'obèse. Plusieurs doses de céfazoline ont été testées, avec des résultats contradictoires.

Des recommandations récentes ont été émises, en France par la SFAR en 2010 [25], ou aux Etats-Unis par le National Institute of Health [26]. Là encore, les doses recommandées divergent, ne pouvant pas s'appuyer sur des résultats pharmacocinétiques fiables.

Il n'existe pas de données dans la littérature permettant de justifier d'une dose idéale de céfazoline dans la chirurgie bariatrique.

Nous avons donc étudié la pharmacocinétique plasmatique et tissulaire de la céfazoline à une dose préopératoire de 4 grammes chez le sujet obèse bénéficiant d'une chirurgie bariatrique de type sleeve gastrectomie, sur une cohorte de 84 patients ayant des IMC supérieurs à 40

kg/m2. Cette étude a pour but de déterminer si la dose de 4 grammes de céfazoline permet d'obtenir des taux plasmatiques et tissulaires supérieurs aux CMI des principaux germes retrouvés lors de chirurgies bariatriques tout au long de l'intervention.

Les données présentées sont les résultats préliminaires de l'étude CEFASLEEVE, travail incluant 133 patients, financé par le CHU de Nantes.

MATERIEL ET METHODE

2.1 Design de l'étude

Nous avons mené une étude prospective, monocentrique, observationnelle entre le 1er mai 2012 et le 1er janvier 2014 au sein du CHU de Nantes. Le CHU de Nantes est un centre de référence dans le grand Ouest pour la chirurgie de l'obésité et notamment de la sleeve gastrectomie (annexe 1).

2.2 Information et Consentement

L'information claire du patient était réalisée lors de la consultation chirurgicale ou lors de la visite pré anesthésique. Une note d'information et un formulaire de recueil de consentement étaient alors remis aux patients à cette occasion (annexe 2 et 3). Un consentement éclairé et signé lui était demandé.

L'original du formulaire de consentement signé est gardé dans le classeur investigateur.

Conformément à la législation française, le projet d'étude a été soumis à l'autorisation préalable d'un Comité de Protection des Personnes de Tours. Une autorisation a été délivrée par l'AFSSAPS.

2.3 Financement

La proposition d'étude CEFASLEEVE a été soumise à un appel d'offre interne au CHU de Nantes promouvant la recherche clinique. Cet appel d'offre a été remporté en 2011 et a permis de financer intégralement ce travail.

2.4 Critères d'inclusion

Le critère de pré-inclusion était :

- la réalisation d'une chirurgie bariatrique de type sleeve gastrectomie

Les critères d'inclusion étaient :

- homme ou femme âgés d'au moins 18 ans
- un IMC supérieur ou égal à 40 et inférieur ou égal à 65
- l'obtention d'un consentement éclairé et écrit
- une couverture par un régime de sécurité social

2.5 Critères d'exclusion

Les critères d'exclusion étaient :

- une grossesse en cours
- une mise sous tutelle
- une insuffisance rénale modérée à sévère définie par un MDRD ≤ 60 ml/min
- une hypersensibilité connue aux céphalosporines
- un traitement par céfazoline en cours.

2.6 Critères d'évaluation

Le critère d'évaluation principal était la concentration en céfazoline dans le tissu graisseux superficiel sous cutané recueilli au temps de la fermeture chirurgicale.

Les critères d'évaluation secondaires étaient : la concentration en céfazoline dans le tissu graisseux superficiel sous cutané au temps de l'incision chirurgicale, la concentration en céfazoline dans le tissu graisseux profond péri gastrique au temps de l'incision chirurgicale et au temps de la fermeture chirurgicale, la concentration plasmatique totale en céfazoline au

temps de l'incision chirurgicale, à 15, 30 minutes et au temps de la fermeture chirurgicale, et la présence ou non d'une ISO.

2.7 Patients

Les patients étaient répartis en 2 groupes :

Un groupe A dont l'IMC était compris entre 40 et 50 kg/m2.

Un groupe B dont l'IMC était compris entre 50 et 65 kg/m2.

2.8 Recueil des données

Les éléments suivants étaient recueillis : l'âge, le sexe, le poids, la taille, l'IMC, la surface corporelle, la créatinémie, la clairance de la créatinine, l'albuminémie, les antécédents médicaux, les traitements médicamenteux du patient, l'heure de début et de fin de perfusion de céfazoline, l'heure de début et de fin de chirurgie, les horaires des prélèvements sanguins et de tissus graisseux, le volume estimé de pertes sanguines et des apports liquidiens per-opératoires, et la survenue d'infection de site opératoire.

2.9 Suivi des patients

Un suivi de la survenue d'infection de site opératoire était effectué soit au moment de la consultation chirurgicale avec le Dr Letessier à 30 jours, soit par contact téléphonique auprès du patient.

2.10 Déroulement du protocole

Lors de la consultation chirurgicale était prélevé un bilan pré opératoire qui comportait la créatininémie et l'albuminémie. Une information sur le protocole était réalisée pour les

patients qui remplissaient les critères d'inclusion et le consentement éclairé pouvait être obtenu dès cette consultation.

Lors de la visite pré anesthésique étaient vérifiés l'absence de critères d'exclusion et la signature du consentement éclairé. Si la participation au protocole n'avait pas été proposée lors de la consultation chirurgicale, une information était réalisée et le consentement éclairé était recherché.

Au bloc opératoire, environ 30 minutes avant l'incision chirurgicale, l'investigateur administrait la dose de 4 grammes de céfazoline au patient en intraveineux lent sur la voie veineuse dédiée. Les heures de début et de fin d'administration de l'antibioprophylaxie étaient reportées sur le CRF.

L'induction anesthésique était réalisée par l'anesthésiste et l'IADE, suivant un protocole associant du rémifentanyl et du propofol. Le choix du curare était laissé à l'appréciation du médecin en charge du patient.

Immédiatement après l'induction anesthésique, un site de prélèvement sanguin (pose d'un cathlon obturé) était posé sur le bras controlatéral au site de perfusion des solutés.

Au temps de l'incision chirurgicale et au temps de la fermeture le chirurgien réalisait les prélèvements tissulaires superficiels au niveau de la graisse sous cutanée et profonds au niveau de la graisse péri gastrique. Après prélèvement, l'investigateur étiquetait les échantillons qui étaient conservés à température ambiante au bloc opératoire. Au total, on prélevait 4 échantillons de graisse par patient.

Au temps de l'incision chirurgicale, à 15 min, à 30 min, et au temps de la fermeture l'investigateur réalisait les prélèvements sanguins veineux périphériques. Les tubes étaient homogénéisés à la main et étiquetés par l'investigateur. Après prélèvement, les échantillons étaient conservés à température ambiante au bloc opératoire. Au total on prélevait 4 échantillons sanguins par patient. En cas d'échec de prélèvement sanguin, du fait

d'impossibilité technique, le patient était tout de même inclus dans l'étude si les prélèvements de graisse étaient bien réalisés.

Les heures exactes des prélèvements tissulaires et plasmatiques étaient relevées lors de l'intervention, puis reportées dans le CRF.

A la fin de l'intervention chirurgicale, les prélèvements tissulaires graisseux et sanguins étaient envoyés au laboratoire de pharmacologie clinique du CHU de Nantes.

Un appel téléphonique au patient était réalisé à 30 jours de l'intervention afin de détecter la survenue d'une ISO. La présence ou l'absence d'ISO était reportée sur le CRF.

2.11 Traitement des échantillons

Les prélèvements tissulaires et sanguins étaient conservés à -20°C (stabilité d'au moins 5 mois pour le tissu graisseux et d'au moins 2 mois pour le sang) puis analysés par le laboratoire de pharmacologie clinique du CHU de Nantes afin de déterminer les concentrations tissulaires et plasmatiques en céfazoline.

Le prélèvement de tissu graisseux est techniqué [annexe 4] : 100 mg de tissu graisseux + 800 µl d'eau distillée sont homogénéisés par sonication, puis centrifugés. 500 µl de sous nageant sont récupérés, cette solution est déprotéinéisée en ajoutant 500 µl d'acétonitrile, puis elle est mélangée et centrifugée. 800 µl de surnageant sont récupérés puis lavé par 4 ml de dichlorométhane pour éliminer l'acétonitrile et des composés interférents (agitation puis centrifugation). Le surnageant lavé est injecté dans un système de chromatographie liquide (colonne symmetry C18 25 cm) avec une détection UV à 265 nm pour déterminer la concentration tissulaire en céfazoline.

Le prélèvement sanguin est techniqué [annexe 5] : 1 ml de plasma est déprotéinisé en ajoutant 1 ml d'Acétonitrile et les 2 ml sont centrifugés. Les 1,6 ml de surnageant sont lavés par 8 ml de Dichlorométhane pour éliminer l'acétonitrile, puis sont agités et centrifugés. Le surnageant

lavé est injecté dans un système de chromatographie liquide (colonne symmetry C18 25 cm) avec une détection UV à 265 nm pour déterminer la concentration plasmatique en céfazoline.

2.12 Germes identifiés en chirurgie bariatrique

Les germes les plus fréquemment en cause dans les ISO en chirurgie bariatrique sont pour les Cocci Gram positif : staphylococcus *Aureus*, Staphylococcus coagulasse négative, Streptocoques, Entérocoques ; pour les bactéries à Gram négatif : *E.Coli, Proteus Mirabilllis,* et les anaérobies [26-28].

2.13 CMI des germes identifiés en chirurgie bariatrique

Les CMI plasmatiques de la céfazoline pour ces germes sont de 0.25 à 4 mg/L pour les Staphylocoques méticillino-sensibles, de 1 à 8 mg/L *pour* E. *coli,* de 16 à 128 mg/L pour les Entérocoques (il existe une résistance naturelle), de 2 à 8 mg/L *pour Proteus mirabilis* [29,30].

2.14 Analyse statistique

Une analyse descriptive a été effectuée sur l'ensemble des variables. Les variables continues étaient exprimées en moyenne (± déviation standard). Les variables quantitatives étaient exprimées en nombre (pourcentage). Un test de Chi2 était utilisé pour les variables qualitatives. Le test de Mann-Whitney était employé pour les variables quantitatives. Le risque de première espèce était fixé à 5%. Les données ont été analysées à l'aide du logiciel Prism 6 (GraphPad, San Jose, CA).

RESULTATS

3.1 Population

Tous les patients sont allés au terme de l'étude. Aucun événement indésirable, grave ou non, imputable à cette étude n'a été retrouvé.

Au total 62 patients ont été inclus dans le groupe A, et 22 dans le groupe B.

Il existe une différence significative entre les groupe A et B pour le poids total (125,5 ± 16 kg versus 142,6 ± 15 kg, $p<0,0001$) et pour l'IMC (44,5 ± 3 kg/m2 versus 53,8 ± 3,8 kg/m2, $p<0,0001$).

Les caractéristiques de la population à l'inclusion sont présentées dans le tableau 1.

Tableau 1 : Caractéristiques de la population du groupe A (40≤IMC<50 kg/m2) et du groupe B (50≤IMC≤65 kg/m2) recevant un bolus de 4 g de céfazoline en antibioprophylaxie chirurgicale.

	Groupe A	Groupe B	*p*
	N = 62	N = 22	
Sexe masculin	14 (22,5)	5 (22,7)	
Age (années)	41,8 ± 10,5	41,8 ± 10,6	0,861
Taille (cm)	168 ± 9	163 ± 10	0,105
Poids total (kg)	125,5 ± 16	142,6 ± 15,3	< 0,0001
IMC (kg/m2)	44,5 ± 3	53,8 ± 3,8	< 0,0001
Surface cutanée (m2)	2,29 ± 0,2	2,36 ± 0,2	0,0386
Albuminémie (g/l)	37,7 ± 3,5	35,9 ± 3,2	0,0142
Créatininémie (µmol/l)	67,5 ± 13,2	59,6 ± 11,8	0,0125
Clairance de la créatinine (ml/min)	102 ± 21	113,3 ± 23	0,0418

Données exprimées en moyennes ± déviation standard ou n (%)

3.2 Données per-opératoire.

Il n'existe pas de différence significative entre les deux groupes pour l'intervalle entre la fin de l'administration de céfazoline et le début de la chirurgie (28 ± 19 min versus 23 ± 12 min, p= 0,223). Il existe une tendance non significative concernant la durée de la chirurgie (74 ± 20 min versus 85 ± 24 min, p= 0,0534).

L'ensemble des données est présenté dans le tableau 2.

Tableau 2 : Données per opératoire lors de la réalisation d'une sleevegastrectomie.

	Groupe A	Groupe B	*p*
Durée de perfusion de céfazoline (min)	7,9 ± 3,5	8,6 ± 4,4	0,55
Intervalle entre la fin de perfusion et l'incision chirurgicale (min)	28 ± 19	23 ± 12	0,223
Durée de la chirurgie (min)	74 ± 20	85 ± 24	0,0534
Volume estimé des pertes sanguines (ml)	30 ± 73	36 ± 67	0,97
Volume de cristalloïdes perfusé (ml)	729 ± 226	790 ± 322	0,34

Données exprimées en moyennes ± déviation standard

3.3 Pharmacocinétique

3.3.1 Critère principal

Pour le groupe A, la concentration tissulaire superficielle en céfazoline au temps de la fermeture (Tferm) était de 8,3 ± 4,1 μg/g de tissu graisseux.

Pour le groupe B, la concentration tissulaire superficielle en céfazoline au temps de la fermeture était de 7,7 ± 2,7 μg/g de tissu graisseux.

3.3.2 Critères secondaires

Pour le groupe A, la concentration tissulaire superficielle en céfazoline au temps de l'incision chirurgicale (T0) était de 11,3 ± 5,1 μg/g ; la concentration tissulaire profonde en céfazoline à T0 était de 9,6 ± 4,8 μg/g; la concentration tissulaire profonde en céfazoline à Tferm était de 7,6 ± 4 μg/g.

Pour le groupe B, la concentration tissulaire superficielle en céfazoline à T0 était de 11,1 ± 4,7 μg/g; la concentration tissulaire profonde en céfazoline à T0 était de 10 ± 4,6 μg/g; la concentration tissulaire profonde en céfazoline à Tferm était de 7,3 ± 2,9 μg/g (tableau 3).

Il n'existe pas de différence significative entre les groupes A et B que ce soit pour le volume de distribution (de 13,2 ± 3,9 l versus 13 ± 3 l, p= 0,97), pour la demi-vie d'élimination (102 ± 86 min versus 78 ± 44 min, p= 0,16) ou pour la clairance horaire (6,7 ± 2,7 l/h versus 8,3 ± 3,8 l/h, p= 0,099) (tableau 4).

Aucune infection de site opératoire n'a été observée dans les deux groupes.

Tableau 3 : paramètres pharmacocinétiques et pharmacodynamiques dans la graisse de la dose de 4 grammes de céfazoline en antibioprophylaxie de la chirurgie bariatrique, chez les patients du groupe A (40≤IMC≤50) n = 62, et du groupe B (50<IMC≤65) n = 22.

	Groupe A	Groupe B	*p*
C Tiss Supf T0 (µg/g)	11,3 ± 5,1	11,1 ± 4,7	0,92
C Tiss Supf Tferm (µg/g)	8,3 ± 4,12	7,7 ± 2,7	0,89
AUC graisse Supf (µg/g*h)	9,5 ±5,1	9,7 ± 3,9	0,83
C Tiss Pfde T0 (µg/g)	9,6 ± 4,8	10 ± 4,6	0,71
C Tiss Pfde Tferm (µg/g)	7,6 ± 4	7,3 ± 2,9	0,91
Intervalle T0 – Tferm (min)	58 ± 13	65 ± 23	0,32

T0 est le temps de l'incision chirurgicale ; Tferm est le temps de la fermeture chirurgicale ; C Tiss Supf est la Concentration Tissulaire graisseuse Superficielle ; C Tiss Pfde est la Concentration Tissulaire graisseuse Profonde ; AUC est l'Aire Sous la Courbe ; Intervalle T0-Tferm est le délai entre l'incision et la fermeture chirurgicale.
Données exprimées en moyennes ± déviation standard

Tableau 4 : paramètres pharmacocinétiques et pharmacodynamiques dans le plasma de la dose de 4 grammes de céfazoline en antibioprophylaxie de la chirurgie bariatrique, chez les patients du groupe A (40≤IMC≤50) n = 53, et du groupe B (50<IMC≤65) n = 16.

	Groupe A	Groupe B	*p*
AUC plasmatique (mg/l*h)	256 ± 92,4	229,4 ± 86,5	0,485
Vd (l)	13,2 ± 3 ,9	13 ± 3	0,97
T ½ (min)	102 ± 86	78 ± 44	0,16
Cl horaire (l/h)	6,7 ± 2,7	8,3 ± 3,8	0,099

AUC est l'Aire Sous la Courbe ; Vd est le Volume de Distribution ; T1/2 est le temps de demi-vie de la céfazoline, Cl horaire est la Clairance hoaraire de la céfazoline.
Données exprimées en moyennes ± déviation standard

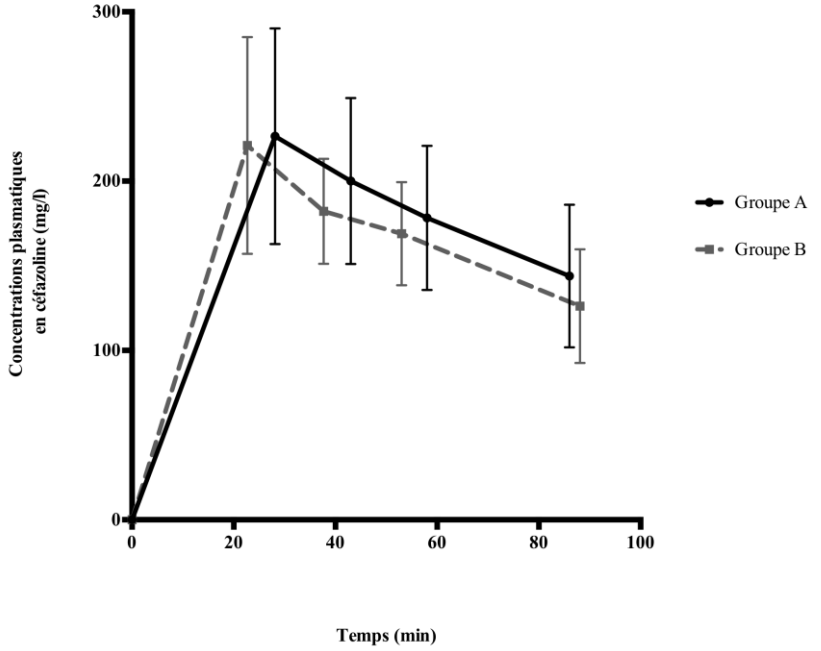


Fig 1 : Concentrations plasmatiques en céfazoline totale en fonction du temps chez les patients du groupe A (n= 53) et les patients du groupe B (n=16) après un bolus de 4 grammes de céfazoline. Sont représentés les moyennes et les écart-types.

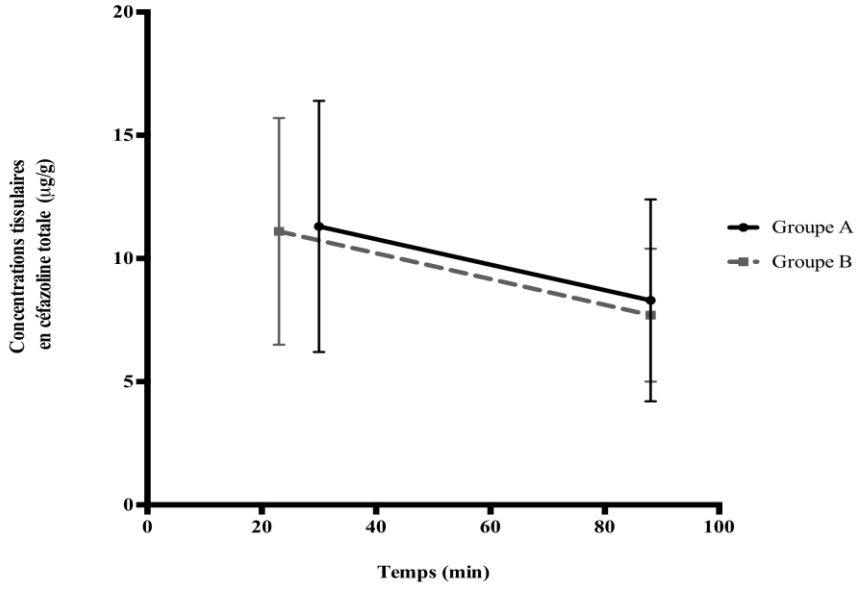


Fig 2 : Concentrations tissulaires en céfazoline dans la graisse superficielle en fonction du temps chez les patients du groupe A (n= 62) et les patients du groupe B (n= 22) après un bolus de 4 grammes de céfazoline. Sont représentés les moyennes et les écart-types.

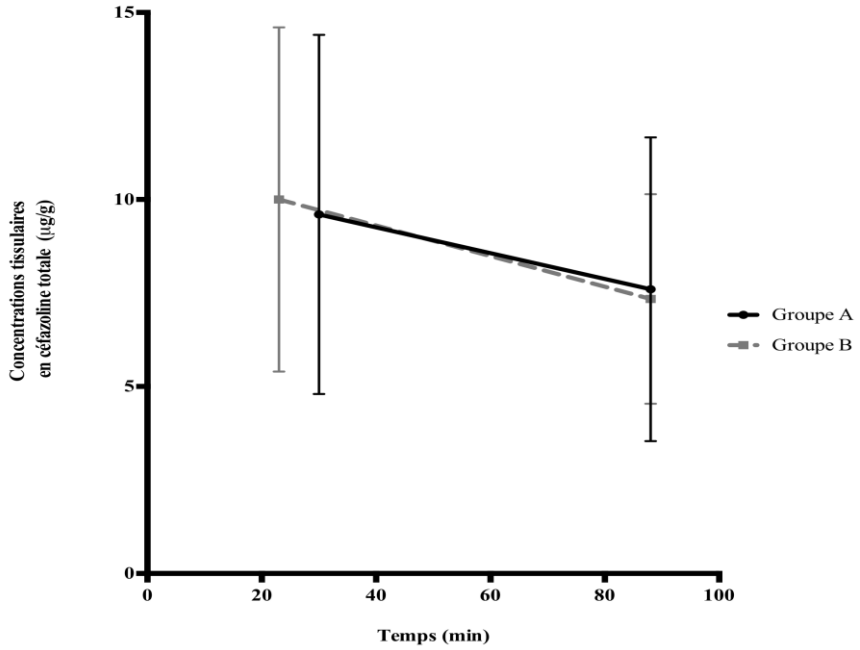


Fig 3 : Concentrations tissulaires en céfazoline dans la graisse profonde en fonction du temps chez les patients du groupe A (n= 62) et les patients du groupe B (n=22) après un bolus de 4 grammes de céfazoline. Sont représentés les moyennes et les écart-types.

DISCUSSION

Après une injection de 4 grammes de céfazoline en prophylaxie, les concentrations tissulaires moyennes en céfazoline dans la graisse superficielle retrouvées dans notre étude permettent une couverture efficace contre les principaux germes incriminés dans les ISO en chirurgie bariatrique pour les patients du groupe A (40≤IMC<50 kg/m2) et pour ceux du groupe B (50≤IMC≤65 kg/m2). En effet, les 2 groupes ont des concentrations tissulaires au temps de la fermeture supérieures à 4 microgrammes / gramme de tissu graisseux, la limite théorique de la résistance à la céfazoline. Cette cible de 4 microgrammes / gramme de tissu graisseux a été arbitrairement définie comme étant le seuil à atteindre. Deux études mesurant les concentrations tissulaires totales en céfazoline font l'approximation entre la CMI plasmatique exprimée en mg/l et la CMI dans le tissu graisseux exprimée en μg/g [31,32]. Cette approximation s'explique : la masse volumique de la graisse est de 0,92 kg/l, l'ordre de grandeur est donc le même. Par ailleurs, si la microdialyse reste la technique de référence pour déterminer une concentration en antibiotique dans le liquide interstitiel graisseux, dans notre étude, nous mesurons la concentration totale en céfazoline dans la graisse, incluant la part intracellulaire. Or, les céphalosporines sont des antibiotiques à pénétration intracellulaire très lente, et il n'existe pas d'accumulation intracellulaire du fait d'une vitesse d'efflux rapide. On peut donc considérer que les concentrations tissulaires en céfazoline retrouvées dans notre étude correspondent aux concentrations dans le secteur extra cellulaire graisseux. De plus, les Staphylocoques Aureus sont des germes exclusivement extra cellulaires avec une CMI à 4 mg/l pour la céfazoline, il était donc pertinent de prendre la cible de 4 μg/g comme cible dans cette étude.

La dose idéale de céfazoline en antibioprophylaxie de la chirurgie bariatrique reste sujette à controverse, et la littérature est assez pauvre sur le sujet. Dans une étude de 1981, l'administration de la dose de 1 gramme de céfazoline 2 heures avant la chirurgie puis à l'induction anesthésique diminuait significativement l'incidence des ISO en chirurgie

bariatrique de 21.7 % à 3.7 % par rapport à l'absence d'antibioprophylaxie [33]. Dans une autre étude de 1989, l'augmentation de la posologie de 1 gramme à 2 grammes de Céfazoline a permis de réduire les infections de 16,5% à 5,6% [34]. Plus récemment, Edmiston et al, en faisant des dosages de la concentration de céfazoline totale dans le plasma et la graisse, ont conclu que la dose de 2 grammes de céfazoline n'était pas suffisante chez les patients avec un IMC > 50 kg/m2 [31]. Pevzner et al, en réalisant des dosages dans la graisse après administration de 2 grammes de céfazoline chez 10 femmes obèses morbides (IMC 44,5 ± 4,5 kg/m2) ayant une césarienne retrouve que les concentrations en céfazoline dans la graisse sont insuffisantes chez un tiers des patientes [32]. Ho et al, en 2012, concluent qu'une injection de 2 grammes de céfazoline est suffisante quelque soit l'IMC pour assurer une protection efficace [35]. Choppra préconise une injection de 2g chez les patients obèses avec un IMC ≤ 50 kg/m2 et une injection de 3 g si l'IMC est > 50kg/m2 [26]. Au final, il existe plusieurs travaux contradictoires, étudiant des effectifs restreints, mesurant soit la concentration plasmatique en céfazoline (libre ou totale), soit la concentration dans le tissu graisseux, et qui ne permettent pas d'être affirmatif quant à la dose optimale de céfazoline en antibioprophylaxie dans la chirurgie bariatrique. Au sein du CHU de Nantes, le protocole local sur la réalisation de l'antibioprophylaxie préconise une administration de 4 grammes de céfazoline en cas de chirurgie bariatrique [36]. Ce protocole suit les recommandations de la SFAR de 2010 [25]. Notre étude préliminaire est la première a étudier les données pharmacocinétiques et pharmacodynamiques pour une dose de 4 grammes de céfazoline dans un effectif important de patients.

L'administration de la céfazoline se fait en intra veineux. Il n'existe donc pas de problème d'absorption qui peut être modifiée chez le patient obèse. Le premier temps de la pharmacocinétique de la céfazoline est sa concentration plasmatique en fonction du temps

(annexe 6). Dans notre travail, nous retrouvons des concentrations plasmatiques en céfazoline totale au temps de la fermeture, soit 88 minutes après la fin de l'injection, de 143,9 mg/l dans le groupe A, et de 126,2 mg/l dans le groupe B. Ces résultats montrent que l'augmentation de la dose de céfazoline à 4 grammes permet d'obtenir des concentrations en céfazoline totale plasmatiques à 90 minutes en hausse de 100 à 200% environ par rapport aux concentrations observées avec la dose de 2 grammes [31, 32,37].

Cependant, ces concentrations plasmatiques portent sur la céfazoline totale, incluant donc la partie liée aux protéines. La liaison aux protéines a un impact majeur sur la possibilité de l'antibiotique à diffuser du sang vers les tissus cibles. En effet la céfazoline liée aux protéines plasmatiques restera séquestrée dans le secteur intravasculaire, et n'aura pas d'effet antibiotique dans le tissu cible qui est la graisse sous cutanée. La liaison protéique influence la diffusion de l'antibiotique (annexe 6) et est donc un des facteurs déterminant de la concentration tissulaire. La différence entre la concentration plasmatique totale et la concentration tissulaire peut être très importante si le taux de liaison protéique est élevé [38]. Le taux de fixation protéique de la céfazoline est de 85 à 90 % dans les conditions physiologiques, donc seulement 10 à 15 % de sa concentration est disponible pour son effet antibiotique. Chez le patient obèse, les modifications possibles de la fixation protéique des médicaments sont encore floues : l'augmentation des triglycérides, des lipoprotéines du cholestérol et des acides gras pourraient favoriser une réduction des capacités de fixation protéiques des médicaments ; en revanche l'augmentation de certaines protéines comme l'alpha 1-glycoprotéine acide pourrait à l'inverse favoriser cette fixation protéique. La littérature est très pauvre sur ce sujet, la majorité des études publiées sur l'antibioprophylaxie en chirurgie bariatrique étudient la concentration plasmatique totale en antibiotique [31,39, 40]. Van Kralingen et al dans une étude de 2011 sur 20 patients obèses morbides (IMC 51 ±

10 kg/m2) retrouvent une liaison protéique médiane de la céfazoline de 79% (rang 74-82) [41].

Il est donc nécessaire de doser la céfazoline plasmatique non liée aux protéines afin de déterminer une concentration en céfazoline disponible pour l'effet antibiotique, et donc déduire une dose idéale en antibioprophylaxie. Dans notre étude, une analyse préliminaire de 16 patients du groupe A retrouve des taux plasmatiques de céfazoline libre au temps de la fermeture de 17,6 ± 9,9 mg/l. Sur cet échantillon, on observe que la dose de 4 g de céfazoline permet d'être au dessus des CMI des principaux germes incriminés dans les ISO en chirurgie bariatrique en fin d'intervention [29,30].

Un des objectifs de l'antibioprophylaxie est d'assurer une concentration minimale de l'antibiotique dans le tissu cible. La graisse superficielle sous cutanée est le site privilégié des infections de sites opératoires [18,23,24], notamment en chirurgie viscérale [18,24]. La distribution de la céfazoline dans la graisse est régie par une diffusion passive qui permet à la partie non liée de diffuser à travers les membranes du compartiment vasculaire vers les tissus (annexe 6). L'équilibre se fait rapidement entre le plasma et la graisse [42], et devrait permettre d'avoir des concentrations de céfazoline non liée identiques dans les deux compartiments. Cependant, ceci est basé sur l'hypothèse que le taux de pénétration de la céfazoline du plasma vers le tissu interstitiel graisseux est de 100% [43], alors que cela ne peut pas être garanti [44]. Brill et al ont montrés dans leur étude sur 8 patients obèses que ce taux de pénétration était inférieur à 100% [37]. Cela suggère que le dosage de la concentration tissulaire en céfazoline est le critère le plus pertinent pour déterminer l'efficacité de la dose de 4 g de céfazoline.

En comparaison avec le sujet non obèse, plusieurs études ont montrées une diminution de la concentration des antibiotiques dans le tissu graisseux sous cutané chez les patients obèses,

que ce soit avec la céfazoline [37], la céfoxitine [39], ou la ciprofloxacine [40]. Ces concentrations tissulaires diminuaient de manière corrélée à l'augmentation de l'IMC. Dans notre étude nous ne retrouvons pas de différence significative entre le groupe A et le groupe B pour l'aire sous la courbe (AUC) dans la graisse superficielle (9,55 ± 5,05 μg/g*h versus 9,745 ± 3,917 ; p= 0,83). L'aire sous la courbe reflète la pénétration de l'antibiotique dans le tissu graisseux. Nous ne retrouvons pas de corrélation entre l'AUC et l'IMC (r= -0,01 ; p= 0,9) ou entre l'AUC et le poids total (r= -0,01 ; p= 0,9). Ces diminutions de pénétration de l'antibiotique dans le tissu graisseux peuvent potentiellement être expliquées par la diminution du flux sanguin dans la graisse. Chez le patient obèse, les modifications de l'hémodynamique et des flux sanguins locaux ont des conséquences sur la cinétique des médicaments : les tissus gras reçoivent près de 5% du débit cardiaque alors que les organes en reçoivent 73% et les tissus maigres 22%. Même si chez le sujet obèse le débit cardiaque et le volume sanguin total sont augmentés, le flux sanguin par gramme de tissu adipeux est inférieur à celui d'un sujet de poids normal. Ceci a déjà été montré dans des travaux comparant les flux sanguins dans la graisse sous cutanée des patients obèses à ceux de sujets sains [45,46].

Dans notre étude, le volume de distribution est de 13.2 l ± 3 .9 dans le groupe A versus 13 ± 3 (p=0,97) dans le groupe B. Nous retrouvons une corrélation entre le l'augmentation du volume distribution et le poids total (r= 0,299 ; p= 0,01), ce qui confirme les données de Van Kralingen [41]. Le volume de distribution détermine le pic maximal de concentration plasmatique qui sera atteint, et détermine ainsi le calcul de la dose de charge. Chez le patient obèse, le volume de distribution est augmenté du fait de l'excès de poids qui est constitué de 30% d'eau [48]. Il a aussi déjà été montré que le volume sanguin chez ces patients est plus important [49]. Pour la vancomycine, antibiotique hydrophile comme la céfazoline, le volume

de distribution lors d'une administration unique est augmenté de 13 à 49 % chez les sujets obèses par rapport aux sujets non obèses et la clairance est en moyenne 2,5 fois plus élevée [47].

Nous retrouvons une demi-vie d'élimination comparable entre les patients du groupe A et les patients du groupe B (102 ± 86 min versus 78 ± 44 min, p= 0.16) et nous ne retrouvons pas de différence significative entre les clairances horaire de la céfazoline des deux groupes (p= 0.099). La demi-vie d'élimination d'un médicament est calculée en fonction du volume de distribution sur la clairance horaire. Nous ne retrouvons pas de corrélation entre le poids total et la clairance de la céfazoline (r= 0,16 ; p= 0,17) mais nous retrouvons une corrélation moyenne entre l'âge et la clairance de la céfazoline (r= -0,44 ; p< 0,001). Ceci appuie les résultats de l'étude de Van Kralingen [41]. La céfazoline est majoritairement éliminée par filtration glomérulaire. L'effet de l'obésité sur la fonction rénale est variable : il existe une plus grande incidence de l'insuffisance rénale du fait des comorbidités fréquemment associées, comme l'hypertension et le diabète. Cependant, chez les patients obèses ne souffrant pas d'insuffisance rénale, la clairance rénale des médicaments est augmentée [47], en rapport avec une élévation du débit sanguin rénal, de la filtration glomérulaire et de la masse rénale, ceci parallèlement à la clairance de la créatinine. Ces paramètres pharmacocinétiques vont déterminer la rapidité d'élimination de la céfazoline. A l'aide des simulations de Monte Carlo réalisées ultérieurement, le timing idéal de réinjection ainsi que la dose nécessaire afin de maintenir des concentrations tissulaires et plasmatiques suffisantes seront calculés.

Nous n'avons pas constaté d'ISO au cours de cette étude. Ce résultat était attendu : les complications postopératoires de la sleeve gastrectomie sont moins importantes que celles du bypass gastrique. Ceci est à mettre sur le compte de la chirurgie elle même [50], et de

l'expérience du chirurgien, qui a réalisé plus de 800 sleevegastrectomies. Ce n'était pas l'objectif de cette étude, l'effectif est trop faible pour avoir une puissance statistique suffisante.

Dans notre étude, les délais entre la fin d'administration de la céfazoline et l'incision étaient de 28 minutes ± 19 pour le groupe A et de 23 minutes ± 12 pour le groupe B. Pour que la concentration plasmatique et tissulaire en céfazoline soit supérieure aux CMI de ces germes, le timing de l'administration de l'antibioprophylaxie est important. Classen et al montrait qu'il existait une courbe de relation en forme de «bol» entre la durée de l'intervalle depuis l'injection de l'antibiotique par rapport à l'incision chirurgicale et le taux d'infection observé en postopératoire [51], résultat retrouvé dans une étude de Van Kasteren en 2007 [52]. Le temps optimal d'administration de l'antibioprophylaxie dans ces deux études se situait dans le créneau d'une heure avant l'incision, sans distinguo à l'intérieur de cette heure, alors que le taux d'infection augmentait régulièrement lorsque l'on s'éloignait de cette première heure. Nous avons respecté les recommandations de la SFAR dans sa conférence de consensus de 2010 sur l'antibioprophylaxie chirurgicale qui recommande une injection environ 30 minutes avant l'incision.

On peut se demander si la procédure anesthésique ou chirurgicale influe sur les paramètres pharmacocinétiques. En effet, les anesthésiques halogénés peuvent potentiellement influencer les concentrations en céfazoline en diminuant le débit de filtration glomérulaire. Mais une étude sur la pharmacocinétique de la céfazoline comparant l'effet de l'anesthésie générale entretenue par halogénés versus l'anesthésie médullaire ne trouvait pas de différence entre les deux groupes dans la concentration plasmatique moyenne ou la demi-vie plasmatique [53]. La chirurgie peut potentiellement elle aussi avoir une influence, du fait des pertes sanguines occasionnées. Plusieurs études montrent que le saignement per-opératoire a peu d'effet sur les paramètres pharmacocinétiques s'il est inférieur à 1200 ml [54,55]. Dans notre étude, les

pertes sanguines moyennes étaient inférieures à 50 ml. On peut donc raisonnablement conclure que les procédures anesthésiques et chirurgicales n'ont pas influencés nos résultats.

Une des limites de ce travail est la technique de dosage de la céfazoline dans la graisse utilisée. En effet, la technique de référence pour ce type de dosage est la microdialyse [56]. Cependant, une telle technique présente certains inconvénients : elle est invasive, nécessite une calibration et un manipulateur expérimenté. Au regard du nombre de patients inclus et des contraintes de temps liées au programme opératoire, la microdialyse était inenvisageable pour ce travail. Une autre limite dans l'interprétation de nos résultats est la durée de la chirurgie. La sleeve gastrectomie est une chirurgie relativement courte et le chirurgien était expérimenté : nous avons donc analysés des cinétiques sur 90 minutes seulement. Cependant, une analyse de Monte Carlo sera réalisée au terme de l'étude CEFASLEEVE, permettant d'extrapoler nos résultats sur une durée plus longue. Enfin, les calculs d'effectifs afin d'obtenir une puissance de 90% prévoyaient 133 inclusions. Comme nous présentons les résultats préliminaires, cet objectif d'inclusion et donc de puissance n'est pas atteint.

.

CONCLUSION

Cette étude avait pour but d'étudier la pharmacocinétique tissulaire et plasmatique de la dose de 4 grammes de céfazoline administrée en antibioprophylaxie dans la chirurgie bariatrique. Au regard de nos résultats, il apparaît que cette dose permet d'obtenir des concentrations tissulaires supérieures aux CMI du *staphylocoque Aureus*, principal germe incriminé dans les ISO superficielles après une sleeve gastrectomie. Cependant, la durée moyenne de la chirurgie était d'environ 80 minutes, et on observe une décroissance rapide des concentrations tissulaires en céfazoline. Pour une chirurgie longue, une réinjection semble nécessaire. Des simulations de Monte Carlo seront réalisées suite à ce travail afin de déterminer le timing optimal de réinjection ainsi que la dose à réinjecter.

BIBLIOGRAPHIE

1 Enquête épidémiologique nationale sur le surpoids et l'obésité, 2009. Inserm / TNS Healthcare / Roche

2 World Health Organization Controlling the global obesity epidemic. Disponible à : http://www.who.int/nutrition/topics/obesity/en/index.html.

3 Ogden CL, Carroll MD, Kit BK et al. Prevalence of obesity in the United States, 2009 – 2010. *NCHS Data Brief* 2012;**82**:1-8.

4 The challenge of obesity in the WHO European Region and the strategies for response. Disponible à : http://www.euro.-who.int/data/assets/pdf_file/0008/ 98243/E89858.pdf

5 Jacobi D, Buzelé R, Couet C. Peut on parler de pandémie d'obésité ? *La Presse médicale* 2010;**39**:902-906.

6 Ayyad C, Andersen T. Long-term efficacy of dietary treatment of obesity. A systematic review of studies published between 1931 and 1999. *Obes Rev* 2000;**1**:113–9.

7 Agence nationale d'accréditation et d'évaluation de santé. Chirurgie de l'obésité morbide de l'adulte. 2001.

8 Consensus Development Conference Panel; Gastrointestinal Surgery for Severe Obesity. *Annals of Internal Medicine* 1991;**115**:956-961.

9 Sjöström L and the Swedish Obese Subjects Study Scientific Group. Lifestyle, diabetes, and cardiovascular risk factors 10 year after bariatric surgery. *N Engl J Med* 2004;**351**:2683–93.

10 Greenberg JA and Robinson MK. Surgery : How safe is bariatric surgery? *Nat Rev Endocrinol* 2009;**5**:645-6.

11 Olsen MA, Higham-Kessler J, Yokoe DS, et al. Developing a risk stratification model for surgical site infection after abdominal hysterectomy. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2009;**30**:1077–108.

12 Waisbren E, Rosen H, Bader AM, Eriksson E. Percent body fat and prediction of surgical site infection. *J Am Coll Surg* 2010;**210**:381–389.

13 Di Leo A, Piffer S, Ricci F, Manzi A, Poggi E, Porretto V et al. Surgical site infections in an Italian surgical ward: a prospective study. *Surg Infect* 2009;**10**:533–538.

14 Beldi G, Bisch-Knaden S, Banz V, Muhlemann K, Candinas D. Impact of intraoperative behavior on surgical site infections. *Am J Surg* 2009;**198**:157–162.

15 Falagas ME, Kompoti M. Obesity and infection. *Lancet Infect Dis* 2006;**6**:438 – 46.

16 Dindo D, Muller MK, Weber M et al. Obesity in general elective surgery. *Lancet* 2003;**361**:2032–5.

17 Lietard C, Lejeune B, Rothan-Tondeur M, Metzger MH, Bruno Coignar. Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales 2006. 2009.

18 Surveillance des infections de site opératoire en France en 2007. Réseau d'alerte, d'Investigationet de Surveillance des Infections Nosocomiales. INVS 2009

19 Burke JP. Infection control - a problem for patient safety. *N Engl J Med* 2003;**348**:651-6.

20 National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) report, data summary from October 1986-April 1996. A report from the National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System. *Am J Infect Control* 1996;**24**:380-8.

21 Wong ES. Surgical site infection. Hospital Epidemiology and Infection Control. 2nd ed. Philadelphia, PA: Lippincott; 1999:189–210.

22 Actualisation de la définition des infections nosocomiales, CTINILS 2007

23 Savey A., Hajjar J., Caillat-Vallet E., Fabry J. Réseau de surveillance Sud-Est des infections du site opératoire : rapport général 1999-2001. CCLIN 2002

24 Surveillance des infections de site opératoire en France de 1999 à 2004. Réseau d'alerte, d'Investigationet de Surveillance des Infections Nosocomiales. INVS 2006

25 Antibioprophylaxie en chirurgie et médecine interventionnelle. (Patients adultes). SFAR. Actualisation 2010

26 Chopra et al. Preventing surgical site infections after bariatric surgery: value of perioperative antibiotic regimens. *Expert Rev Pharmacoecon Outcomes Res* 2010;**10**:317-28.

27 Christou NV, et al. Analysis of the incidence and risk factors for wound infections in open bariatric surgery. *Obes Surg* 2004;**14**:16-22.

28 Chopra et al. Epidemiology and outcomes associated with surgical site infection following bariatric surgery. *Am J Infect Control* 2012;**40**:815-9.

29 Clinical and laboratory standards institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing : twentieth informational supplément, M100-S20. Vol 30, No. 1. Wayne (PA);2010

30 Kahlmeter GBD, Canton T European commitee on antimicrobial susceptibility testing. Disponible à : www.eucast.org. Assessed 22 Mar 2011

31 Charles E. Edmiston et al. Perioperative antibiotic prophylaxis in the gastric bypass patient: Do we achieve therapeutic levels? *Surgery* 2004;**136**:738-47.

32 Pevzner L, Swank M, Krepel C, Chan K. Effects of maternal obesity on tissue concentrations of prophylactic cefazolin during ceserean delivery. *Obstet Gynecol* 2011;**117**:877-82.

33 Pories WJ, van Riji AM, Burlingham BT, Fulghum RS, Meelheim D. Prophylactic cefazolin in gastric bypass surgery. *Surgery* 1981;**90**:426-31.

34 Forse RA, Karam B, MacLean LD, Christou NV. Antibiotic prophylaxis for surgery in morbidly obese patients. *Surgery* 1989;**106**:750-6.

35 Ho VP, Nicolau DP, Dakin GF et al. Cefazolin dosing for surgical prophylaxis in morbidly obese patients. *Surg Infect* 2012;**13**:33-7.

36 Protocole d'établissement pour l'antibioprophylaxie en chirurgie et en médecine interventionnelle. CHU de Nantes. 2011.

37 Brill MJ, Houwink AP, Schidt S et al. Reduced subcutaneous tissue distribution of cefazolin in morbidly obese versus non-obese patients determined using clinical microdialysis. *J Antimicrob Chemother* 2014;**69**:715-23.

38 Liu P, Müller M, Derendorf H. Rationnal dosing of antibiotics : the use of plasma concentrations versus tissue concentrations. *Int J Antimicrob Agents* 2002;**19**:285-90.

39 Toma O, Suntrup P, Stefanescu A et al. Pharmacokinetics and tissue penetration of cefoxitin in obesity: implications for risk of surgical site infection. *Anesth Analg* 2011;**113**:730–7.

40 Hollenstein UM, Brunner M, Schmid R et al. Soft tissue concentrations of ciprofloxacin in obese and lean subjects following weight-adjusted dosing. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2001;**25**:354 – 8.

41 Van kralingen Pharmacokinetics and protein binding of cefazolin in morbidly obese patients. *Eur J clin pharmacol* 2011;**67**:985-92.

42 Lin JH : Tissue distribution and and pharmacodynamics : a complicated Relationship. *Curr Drug Metab* 2006;**7**:39-65.

43 Theuretzbacher U. Tissue penetration of antibacterial agents: how should this be incorporated into pharmacodynamic analyses? *Curr Opin Pharmacol* 2007;**7**:498–504.

44 Muller M, dela Pena A, Derendorf H. Issues in pharmacokinetics and pharmacodynamics of anti infective agents : distribution in tissue. *Antimicrob Agents Chemoter* 2004;**48**:1441-53.

45 Summers LK, Samra JS, Humphreys SM et al. Subcutaneous abdominal adipose tissue blood flow: variation within and between subjects and relationship to obesity. *Clin Sci (Lond)* 1996;**91**:679 – 83.

46 Rossi M, Nannipieri M, Anselmino M et al. Subcutaneous adipose tissue blood flow and vasomotion in morbidly obese patients: long term effect of gastric bypass surgery. *Clin Hemorheol Microcirc* 2012;**51**:159 – 67.

47 Ducharme MP, Slaughter RL, Edwards DJ. Vancomycin pharmacokinetics in a patient population: effect of age, gender, and body weight. *Ther Drug Monit* 1994;**16**:513–8.

48 Harbarth S, Samore MH, Lichtenberg D, et al. Prolonged antibiotic prophylaxis after cardiovascular surgery and its effect on surgical site infections and antimicrobial resistance. *Circulation* 2000;**101**:2916– 2921.

49 Alexander JK. Blood volume, cardiac output and distribution of systemic blood flow in extrême obesity . *Cardiovasc Res Cent Bull* 1962;**1**:39-44.

50 Mizrahi I1, Alkurd A, Ghanem M, Zugayar D. Outcomes of Laparoscopic Sleeve Gastrectomy in Patients Older than 60 Years. *Obes Surg* 2014.

51 Classen et coll. The timing of prophylactic administration of antibiotics and the risk of surgical-wound infection. *N Engl J Med* 1992;**326**:281-6.

52 Van Kasteren ME, Manniën J, Ott A, Kullberq BJ, de Boer AS, Gyssens IC. Antibiotic prophylaxis and the risk of surgical site infections following total hip arthroplasty: timely administration is the most important factor. *Clin Infect Dis* 2007;**44**:921-7.

53 Welch WD. Effects of general and local anesthesia on the pharmacokinetics of cefazolin in patients undergoing orthopedic surgery. *Antimicrob Agents Chemoter* 1985;**27**:874-5.

54 Sue D, Salazar TA, Turley K, Guglielmo BJ. Effect of surgical blood loss and volume replacement on antibiotic pharmacokinetics. *Ann Thorac Surg* 1989;**47**:857–859

55 Swoboda SM, Merz C, Kostuik J, Trentler B, Lipsett PA. Does intraoperative blood loss affect antibiotic serum and tissue concentrations? *Arch Surg* 1996;**131**:1165–1171.

56 Schmidt S. Clinical microdialysis in skin and soft tissue : an update. *J clin Pharmacol* 2008;**48**:351-64.

ANNEXES

Annexe 1 : La sleeve gastrectomie

Annexe 2 : formulaire de consentement

Direction de la Recherche **Version n° 1** **Date : 01/08/2011**	**Attestation de consentement à une recherche** **« Protocole CEFASLEEVE : Etude préliminaire, prospective, monocentrique : pharmacocinétique tissulaire et plasmatique de la céfazoline dans l'antibioprophylaxie en chirurgie bariatrique »** **Promoteur *: CHU de Nantes*** **Ref : BRD 11/6-R *N° EudracT / n° d'enregistrement : XXX***

Je soussigné(e)

M^e^, M^lle^, M. *(rayer les mentions inutiles) (prénom, nom)* ……

……,

Date de naissance :…../……/…….

accepte librement et volontairement de participer à la recherche référencée ci-dessus, coordonnée par le Docteur ROQUILLY Antoine et organisée par le CHU de Nantes, promoteur de la recherche.

Etant entendu que :

- Le médecin qui m'a informé(e) et a répondu clairement à toutes mes questions, m'a précisé que ma participation est libre et que je peux me retirer de la recherche à tout moment.
- Il m'a été préalablement remis une note d'information sur cette recherche précisant son but, sa méthodologie, ses bénéfices attendus et ses risques prévisibles.
- Je pourrai avoir communication par le médecin, au cours ou à l'issue de la recherche, des informations qu'il détient concernant ma santé.
- J'ai bien compris dans la note d'information qui m'a été remise que pour pouvoir participer à cette recherche je dois être affilié(e) ou bénéficier d'un régime de sécurité sociale. Je confirme que c'est bien le cas.
- Je suis parfaitement conscient(e) que je peux retirer à tout moment mon consentement à ma participation à cette recherche et cela quelles que soient mes raisons et sans supporter aucune responsabilité, mais je m'engage dans ce cas à en informer le médecin. Le fait de ne plus participer à cette recherche ne portera pas atteinte à mes relations avec ce médecin, ni à la qualité des soins qui me seront donnés.
- Je pourrai à tout moment demander des informations complémentaires au médecin.
- Si je le souhaite, à son terme, je serai informé(e) par le médecin des résultats globaux de cette recherche.
- Mon consentement ne décharge en rien le médecin et le promoteur de l'ensemble de leurs responsabilités et je conserve tous mes droits garantis par la loi.

- *Je pourrai participer à une autre recherche biomédicale si celle-ci n'entraine pas de prescription de céfazoline, et ceci pendant toute ma participation à cette recherche, jusqu'à sa fin.*
- *J'accepte que les données enregistrées à l'occasion de cette recherche puissent faire l'objet d'un traitement informatisé par le promoteur ou pour son compte. J'ai bien noté que le droit d'accès prévu par la CNIL (loi du 6 janvier 1978 modifiée relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés (art. 39)) s'exerce à tout moment auprès du médecin qui me suit dans le cadre de la recherche et qui connaît mon identité. Je pourrai exercer mon droit de rectification et d'opposition auprès de ce même médecin, qui en informera le promoteur de la recherche.*
- *J'accepte que les personnes en charge du suivi de la recherche aient accès aux données de mon dossier médical.*

Date : Signature du patient :	*Si recours à un témoin* Date : Signature du témoin :

Signature du médecin qui atteste avoir pleinement expliqué à la personne signataire le but, les modalités ainsi que les risques potentiels de la recherche.

Date : Nom et Signature :

Ce document est à réaliser en 2 exemplaires originaux : le premier doit être conservé par l'investigateur et le deuxième est remis à la personne donnant son consentement. En cas de duplicata, l'original est conservé par l'investigateur et une copie est remise à la personne ayant donné son consentement.

Annexe 3 : formulaire d'information

CENTRE HOSPITALIER UNIVERSITAIRE DE NANTES

Direction de la recherche

Note d'information pour la participation à la recherche

Protocole Céfasleeve

« Etude préliminaire, prospective, monocentrique : pharmacocinétique tissulaire et plasmatique de la céfazoline dans l'antibioprophylaxie en chirurgie bariatrique »

SOMMAIRE

SOMMAIRE ____ *1*

COMMENT VOUS DECIDER ? ____ *2*

QUE SAIT-ON DEJA SUR LE PRODUIT A L'ETUDE ? ____ *2*

QUEL EST LE BUT DE CETTE RECHERCHE ? QUEL EST SON DEROULEMENT GENERAL ? ____ *2*

QU'ARRIVERA T-IL PENDANT LA RECHERCHE ? QU'AUREZ-VOUS A FAIRE ? ____ *3*

QUELS SONT LES RISQUES ? ____ *3*

QUELS SONT LES BENEFICES QUE VOUS POUVEZ ESPERER ? ____ *4*

QUE SE PASSERA-T-IL A LA FIN DE LA RECHERCHE, SI LA RECHERCHE S'ARRETE OU SI VOUS DECIDEZ D'INTERROMPRE VOTRE PARTICIPATION ? ____ *4*

AUREZ-VOUS DES FRAIS SUPPLEMENTAIRES ? ____ *4*

QUELS SONT VOS DROITS PENDANT LA RECHERCHE ? ____ *4*

QUELLES SONT VOS OBLIGATIONS PENDANT LA RECHERCHE ? ____ *5*

LE CADRE REGLEMENTAIRE ____ *6*

QUEL EST LE DEVENIR DE VOS ECHANTILLONS PRELEVES AU COURS DE LA RECHERCHE ? ____ *6*

EN RESUME…. ____ *7*

ANNEXE 1 : LES CONTACTS IMPORTANTS : ____ *8*

Madame, Mademoiselle, Monsieur,

Dans le cadre de la prise en charge chirurgicale de votre obésité, nous vous proposons de participer à une recherche biomédicale nommée « protocole CEFASLEEVE». Cette recherche a pour but de savoir si les antibiotiques que l'on vous administre avant l'intervention afin d'éviter des infections du site opératoire sont efficaces.

Le CHU de Nantes est le promoteur de cette recherche, c'est à dire qu'il en est responsable et qu'il l'organise.

COMMENT VOUS DECIDER ?

- Votre médecin-investigateur vous a donné des explications. Elles sont résumées dans ce document intitulé « note d'information ». Nous vous invitons à le lire attentivement avant de vous décider. Vous avez jusqu'à la veille de l'intervention pour vous décider.

- Si vous décidez de participer à cette recherche, on vous demandera de signer une attestation de consentement. Cette attestation sera aussi signée par votre médecin. Cette signature confirmera que vous êtes d'accord pour participer à la recherche. Votre signature est indispensable, ainsi que celle du médecin. Même après avoir signé pour donner votre accord de participation, vous garderez le droit d'interrompre à tout moment votre participation sans avoir à vous justifier.

QUE SAIT-ON DEJA SUR LE PRODUIT A L'ETUDE ?

CEFAZOLINE SODIQUE

La céfazoline est l'antibiotique de référence utilisé dans la chirurgie bariatrique pour prévenir l'apparition de complications infectieuses à type d'infection de site opératoire. L'injection de cet antibiotique avant la chirurgie permet d'empêcher la prolifération des bactéries qui viennent coloniser le site opératoire, c'est-à-dire la peau, la graisse sous cutanée et les organes profonds. Ces bactéries si elles prolifèrent peuvent provoquer des infections de site opératoire comme des abcès ou des écoulements purulents.
Cependant, pour que la céfazoline soit efficace, il faut que sa concentration dans la graisse et le sang soit supérieure à la concentration minimale inhibant leur développement. Pour ce faire, il faut que la dose de céfazoline que l'on vous injecte en préopératoire soit suffisante. Or il n'existe pour l'instant pas de donnée précise quant à la posologie idéale. Au vu des différentes études publiées, la dose de 3 grammes a été retenue, mais sans certitude quant à son efficacité.

QUEL EST LE BUT DE CETTE RECHERCHE ? QUEL EST SON DEROULEMENT GENERAL ?

Le but de cette recherche est de déterminer si la dose de 3 grammes est suffisante. En effet une première recherche a montré que la dose de 2 grammes de céfazoline est insuffisante. Depuis, la dose a été augmentée mais aucune recherche n'a prouvé l'efficacité de cette nouvelle dose.

Nous allons donc étudier les concentrations de la céfazoline dans la graisse et dans le sang à différents moments de la chirurgie, en réalisant plusieurs prélèvements de graisse et de sang.

Pour réaliser cette étude, nous allons suivre le déroulement habituel de la procédure anesthésique et chirurgicale. 3 grammes de céfazoline seront donc administrés avant la chirurgie, comme il est recommandé. L'anesthésie et la chirurgie se dérouleront suivant les procédures habituelles.
Des prélèvements de graisse sous cutanée et péri gastrique (environ 100 grammes de graisse par prélèvement) seront effectués par le chirurgien au début, au milieu et en fin d'intervention. Ces

prélèvements sont réalisés sous anesthésie générale, ils sont donc indolores, ne portent pas de préjudice esthétique et ne présentent aucun risque de complication ultérieure.

Des prélèvements sanguins (10 mL de sang par prélèvement) seront réalisés par l'infirmière anesthésiste au début de la chirurgie puis à 15, 30, 60 min après le début de la chirurgie et au moment de la fermeture chirurgicale. Ces prises de sang sont réalisées sous anesthésie générale et sont donc indolores. Il peut y avoir au cours d'une ponction veineuse l'apparition d'un hématome, qui sera temporaire et sans conséquence sur les suites opératoires.
Ces prélèvements sont ensuite envoyés au laboratoire du CHU de Nantes pour analyse, puis sont détruits.

Cette étude se déroule au sein du CHU de Nantes, sous la responsabilité du docteur Antoine ROQUILLY, médecin anesthésiste-réanimateur. Au total, 126 patients participeront à cette recherche qui est prévue pour se dérouler sur une période de 2 ans.

QU'ARRIVERA T-IL PENDANT LA RECHERCHE ? QU'AUREZ-VOUS A FAIRE ?

Votre participation éventuelle à cette recherche durera 30 jours.

Aucune consultation ni visite supplémentaire ne sera nécessaire par rapport à la pratique courante.

Votre accord pour participer à cette recherche impliquera les étapes suivantes:

- Lors de la consultation d'anesthésie : explication de la recherche par un médecin, recueil de votre consentement de participation, collecte des informations médicales, examen clinique . Si vous souhaitez un délai de réflexion avant de confirmer votre participation, vous pouvez rapporter votre consentement écrit au plus tard, la veille de la chirurgie.

- Lors de la chirurgie : réalisation des prélèvements sanguins et graisseux pendant l'opération. Pendant que vous serez anesthésié, le chirurgien réalisera 6 prélèvements de graisse au total à différents temps opératoires. Une série de 5 prélèvements sanguins sera aussi réalisée pendant l'opération par l'infirmier anesthésiste.

- Vous serez contacté par téléphone 30 jours après l'opération, afin de détecter la survenue ou non d'une infection du site opératoire.

- Par ailleurs, votre médecin traitant sera également informé de votre participation à l'étude et sera également contacté 30 jours après l'opération, afin de détecter l'éventuelle survenue d'une infection du site opératoire.

QUELS SONT LES RISQUES ?

Le fait de participer ou non à cette recherche ne changera rien au fait que vous recevrez de toute façon la dose d'antibiotique de 3 grammes de céfazoline intra veineux avec ré-injection de 2 grammes intra veineux si le temps opératoire est supérieur à 4 heures.

Tout le reste de la prise en charge restera identique.

Concernant l'anesthésie et la chirurgie, cette recherche ne présente aucun risque de plus que la prise en charge normale qui vous serait proposée si vous ne participiez pas à la recherche.

Les seuls risques supplémentaires de la recherche sont ceux, minimes, liés aux prélèvements sanguins, à savoir un risque d'hématome avec un risque infectieux faible et une gêne d'ordre esthétique. Ces événements seraient temporaires et sans conséquence sur les suites opératoires.

Concernant les risques de l'anesthésie, un formulaire de consentement et une feuille d'information spécifiques seront remis au moment de la consultation anesthésique pré-opératoire, conformément à la pratique courante.
En cas de problème, et à tout moment dans la recherche, vous devrez contacter votre le docteur Antoine ROQUILLY :
Service d'anesthésie-réanimation , CHU de Nantes
Place Alexis Ricordeau 44093Nantes CEDEX 1

QUELS SONT LES BENEFICES QUE VOUS POUVEZ ESPERER ?

- Bénéfices personnel thérapeutique attendu : cette recherche ne procure pas de bénéfice personnel car elle ne modifie pas la prise en charge recommandée.

- Bénéfice collectif attendu : Le bénéfice collectif de la réalisation de l'injection pré opératoire d'antibiotiques est une maîtrise des infections de sites opératoires. Pour que cet objectif soit atteint, il faut donc déterminer la dose idéale d'antibiotiques à administrer afin d'être efficace. La participation volontaire à une recherche biomédicale est utile à tous.

QUE SE PASSERA-T-IL A LA FIN DE LA RECHERCHE, SI LA RECHERCHE S'ARRETE OU SI VOUS DECIDEZ D'INTERROMPRE VOTRE PARTICIPATION ?

La recherche peut être interrompue à tout moment:

- par les autorités de santé,

- du fait du promoteur, le CHU de Nantes : si un élément nouveau survient, le médecin-investigateur en sera informé et il vous transmettra alors les éléments susceptibles de modifier votre participation.

- du fait du médecin-investigateur, pour des raisons médicales vous concernant : il peut décider à tout moment d'arrêter l'administration du produit à l'étude (par exemple à cause d'un effet secondaire ou d'une évolution de votre état de santé) et vous en informera.

- par vous-même : si vous décidez de participer à cette recherche, il s'agira d'un acte volontaire. Vous pourrez à tout moment décider d'arrêter votre participation, sans pénalité ni préjudice. Dans ce cas, vous devez informer le médecin-investigateur de votre décision.

Dans tous les cas, la qualité de votre prise en charge ne sera pas diminuée.

AUREZ-VOUS DES FRAIS SUPPLEMENTAIRES ?

Votre participation à cette recherche n'engendrera pour vous aucun frais supplémentaire par rapport à ceux que vous auriez dans la prise en charge habituelle de cette maladie.

QUELS SONT VOS DROITS PENDANT LA RECHERCHE ?

❖ SECRET PROFESSIONNEL

Le personnel impliqué dans la recherche est soumis au secret professionnel, tout comme votre médecin traitant.

❖ **ACCES AUX DONNEES VOUS CONCERNANT- TRAITEMENT DES DONNEES**

Dans le cadre de cette recherche, un traitement informatique de vos données personnelles va être mis en oeuvre : cela permettra d'analyser les résultats de la recherche et de remplir l'objectif de la recherche.

Pour cela, les données médicales vous concernant (et les données relatives à vos habitudes de vie), seront transmises au Promoteur de la recherche (CHU de Nantes) ou aux personnes ou sociétés agissant pour son compte. Ces données seront identifiées par un numéro de code et vos initiales.

Ces données pourront également, dans des conditions assurant leur confidentialité, être transmises aux autorités sanitaires habilitées. Conformément aux dispositions de la loi relative à l'informatique aux fichiers et aux libertés (loi modifiée du 6 janvier 1978), vous disposez d'un droit d'accès et de rectification. Vous disposez également d'un droit d'opposition à la transmission des données couvertes par le secret professionnel susceptibles d'être utilisées dans le cadre de cette recherche et d'être traitées.

Ces droits s'exercent auprès du médecin-investigateur qui vous suit dans le cadre de la recherche et qui connaît votre identité.

Vous pouvez également accéder directement ou par l'intermédiaire d'un médecin de votre choix à l'ensemble de vos données médicales en application des dispositions de l'article L 1111-7 du Code de la Santé Publique.

❖ **ACCES AUX RESULTATS GLOBAUX DE LA RECHERCHE**

A la fin de la recherche biomédicale, et à votre demande, vous pourrez être informé(e) par le médecin-investigateur des résultats globaux de cette recherche (dès qu'ils seront disponibles).

QUELLES SONT VOS OBLIGATIONS PENDANT LA RECHERCHE ?

❖ **VOS OBLIGATIONS**

Vous devez informer votre médecin investigateur de tous les médicaments que vous prenez.

Vous devez aussi l'informer immédiatement de tout effet indésirable éventuellement rencontré au cours de votre participation à la recherche.

Vous devez vous rendre aux visites prévues (pas de visite supplémentaire par rapport à la prise en charge normale).

❖ **PROTECTION SOCIALE**

Pour pouvoir participer à cette recherche vous devez être affilié(e) ou bénéficier d'un régime de sécurité sociale *(CMU acceptée)*.

❖ **MODALITES DE PARTICIPATION A UNE AUTRE RECHERCHE**

Vous pouvez participer simultanément à une autre étude pharmacologique si elle n'entraîne pas de prescription de céfazoline dans la période péri opératoire (1 semaine avant et 30 jours après la chirurgie)

LE CADRE REGLEMENTAIRE

Cette recherche est conforme :

- Aux articles L. 1121-1 à L. 1126-7 du code de la santé publique relatifs aux recherches biomédicales,

- A la loi « Informatique et Libertés » du 6 janvier 1978 modifiée.

(Vous pouvez retrouver tous ces textes sur le site http://www.legifrance.gouv.fr)

Conformément aux dispositions réglementaires :

- Le CHU de Nantes organise cette recherche en tant que « promoteur ». Il a souscrit un contrat d'assurance garantissant sa responsabilité civile et celle de tout intervenant auprès de la compagnie SHAM (contrat n°127 609).

- Cette recherche a reçu l'avis favorable du Comité de Protection Ouest XXXX le .../.../..... La recherche a aussi reçu l'autorisation de l'AFSSAPS (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé), le .../.../.....

QUEL EST LE DEVENIR DE VOS ECHANTILLONS PRELEVES AU COURS DE LA RECHERCHE ?

A la fin de la recherche, les échantillons biologiques résultant de votre prise en charge ne seront pas conservés.

EN RESUME.

Votre participation à cette recherche est libre. Vous pouvez refuser de participer à cette recherche.

De plus, vous pouvez à tout moment vous retirer de cette recherche, sans préjudice.

Si vous décidez de refuser de participer à la recherche ou si vous décidez d'arrêter votre participation pendant la recherche :

- **cela n'aura aucune conséquence sur la qualité des soins qui vous seront donnés**
- **vous devez simplement en informer votre médecin-investigateur.**

Lorsque vous aurez lu cette note d'information et obtenu les réponses aux questions que vous vous posez en interrogeant le médecin-investigateur Antoine ROQUILLY ou le médecin anesthésiste vu en consultation, il vous sera proposé, si vous en êtes d'accord, de donner votre consentement écrit en signant le formulaire préparé à cet effet.

Vous pouvez prendre votre temps avant de nous donner votre réponse.

Si vous acceptez de participer à la recherche, il faudra rapporter votre formulaire de consentement signé, au plus tard, la veille de la chirurgie.

Au cours de ce délai de réflexion, vous pouvez bien entendu continuer par téléphone à poser toutes les questions que vous souhaitez à votre médecin (Dr Antoine ROQUILLY)

Nous vous prions d'agréer, Madame, Mademoiselle, Monsieur, l'expression de nos sentiments les plus respectueux.

Dr Antoine ROQUILLY, médecin coordonnateur et investigateur principal,
et toute l'équipe médicale en charge de cette recherche

Vous devez conserver un exemplaire de ce document.

ANNEXES

ANNEXE 1 : LES CONTACTS IMPORTANTS :

Le promoteur de la recherche :

CHU de Nantes, direction de la recherche

✉ 5 allée de l'Ile Gloriette, 44093 NANTES Cedex 1

☎ 02 53 48 28 35

Le médecin-investigateur coordonnateur de la recherche :

ROQUILLY Antoine

✉ Service d'Anesthésie-réanimation

CHU de Nantes

Place Alexis Ricordeau

44093 NANTES CEDEX 1

☎ Tel :

Annexe 4 : mode opératoire du dosage de la céfazoline dans la graisse

CENTRE HOSPITALIER UNIVERSITAIRE DE NANTES **PHARMACOLOGIE -91.40** **Pôle de Biologie**	MODE OPERATOIRE **CEFAZOLINE EN HPLC** **DANS LE TISSU GRAISSEUX**	Page 1 / 3
U\Edailly\mes documents\Recherche Clinique\cefazoline\MO-TEC-CLHP-cefazoline_cefasleeve		A

ORIGINE DE LA METHODE
- Extraction: adaptée de "Perioperative antibiotic prophylaxis in the gastric bypass patient: Do we achieve therapeutic levels?"Edmiston et al ; Surgery , 2004, 136,738-747
- Chromatographie: mise au point en notre laboratoire

	Chaîne 7	Chaîne 9
Colonne	Colonne Symmetry C18, 5 µm, 25 cm « CEFAZOLINE »	Colonne Symmetry C18, 5 µm, 25 cm « CEFAZOLINE »
Phase mobile	160 ml de la solution (Eau D qsp 250 + H3PO4 85% 1.25 ml + NaOH 30% (armoire sécurisée sous évaporateur) 1.25 ml contrôler le pH de la solution qui est à 2.5) + 40 ml ACN	
Méthodes	Cefazoline	Cefazoline
Run	10 min (cefazoline = 6 min)	10 min (cefazoline = 6 min)
Débit (pression)	1.3 m l/min (180 bars)	1.3 m l/min (180 bars)
Longueur d'onde	265 nm	265 nm

1 . REACTIFS
- Acétonitrile
- Dichlorométhane
- Solution de Na2HPO4 0.1 M pH 7.4
  Na_2HPO_4.....17.79 g
  ED.....1 L
  Ajuster pH à 7.4

2 . SOLUTIONS ETALONS
Cefazoline se prend à la pharmacie de l'Hôtel-Dieu.

Conservation des solutions stocks: 15 jours .
- Solution stock de Céfazoline 1000 mg/l (1 flacon CEFAZOLINE 1g dans 1000 ml d'Eau D)
à diluer au 1/10 en eau D soit sol. fille de Céfazoline à 100 mg/l

Rédigé par : E Dailly Date le : 07/07/2011 Signature :	Approuvé par : G Deslandes Date le : 07/07/2011 Signature :	Validé par : E Dailly Date le : 07/07/2011 Signature :

5 . EXTRACTION

- rincer soigneusement le prélèvement par le tampon phosphate pH 7.4 puis le sécher
- à l'aide d'un scalpel,
  prélever 3 échantillons « patient » par prélèvement de tissu graisseux d'environ 100 mg
  prélever 4 échantillons « gamme d'étalonnage » de tissu graisseux sur le prélèvement de tissu graisseux de référence (congélateur 6 tiroir 8)
- peser exactement ces échantillons dans des cônes de 1.5 ml
- pour les 3 échantillons « patient », ajouter de l'eau glacée (800 µl d'eau pour 100 mg de tissu soit un rapport 1/8 m/m)
- pour les 4 échantillons « gamme d'étalonnage », ajouter (800 µl de solution diluée de cefazoline pour 100 mg de tissu soit un rapport 1/8 m/m) les solutions diluées de cefazoline suivantes

	cône 1	cône 2	cône 3	cône 4
Solutions diluées de céfazoline	10 mg/l	8 mg/l	5 mg/l	2 mg/l
Cefazoline 100 mg/l	100 µl	80 µl	50 µl	20 µl
Eau distillé glacée	900 µl	920 µl	950 µl	980 µl

- homogénéiser les échantillons « patient » et « gamme d'étalonnage » à l'aide du sonicateur :
  duty cycle = constant
  output : 4
  time : 2 (10 secondes)
- centrifuger les cônes 14 800 tours pendant 5 min
- récupérer 500 µl de « sous » nageant + 500 µl d'acétonitrile dans un cône de 1.5 ml
- vortex
- centrifuger les cônes 14 800 tours pendant 5 min
- récupérer 800 µl de surnageant + 4 ml de dichloromethane dans un tube en verre de 10 ml
- agitation horizontale pendant 10 min
- centrifuger les tubes à 3000 tours pendant 5 min
- récupérer 150 µl de surnageant
- injecter 50 µl

A la fin de série, rincer la colonne avec un mélange (80 ml eau distillée + 20 ml d' acétonitrile)

6 . RESULTATS

-Utiliser la feuille de calcul (U\Edailly\mes documents\Recherche Clinique\cefazoline\calcul):

- par régression linéaire (aire des pics en fonction des concentrations de la gamme d'étalonnage), calculer la pente de la droite d'étalonnage
- Utiliser cette pente pour calculer la concentration en cefazoline dans l'homogénat obtenu après sonication
- La concentration tissulaire (µg de cefazoline / g tissu graisseux) = [concentration en cefazoline dans l'homogénat en mg/l x volume d'eau ajoutée suivant le rapport 1/8 (m/m) en ml x 1000] / [masse du tissu graisseux prélevé en mg]

- Faire la moyenne des concentrations obtenues à partir des 3 échantillons « patients »

Annexe 5 : mode opératoire du dosage de la céfazoline dans le plasma

CENTRE HOSPITALIER UNIVERSITAIRE DE NANTES **PHARMACOLOGIE -91.40** **Pôle de Biologie**	MODE OPERATOIRE **CEFAZOLINE EN HPLC** **CEFACIDAL***	Page 1 / 2
W biologie\pharma\Laboratoire\GBEA Pharmacologie\Technique\Cephalosporines\MO-TEC-CLHP-cefazoline.doc_B		B

ORIGINE DE LA METHODE

- Extraction: adaptée de: JEHL F., MONTEIL MINCK R.. Mise au point et intérêt du dosage de cinq bêta-lactamines à l'aide de la chromatographie liquide à haute performance. (**Pathol. Biol.**: 1983, 31, 371-374).
- Chromatographie: mise au point en notre laboratoire

	Chaîne 7	Chaîne 9
Colonne	Colonne Symmetry C18, 5 µm, 25 cm « CEFAZOLINE »	Colonne Symmetry C18, 5 µm, 25 cm « CEFAZOLINE »
Phase mobile	160 ml de la solution (Eau D qsp 250 + H3PO4 85% 1.25 ml + lessive de NaOH 1.25 ml contrôler le pH de la solution qui est à 2.5) + 40 ml ACN	
Méthodes	Cefazoline.Mth	Cefazoline ss EI
Limite de quantification	0.5 mg/l	0.5 mg/l
Run	10 min (cefazoline = 6 min)	10 min (cefazoline = 6 min)
Débit (pression)	1.3 m l/min (180 bars)	1.3 m l/min (180 bars)
Longueur d'onde	265 nm	265 nm

1 . REACTIFS

- Acétonitrile
- Dichlorométhane

2 . SOLUTIONS ETALONS

Cefazoline se prend à la pharmacie de l'Hôtel-Dieu.

Conservation des solutions stocks: 15 jours .
- Solution stock de Céfazoline 1000 mg/l (1 flacon CEFACIDAL* 1g dans 1000 ml d'Eau D)
à diluer au 1/10 en eau D soit sol. fille de Céfazoline à 100 mg/l

3 . CONTROLE DE QUALITE

Contrôle qualité à 8 mg/l : 0.8 ml de cefazoline à 100 mg/L + 9.2 ml de plasma (conservation à -20°C

Rédigé par : E Dailly Date le : 27/01/2011 Signature :	Approuvé par : G Deslandes Date le : 27/01/2011 Signature :	Validé par : E Dailly Date le : 27/01/2011 Signature :

4 . PASSAGE DU MELANGE D'ESSAI

Injecter le mélange :

- 100 µl de céfazoline à 100 mg/l
- 900 µl d'eau D

Ce mélange peut être considéré comme un étalon 10 mg/l (la récupération est de 100% pour ce dosage car il s'agit d'un lavage des plasmas) .

5 . EXTRACTION (tubes en verre de 10 ml)

Conc en mg/l	0	5	10	15	20	Malade	Malade1/5
Céfazoline 100mg/l	0	50µl	100µl	150µl	200µl		
Pool de plasma	1ml	0.95ml	0.90ml	0.85ml	0.80ml		
Plasma à doser						1ml	1ml (dil1/5)
Acétonitrile	1ml	1ml	1ml	1ml	1ml	1ml	1ml

Boucher les tubes . Vibrax 2 mn . Centrifuger 5 mn 3000 tours/mn .

Dans un série de tubes en verre de 10 ml :

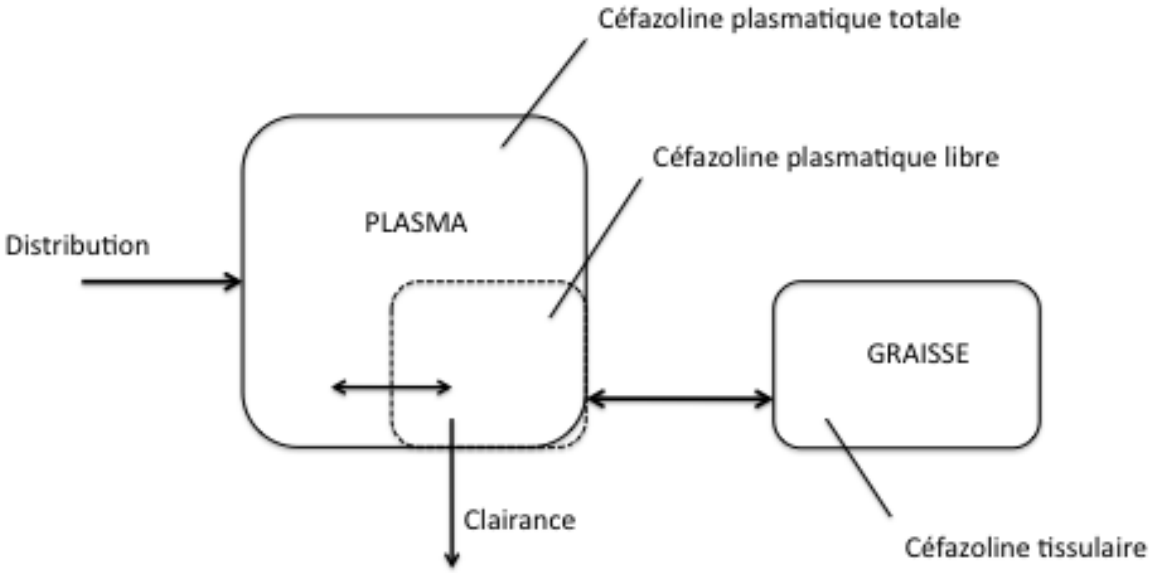
- 1.6 ml de surnageant
- 8.0 ml de Dichlorométhane

Boucher les tubes . Agiter à secousses 5 mn .
Veiller à l'absence de fuites aux bouchons .
Centrifuger 5 mn 3000 tours/mn .

On injectera la phase aqueuse supérieure en HPLC (ne pas agiter les tubes pour ne pas troubler le surnageant) .
A la fin de série, rincer la colonne avec un mélange (80 ml eau distillée + 20 ml d' acétonitrile)

Nom	a vu (date)	a fait accompagné (nom et date)	a fait seul (date)	validation (nom et date)
DENYS Vanessa	par expérience	par expérience	par expérience	27/01/11 (ED)
ERGAND Pascaline	par expérience	par expérience	par expérience	27/01/11 (ED)
ANGEBAULT Véronique	par expérience	par expérience	par expérience	27/01/11 (ED)
BARRE Nadine	par expérience	par expérience	par expérience	27/01/11 (ED)
NICOLEAU Claudine	par expérience	par expérience	par expérience	27/01/11 (ED)
COUTURIER Annie	par expérience	par expérience	par expérience	27/01/11 (ED)
LEGENDRE Marylène	par expérience	par expérience	par expérience	27/01/11 (ED)
RICHARD Laure	par expérience	par expérience	par expérience	27/01/11 (ED)
BAILLEUL Evelyne	par expérience	par expérience	par expérience	27/01/11 (ED)
DESLANDES Guillaume	par expérience	par expérience	par expérience	27/01/11 (ED)
DAILLY Eric	par expérience	par expérience	par expérience	27/01/11 (ED)

Annexe 6 : Schéma de la pharmacocinétique de la céfazoline dans la graisse.



NOM : RONCHI PRENOM : LUDOVIC

Titre de Thèse : CEFASLEEVE : Etude prospective, monocentrique, de pharmacocinétique tissulaire et plasmatique de la céfazoline dans l'antibioprophylaxie en chirurgie bariatrique. Résultats préliminaires.

RESUME

L'objectif de notre étude était de déterminer si la dose de 4 grammes de céfazoline administrée en antibioprophylaxie dans la chirurgie bariatrique permettait d'obtenir des concentrations tissulaires en antibiotique supérieures aux concentrations minimales inhibitrices des principaux germes incriminés dans les infections de site opératoire dans ce type de chirurgie. Il ressort que cette dose permet une couverture efficace contre le *Staphylocoque Aureus* pour une chirurgie courte. Une simulation de Monte-Carlo est nécessaire afin de déterminer le timing idéal de la réinjection.

MOTS-CLES

Céfazoline, antibioprophylaxie, chirurgie bariatrique, pharmacocinétique, concentration tissulaire, infection de site opératoire