

THÈSE
pour le
DIPLÔME D'ÉTAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE

par

Antoine RAMBAUD

Présentée et soutenue publiquement le vendredi 13 mars 2020

Quelle posologie d'amoxicilline doit-on administrer dans l'endocardite infectieuse ? Création d'un outil simple de médecine prédictive.

Président : Monsieur le Professeur Alain PINEAU
Directeur de thèse : Monsieur le Docteur Matthieu GRÉGOIRE
Membres du jury : Monsieur le Professeur Éric DAILLY
Monsieur le Docteur Benjamin GABORIT
Madame le Docteur Aurélie GUILLOUZOUIC

Remerciements

À Monsieur le Professeur Alain PINEAU, de me faire l'honneur de présider ce jury et de juger mon travail. Merci pour vos précieux conseils et votre bonne humeur. Huit ans après votre discours lors de mon premier jour à la faculté, je suis heureux de vous avoir comme président de jury.

À Monsieur le Docteur Matthieu GRÉGOIRE, de m'avoir fait l'honneur d'encadrer cette thèse. C'est toi qui m'as mis le pied à l'étrier de la pharmacologie. Merci de ta disponibilité, de tes conseils et de tes challenges, tous domaines confondus.

À Monsieur le Professeur Éric DAILLY, de me faire l'honneur de juger mon travail. Merci pour votre encadrement et votre bienveillance.

À Monsieur le Docteur Benjamin GABORIT, pour votre expertise et votre évaluation concernant mon travail. Votre maîtrise et votre abnégation sont une véritable source d'inspiration.

À Madame le Docteur Aurélie GUILLOUZOUIC, pour l'honneur que tu me fais de participer à ce jury. Merci de ta gentillesse, de ta bienveillance et de tes conseils.

À Sandy, pour ce bonheur que nous partageons tous les jours. Merci de ton amour, de ton soutien, de ta patience, de tes conseils, de ton humour et de toutes tes immenses qualités. Je ne serais jamais arrivé jusqu'ici sans toi et j'envisage avec bonheur les aventures qui nous attendent.

À mes parents, pour votre amour, votre éducation et votre soutien indéfectible. Je sais grâce à vous qu'il existe des choses bien plus importantes que le travail. Ces quelques lignes sont bien peu pour exprimer tout ce que je vous dois.

À mes frères Jean-Baptiste et Pierre, pour ces belles années passées ensemble, et celles à venir. Jean-Baptiste, merci pour tes conseils avisés, pour ta générosité et pour tout ce que tu m'as appris. Pierre, merci de ces bons moments partagés ensemble et de l'exemple que tu es.

Au reste de ma famille, pour votre appui et pour ces instants partagés. Éric mon parrain, tu es une incontestable source d'inspiration. Papy, pour ton humour et ta vision de la vie, merci d'avoir relu ce travail. Merci également à Stéphanie et Xavier pour votre précieuse relecture. Papy qui me regarde de là-haut, merci pour tout ce que tu m'as appris, pour tes conseils et la fierté que tu m'inspires.

À mes amis, à Valentin pour tous ces grands moments partagés à la fac et surtout en dehors. Aux Minions, Baptiste, Mona, Salomé, Marine, Capucine, Marie-Jeanne, Julie, Mina, Aymeric, Audrey et Marguerite pour toutes ces années de bonheur à vos côtés et pour celles à venir. À ma petite Anne, à Louise, Alexandre, Leïla, Aurèle, Emma, Léopold et Typhaine, chaque instant partagé avec vous est un grand moment.

Aux internes, pour ces parties de babyfoot endiablées et ces moments qui font de l'internat une période géniale de la vie. Ronan, merci pour ta participation indispensable à ce travail.

Table des matières

LISTE DES FIGURES	6
LISTE DES TABLEAUX	7
LISTE DES ABREVIATIONS	8
AVANT-PROPOS : HISTORIQUE	10
<i>Premières traces</i>	10
<i>Découverte des bactéries</i>	11
<i>Naissance de l'antibiothérapie</i>	13
<i>Découverte de la pénicilline</i>	17
<i>II^{de} guerre mondiale et développement de la pénicilline</i>	21
<i>Structure chimique</i>	26
PARTIE I : CONTEXTE SCIENTIFIQUE	31
<i>Introduction</i>	31
<i>Structure de la paroi bactérienne</i>	31
<i>Mécanisme d'action des β-lactamines</i>	36
<i>Mécanismes de résistance</i>	37
<i>Indications de l'amoxicilline</i>	38
<i>Pharmacocinétique de l'amoxicilline</i>	39
<i>Objectifs pharmacocinétique-pharmacodynamique/toxicodynamique (PK-PD/TD)</i>	40
<i>Amoxicilline et endocardite</i>	41
<i>Objectifs de la thèse</i>	44
PARTIE II : ARTICLE	45
<i>Contexte</i>	45
<i>Résumé détaillé</i>	46
<i>Article en anglais</i>	51
<i>Discussion générale</i>	81
<i>Conclusion</i>	84
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	85

Liste des figures

FIGURE 1 THESE D'ERNEST DUCHESNE, 1897	14
FIGURE 2 PAUL EHRLICH ET SAHACHIRO HATA, 1910	16
FIGURE 3 ARSALINATE DE SODIUM (ATOXYL), ARSPHENAMINE (SALVARSAN) ET NEOARSPHENAMINE (NEOSALVARSAN).....	16
FIGURE 4 INHIBITION DU STAPHYLOCOQUE PAR LE PENICILLIUM ET FLEMING DANS SON LABORATOIRE	18
FIGURE 5 SULFAMIDOCHRYSOÏDINE (PRONTOSIL), PROMEDICAMENT DU SULFANILAMIDE	20
FIGURE 6 <i>PENICILLIN AS A CHEMOTHERAPEUTIC AGENT</i> ET L'EQUIPE DE RECHERCHE D'OXFORD MENE PAR H. FLOREY	21
FIGURE 7 PRODUCTION DE PENICILLINE A PETITE ECHELLE PAR LES " <i>PENICILLIN GIRLS</i> "	22
FIGURE 8 " <i>DEEP-TANKS</i> " POUR LA PRODUCTION INDUSTRIELLE DE PENICILLINE ET AFFICHES PROSELYTES POUR LE DEVELOPPEMENT DE LA PENICILLINE AU SEIN DES FIRMES AMERICAINES 24	
FIGURE 9 FORMULE DEVELOPEE DE LA PENICILLINE G OBTENUE PAR DIFFRACTION DES RAYONS X, 1945	26
FIGURE 10 FORMULE DEVELOPEE DU NOYAU 6-AMINOPENICILLANIQUE, PHARMACOPHORE DES B- LACTAMINES, 1959	27
FIGURE 11 FORMULE DEVELOPEE DE L'AMOXICILLINE, 1972	28
FIGURE 12 NOYAU 6-AMINOPENICILLANIQUE ET LES RADICAUX CORRESPONDANTS AUX DIFFERENTES PENICILLINES.....	30
FIGURE 13 STRUCTURE DE LA PAROI DES BACTERIES A COLORATION DE GRAM POSITIVE OU NEGATIVE	32
FIGURE 14 STRUCTURE DU PEPTIDOGLYCANE	32
FIGURE 15 SYNTHÈSE DU PEPTIDOGLYCANE.....	34
FIGURE 16 ANALOGIE STRUCTURALE ENTRE LE MOTIF D-ALA-D-ALA ET LE NOYAU 6- AMINOPENICILLANIQUE DES B-LACTAMINES.....	36
FIGURE 17 PHYSIOPATHOLOGIE DE L'ENDOCARDITE INFECTIEUSE.....	41

Liste des tableaux

TABLEAU 1 : LISTE DES PENICILLINES ACTUELLEMENT SUR LE MARCHE EN FRANCE.....	29
TABLEAU 2 : STRUCTURE CHIMIQUE DES RADICAUX DE CHAQUE PENICILLINE.....	30
TABLEAU 3 : REPARTITION DES GERMES, LEUR PORTE D'ENTREE ET LEUR PRISE EN CHARGE DANS L'ENDOCARDITE INFECTIEUSE EN EUROPE ENTRE JANVIER 2016 ET MARS 2018, SELON LA COHORTE ESC-EORP-EURO- ENDO	43

Liste des abréviations

6-APA	<i>6-aminopenicillanic acid</i>
aGFR	<i>Absolute glomerular filtration rate</i>
ANAM	Acide N-acétylmuramique
AUC	<i>Area under the curve</i>
BIOS	<i>British intelligence objectives sub-committee</i>
BLSE	β -lactamase à spectre étendu
CIBA	<i>Chemische industrie in basel</i>
CIOS	<i>Combined intelligence objectives sub-committee</i>
CKD-EPI	<i>Chronic kidney disease – epidemiology collaboration</i>
CMI	Concentration minimale inhibitrice
CMR	<i>Committee on medical research</i>
C _p	Concentration plasmatique
DALI	<i>Defining antibiotic levels in intensive care unit patients</i>
DFG	Débit de filtration glomérulaire
ECCOF	<i>Epidemiological cut-off value</i>
ECCMID	<i>European congress of clinical microbiology and infectious diseases</i>
ECMO	<i>Extracorporeal membrane oxygenation</i>
EI	Endocardite infectieuse
ESCMID	<i>European society of clinical microbiology and infectious diseases</i>
IDSA	<i>Infectious diseases society of America</i>
JAC	<i>Journal of antimicrobial chemotherapy</i>
LD	<i>Loading dose</i>
LPS	Lipopolysaccharide
MDRD	<i>Modification of diet in renal disease study group</i>

NAG	N-acétylglucosamine
NRRL	<i>Northern regional research laboratory</i>
OSRD	<i>Office of scientific research and development</i>
PLP	Protéines liant les pénicillines
PK-PD	Pharmacocinétique-Pharmacodynamie
POET	<i>Partial oral treatment endocarditis trial</i>
RODEO	Relai oral dans le traitement des endocardites à staphylocoques ou streptocoques multisensibles
SFAR	Société française d'anesthésie et de réanimation
SFPT	Société française de pharmacologie et de thérapeutique
SPILF	Société de pathologie infectieuse de langue française
STP	Suivi thérapeutique pharmacologique
TD	Toxicodynamie
Vd	Volume de distribution
WPB	<i>War production board</i>

Avant-propos : Historique

« On ne connaît pas complètement une science tant qu'on n'en sait pas l'histoire »

Auguste Comte, 1830

Premières traces

L'histoire de la pharmacologie remonte en des temps immémoriaux, mais c'est aux environs de 2700 avant J-C que nous retrouvons les plus anciennes traces écrites avec deux ouvrages fondateurs : le *Nei-Jing* (ou « Classique interne de l'empereur Jaune ») de l'empereur Houáng Dì, premier traité de médecine chinoise traditionnelle, ainsi qu'un livre dédié aux drogues végétales, animales et minérales, le *Bencao-Jing* (ou « Classique de la matière médicale du Laboureur Céleste ») par l'empereur Shen-Nong et frère de Houáng Dì. C'est aussi dans la médecine chinoise traditionnelle que sont mentionnés les premiers traitements anti-infectieux avec l'utilisation du mercure contre la syphilis, du soufre contre la gale et de l'armoise annuelle contre toutes sortes de maladies.

La civilisation égyptienne apporta également son lot de traitements. Ainsi, sur des papyrus égyptiens datant des environs de 2000 avant J-C, il est mentionné l'utilisation de la levure de bière dans les affections intestinales (1).

Les premières traces d'antibiotiques datent d'environ 550 avant J-C avec la découverte de traces de tétracycline dans des ossements humains, à l'extrême sud de l'Égypte. Le régime alimentaire et l'ingestion d'aliments fermentés par des bactéries filamenteuses du genre *Streptomyces*, synthétisant naturellement cette molécule, sont vraisemblablement à l'origine de cette exposition. La tétracycline, de par sa conformation spatiale, s'intègre particulièrement à l'os et à l'émail. Ceci explique que l'on ait réussi à la détecter plusieurs siècles après, contrairement aux autres antibiotiques de l'époque (2).

Découverte des bactéries

En préambule de ce chapitre, il convient de rappeler qu'il y a encore quatre siècles, l'existence de micro-organismes n'était pas admise, ni même suspectée. Leur découverte a été permise par l'invention du microscope, dont les origines remontent à la fin du XVI^e siècle et qui est attribuée au hollandais Zacharias Jansen. Ces premiers microscopes très rudimentaires, ne contenant qu'une seule lentille, n'ont pas permis dans un premier temps de découverte médicale majeure, leur utilisation relevant davantage du divertissement que de la science. Il faut attendre les travaux d'un autre hollandais, Antoine Van Leeuwenhoek, pour que le monde découvre la microbiologie quelques années plus tard (3).

Ce jeune bourgeois, drapier de formation se passionna pour les microscopes (il en fabriqua plus d'une centaine au cours de sa vie) et observa au travers de sa lentille le monde qui l'entourait. C'est ainsi qu'il découvrit les premiers micro-organismes vivant dans une goutte d'eau de pluie. Il écrivit une lettre à la *Royal Society* en 1676 dans laquelle il décrit pour la première fois les « *animalcules* » présents dans l'eau : « *En l'an 1675, à la mi-septembre environ, je découvris de petits animaux dans l'eau de pluie qui avait séjourné quelques jours dans une nouvelle bassine dont l'intérieur était peint en bleu. [...] Ces petits animaux que je voyais étaient dix mille fois plus petits que la daphnie ou puce d'eau que l'on peut voir vivre et remuer à l'œil nu* » (4).

Bien que sceptique de voir un « pseudo-scientifique » faire une des découvertes les plus importantes de la science, la *Royal Society* envoya un de ses membres, Robert Hooke, spécialiste de la microscopie, vérifier les dires de ce jeune chercheur. Celui-ci authentifia effectivement sa découverte. Cet événement permit à Van Leeuwenhoek d'intégrer la prestigieuse société savante et d'y envoyer par la suite ses différentes observations. Il découvrit notamment que ces « *animalcules* » étaient sensibles à la chaleur en constatant que le café brûlant qu'il buvait le matin stérilisait le tartre de ses dents, habituellement grouillant de vie. Cependant, ni lui, ni aucun des scientifiques l'entourant, ne suspecta que ces micro-organismes pouvaient être la cause de nombreuses maladies humaines (5).

Il faudra attendre 39 ans après sa mort pour que Marc von Plenciz déclare en 1762 que les « *animalcules* » de Von Leeuwenhoek étaient responsables des maladies contagieuses. En 1835, l'italien Agostino Bassi démontra que la maladie du ver à soie (muscardine) était due à un champignon microscopique qui la rendait contagieuse, appuyant ainsi la théorie de von Plenciz (6).

Parmi les illustres personnages ayant participé à la découverte du rôle des bactéries en pathologie humaine et aux moyens de les prévenir et de les combattre, il est impossible de ne pas évoquer les deux pères fondateurs de la bactériologie moderne : Robert Koch et Louis Pasteur.

En avril 1865, Louis Pasteur, s'appuyant sur le fait que les micro-organismes étaient sensibles à la chaleur, mit au point une méthode de stérilisation par chauffage des liquides, appliquée dans un premier temps au vin et la bière : la pasteurisation (7). Ses découvertes ne s'arrêtèrent pas là : en 1878, il inocula à deux poulets une culture de bactéries responsables du choléra (*Vibrio cholerae*), vieille de plusieurs semaines car le personnel de son laboratoire était partiellement parti en vacances. Pour une fois les poulets survécurent. Mais plus incroyable encore, ils survécurent par la suite aux injections de cultures fraîches, létales pour leurs congénères. Il venait ainsi de poser les bases de la vaccination. Il réussit le même exploit en vaccinant vingt-quatre moutons sur un élevage de quarante-huit, les 5 et 17 mai 1881. Le 31 mai, la totalité des bêtes reçut une injection létale de culture virulente et le 2 juin, devant les membres de l'académie de médecine, il put constater que seuls vingt-six moutons avaient survécu, dont les vingt-quatre vaccinés (8).

Il convient également de mettre en lumière les découvertes de Robert Koch au cours de cette seconde moitié du XIX^e siècle. En 1876, après trois années de recherche et d'expériences sur le sujet, il démontra que le *Bacillus anthracis* était responsable de la maladie du charbon. En effet, les animaux qui mourraient quelques jours après avoir reçu une injection de culture de cette bactérie voyaient leur corps contaminé par une incalculable quantité de la bactérie (9).

Robert Koch ajouta d'incalculables découvertes à l'étude de la bactériologie telles que l'utilisation de colorant à l'aniline, les lentilles à immersion d'huile, le condensateur de lumière (d'Ernst Abbe et Carl Zeiss), qui permirent l'étude de bactéries jusque-là invisibles avec les moyens de l'époque. Enfin l'une des plus importantes est sans doute l'utilisation de gélatine pour solidifier le bouillon de culture. Le gel de culture permet alors la séparation des différentes bactéries d'un échantillon en autant de colonies distinctes et de disposer par la suite de cultures pures.

En août 1881, Koch entreprit de caractériser l'agent responsable de la tuberculose en utilisant la même méthode que pour le bacille charbonneux : tout d'abord, observer le pathogène chez des patients atteints de la maladie ; isoler et cultiver ce germe ; enfin l'inoculer à des animaux sains et voir s'il provoque la maladie. Bien qu'il mît en évidence des

bacilles, sur les tissus pulmonaires de patients atteints de tuberculose, grâce à la coloration au bleu de méthyle, la culture de ces germes se révéla totalement infructueuse. Il trouva la solution en essayant de reproduire les conditions du corps : l'adjonction de sang au milieu de culture et, tout comme le développement de la maladie, une incubation de plusieurs semaines permirent d'isoler pour la première fois le *Mycobacterium tuberculosis*.

Ces colonies pures injectées à des cobayes entraînaient irrémédiablement l'apparition de la maladie et les autopsies pratiquées sur ces animaux exposèrent les lésions typiques de la tuberculose. Koch publia ces résultats en avril 1882 (10). Le prix Nobel lui fut décerné en 1905.

Naissance de l'antibiothérapie

En 1875, un scientifique irlandais, John Tyndall, remarqua, au cours de ses recherches sur la répartition des bactéries dans l'air, un antagonisme entre moisissures et bactéries. En effet, dans certains de ses flacons, la contamination par un champignon entraînait la mort des bactéries présentes. Cette découverte ne lui parut pas d'une importance capitale (rappelons que ce n'est que sept années plus tard, en 1882, que Koch démontrera le rôle des bactéries en pathologie humaine), il nota tout de même cette observation dans son rapport à la *Royal Society* de 1876 : « *Quand la moisissure était épaisse et cohérente, la bactérie mourrait ou entrait en léthargie, sombrant au fond de l'éprouvette comme un sédiment* » (11).

À cette époque, la médecine ne disposait pas de solution thérapeutique face à une infection, quelle qu'elle soit. C'est pourquoi la découverte de la sérothérapie, en 1888, en France par Héricourt et Richet, puis en 1890 en Allemagne par Von Behring (qui reçut pour cela le premier prix Nobel de médecine, en 1901) fut une première révolution en pathologie infectieuse. Même si son utilisation eut d'abord pour vocation de prémunir de certaines infections (en transfusant le sérum d'un animal immunisé à un autre), son utilisation chez l'Homme ne se fit pas attendre et c'est en 1891, lors de la nuit de Noël, que fut traité le premier patient par sérothérapie antidiphthérique. Puis au printemps 1894, ce sont trois cents enfants malades qui seront traités par un sérum antidiphthérique de cheval, faisant chuter la mortalité de 51,71 % à 24,50 %. Son utilisation au cours du XX^{ème} siècle fut importante, notamment au cours de la Première Guerre mondiale avec des sérums antirabiques et

antitétaniques. Malheureusement, la majorité des infections restaient encore sans traitement efficace, en particulier les infections d'origine bactérienne (12).

Quelques années plus tard en décembre 1897, à la faculté de médecine et pharmacie de Lyon, Ernest Duchesne soutint sa thèse intitulée « *Contribution à l'étude de la concurrence vitale chez les microorganismes, antagonisme entre les moisissures et microbes* » (Figure 1). Il y décrit notamment que bactéries et champignons s'opposaient pour leur survie, *in vitro*, mais il montra également que les animaux auxquels on inoculait simultanément la moisissure *Penicillium glaucum* avec une solution virulente de microbes pathogènes (*B. coli* et *B. typhosus*) résistaient mieux à l'infection que ceux qui recevaient uniquement la culture pathogène. « *On peut donc espérer qu'en poursuivant l'étude des faits de concurrence biologique entre moisissures et microbes, étude seulement ébauchée par nous, on arrivera, peut-être, à la découverte d'autres faits directement utiles et applicables à l'hygiène prophylactique et à la thérapeutique* » ; cette phrase conclut la thèse du jeune médecin militaire, mais malheureusement ses travaux ne seront pas repris par la suite et sa découverte ne débouchera sur aucune application médicale (13,14).

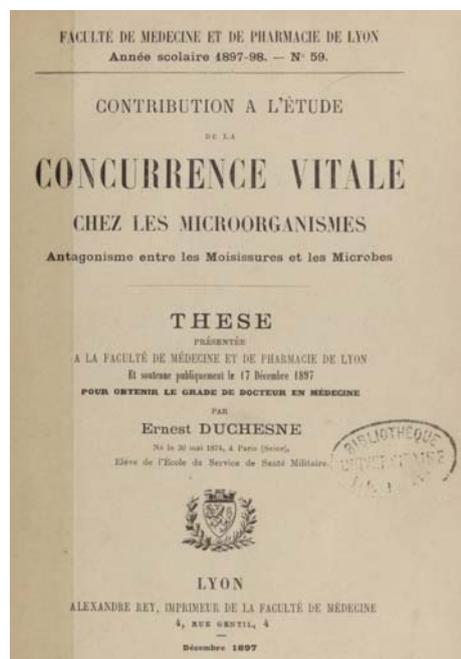


Figure 1 Thèse d'Ernest Duchesne, 1897 (faculté de médecine et de pharmacie de Lyon)

Antérieurement à ces travaux, fut synthétisée par Antoine Béchamp la première molécule à activité antibiotique : l'arsalinate de sodium, commercialisée sous le nom d'Atoxyl en 1859. À cette époque, la molécule n'était utilisée que pour traiter des dermatoses

mineures (son activité antibiotique n'était pas connue) et contrairement à ce que son nom laissait supposer, la molécule était particulièrement toxique (cécité par atteinte du nerf optique). C'est en 1905 que l'on découvrit que la molécule était également efficace contre la trypanosomiase africaine (maladie du sommeil), mais sa toxicité rendit impossible son utilisation dans cette indication (15,16). Néanmoins, cette découverte suscita l'intérêt du scientifique Paul Ehrlich. Ce dernier, déjà prix Nobel de médecine 1908 avec Ilya Mechnikov pour leur théorie sur la réponse immunitaire centrée sur l'interaction antigène-anticorps, puis la phagocytose (17), ayant également étudié auprès de R. Koch, décida avec son équipe de chimistes de synthétiser des séries de composés dérivés de l'Atoxyl. Son but était de concevoir une « *magic bullet* », terme qu'il inventa pour définir une molécule hypothétique capable de combattre spécifiquement un pathogène sans être délétère à l'hôte. C'est cette année-là également que Fritz Schaudinn et Erich Hoffmann identifièrent le spirochète (*Treponema pallidum*) comme bactérie responsable de la syphilis, fléau en ce début du XX^e siècle. Le seul traitement possible à l'époque était l'application durant de très longues périodes d'onguents à base de sels de bismuth et de mercure, peu efficaces et très toxiques, ce qui fit dire à l'époque : « *two minutes with Venus, two years with mercury* » (18). En 1907, Ehrlich et son équipe synthétisèrent le *composé 606* : l'arsphénamine et avec son assistant Sahashiro Hata (Figure 2), ils démontrèrent son action antibiotique, de loin supérieure aux autres composés testés jusqu'alors. Il sortit sur le marché en 1910 sous le nom de Salvarsan, puis fut complété par le Néosalvarsan (*composé 914*, Figure 3) en 1912 (19). En un an, le laboratoire d'Ehrlich distribua 65 000 doses de Salvarsan. Son efficacité sur le tréponème syphilitique était indéniable et fut saluée par la presse scientifique, notamment par le rapport de Konrad Alt en 1909 (20), Fleming en 1911 (21) et McDonagh en 1912 (22). Ces derniers, en plus de confirmer son efficacité supérieure à celle des sels de mercure, mirent en garde contre les effets toxiques de la molécule (neurotoxicité principalement) et soulignèrent ses contre-indications (épilepsie, alcoolisme), en en faisant, certes une molécule innovante, mais pas une révolution en médecine infectieuse compte tenu de ses indications restreintes et de son rapport bénéfice/risque. Par son approche de synthèse multiple puis de criblage haut débit, Paul Ehrlich est considéré comme le père de la chimiothérapie (23).

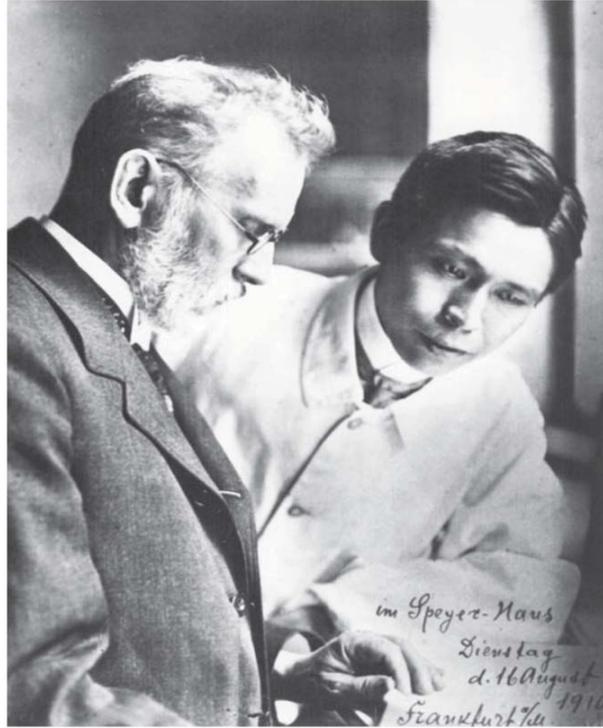


Figure 2 : Paul Ehrlich et Sahachiro Hata, 1910

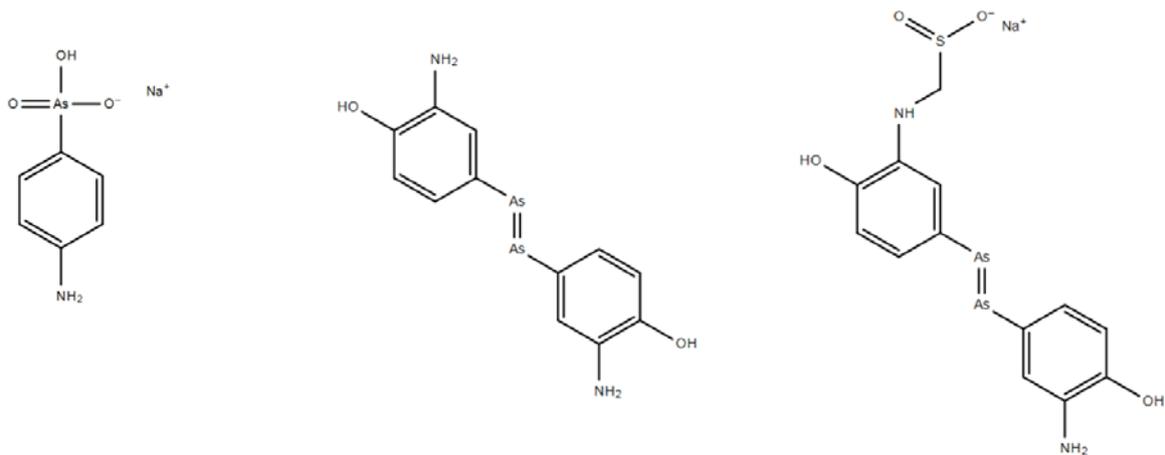


Figure 3 : Arsalinate de sodium (Atoxyl, gauche), arsphénamine (Salvarsan, milieu) et néoarsphénamine (Néosalvarsan, droite).

Découverte de la pénicilline

La plus grande découverte du XX^e siècle est attribuée à l'écossais Alexander Fleming. En 1901, à 20 ans, il intégra le *St Mary Hospital Medical School*, où il commença ses études de médecine. Sept ans plus tard, il fut brillamment diplômé après avoir soutenu sa thèse intitulée : « *les infections bactériennes et les moyens de les combattre* ». Bien qu'il se destinât à une carrière de chirurgien, le Dr Freeman le convainquit d'entrer dans le service de bactériologie du *St Mary's Hospital* ; et c'est ainsi qu'il intégra, dès 1906, l'*Inoculation Department* sous la direction de Sir Almroth Wright, orientant définitivement ses recherches sur les infections bactériennes (24). Durant ces années, Fleming fut l'un des précurseurs du traitement de la syphilis par le Salvarsan d'Ehrlich. Il publia notamment un article en 1911 dans *The Lancet* décrivant les modalités d'utilisation du médicament et les résultats obtenus, bien supérieurs aux sels de mercure utilisés, malgré une durée de traitement quasi-identique (21).

Le 3 août 1914, le Royaume-Uni entra en guerre contre l'Allemagne et Fleming servit en France dans le Corps des médecins militaires de la *British Army*. De nombreux soldats décédèrent durant le conflit à la suite de surinfections de blessures. En effet, peu de solutions s'offraient aux médecins de l'époque : l'utilisation des antiseptiques restait sans effet sur les infections déclarées. Browning *et al.* en 1917 développèrent une théorie sur l'utilisation de la flavine comme antiseptique, à la fois en tant que traitement local qu'en intraveineuse pour soigner les blessures infectées, avec peu de toxicité (25). Mais quelques mois plus tard la même année, Fleming montra que d'après ses expériences, l'utilisation de la flavine était plus délétère que bénéfique (26). À la fin du conflit, témoin du manque de moyens dans le traitement des infections et de cette nécessité, Fleming poursuivit ses travaux en microbiologie. Il découvrit ainsi le lysozyme en 1922, une enzyme isolée du mucus nasale qui possédait une activité antimicrobienne *in vivo*, mais malheureusement bien insuffisante pour une utilisation en thérapeutique (27).

L'Histoire nous conduit en 1928, le matin du 3 septembre, dans le laboratoire de Fleming, où celui-ci, de retour après deux semaines de vacances, découvrit avec son assistant Merlin Pryce, que certaines boîtes de Pétri, initialement ensemencées avec du staphylocoque et laissées à température ambiante durant ses vacances, étaient contaminées par une moisissure vert-de-gris. Ensemble, ils remarquèrent alors que le champignon était entouré

d'une zone d'inhibition où les bactéries ne s'étaient pas développées (Figure 4). Fleming identifia le champignon comme du *Penicillium rubrum* et supposa alors que ce dernier produisait une substance qui empêchait la croissance des bactéries ; il nomma cette substance pénicilline. En 1929, il publia sa découverte dans « *The British Journal of Experimental Pathology* ». Dans cet article, il exposa sa découverte fortuite ainsi que toute une série d'observations. Il expliqua notamment que seule cette souche de *Penicillium* semblait capable de produire la pénicilline. Il testa la sensibilité de nombreuses bactéries face à cette nouvelle substance et constata que les bactéries à Gram négatif y étaient insensibles. Enfin il montra que le bouillon de culture n'était pas toxique pour les animaux et que la pénicilline était dégradée par la chaleur (28). C'est cette dernière caractéristique qui empêcha Fleming de la purifier. Il complètera ses observations dans un rapport de 1932 (29), avant d'abandonner les recherches à ce sujet. Cela peut paraître surprenant, mais à cette époque, l'idée qu'une molécule puisse guérir d'une infection établie relève de la chimère et même Fleming n'imagine pas pour la pénicilline une autre utilisation que celle d'antiseptique. La phrase de Gerhard Domagk au 96^e Congrès des médecins et biologistes allemands de 1950 à Munich résume bien le cynisme de la communauté scientifique de l'époque : « *Si on avait dit, vers 1930, qu'on puisse guérir une blennorragie en faisant absorber des comprimés ou en pratiquant une ou deux injections, on se serait fait traiter de charlatan... Et si quelqu'un avait pensé pouvoir guérir une des maladies infectieuses qui, à l'époque, étaient pour la plupart mortelles, on l'aurait pris pour un fou, ou encore, on aurait considéré la guérison comme un miracle biblique* » (30).



Figure 4 : Inhibition du staphylocoque par le *Penicillium* (*Lancet*, 1929, gauche) et Fleming dans son laboratoire (*St. Mary's Hospital*, 1931, droite)

Néanmoins, les travaux de Fleming intéressèrent la communauté scientifique. C'est ainsi qu'en 1930, un jeune bactériologiste, C.G. Paine, cultiva la souche de Fleming et obtint de ses cultures un jus de moisissure. Avec ce dernier, il lava les yeux infectés de quatre nourrissons et en quelques jours, la guérison fut totale (31), mais là encore la supposition qu'il existât une substance capable d'un tel miracle sembla trop illusoire. Les travaux sur la pénicilline ne s'arrêtèrent pas là. En 1931, Harold Rainstrick, directeur de la *London School of Hygiene and Tropical Medicine*, étudia avec son équipe la souche. Ils publièrent en 1932 un article où ils exposèrent que l'identification de Fleming était incorrecte, que le *Penicillium* était de l'espèce *notatum* (désormais *chrysogenum* depuis l'avènement de la génomique) et non *rubrum*. Ils montrèrent aussi que seule cette espèce était capable de produire la pénicilline (32). Enfin, un étudiant américain, Roger Reid, récapitula en 1934, l'ensemble des expériences faites : propriétés de culture du *Penicillium*, paramètres physico-chimiques et pouvoir bactéricide de la « substance inhibitrice » (33).

Le formidable potentiel de la pénicilline aurait pu ne jamais être exploité si l'état d'esprit de la communauté scientifique n'avait pas évolué. Ce changement de mentalité à l'égard du pouvoir antibiotique des molécules est l'œuvre d'un bactériologiste allemand : Gerhard Domagk.

L'utilisation des colorants comme source potentielle de médicaments antibactériens provient des expériences de Koch qui, on s'en souvient, utilisait l'aniline pour colorer les bactéries. Depuis, on a pensé que certains colorants avaient le pouvoir de pénétrer et de détruire spécifiquement les bactéries sans être délétères aux cellules humaines. En 1932, deux chimistes du laboratoire Bayer proposèrent à Domagk, directeur de la section bactériologie chez IG Farben, une série de composés partageant une structure sulfonamide, dont la sulfamidochrysoïdine. Cette molécule qui se révélait être un colorant médiocre, dénuée d'activité *in vitro*, était indiscutablement efficace *in vivo* pour traiter des souris atteintes de bactériémie à streptocoque (34). L'année suivante, en 1933, alors que la molécule n'était pas encore mise sur le marché (elle le sera en 1935 sous le nom de Prontosil), Domagk en fit l'expérience, en désespoir de cause, sur sa propre fille atteinte d'une septicémie. Les résultats furent spectaculaires et la guérison quasiment immédiate. L'explication du paradoxe entre l'efficacité *in vivo* mais non *in vitro* fut établie en 1935 par le laboratoire de chimie thérapeutique de l'Institut Pasteur : la sulfamidochrysoïdine était métabolisée en para-aminophénylesulfamide, qui se trouvait être l'agent actif du médicament (Figure 5). Il s'agissait donc d'un promédicament (35).

Cette même année, le régime hitlérien interdit par ordonnance aux allemands de recevoir le prix Nobel (conséquence du fait que Karl von Ossietzky, journaliste pacifiste militant, alors emprisonné en camp de concentration, se vit remettre, cette année-là, le prix Nobel de la Paix). C'est pourquoi, lorsqu'en 1939, le comité Nobel voulut décerner le prestigieux prix à Gerhard Domagk, il fut contraint de refuser. En effet, peu de temps avant sa nomination officielle, le professeur Folke Henschen, membre du comité pria Goering d'intercéder en faveur du savant. La réponse fut sans appel : « *prière d'informer le comité Nobel que l'attribution du prix Nobel à un allemand serait considérée comme fâcheuse* ». Domagk reçut le prix Nobel malgré tout, fut arrêté et emprisonné par la Gestapo, et dut refuser, sous la contrainte, de recevoir la récompense. Il faudra attendre la fin de la guerre pour que le prix lui soit officiellement remis en 1947 (30,36).

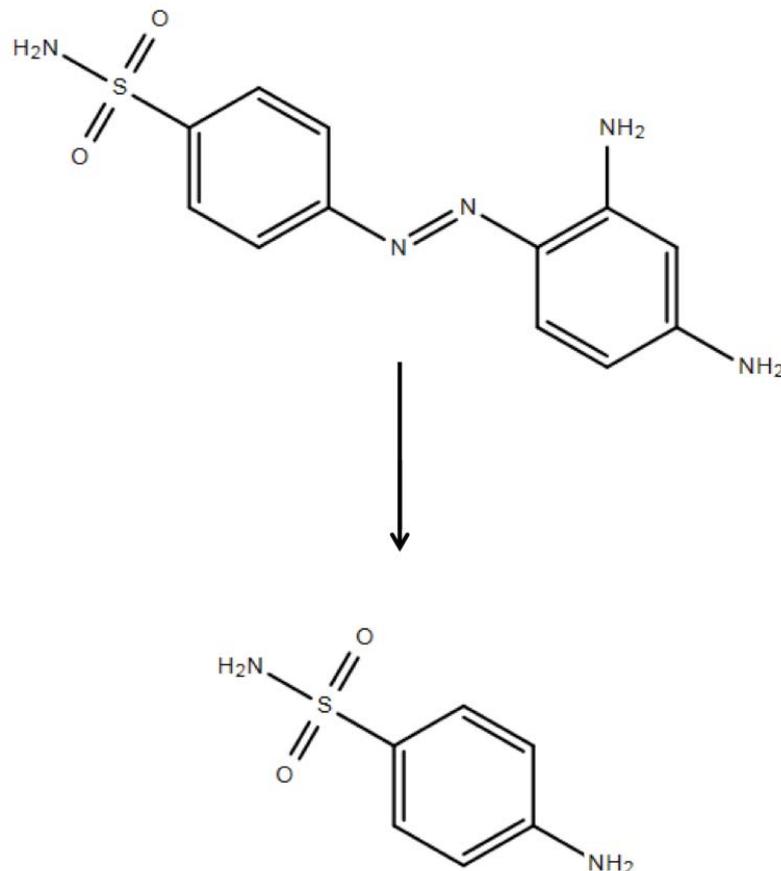


Figure 5 : Sulfamidochrysoïdine (Prontosil, en haut), promédicament du sulfanilamide (en bas)

II^{de} guerre mondiale et développement de la pénicilline

En 1929, après la publication de Fleming sur la pénicilline, George Dreyer, professeur de bactériologie de l'université d'Oxford et directeur de la *Sir William Dunn School of Pathology*, se procura la fameuse souche de *Penicillium*. Il envisageait alors que la pénicilline était un bactériophage au pouvoir bactéricide. Bien que ses recherches furent vaines, elles permirent à l'université de posséder la souche productrice de pénicilline (3,37).

En 1933, Ernst Chain, chimiste allemand d'origine juive, quitta l'Allemagne pour l'Angleterre suite à l'arrivée du parti Nazi au pouvoir, et intégra successivement l'université de Londres puis celle de Cambridge. Deux années plus tard, Howard Florey, le successeur de Dreyer à Oxford le convainquit de rejoindre son équipe de recherche aux côtés notamment de Norman Heatley et Margaret Jennings. Ensemble, et grâce au soutien financier de la Fondation Rockefeller, ils étudièrent à leur tour la pénicilline à partir de 1939. Ils découvrirent que la molécule n'était active qu'en phase de croissance bactérienne et développèrent une méthode pour déterminer la quantité de pénicilline présente dans un échantillon. Mais la principale avancée fut de trouver la méthode qui permit de purifier la pénicilline : la lyophilisation. Ainsi, ils disposèrent de pénicilline pure et stable, ce qui leur permit alors de commencer les expériences chez l'animal. Contrairement aux expériences de Fleming, ils injectèrent en plus aux souris des doses létales de culture de bactéries (*Clostridium*, streptocoques, staphylocoques) et montrèrent que la pénicilline était le meilleur agent chimio-thérapeutique jamais conçu, pour les souris en tout cas. Toutes ces observations furent publiées dans un article historique du *Lancet*, en août 1940 (Figure 6) (38).

PENICILLIN AS A CHEMOTHERAPEUTIC AGENT

BY

E. CHAIN, PH.D. CAMB.

H. W. FLOREY,
M.B. ADELAIDE,

A. D. GARDNER,
D.M. OXFORD, F.R.C.S.

N. G. HEATLEY, PH.D. CAMB.

(From the Sir William Dunn School of Pathology, Oxford)

M. A. JENNINGS,
B.M. OXFORD,

J. ORR-EWING,
B.M. OXFORD,

A. G. SANDERS,
M.B. LOND.



Figure 6 : *Penicillin as a chemotherapeutic agent* (*Lancet*, 1940, gauche) et l'équipe de recherche d'Oxford menée par H. Florey, premier rang au centre (*University of Oxford, Sir William Dunn School of Pathology*, droite)

Fin 1940, peu de temps après la bataille de Dunkerque, l'Angleterre vit les heures les plus sombres de son histoire. Les bombardements font rage, frappant principalement les sites de production industrielle, et les blessés se comptent par milliers. L'importance de développer une molécule capable de les soigner devient urgente et capitale. Encore faut-il prouver que la molécule est efficace chez l'Homme.

Le 12 février 1941, Alexander Arnold, un policier de 43 ans, devint le premier patient traité par pénicilline pour une infection de la face à streptocoque et staphylocoque. Les premiers résultats furent spectaculaires ; mais faute d'une quantité suffisante de pénicilline, le traitement fut interrompu et quelques jours après, le patient décéda. Heureusement les expériences suivantes eurent des fins plus heureuses, notamment sur des enfants (ne nécessitant pas de quantités aussi importantes), prouvant ainsi que la pénicilline pouvait prétendre à une place prépondérante dans l'arsenal thérapeutique (39). Néanmoins, malgré la nécessité évidente de produire des quantités importantes de pénicilline, l'industrie anglaise n'était pas en mesure, en plein effort de guerre, de répondre à ce besoin.

Ainsi, l'équipe s'attela à transformer le laboratoire de recherche en petite usine de production ; ils engagèrent pour produire la pénicilline, à 2 £ par semaine, les femmes restées à l'arrière du front – les « *penicillin girls* » (Figure 7) – bardées de chauds lainages pour supporter la température des chambres froides de la jeune « *penicillin factory* » (3,40). Malgré ces efforts, la production fut loin d'être suffisante pour couvrir la demande et l'intensification des bombardements de la Luftwaffe entrava encore un peu plus cette production.



Figure 7 : Production de pénicilline à petite échelle par les « *penicillin girls* » (*University of Oxford, Sir William Dunn School of Pathology*)

Face à ce problème, Florey embarqua avec Heatley pour les États-Unis en juin 1941. Ils emportèrent, cachés dans la doublure de leurs manteaux, les précieuses spores du *Penicillium notatum*. À Peoria, dans l'Illinois, ils rencontrèrent Robert Coghill et Robert Thom du *Northern Regional Research Laboratory* (NRRL) et lancèrent un programme de développement de la production de pénicilline. Le NRRL fut une source cruciale d'innovations sur la voie de la production industrielle : remplacement du saccharose par du lactose, changement du bouillon de culture par la « *corn steep liquor* » enrichie avec des précurseurs de la pénicilline tel que l'acide phénylacétique et l'utilisation de cuves – « *deep tanks* » – pour une culture immergée du champignon, permirent un accroissement phénoménal du rendement. Enfin, le NRRL entreprit en parallèle de cribler un maximum de souches de *Penicillium*, provenant du monde entier, pour trouver une souche dont la production de pénicilline serait naturellement plus importante. Ironie de l'Histoire, c'est sur un melon du marché local de Peoria que fut découverte la souche la plus efficiente. Florey rendit également visite à Alfred Newton Richard, vice-président des affaires médicales de Pennsylvanie, également membre du *Committee on Medical Research* (CMR) et de l'*Office of Scientific Research and Development* (OSRD), organisme fondé en 1941 pour assurer une attention « adéquate » à la recherche médicale en lien avec la défense nationale. Florey avait déjà contacté plusieurs industries américaines et Richard appuya sa demande, en assurant aux entreprises l'appui du gouvernement américain puisqu'elles servaient l'intérêt national. Il organisa à partir du 8 octobre 1941 plusieurs *meetings* entre les compagnies et le CMR au sein d'un programme collaboratif (gouvernement et entreprises) pour accélérer la production de pénicilline. La conférence la plus importante fut celle de New-York en décembre 1941, après l'attaque de Pearl Harbor et l'entrée en guerre des USA. À cette réunion, le NRRL fit part aux entreprises de l'avancée de ses recherches. Il fut également décidé que dans un souci d'intérêt général, toutes les parties se tiendraient informées de leurs avancées techniques respectives. Ainsi Pfizer développa une méthode d'extraction à froid et mit en évidence l'importance de l'oxygénation des cuves pour la production ; Squibb résolut le problème de la formation de mousse inhérente à l'oxygénation par l'introduction du monoricinolate de glycérol comme agent « anti-moussant » et développa également une technique de refroidissement des cuves ; Lilly participa au projet, en ajoutant de nouveaux précurseurs de la pénicilline au milieu de culture.

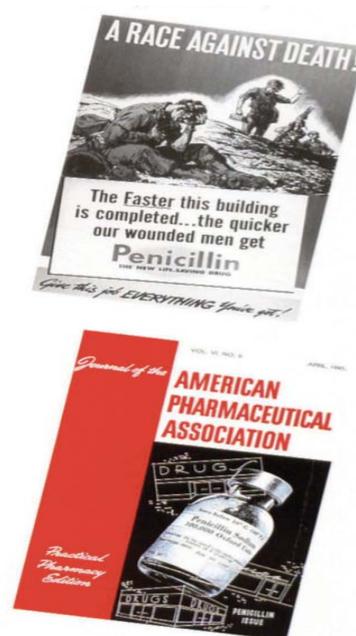
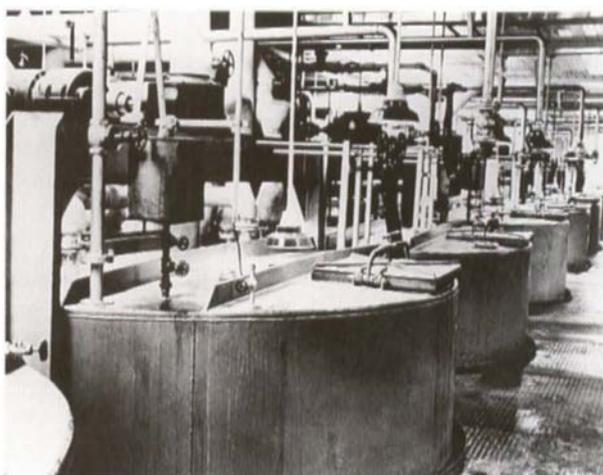


Figure 8 : « Deep tanks » pour la production industrielle de pénicilline (Pfizer, gauche) et affiches prosélytes pour le développement de la pénicilline au sein des firmes américaines (droite)

Grâce à cette collaboration, en mars 1942, suffisamment de pénicilline était produite pour traiter la première patiente aux USA, Mrs Ann Miller (New Heaven, Connecticut). Dix patients bénéficièrent du traitement jusqu'à juin 1942. La production prit une nouvelle tournure en 1943 lorsque le *War Production Board* (WPB) lança un appel aux entreprises pour augmenter radicalement la production de pénicilline : sur 175 réponses, 21 compagnies furent sélectionnées pour participer au programme de production et s'ajoutèrent aux entreprises déjà investies qu'étaient Lederle, Merck, Pfizer, Lilly, Squibb et Abbott. Ces entreprises reçurent les financements nécessaires pour répondre aux besoins de l'armée. L'objectif principal était d'avoir suffisamment de pénicilline pour le *D-Day* et la reconquête de l'Europe (Figure 8). En juin 1944, la pénicilline était le premier traitement des forces armées américaines et britanniques. Ainsi la production passa de 21 millions d'unités en 1943 à 1,7 milliard en 1944 et à plus de 6,8 milliards d'unités en 1945 ; la production initiale en flasque d'un litre à 1 % de rendement passa à des cuves de 38 000 litres à 80-90 % de rendement. En 1949, la production était de 133 229 milliards d'unités, le prix chutant de 20 \$ les 100 000 unités en 1943, à 10 cents. Le développement de la pénicilline dans ce contexte de guerre n'a été rendu possible que par un effort phénoménal et une coopération jamais égalée entre les pays, les gouvernements et les entreprises. C'est ce que souligna Florey en 1949 : « *On ne saurait trop rendre hommage à l'entreprise et l'énergie avec lesquelles les manufactures américaines se sont attaquées à la production à grande échelle du médicament. Sans leurs*

efforts, il n'y aurait certainement pas eu assez de pénicilline, le D-Day, en Normandie, en 1944, pour traiter toutes les victimes graves, britanniques et américaines. » (3,14,37,40)

Pour avoir réalisé sans doute la plus importante découverte du XX^{ème} siècle, Fleming et Florey furent anoblis en 1944 et Chain en 1965. Ils furent également récompensés du prix Nobel de physiologie et de médecine en 1945.

Revenons en Europe, côté allemand cette fois-ci. À partir du début de la guerre en septembre 1939, l'Allemagne organisa, en parallèle à ses actions militaires, une collecte des articles scientifiques du monde entier *via* plusieurs pays « écrans » : Suède, Portugal, Turquie, Mexique... En 1942 fut créée la *German Society of Documentation*, sous la direction du ministre de la Science, de l'Éducation et de la Culture Populaire : Bernhard Rust, dont le but était de répertorier les articles collectés, de les localiser et les transmettre aux différents corps de recherche. Si la découverte de Fleming avait créé une vague au sein de la communauté scientifique, l'article de Florey et Chain fut un véritable tsunami. C'est donc logiquement que l'Allemagne s'intéressa à la pénicilline à partir de 1940. Au travers d'une société suisse (*Chemische Industrie in Basel* : CIBA), ils contactèrent Florey pour obtenir une souche de *penicillium*. Requête que Florey déclina. Mais l'histoire ne s'arrêta pas là : les deux organismes BIOS (*British Intelligence Objectives Sub-committee*, anglais) et CIOS (*Combined Intelligence Objectives Sub-committee*, forces alliées) dont la mission était de connaître les avancées technologiques du III^e Reich, enquêtèrent sur les différents pays possédant la souche de *Penicillium*. Ils découvrirent ainsi que Fleming au début des années 30 avait envoyé sa souche au Dr. Schmidt, en Allemagne. Cependant, la souche conservée par le Dr Schmidt avait perdu sa viabilité et il n'était plus possible de la faire pousser. Un embargo fut alors mis en place par le gouvernement britannique pour empêcher que le *Penicillium* ne tombe entre des mains ennemies. L'Allemagne n'en resta pas là : de 1942 à 1944, la société IG Farben multiplia les demandes auprès du CBS (*Centraalbureau voor Schimmelcultures*) à Baarn en Hollande pour obtenir la souche. Toutefois, le CBS ne possédait pas la souche *P. notatum* NCTC 4222 de Fleming, mais une autre – *P. notatum* (Westling) – qui ne produisait pas de pénicilline. C'est ainsi qu'en dernier espoir, plusieurs laboratoires allemands tentèrent de produire de la pénicilline en criblant toutes les souches de *Penicillium* qu'ils pouvaient trouver. Finalement Hans Knöll de Schott Glass y parvint en 1944, mais sans réelle conséquence. En effet, pour diverses raisons, la découverte n'eut pas le même impact du côté allemand que du côté Alliés, du fait tout d'abord de l'absence d'autorité de coordination, qui

aurait pu optimiser les recherches et la production entre laboratoires, mais également du retournement de la guerre et des bombardements alliés qui visaient alors principalement les usines de production (37,40–42).

Structure chimique

À partir de 1942, l'équipe d'Oxford sous la direction d'Edward P. Abraham et Ernst Chain commença une collaboration avec Wilson Baker, Sir Robert Robinson et Dorothy Crowfoot Hodgkin, d'Oxford également, pour élucider la structure chimique de la molécule. Après avoir découvert en 1943 que la molécule contenait un atome de soufre, les scientifiques s'opposèrent autour de deux théories : la première soutenue par Robinson (prix Nobel de Chimie 1947) consistait en deux cycles pentamériques reliés par une liaison simple ; l'autre soutenue par Abraham et Chain supposait un cycle à quatre cotés β -lactame accolé à un cycle pentamérique. Bien que les études chimiques (de dégradation, de thermochimie et spectrales) fussent en faveur du cycle β -lactame, il fallut attendre 1945 et les données sur la caractérisation structurale par diffraction des rayons X de Dorothy Hodgkin pour clore le débat. Il s'agissait alors de la plus grosse molécule dont la structure était élucidée grâce à la diffraction aux rayons X (Figure 9). Ces résultats furent publiés provisoirement en 1945, puis définitivement en 1949. Lors de la remise de son prix Nobel, Chain qualifia cette découverte « d'exploit considérable » (43–45).

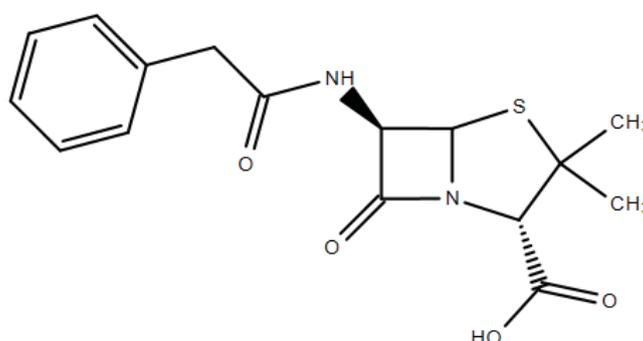


Figure 9 : Formule développée de la pénicilline G, obtenue par diffraction des rayons X, 1945

Cette découverte initia l'âge d'or des antibiotiques : entre les années 1950 et 1960 près de la moitié des antibiotiques encore utilisés aujourd'hui furent découverts (46). La découverte de ces nouveaux antibiotiques a été rendue nécessaire par l'émergence de résistances associées à l'emploi massif d'antibiotiques, mais aussi d'un besoin d'élargir le spectre de la pénicilline initiale, active uniquement sur les bactéries à coloration de Gram positive. Ainsi, les pénicillines V (phénoxyéthylpénicilline), administrables par voie orale car résistantes à l'acidité gastrique (par le remplacement du groupe benzyle par un groupe phénoxyéthyle), virent le jour en 1951 au *Massachusetts Institute of Technology*, grâce aux travaux de John C. Sheehan ; ce furent les premières pénicillines hémi-synthétiques (47).

En 1959, l'équipe britannique du laboratoire Beecham, dirigée par F.R. Batchelor et G.N. Rolinson parvint à isoler et cristalliser le pharmacophore (la partie active) de la pénicilline : l'acide 6-aminopénicillanique (6-APA, Figure 10) (48). Cette découverte allait permettre la naissance de nombreuses autres pénicillines en substituant les chaînes latérales par différents groupements (Figure 12, Tableau 2). Ainsi, cette même équipe, avec le concours de Chain, publia en 1960 dans *The Lancet* un article décrivant l'action d'une nouvelle pénicilline (BRL.1241) contre le *Staphylococcus aureus* producteur de pénicillinase (49). Cette molécule fut commercialisée sous le nom de méticilline et devint la première pénicilline anti-staphylococcique utilisée. Elle fut remplacée par la suite par l'oxacilline (Bristopen en 1962), la cloxacilline (Orbenine en 1963) et la flucloxacilline (Floxapen en 1970) encore utilisées de nos jours.

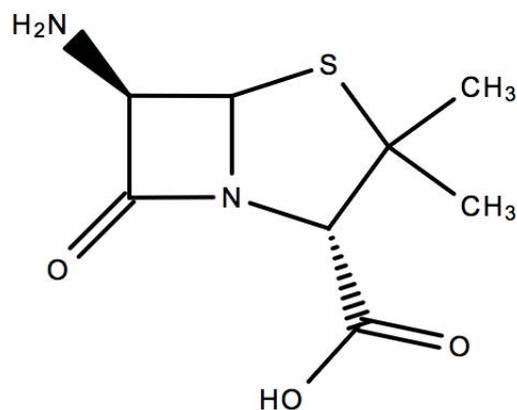


Figure 10 : Formule développée du noyau 6-aminopénicillanique, pharmacophore des β -lactamines, 1959

L'arsenal des pénicillines s'élargit encore en 1961 avec la découverte des pénicillines A, actives sur les Gram négatifs : tout d'abord l'ampicilline en 1961, puis l'amoxicilline en 1972 (Figure 11). L'amoxicilline diffère structurellement de l'ampicilline uniquement par un groupement OH, ce qui lui confère une bien meilleure résistance à l'acidité gastrique et rend donc une administration *per os* possible (biodisponibilité orale d'environ 93 %) (50–52). L'amoxicilline est aujourd'hui l'antibiotique le plus consommé en France, représentant 32 % des antibiotiques consommés en ville (53). En 1976, un nouveau composé isolé de la bactérie *Streptomyces clavuligerus*, fut découvert. À première vue il s'agissait d'une nouvelle pénicilline, mais les premiers résultats conclurent que son efficacité antibactérienne était faible. En revanche, les travaux menés par le laboratoire Beecham montrèrent que ce composé possédait un puissant effet inhibiteur de β -lactamases en formant une liaison irréversible avec l'enzyme, et ceci contre la grande majorité des β -lactamases produites, à l'exception des céphalosporinases produites par *Pseudomonas aeruginosa* et *Enterobacter cloacae*. Une petite quantité de ce produit ajouté à l'ampicilline permettait de diminuer considérablement la concentration minimale inhibitrice (CMI) d'une majorité de bactéries normalement résistantes. Ce composé fut baptisé « acide clavulanique » en référence à la souche dont il est extrait. Il ouvrit la voie aux inhibiteurs de β -lactamases, qui permirent d'élargir amplement le spectre d'action des pénicillines A, restreint jusque-là aux souches ne produisant pas de pénicillinase (54–56). Cette famille d'inhibiteur fut complétée à partir de 1993 par le tazobactam, puis le sulbactam et l'avibactam.

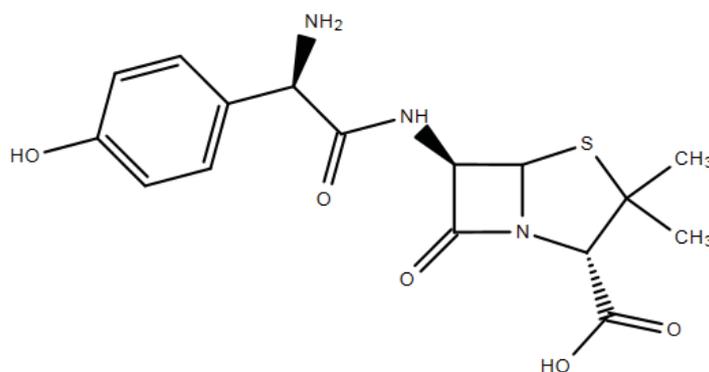


Figure 11 : Formule développée de l'amoxicilline, 1972

Tableau 1 : Liste des pénicillines actuellement sur le marché en France

Groupe	DCI	Nom	Découverte / AMM	Spectre
Pénicillines G	Benzyl-pénicilline	PENICILLINE G	1929	Syphilis
Pénicillines V	Phénoxyéthyl-pénicilline	ORACILLINE	1951	Angine à strepto A ; prophylaxie
Pénicillines M	Oxacilline	BRISTOPEN	1962	Anti-saphylococcique
	Cloxacilline	ORBENINE	1963	
Pénicillines A	Ampicilline	TOTAPEN	1961	Gram + et Gram - sensibles
	Amoxicilline	CLAMOXYL	1972	
Carboxy-pénicillines	Ticarcilline	TICARPEN	1973	Idem pénicilline A + souches productrices de céphalosporinases (EB 3, Pyo)
	Témocilline	NEGABAN	1982	
Uréido-pénicillines	Pipéracilline	PIPERACILLINE	1977	Idem carboxypénicilline
Aminido-pénicillines	Pivmécillinam	SELEXID	1975	Infection urinaire en 2 ^e intention
Inhibiteurs de β -lactamases	Acide clavulanique + amoxicilline	AUGMENTIN	1997 (AMM)	Souches productrices de β -lactamases, sensibles
	Acide clavulanique + ticarcilline	CLAVENTIN	1987 (AMM)	
	Sulbactam + Ampicilline	UNACIM	1987 (AMM)	
	Tazobactam + ticarcilline	TAZOCILLINE	2009 (AMM)	
	Avibactam + Ceftriaxone	ZAVICEFTA	2016 (AMM)	

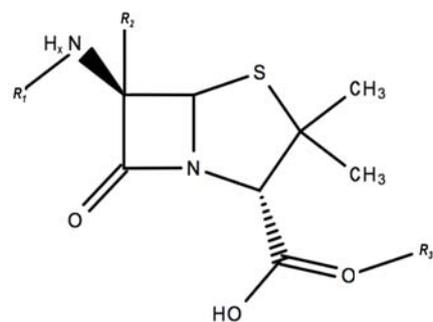


Figure 12 : Noyau 6-aminopénicillanique. R₁, R₂ et R₃ sont les radicaux correspondants aux différentes pénicillines

Tableau 2 : Structure chimique des radicaux de chaque pénicilline

Molécule	R1	R2	R3
Benzyl-pénicilline		∅	∅
Phénoxyéthyl-pénicilline		∅	∅
Oxacilline		∅	∅
Cloxacilline		∅	∅
Ampicilline		∅	∅
Amoxicilline		∅	∅
Ticarcilline		∅	∅
Témocilline			∅
Pipéracilline		∅	∅
Pivmécillinam		∅	

Partie I : Contexte scientifique

Introduction

L'endocardite infectieuse (EI) est une infection des valves cardiaques. C'est une pathologie relativement rare mais grave (mortalité hospitalière estimée à 20,6 %) (57). Les bactéries principalement incriminées sont les staphylocoques, les streptocoques et les entérocoques (57–59). L'amoxicilline, antibiotique le plus couramment utilisé en France, est employée en première ligne dans les endocardites à streptocoques et entérocoques (58,60). Si les cibles pharmacocinétiques-pharmacodynamiques (PK-PD) d'efficacité et de toxicité font l'objet d'un consensus, la PK de cet antibiotique est encore mal connue et les recommandations posologiques actuelles manquent de fondement scientifique (61–64).

L'objectif de ce travail a été de modéliser la pharmacocinétique de l'amoxicilline dans le but de mieux la connaître chez le patient souffrant d'une EI. Dans cette étude, une méthode de modélisation en pharmacocinétique de population a été utilisée. Cette approche a permis de décrire la pharmacocinétique de l'amoxicilline, puis de développer un outil de prédiction des concentrations de type nomogramme. En permettant à chaque patient d'avoir par la suite une prescription individualisée d'amoxicilline, ce travail s'inscrit dans la médecine personnalisée de demain.

Structure de la paroi bactérienne

La connaissance de la structure de la paroi bactérienne est un préalable indispensable à la connaissance du mécanisme d'action des β -lactamines. Les bactéries sont classées en deux catégories selon la composition de la paroi bactérienne : les bactéries à coloration de Gram positive (qui prennent une couleur violette à la coloration de Gram) et celles à coloration de Gram négative (qui prennent une couleur rose à la coloration de Gram). La paroi bactérienne est constituée en partie du peptidoglycane, ou muréine, qui confère à la bactérie sa forme, sa rigidité et sa résistance.

Chez les bactéries à Gram positif, le peptidoglycane est épais (20 à 80 nm) et est le constituant externe de la paroi. Les bactéries à Gram négatif, en revanche, présentent un peptidoglycane moins épais (2,5 nm), mais elles possèdent en plus une membrane externe lipidique qui les rend imperméables aux molécules hydrophiles. Le peptidoglycane se situe alors dans l'espace périplasmique, c'est-à-dire entre la membrane cytoplasmique et la membrane externe. La membrane externe des bactéries à Gram négatif est un facteur de virulence qui leur permet d'être plus résistantes aux agressions externes (lysozyme, protéines leucocytaires, sels biliaires, enzymes digestives, antibiotiques...). Elle est composée d'une bicouche lipidique, constituée principalement de lipopolysaccharides (LPS), ainsi que de nombreuses protéines de transports : les porines. Ces porines sont des protéines transmembranaires qui ont la faculté de se regrouper pour former des canaux, les pores, qui vont permettre de restaurer la diffusion de solutés hydrophiles au travers de la membrane (Figure 13).

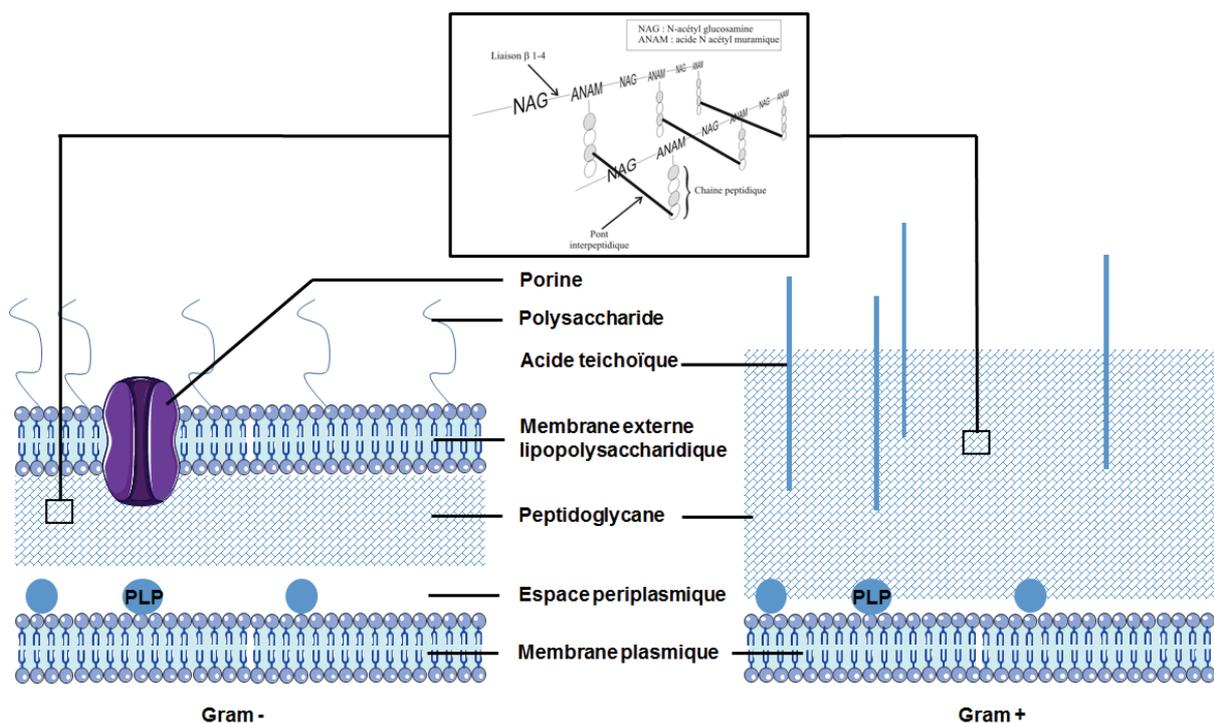


Figure 13 : Structure de la paroi des bactéries à coloration de Gram positive (droite) et négative (gauche) (Collège National de Pharmacologie Médicale)

Le peptidoglycane est un polymère constitué de chaînes poly-osidiques consistant en une alternance d'acide N-acétyl-muramique (ANAM) et de N-acétyl-glucosamine (NAG) par liaison β -1,4. Ces chaînes sont reliées entre elles par des ponts térapeptidiques.

Ces ponts se composent d'une séquence L-R₁ + D-Glu + L-R₃ + D-Ala dans laquelle L-R₁ et L-R₃ sont des acides aminés variables d'isomérisation L, D-Glu et D-Ala sont respectivement les énantiomères D de l'acide glutamique et de l'alanine. R₁ est relié à l'ANAM et R₃ à un autre térapeptide, formant ainsi la structure tridimensionnelle (Figure 14).

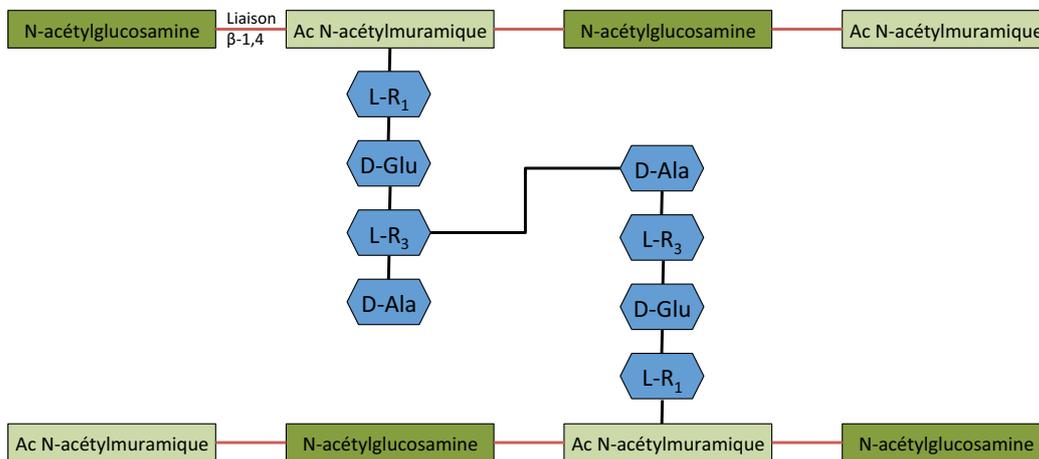


Figure 14 : Structure du peptidoglycane. L-R₁ et L-R₃ étant des acides aminés variables d'isomérisation L en position 1 et 3 ; D-Glu et D-Ala étant les énantiomères D respectifs de l'acide glutamique et de l'alanine. (De l'antibiogramme à la prescription, éditions bioMérieux, 2012)

La synthèse du peptidoglycane s'effectue en plusieurs étapes : tout d'abord une étape cytoplasmique avec la formation de l'ANAM. Sur ce sucre vont se fixer successivement les acides aminés qui formeront le térapeptide : L-R₁, puis D-Glu, puis L-R₃, et enfin un dipeptide D-Ala-D-Ala. Il se forme alors un pentapeptide. Ce précurseur va traverser la membrane plasmique grâce à un transporteur. Au cours de cette étape, une molécule de NAG se fixe, formant ainsi un complexe disaccharide-pentapeptide-transporteur. Le complexe peut ensuite se détacher. Le disaccharide-pentapeptide va alors se lier au peptidoglycane en cours de formation et s'engager dans l'une des deux voies possibles :

- S'attacher au polymère déjà existant, face externe → allongement et épaissement du peptidoglycane (et donc de la paroi)
- S'attacher au polymère, face interne → formation du septum en prévision de la division bactérienne

Cette dernière étape implique, quatre enzymes clefs (Figure 15) :

- Les **glycosyltransférases** qui permettent la formation de la liaison β -1,4 entre deux complexes disaccharide-pentapeptide et ainsi l'allongement de la chaîne polysaccharidique.
- Les **transpeptidases**, reconnaissent le motif D-Ala-D-Ala, elles transforment le pentapeptide en térapeptide en enlevant un acide aminé D-Ala du pentapeptide (celui en position 5). Puis elles vont lier le D-Ala restant (en position 4) au L-R₃ d'un autre térapeptide. Elles permettent ainsi d'unir les différentes chaînes polysaccharidiques entre elles.
- Les **carboxypeptidases**, reconnaissent le motif D-Ala-D-Ala, elles enlèvent un D-Ala des pentapeptides terminaux qui n'ont pas été pris en charge par les transpeptidases. Elles ont un rôle de régulation dans la synthèse du peptidoglycane en empêchant une transpeptidation ultérieure.
- Les **autolysines** (glycosidases, amidases, peptidases) sont actives au niveau des ponts peptidiques et libèrent également les térapeptides des chaînes osidiques. Elles ont un rôle de « finition ». Leur activité de déconstruction est inhibée par les acides techoïques de la paroi qui la maintiennent à un niveau basal. (65)

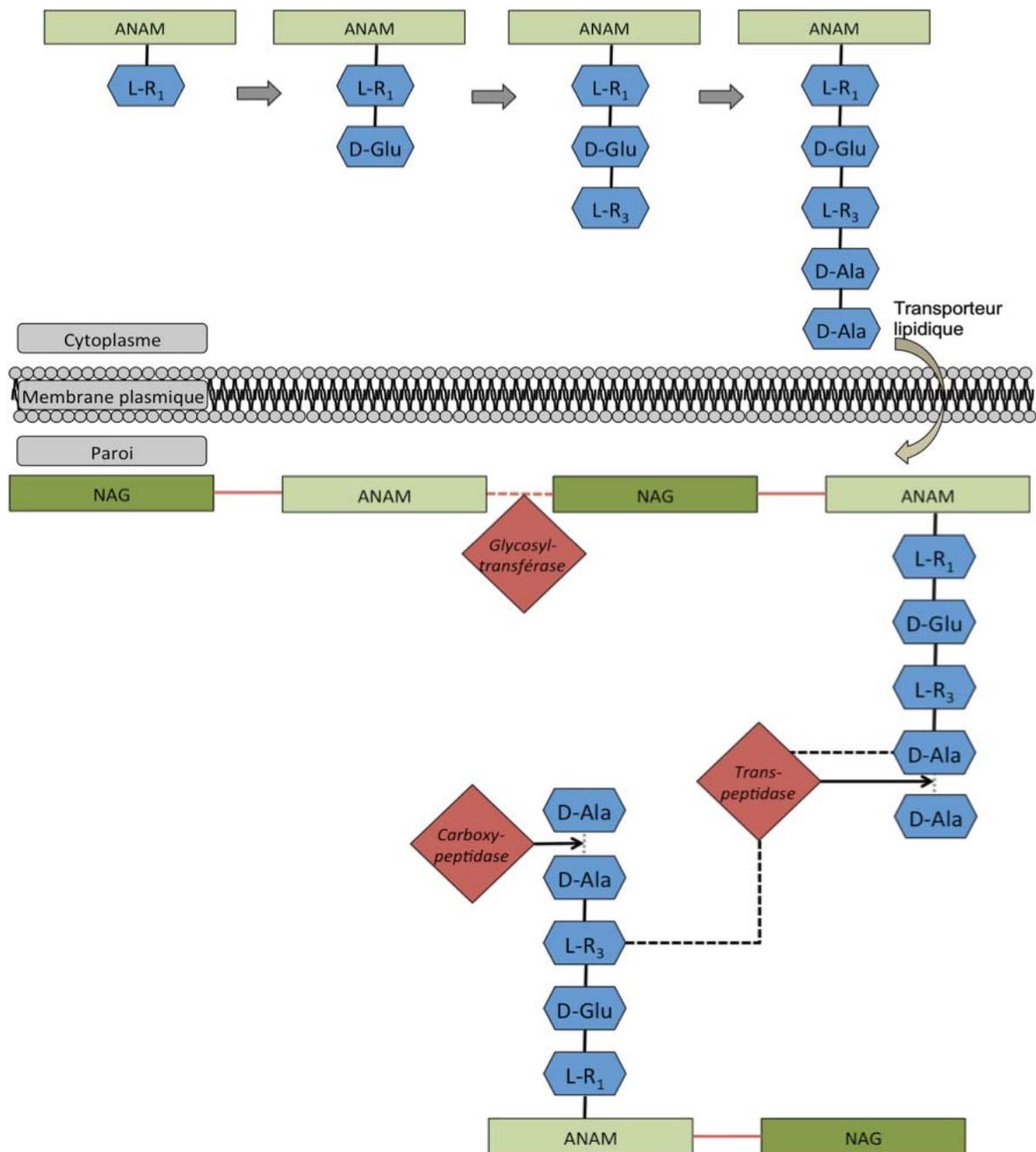


Figure 15 : Synthèse du peptidoglycane. NAG étant l'état le N-acétyl-glucosamine ; ANAM étant l'acide N-acétyl-muramique ; L-R₁ et L-R₃ étant des acides aminés variables d'isomérisation L, en position 1 et 3 ; D-Glu et D-Ala étant respectivement les énantiomères D de l'acide glutamique et de l'alanine ; les losanges rouges étant les enzymes clés appelées « protéines liant les pénicillines » (*De l'antibiogramme à la prescription, éditions bioMérieux, 2012*)

Ces trois premières enzymes (glycosyltransférases, transpeptidases et carboxypeptidases) sont également regroupées sous le nom de PLP ou « protéines liant les pénicillines ». Ces PLP sont les cibles des pénicillines et plus généralement des β-lactamines.

Mécanisme d'action des β -lactamines

Les β -lactamines sont des antibiotiques acides, avec un pKa avoisinant les 3. Elles sont ainsi ionisées au pH physiologique et présentent donc un caractère hydrophile qui les empêche de passer facilement les membranes lipidiques. La paroi bactérienne est le seul obstacle potentiel entre l'antibiotique et la cible, c'est pourquoi sa composition va être déterminante pour définir la sensibilité de la bactérie au médicament.

Pour les bactéries à Gram positif, le peptidoglycane seul ne constitue pas une barrière efficace pour des molécules de la taille des β -lactamines. Ces bactéries sont donc généralement sensibles à ces antibiotiques. En revanche, pour les bactéries à Gram négatif, la membrane externe lipidique est un véritable obstacle car elle est hydrophobe. Le passage au travers de cette membrane n'est possible que *via* les porines, dont la taille et la quantité sont des paramètres déterminants. Cependant, il existe des systèmes pour limiter la concentration périplasmique de ces antibiotiques quand ils arrivent à passer la membrane externe : les pompes d'efflux et la présence éventuelle d'enzymes inactivatrices, les β -lactamases. L'équilibre entre ces paramètres est déterminant dans la sensibilité d'une bactérie à un antibiotique.

Le mécanisme d'action des β -lactamines consiste en l'inhibition des PLP et par conséquent de la formation du peptidoglycane. La bactérie ne renouvelle ainsi plus sa paroi qui devient vieillissante ; ses capacités de division et ses capacités à survivre sont réduites.

La fixation des β -lactamines aux PLP est possible grâce à l'analogie structurale entre le cycle β -lactame et le motif D-Ala-D-Ala (Figure 16). Les β -lactamines se comportent ainsi comme des substrats « suicides » de ces enzymes : la liaison est covalente, rendant l'inhibition définitive et irréversible.

Les β -lactamines possèdent également une activité lytique (ou bactéricide) dont le mécanisme n'est pas entièrement élucidé : le blocage de synthèse du peptidoglycane produirait une levée d'inhibition des enzymes auto-lytiques, entraînant une lyse de la paroi et la mort de la bactérie.

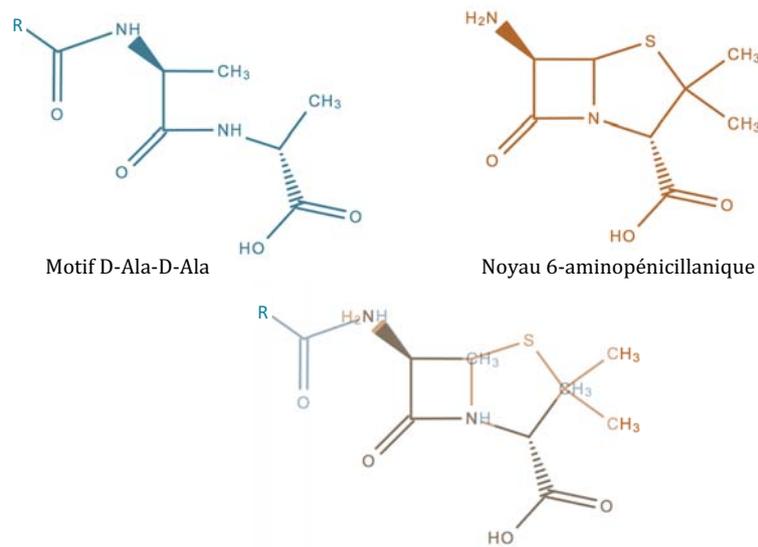


Figure 16 : Analogie structurale entre le motif D-Ala-D-Ala et le noyau 6-aminopénicillanique des β -lactamines

Mécanismes de résistance

Il existe plusieurs mécanismes de résistance aux β -lactamines. Ces mécanismes ne sont pas exclusifs et peuvent s'additionner généralement.

- **Résistance par imperméabilité :** concerne uniquement les bactéries à Gram négatif. Cette mutation correspond à un déficit quantitatif ou qualitatif en porines.
- **Résistance par efflux actif :** concerne uniquement les bactéries à Gram négatif. Les pompes d'efflux au niveau de la membrane externe confèrent généralement à la bactérie une résistance croisée à plusieurs classes d'antibiotiques.
- **Résistance par modification des PLP :** concerne préférentiellement les bactéries à Gram positif. Plusieurs mécanismes sont possibles : mutation des gènes de structure des PLP (p. ex. entérocoques), remplacement de fragments de gène par ceux d'autres espèces (gènes mosaïques, p. ex. pneumocoques de sensibilité diminuée aux pénicillines), intégration d'un gène codant pour une nouvelle PLP (p. ex. staphylocoques résistants à la méticilline grâce à la PLP2a codée par le gène *mecA*).

- **Résistance par inactivation enzymatique** : concerne aussi bien les bactéries à Gram positif que négatif. Cette résistance consiste en l'inactivation de l'antibiotique par des enzymes ouvrant le cycle β -lactame (β -lactamases), qui perd ainsi son analogie avec le motif D-Ala-D-Ala.

Indications de l'amoxicilline

L'ajout du radical NH_2 sur le groupement méthylène de la pénicilline G (pénicilline historique) permet le passage transmembranaire à travers des porines et ainsi l'élargissement du spectre aux bacilles à Gram négatif (51).

Les indications de l'amoxicilline sont larges :

- ORL : angine à streptocoque A, otites et sinusites,
- pulmonaires : germes sensibles (sauf germes intracellulaires),
- urinaires : infections documentées,
- gastro-entérologiques : éradication d'*Helicobacter pylori* en trithérapie,
- syndrome fébrile inexplicé chez la femme enceinte,
- méningite à *Listeria*,
- endocardite streptococcique et antibioprofylaxie de l'EI,
- maladie de Lyme en phase primaire et secondaire, fièvre typhoïde et brucellose.

Pharmacocinétique de l'amoxicilline

La biodisponibilité orale absolue de l'amoxicilline est de 89 à 93 %, avec un pic de concentration atteint environ 1 à 2 heures après (52,66–68). Environ 82 % de l'amoxicilline plasmatique est sous forme libre et son volume apparent de distribution est de 0,2 à 0,4 L/kg. Le pic de concentration tissulaire est obtenu environ 1 à 2 heures après le pic de concentration plasmatique. La diffusion tissulaire correspond au rapport $\frac{AUC_{tissulaire}}{AUC_{plasmatique}}$, avec *AUC* l'aire sous la courbe (*Area Under the Curve*). La diffusion de l'amoxicilline est environ de 46 % dans les poumons, 20 % dans les amygdales, 17 % dans la muqueuse de l'oreille moyenne, 31 % dans la prostate (69), 13 % dans la bile et 25 % dans le liquide céphalorachidien (70). L'état d'équilibre lors d'une administration en perfusion continue est obtenu au bout de 5 heures, mais une dose de charge permet de l'atteindre immédiatement. Le calcul de la dose de charge est habituellement le suivant : $LD = Vd \times C_p$, avec *LD* la dose de charge (*Loading Dose*), *Vd* le volume de distribution et *C_p* la concentration plasmatique souhaitée (71).

Concernant sa métabolisation, l'amoxicilline est sécrétée dans l'urine sous forme d'acide pénicilloïque inactif dans une proportion pouvant atteindre 30 % de la dose initiale, mais son élimination est principalement urinaire sous forme inchangée (72,73). Sa demi-vie d'élimination varie entre 0,7 et 1,7 heures (74), et la clairance totale moyenne est d'environ 25 L/h chez les sujets sains (75). L'altération de la fonction rénale semble être le principal facteur de variabilité de la clairance avec une demi-vie d'élimination pouvant atteindre 20 heures. De plus une altération de la fonction rénale avec un débit de filtration glomérulaire (DFG) inférieur à 60 mL/min entraîne un surdosage significatif de la concentration d'amoxicilline, si la posologie n'est pas adaptée (63,76). À l'inverse, une augmentation du DFG est fréquemment observée chez les patients hospitalisés en soins critiques et peut affecter la clairance de l'amoxicilline. En conséquence, il peut être nécessaire d'augmenter la posologie (62,77). Cette problématique est également retrouvée chez les patients hémodialysés (78). Enfin, les patients sous ECMO (*ExtraCorporeal Membrane Oxygenation*) subissent de grandes variabilités PK-PD concernant les médicaments qui leur sont administrés : défaillance d'un ou de plusieurs organes, fuite capillaire, altération de la liaison aux protéines plasmatiques, séquestration au sein du circuit de l'ECMO et parfois un état hyper-dynamique peuvent altérer le volume de distribution et la clairance des médicaments

(79). Néanmoins, l'amoxicilline ne semble subir une baisse de concentration que très modérée et n'impactant pas ou peu la posologie à utiliser (79,80).

Objectifs pharmacocinétique-pharmacodynamique/toxicodynamique (PK-PD/TD)

Des recommandations sur le suivi thérapeutique pharmacologique (STP) des β -lactamines ont été publiées en 2018 par la Société Française de Pharmacologie et Thérapeutique (SFPT) et la Société Française d'Anesthésie et de Réanimation (SFAR) (81). Ces recommandations définissent notamment la cible PK-PD à atteindre. Les β -lactamines étant des antibiotiques temps dépendant, leur efficacité est corrélée à l'intervalle de temps pendant lequel la concentration libre plasmatique est supérieure à la CMI (ou un multiple de la CMI) de la bactérie pour cet antibiotique ($\%fT_{>k \times CMI}$).

Ainsi, les experts suggèrent de cibler une concentration plasmatique libre de β -lactamines entre 4 et 8 fois la CMI de la bactérie incriminée pendant 100 % de l'intervalle de dose ($100\%fT_{\geq 4 \text{ à } 8 \times CMI}$) pour optimiser les chances de guérison clinique dans les infections graves (81,82).

Pour les molécules dont on ne dispose pas de seuil PK/TD de toxicité validé, il semble inutile de dépasser une concentration plasmatique supérieure à 8 fois la CMI de la bactérie incriminée. Plusieurs études ont montré la neurotoxicité des β -lactamines associant des syndromes confusionnels, des convulsions, voire des encéphalopathies et des états de mal épileptique, dont l'issue est parfois fatale (83,84). Le mécanisme supposé implique la suppression des réponses post-synaptiques inhibitrices, principalement médiées par les récepteurs à l'acide γ -aminobutyrique (GABA (A)-R) (85–87).

Pour l'amoxicilline, les recommandations préconisent un objectif de concentration à l'équilibre compris entre 40 et 80 mg/L pour une infection non documentée, en se basant sur le seuil épidémiologique ECOFFs (*Epidemiological cut-off values*) d'*Escherichia coli* de 8 mg/L établie par l'*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (88). Pour une infection documentée, la concentration à l'équilibre doit être supérieure ou égale à 4 fois

la CMI et inférieure à 80 mg/L, soit une concentration libre de 64 mg/L ($\approx 80\%$ de fraction libre) (89).

Dans le traitement des EI, l'amoxicilline est recommandée en première ligne pour les infections à streptocoques et à entérocoques, qui comptent pour quasiment la moitié des EI (57–59). Sachant que l'ECOFF des streptocoques est estimé à 0,25 mg/L et que celui des entérocoques est estimé à 4 mg/L, un seuil minimum de 20 mg/L comme objectif PK-PD permet d'obtenir une concentration libre supérieure ou égale à 4 fois la CMI de tous les streptocoques ou entérocoques (16 mg/L) (88).

En termes d'utilisation, la Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française (SPILF) se positionne sur les recommandations européennes émises par l'*European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* (ESCMID) qui proposent une adaptation linéaire de la posologie d'amoxicilline en fonction du poids : 100 à 200 mg/kg/j pour les streptocoques et 200 mg/kg/j pour les entérocoques. Les recommandations américaines de l'*Infectious Diseases Society of America* (IDSA) proposent une posologie unique de 12 g/j, quel que soit le poids (58,90). L'administration de ces antibiotiques en perfusion continue est fortement préconisée par les recommandations de la SFPT et de la SFAR pour augmenter les chances d'atteindre l'objectif PK-PD (81). Il n'y a actuellement aucune règle précise pour une adaptation selon le débit de filtration glomérulaire, bien qu'il ait été montré qu'une altération de la fonction rénale nécessitait une adaptation à la baisse de la posologie (63).

Amoxicilline et endocardite

L'EI est une infection rare (incidence : 63 cas/million d'habitant en France : 82 cas/million d'hommes et 43 cas/million de femmes) mais grave (mortalité intra-hospitalière de 20,6 %) (57). C'est une infection d'une ou de plusieurs valves cardiaques, qu'elles soient natives ou prothétiques. Cette infection fait souvent suite à une altération des valves (cardiopathies, prothèse de valve, lésions dégénératives, ulcérations, etc.) qui entraîne la formation de petites masses pathologiques sur un feuillet valvulaire : les végétations. Il y a toujours une porte d'entrée infectieuse, qu'il convient de rechercher et de traiter, par laquelle les agents infectieux gagnent la circulation et se fixent sur les végétations (Figure 21).

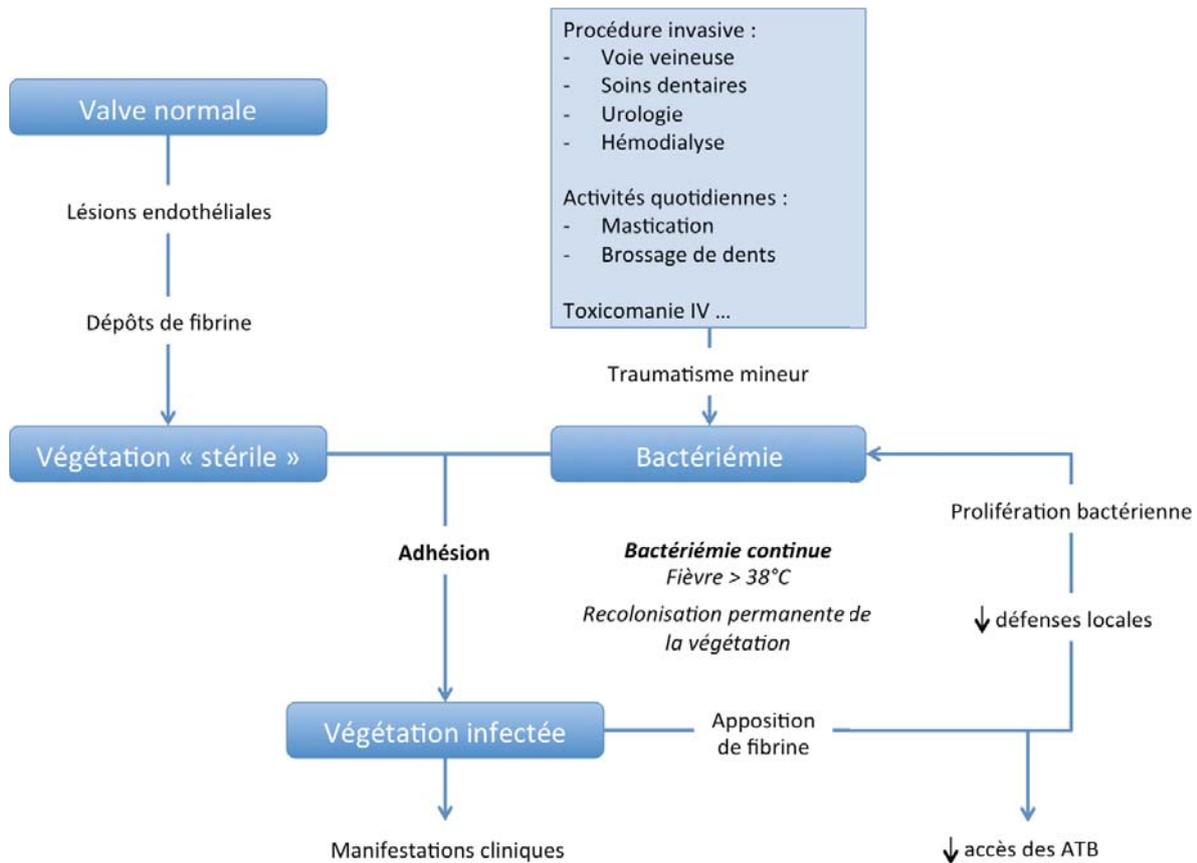


Figure 17 : Physiopathologie de l'endocardite infectieuse (*Bactériologie – Virologie, édition De Boeck, 2013*)

Les germes incriminés sont principalement des cocci à Gram positif car ils possèdent des capacités d'adhésion dont ne sont pas dotées les bactéries à Gram négatif.

L'éradication bactérienne est difficile à obtenir pour plusieurs raisons (91) :

- l'endocarde est faiblement vascularisé et peu accessible aux antibiotiques hydrophiles,
- les bactéries sont protégées de la phagocytose par la fibrine,
- l'inoculum est important,
- les bactéries sont en phase de croissance lente,
- la bactériémie est permanente avec une recolonisation régulière des végétations.

L'antibiothérapie doit donc être bactéricide, prolongée, à fortes doses et par voie parentérale en début de traitement. L'essai danois POET-I (92) a testé le relai par une bi-antibiothérapie orale après dix jours de traitement intraveineux initial efficace. Les résultats ont montré la non infériorité du relai *per os* en comparaison avec l'administration intraveineuse continue. Un deuxième essai (POET-II), en cours de recrutement, teste quant à lui un raccourcissement du traitement. Si cette deuxième stratégie se révèle favorable, alors la

réussite du relai *per os* ne pourrait être due qu'à l'absence d'intérêt d'un traitement prolongé. Il faut souligner néanmoins que 80 % des patients ne répondent pas aux critères d'inclusion de ces essais et que ces résultats ne concernent donc qu'une minorité de patients. L'essai français RODEO, en cours de recrutement, teste également, mais plus largement, la stratégie d'un relai oral de l'antibiothérapie. En cas de succès, il permettrait de révolutionner le traitement de l'EI, en terme de coût hospitalier et de confort pour le patient (93).

Le Tableau 3, ci-dessous, synthétise les différents agents infectieux rencontrés, leur porte d'entrée probable, leur répartition (étude prospective européenne – 40 pays, 3 116 patients – de janvier 2016 à mars 2018) et le traitement recommandé (58,59).

Tableau 3 : Répartition des germes, leur porte d'entrée et leur prise en charge dans l'endocardite infectieuse en Europe entre janvier 2016 et mars 2018, selon la cohorte ESC-EORP-EURO-ENDO

Agents infectieux	Répartition	Porte d'entrée	Antibiothérapie parentérale à la mise sous traitement
<i>Staphylococcus aureus</i>	24,8 %	Lésions cutanées, matériel endovasculaire, cathéters veineux centraux	Pénicilline M ± gentamicine rifampicine
Methi-S	19,1 %		
Methi-R	5,7 %		
Streptocoques oraux	9,8 %	Dents et cavité buccale	Amoxicilline ± gentamicine
<i>Streptococcus gallolyticus</i>	5,2 %	Tube digestif, voies biliaires, cancer digestif	Amoxicilline ± gentamicine
Entérocoques	12,5 %	Tube digestif, voies biliaires, tractus urinaire	Amoxicilline + gentamicine
Staphylocoques à coagulase négative	10,0 %	Lésions cutanées, matériel endovasculaire, cathéters veineux centraux	Pénicilline M ± gentamicine rifampicine
Methi-S	5,2 %		
Methi-R	4,8 %		
Autres agents infectieux (bactéries HACEK, <i>Candida spp.</i> , etc.)	16,7 %	Dents et cavité buccale, cathéters	Selon le germe
Hémocultures négatives	21,0 %		Amoxicilline - acide clavulanique + gentamicine

Objectifs de la thèse

Les recommandations actuelles préconisent une adaptation posologique de l'amoxicilline basée sur le poids et sans prendre en compte la clairance d'élimination qui est essentiellement rénale. L'application stricte de ces recommandations peut conduire à deux cas extrêmes : le sous-dosage, en cas de clairance élevée, qui fait prendre le risque de l'inefficacité du traitement voire de la sélection de mutants résistants et le surdosage, en cas de fonction rénale dégradée, qui augmente les risques de toxicité notamment neurologique.

Devant les limites de ces recommandations, il est nécessaire de réaliser des études analysant l'impact des covariables propres à chaque patient (taille, poids, indice de masse corporelle, surface corporelle, concentration sérique des protéines, etc. et surtout débit de filtration glomérulaire) sur la pharmacocinétique de l'amoxicilline et de développer des outils permettant d'atteindre de façon plus sûre les objectifs PK-PD.

Dans ce travail, nous avons recueilli rétrospectivement les dosages plasmatiques d'amoxicilline réalisés au laboratoire de pharmacologie du CHU de Nantes, chez les patients atteints d'EI et traités en perfusion continue par amoxicilline (patients issus de la cohorte endocardite du CHU de Nantes). En parallèle, nous avons collecté des données telles que la posologie, la taille, le poids, la co-administration de ceftriaxone, la concentration des protéines sériques ou encore de la créatinine sérique. D'autres covariables potentielles issues de ces paramètres ont été calculées : l'indice de masse corporelle, la surface corporelle, le poids idéal et le débit de filtration glomérulaire. L'objectif était d'étudier l'influence de chaque paramètre sur la concentration d'amoxicilline. Un algorithme de modélisation de probabilité non linéaire à effet mixte non paramétrique a été utilisé *via* le package R *Pmetrics* (*Laboratory of Applied Pharmacokinetics, University of Southern California Keck School of Medicine, Los Angeles, CA, USA*) (94). Plusieurs modèles ont été créés, évalués et le plus pertinent a été retenu.

La cible de concentration efficace, établie par la SFPT et la SFAR basée initialement sur *E. coli* a également été rediscutée, car peu adaptée aux bactéries retrouvées dans les EI.

Nous avons ensuite cherché à développer, en nous basant sur les covariables influençant de manière significative la pharmacocinétique de l'amoxicilline, un outil pharmacologique permettant une adaptation *a priori* de la posologie par les cliniciens, selon les caractéristiques du patient : le nomogramme.

Partie II : Article

Contexte

La modélisation en pharmacocinétique de population des agents anti-infectieux est le domaine de recherche de prédilection de l'équipe du laboratoire de pharmacologie du CHU de Nantes. Plusieurs travaux sur le sujet ont été publiés récemment :

- 2018 : *Prophylactic cefazolin concentrations in morbidly obese patients undergoing sleeve gastrectomy: do we achieve targets?* (95)
- 2019 : *Population Pharmacokinetic Study of Cefazolin Dosage Adaptation in Bacteremia and Infective Endocarditis Based on a Nomogram* (96)
- 2019 : *High-Dose Ceftriaxone for Bacterial Meningitis and Optimization of Administration Scheme Based on Nomogram* (97)

Ce travail a été accepté en communication orale au 30^{ème} *European Congress of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* (ECCMID), qui se tiendra en avril 2020 à Paris.

Ce travail a également été soumis pour communication au congrès 2020 de la Société Française de Pharmacologie et Thérapeutique, qui se tiendra en juin à Lille.

Ce travail a été soumis pour publication dans le *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* (impact factor 5,113).

Résumé détaillé

Introduction : Les endocardites infectieuses à streptocoques et entérocoques représentent 34,8 % des endocardites mono-microbiennes. L'amoxicilline est le traitement recommandé en première intention pour traiter ces infections. Les recommandations françaises (SPILF) et européennes (ESCMID) proposent une adaptation posologique basée uniquement sur le poids du patient alors que les recommandations américaines (IDSA) préconisent une posologie unique de 12 g quel que soit le poids. Il n'y a pas d'adaptation précise recommandée selon l'état de la fonction rénale, alors que les reins sont la principale voie d'élimination de cet antibiotique. Une étude récente souligne qu'un DFG en deçà de 60 mL/min nécessite une diminution de la posologie. L'amoxicilline étant un antibiotique temps dépendant, son efficacité est directement liée au temps pendant lequel la concentration libre est supérieure à la CMI du germe à traiter ($\%fT_{>CMI}$). Les recommandations actuelles préconisent une concentration libre supérieure à quatre fois la CMI pendant 100 % du temps ($100\%fT_{>4CMI}$), sans dépasser 80 mg/L. L'objectif de ce travail était d'identifier les covariables influençant la pharmacocinétique de l'amoxicilline. Un nomogramme permettant une adaptation *a priori* de la posologie selon les caractéristiques cliniques et biologiques du patient a été ensuite développé sur la base du modèle de pharmacocinétique.

Matériels et méthodes : Les patients traités par amoxicilline en perfusion continue pour une EI au CHU de Nantes entre janvier 2013 et mai 2019, et pour lesquels toutes les données anthropologiques et analytiques étaient disponibles, ont été inclus rétrospectivement, *via* la cohorte endocardite nantaise. Les patients dialysés, sous ECMO ou circulation extracorporelle ont été exclus. Pour chaque patient et chaque concentration mesurée, les données suivantes ont été collectées : âge, poids, taille, créatininémie, protéines sériques totales et co-administration de ceftriaxone. Puis les paramètres suivants ont été calculés : indice de masse corporelle, surface corporelle, poids idéal, $DFG_{CKD-EPI}$ et valeur absolue du DFG (aGFR). Les patients ont été répartis en deux groupes : un premier (2/3 des patients) pour l'analyse et la création du modèle, le second (1/3 des patients) pour la validation du modèle. Les CMI des bactéries ont été déterminées antérieurement par méthode de dilution en milieu liquide automatisée ou par méthode manuelle de gradient de diffusion. Les dosages d'amoxicilline ont été réalisés par méthode chromatographique à haute pression couplée à un spectromètre de masse.

L'analyse de population a été réalisée à l'aide du package R pour Pmetrics (algorithme *non parametric adaptive grid* (NPAG)). Deux modèles, à un ou deux compartiments, ont d'abord été testés sans intégrer de covariable pour connaître la meilleure structure de modélisation. La sélection du modèle a été basée sur plusieurs éléments : l'*Akaike information criterion* (AIC) qui est un estimateur de la vraisemblance pénalisée par le nombre de paramètres dans le modèle. Le modèle a aussi été évalué par le calcul du biais (moyenne des différences entre concentrations observées et prédites) et de l'imprécision (racine carrée de la moyenne des différences au carré entre les concentrations observées et prédites), ainsi que par des graphiques diagnostiques : concentrations observées en fonction des concentrations prédites individuelles et de population, d'une part, et erreur résiduelle pondérée en fonction du temps ou des prédictions individuelles, d'autre part. Plusieurs modèles d'erreurs, estimant notamment l'imprécision de mesure et l'incertitude du temps d'échantillonnage, ont également été évalués. La relation entre les paramètres du modèle et les différentes covariables (âge, taille, poids, protéines sériques totales, créatinine sérique, traitement par ceftriaxone, indice de masse corporelle, surface corporelle, poids idéal, DFG_{CKD-EPI} et aGFR) a ensuite été évaluée. Les covariables ont été intégrées au modèle selon une relation linéaire, exponentielle, de puissance ou allométrique. Celles qui amélioraient statistiquement le modèle, étaient intégrées à sa structure finale. Les plages des paramètres ont été initialement définies de manière large, puis rétrécie lorsqu'un modèle candidat était adapté. Le processus a été répété jusqu'à ce qu'aucune autre amélioration du modèle ne soit observée.

Le modèle a ensuite été soumis à une validation interne. C'est-à-dire que des simulations de Monte Carlo (n=1000) ont été réalisées pour chaque patient du premier groupe, puis la répartition (médiane, 5^{ème} et 95^{ème} percentiles) des concentrations observées et simulées a été comparée visuellement. Le modèle a par la suite été soumis à une validation externe, c'est-à-dire que le modèle a prédit les concentrations du deuxième groupe de patients en utilisant les données de modélisation issues du premier groupe. La concordance entre les concentrations prédites et observées a été vérifiée. Des simulations de Monte Carlo ont également été réalisées sur ce deuxième groupe et la répartition a été évaluée visuellement.

En se basant sur les paramètres du modèle validé, des simulations de Monte Carlo ont été réalisées pour des profils de patients ayant des aGFR correspondants à ceux de la population utilisée pour le modèle, allant de 10 à 150 mL/min. Pour chaque profil, l'exposition à l'amoxicilline a été évaluée pour des doses allant de 1 000 mg/24h à 25 000 mg/24h administrées en perfusion continue.

Les cibles de concentration ont été définies à 20 mg/L et 80 mg/L, en accord avec les recommandations de la SFPT et de la SFAR. En effet, elles préconisent d'obtenir une concentration libre d'amoxicilline d'au moins 4 fois la CMI, sans dépasser 80 mg/L. Or les ECOFFs étant fixés à 0,25 mg/L et 4 mg/L pour les streptocoques et entérocoques respectivement, un seuil minimum de 20 mg/L d'amoxicilline totale permet d'obtenir une concentration libre supérieure ou égale à 4 fois la CMI de tous les streptocoques ou entérocoques (16 mg/L, 80 % de forme libre).

Un nomogramme a enfin été réalisé en reportant pour chaque aGFR la dose minimale d'amoxicilline permettant d'obtenir une concentration de 20 mg/L avec une probabilité d'au moins 0,9. La dose maximale permettant de ne pas dépasser une probabilité de 0,1 pour le seuil de 80 mg/L a aussi été reportée sur le graphique. La dose moyenne de ces deux courbes a également été calculée et représentée sur le graphique.

Résultats : Cent soixante patients ont été inclus dans cette étude, correspondant à 540 dosages. Les EI à streptocoque concernaient 77,5 % des patients tandis que 22,5 % étaient atteints d'une EI à entérocoque. Aucune souche n'avait de CMI supérieure à 2 mg/L, 32 CMI n'ont pas été mesurées. Cent sept patients correspondant à 373 dosages ont été inclus dans le premier groupe, cinquante-trois patients correspondant à 167 dosages ont été inclus dans le second groupe. Il n'y avait aucune différence statistiquement significative entre les deux groupes pour chacune des covariables, hormis la co-administration de ceftriaxone.

Un modèle à deux compartiments décrivait le mieux la pharmacocinétique de l'amoxicilline. Seul l'aGFR normalisé sur la médiane des aGFR (64,92 mL/min) influençait de manière statistiquement significative la pharmacocinétique de l'amoxicilline, avec un impact sur la constante d'élimination, selon la relation $K_e = K_{e1} \times (aGFR/64,92)^{K_{e2}}$. La validation du modèle a permis de montrer que le modèle décrivait correctement les données observées. Les simulations ont permis de déterminer la posologie permettant, pour chaque aGFR d'atteindre une concentration d'amoxicilline comprise entre 20 mg/L et 80 mg/L avec une probabilité de 0,9.

$$\text{Posologie minimum} = 0,0001 \times aGFR^2 + 0,0613 \times aGFR + 1,157$$

$$\text{Posologie maximum} = -0,0004 \times aGFR^2 + 0,2073 \times aGFR + 0,6325$$

$$\text{Posologie moyenne optimale} = -0,00015 \times aGFR^2 + 0,1343 \times aGFR + 0,89475$$

Discussion : De précédentes études ont, à l'instar de ce travail, décrit la pharmacocinétique de l'amoxicilline par un modèle à deux compartiments. Leurs résultats sont cohérents avec ceux de notre étude concernant les paramètres du modèle. Certaines différences peuvent être observées, mais s'expliquent par le fait que les populations étudiées sont différentes (patients en soins critiques ou population pédiatrique *versus* patients atteints d'EI).

Toutes les études s'accordent sur le fait que la clairance de la créatinine est le paramètre déterminant dans l'élimination de l'amoxicilline. Nous avons estimé le DFG d'après la formule du CKD-EPI et l'avons adapté à chaque surface corporelle. Le calcul du DFG selon la formule du CKD-EPI est une donnée simple à obtenir et les patients qui bénéficieront du nomogramme auront un DFG vraisemblablement calculé selon cette formule.

Une récente étude a montré que de nombreux traitements par β -lactamines n'atteignaient pas leur objectif PK-PD. Il a également été montré qu'une altération de la fonction rénale avec un DFG inférieur à 50 mL/min ou supérieur à 130 mL/min était associée à un plus faible niveau d'atteinte de l'objectif PK-PD. Les auteurs de cette étude insistent sur la nécessité d'une réévaluation des recommandations quant à l'utilisation des bonnes doses d'amoxicilline.

Les résultats de l'étude DALI (*Defining Antibiotic Levels in Intensive care unit patients*) suggèrent comme cible PK-PD des β -lactamines une concentration libre supérieure à la CMI pendant toute la durée du traitement. En tenant compte de la sévérité des patients atteints d'EI, une cible de concentration libre d'amoxicilline supérieure à quatre fois la CMI paraît être une marge raisonnable. En effet, sachant l'imprécision de la détermination des CMI, ainsi que le peu de données disponibles sur la diffusion de l'amoxicilline dans les végétations, cette marge apparaît plus sécurisante. La cible a été déterminée à 20 mg/L en s'appuyant sur le fait que 80% de l'amoxicilline n'était pas liée aux protéines plasmatiques et sur l'ECOFF des entérocoques estimé à 4 mg/L. Au vu de l'écologie de notre population (aucune CMI supérieure à 2 mg/L), cette marge semble suffisante. Néanmoins, dans le cas d'un environnement moins favorable, ce seuil pourra être réévalué.

La cible de toxicité a été définie à 80 mg/L, car il est peu probable qu'une concentration supérieure apporte un bénéfice d'efficacité. Cet objectif est aujourd'hui préconisé par les recommandations de la SFPT et de la SFAR.

Il n'existe actuellement que peu de nomogrammes d'adaptation posologique pour les β -lactamines et à notre connaissance aucun concernant l'amoxicilline. Les recommandations françaises de la SPILF et européennes de l'ESCMID s'accordent sur une adaptation basée sur le poids : 200 mg/kg/j, ce qui d'après cette étude n'apparaît pas pertinent. Une adaptation selon l'aGFR semble plus appropriée. Les recommandations américaines de l'IDSA préconisent une dose unique de 12 g par jour quel que soit le poids. Cette façon de procéder peut être problématique pour les patients avec des aGFR extrêmes.

Ce travail a permis la création d'un outil de médecine personnalisée pour prévenir la iatrogénie et augmenter l'efficacité bactéricide de l'amoxicilline. Il ne remplace pas pour autant le suivi thérapeutique pharmacologique. Une évaluation prospective devra également être réalisée pour évaluer son efficacité dans le choix de la dose quotidienne d'amoxicilline.

Article en anglais

Which dose of amoxicillin in infective endocarditis? Development of a simple predictive medicine tool for adaptation.

Antoine Rambaud¹, Benjamin Gaborit^{2,3}, Colin Deschanvres², Paul Le Turnier², Raphaël Lecomte², Nathalie Asseray-Madani², Anne-Gaëlle Leroy^{3,4}, Guillaume Deslandes¹, Éric Dailly^{1,5}, Pascale Jolliet¹, David Boutoille^{2,3}, Ronan Bellouard^{1,5}, Matthieu Grégoire^{1,6}, on behalf of the Nantes Anti-Microbial Agents PK/PD (NAMAP) study group

¹ Clinical Pharmacology Department, CHU Nantes, Nantes, France

² Department of Infectious Diseases, CHU Nantes and CIC 1413, INSERM, Nantes, France

³ EA 3826, Laboratory of clinical and experimental therapeutics of infections, IRS2-Nantes Biotech, University of Nantes, France

⁴ Department of Bacteriology, CHU Nantes, Nantes, France.

⁵ EE 1701, MiHAR, University of Nantes, Nantes, France

⁶ UMR INSERM 1235, The enteric nervous system in gut and brain disorders, University of Nantes, France.

Correspondance to Antoine Rambaud, Laboratoire de Pharmacologie Clinique, Hôtel Dieu,

9 Quai Moncousu, 44093 Nantes Cedex 1, France

email : antoine.rambaud@chu-nantes.fr, Phone : +33 2 40 08 40 87

Keywords: Amoxicillin, Pharmacokinetics, Infective endocarditis, Nomogram, Glomerular filtration rate

Synopsis

Background: Amoxicillin is the first-line treatment of streptococci or enterococci infective endocarditis (IE) with a dose regimen adapted to the weight. Objectives were to identify which co-variables influenced pharmacokinetics (PK) of amoxicillin in order to develop a nomogram based on identified co-variables for individual adaptation.

Materials/methods: Patients treated with amoxicillin administered by continuous infusion for an IE were included retrospectively. The population PK analysis was performed using the Pmetrics package for R (NPAG algorithm). Influence of weight, ideal weight, height, body mass index, body surface area, glomerular filtration rate adapted to the body surface area and calculated by the CKD-EPI method (mL/min), additional ceftriaxone treatment and serum protein level on amoxicillin PK were tested. A nomogram was then developed to determine the daily dose to achieve a steady-state concentration between 20 mg/L (free fraction above 4 times the MIC, 100 % of time for an MIC \leq 4 mg/L) and 80 mg/L.

Results: A total of 160 patients were included. Population pharmacokinetic analysis was performed on 540 amoxicillin plasma concentrations. A two-compartment model best described amoxicillin PK and the GFR covariate significantly improved the model when included in the calculation of the elimination constant K_e . To achieve defined targets with a probability of 0.9, the daily dose should be from $0.0001 \times GFR^2 + 0.0613 \times GFR + 1.157$ (g/day) to $-0.0004 \times GFR^2 + 0.2073 \times GFR + 0.6325$ (g/day), respectively.

Conclusions: This work allowed the development of a personalized medicine tool which can help to increase achievement of the PK-PD targets in IE treated by amoxicillin.

Introduction

Amoxicillin is the first line treatment of streptococcal and enterococcal infective endocarditis (IE) which represent almost half of the monomicrobial IE.¹⁻³ These types of IE are associated with an in-hospital mortality between 10 and 20 %.³⁻⁶

Currently, European and French IE guidelines recommend adjusting amoxicillin doses to the weight and the germ species.^{2,7} Conversely, the Infectious Diseases Society of America (IDSA) recommends a daily dose of 12 g whatever the weight.⁸ Even if amoxicillin is known to be mainly cleared by kidneys,⁹ a dose adjustment based on glomerular filtration rate (GFR) is not currently recommended. A recent work reports that elevated amoxicillin MICs are associated with increased in-hospital mortality and suggests that amoxicillin dose adaptation to MICs may improve patient outcome.⁴ In case of augmented renal clearance, the risk of treatment failure may probably also be increased.¹⁰

Amoxicillin is known to be a time-dependent antibiotic, which means that its effectiveness depends on the time during which the free fraction is above the MIC of the targeted bacteria ($\%fT_{>MIC}$). Recent guidelines in critically ill patients recommend to achieve a free plasma amoxicillin concentration higher than 4 times the MIC of the germ for 100% of the time ($\%fT_{>4MIC}$) without exceeding 80 mg/L suggesting there is no interest to exceed this limit in terms of antibacterial efficiency and probably in terms of toxicity that could be increased.^{11,12}

A study in critically ill patients highlights that in case of GFR lower than 60 mL/min, an adaptation of the amoxicillin dose is required and suggests that an adaptation based on measured plasma concentration is mandatory.¹³ Currently, an *a priori* adaptation of amoxicillin daily doses based on GFR is not recommended but seems interesting to anticipate the risks associated with under- or overdosing. Recent publications offer *a priori* adaptation

nomograms for antibiotic daily dose adaptation, but these works did not concern amoxicillin.¹⁴⁻¹⁷ This type of tool appears to be more accurate than guidelines adaptation on weight, especially when the nomogram was designed based on population pharmacokinetics.

This work aims to study amoxicillin pharmacokinetics when administered by continuous infusion in patient treated for IE using a non-parametric population pharmacokinetic modeling approach. A nomogram allowing an accurate *a priori* dose adjustment according to clinical and biological characteristics of each patient was developed based on the PK model.

Materials and methods

Patient population and data collection

Data from patients of the IE prospective cohort of the Nantes University Hospital treated by continuous infusion of amoxicillin for IE between January 2013 and May 2019 were retrospectively analyzed. All consecutive patients admitted with a possible of definite diagnosis of IE according to Duke University criteria and confirmed by the local endocarditis teams were eligible for study entry. Among them, patients treated by continuous infusion of amoxicillin and for whom amoxicillin plasma concentration(s) and every anthropological and analytical data needed were available were in the end included in the study. Patients under dialysis, extracorporeal membrane oxygenation, and extracorporeal circulation were excluded.

For all patients and at each plasma concentration measurement, following data were collected: age, weight, height, serum creatinine, total protein and additional ceftriaxone treatment. Then, many parameters were calculated: Body Mass Index (BMI), Body Surface Area (BSA) according to Dubois formula,¹⁸ Ideal Body Weight according to Robinson

formula (RIBW),¹⁹ Devine formula (DIBW),²⁰ Hammond formula (HIBW),²¹ Peterson formula (PIBW),²² estimated GFR indexed by BSA (eGFR, mL/min/1.73m²) according to CKD-EPI formula²³ and absolute value of the GFR (aGFR, mL/min) calculated from patient eGFR and BSA.

Patients were randomly distributed in two datasets: 2/3 in the first set for population PK modeling and 1/3 in the second set for model validation. To compare the characteristics of the two datasets, Fisher's exact test and Mann-Whitney-Wilcoxon test were performed (significance threshold defined for a p-value less than 0.05).

Bacterial susceptibility testing

Bacterial antibiotic susceptibilities, including amoxicillin MICs were determined using a Vitek 2 automated system (bioMérieux, Marcy-l'Étoile, France) and AST-ST03 cards (for *Streptococcus* sp) or ASTP606 cards (*Enterococcus* sp). When needed, amoxicillin MICs were specifically determined by gradient diffusion (Etest; bioMérieux, Marcy-l'Étoile, France) using Mueller-Hinton Fastidious agar plates.

Amoxicillin quantification

Total amoxicillin plasma concentrations were determined by a liquid-chromatography (HPLC) coupled with mass-spectrometry validated assay.²⁴ Blood samples were collected on EDTA tube and centrifuged (1,500 x g, 10 min, 4°C) upon reception at the laboratory. Then, deuterated internal standard (D6-amoxicillin 20 µL, 50 mg/L, final concentration: 0.769 mg/L) and acetonitrile (400 µL) were added to 100 µL of plasma for protein precipitation. The mixture was vortexed 5 min using a VXR basic Vibrax® shaker (IKA, Staufen, Germany) and centrifuged 10 min (15,000 g, 8°C). Supernatant was recovered and evaporated

at 37°C by a stream of nitrogen using a TurboVap® LV evaporator (Biotage, Uppsala, Sweden). The dry residue was taken up by 100 µL of mobile phase (water + formic acid 0.1 % v/v). Five microliters were injected into the HPLC system. The separation was performed on a Kinetex® 2.6 µm C18 50 mm × 2.1 mm column (Phenomenex, Le Pecq, France). The MS/MS system used was a 3200 QTRAP® (SCIEX, Villebon-sur-Yvette, France). Analytes were quantified using the multiple reaction monitoring mode (MRM). The flow rate was set at 0.5 mL/min. The column temperature was set at 40 °C. The MS/MS instrument was operated with ion spray voltage of 4500 V, source temperature of 400 °C, collision gas on medium level and nitrogen curtain gas of 25 psi. For each analyte, two transitions were monitored: one for quantification and the other to confirm identification. The ratio between the peak areas of the two transitions should not deviate more than 20% from the initial fixed value. All analytes were measured using positive-ion electrospray ionization. Data were acquired and processed using Analyst® 1.6.3 software (SCIEX, Villebon-sur-Yvette, France). Peak asymmetry factor and signal-to-noise ratio were calculated using Multiquant® 3.0.2 (SCIEX, Villebon-sur-Yvette, France).

The lower limit of quantification (LLOQ) was 2 mg/L and the upper limit was 200 mg/L. Accuracy was satisfactory, with intraday and interday coefficients of variation being less than 15% (20% for the LLOQ). Imprecision was also less than 15% (20% for the LLOQ).

Population pharmacokinetics analysis

Structural model

Population PK model was performed using the non-parametric adaptive grid (NPAG) algorithm with the Pmetrics package for R (version 1.5.1, LAPK, CA, USA).^{25,26}

One-compartment and two-compartment (central and peripheral) structural models were initially tested without covariates to determine the best-fitting structural model and to estimate the parameters. Structural model selection was performed by evaluating the goodness of fit based on the Akaike information criterion (AIC), which is an estimate of the likelihood that the model is a good fit penalized by the number of parameters in the model. A lower value of the AIC indicates a better-fitting model (p-value < 0.05). The models were also assessed by using population bias (the mean weighted error of predictions minus observations) and imprecision (the bias-adjusted mean weighted squared error of predictions minus observations) calculations and by using diagnostic plots: observed concentrations versus population and individually predicted concentrations and weighted residual error versus time or individual predictions.

Then, additive and multiplicative error model were tested: each observation were weighted by: $SD \times \gamma$ and $(SD^2 + \lambda^2)^{0.5}$, respectively, where SD is the standard deviation of each observation and γ and λ represent process noise, such as sampling time uncertainty and model misspecification. SD was modeled by a polynomial equation: $C_0 + C_1 \times [obs] + C_2 \times [obs]^2 + C_3 \times [obs]^3$, where $[obs]$ is the observed concentration.

The relationship between the model parameters and the different covariates (age, height, weight, serum total protein, serum creatinine, ceftriaxone treatment, BMI, BSA, RIBW, DIBW, HIBW, eGFR and aGFR) was then evaluated using stepwise linear regression and visual assessment of plots of the model parameters against covariates. Continuous covariates were integrated in the structural model using either a linear [$P = P1 + P2 \times (COV/COV_{median})$], exponential [$P = P1 \times e^{(P2 \times COV)/COV_{median}}$], power [$P = P1 \times (COV/COV_{median})^{P2}$] or allometric [$P = P1 \times (COV/COV_{median})^{0.75}$] relationship, where P , $P1$, and $P2$ are parameters; COV is the covariate value; and COV_{median} is the covariate median in the data set. Discontinuous covariates were integrated in the structural model using

either a linear [$P = P1 + P2 \times COV$] or exponential [$P = P1 \times P2^{COV}$] relationship, where P, P1, and P2 are parameters and COV is the covariate coded 1 or 0. Covariates, which improved the model using previously described evaluation, were integrated to the final model.

Parameter ranges were initially set wide and then narrowed when a candidate model was fitting in order to increase the density of support points in the pertinent range.

The process was iterated until no further improvement to the model was observed.

Model validation

Visual Predictive Checks (VPC) were performed using Monte Carlo simulations ($n=1,000$) from each patient in the first data set. Medians, 5th and 95th percentiles for observed and simulated concentrations were then compared visually. Plotting was done using the VPC package for R.²⁷

A zero-cycle run with the NPAG algorithm was used on the second data set with the selected model and prior support points from the first data set. Concordance between observed and predicted concentrations was visually checked. VPC were also performed on the second dataset.

Probability of target attainment and dosing nomogram

Based on the parameters of the structural model, Monte Carlo simulations ($n = 1,000$) were generated from patient profiles with various aGFR reflective of the population observed for modeling. For each of these profiles, exposure to amoxicillin was assessed for doses ranging from 1,000 mg/day to 25,000 mg/day administered as continuous infusion.

Target plasma concentrations for total amoxicillin were defined as 20 mg/L and 80 mg/L. Knowing that EUCAST epidemiological cutoff MIC is 4 mg/L for *Enterococcus faecalis* and ≤ 0.25 mg/L for *Streptococcus sp.*,²⁸ according to the 100% $fT_{4\text{ MIC}}$ ratio for efficacy¹¹ and assuming that the free fraction is 80% of the total concentration,²⁹ the targeted total concentration should be at least 20 mg/L at steady state. The 80 mg/L target was defined as an upper limit beyond which the neurotoxicity risk can be increased and the efficacy of beta-lactams does not seem to be improved according to the guidelines from the French Society of Anesthesia and Intensive Care Medicine.¹¹

To conceive the dosing nomogram, the lowest dose required to achieve a probability of target attainment (PTA) of 0.9 at steady state for each of the simulated patient profiles was reported against aGFR on a graph in Microsoft Excel software (Microsoft Corporation, Redmond WA, USA) for the 20 mg/L threshold. The highest dose allowing to not overtake a PTA of more than 0.1 was reported for the 80 mg/L threshold. Finally, the average of the two curves was calculated and also shown on the graph.

Results

Patient characteristics and amoxicillin concentrations

A total of 160 patients were included in the study, corresponding to 540 amoxicillin quantifications. *Streptococcus spp.* was identified in 124 patients (77.5%) (53 patients with oral streptococci, 47 patients with *S. gallolyticus*, 24 patients with other streptococci (mainly *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae* and *S. pneumoniae*)) and *Enterococcus faecalis* in 36 patients (22.5%).

Out of 124 streptococci, 91 (73.4%) display a MIC under or equal to 0.25 mg/L, 5 (4.0%) between 0.25 and 2 mg/L, none above 2 mg/L and 28 (22.6%) were not available. For

the 36 enterococci, 32 (88.9%) display a MIC under or equal to 2 mg/L, none above 2 mg/L and 4 (11.1%) were not available.

The initial median daily dose was 12,000 mg/day, and dose range from 2,000 mg/day to 20,000 mg/day. Median dose according to weight was 164 mg/kg/day (164 mg/kg/day for *Streptococcus spp.* and 168 mg/kg/day for *Enterococcus faecalis*, the difference was not significant: p-value = 0.4808), from 23 mg/kg/day to 267 mg/kg/day. Fifty-five patients received additional ceftriaxone therapy, mainly concerned enterococcal IE. Patient characteristics are summarized in **Table 1**.

A total of 540 amoxicillin plasma concentrations were used for the pharmacokinetic analysis. The number of samples per patient ranged from 1 to 13. All concentrations were above the lower limit of quantitation (LLOQ) of 2 mg/L.

The first data set comprised 107 patients (373 concentrations), and the second data set comprised 53 patients (167 concentrations). The only significant difference between the two sets was the ceftriaxone treatment (**Table 1**).

Population pharmacokinetics modeling

The observed data were best described by a two-compartment structural model with the central compartment volume (V) and the elimination rate constant (K_e). More complex structural models did not significantly improve the AIC, population bias or imprecision. One covariate was found to have an influence on the model parameters (p-value < 0.05): the aGFR normalized with the median of the aGFR including each episode on K_e . The relationship was best described by a power equation, $K_e = K_{e1} \times (aGFR/64.92)^{K_{e2}}$. The final structural model is represented in **Fig. 1**, and pharmacokinetic parameters estimates are summarized in **Table 2**. A lambda error model with a starting value of 3 was chosen, and values for error

coefficients C0, C1, C2 and C3 were 2.5, 0.15, 0, and 0 respectively for the standard deviation (SD) polynomial. The final cycle value of lambda was 5.65, which indicates some process noise due to the retrospective nature and heterogeneity of the data.

Observation-versus-prediction plots are presented in **Fig. 2a**. Bias and imprecision were -0.266 and 1.25, respectively, for population predictions and -0.121 and 0.64, respectively, for individual predictions. Residual plots for population predictions showed an even distribution of weighted residual errors over the concentration range and over the time (**Fig. 3**).

Model validation

VPC plots revealed that the model correctly described the observed data (**Fig. 4a**). Some variability could be observed for high values of aGFR, due to the heterogeneity of the data, covariate influence, and population variability.

For the external data set, observed versus predicted concentration plots proved to be adequate (**Fig. 2b**). VPC plots proved that the model correctly described the observed data (**Fig. 4b**).

PTA and dosing nomogram

The dosing nomogram for amoxicillin is presented in **Fig. 5** and includes equations to directly calculate the daily dose required to achieve the target concentration with a PTA of 0.9, given the patient aGFR. For example, for an aGFR at 30, 60, 90 and 120 mL/min, the daily dose needed to achieve a 100% $fT_{>4 \times MIC}$ ratio with a 90 % success rate must be comprised between 3.1 and 6.5 g/day (mean dose = 4.8 g/day), 5.2 and 11.6 g/day (mean dose

= 8.4 g/day), 7.5 and 16.0 g/day (mean dose = 11.8 g/day), 10.0 and 19.7 g/day (mean dose = 14.9 g/day), respectively.

Discussion

The objective of this work was to develop a population PK model in patients treated by amoxicillin continuous infusion for IE. From this model, a nomogram based on aGFR for dose adaptation has been developed. Regarding the high level of in-hospital mortality, this tool aims to facilitate the choice of amoxicillin optimal dose to achieve efficacy and to prevent toxicity particularly if therapeutic drug monitoring results are not rapidly available.⁴⁻

6

In previous population PK works, amoxicillin PK has been mainly modeled using two-compartment models in adult patients and infants.²⁹⁻³² These findings are consistent with our study. Our estimate of the volume of the central compartment is close to those observed in previous studies (mean $V=6.9L$ versus 13.7L,²⁹ 10.1L,³⁰ 11.3L,³¹ 9.1L,¹⁰ 1.5L³²). The differences that can be noted should be nuanced because these studies focus on populations of critical care patients or pediatric patients that have different characteristics compared to our population.

Renal function appears to be the most important parameter influencing clearance of amoxicillin in published works.^{9,33} In our work, aGFR calculated by CKD-EPI formula was the only covariate improving model prediction. It is not excluded that measurement of the clearance of creatinine in the urine during 24h would have been more accurate, but this data was not available in our study. Moreover, DFG calculated by the CKD-EPI formula appears to be an easy access data for dose adaptation. Only one study that focuses on burn patients found a relationship between body weight and volume of central compartment and differs

from our work.³⁰ Other anthropomorphic characteristics, just like previous works, did not improve the model and were not integrated. It is interesting to note that ceftriaxone co-administration does not seem to increase the risk of amoxicillin overdose.

This development of the nomogram was required regarding the low level of PK target achievement, especially in intensive care unit.³⁴ An impaired renal function (DFG <50mL/min) is associated with an over-risk of overdose. Conversely when GFR was over 130 mL/min, it was significantly more difficult to reach the PK-PD target. Authors insist on the need of new guidelines for amoxicillin dose choice.³⁴

The DALI study suggests that the PK-PD target is 100% $fT_{>MIC}$ for beta-lactams in critically ill patients.³⁵ Given the severity of IE patients, a fixed target for unbound trough plasma concentration higher than 4 times the MIC of the targeted bacteria appears to be reasonable.^{11,12} This margin of safety is justified notably by imprecision in the determination of the MIC.³⁶ Moreover, diffusion of amoxicillin in valves and vegetations is poorly known and could justify this margin. An elevated target appears to be more accurate to prevent insufficient level of diffusion and to have a maximum bactericidal rate.^{37,38} Therefore, a target of 20 mg/L was chosen based on a protein binding around 20%²⁹ and a maximum MIC value of 4 mg/L (ECOFF for *Enterococcus faecalis*).²⁸ Considering the bacterial ecology of our population, this target provides sufficient margin to treat all the strains isolated because 100% display a MIC lesser than 2 mg/L. However, in case of less favorable environment, this margin could be reduced.

The target for toxicity was fixed at 80 mg/L because it is unlikely that exceeding these concentrations will provide a benefit in terms of effectiveness. This target has been confirmed by the recent guidelines of the French society of anesthesia and intensive care/French society of pharmacology.^{11,20}

This work suffers from several limitations. First, free fraction of amoxicillin was not measured but only calculated from literature data with an unbound fraction at around 80%.²⁹ This approach appears to be acceptable in this case because amoxicillin is poorly bound to plasma proteins and IE patients remains relatively stable on proteins and hemodynamics compared with critically ill patients.^{29,34,39} Moreover, tissue concentration is not measured and diffusion of amoxicillin in valves and vegetation is poorly known, but as explained previously, a plasma concentration higher than 4 times the MIC of the targeted bacteria could fill this gap.

Secondly, nomogram should be use with caution for patients with extreme aGFR values (aGFR > 150 mL/min) because our study contained very few patients with these characteristics and in case of dialysis, extracorporeal membrane oxygenation, and extracorporeal circulation because our study excluded these patients.

Currently, there are very few dose adjustment nomograms for beta-lactams and none for amoxicillin. The French recommendations from the “Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française” (SPILF) and the European’s from the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID), recommend a dose adaptation based on the weight of the patient: 200 mg/kg per day. According to this work, this way for adaptation is poorly relevant: the weight does not impact the concentration of amoxicillin, and a dose adjustment based on GFR would be more appropriate. The IDSA does not include the weight to determine the dose of amoxicillin, a standard dose of 12 g per day is preconized. This way could be problematic in patients with extreme GFR. To our knowledge, currently, there is no specific recommendation regarding the adjustment of amoxicillin dose based on GFR.^{2,8,40}

For example, a patient with an aGFR of 80 mL/min and weighting 75 kg (approximately mean patient aGFR and weight in this study) will require a daily dose of 6.7 to 14.7 g/day based on nomogram. In this case, the posology is consistent with American

guidelines (12 g), but the patient would probably be over dosed using European and French guidelines (15 g). In case of renal impairment (aGFR = 20 mL/min), a probably frequent and underestimated situation in patient with IE, the same patient, would require a least 2.4 g daily without exceeding 4.6 g to obtain the same PTA. This patient would probably be over dosed using French, European and American guidelines (15 g). In summary, according to our model, French, European, and American guidelines probably overestimate the posology of amoxicillin especially in case of impaired renal function or obese patients. On the contrary, these guidelines could increase the risk of subtherapeutic concentration in case of increase GFR or lean patients.

This nomogram can be a useful tool for physicians for amoxicillin daily dose choice in patients with IE. The aGFR is the only parameter required for this use. After treatment initiation, nomogram does not replace therapeutic drug monitoring. Henceforth, a prospective evaluation of the nomogram should also be performed to assess its efficacy in amoxicillin daily dose choice.

Acknowledgements

None to declare.

Funding

This research received no specific grant from any funding agency in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Transparency declarations

None to declare.

References

1. Sunder S, Grammatico-Guillon L, Lemaigen A, *et al.* Incidence, characteristics, and mortality of infective endocarditis in France in 2011. *PloS One* 2019; **14**: e0223857.
2. Habib G, Lancellotti P, Antunes MJ, *et al.* 2015 ESC Guidelines for the management of infective endocarditis. The Task Force for the Management of Infective Endocarditis of the European Society of Cardiology (ESC) Endorsed by: European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS), the European Association of Nuclear Medicine (EANM). *Eur Heart J* 2015; **36**: 3075–128.
3. Habib G, Erba PA, Iung B, *et al.* Clinical presentation, aetiology and outcome of infective endocarditis. Results of the ESC-EORP EURO-ENDO (European infective endocarditis) registry: a prospective cohort study. *Eur Heart J* 2019; **40**: 3222–32.
4. Pilmis B, Lourtet-Hascoët J, Barraud O, *et al.* Be careful about MICs to amoxicillin for patients with Streptococci-related infective endocarditis. *Int J Antimicrob Agents* 2019; **53**: 850–4.
5. Gilmore MS, Clewell DB, Ike Y, Shankar N eds. *Enterococci: From Commensals to Leading Causes of Drug Resistant Infection*. Boston: Massachusetts Eye and Ear Infirmary; 2014. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK190424/>. Accessed November 8, 2019.
6. McDonald JR, Olaison L, Anderson DJ, *et al.* Enterococcal endocarditis: 107 cases from the international collaboration on endocarditis merged database. *Am J Med* 2005; **118**: 759–66.
7. SPILF. Recommandations. Available at: <https://www.infectiologie.com/fr/recommandations.html>. Accessed December 18, 2019.
8. Tattevin P, Mainardi J-L. Analysis of the 2015 American and European guidelines for the management of infective endocarditis. *Med Mal Infect* 2016; **46**: 406–10.

9. Spyker DA, Rugloski RJ, Vann RL, O'Brien WM. Pharmacokinetics of Amoxicillin: Dose Dependence After Intravenous, Oral, and Intramuscular Administration. *Antimicrob Agents Chemother* 1977; **11**: 132–41.
10. De Cock PAJG, Standing JF, Barker CIS, *et al.* Augmented renal clearance implies a need for increased amoxicillin-clavulanic acid dosing in critically ill children. *Antimicrob Agents Chemother* 2015; **59**: 7027–35.
11. Guilhaumou R, Benaboud S, Bennis Y, *et al.* Optimization of the treatment with beta-lactam antibiotics in critically ill patients—guidelines from the French Society of Pharmacology and Therapeutics (Société Française de Pharmacologie et Thérapeutique—SFPT) and the French Society of Anaesthesia and Intensive Care Medicine (Société Française d'Anesthésie et Réanimation—SFAR). *Crit Care* 2019; **23**: 104.
12. Wong G, Taccone F, Villois P, *et al.* β -Lactam pharmacodynamics in Gram-negative bloodstream infections in the critically ill. *J Antimicrob Chemother* 2019.
13. Verdier MC, Tribut O, Tattevin P, Michelet C, Bentué-Ferrer D. Assessment of interindividual variability of plasma concentrations after administration of high doses of intravenous amoxicillin or cloxacillin in critically ill patients. *J Chemother Florence Italy* 2011; **23**: 277–81.
14. Bellouard R, Deschanvres C, Deslandes G, *et al.* Population Pharmacokinetic Study of Cefazolin Dosage Adaptation in Bacteremia and Infective Endocarditis Based on a Nomogram. *Antimicrob Agents Chemother* 2019; **63**.
15. Grégoire M, Dailly E, Turnier PL, *et al.* High-Dose Ceftriaxone for Bacterial Meningitis and Optimization of Administration Scheme Based on Nomogram. *Antimicrob Agents Chemother* 2019; **63**. Available at: <https://aac.asm.org/content/63/9/e00634-19>. Accessed November 26, 2019.
16. Grégoire M, Dumont R, Ronchi L, *et al.* Prophylactic cefazolin concentrations in morbidly obese patients undergoing sleeve gastrectomy: do we achieve targets? *Int J Antimicrob Agents* 2018; **52**: 28–34.
17. Williams P, Beall G, Cotta MO, Roberts JA. Antimicrobial dosing in Critical Care: A pragmatic adult dosing nomogram. *Int J Antimicrob Agents* 2019. Available at:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924857919302985>. Accessed December 3, 2019.

18. Du Bois D, Du Bois E. A formula to estimate the approximate surface area if height and weight be known. 1916. *Nutr Burbank Los Angel Cty Calif* 1989; **5**: 303–11; discussion 312–3.

19. Daniel Robinson J, Lupkiewicz SM, Palenik L, Lopez LM, Ariet M. Determination of Ideal Body Weight for Drug Dosage Calculations. *Am J Hosp Pharm* 1983; **40**: 1016–9.

20. Devine B. Gentamicin therapy. *Drug Intell Clin Pharm* 1974; **8**: 650–5.

21. Hammond K. Dietary and clinical assessment. In: Mahan LK, Stump SE, editors. *Krause's food, nutrition, & diet therapy*. 11th ed. Philadelphia: Saunders., 2000; 353–79.

22. Peterson CM, Thomas DM, Blackburn GL, Heymsfield SB. Universal equation for estimating ideal body weight and body weight at any BMI. *Am J Clin Nutr* 2016; **103**: 1197–203.

23. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, *et al*. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med* 2009; **150**: 604–12.

24. Bellouard R, Deslandes G, Morival C, *et al*. Simultaneous determination of eight β -lactam antibiotics in human plasma and cerebrospinal fluid by liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *J Pharm Biomed Anal* 2019; **178**: 112904.

25. Neely MN, van Guilder MG, Yamada WM, Schumitzky A, Jelliffe RW. Accurate detection of outliers and subpopulations with Pmetrics, a nonparametric and parametric pharmacometric modeling and simulation package for R. *Ther Drug Monit* 2012; **34**: 467–76.

26. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2018. Available at: <https://www.R-project.org/>.

27. Anon. Introduction · GitBook. Available at: <http://vpc.ronkeizer.com/>. Accessed December 18, 2019.

28. Anon. EUCAST: Clinical breakpoints and dosing of antibiotics. Available at: http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/. Accessed October 16, 2019.

29. Carlier M, Noë M, De Waele JJ, *et al.* Population pharmacokinetics and dosing simulations of amoxicillin/clavulanic acid in critically ill patients. *J Antimicrob Chemother* 2013; **68**: 2600–8.
30. Fournier A, Goutelle S, Que Y-A, *et al.* Population Pharmacokinetic Study of Amoxicillin-Treated Burn Patients Hospitalized at a Swiss Tertiary-Care Center. *Antimicrob Agents Chemother* 2018; **62**.
31. Landersdorfer CB, Kinzig M, Bulitta JB, *et al.* Bone penetration of amoxicillin and clavulanic acid evaluated by population pharmacokinetics and Monte Carlo simulation. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; **53**: 2569–78.
32. Tang B-H, Wu Y-E, Kou C, *et al.* Population Pharmacokinetics and Dosing Optimization of Amoxicillin in Neonates and Young Infants. *Antimicrob Agents Chemother* 2019; **63**.
33. Horber FF, Frey FJ, Descoeudres C, Murray AT, Reubi FC. Differential effect of impaired renal function on the kinetics of clavulanic acid and amoxicillin. *Antimicrob Agents Chemother* 1986; **29**: 614–9.
34. Wong G, Briscoe S, McWhinney B, *et al.* Therapeutic drug monitoring of β -lactam antibiotics in the critically ill: direct measurement of unbound drug concentrations to achieve appropriate drug exposures. *J Antimicrob Chemother* 2018; **73**: 3087–94.
35. Roberts JA, Paul SK, Akova M, *et al.* DALI: defining antibiotic levels in intensive care unit patients: are current β -lactam antibiotic doses sufficient for critically ill patients? *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am* 2014; **58**: 1072–83.
36. Mouton JW, Muller AE, Canton R, Giske CG, Kahlmeter G, Turnidge J. MIC-based dose adjustment: facts and fables. *J Antimicrob Chemother* 2017.
37. Goessens WHF, Mouton JW, ten Kate MT, Bijl AJ, Ott A, Bakker-Woudenberg I a. JM. Role of ceftazidime dose regimen on the selection of resistant *Enterobacter cloacae* in the intestinal flora of rats treated for an experimental pulmonary infection. *J Antimicrob Chemother* 2007; **59**: 507–16.

38. Mouton JW, Punt N, Vinks AA. Concentration-effect relationship of ceftazidime explains why the time above the MIC is 40 percent for a static effect in vivo. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; **51**: 3449–51.
39. Wright AJ. The penicillins. *Mayo Clin Proc* 1999; **74**: 290–307.
40. Baddour LM, Wilson WR, Bayer AS, *et al.* Infective Endocarditis in Adults: Diagnosis, Antimicrobial Therapy, and Management of Complications: A Scientific Statement for Healthcare Professionals From the American Heart Association. *Circulation* 2015; **132**: 1435–86.

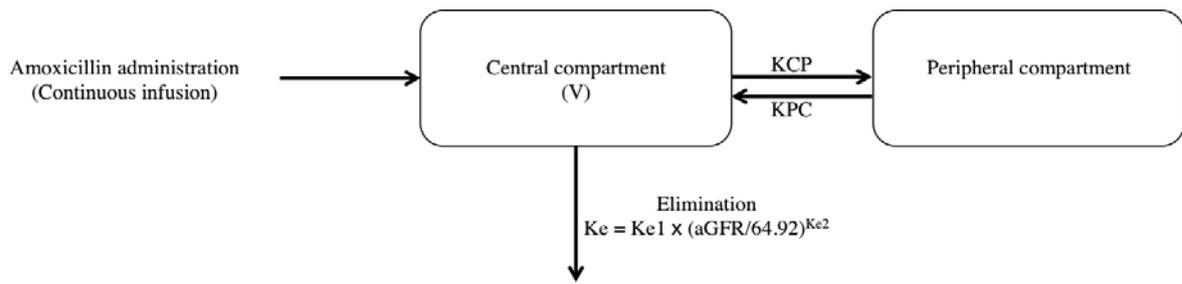


Figure 1: Final structural model for continuous-infusion amoxicillin. A two-compartment model with absolute value of estimated glomerular filtration rate (CKD-EPI formula) integrated as a covariate for elimination rate.

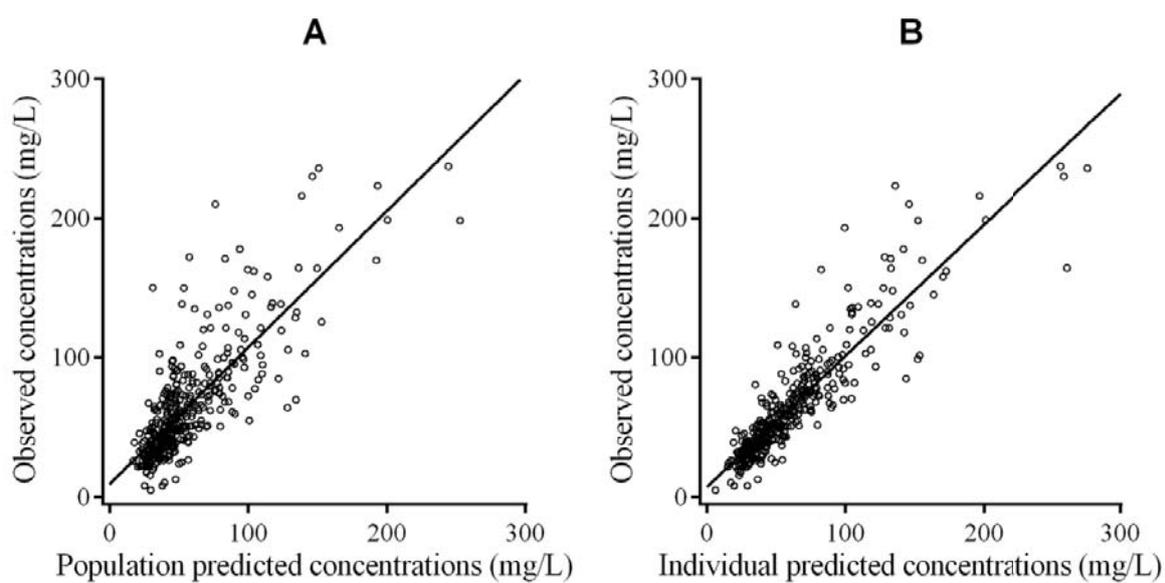


Figure 2a: Observed versus population predicted amoxicillin concentration (A) and individual predicted amoxicillin concentration (B), performed on the first dataset. The full line is the linear regression line ($R^2 = 0.633$ for panel A and $R^2 = 0.811$ for panel B).

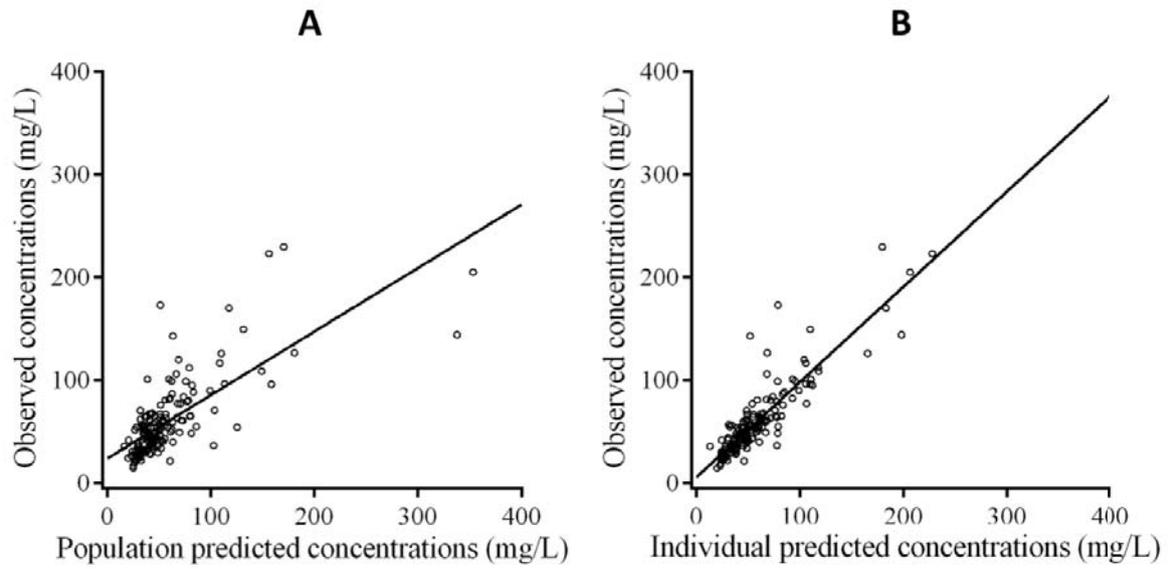


Figure 2b: Observed versus population predicted amoxicillin concentration (A) and individual predicted amoxicillin concentration (B), performed on the second dataset. The full line is the linear regression line ($R^2 = 0.529$ for panel A and $R^2 = 0.788$ for panel B).

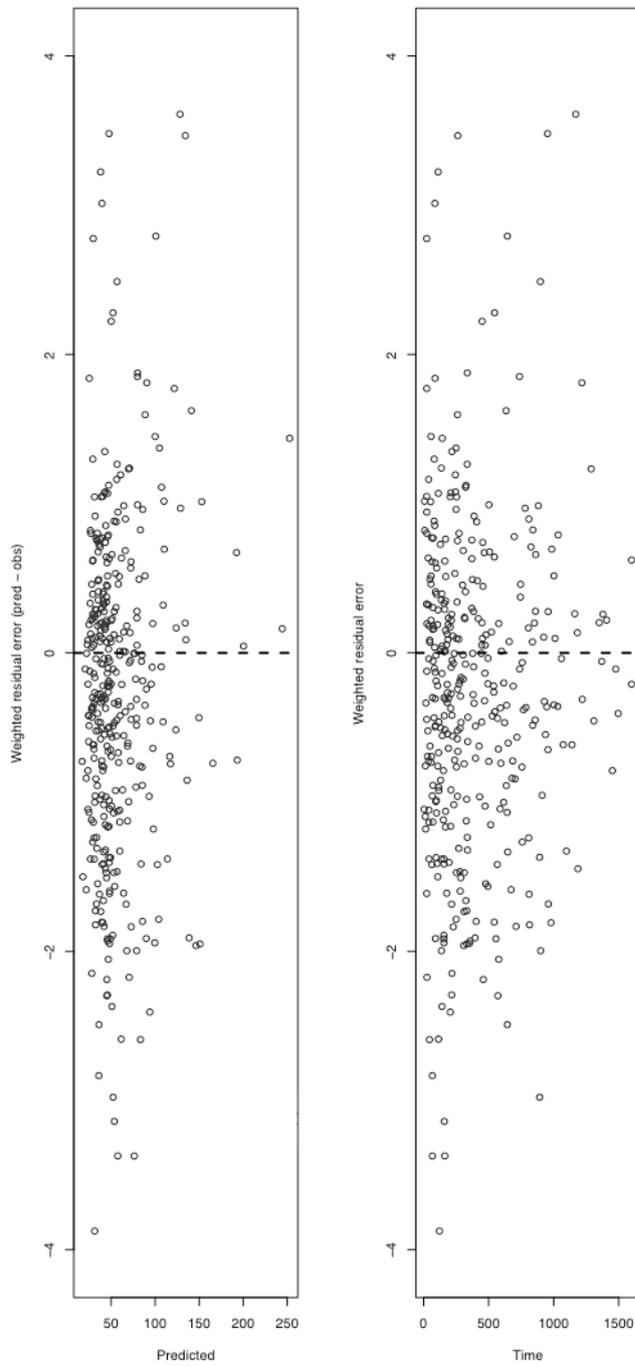


Figure 3: Weighted residual error plotted against predicted concentrations (mg/L) (left) and time (h) (right) for population predictions.

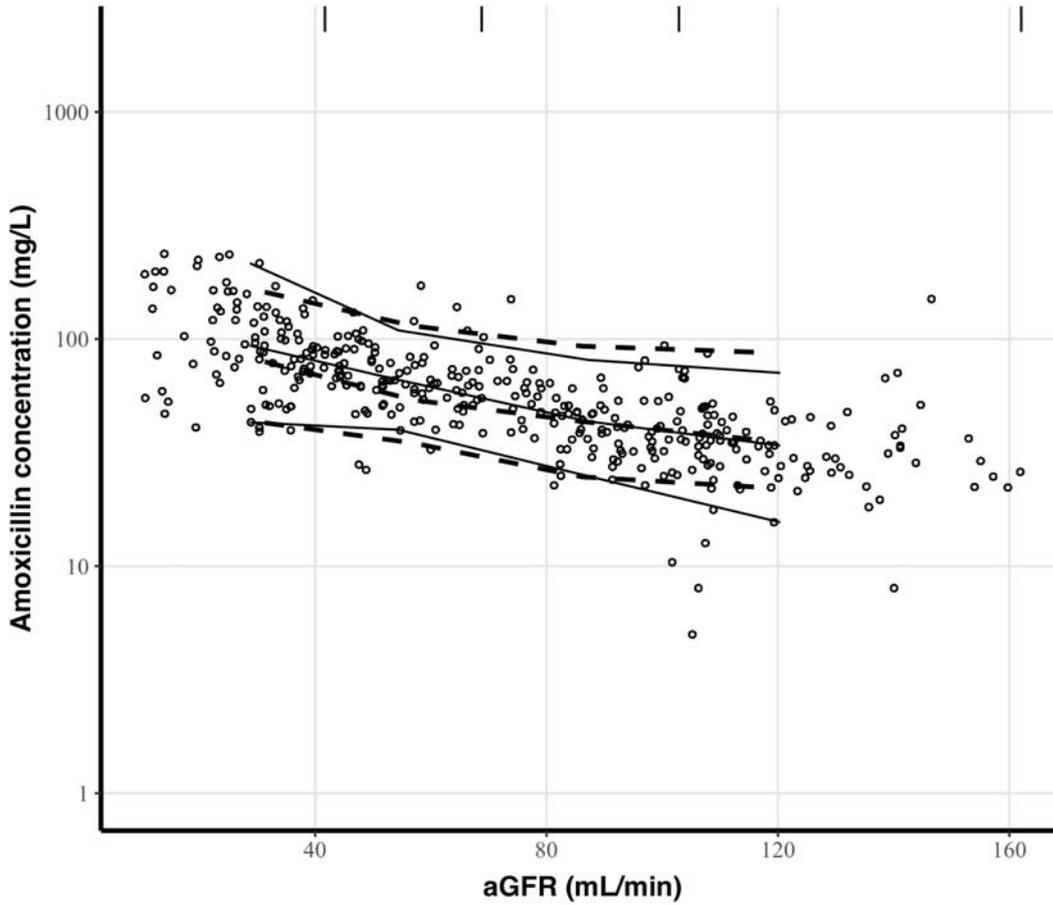


Figure 4a: Visual predictive checks of amoxicillin concentration against absolute values of the glomerular filtration rate (aGFR), for the first dataset. Open circles are observed amoxicillin concentrations. Solid lines represent the 5th, 50th, and 95th percentiles for observed concentration. Dashed lines represent the 5th, 50th, and 95th percentiles for simulated concentrations. The vertical lines at the top of the plots are bin separators.

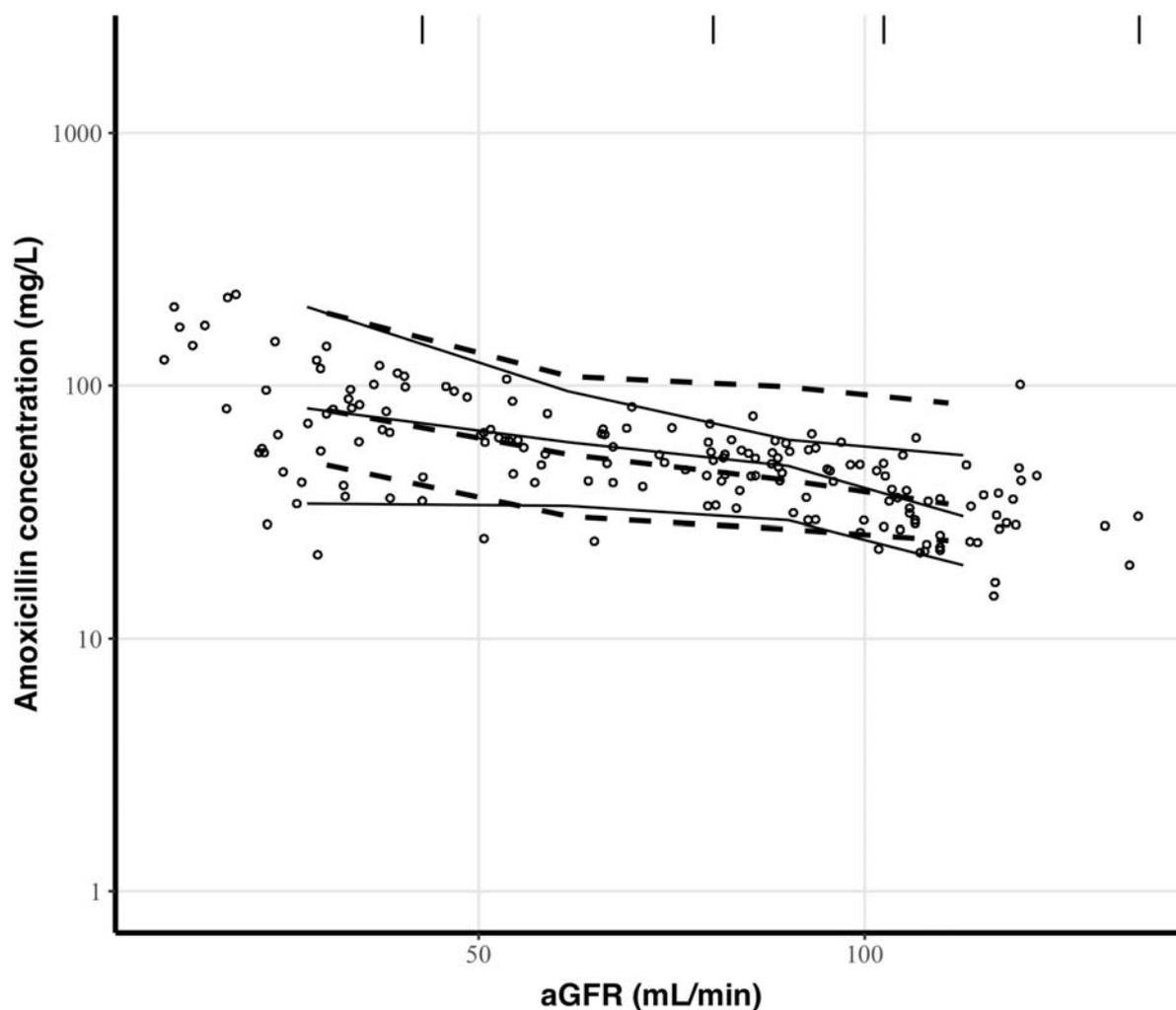


Figure 4b: Visual predictive checks of amoxicillin concentration against absolute values of the glomerular filtration rate (aGFR), for the second dataset. Open circles are observed amoxicillin concentrations. Solid lines represent the 5th, 50th, and 95th percentiles for observed concentrations. Dashed lines represent the 5th, 50th, and 95th percentiles for simulated concentrations. The vertical lines at the top of the plots are bin separators.

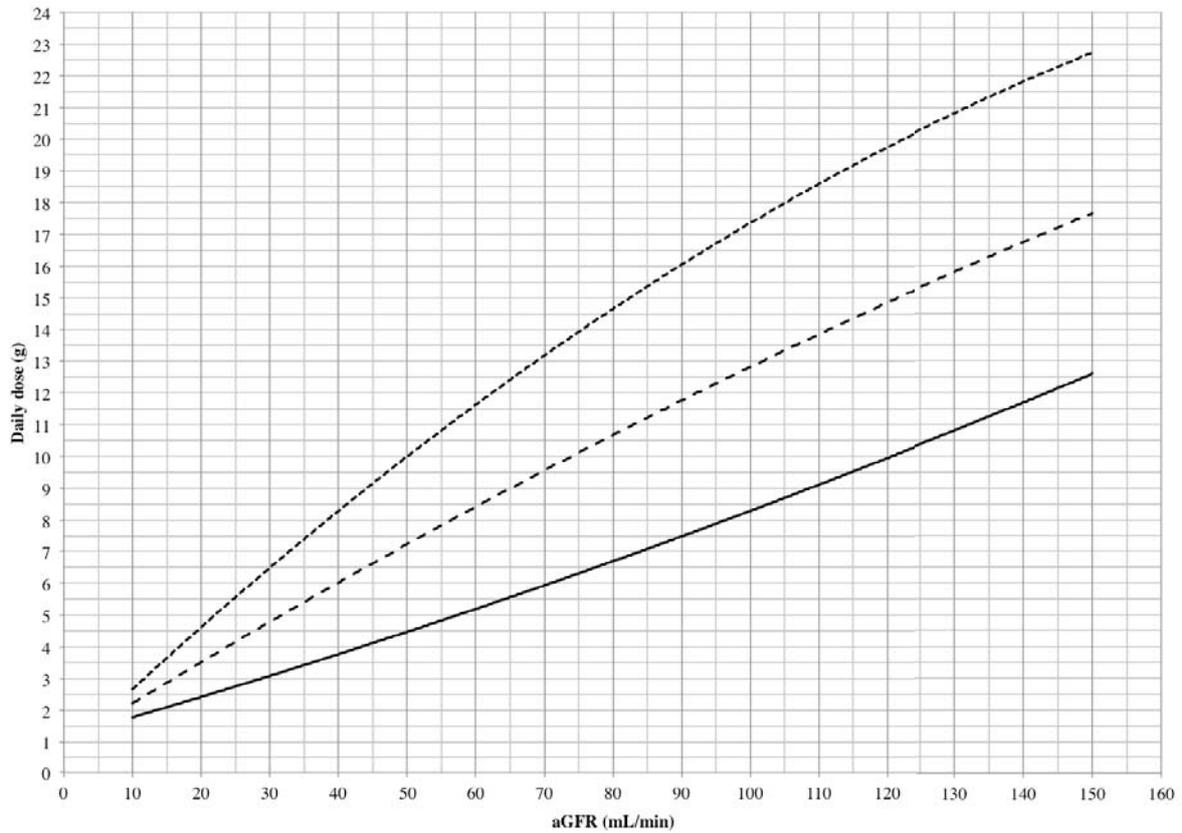


Figure 5: Nomogram of the daily dose of continuous-infusion amoxicillin to be administered to attain steady-state plasma concentration targets of 20 mg/L (full line) in 90% of the studied population, 80 mg/L (dotted line) in 10% of the studied population, and mean daily dose (dashed line), accounting for renal function estimated by the CKD-EPI formula and expressed as an absolute value (aGFR). Equations were defined as $y = 0.0001x^2 + 0.0613x + 1.157$ for the 20 mg/L target, $y = -0.0004x^2 + 0.3073x + 0.6325$ for the 80 mg/L target, and $y = -0.00015x^2 + 0.1343x + 0.89475$ for the median target, with x being the aGFR and y being the amoxicillin daily dose.

Table 1 Summary of patient characteristics (median and interquartile range) at the time of diagnosis

Characteristics (unit)	Patients for model development (n=107)	Patients for model validation (n=53)	p value (significance)
Sex (% male)	79.4	79.2	1.0000
Microorganism (% streptococci)	74.8	83.0	0.3151
In-hospital mortality (%)	6.5	15.1	0.0912
12-month mortality (%)	14.0	22.6	0.2787
Presence of vegetation (%)	66.4	66.0	1.0000
Surgery (%)	47.7	37.8	0.2430
Valvular prosthesis (%)	38.3	39.6	1.0000
Aortic valve localization (%)	63.6	52.8	0.5793
Mitral valve localization (%)	33.6	43.4	0.4280
Tricuspid valve localization (%)	5.6	1.9	0.4302
Pulmonary valve localization (%)	0.9	0.0	1.0000
Dual therapy ceftriaxone (%)	40.2	22.6	0.0339*
Age (years)	72 [62 - 80.5]	74 [66 - 82]	0.4001
Height (cm)	170 [166 - 175]	170 [168 - 173]	0.3089
Weight (kg)	76 [69 - 87]	73 [61 - 85]	0.0734
BMI (kg/m ²)	25.83 [23.64 - 29.18]	25.53 [21.97 - 29.15]	0.1994
RIBW (kg)	65.17 [61.80 - 68.91]	65.17 [61.43 - 67.41]	0.3196
DIBW (kg)	65.94 [61.88 - 70.46]	65.94 [61.41 - 68.65]	0.3267
HIBW (kg)	70.00 [65.05 - 75.50]	70.00 [64.50 - 73.30]	0.3108
PIBW (kg)	76.14 [69.19 - 87.03]	73.29 [61.08 - 85.23]	0.0793
BSA (m ²)	1.88 [1.78 - 2.01]	1.83 [1.67 - 1.97]	0.0666
Serum creatinine (μmol/L)	87.0 [73.0 - 115.5]	79.0 [66.0 - 103.0]	0.4584
eGFR (mL/min/1.73m ²)	74.78 [50.62 - 90.77]	73.13 [55.44 - 90.73]	0.6754
aGFR (mL/min/1.73m ²)	80.03 [52.57 - 100.63]	75.91 [57.76 - 99.78]	0.8733
Serum protein (g/L)	70 [64 - 74]	69 [63 - 74]	0.5009
Initial dose (g/24h)	12 [12 - 14]	12 [10 - 13]	0.2066

BMI, body mass index is defined as $\text{weight}/\text{height}^2$, where weight is in kilograms and height is in meters; RIBW, Robinson ideal body weight, calculated with the Robinson formula, which is $52 + 1.9 \times (\text{Height} - 60)$ (if male) or $49 + 1.7 \times (\text{Height} - 60)$ (if female), where height is in inches; DIBW, Devine ideal body weight, calculated with the Devine formula, which is $50.0 + 2.3 \times (\text{Height} - 60)$ (if male) or $45.5 + 2.3 \times (\text{Height} - 60)$ (if female), where height is in inches; HIBW, Hammond ideal body weight, calculated with the Hammond formula, which is $48 + 1.1 \times (\text{Height} - 150)$ (if male) or $45 + 0.9 \times (\text{Height} - 150)$ (if female), where height is in centimeters; PIBW, Peterson ideal body weight, calculated with the Peterson formula, which is $2.2 \times \text{BMI} + 3.5 \times \text{BMI} \times (\text{Height} - 1.5)$, where BMI is in kilograms/meter² and height is in meters; BSA, body surface area, calculated with the Du Bois formula, which is $0.007184 \times \text{weight}^{0.425} \times \text{height}^{0.725}$, where weight is in kilograms and height is in centimeters; eGFR, estimated glomerular filtration rate, calculated with the CKD-EPI formula, which is $141 \times [\min(\text{Scr}/\kappa, 1)]^\alpha \times [\max(\text{Scr}/\kappa, 1)^{-1.209}] \times 0.993^{\text{age}} \times 1.018$ (if female) or 1.159 (if black), where *Scr* is the serum creatinine concentration, κ is 0.7 for females and 0.9 for males, α is -0.329 for females and -0.411 for males, min indicates the minimum of *Scr*/ κ or 1, and max indicates the maximum of *Scr*/ κ or 1; aGFR, absolute value of the glomerular filtration rate, which is calculated as $(\text{eGFR} \times \text{BSA})/1.73$. Qualitative characteristics were compared using a two-tailed Fisher's exact test, and quantitative data were compared using a Mann-Whitney-Wilcoxon test. Statistically significant results are marked with an asterisk.

Table 2 Population parameters estimates.

Parameters	Estimation	Range
K_{e1}		0.01 – 2.00
Median [95% CI]	1.688 [0.792 – 1.908]	
MAWD [95% CI]	0.22 [0.077 – 0.492]	
K_{e2}		0.01 – 2.00
Median [95% CI]	0.946 [0.743 – 1.006]	
MAWD [95% CI]	0.203 [0.059 – 0.374]	
KCP		0.01 – 15.00
Median [95% CI]	0.247 [0.012 – 2.937]	
MAWD [95% CI]	0.237 [0.002 – 2.925]	
KPC		0.01 – 15.00
Median [95% CI]	11.427 [0.215 – 14.998]	
MAWD [95% CI]	3.57 [0.001 – 3.573]	
V		1.00 – 15.00
Median [95% CI]	5.698 [5.312 – 7.169]	
MAWD [95% CI]	0.968 [0.088 – 2.766]	

In the model, $K_e = K_{e1} \times (aGFR/64.92)^{K_{e2}}$, where K_e is the elimination rate constant from the central compartment (in hours^{-1}), $aGFR/64.92$ is the absolute glomerular filtration rate (in milliliters per minute) normalized to the dataset median, K_{e1} and K_{e2} are the multiplicative factor and power factor respectively, used to scale the elimination rate constant. CI, confidence interval; MAWD, median absolute weighted deviation, used as an estimate of the variance for a nonparametric distribution; V, volume of the central compartment (in liters).

Discussion générale

L'amoxicilline est le traitement recommandé en première intention pour traiter les EI à streptocoques et *Enterococcus faecalis*. Les recommandations françaises et européennes proposent une adaptation posologique basée uniquement sur le poids du patient alors que les recommandations américaines préconisent une posologie unique de 12 g quel que soit le patient. Il n'y a pas d'adaptation précise recommandée selon l'état de la fonction rénale alors que c'est le principal mode d'élimination de cet antibiotique.

Ce travail avait pour objectif d'identifier les covariables influençant la pharmacocinétique de l'amoxicilline dans le traitement de l'EI et de développer un outil d'adaptation basé sur ces covariables.

Pour la réalisation de ce travail, nous avons utilisé une approche non paramétrique de pharmacocinétique de population. L'approche non paramétrique ne fait aucune hypothèse quant à la distribution dans la population des paramètres du modèle (Vd, KPC, KCP, Ke). Cela peut permettre de repérer différents modes de distribution et de détecter des sous-populations d'intérêt, mais implique en retour d'avoir un grand nombre d'observations (94). Les données rétrospectives de routine dont nous disposions étaient adaptées à ce type d'étude car même si nous ne disposions que de peu de dosages par patient (3,375 en moyenne), ceci était compensé par le grand nombre de patients et surtout, par le schéma d'administration en perfusion continue, lequel renforçait la valeur informative de chaque concentration mesurée.

À titre d'information, les approches paramétriques font l'hypothèse que la distribution de chacun des paramètres suit une loi normale. Ce type d'approche permet d'analyser des données peu riches, en "rattrapant" le manque de données par une hypothèse de distribution, mais ne permet pas en retour d'identifier des sous-populations ou des distributions de paramètres particulières.

L'influence de neuf covariables a été évaluée dans cette étude (poids réel, taille, indice de masse corporelle, surface corporelle, poids idéal calculé selon les formules de Robinson (101), Devine (102), Hammond (103), et Peterson (104), ainsi que le taux de protéines sériques totales). À l'instar de la plupart des études de modélisation de l'amoxicilline déjà publiées (62,98,99), aucune covariable ne s'est montrée pertinente pour améliorer l'estimation du volume de distribution. En revanche, pour d'autres molécules et d'autres populations, le poids a parfois démontré son influence sur ce paramètre (97,100). Le volume de distribution

de l'amoxicilline, d'après la littérature, est d'environ 0,3 L/kg (52,66,67), ce qui témoigne d'une distribution principalement vasculaire, mais pas seulement. Des dosages tissulaires attestent en outre d'une diffusion périphérique certaine (69). L'homogénéité de notre population concernant ces covariables (80 % des patients pesaient entre 58 kg et 98 kg et mesuraient entre 1,60 m et 1,78 m) suppose que l'estimation du volume de distribution puisse être très similaire d'un patient à l'autre et peut expliquer qu'elles n'améliorent pas le modèle. Néanmoins, l'aGFR ayant été retenue et prenant en compte la surface corporelle du patient, ces données y sont indirectement intégrées.

Dans cette étude, nous avons choisi d'utiliser comme estimateur de la fonction rénale le DFG calculé d'après la formule du CKD-EPI (*Chronic Kidney Disease – Epidemiology Collaboration*), car il s'agit de la formule de référence (105). En effet, la formule de Cockcroft & Gault tend à être abandonnée, car elle sous-estime la fonction rénale chez le sujet âgé, tout en la surestimant chez le patient obèse et le sujet cachectique (106). La formule du *Modification of Diet in Renal Disease Study Group* (MDRD), proposée dès 1998, a prouvé sa supériorité chez le patient jeune, l'obèse et le sujet de plus de 65 ans (107), mais elle tend à être remplacée par la formule du CKD-EPI proposée par le même auteur, cette formule ayant démontrée des performances supérieures pour l'estimation du DFG (105,108,109). Cependant, de même que la formule du MDRD, elle nous donne un résultat normalisé sur la surface corporelle de 1,73 m² (eGFR) : le principe est qu'une personne de grande taille aura généralement des reins plus gros et un DFG brut (aGFR) plus élevé qu'une personne plus petite du même état de santé rénale. Par conséquent, même si cela est pratique pour comparer les DFG entre différents patients ou à des seuils pour quantifier l'état de la maladie rénale chronique, cette indexation n'est pas adaptée à l'utilisation individuelle. En effet, un médicament éliminé par voie rénale est éliminé du corps proportionnellement au DFG brut (aGFR) plutôt qu'à la version normalisée. Ainsi, l'utilisation d'un DFG normalisé (eGFR) sous-estimera l'élimination des médicaments chez les grandes personnes (surface corporelle > 1,73 m²) et la surestimera chez les personnes de petite taille (surface corporelle < 1,73 m²) (110–112). Notre modélisation a d'ailleurs confirmé que l'aGFR est préférable à l'eGFR pour l'ajustement de la dose d'amoxicilline. Il peut être envisageable que la mesure de la clairance de la créatinine sur l'urine de 24 h soit plus précise, mais elle est nettement moins reproductible et ne permet pas de prendre en compte la taille et le poids du patient. Par ailleurs, ce type de covariable n'est qu'un facteur statistique dans l'analyse de population ; au

surplus, ce n'est pas parce qu'une méthode est performante pour estimer la clairance de la créatinine qu'elle le sera pour estimer la clairance d'un médicament.

La finalité de ce travail a été de fournir un outil simple pour l'utilisation du modèle, le nomogramme. Il permet, à partir d'une donnée facilement accessible, l'aGFR, d'obtenir *a priori* une adaptation posologique d'amoxicilline pour chaque patient. Pour valider l'intérêt de ce nomogramme, ce travail devrait être suivi d'une évaluation sur une cohorte prospective de patients atteints d'EI où le premier bras reprendrait une posologie préconisée par les recommandations actuelles et l'autre suivrait celle du nomogramme. Un STP serait ensuite réalisé et les concentrations entre les deux bras seraient comparées. Des méthodologies similaires ont d'ailleurs déjà été utilisées pour valider des nomogrammes portant sur la vancomycine et le méropénème, en comparant statistiquement deux cohortes prospectives ou rétrospectives utilisant soit le nomogramme, soit les recommandations actuelles (113–119). Ce type d'étude permet de justifier si l'utilisation d'un nouveau nomogramme est réellement pertinente cliniquement. La seconde perspective à ce travail serait de développer un outil d'adaptation de dose *a posteriori*, personnalisé pour chaque patient. En effet, à partir d'une ou plusieurs mesures de concentrations, il serait possible, par une méthode bayésienne, de recalculer les paramètres du modèle pour un patient défini. Ceci reviendrait à générer un nomogramme pour chaque patient (120). Ce type d'approche doit également être validé par une étude prospective et randomisée dans laquelle un groupe reçoit les doses d'amoxicilline d'après l'adaptation bayésienne du modèle et l'autre reçoit le traitement selon les recommandations standards. Une comparaison statistique faite entre les deux groupes permettrait ensuite d'identifier si l'adaptation bayésienne réduit significativement le nombre de patients dont les concentrations sont hors des objectifs PK-PD et même, d'avoir un impact sur le plan clinique.

Ce type d'étude s'intègre dans une perspective de médecine prédictive et personnalisée, individualisée en fonction des caractéristiques de chaque patient. À partir des données conséquentes récoltées au CHU de Nantes, différentes études de pharmacocinétique de population ont déjà été réalisées (95–97), d'autres sont en cours de développement. Le but est de créer une banque de modèles décrivant la pharmacocinétique de nombreux antibiotiques pour chaque population d'intérêt traitée (mucoviscidoses, patients greffés cœur/poumon, brûlés, EI...). Ces modèles ont vocation à être utilisés en pratique clinique courante et seront alors intégrés dans une plateforme numérique permettant d'obtenir une adaptation posologique pertinente pour chaque patient, à l'instauration du traitement mais

également, une adaptation bayésienne associée au suivi pharmacologique de routine, laquelle permettra un ajustement rapide aux modifications physiologiques des patients (insuffisance rénale aiguë, par exemple).

Conclusion

Ce travail a permis d'étudier la pharmacocinétique de l'amoxicilline et de mieux identifier les covariables influençant les concentrations de cet antibiotique. Les cibles idéales de concentrations ont été discutées pour être mieux adaptées aux principales bactéries retrouvées dans l'endocardite infectieuse. En prenant comme principal facteur de variation le débit de filtration glomérulaire et non le poids, tel que le préconisent les recommandations, un outil d'adaptation posologique a pu être élaboré : le nomogramme. Son but est d'améliorer l'atteinte des objectifs PK-PD et ainsi de diminuer le risque d'inefficacité par sous-dosage et de iatrogénie médicamenteuse par surdosage. Bien qu'il permette une adaptation *a priori* de la posologie, il ne remplace pas pour autant le suivi thérapeutique pharmacologique. Une évaluation prospective est actuellement envisagée pour juger de son efficacité clinique et pour l'atteinte de la cible pharmacologique.

Références bibliographiques

1. Halioua B. Histoire de la médecine. Masson. 2009. 278 p.
2. Aminov RI. A brief history of the antibiotic era: lessons learned and challenges for the future. *Front Microbiol.* 2010;1:134.
3. Friedman M, Friedland GW. *Medecine's 10 Greatest Discoveries.* Liana Levy. 1998. 319 p.
4. Leeuwenhoek AV. Observations, communicated to the publisher by Mr. Antony van Leewenhoek, in a dutch letter of the 9th Octob. 1676. here English'd: concerning little animals by him observed in rain-well-sea- and snow water; as also in water wherein pepper had lain infused. *Philos Trans R Soc Lond.* 25 mars 1677;12(133):821-31.
5. Bulloch W. The history of bacteriology. *Hist Bacteriol* [Internet]. 1960 [cité 26 sept 2019]; Disponible sur: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19611100022>
6. Mazzarello P. Bassi, Agostino. *ResearchGate* [Internet]. 20 sept 2013 [cité 26 sept 2019]; Disponible sur: https://www.researchgate.net/publication/283483135_Bassi_Agostino
7. Nicolle J. Pasteur. Sa vie, sa méthode, ses découvertes. Gérard & compagnie. 1969. p. 148.
8. Bazin H. L'Histoire des vaccinations, 2e partie : des vaccins pastoriens aux vaccins modernes. *Commun Présentée* 20 Avril 2013. 20 avr 2013;45-63.
9. Koch R. Die Ätiologie der Milzbrand-Krankheit, begründet auf die Entwicklungsgeschichte des Bacillus Anthracis. *Bietrage Biologie der Pflanzen.* 1876;(2):277.
10. Koch R. Die Ätiologie der Tuberkulose. *Berliner Klinische Wochenschrift.* 1882;(19):221.
11. Tyndall J. Observations on the Optical Department of the Atmosphere in Reference to the Phenomena of Putrefaction and Infection. *Br Med J.* 29 janv 1876;1(787):121-4.
12. Lebranchu Y. Histoire des anticorps thérapeutiques. *Bull Académie Natl Médecine.* 1 nov 2018;202(8-9):1909-15.
13. Pouillard J. Une découverte oubliée - la thèse de médecine du docteur Erneste Duchesne. *Hist Sci Médicales.* 2002;XXXVI(1).
14. Notter A. Difficulté d'industrialisation de la pénicilline (1928 - 1942). *Commun Présentée À Séance* 23 Juin 1990 Société Fr Hist Médecine. 23 juin 1990;

15. Gibaud S, Jaouen G. Arsenic-Based Drugs: From Fowler's Solution to Modern Anticancer Chemotherapy. In: Medicinal Organometallic Chemistry [Internet]. Springer, Berlin, Heidelberg; 2010 [cité 27 sept 2019]. p. 1-20. (Topics in Organometallic Chemistry). Disponible sur: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-642-13185-1_1
16. Breinl A, Garret J. Pathological Report on the Histology of Sleeping Sickness and Trypanosomiasis, with a Comparison of the Changes Found in Animals Infected with T. Gambiense and other Trypanosomata [Internet]. Royal Society of London; 1906 [cité 27 sept 2019]. Disponible sur: <http://archive.org/details/philtrans08509456>
17. Paul Ehrlich [Internet]. Science History Institute. 2016 [cité 26 sept 2019]. Disponible sur: <https://www.sciencehistory.org/historical-profile/paul-ehrlich>
18. Gelpi A, Tucker JD. After Venus, mercury: syphilis treatment in the UK before Salvarsan. Sex Transm Infect. févr 2015;91(1):68.
19. Williams KJ. The introduction of « chemotherapy » using arsphenamine - the first magic bullet. J R Soc Med. août 2009;102(8):343-8.
20. Alt K. Behandlungsversuche mit Arsenophenylglyzin bei Paralytikern [Treatment experiments with arsenophenylglycine in paralytics]. Muenchener Med Wochenschr [Internet]. 1909 [cité 27 sept 2019];(56). Disponible sur: <https://www.jameslindlibrary.org/alt-k-1909/>
21. Fleming A. On the use of Salvarsan in the treatment of syphilis. The Lancet. 17 juin 1911;177(4581):1631-4.
22. McDonagh J. Salvarsan un syphilis and allied diseases. mars 1913 [cité 27 sept 2019];3. Disponible sur: http://archive.org/details/paper-doi-10_1097_00000441-191303000-00015
23. Aminov R. History of antimicrobial drug discovery: Major classes and health impact. Biochem Pharmacol. 01 2017;133:4-19.
24. Tan SY, Tatsumura Y. Alexander Fleming (1881-1955): Discoverer of penicillin. Singapore Med J. juill 2015;56(7):366-7.
25. Browning CH, Gulbransen R, Kennaway EL, Thornton LH. Flavine and brilliant green, powerful antiseptics with low toxicity to the tissues : their use in the treatment of infected wounds. Br Med J. 20 janv 1917;1(2925):73-8.
26. Fleming A. The physiological and antiseptic action of flavine (with some observations on the testing of antiseptics). The Lancet. 1 sept 1917;190(4905):341-5.
27. Fleming A. On a Remarkable Bacteriolytic Element Found in Tissues and Secretions. Proc R Soc Lond Ser B Contain Pap Biol Character. 1922;93(653):306-17.

28. Fleming A. On the Antibacterial Action of Cultures of a Penicillium, with Special Reference to their Use in the Isolation of B. influenzae. Br J Exp Pathol. juin 1929;10(3):226-36.
29. Fleming A. On the specific antibacterial properties of penicillin and potassium tellurite. Incorporating a method of demonstrating some bacterial antagonisms. J Pathol Bacteriol. 1 janv 1932;35(6):831-42.
30. Beer F-J. Souvenirs sur Gerhard Domagk. Commun Présentée À Séance 23 Février 1974 Société Fr Hist Médecine. 23 févr 1974;
31. Florey HW, Chain E, Heatley NG, Jennings MA, Sanders AG, Abraham EP, et al. Antibiotics. A survey of penicillin, streptomycin, and other antimicrobial substances from fungi, actinomyetes, bacteria, and plants. Volume I. Antibiot Surv Penicillin Streptomycin Antimicrob Subst Fungi Actinomyetes Bact Plants Vol I [Internet]. 1949 [cité 27 sept 2019]; Disponible sur: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19511100924>
32. Clutterbuck PW, Lovell R, Raistrick H. Studies in the biochemistry of micro-organisms: The formation from glucose by members of the Penicillium chrysogenum series of a pigment, an alkali-soluble protein and penicillin-the antibacterial substance of Fleming. Biochem J. 1932;26(6):1907-18.
33. Reid RD. Some Properties of a Bacterial-Inhibitory Substance Produced by a Mold. J Bacteriol. févr 1935;29(2):215-21.
34. Domagk G. Ein Beitrag zur Chemotherapie der bakteriellen Infektionen. DMW - Dtsch Med Wochenschr. févr 1935;61(07):250-3.
35. Tréfouël J, Tréfouël Th, Nitti F, Bovet D. Activité du p.aminophénylesulfamide sur l'infection streptococcique expérimentale de la souris et du lapin. Comptes Rendus Société Biol. 23 nov 1935;120:756-8.
36. Bosch F, Rosich L. The contributions of Paul Ehrlich to pharmacology: a tribute on the occasion of the centenary of his Nobel Prize. Pharmacology. 2008;82(3):171-9.
37. Gaynes R. The Discovery of Penicillin—New Insights After More Than 75 Years of Clinical Use - Volume 23, Number 5—May 2017 - Emerging Infectious Diseases journal - CDC. Emerg Infect Dis J [Internet]. [cité 26 sept 2019]; Disponible sur: https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/23/5/16-1556_article
38. Chain E, Florey HW, Adelaide MB, Gardner AD, Heatley NG, Jennings MA, et al. Penicillin as a chemotherapeutic agent. 1940. Clin Orthop. oct 1993;(295):3-7.
39. Abraham EP, Chain E, Fletcher CM, Florey HW, Gardner AD, Heatley NG, et al.

- Further observations on penicillin. 1941. *Eur J Clin Pharmacol.* 1992;42(1):3-9.
40. American Chemical Society, Royal Society of Chemistry. Alexander Fleming The Discovery and Development of Penicillin [Internet]. 1999. 11 p. Disponible sur: <https://www.acs.org/content/acs/en/education/whatischemistry/landmarks/flemingpenicillin.html>
 41. Shama G, Reinartz J. Allied intelligence reports on wartime German penicillin research and production. *Hist Stud Phys Biol Sci.* 1 mars 2002;32:347-67.
 42. Shama G. Chapter 5: Zones of inhibition? The transfer of information relating to penicillin in Europe during World War II. *Adv Appl Microbiol.* 2009;69:133-58.
 43. Penicillin [Internet]. 100 Years of X-ray Crystallography. [cité 30 sept 2019]. Disponible sur: <http://cen.xraycrystals.org/penicillin.html>
 44. Hodgkin DC. The X-ray analysis of the structure of penicillin. *Adv Sci.* juill 1949;6(22):85-9.
 45. Société Chimique de France. Pénicillines [Internet]. [cité 30 sept 2019]. Disponible sur: <http://www.societechimiquedefrance.fr/Penicillines.html>
 46. Davies J. Where have All the Antibiotics Gone? *Can J Infect Dis Med Microbiol.* 2006;17(5):287-90.
 47. Landry Y. Petite histoire des médicaments - De l'antiquité à nos jours. Dunod. 2011. 214 p.
 48. Batchelor FR, Doyle FP, Nayler JH, Rolinson GN. Synthesis of penicillin: 6-aminopenicillanic acid in penicillin fermentations. *Nature.* 24 janv 1959;183(4656):257-8.
 49. Rolinson GN, Stevens S, Batchelor FR, Wood JC, Chain EB. Bacteriological studies on a new penicillin-BRL. 1241. *Lancet Lond Engl.* 10 sept 1960;2(7150):564-7.
 50. Rolinson GN. Étude comparée de l'activité bactéricide de l'Amoxicilline et de l'Ampicilline. *Médecine Mal Infect.* 1 déc 1974;4(12):651-62.
 51. Bianchi V, El Anbassi S. Médicaments. de Boeck. 2012. 195 p. (Prépa pharma).
 52. Spyker DA, Rugloski RJ, Vann RL, O'Brien WM. Pharmacokinetics of Amoxicillin: Dose Dependence After Intravenous, Oral, and Intramuscular Administration. *Antimicrob Agents Chemother.* janv 1977;11(1):132-41.
 53. ANSM. Evolution des consommations d'antibiotiques en France entre 2000 et 2012 [Internet]. 2013. Disponible sur: <https://www.ansm.sante.fr/S-informer/Points-d-information-Points-d-information/Evolution-des-consommations-d-antibiotiques-en-France-entre-2000-et-2012-nouveau-rapport-d-analyse-de-l-ANSM-Point-d-Information>

54. Howarth TT, Brown AG, King TJ. Clavulanic acid, a novel β -lactam isolated from *Streptomyces clavuligerus*; X-ray crystal structure analysis. *J Chem Soc Chem Commun RSC Publ* [Internet]. [cité 2 oct 2019]; Disponible sur: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/1976/c3/c3976000266b#!divAbstract>
55. Brown AG, Butterworth D, Cole M, Hanscomb G, Hood JD, Reading C, et al. Naturally-occurring beta-lactamase inhibitors with antibacterial activity. *J Antibiot (Tokyo)*. juin 1976;29(6):668-9.
56. Reading C, Cole M. Clavulanic Acid: a Beta-Lactamase-Inhibiting Beta-Lactam from *Streptomyces clavuligerus*. *Antimicrob Agents Chemother*. mai 1977;11(5):852-7.
57. Sunder S, Grammatico-Guillon L, Lemaignan A, Lacasse M, Gaborit C, Boutoille D, et al. Incidence, characteristics, and mortality of infective endocarditis in France in 2011. *PloS One*. 2019;14(10):e0223857.
58. Habib G, Lancellotti P, Antunes MJ, Bongiorni MG, Casalta J-P, Del Zotti F, et al. 2015 ESC Guidelines for the management of infective endocarditis The Task Force for the Management of Infective Endocarditis of the European Society of Cardiology (ESC) Endorsed by: European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS), the European Association of Nuclear Medicine (EANM). *Eur Heart J*. 21 nov 2015;36(44):3075-128.
59. Habib G, Erba PA, Iung B, Donal E, Cosyns B, Laroche C, et al. Clinical presentation, aetiology and outcome of infective endocarditis. Results of the ESC-EORP EURO-ENDO (European infective endocarditis) registry: a prospective cohort study. *Eur Heart J*. 14 2019;40(39):3222-32.
60. SPILF. Recommandations [Internet]. [cité 18 déc 2019]. Disponible sur: <https://www.infectiologie.com/fr/recommandations.html>
61. Pilmis B, Lourtet-Hascoët J, Barraud O, Piau C, Isnard C, Hery-Arnaud G, et al. Be careful about MICs to amoxicillin for patients with Streptococci-related infective endocarditis. *Int J Antimicrob Agents*. juin 2019;53(6):850-4.
62. De Cock PAJG, Standing JF, Barker CIS, de Jaeger A, Dhont E, Carlier M, et al. Augmented renal clearance implies a need for increased amoxicillin-clavulanic acid dosing in critically ill children. *Antimicrob Agents Chemother*. nov 2015;59(11):7027-35.
63. Verdier MC, Tribut O, Tattevin P, Michelet C, Bentué-Ferrer D. Assessment of interindividual variability of plasma concentrations after administration of high doses of intravenous amoxicillin or cloxacillin in critically ill patients. *J Chemother Florence Italy*. oct 2011;23(5):277-81.
64. Wong G, Briscoe S, McWhinney B, Ally M, Ungerer J, Lipman J, et al. Therapeutic

drug monitoring of β -lactam antibiotics in the critically ill: direct measurement of unbound drug concentrations to achieve appropriate drug exposures. *J Antimicrob Chemother.* 01 2018;73(11):3087-94.

65. Jehl F, Chomar M, Tankovic J, Gérard A. De l'antibiogramme à la prescription. *Biomérieux.* 2012. 163 p.

66. Baglie S, Rosalen PL, Franco LM, Ruenis APDB, Baglie RCC, Franco GCN, et al. Comparative bioavailability of 875 mg amoxicillin tablets in healthy human volunteers. *Int J Clin Pharmacol Ther.* juill 2005;43(7):350-4.

67. Kaye CM, Allen A, Perry S, McDonagh M, Davy M, Storm K, et al. The clinical pharmacokinetics of a new pharmacokinetically enhanced formulation of amoxicillin/clavulanate. *Clin Ther.* avr 2001;23(4):578-84.

68. Zarowny D, Ogilvie R, Tamblyn D, MacLeod C, Ruedy J. Pharmacokinetics of amoxicillin. *Clin Pharmacol Ther.* déc 1974;16(6):1045-51.

69. Frascini F, Scaglione F, Falchi M, Dugnani S, Mezzetti M, Cicchetti F, et al. Pharmacokinetics and tissue distribution of amoxicillin plus clavulanic acid after oral administration in man. *J Chemother Florence Italy.* juin 1990;2(3):171-7.

70. Vital Durand D, Le Jeune C. DOROSZ Ph. Guide pratique des médicaments [Internet]. Maloigne. 2011. Disponible sur: www.maloigne.fr

71. McKenzie C. Antibiotic dosing in critical illness. *J Antimicrob Chemother.* avr 2011;66 Suppl 2:ii25-31.

72. Miyazaki K, Iseki K, Ishizawa T, Arita T, Sakai S, Kumamoto Y. Effect of clavulanic acid on inactivated amoxicillin excretion in urinary tract infection. *Clin Pharmacol Ther.* mai 1985;37(5):508-11.

73. Lee TL, D'Arconte L, Brooks MA. High-pressure liquid chromatographic determination of amoxicillin in urine. *J Pharm Sci.* avr 1979;68(4):454-8.

74. Arancibia A, Guttmann J, González G, González C. Absorption and disposition kinetics of amoxicillin in normal human subjects. *Antimicrob Agents Chemother.* févr 1980;17(2):199-202.

75. VIDAL - CLAMOXYL 2 g pdre p sol inj/p perf IV - Pharmacocinétique [Internet]. [cité 16 oct 2019]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/Medicament/clamoxyl-4009-pharmacocinetique.htm>

76. Humbert G, Spyker DA, Fillastre JP, Leroy A. Pharmacokinetics of amoxicillin: Dosage nomogram for patients with impaired renal function. *Antimicrob Agents Chemother.*

janv 1979;15(1):28-33.

77. Lautrette A, Phan T-N, Ouchchane L, Aithssain A, Tixier V, Heng A-E, et al. High creatinine clearance in critically ill patients with community-acquired acute infectious meningitis. *BMC Nephrol.* 27 sept 2012;13:124.
78. Slaughter RL, Kohli R, Brass C. Effects of hemodialysis on the pharmacokinetics of amoxicillin/clavulanic acid combination. *Ther Drug Monit.* 1984;6(4):424-7.
79. Raffaelli G, Pokorna P, Allegaert K, Mosca F, Cavallaro G, Wildschut ED, et al. Drug Disposition and Pharmacotherapy in Neonatal ECMO: From Fragmented Data to Integrated Knowledge. *Front Pediatr.* 2019;7:360.
80. 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.
81. 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.* 29 mars 2019;23(1):104.
82. Wong G, Taccone F, Villois P, Scheetz MH, Rhodes NJ, Briscoe S, et al. β -Lactam pharmacodynamics in Gram-negative bloodstream infections in the critically ill. *J Antimicrob Chemother.* 26 oct 2019;
83. Deshayes S, Coquerel A, Verdon R. Neurological Adverse Effects Attributable to β -Lactam Antibiotics: A Literature Review. *Drug Saf.* 2017;40(12):1171-98.
84. De Sarro A, Ammendola D, Zappala M, Grasso S, De Sarro GB. Relationship between structure and convulsant properties of some beta-lactam antibiotics following intracerebroventricular microinjection in rats. *Antimicrob Agents Chemother.* janv 1995;39(1):232-7.
85. Grill MF, Maganti RK. Neurotoxic effects associated with antibiotic use: management considerations. *Br J Clin Pharmacol.* sept 2011;72(3):381-93.
86. Fujimoto M, Munakata M, Akaike N. Dual mechanisms of GABAA response inhibition by beta-lactam antibiotics in the pyramidal neurones of the rat cerebral cortex. *Br J Pharmacol.* déc 1995;116(7):3014-20.
87. Sugimoto M, Uchida I, Mashimo T, Yamazaki S, Hatano K, Ikeda F, et al. Evidence for the involvement of GABA(A) receptor blockade in convulsions induced by

cephalosporins. *Neuropharmacology*. sept 2003;45(3):304-14.

88. EUCAST: Clinical breakpoints and dosing of antibiotics [Internet]. [cité 16 oct 2019]. Disponible sur: http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/

89. Tattevin P, Tribut O, Arvieux C, Dupont M, Flicoteaux R, Desbordes L, et al. Use of high-performance liquid chromatography (HPLC) to monitor beta-lactam plasma concentrations during the treatment of endocarditis. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis*. janv 2005;11(1):76-9.

90. Tattevin P, Mainardi J-L. Analysis of the 2015 American and European guidelines for the management of infective endocarditis. *Med Mal Infect*. déc 2016;46(8):406-10.

91. Hoen B, Duval X. Clinical practice. Infective endocarditis. *N Engl J Med*. 11 avr 2013;368(15):1425-33.

92. Iversen K, Ihlemann N, Gill SU, Madsen T, Elming H, Jensen KT, et al. Partial Oral versus Intravenous Antibiotic Treatment of Endocarditis. *N Engl J Med*. 31 2019;380(5):415-24.

93. Duval X. Traitement antibiotique des endocardites infectieuses : peut-il... *Lett Cardiol* [Internet]. 30 juin 2019 [cité 6 janv 2020];(526). Disponible sur: <https://www.edimark.fr/lettre-cardiologue/traitement-antibiotique-endocardites-infectieuses-peut-il-etre-administre-par-voie-orale-cours-derniers-jours-traitement>

94. Neely MN, van Guilder MG, Yamada WM, Schumitzky A, Jelliffe RW. Accurate detection of outliers and subpopulations with Pmetrics, a nonparametric and parametric pharmacometric modeling and simulation package for R. *Ther Drug Monit*. août 2012;34(4):467-76.

95. Grégoire M, Dumont R, Ronchi L, Woillard J-B, Atthar V, Letessier E, et al. Prophylactic cefazolin concentrations in morbidly obese patients undergoing sleeve gastrectomy: do we achieve targets? *Int J Antimicrob Agents*. juill 2018;52(1):28-34.

96. Bellouard R, Deschanvres C, Deslandes G, Dailly É, Asseray N, Jolliet P, et al. Population Pharmacokinetic Study of Cefazolin Dosage Adaptation in Bacteremia and Infective Endocarditis Based on a Nomogram. *Antimicrob Agents Chemother*. oct 2019;63(10).

97. Grégoire M, Dailly E, Turnier PL, Garot D, Guimard T, Bernard L, et al. High-Dose Ceftriaxone for Bacterial Meningitis and Optimization of Administration Scheme Based on Nomogram. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 1 sept 2019 [cité 26 nov 2019];63(9). Disponible sur: <https://aac.asm.org/content/63/9/e00634-19>

98. Carlier M, Noë M, De Waele JJ, Stove V, Verstraete AG, Lipman J, et al. Population

pharmacokinetics and dosing simulations of amoxicillin/clavulanic acid in critically ill patients. *J Antimicrob Chemother.* nov 2013;68(11):2600-8.

99. Landersdorfer CB, Kinzig M, Bulitta JB, Hennig FF, Holzgrabe U, Sörgel F, et al. Bone penetration of amoxicillin and clavulanic acid evaluated by population pharmacokinetics and Monte Carlo simulation. *Antimicrob Agents Chemother.* juin 2009;53(6):2569-78.

100. Fournier A, Goutelle S, Que Y-A, Eggimann P, Pantet O, Sadeghipour F, et al. Population Pharmacokinetic Study of Amoxicillin-Treated Burn Patients Hospitalized at a Swiss Tertiary-Care Center. *Antimicrob Agents Chemother.* 2018;62(9).

101. Daniel Robinson J, Lupkiewicz SM, Palenik L, Lopez LM, Ariet M. Determination of Ideal Body Weight for Drug Dosage Calculations. *Am J Hosp Pharm.* 1 juin 1983;40(6):1016-9.

102. Devine B. Gentamicin therapy. *Drug Intell Clin Pharm.* 1974;8(11):650-5.

103. Hammond K. Dietary and clinical assessment. In: Mahan LK, Stump SE, editors *Krause's food, nutrition, & diet therapy.* 11th ed. Philadelphia: Saunders. 2000. p. 353-79.

104. Peterson CM, Thomas DM, Blackburn GL, Heymsfield SB. Universal equation for estimating ideal body weight and body weight at any BMI. *Am J Clin Nutr.* 2016;103(5):1197-203.

105. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF, Feldman HI, et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med.* 5 mai 2009;150(9):604-12.

106. Froissart M, Rossert J, Jacquot C, Paillard M, Houillier P. Predictive performance of the modification of diet in renal disease and Cockcroft-Gault equations for estimating renal function. *J Am Soc Nephrol JASN.* mars 2005;16(3):763-73.

107. Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Ann Intern Med.* 16 mars 1999;130(6):461-70.

108. White CA, Akbari A, Doucette S, Fergusson D, Knoll GA. Estimating glomerular filtration rate in kidney transplantation: is the new chronic kidney disease epidemiology collaboration equation any better? *Clin Chem.* mars 2010;56(3):474-7.

109. Michels WM, Grootendorst DC, Verduijn M, Elliott EG, Dekker FW, Krediet RT. Performance of the Cockcroft-Gault, MDRD, and new CKD-EPI formulas in relation to GFR, age, and body size. *Clin J Am Soc Nephrol CJASN.* juin 2010;5(6):1003-9.

110. Jones GR. Estimating Renal Function for Drug Dosing Decisions. *Clin Biochem Rev.* mai 2011;32(2):81-8.
111. CKD & Drug Dosing: Information for Providers | NIDDK [Internet]. National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. [cité 20 nov 2019]. Disponible sur: <https://www.niddk.nih.gov/health-information/professionals/clinical-tools-patient-education-outreach/ckd-drug-dosing-providers>
112. Redal-Baigorri B, Rasmussen K, Heaf JG. The use of absolute values improves performance of estimation formulae: a retrospective cross sectional study. *BMC Nephrol.* 5 déc 2013;14:271.
113. Pea F, Viale P, Cojutti P, Furlanut M. Dosing nomograms for attaining optimum concentrations of meropenem by continuous infusion in critically ill patients with severe gram-negative infections: a pharmacokinetics/pharmacodynamics-based approach. *Antimicrob Agents Chemother.* déc 2012;56(12):6343-8.
114. Pea F, Furlanut M, Negri C, Pavan F, Crapis M, Cristini F, et al. Prospectively validated dosing nomograms for maximizing the pharmacodynamics of vancomycin administered by continuous infusion in critically ill patients. *Antimicrob Agents Chemother.* mai 2009;53(5):1863-7.
115. Kullar R, Leonard SN, Davis SL, Delgado G, Pogue JM, Wahby KA, et al. Validation of the effectiveness of a vancomycin nomogram in achieving target trough concentrations of 15-20 mg/L suggested by the vancomycin consensus guidelines. *Pharmacotherapy.* mai 2011;31(5):441-8.
116. Wesner AR, Brackbill ML, Coyle LL, Kidd RS. Prospective trial of a novel nomogram to achieve updated vancomycin trough concentrations. *Interdiscip Perspect Infect Dis.* 2013;2013:839456.
117. Shino N, Uchida T, Yoshida M, Nomura Y. Development and Assessment of a Nomogram to Propose the Initial Dosage Regimen of a Meropenem Infusion Based on Serum Creatinine and Age Using a Monte Carlo Simulation. *Chem Pharm Bull (Tokyo).* 2015;63(12):986-91.
118. Karam CM, McKinnon PS, Neuhauser MM, Rybak MJ. Outcome assessment of minimizing vancomycin monitoring and dosing adjustments. *Pharmacotherapy.* mars 1999;19(3):257-66.
119. Elyasi S, Khalili H. Vancomycin dosing nomograms targeting high serum trough levels in different populations: pros and cons. *Eur J Clin Pharmacol.* juill 2016;72(7):777-88.
120. Drennan P, Doogue M, van Hal SJ, Chin P. Bayesian therapeutic drug monitoring

software: past, present and future. *Int J Pharmacokinet.* 1 déc 2018;3(4):109-14.

Vu, le Président du jury,

Alain PINEAU

Vu, le Directeur de thèse,

Matthieu GRÉGOIRE

Vu, le Directeur de l'UFR,

Gaël GRIMANDI

NOM : RAMBAUD**Prénoms :** Antoine, Éric, Marie**Titre de la thèse :** Quelle posologie quotidienne d'amoxicilline doit-on administrer dans l'endocardite infectieuse ? Création d'un outil simple de médecine prédictive.

Résumé de la thèse : L'amoxicilline est recommandée en première intention dans les endocardites infectieuses à streptocoques et entérocoques. Cependant ces recommandations adaptent la posologie linéairement au poids en négligeant la fonction rénale. L'objectif de ce travail était d'identifier les variables influençant la pharmacocinétique de l'amoxicilline afin de proposer un outil de personnalisation posologique sous la forme d'un nomogramme. Cent soixante patients (540 dosages) de la cohorte endocardite du CHU de Nantes ont été inclus rétrospectivement. L'analyse de population a été réalisée à l'aide du package Pmetrics pour R. Un modèle à deux compartiments décrivait le mieux les données, avec la valeur absolue du débit de filtration glomérulaire (aGFR) comme covariable pour estimer la constante d'élimination. Un nomogramme d'adaptation posologique en fonction de l'aGFR a ainsi été mis au point. Ce travail a permis la création d'un outil de médecine personnalisée pour prévenir la iatrogénie et augmenter l'efficacité bactéricide de l'amoxicilline.

MOTS CLÉS : AMOXICILLINE ; ENDOCARDITE INFECTIEUSE ; PERFUSION CONTINUE ; PHARMACOCINÉTIQUE DE POPULATION ; MODÉLISATION NON PARAMÉTRIQUE ; NOMOGRAMME

JURY

PRÉSIDENT :	Monsieur le professeur Alain PINEAU
DIRECTEUR DE THÈSE :	Monsieur le docteur Matthieu GRÉGOIRE
ASSESEURS :	Monsieur le professeur Éric DAILLY
	Monsieur le docteur Benjamin GABORIT
	Madame le docteur Aurélie GUILLOUZOUIC

Adresse de l'auteur :

3 rue Saint Vincent
44000 Nantes
FRANCE