



HAL
open science

ANTIBIOTIQUES et EFFICACITE MICROBIOLOGIQUE

Peggy Gandia

► **To cite this version:**

| Peggy Gandia. ANTIBIOTIQUES et EFFICACITE MICROBIOLOGIQUE. Master. France. 2022. <hal-03853511>

HAL Id: hal-03853511

<https://hal.science/hal-03853511v1>

Submitted on 15 Nov 2022

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire HAL, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



HAL Authorization

ANTIBIOTIQUES et EFFICACITE MICROBIOLOGIQUE

Dans ce document, des informations générales sur les antibiotiques vous sont données pour vous acculturer à cette thématique. Ces informations ne sont pas systématiquement nécessaires dans la création d'un modèle de PK-PD. Un commentaire sera précisé en gras et en rouge si l'information est utile pour les aspects de modélisation.

Peggy GANDIA : gandia.p@chu-toulouse.fr

Table des matières

I. Introduction.....	4
Question 1	4
Question 2	5
Question 3	5
II. Développement d'un inoculum bactérien dans une boîte de Pétri (in vitro)	6
Question 1	6
Question 2	7
Question 3	7
III. Mise en place d'un état infectieux	7
Question 1	7
Question 2	8
Question 3	8
IV. Traitement d'un patient infecté par antibiotique.....	9
Question 1	10
Question 2	11
V. Concentration minimale inhibitrice	11
Question 1	12
Question 2	13
VI. Résistance aux antibiotiques.....	13
Question 1	15
VII. Caractérisation de l'effet de l'antibiotique	17
Question 1	17
Question 2	18
Question 3	19
Question 4	19
Question 5	21
Question 6	23
Question 7	24
Question 8	25
Question 9	25
En synthèse.....	27
VIII. « Probability of target attainment » et « Clinical breakpoint »	30
Question 1	31
Question 2	32

Question 3	33
Question 4	33
Question 5	35
IX. Le microbiote.....	35
Question 1	36
Question 2	37

I. Introduction

Nous allons débiter cette thématique selon une approche très générale qui sera ensuite développée dans le domaine des thérapeutiques anti-infectieuses et tout particulièrement les antibiotiques.

Considérons le modèle représenté graphiquement ci-dessous :

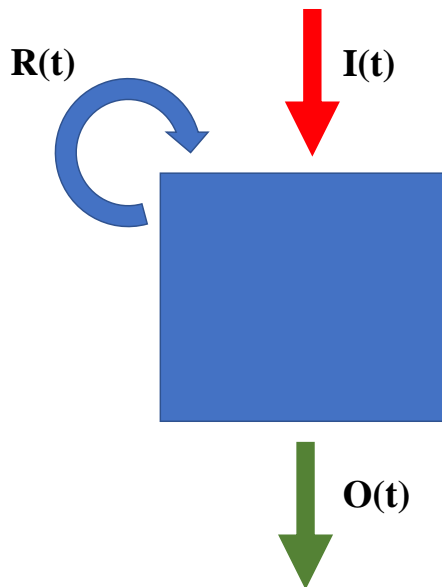


Figure 1 : Modèle graphique représentant l'évolution d'une entité X (e.g., bactérie...) présente dans la boîte en fonction des entrées (I(t) et R(t)) et des sorties (O(t)), que l'on dénommera le « baby model en PK/PD ».

Ce modèle peut être représenté par l'équation différentielle ci-dessous :

$$\frac{dX(t)}{dt} = R(t).X(t) - O(t).X(t) + I(t) \quad \text{Eq.1}$$

$$\frac{dX(t)}{dt} = (R(t) - O(t)).X(t) + I(t) \quad \text{Eq.2}$$

Après intégration de l'équation, on obtient :

$$X(t) = \left(\int_0^t I(u) \cdot e^{A(u)} du + x_0 \right) \cdot e^{-A(t)} \quad \text{Eq.3}$$

Où A(t) est une primitive de (O(t) – R(t)).

Question 1

Simplifiez l'équation 3 dans le cas où I(t) et R(t) valent 0, et O(t) est une constante (e.g., h⁻¹). A l'état initial, X(0) est différent de 0 (X(0)>0). Dans le domaine de la pharmacocinétique, comment appelleriez-vous ce modèle ?

Réponse 1

Si R(t) = 0 et O(t) = k alors A(t) = -k.t

et

$$X(t) = x_0 \cdot e^{-k.t}$$

Il s'agit d'un modèle mono-compartmental avec une administration IV bolus.

Question 2

Simplifiez l'équation 3 dans le cas où $R(t)$ vaut 0, $O(t)$ est une constante (e.g., h^{-1}) et $I(t)$ est un débit d'entrée constant (e.g., $mg \cdot h^{-1}$). A l'état initial, $X(0)$ est égal à 0. Dans le domaine de la pharmacocinétique, comment appelleriez-vous ce modèle ?

Réponse 2

Si $R(t) = 0$, $O(t) = k$ et $I(t) = D$ alors $A(t) = k \cdot t$

et

$$X(t) = \left(\int_0^t I(u) \cdot e^{A(u)} du + x_0 \right) \cdot e^{-A(t)}$$

$$X(t) = \left(\int_0^t I(u) \cdot e^{A(u)} du \right) \cdot e^{-k \cdot t}$$

$$X(t) = \left[\frac{I}{k} \cdot e^{k \cdot t} \right]_0^t \cdot e^{-k \cdot t}$$

$$X(t) = \left(\frac{I}{k} \cdot e^{k \cdot t} \cdot e^{-k \cdot t} - \frac{I}{k} \cdot e^{-k \cdot t} \right)$$

$$X(t) = \left(\frac{I}{k} - \frac{I}{k} \cdot e^{-k \cdot t} \right)$$

$$X(t) = \frac{I}{k} (1 - e^{-k \cdot t})$$

En pharmacocinétique, il s'agit d'un modèle mono-compartimental avec une administration en perfusion continue.

Question 3

Simplifiez l'équation 3 dans le cas où $R(t)$ est une constante (e.g., h^{-1}), $I(t)$ vaut 0, $O(t)$ est une constante (e.g., h^{-1}). A l'état initial, $X(0)$ est différent de 0 ($X(0) > 0$).

Représenter graphiquement $X(t)$ sur 10 heures lorsque :

(i) $X(0) = 100$, $k_{death} = 0.2$ et $k_{growth} = 0.3$

(ii) $X(0) = 100$, $k_{death} = 0.3$ et $k_{growth} = 0.2$

Réponse 3

Si $R(t) = K_{growth}$, $O(t) = K_{death}$ et $I(t) = 0$, alors $A(t) = (K_{death} - K_{growth}) \cdot t$

$$X(t) = x_0 \cdot e^{-(K_{death} - K_{growth}) \cdot t}$$

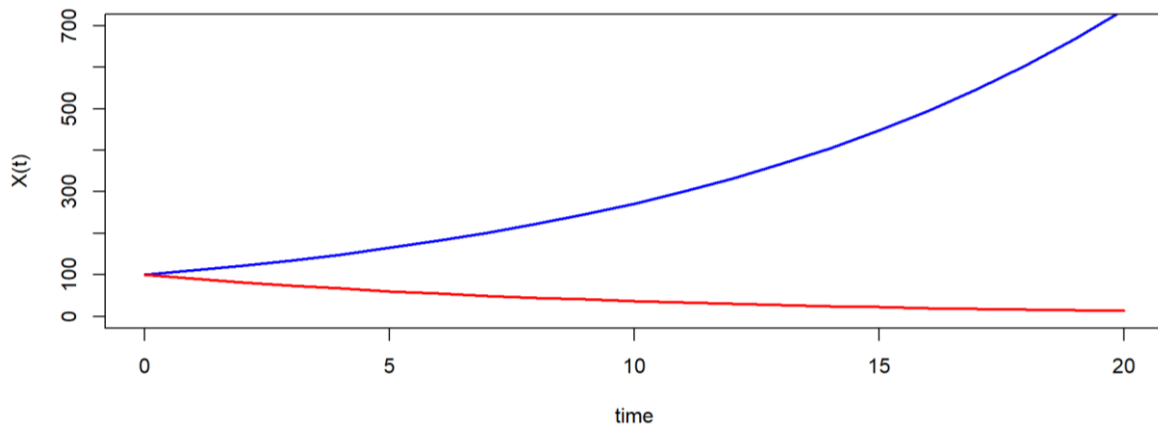


Figure 2 : Evolution de $X(t)$ en fonction des valeurs prises par K_{death} et K_{growth} : si $(K_{death} - K_{growth}) > 0$ alors $X(t)$ diminue avec le temps (courbe rouge) et si $(K_{death} - K_{growth}) < 0$ alors $X(t)$ augmente avec le temps (courbe bleue).

II. Développement d'un inoculum bactérien dans une boîte de Pétri (in vitro)

Lorsque vous mettez une bactérie dans un milieu de culture « vierge » (i.e., sans antibiotique), cette dernière va proliférer et former un inoculum bactérien.

Question 1

Quelle est l'équation différentielle permettant de décrire ce qui se passe dans ce milieu ?

Réponse 1

Le nombre de bactéries en fonction du temps va dépendre de la constante de vitesse de croissance K_{growth} et de mort K_{death} bactérienne dans cette boîte de Pétri. L'entité étant une bactérie, pour la suite des questions/réponses, nous allons désormais employer la lettre « B » pour désigner cette entité bactérienne.

$$\frac{dB(t)}{dt} = (K_{growth} - K_{death}) \times B(t)$$

$$B(t) = B_0 \cdot e^{-(K_{growth} - K_{death}) \cdot t}$$

Avec B_0 = nombre de bactéries à l'instant $t=0$

En raison du fait que $K_{growth} \gg K_{death}$, la taille de l'inoculum croît en fonction du temps. *In vitro* (i.e., boîte de Pétri), cette pousse bactérienne prendra fin dès lors que les bactéries seront « écrasées » au contact des bords de la boîte de Pétri (le modèle ci-dessus ne décrit pas cette information).

Pensée du jour : il faut qu'une bactérie soit présente pour conduire à la formation d'un inoculum !

Question 2

A partir des observations de pousse dans une boîte de Pétrin pouvez-vous estimer K_{growth} et K_{death} ?

Réponse 2

Non, cela est impossible et le sera avec ou sans antibiotique présent dans le milieu de culture. On ne peut déterminer que la différence $(K_{growth} - K_{death})$.

Question 3

Analyser le jeu de données obtenues de façon expérimentale (i.e., dans une boîte de Pétri) pour déterminer $(K_{growth} - K_{death})$? Utilisez le fichier xl intitulé « EXO_DATA_INOCULUM ».

Réponse 3

$(K_{growth} - K_{death}) = 0.3 \text{ h}^{-1}$ avec $(K_{growth} - K_{death})$, le pourcentage de bactéries qui apparaissent instantanément dans la boîte de Pétri.

Taille de l'inoculum (t=0) : 100 bactéries

III. Mise en place d'un état infectieux

Prenons le cas d'un individu sain qui développe un état infectieux (i.e., l'individu « tombe malade »).

Question 1

Représenter sous forme d'un schéma la prolifération d'une bactérie conduisant à la formation d'un inoculum dans le cas d'une infection bactérienne. Ecrire l'équation différentielle.

Réponse 1

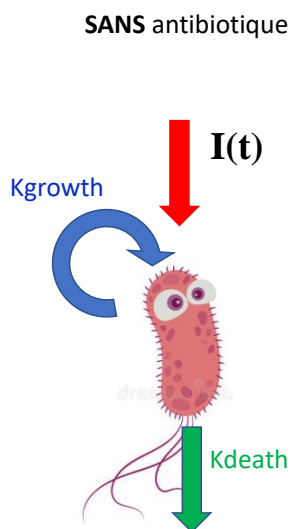


Figure 1 : La formation de l'inoculum bactérien peut être représentée par une bactérie qui se réplique selon une constante de vitesse de réplication K_{growth} et qui meurt selon une constante de vitesse de mort K_{death} , en l'absence de toute administration d'antibiotique. K_{death} est la somme de la mort programmée de la bactérie et de l'effet du système immunitaire.

A cela, peut s'ajouter un débit d'entrée $I(t)$ qui vient alimenter la croissance de l'inoculum bactérien.

$$\frac{dB(t)}{dt} = K_{growth} \times B(t) - K_{death} \times B(t) + I(t)$$

$$\frac{dB(t)}{dt} = (K_{growth} - K_{death}) \times B(t) + I(t)$$

Question 2

Définir ce qui conditionne K_{death} *in vivo* (i.e., chez le patient)

Réponse 2

In vivo, K_{death} est conditionné d'une part par la mort « programmée » de la bactérie (i.e., c'est celle retrouvée *in vitro*) et d'autre part (et surtout) par le système immunitaire du patient. Si le patient a un système immunitaire fonctionnel, ce dernier va se charger d'éradiquer le germe (i.e., intervention des polynucléaires neutrophiles, macrophages...). Auquel cas $K_{death} \gg K_{growth}$. Si le patient est immunodéprimé alors son système immunitaire n'est pas pleinement opérationnel et dans ce cas $K_{death} \ll K_{growth}$. De façon générale, c'est la différence ($K_{growth} - K_{death}$) qui définit si une bactérie prolifère ou si elle est éradiquée.

Question 3

Définir ce qui conditionne $I(t)$.

Réponse 3

$I(t)$ prend tout son sens dès lors que l'on s'intéresse au microbiote intestinal (**Figure 3**, AFP, *Sciences et Avenir*, 2017).

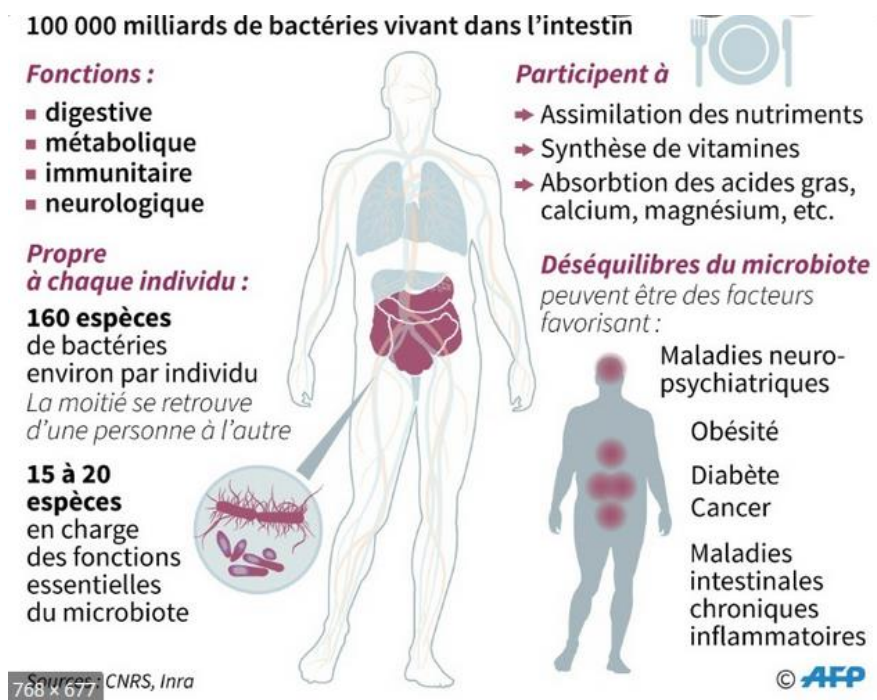


Figure 2 : Description du microbiote intestinal.

En effet, $I(t)$ représente un débit d'entrée de bactéries dans la lumière intestinale, lesquelles vont participer à la croissance de la population bactérienne du microbiote. Ces bactéries sont amenées par l'alimentation mais aussi par les probiotiques.

Dans quelques cas pathologiques, les bactéries peuvent provenir de l'extérieur comme *Legionella pneumoniae*.

Dans les autres cas, $I(t)$ prend la valeur de 0. Ainsi, l'écriture de l'équation différentielle se simplifie en :

$$\frac{dB(t)}{dt} = (K_{growth} - K_{death}) \times B(t)$$

IV. Traitement d'un patient infecté par antibiotique

Dès lors qu'un patient présente un état infectieux, un traitement par antibiotique est le plus souvent initiée (tout du moins dans les pays utilisant une approche allopathique).

Les médicaments antibactériens comptent parmi les découvertes thérapeutiques majeures du vingtième siècle et ont fondamentalement modifié l'évolution de nombreuses maladies, réduisant la mortalité (e.g., de la méningite bactérienne et de l'endocardite bactérienne) et la morbidité.

Les antibiotiques possèdent une toxicité sélective parce qu'ils interfèrent avec une fonction vitale des bactéries, sans affecter les cellules de l'hôte. En Recherche & développement, il est important d'identifier les fonctions spécifiques de la bactérie qui pourraient être des cibles potentielles pour les antibiotiques. Par exemple, les bactéries possèdent des parois cellulaires, tandis que les cellules des mammifères n'en ont pas. En conséquence, les médicaments qui

interfèrent avec la formation des parois des cellules bactériennes sont toxiques pour les bactéries mais sans danger pour l'hôte. De même, le ribosome bactérien (70 S) diffère suffisamment des ribosomes eucaryotes (80 S) de sorte que les sites des ribosomes bactériens sont des cibles intéressantes pour les médicaments antibactériens. La **figure 3** (*Biology of Micro-organisms, 11ème édition, 2006*) montre les sites d'action des principales classes d'antibiotiques. En raison de leur toxicité sélective (i.e., ciblant la bactérie), beaucoup d'antibiotiques ont un index thérapeutique élevé (i.e., rapport de la dose toxique sur la dose thérapeutique).

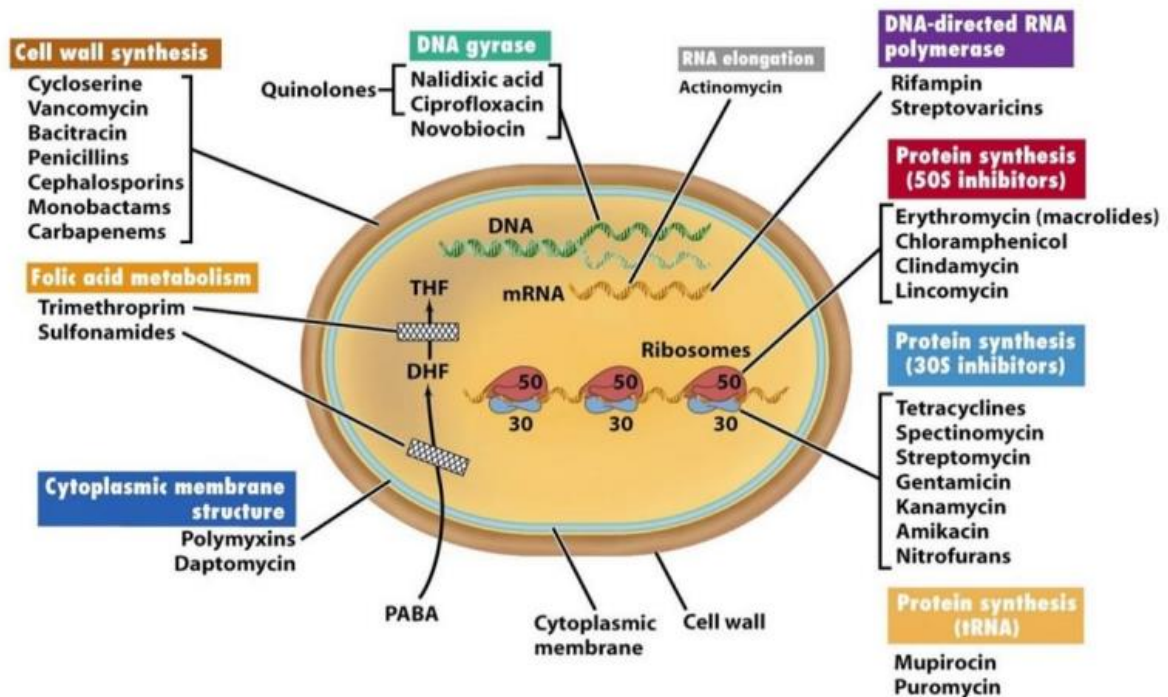


Figure 3 : Différents sites d'action des principales classes d'antibiotiques.

Question 1

Si le patient présente une atteinte pulmonaire (e.g., présence d'un inoculum bactérien pulmonaire), comment se simplifie l'Equation 3. On considèrera que $I(t)$ est négligeable (i.e., $I(t) \approx 0$).

Réponse 1

Si le patient est infecté et qu'il existe un inoculum bactérien, cela signifie que le système immunitaire du patient n'a pas été suffisamment efficace pour contrebalancer la croissance bactérienne. De façon plus explicite, K_{death} se résume à la constante de vitesse de mort « programmée » de la bactérie (i.e., celle retrouvée *in vitro*). Auquel cas, K_{death} devient négligeable devant K_{growth} avec $(K_{growth} - K_{death}) \gg 0$. Par conséquent, $B(t)$ ne fait qu'augmenter, en lien avec une augmentation de la taille de l'inoculum.

$$B(t) = B_0 \cdot e^{-(K_{death} - K_{growth}) \cdot t}$$

$$B(t) \approx B_0 \cdot e^{(K_{growth} \cdot t)}$$

Question 2

En raison de l'état infecté du patient, le médecin lui prescrit un antibiotique. Représentez graphiquement et à l'aide d'une équation différentielle l'effet du médicament. On considèrera que $I(t)$ est négligeable (i.e., $I(t) \approx 0$).

Réponse 2

En raison du délai de réponse (i.e., la guérison met au moins 24-48 heures pour être perceptible cliniquement), l'effet de l'antibiotique est indirect (i.e., l'antibiotique agit soit sur la constante de vitesse de croissance ou de mort bactérienne). En théorie, l'antibiotique peut agir aussi bien sur la constante de vitesse de croissance que sur la constante de vitesse de mort bactérienne en raison du fait qu'on ne connaît pas la constante de vitesse de croissance ni de mort bactérienne de façon isolée (i.e., elles ne sont pas identifiables). De façon conventionnelle, l'effet de l'antibiotique s'ajoute à la constante de mort bactérienne selon l'écriture suivante :

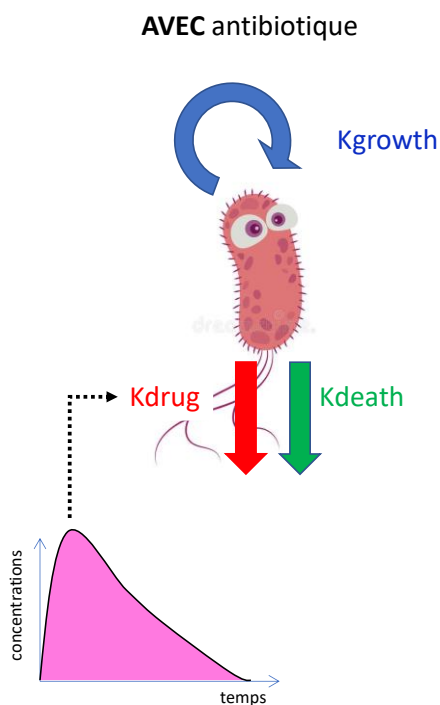


Figure 4 : L'inoculum bactérien peut être représentée par un pool de bactéries qui se répliquent selon une constante de vitesse de réplication K_{growth} et qui meurent selon une constante de vitesse de mort K_{death} (valeur considérée comme négligeable devant K_{growth}) chez un patient immunodéprimé. Dès lors qu'un antibiotique est administré, l'inoculum bactérien va également dépendre de la constante de vitesse de « tuerie » K_{drug} . K_{drug} prend une valeur selon la concentration circulante en antibiotique (cf. courbe des concentrations en fonction du temps ; la partie rose correspond à l'aire sous la courbe des concentrations en fonction du temps = ASC).

$$\frac{dB(t)}{dt} = K_{growth} \times B(t) - (K_{death} + K_{drug}) \times B(t)$$

$$\text{Avec } K_{drug}(Con) = \frac{E_{max} \cdot Con^H}{EC_{50}^H + Con^H}$$

Ainsi, la différence $[K_{growth} - (K_{death} + K_{drug}(Con))]$ permet de définir si les bactéries de l'inoculum bactérien vont continuer à proliférer ou si l'antibiotique va être suffisamment efficace pour permettre l'éradication des bactéries.

V. Concentration minimale inhibitrice

La concentration minimale inhibitrice d'un antibiotique (CMI) est une concentration déterminée *in vitro*. La CMI est très utilisée en clinique humaine et vétérinaire pour définir si la bactérie (dans notre cas, à l'origine de l'état infectieux du patient) est sensible ou à l'inverse résistante à cet antibiotique.

Question 1

Un antibiotique est testé *in vitro* (i.e., dans une boîte de Pétri) en vue de déterminer sa CMI. En pratique, cela signifie que l'inoculum bactérien baigne dans une solution d'antibiotique testé à concentration constante pendant 24 heures. Vous disposez des informations suivantes :

$$\Delta K = (K_{growth} - K_{death}) = 0.3h^{-1}$$

$$k_{max} = 0.5 h^{-1}$$

$$EC_{50} = 50 \text{ mg/L}$$

$$H = 1$$

$$Con = 5 \text{ à } 100 \text{ mg/L (par palier de } 5 \text{ mg/L)}$$

Représentez graphiquement l'évolution de la taille de l'inoculum en fonction du temps. Quelle est la concentration pour laquelle la variation de taille est égale à 0 entre $t=0$ et $t=24h$? C'est la plus petite concentration qui inhibe la croissance bactérienne (i.e., CMI).

Réponse 1

Le script est ci-dessous

```

prolif=function(B0,kmax,Con,EC50,deltaK,t)
{
  Kdrug=(Emax*Con)/(EC50+Con)
  B=B0*exp(-(Kdrug - deltaK)*t)
}

time=seq(0,24,by=1)
deltaK=0.3#(Kgrowth -Kdeath)
EC50=50
kmax=0.5
B0=100
Con=seq(5,100,by=5)

inoculum_MIC=matrix(nrow=length(Con),ncol=length(time))
for(i in 1:length(Con))
{
  inoculum_MIC[i,]=prolif(B0,kmax,Con[i],EC50,deltaK,time)
}
MIC=which((B0-inoculum_MIC[,25])==0)
MIC=Con[MIC]
MIC

```

```

plot(time, log10(inoculum_MIC[1,]), col=1, type="l", lwd=1,
xlim=c(0,24),xlab="Temps",ylab="log(concentration)",ylim=c(0,log10(max(inoculum_MIC[
1,25])))
for (i in 2:length(Con))
{
lines(time, log10(inoculum_MIC[i,]), col=i,type="l", lwd=1)
}

```

La concentration qui empêche toute croissance sans pour autant faire diminuer la taille de l'inoculum bactérien s'appelle la concentration minimale inhibitrice. Elle est déterminée *in vitro* dans les laboratoires de Bactériologie. C'est une donnée bactériologique que nous retrouverons par la suite.

Question 2

Est-ce que la valeur de la CMI trouvée à la question précédente est applicable à tout état infectieux traité par ce même antibiotique ? Justifiez votre réponse

Réponse 2

La CMI est propre à un couple « bactérie-antibiotique » car chaque bactérie a son propre $\Delta K = (K_{growth} - K_{death})$, et les valeurs de E_{max} et EC_{50} sont propres à chaque couple « bactérie-antibiotique ». Par conséquent, si le patient présente quelques temps plus tard un nouvel état infectieux provoqué par une nouvelle bactérie différente de celle isolée lors du précédent état infectieux (e.g., *Staphylococcus aureus* vs. *Pseudomonas aeruginosa*), la CMI sera (par construction) différente de celle déterminée précédemment. Si les valeurs sont identiques, il faut considérer que « c'est le hasard » mais certainement pas une généralité.

VI. Résistance aux antibiotiques

On classe la résistance aux antibiotiques en constitutionnelle ou acquise. La résistance constitutionnelle fait référence à une résistance intrinsèque fondée sur le mécanisme du médicament. Par exemple, les bactéries anaérobies sont dépourvues du mécanisme de transport oxygène-dépendant nécessaire pour que les aminosides pénètrent dans la cellule bactérienne ; elles sont donc, de façon intrinsèque, résistantes aux aminosides (**Figure 5**, cours du Dr Mammeri S5 UE1 L3 médecine Amiens 2013).

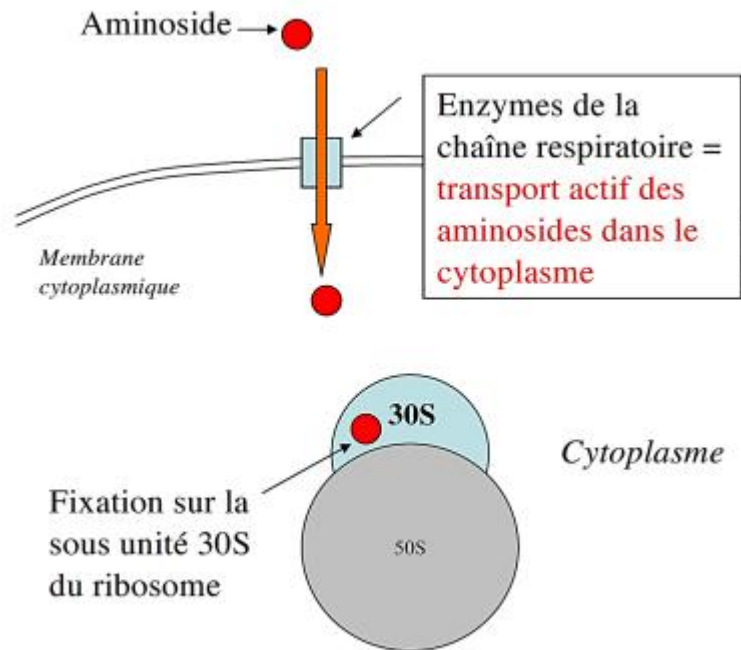


Figure 5 : Les bactéries anaérobies sont naturellement résistantes aux aminosides en raison du fait que l'entrée de l'aminoside dans la bactérie (qu'elle soit gram positif ou négatif) nécessite un transporteur situé sur la membrane interne nécessitant de l'énergie produite par la chaîne respiratoire de la bactérie (i.e., utilisation d'oxygène). Chez les bactéries anaérobies strictes, cette chaîne respiratoire est absente.

La résistance acquise concerne l'acquisition d'un gène de résistance par une bactérie qui, naturellement, n'était pas résistante à un antibiotique particulier. Il n'existe pas d'antibiotique contre lequel ne soit pas développée de résistance, au moins de la part de certaines espèces bactériennes.

Le stimulus majeur pour l'apparition de résistance acquise est l'emploi des antibiotiques, car il exerce une pression de sélection sur les bactéries qui développent une résistance pour survivre. Cependant, la probabilité de ce développement dépend nettement à la fois du médicament et de la bactérie. Dans certains cas, il suffit d'une mutation dans le génome bactérien pour provoquer une résistance ayant des conséquences cliniques. Dans d'autres cas, de multiples mutations sont nécessaires pour aboutir à une résistance acquise sont les suivants :

- Production d'enzymes bactériennes qui altèrent la structure de l'antibiotique. Ces enzymes sont hydrolytiques (e.g., β -lactamases) ou non hydrolytiques (e.g., enzymes modifiant les aminosides, **Figure 6**, Amélie Gervais, *Les aminosides : mécanismes de résistance liés à l'inactivation et à un défaut d'accumulation de l'antibiotique*, Slideplayer) ;

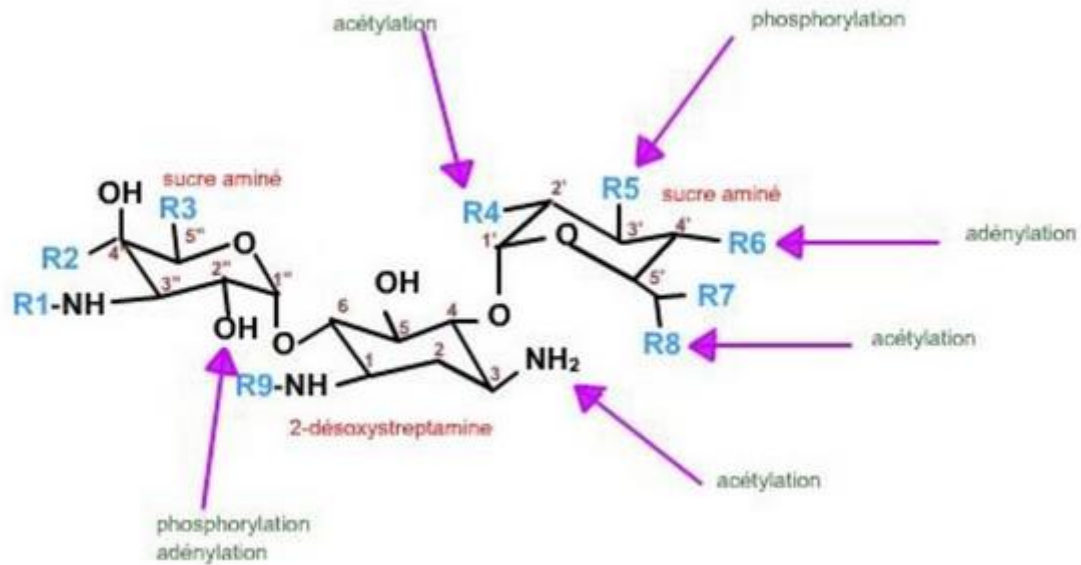


Figure 6 : Enzymes sécrétées par la bactérie et rendant inactifs les aminosides (phénomène de résistance acquis).

- Modification de la cible. Une seule mutation sur le site de fixation de l'antibiotique peut suffire pour produire une résistance au médicament cliniquement significative (e.g., staphylocoques résistants à la Méthicilline) ;
- Réduction de la perméabilité bactérienne, due à des modifications de la membrane cellulaire des bactéries à Gram négatif (voir ci-dessous).

La structure de la paroi cellulaire et de la membrane des bactéries à Gram positif diffère nettement de celle des bactéries à Gram négatif (Figure 5). Dans les bactéries à Gram positif de nombreuses couches de peptidoglycane recouvrent la membrane cellulaire ; il n'existe pas de barrière notable à l'entrée des antibiotiques. A l'inverse, les bactéries à Gram négatif possèdent une membrane externe avec une grande quantité de lipopolysaccharides et une membrane interne qui est la vraie membrane cytoplasmique. La membrane interne est recouverte par beaucoup moins de couches de peptidoglycane que celle des bactéries à Gram positif et est séparée de la membrane externe par l'espace périplasmique. La membrane externe comporte une bicouche de phospholipides et des canaux aqueux formés par des protéines de la membrane externe et dénommées « porines ». La pénétration des médicaments dans les bactéries à Gram négatif est donc malaisée. Elle est facilitée pour les médicaments lipophiles, quant à ceux qui sont hydrophiles et de petits poids moléculaires, ils peuvent pénétrer par les canaux. Des modifications des porines ou des lipopolysaccharides de la membrane externe peuvent induire une résistance en réduisant le passage transmembranaire des antibiotiques. La diminution de perméabilité concerne souvent plusieurs antibiotiques et aboutit alors à une multirésistance.

Question 1

Un antibiotique est testé *in vitro* (i.e., dans une boîte de Pétri) en vue de déterminer sa CMI. En pratique, cela signifie que l'inoculum bactérien baigne dans une solution d'antibiotique testé à concentration constante pendant 24 heures. Vous disposez des informations suivantes :

$$\Delta K = (K_{growth} - K_{death}) = 0.3 \text{ h}^{-1}$$

$$k_{max} = 0.05 \text{ h}^{-1}$$

$$EC_{50} = 50 \text{ mg/L}$$

$$H = 1$$

Con = 5 à 100 mg/L (par palier de 5 mg/L)

Représentez graphiquement l'évolution de la taille de l'inoculum en fonction du temps. Vous est-il possible de déterminer la CMI ? Comment s'appelle ce phénomène ?

Réponse 1

Le script est ci-dessous

```
prolif=function(D,Emax,Con,EC50,deltaK,t)
{
  Kdrug=(Emax*Con)/(EC50+Con)
  B=D*exp(-(Kdrug -deltaK)*t)
}

time=seq(0,24,by=1)
deltaK=0.3# =(Kgrowth -Kdeath)
EC50=50
Emax=0.05
D=100
Con=seq(5,100,by=5)

inoculum_MIC=matrix(nrow=length(Con),ncol=length(time))
for(i in 1:length(Con))
{
  inoculum_MIC[i,]=prolif(D,Emax,Con[i],EC50,deltaK,time)
}
MIC=which((D-inoculum_MIC[,25])==0)
MIC=Con[MIC]
MIC

plot(time, log10(inoculum_MIC[1,]), col=1, type="l", lwd=1,
xlim=c(0,24),xlab="Temps",ylab="log(concentration)",ylim=c(0,log10(max(inoculum_MIC[
1,25])))
for (i in 2:length(Con))
{
  lines(time, log10(inoculum_MIC[i,]), col=i,type="l", lwd=1)
}
}
```

Il n'est pas possible de déterminer la CMI même en augmentant les concentrations car K_{drug} est inférieur à K_{growth} . La bactérie est résistante à l'antibiotique.

VII. Caractérisation de l'effet de l'antibiotique

Les antibiotiques sont classés en deux grandes catégories que nous allons découvrir à travers les exercices suivants. Pour se faire, nous allons repartir des équations 1 et 2 déjà explicitées ci-dessus :

$$\frac{dX(t)}{dt} = R(t) \cdot X(t) - O(t) \cdot X(t) + I(t) \quad \text{Eq.1}$$

$$\frac{dX(t)}{dt} = (R(t) - O(t)) \cdot X(t) + I(t) \quad \text{Eq.2}$$

Après intégration de l'équation, on obtient :

$$X(t) = \left(\int_0^t I(u) \cdot e^{A(u)} du + x_0 \right) \cdot e^{-A(t)} \quad \text{Eq.3}$$

Où A(t) est une primitive de (O(t) – R(t)).

Dans ce cas, $O(t) = K_{death} + K_{drug}$ c'est-à-dire $O(t) = K_{death} + \frac{E_{max} \cdot C(t)^H}{EC_{50}^H + C(t)^H}$

Et $A(t) = (K_{death} - K_{growth}) \cdot t + E_{max} \cdot \int_0^t \frac{C(u)^H}{EC_{50}^H + C(u)^H} du$

Donc $X(t) = \left(\int_0^t I(u) \cdot \exp^{A(u)} \cdot du + x_0 \right) \cdot \exp^{-A(t)}$

$$X(t) = x_0 \cdot \exp^{-A(t)}$$

$$X(t) = x_0 \cdot \exp^{-[(K_{death} - K_{growth}) \cdot t + E_{max} \cdot \int_0^t \frac{C(u)^H}{EC_{50}^H + C(u)^H} du]} \quad \text{Eq. 4}$$

Soit avec l'appellation appliquée à l'entité bactérienne :

$$B(t) = B_0 \cdot \exp^{-[(K_{death} - K_{growth}) \cdot t + E_{max} \cdot \int_0^t \frac{C(u)^H}{EC_{50}^H + C(u)^H} du]}$$

Question 1

Dans le cas où la concentration en antibiotique est toujours négligeable par rapport à EC_{50} , comment se simplifie l'expression de K_{drug} ? Quel qualificatif peut-on attribuer à ce type d'antibiotiques ?

Réponse 1

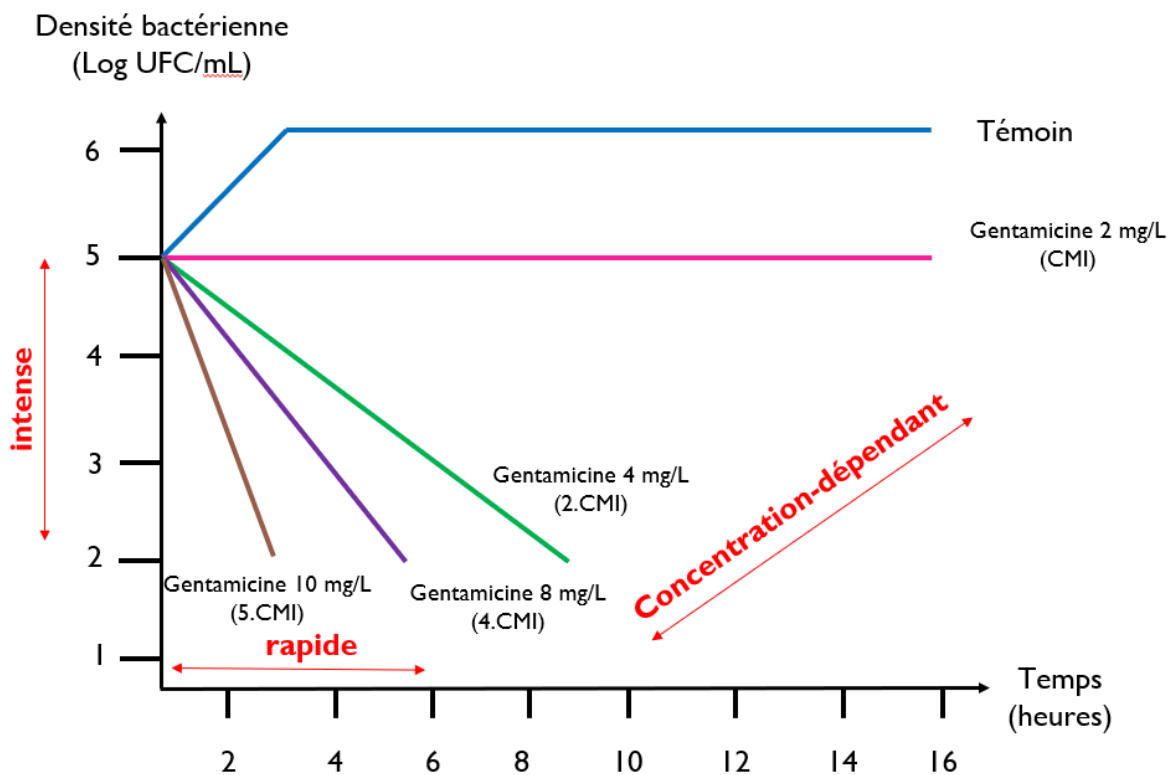
$$K_{drug}(C) = \frac{E_{max} \cdot C^H}{EC_{50}^H + C^H}$$

$$K_{drug}(C) \approx \frac{E_{max} \cdot C^H}{EC_{50}^H}$$

$$K_{drug} \approx \alpha \cdot C(t)^H$$

L'effet à un instant donné t de l'antibiotique sur K_{drug} , est proportionnel à la concentration en antibiotique. On dit que l'antibiotique a un **effet concentration-dépendant**.

Dans tous les manuels portant sur les antibiotiques, l'effet concentration-dépendant est systématiquement évoqué mais n'est pas explicité par le biais du K_{drug} . La représentation habituelle de cet effet est l'évolution *in vitro* (i.e., dans un tube à essai) de l'inoculum bactérien exposé à des concentrations constantes dans le temps (Figure 6).



D'après Craig, *Scand J Infect Dis*, 1991

Figure 7 : Représentation classique de l'effet concentration-dépendant d'un antibiotique. Exemple de la Gentamicine (aminoside) : représentation de l'inoculum bactérien en fonction de la concentration en antibiotique. Plus la concentration testée *in vitro* est importante, plus l'intensité de la décroissance de la taille de l'inoculum bactérien est élevée. L'effet concentration-dépendant est retrouvé pour tous les aminosides.

Question 2

Dans le cas où la concentration en antibiotique est toujours négligeable par rapport à EC_{50} , quel paramètre pharmacocinétique est retrouvé dans l'équation 4 ?

Réponse 2

$$B(t) = B_0 \cdot \exp^{-[(K_{death} - K_{growth}) \cdot t + E_{max} \cdot \int_0^t \frac{C(u)^H}{EC_{50}^H + C(u)^H} du]}$$

$$B(t) \approx B_0 \cdot \exp^{-[(K_{death} - K_{growth}) \cdot t + E_{max} \cdot \int_0^t \frac{C(u)^H}{EC_{50}^H} du]}$$

$$B(t) \approx B_0 \cdot \exp^{-[(K_{death} - K_{growth}) \cdot t + \frac{E_{max}}{EC_{50}^H} \cdot \int_0^t C(u)^H du]}$$

$$B(t) \approx B_0 \cdot \exp^{-[(\delta) \cdot t + \alpha \cdot \int_0^t C(u)^H du]}$$

$$B(t) \approx B_0 \cdot \exp^{-[(\delta) \cdot t + \alpha \cdot [ASC]_0^t]}$$

C'est l'ASC de 0 à t (i.e., depuis le début du traitement) en antibiotique qui conditionne le nombre de bactéries à l'instant t.

Question 3

Comment pouvez-vous intégrer le nombre d'administrations (i.e., la durée de traitement) dans l'équation que vous venez d'obtenir avec un schéma posologique de 1 prise par jour ?

Réponse 3

$$B(t) \approx B_0 \cdot \exp^{[(\delta) \cdot t + \alpha \cdot [ASC]_0^t]}$$

$$B(t) \approx B_0 \cdot \exp^{[(\delta) \cdot t + \alpha \cdot (nb \cdot [ASC]_0^{24} + [ASC]_{n \cdot 24}^t)]}$$

Question 4

Un antibiotique est administré au patient sous forme d'IV bolus toutes les 12 heures. Vous faites 10 administrations.

Vous disposez des informations suivantes :

Dose = 120 mg

$k_e = 0.1 \text{ h}^{-1}$

V = 15 L

Inoculum (T_0) = 10^4 bactéries

$K_{growth} = 0.3 \text{ h}^{-1}$

$K_{death} = 0.01 \text{ h}^{-1}$

$k_{max} = 15 \text{ h}^{-1}$

$EC_{50} = 250 \text{ mg/L}$

Représenter le profil des concentrations en fonction du temps pour la totalité des administrations.

Représentez la taille de l'inoculum bactérien sur cette même période.

Représenter le profil de Kdrug en fonction du temps. Quel qualificatif attribueriez-vous à cet antibiotique ?

Au bout de combien de temps, le patient est considéré comme guéri sur un plan microbiologique (i.e., l'inoculum a une taille < 100 bactéries)

Réponse 4

Le script global est ci-dessous

```
rm(list=ls())
library(deSolve)

D=120#mg
Nb_Admin=10
interv_entre_admin=12#h
duree=Nb_Admin*interv_entre_admin#
times <- seq(0, interv_entre_admin, by = 1)
nb_points=length(times)

P=c(
  ke=0.1,#h-1
  Kgrowth=0.3,#h-1
  Kdeath=0.01,
  Emax=15,#h-1
  EC50=250,
  V=15)#L)#mg/L

INOCULUM=function(times,X,P)
{
  #P=c(ke,Kgrowth,Kdeath,Emax,EC50,V)
  dX=rep(0,2)
  dX[1]=-P[1]*X[1]
  dX[2]=(P[2]-P[3])*X[2]-(P[4]*(X[1]/P[6])/P[5])*X[2]
  return(list(dX))
}

X0 <- c(D,10000)#nombre de bactéries

out <- ode(func=INOCULUM, y=X0,times=times, parms=P)

Resultat <-out
```

```

plot(times,out[,2],type="l", col="red",xlab="Temps",ylab="Concentrations (mg/L)")
plot(times,out[,3],type="l", xlim=c(0,48),ylim=c(0,10000), col="red",xlab="temps en
heures", ylab="Nombre bactéries")
plot(times,log10(out[,3]),type="l", col="red",xlab="temps en heures", ylab="Nombre
bactéries")

if (Nb_Admin>1){
  for(i in 2:Nb_Admin){
    X0 <- c(
      (D + out[13,2]), #X
      (out[13,3]) #B
    )
    out <- ode(func=INOCULUM, y=X0,times=times, parms=P)
    Resultat<-rbind(Resultat[(1:(12*(i-1))),],out[])
  }
  Resultat[,1]=seq(from=0,to=length(Resultat[,1])-1)
}

plot(Resultat[,1],Resultat[,2],type="l",
col="red",xlim=c(0,duree),xlab="Temps",ylab="Concentrations (mg/L)")

plot(Resultat[,1],Resultat[,3],type="l", col="red",xlab="temps en heures", ylab="Nombre de
bactéries")
plot(Resultat[,1],log10(Resultat[,3]),type="l", col="red",xlim=c(0,duree),xlab="temps en
heures", ylab="Nombre de bactéries")

guerison=min(which(Resultat[,3]<100))

Kdrug=function(P,Concentration)
{
  val=(P[4]*Concentration)/(P[5]+Concentration)
}

PD=Kdrug(P,Resultat[,2])
plot(Resultat[,2],PD,type="p",cex=1,pch=20,col="blue")

```

Il s'agit d'un antibiotique concentration-dépendant. La guérison microbiologique est atteinte au bout de 56 heures.

Question 5

Quel constat faites-vous dès lors que vous arrêtez l'administration du traitement ?

Définir la taille de l'inoculum 5 jours après l'arrêt du traitement.

Représentez la taille de l'inoculum pendant les 5 jours qui suivent l'arrêt du traitement.

Réponse 5

```
rm(list=ls())
library(deSolve)

D=120#mg
Nb_Admin=10
interv_entre_admin=12#h
duree=(Nb_Admin*interv_entre_admin + 5*24)#
times <- seq(0, duree, by = 1)
nb_points=length(times)

P=c(
  ke=0.1,#h-1
  Kgrowth=0.3,#h-1
  Kdeath=0.01,
  Emax=15,#h-1
  EC50=250,
  V=15)#L)#mg/L

INOCULUM=function(times,X,P)
{
  #P=c(ke,Kgrowth,Kdeath,Emax,EC50,V)
  dX=rep(0,2)
  dX[1]=-P[1]*X[1]
  dX[2]=(P[2]-P[3])*X[2]-(P[4]*(X[1]/P[6])/P[5])*X[2]
  return(list(dX))
}

X0 <- c(D,10000)#nombre de bactéries

out <- ode(func=INOCULUM, y=X0,times=times, parms=P)

Resultat <-out

plot(times,out[,2],type="l", col="red",xlab="Temps",ylab="Concentrations (mg/L)")
plot(times,out[,3],type="l", xlim=c(0,48),ylim=c(0,10000), col="red",xlab="temps en heures", ylab="Nombre bactéries")
plot(times,log10(out[,3]),type="l", col="red",xlab="temps en heures", ylab="Nombre bactéries")
```

```

if (Nb_Admin>1){
  for(i in 2:Nb_Admin){
    X0 <- c(
      (D + out[13,2]), #X
      (out[13,3]) #B
    )
    out <- ode(func=INOCULUM, y=X0, times=times, parms=P)
    Resultat<-rbind(Resultat[(1:(12*(i-1))),],out[])
  }
  Resultat[,1]=seq(from=0,to=length(Resultat[,1])-1)
}

plot(Resultat[,1],Resultat[,2],type="l",
col="red",xlim=c(0,duree),xlab="Temps",ylab="Concentrations (mg/L)")

plot(Resultat[,1],Resultat[,3],type="l", col="red",xlab="temps en heures", ylab="Nombre de
bactéries")
plot(Resultat[,1],log10(Resultat[,3]),type="l", col="red",xlim=c(0,duree),xlab="temps en
heures", ylab="Nombre de bactéries")

guerison=min(which(Resultat[,3]<100))

Kdrug=function(P,Concentration)
{
  val=(P[4]*Concentration)/(P[5]+Concentration)
}

PD=Kdrug(P,Resultat[,2])
plot(Resultat[,2],PD,type="p",cex=1,pch=20,col="blue")

Resultat[(Nb_Admin*interv_entre_admin + 5*24),3]

```

La taille de l'inoculum augmente dès lors que le traitement est arrêté.

La taille de l'inoculum à J5 post-arrêt du traitement est $\approx 2^{13}$. Ce phénomène est observé *in vitro* (i.e., boîte de Pétri).

Question 6

Si le patient est guéri à la fin de la période de traitement (i.e., la taille de l'inoculum est ≈ 0 et reste proche de 0), quel est le facteur qui n'a pas été pris en compte dans le modèle ? Sur quel paramètre agit-il ?

Réponse 6

Le facteur qui n'a pas été pris en compte est le système immunitaire. Auquel cas, cela signifie que $(K_{death} - K_{growth})$ ne prend pas la même valeur au cours du temps. Autrement dit, le système immunitaire est alors en capacité de prendre le relais de l'antibiotique

Question 7

Dans le cas où la concentration en antibiotique est largement supérieure à EC_{50} (cas opposé à celui de la question 1 et 2), comment se simplifie l'expression de K_{drug} ? Quel qualificatif peut-on attribuer à ce type d'antibiotiques ?

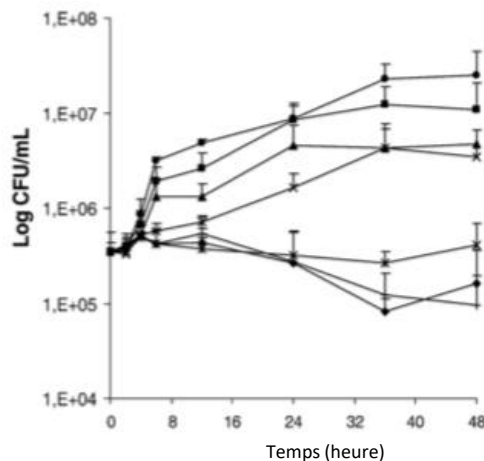
Réponse 7

$$K_{drug}(C) = \frac{E_{max} \cdot C^H}{EC_{50}^H + C^H}$$

$$K_{drug} \approx E_{max}$$

L'effet à l'instant t de l'antibiotique caractérisé par K_{drug} , est constant et maximal dès lors que la concentration en antibiotique est supérieure à un seuil. On dit que l'antibiotique a un **effet temps-dépendant** (i.e., c'est le temps passé au-dessus d'un seuil qui conditionne l'effet de l'antibiotique).

Dans tous les manuels portant sur les antibiotiques, l'effet temps-dépendant est systématiquement évoqué mais n'est pas explicité par le biais du K_{drug} ; comme pour l'effet concentration-dépendant. La représentation habituelle de cet effet est l'évolution *in vitro* (i.e., dans un tube à essai) de l'inoculum bactérien exposé à différentes concentrations constantes dans le temps (Figure 8).



Concentrations testées:
0, 0,03, 0,12, 0,5, 2, 8, 32 mg/L

Canton, DMID, 2008

Figure 8 : Représentation de la densité bactérienne en fonction de la concentration en antibiotique (e.g., beta-lactamine) sur 48 heures. Pour les 3 concentrations les plus élevées (2,8,32 mg/L), quelle que soit la concentration testée in vitro, la densité bactérienne évolue en fonction du temps de la même façon. L'effet temps-dépendant est retrouvé pour toutes les beta-lactamines (pénicillines, céphalosporines, carbapénèmes).

Question 8

Une fois l'équation différentielle intégrée, retrouvez-vous le même paramètre pharmacocinétique que dans la question 2?

Réponse 8

$$B(t) = B_0 \cdot \exp^{-[(K_{death} - K_{growth}) \cdot t + E_{max} \cdot \int_0^t \frac{C(u)^H}{EC_{50}^H + C(u)^H} du]}$$

$$B(t) \approx B_0 \cdot \exp^{-[(K_{death} - K_{growth}) \cdot t + E_{max} \cdot \int_0^t du]}$$

$$B(t) \approx B_0 \cdot \exp^{-[(K_{death} - K_{growth}) + E_{max}] \cdot t}$$

$$B(t) \approx B_0 \cdot \exp^{-(\delta + E_{max}) \cdot t}$$

Non, on ne retrouve plus l'ASC. D'ailleurs, il n'y a pas de paramètre pharmacocinétique dans l'équation, juste le temps.

Question 9

Un antibiotique est administré au patient sous forme d'IV bolus toutes les 12 heures. Vous faites 10 administrations.

Vous disposez des informations suivantes :

Dose = 120 mg

$k_e = 0.1 \text{ h}^{-1}$

$V = 15 \text{ L}$

Inoculum (T_0) = 10^4 bactéries

$K_{growth} = 0.3 \text{ h}^{-1}$

$K_{death} = 0.01 \text{ h}^{-1}$

$k_{max} = 15 \text{ h}^{-1}$

$EC_{50} = 10 \text{ mg/L}$

Représenter le profil des concentrations en fonction du temps pour la totalité des administrations.

Représentez la taille de l'inoculum bactérien sur cette même période.

Représenter le profil de Kdrug en fonction de la concentration. Quel qualificatif attribueriez-vous à cet antibiotique ?

Réponse 9

Le script global est ci-dessous

```
rm(list=ls())
library(deSolve)

D=120#mg
Nb_Admin=10
interv_entre_admin=12#h
duree=Nb_Admin*interv_entre_admin#
times <- seq(0, interv_entre_admin, by = 1)
nb_points=length(times)

P=c(
  ke=0.1,#h-1
  Kgrowth=3,#h-1
  Kdeath=0.01,
  Emax=7,#h-1
  EC50=0.5,
  V=15)#L)#mg/L

INOCULUM=function(times,X,P)
{
  #P=c(ke,Kgrowth,Kdeath,Emax,EC50,V)
  dX=rep(0,2)
  dX[1]=-P[1]*X[1]
  dX[2]=(P[2]-P[3])*X[2]-(P[4]*(X[1]/P[6])/P[5])*X[2]
  return(list(dX))
}

X0 <- c(D,10000)#nombre de bactéries

out <- ode(func=INOCULUM, y=X0,times=times, parms=P)

Resultat <-out

plot(times,out[,2],type="l", col="red",xlab="Temps",ylab="Concentrations (mg/L)")
plot(times,out[,3],type="l", xlim=c(0,48),ylim=c(0,10000), col="red",xlab="temps en heures", ylab="Nombre bactéries")
```

```

if (Nb_Admin>1){
  for(i in 2:Nb_Admin){
    X0 <- c(
      (D + out[13,2]), #X
      (out[13,3]) #B
    )
    out <- ode(func=INOCULUM, y=X0,times=times, parms=P)
    Resultat<-rbind(Resultat[(1:(12*(i-1))),],out[])
  }
  Resultat[,1]=seq(from=0,to=length(Resultat[,1])-1)
}

plot(Resultat[,1],Resultat[,2],type="l",
col="red",xlim=c(0,duree),xlab="Temps",ylab="Concentrations (mg/L)")
plot(Resultat[,1],Resultat[,3],type="l", col="red",xlab="temps en heures", ylab="Nombre de
bactéries")

guerison=min(which(Resultat[,3]<100))

Kdrug=fonction(P,Concentration)
{
  val=(P[4]*Concentration)/(P[5]+Concentration)
}

PD=Kdrug(P,Resultat[,2])
plot(Resultat[,2],PD,type="p",cex=1,pch=20,col="blue",xlab="Concentrations")

```

Il s'agit d'un antibiotique temps-dépendant : tant que la concentration est largement supérieure à EC₅₀, l'effet de l'antibiotique est maintenu. Dans le cas contraire, l'inoculum grossit.

En synthèse

On peut représenter les deux types d'effet (i.e., concentration- et temps-dépendant) sur un même graphe (Figure 9).

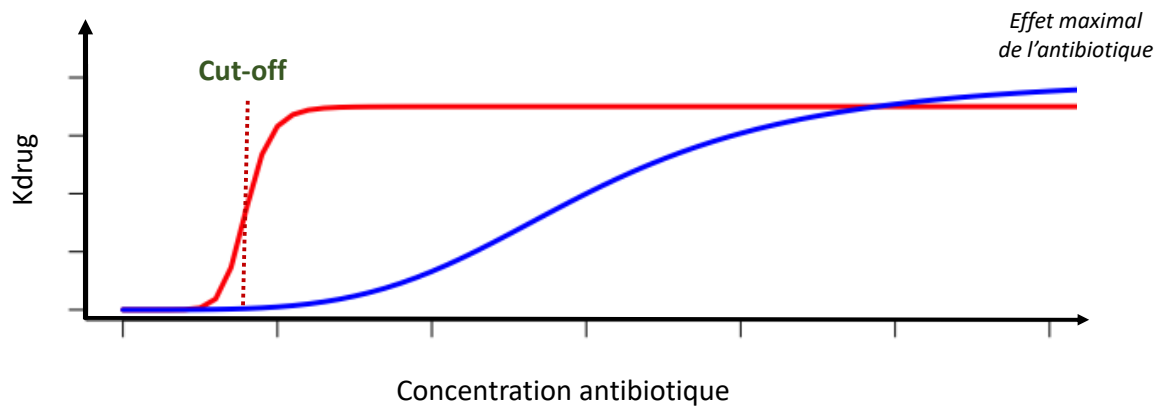
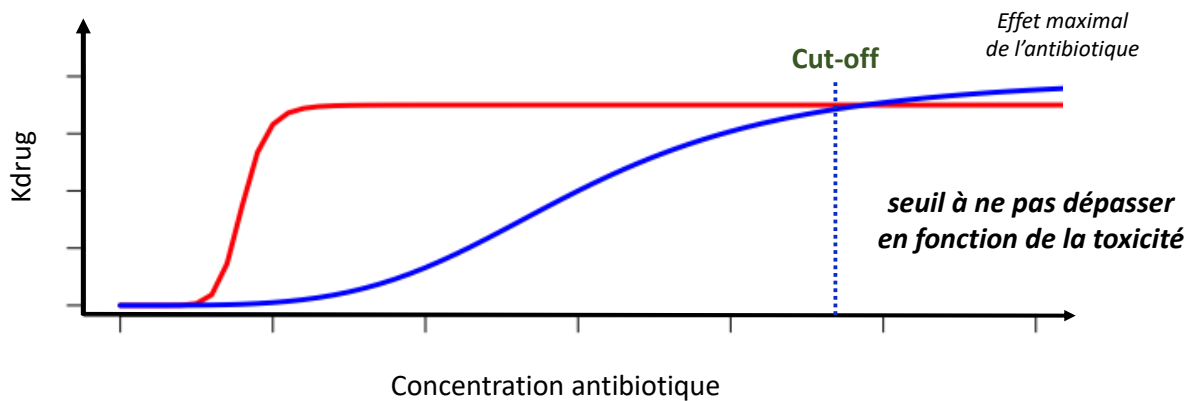


Figure 9-a : : **Courbe rouge** - Dès lors que la concentration en antibiotique augmente, K_{drug} augmente aussi et atteint rapidement une valeur qui restera constante (plateau de saturation) tant que la concentration en antibiotique dépassera un seuil (cut-off). Cette courbe caractérise les antibiotiques avec un **effet temps-dépendant**.



Mouton, IJAA, 2002

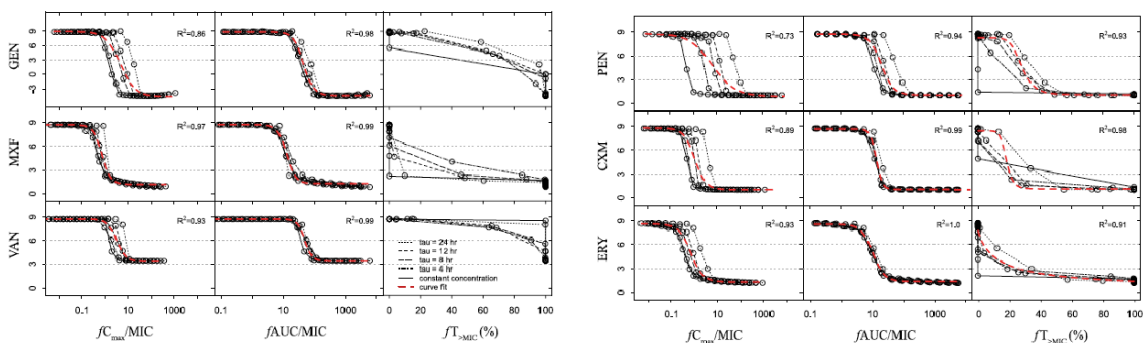
Figure 9-b : **Courbe bleu** - Dès lors que la concentration en antibiotique augmente, K_{drug} augmente aussi sans forcément atteindre la valeur maximale (plateau de saturation). Dans ce cas, c'est la toxicité induite par l'exposition en antibiotique qui va conduire à définir un seuil (cut-off) à ne pas dépasser: Cette courbe caractérise les antibiotiques avec un **effet concentration-dépendant**.

A ces notions d'effet concentration- et temps-dépendant, sont affiliés des critères d'évaluation de l'efficacité des antibiotiques, dits critères pharmacocinétiques-pharmacodynamiques (PK/PD). Les critères usuels sont C_{max}/CMI , ASC/CMI et $T(\%) > CMI$. Bien que cela ne soit pas systématiquement mentionné, il s'agit de critères appliqués à la forme libre (i.e. forme pharmacologiquement active) de l'antibiotique et non à la forme totale (Tableau 1).

Antibiotiques		Efficacité	
Aminosides Gram - Concentration-dépendant		$C_{max} / CMI > 8-10$	
		<i>Infections sévères</i>	$C_{max} / CMI > 10$
		<i>Gentamicine, Tobramycine</i>	$C_{max} = 30-40 \text{ mg/L}$ $AUC = 70-120 \text{ mg.h/L}$
		<i>Amikacine</i>	$C_{max} = 60-80 \text{ mg/L}$
Béta lactames <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Temps-dépendant	<i>In vitro</i>	<i>Méropénem</i> 40% T > CMI <i>Céfépime/ceftazidime</i> 70% T > CMI <i>Pipéracilline-Tazobactam</i> 50% T > CMI	
	<i>Etudes cliniques</i>	50-100%, 1 x CMI 50-100%, 4 x CMI	
Glycopeptides SARM Temps et Concentration -dépendant	<i>Vancomycine</i>	<i>Traditionnel</i>	$C_{min} = 10-15 \text{ mg/L}$
		<i>Eviction des résistances</i>	$C_{min} > 10 \text{ mg/L}$
		<i>Forte CMI</i>	$C_{min} = 15-20 \text{ mg/L}$ ou $AUC / CMI > 400\text{h}$
		<i>Perfusion continue</i>	$C_{min} = 20-25 \text{ mg/L}$
	<i>Téicoplanine</i>	$C_{min} > 10 \text{ mg/L}$ ou $AUC / CMI > 900\text{h}$ <i>Forte CMI</i> : $C_{min} > 20 \text{ mg/L}$	
Fluoroquinolones Concentration-dépendant	<i>Ciprofloxacine</i>	GRAM -	$AUC / CMI > 125-250\text{h}$ $C_{max} / CMI = 8-10$
		GRAM +	$AUC / CMI > 30-40\text{h}$
	<i>Levofloxacine</i>	$C_{max} / CMI > 12$	
Autres Temps-dépendant	<i>Linezolid</i> <i>S. pneumoniae, S. aureus</i>	$AUC / CMI = 80-120 \text{ h}$ $> 85\% \text{ T} > CMI$ $C_{min} > 2 \text{ mg/L}$	
	<i>Colistine</i> GRAM -	$CMI < 1 \text{ mg/L}$ $AUC_{0-24\text{h}} = 60 \text{ mg.h/L}$	
	<i>Daptomycine</i> VISA - GISA	$AUC / CMI = 666\text{h}$ $C_{max} > 100 \text{ mg/L}$ $C_{max} / CMI 59-94$	
	<i>Tiqécycline</i> <i>S. pneumoniae</i>	$AUC / CMI = 12,8 - 17,9 \text{ h}$	

Tableau 1 : Critère PK/PD et valeur seuil établie par couple « antibiotique-bactérie »

Les critères PK/PD affiliés aux antibiotiques concentration-dépendants sont C_{max}/CMI et ASC/CMI , tandis que le critère PK/PD affilié aux antibiotiques temps-dépendant est $T(\%)>CMI$. A ces critères sont attribués des valeurs seuils garantissant une efficacité microbiologique. Ces valeurs sont fonction du couple « antibiotique-bactérie » et ont été déterminées le plus souvent *in vitro* et *in vivo* (i.e., modèle du rongeur et de la cuisse infectée) (Figure 10).



Friberg et al. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011

Figure 10 : Représentation de la densité bactérienne en fonction de la valeur prise par chacun des critères PK/PD (C_{max}/CMI , ASC/CMI et $T\%>CMI$). Le critère choisi est celui qui présente la meilleure

corrélation entre la décroissance de la densité bactérienne et l'augmentation de la valeur du critère PK/PD évalué. La valeur seuil (cut-off) du critère PK/PD retenu est établi dès lors que la densité bactérienne diminue de 3 log10 (diminution définie de façon conventionnelle).

VIII. « Probability of target attainment » et « Clinical breakpoint »

Dans cet exercice, nous allons voir comment sont déterminées les « probability of target attainment » (PTA) et les « Clinical breakpoints ».

Nous allons nous appuyer sur le Linézolide dont les caractéristiques pharmacocinétiques sont les suivantes.

Paramètre de population	Médiane
Clairance d'élimination (L/h)	6
Volume de distribution (L)	197
Variabilité inter-individuelle de la clairance (%)	25
Variabilité inter-individuelle du volume de distribution (%)	29

Tableau 2 : Paramètres de population du Linézolide administré par voie IV (modèle monocompartimental)

De façon empirique, l'évaluation de l'efficacité microbiologique d'un traitement antibiotique repose sur la détermination du critère PK/PD et de sa valeur seuil. Ces étapes sont menées *in vitro* et chez l'animal. Pour le Linézolide, le critère est $\frac{ASC}{CMI} > 100$.

Dès lors que le critère PK/PD et sa valeur seuil ont été établis, il est alors possible de déterminer les PTA dont la méthodologie est subdivisée en trois grandes étapes :

- 1) Des simulations de Monte Carlo sont réalisées (~ 10 000 profils cinétiques) à partir du modèle de PK POP décrivant le comportement pharmacocinétique de l'antibiotique étudié. Ces simulations sont réalisées pour le(s) schéma(s) posologique(s) sélectionné(s) ;
- 2) Pour chaque patient simulé, la valeur du critère PK/PD associé à l'antibiotique (e.g., $\frac{ASC}{CMI}$) est déterminé en utilisant la distribution des CMI colligées par l'EUCAST pour certains couples « antibiotique-bactérie ».
- 3) Le pourcentage de patients simulés ayant un critère PK/PD dont la valeur est supérieure au seuil pré-établi (*in vitro* et chez l'animal) est déterminé

Ce pourcentage est appelé « Probability of Target Attainment ». Dès lors que ce pourcentage est inférieur à 90% (voire 95% selon les études) pour une CMI donnée, il n'est plus raisonnable d'appliquer ce schéma posologique jugé insuffisant pour garantir l'efficacité microbiologique au sein d'une population d'individus.

- 4) Pour le(s) schéma(s) posologique(s) testé(s), la CMI à partir de laquelle la PTA est inférieur à 90% (voire 95%) est appelé « clinical breakpoint ».

Question 1

A partir des 10 000 profils cinétiques simulés pour une dose de 600 mg x 2/J (perfusion sur 1h), déterminer la PTA pour des CMI de *Streptococcus pneumoniae* de 0.06, 0.125, 0.25, 0.5, 1, 2, 4 et 8. Représenter graphiquement les PTA en fonction de la CMI. Quelle est la valeur du « clinical breakpoint » pour le schéma posologique testé ?

Réponse 1

Dans cet exemple, il n'est même pas nécessaire de simuler des profils cinétiques. On peut gagner du temps en raison du fait que le critère PK/PD du Linézolide est $\frac{ASC}{CMI}$. Si on émet l'hypothèse que la cinétique de l'antibiotique est linéaire, cela signifie que l'ASC_{0-inf} déterminée après une administration unique de 600 mg est égale à l'ASC entre deux administrations de 600 mg une fois l'état d'équilibre atteint.

Le script utilisé est décrit ci-dessous :

```
# Parametres de population (pharmacocinétique et variance)
nb_simu=100
omega=c(0.25,0.29) #ecart-type de Cl, Vc
ppsi_1=6*exp(rnorm(nb_simu,0,omega[1])) # Cl (L/h) dans publi de Cojjuti
ppsi_2=19*exp(rnorm(nb_simu,0,omega[2])) #Vc
ppsi=matrix(nrow=nb_simu,ncol=2)
ppsi[,1]=ppsi_1
ppsi[,2]=ppsi_2

# CMI retrouvé pour les bactéries (Staphylocoque et Streptocoque) gram positif
CMI=c(0.06,0.125,0.25,0.5,1,2,4)
#ASC/CMI>100 (critère PK/PD)
PTA=function(AUC,CMI)
{
  F=ecdf(AUC)# Empirical Cumulative Distribution Function ou ecdf
  u=100*CMI
  P=1-F(u)
  return(P)
}

#determination des ASC sur 24 heures car 2 administrations par jour

AUC1=600/psi[,1]*2
PTA1=PTA(AUC1,CMI)#600*2/J

#representation graphique des PTA

plot(CMI,100*PTA1,type="b",ylim=c(0,100),pch=20,main="PTA
linézolide",xlab="CMI",ylab="Probability Of Target
Attainment",xaxt='n',log="x",col="blue")
```

```
axis(1,at=CMI,labels=c("0.06","0.125","0.250","0.5","1","2","4"))
```

$$p\left(\frac{ASC}{CMI} \geq x\right) = \sum_k p(ASC \geq x \cdot k / CMI = k) \times p(CMI = k) \text{ Théorème de Bayes}$$

$$= \sum_k [1 - F(x \cdot k)] \times p(CMI = k)$$

Avec $F(x) = p(ASC \leq x)$

$F(x) = \text{ecdf}(ASC)$ *ecdf pour empirical cumulative density function*

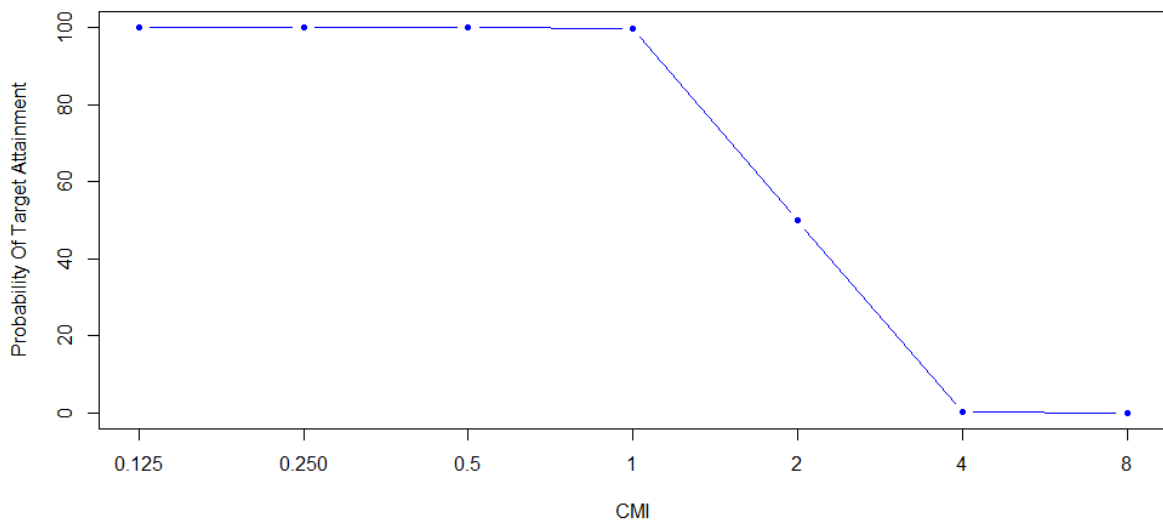


Figure 11 : Représentation des PTA pour des CMI comprises entre 0.06 et 4 mg/L.

Le clinical breakpoint déterminé pour un schéma posologique de 600 x 2/J est de 1 mg/L.

Question 2

Si vous ne disposez pas de la CMI au moment de traiter le patient, quel qualificatif attribuez-vous à cet antibiotique ?

Réponse 2

C'est un traitement probabiliste c'est-à-dire que l'antibiotique est utilisé pour éradiquer des germes ayant une forte probabilité d'être à l'origine de l'état infectieux du patient.

Question 3

Quelle est la démarche qui permettra de définir s'il est raisonnable ou pas d'utiliser le Linézolide en traitement probabiliste ?

Réponse 3

Dès lors que le traitement est utilisé en probabiliste, c'est-à-dire sans connaître la valeur de la CMI (i.e., l'antibiogramme n'a pas été réalisé ou son résultat n'est pas connu), il faut tenir compte de la distribution des CMI du(des) germe(s) ayant une forte probabilité d'être à l'origine de l'état infectieux du patient. La distribution des CMI de chaque couple « bactérie-antibiotique » est dépendante du CHU/région/pays dans le(a)quel(le) se trouve le patient, et cette distribution change au cours du temps (i.e., en années).

Question 4

Voici la distribution des CMI pour les trois germes très probablement à l'origine de l'état infectieux du patient :

Distribution CMI	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8
<i>Staphylococcus aureus</i>	4	28	1056	2428	44	0	0
<i>Enterococcus spp.</i>	0	6	151	592	61	2	1
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	5	37	412	569	5	0	0

Tableau 3 : Distribution des CMI de trois bactéries (Staphylocoque, Enterocoque, Streptocoque) présentant une forte probabilité d'être à l'origine de l'état infectieux du patient. Dans la première ligne, figurent les CMI (de 0.125 à 8 ; la valeur augmente toujours d'un facteur 2 en raison de la méthodologie appliquée) tandis que dans les trois autres lignes il s'agit du nombre de bactéries dénombrées en région Occitanie pour chaque CMI.

Pour simplifier, la prévalence des trois bactéries est supposée être identique, élevée (> 80%) et que l'action du Linézolide sur chacune des bactéries est indépendante de la présence des deux autres. **En réalité, il faudrait tenir de la prévalence de chacune de ces bactéries dans les calculs qui suivent.**

Quelle réponse peut-on apporter au clinicien prescripteur de Linézolide ?

Réponse 4

Le script utilisé est décrit ci-dessous :

```
#####CFR#####  
distrib=matrix(nrow=length(CMI),ncol=4)  
distrib[,1]=CMI  
distrib[,2]=c(0,0.73800738,18.57318573,72.81672817,7.503075031,0.24600246,0.12300123  
)#enterocoque
```

```

distrib[,3]=c(0.112359551,0.786516854,29.66292135,68.20224719,1.235955056,0,0)#staph
doré
distrib[,4]=c(0.486381323,3.59922179,40.07782101,55.35019455,0.486381323,0,0)#pneum
o

CFR=function(AUC,CMI,dis)
{
  F=ecdf(AUC)
  u=100*CMI # AUC/CMI>100 !!
  P=(1-F(u))*dis
  return(P)
}

CFRt=matrix(nrow=3,ncol=2)
#The cumulative fraction of response (CFR) was calculated as the proportion of %PTA of
each MIC according to the MIC distribution. The PTA and CFR of 90% were considered
successful.
###enterocoque
CFRt[1,1]="Enterocoque"
CFRt[1,2]=sum(CFR(AUC1,CMI,distrib[,2]))#600*2/J

###staph
CFRt[2,1]="Staphylocoque"
CFRt[2,2]=sum(CFR(AUC1,CMI,distrib[,3]))

###pneumo
CFRt[3,1]="Pneumocoque"
CFRt[3,2]=sum(CFR(AUC1,CMI,distrib[,4]))

```

Les résultats obtenus figurent dans le tableau suivant :

Espèce bactérienne	%
Enterocoque	95,7
Staphylocoque	99,2
Pneumocoque	99,6

La valeur de CRF montre qu'il est possible de prescrire du Linézolide pour traiter un Enterocoque, un Staphylocoque et un Pneumocoque à la dose de 600 mg x 2/J, sans connaître leur CMI au préalable. En effet, en raison de la distribution des CMI, pour plus de 95% des patients, le schéma posologique de 600 mg x 2/J permet d'atteindre la valeur seuil du critère PK/PD (ASC/CMI > 100).

Question 5

Si la distribution des CMI ne vous est pas donnée, où serait-il possible de la récupérer ?

Réponse 5

Si la distribution des CMI ne nous est pas donnée, il est possible de la récupérer sur le site de l'EUCAST : https://www.eucast.org/mic_distributions_and_ecoffs/

IX. Le microbiote

L'utilisation des antibiotiques pour une infection ciblée a pour conséquence de modifier l'état du microbiote intestinal. En effet, lors de l'administration d'un antibiotique par voie orale (voie très fréquemment empruntée), une grande quantité de médicament se retrouve dans l'intestin avant d'arriver dans le compartiment sanguin et atteindre le site infectieux. Ainsi dès la première prise, une large fraction des bactéries présentes dans l'intestin est détruite (Figure 12).

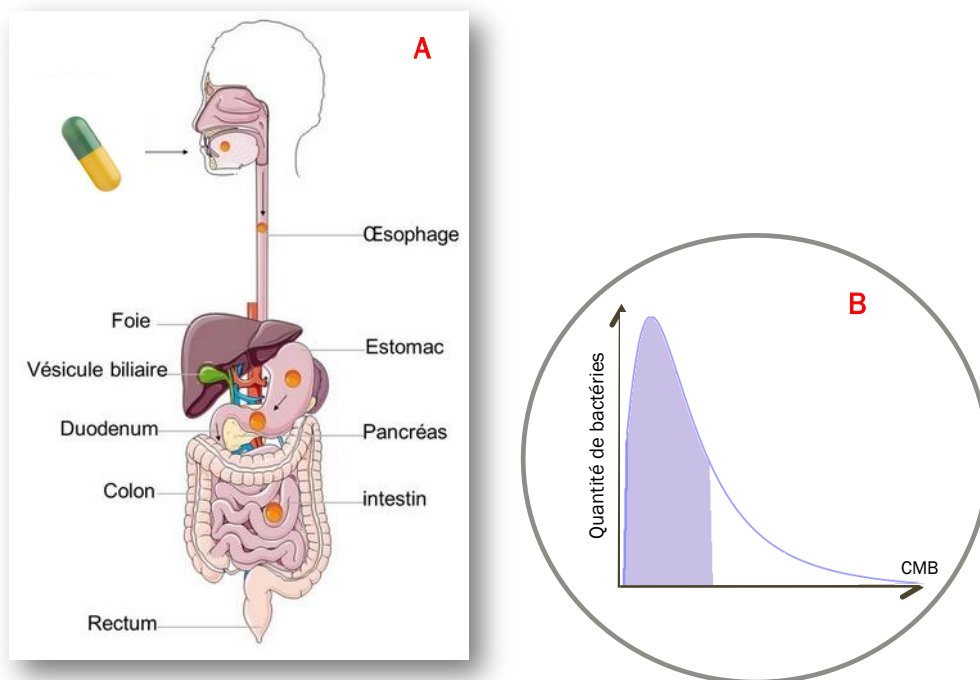


Figure 12 : Représentation de la prise d'antibiotique par voie orale (A) et de la distribution log-normale des bactéries en fonction de leur sensibilité à l'antibiotique dans l'intestin (B). La zone mauve sur la partie B représente la fraction des bactéries qui sont détruites par la prise orale de l'antibiotique.

Ainsi, la nouvelle distribution des bactéries selon leur sensibilité à l'antibiotique peut être représentée de la façon suivante (Figure 13).

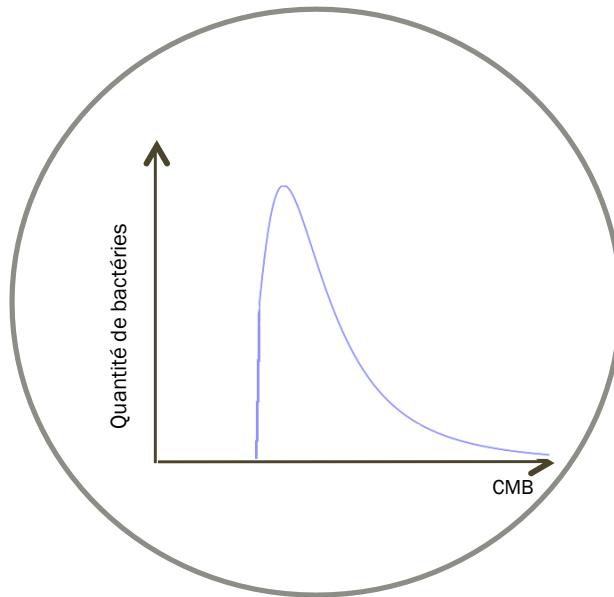


Figure 13 : Représentation de la distribution log-normale des bactéries présentes dans l'intestin après la prise de l'antibiotique.

Question 1

D'après les données issues de la littérature, chez les patients traités par Fluoroquinolones par voie orale, le microbiote intestinal met entre 3 et 6 mois pour retrouver sa composition qualitative et quantitative. Quelle hypothèse pourriez-vous proposer pour expliquer ce délai ? Comment schématiseriez-vous votre hypothèse ?

Réponse 1

La reconstitution du microbiote ne peut se faire que par l'intermédiaire d'un apport externe, c'est-à-dire l'apport de bactéries via l'alimentation principalement. Cet apport est régulier et peut être représenté comme sur la Figure 14.

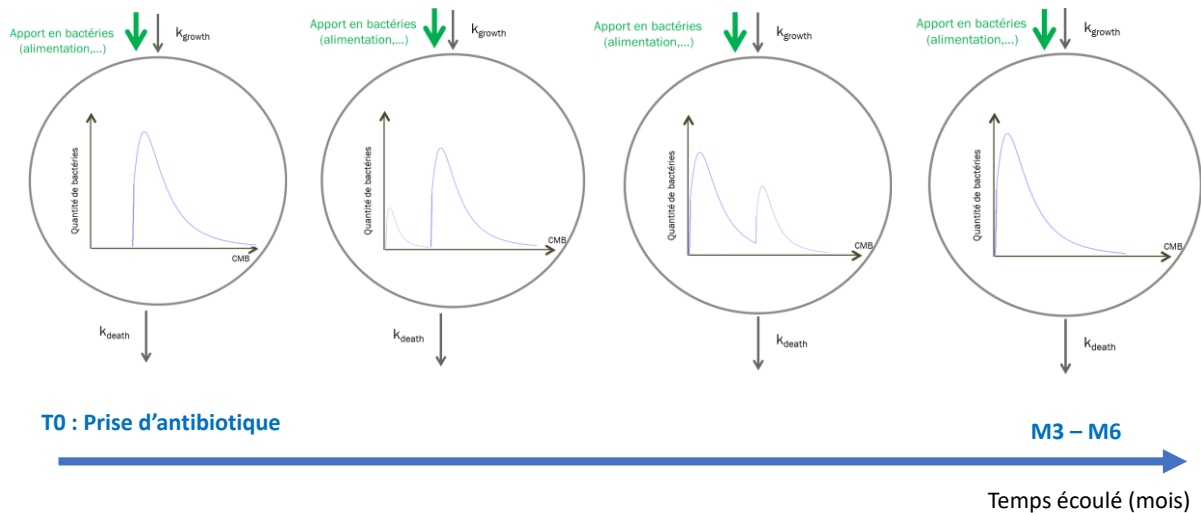


Figure 14 : Evolution de la distribution des bactéries du microbiote en fonction de leur sensibilité à l'antibiotique préalablement administré.

Question 2

A partir des équations 1 et 2 déjà explicitées au tout début de cette thématique, comment simplifieriez-vous l'équation ?

Réponse 2

Nous allons repartir des équations 1 et 2 déjà explicitées ci-dessus :

$$\frac{dX}{dt} = R(t).X(t) - O(t).X(t) + I(t) \quad \text{Eq.1}$$

$$\frac{dX}{dt} = (R(t) - O(t)).X(t) + I(t) \quad \text{Eq.2}$$

Après intégration de l'équation, on obtient :

$$X(t) = \left(\int_0^t I(u) \cdot e^{A(u)} du + x_0 \right) \cdot e^{-A(t)} \quad \text{Eq.3}$$

Où $A(t)$ est une primitive de $(O(t) - R(t))$.

Dans notre cas, l'antibiotique n'est plus administré (i.e., on est loin de la période de traitement). En revanche, c'est l'alimentation qui va permettre de repeupler la lumière intestinale en apportant la(es) bactérie(s) précédemment détruite(s) par l'antibiotique.

Ainsi : $O(t) = K_{death}$ (i.e., cette constante de vitesse de mort est la somme de la mort « programmée » de la bactérie et de l'influence du système immunitaire du patient)

Et $A(t) = (K_{death} - K_{growth}) \cdot t$

Donc
$$X(t) = (\int_0^t I(u) \cdot \exp^{A(u)} \cdot du + x_0) \cdot \exp^{-A(t)}$$

$$X(t) = (\int_0^t I(u) \cdot \exp^{A(u)} \cdot du + x_0) \cdot \exp^{-(K_{death} - K_{growth}) \cdot t}$$

Si on remplace par les appellations appliquées à l'entité bactérienne, on retrouve :

$$B(t) = (\int_0^t I(u) \cdot \exp^{A(u)} \cdot du + B_0) \cdot \exp^{-(K_{death} - K_{growth}) \cdot t}$$