



## THÈSE

Pour l'obtention du grade de  
DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE POITIERS  
UFR de médecine et de pharmacie  
Laboratoire pharmacologie des anti-infectieux (Poitiers)  
(Diplôme National - Arrêté du 25 mai 2016)

École doctorale : Sciences Biologiques et Santé (Limoges)  
Secteur de recherche : Recherche clinique, innovation thérapeutique, santé publique

Présentée par :  
**Sophie Magréault**

### **Pharmacocinétique et suivi thérapeutique pharmacologique de la colistine**

Directeur(s) de Thèse :  
**William Couet, Nicolas Grégoire**

Soutenue le 30 janvier 2019 devant le jury

Jury :

Président	<b>Xavier Declèves</b>	Professeur, Université Descartes, Paris
Rapporteur	<b>Peggy Gandia</b>	Professeur et praticien hospitalier, Université de Toulouse
Rapporteur	<b>Vincent Jullien</b>	Professeur, Université de Paris XIII
Membre	<b>William Couet</b>	Professeur et praticien hospitalier, Université de Poitiers
Membre	<b>Nicolas Grégoire</b>	Maître de conférences, Université de Poitiers
Membre	<b>Evelyne Jacqz-Aigrain</b>	Professeur, Université Diderot, Paris
Membre	<b>Rémy Gauzit</b>	Praticien hospitalier, Hôpital Cochin, Paris

**Pour citer cette thèse :**

Sophie Magréault. *Pharmacocinétique et suivi thérapeutique pharmacologique de la colistine* [En ligne]. Thèse Recherche clinique, innovation thérapeutique, santé publique. Poitiers : Université de Poitiers, 2019. Disponible sur Internet <<http://theses.univ-poitiers.fr>>

# THESE

Pour l'obtention du Grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE POITIERS

(Faculté Médecine et Pharmacie)  
(Diplôme National - Arrêté du 25 mai 2016)

Ecole Doctorale : n°615 Sciences Biologiques et Santé

Secteur de Recherche : Recherche clinique, innovation thérapeutique, santé publique

Présentée par :

**Sophie MAGREAULT**

\*\*\*\*\*

## Pharmacocinétique et suivi thérapeutique pharmacologique de la colistine

\*\*\*\*\*

Directeurs de Thèse :

**Dr Nicolas GREGOIRE**

**Pr William COUET**

\*\*\*\*\*

Soutenue le 30/01/2019

devant la Commission d'Examen

\*\*\*\*\*

## JURY

**Pr Peggy GANDIA**, Université Toulouse III, Paul Sabatier

Rapporteur

**Pr Vincent JULLIEN**, Université Paris XIII

Rapporteur

**Dr Remy GAUZIT**, Hôpital Cochin (APHP, Paris)

Examinateur

**Pr Xavier DECLEVES**, Université Paris Descartes (Paris V)

Examinateur

**Pr Evelyne JACQZ-AIGRAIN**, Université Paris Diderot (Paris VII)

Examinateur



# Remerciements

---

Je tiens à remercier les rapporteurs de cette thèse, **Madame le Pr Peggy GANDIA et Monsieur le Pr Vincent JULLIEN**, pour l'intérêt qu'ils ont porté à mon travail. J'associe à ces remerciements **Monsieur le Dr Remy GAUZIT et Monsieur le Pr Xavier DECLEVES** pour avoir accepté d'être examinateurs de cette thèse. J'adresse également de sincères remerciements à **Madame le Pr Evelyne JACQZ-AIGRAIN** pour avoir accepté de compléter ce jury.

Merci à **Monsieur le Docteur Nicolas GREGOIRE** pour avoir accepté de codiriger ce travail de thèse. Merci pour ta disponibilité, ta patience et ta gentillesse.

Merci à **Monsieur le Professeur William COUET** pour avoir codirigé ce travail et surtout pour m'avoir accueillie au sein de votre laboratoire. Je vous remercie du temps que vous avez passé à me transmettre vos précieux conseils.

\*\*\*\*\*

Merci à **Madame le Professeur Sandrine MARCHAND** sans qui je n'aurais surely pas découvert le monde de la recherche. Merci pour ta générosité et pour tout ce que tu m'as appris.

Merci à **l'ensemble des membres de l'équipe INSERM U1070**. Merci à mes *wonderful* colocataires de bureau (et associés décorateurs) et merci à Muriel pour ta présence et ton soutien sans faille.

Je tiens également à remercier mes collègues du **service de pharmacologie de l'Hôpital Robert Debré** à Paris. Merci pour votre enthousiasme et votre soutien dans la dernière ligne droite de ce travail.

Merci à ma famille et mes amis...＼...OWL....／..#BABY#...<3.....／BABY...／...~LOCK~...BABY...//...★★...＼



# Résumé

---

## Pharmacocinétique et Suivi thérapeutique pharmacologique de la colistine

La colistine est un antibiotique utilisé en dernier recours dans les infections à bacilles gram négatifs multirésistants. Elle est administrée sous la forme de sa prodrogue, le colistiméthate sodique (CMS). Bien que les données disponibles sur cet antibiotique aient largement augmenté depuis l'apparition des dosages du CMS et de la colistine par méthode séparative couplée à un détecteur, les disparités entre les études perdurent, les mécanismes pharmacocinétiques impliqués ne sont pas tous élucidés et les données manquent quant à l'optimisation de l'utilisation de cet antibiotique.

Cette thèse a ainsi permis de :

- 1) Vérifier que les dosages de CMS et colistine réalisés dans différents centres européens étaient conformes et homogènes via la réalisation d'une étude de cross-validation multicentrique.
- 2) Mettre en évidence l'ampleur de la variabilité interindividuelle des concentrations moyennes à l'équilibre en colistine et montrer que cette variabilité était essentiellement due à la clairance de la colistine.
- 3) Montrer les difficultés de la mise en place d'une optimisation posologique précoce du CMS par analyse bayésienne.
- 4) Evaluer l'impact pharmacocinétique d'une administration du CMS en une seule injection journalière.
- 5) Etudier la pharmacocinétique du CMS et de la colistine après administration par voie intraveineuse et nébulisée de CMS chez les patients souffrant de mucoviscidose.
- 6) Suggérer une augmentation de la posologie de la colistine en pédiatrie.

Ces travaux ont permis d'accroître les connaissances sur la pharmacocinétique de la colistine et de proposer de nouvelles stratégies thérapeutiques afin de contribuer à l'amélioration de la prise en charge des patients.

**Mots clés :** colistine, antibiothérapie, suivi thérapeutique pharmacologique, pharmacocinétique, LC-MS/MS

# Abstract

---

## Pharmacokinetic and Therapeutic Drug Monitoring of colistin

Colistin is an antibiotic used as a last resort in infections caused by multiresistant gram negative bacteria. It is administered as a prodrug, colistin methanesulfonate (CMS). Although data concerning this antibiotic are growing since CMS and colistin quantification is realized by a separative method coupled to a detector, some differences are still present between studies, the pharmacokinetic mechanisms involved are not yet totally elucidated and there is a lack of data concerning the optimization of its use.

In this thesis we:

- 1) Check that CMS and colistin dosages realized in different centers in Europe were compliant and homogenous with a multicentric cross validation study.
- 2) Highlight the inter individual variability of the steady state average concentrations of colistin and show that it is mostly associated to colistin clearance.
- 3) Show the difficulties of an early adaptation of CMS dose regimen by bayesian analysis.
- 4) Evaluate the pharmacokinetic impact of intravenous administration of CMS once daily.
- 5) Study CMS and colistin pharmacokinetic after iv and nebulized administration of CMS in cystic fibrosis patients.
- 6) Suggest an increase of CMS dosing regimen recommended in children.

Overall, this work brings PK understanding of colistin and suggests new therapeutic strategies, particularly in cystic fibrosis patients and in children. This work should contribute to improve patient care in infection caused by multiresistant bacteria.

**Key words:** colistin, antibiotherapy, therapeutic drug monitoring, pharmacokinetic, LC-MS/MS

# Liste des Publications

---

## Publications en premier auteur :

- Magreault S, Petyt C, Senneville E, Fron D, Nectoux E, Loiez C, et al. Pharmacokinetics of colistin in an 8-years old child with an acute bone infection. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2018.
- Magreault S, Gregoire N, Marchand S, Couet W. Colistin Pharmacokinetics in Pediatrics. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2018;66(5):809.
- Magreault S, Manikian J, Marchand S, Diot P., Couet W, Flament T., Gregoire N. Pharmacokinetics of colistin after nebulization or intravenous administration of colistin methanesulphonate (Colimycin®) to cystic fibrosis patients. *Journal of Cystic Fibrosis, article soumis*

## Publications en co-auteur :

- Ferry T, Desmarchelier R, Magreault S, Valour F. Gentamicin-vancomycin-colistin local antibiotherapy in a cement spacer in a 54-year-old haemophilic patient with relapsing plurimicrobial severe prosthetic joint infection. *BMJ case reports*. 2017.
- Gregoire N, Aranzana-Clement V, Magreault S, Marchand S, Couet W. Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Colistin. *Clinical pharmacokinetics*. 2017;56(12):1441-60.

# Liste des Communications

---

- **POSTER** présenté à l'*European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID)*  
| Madrid | Avril 2018 - Pharmacokinetics of colistin administered at 9MIU once daily in intensive care unit patients with preserved renal function.  
**Magréault S, Bassoulis D, Grégoire N, Skiada A, Marchand S, Couet W, Daikos G**
- **POSTER** présenté aux **Journées de Recherche Tours-Poitiers-Limoges** | Limoges | Janvier 2016  
Are we ready for Therapeutic Drug Monitoring of Colistin using Bayesian Approaches?  
**Magréault S, Grégoire N., Marchand S., Gobin P., Roblot F, Mimoz O., Couet W.**
- **POSTER** présenté à l'*European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID)*  
| Copenhague | Avril 2015 - Perspectives for therapeutic drug monitoring of colistin using Bayesian approaches  
**Magréault S, Grégoire N, Marchand S, Gobin P, Roblot F, Mimoz O, Couet W**
- **POSTER** présenté au **Groupe de Métabolisme et Pharmacocinétique (GMP)** | Paris | Octobre 2014  
- Feasibility Study for early Adaptation of Colistin Dosing Regimen in Critically Care Patients with Bayesian Analysis  
**Magréault S, Jacobs M, Lezzar S, Marchand S, Couet W, Grégoire N.**

# Table des matières

---

Remerciements .....	3
Résumé.....	5
Abstract .....	6
Liste des Publications .....	7
Liste des Communications.....	8
Abréviations .....	11
SECTION I -INTRODUCTION .....	13
CHAPITRE I - LE SUIVI THERAPEUTIQUE PHARMACOLOGIQUE .....	15
I.    Individualisation du traitement à l'aide du Suivi Thérapeutique Pharmacologique .....	17
1.    Définition et intérêts du Suivi Thérapeutique Pharmacologique .....	17
2.    Notions de pharmacodynamie et de pharmacocinétique-pharmacodynamie appliquées à l'antibiothérapie.....	19
3.    Intérêt clinique du Suivi Thérapeutique Pharmacologique appliqué à l'antibiothérapie .....	21
II.    Méthodologie utilisée lors du Suivi Thérapeutique Pharmacologique.....	24
1.    Rappels pharmacocinétiques .....	25
2.    Méthodologie de l'ajustement posologique .....	38
CHAPITRE II -LA COLISTINE .....	43
I.    Généralités sur la colistine.....	44
1.    Un « antibiotique critique ».....	44
2.    Notions d'unités .....	45
3.    Structure chimique .....	45
4.    Bioanalyse.....	47
II.    Notions de Pharmacocinétique de la colistine .....	52
1.    Etudes chez le volontaire sain .....	52
2.    Clairance et métabolisme .....	53
3.    Distribution après administration systémique .....	56
III.    Notions de pharmacodynamie de la colistine .....	61

1. Mécanisme d'action .....	61
2. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice .....	62
3. Activité antibactérienne .....	63
4. Résistances .....	64
5. Cibles Pharmacocinétique-Pharmacodynamique.....	65
6. Toxicité .....	68
7. Combinaisons thérapeutiques.....	70
<b>IV. Etat de l'art concernant le Suivi Thérapeutique Pharmacologique de la colistine dans des populations particulières.....</b>	<b>72</b>
1. Patients de réanimation .....	72
2. Patients avec épuration extra-rénale .....	80
3. Patients atteints de mucoviscidose .....	83
4. Population pédiatrique.....	85
5. Résumé du STP de la colistine .....	86
<b>V. Article de Synthèse .....</b>	<b>86</b>
<b>Problématique et Objectifs .....</b>	<b>87</b>
<b>SECTION II -TRAVAUX PERSONNELS .....</b>	<b>91</b>
<b>CHAPITRE I -Cross-validation des dosages de la colistine et du CMS.....</b>	<b>93</b>
<b>CHAPITRE II - Etude de faisabilité de l'adaptation posologique précoce de la colistine.....</b>	<b>113</b>
<b>CHAPITRE III - Impact PK de l'administration du CMS une fois par jour .....</b>	<b>129</b>
<b>CHAPITRE IV - Etude de la PK de la colistine chez le patient atteint de mucoviscidose.....</b>	<b>151</b>
<b>CHAPITRE V - Utilisation de la colistine en pédiatrie.....</b>	<b>177</b>
<b>Discussion générale.....</b>	<b>183</b>
<b>Conclusion .....</b>	<b>191</b>
<b>Références.....</b>	<b>193</b>
<b>Annexes .....</b>	<b>203</b>

# Abréviations

---

AGP	A1-glycoprotéine
AMM	Autorisation de Mise sur le Marché
ANSM	Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé
Ass	Quantité de molécule présente dans l'organisme à l'équilibre
At	Quantité de molécule présente dans l'organisme à l'instant t
AUC	Aire sous la courbe des concentrations en fonction du temps
BGN	Bacille à Gram négatif
BHE	Barrière Hémato-Encéphalique
C <sub>0</sub>	Concentration au temps t=0
CBA	<i>Colistin based activity</i>
CFU	Colonies formant unité
CL	Clairance
CLcoli	Clairance de colistine
CLcreat	Clairance de la créatinine
CL <sub>NR,CMS</sub>	Clairance non rénale de CMS
CL <sub>R,CMS</sub>	Clairance rénale de CMS
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standard Institute</i>
Cmax	Concentration plasmatique maximale
CMC	Concentration Micellaire Critique
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
Cmin	Concentration plasmatique minimale
CMS	Colistimethate sodique ou methanesulfonate de colistine
C <sub>ss</sub>	Concentration en colistine à l'équilibre
C <sub>ss,avg</sub>	Concentration moyenne en colistine à l'équilibre
C <sub>t</sub>	Concentration en molécule à l'instant t
CV	Coefficient de variation
Dab	Acide diaminobutyrique
DFG	Débit de Filtration Glomérulaire
ELF	<i>Epithelial Lung Fluid</i>
EMA	<i>European Medicine Agency</i>
EUCAST	<i>European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing</i>
F	Biodisponibilité

Fcms	Fraction de CMS qui atteint la circulation centrale sous forme inchangée après administration par voie non systémique
Fcoli	Fraction de colistine qui atteint la circulation centrale après administration de CMS par voie non systémique
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
fe	Fraction du CMS administré excrétré dans les urines sous forme inchangée
FICI	index de concentrations inhibitrices fractionnées
fm	Fraction de la dose de CMS non excrétée par voie urinaire et se transformant en colistine
fm,col	Fraction de la dose de CMS se convertissant en colistine
fu	Fraction libre d'une molécule
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>
iiv	Variabilité inter-individuelle
iov	Variabilité intra-individuelle
IRA	Insuffisance Rénale Aiguë
IV	Intra-Veineux (se)
ka	Constante d'absorption
ke	Constante d'élimination
LBA	Liquide Broncho alvéolaire
LC-MS/MS	Chromatographie liquide couplée à un spectromètre de masse en tandem
LCR	Liquide Céphalo Rachidien
LPS	Lipopolysaccharide
MUI	Million d'Unité Internationale
NCA	Analyse Non Compartimentale
NLME	<i>Non-linear mixed effect</i>
PAPs	profils d'analyse de population
PD	Pharmacodynamie
PK	Pharmacocinétique
popPK	Pharmacocinétique de population
SPE	Extraction en phase solide
STP	Suivi Thérapeutique Pharmacologique
t1/2	Demi-vie
TDM	<i>Therapeutic Drug Monitoring</i>
Vd	Volume de Distribution
V <sub>CMS</sub>	Volume de Distribution du CMS
V <sub>coli</sub>	Volume de Distribution de la colistine

# **SECTION I**

-

# **INTRODUCTION**



# **CHAPITRE I**

---

—

## **LE SUIVI THERAPEUTIQUE PHARMACOLOGIQUE**

---



# I. Individualisation du traitement à l'aide du Suivi Thérapeutique Pharmacologique

---

## 1. Définition et intérêts du Suivi Thérapeutique Pharmacologique

---

Le « Suivi Thérapeutique Pharmacologique » (STP) est la traduction choisie par la Société française de pharmacologie de l'expression anglaise « *Therapeutic drug monitoring* » (TDM) (1). L'objectif du STP consiste à **améliorer la réalisation de l'objectif thérapeutique pour le patient : améliorer la réponse thérapeutique et diminuer les effets toxiques** afin d'optimiser au mieux la « balance bénéfices-risques ». Bien que lors de la mise sur le marché d'un médicament les données de pharmacocinétique, d'efficacité et de sécurité soient exigées, il s'agit d'informations concernant des paramètres et des effets moyens pouvant être éloignées des conditions réelles pour un patient donné.

Certaines situations cliniques encouragent particulièrement le clinicien à demander le dosage sanguin d'un médicament (Tableau 1) (2).

Tableau 1 : Situations cliniques motivant un dosage sanguin de médicament (d'après Widmer et al., 2008 (2))

Situation	Objectif	Exemple
<b>Réponse insuffisante au traitement</b>	Faire la distinction entre résistance pharmacologique (concentration suffisante) nécessitant un changement de traitement et défaut d'exposition (concentration insuffisante) appelant une adaptation posologique	Crise convulsive malgré un traitement antiépileptique
<b>Suspicion de toxicité</b>	Confirmer le diagnostic d'intoxication	Symptômes gastro-intestinaux sous digoxine
<b>Manifestations cliniques ambiguës</b>	Faire la distinction entre réponse insuffisante ou toxicité	Augmentation de la créatinine chez un greffé rénal sous ciclosporine
<b>Dysfonction d'organe</b>	Prévenir les conséquences de l'imprégnation médicamenteuse	Choix de l'intervalle de prise des aminosides
<b>Interaction médicamenteuse</b>	Prévenir les conséquences en adaptant les posologies	Suivi des antirétroviraux chez un patient VIH recevant de la rifampicine
<b>Vérification de l'adéquation d'une posologie</b>	Viser une concentration cible	Suivi de la ciclosporine ou du tacrolimus chez un patient transplanté
<b>Economie de médicament</b>	Limiter la prescription d'un traitement onéreux ou disponible en faible quantité	Facteurs de la coagulation chez un patient hémophile
<b>Contrôle de la compliance</b>	Concentration très basse ou non détectable permettant d'évoquer un problème de prise médicamenteuse.	Patient VIH avec une virémie non contrôlée
<b>Recherche clinique</b>	Mesure des concentrations et détermination des relations dose-concentration-effet	Etudes prospectives d'une nouvelle molécule

Afin que le STP ait du sens, il existe toutefois certains **prérequis** pour la molécule concernée (3) :

- La **relation concentration – effet** (thérapeutique ou toxique) doit être bien définie
- La **variabilité inter-individuelle** doit être élevée et la variabilité intra individuelle faible
- La **marge thérapeutique** doit être étroite
- Il est nécessaire d'avoir à disposition une **méthode de dosage fiable et rapide**

## 2. Notions de pharmacodynamie et de pharmacocinétique-pharmacodynamie appliquées à l'antibiothérapie

La pharmacodynamie (PD) étudie les effets d'un principe actif sur l'organisme et s'illustre par l'étude de l'effet du médicament en fonction de sa concentration sanguine. Associée à la pharmacocinétique (PK), elle forme une nouvelle discipline : la PK-PD qui étudie l'évolution de l'effet d'un médicament en fonction du temps (Figure 1).

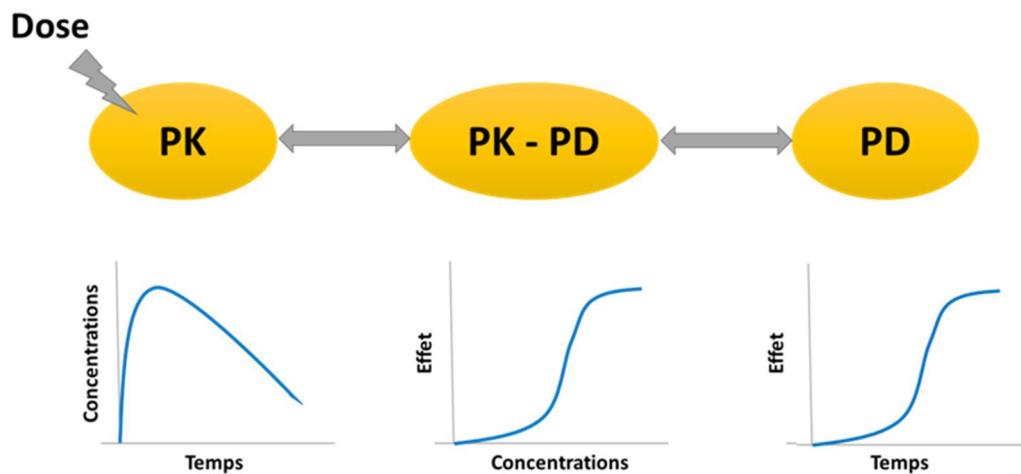


Figure 1 : Principe de la Pharmacocinétique - Pharmacodynamie

La **PK-PD appliquée à l'antibiothérapie** décrit l'ensemble des propriétés pharmacocinétiques et antibactériennes d'un antibiotique. *In vivo*, elle évalue l'**effet bactériostatique ou bactéricide** des antibiotiques au niveau des sites infectieux **en fonction du temps** et de la **concentration en antibiotique** (4). Afin d'établir la molécule et la dose optimale à administrer aux patients, il est indispensable de comprendre les différentes **relations dose-concentration-effet** de cette classe thérapeutique.

La sensibilité des bactéries peut être évaluée par leur **Concentration minimale inhibitrice (CMI)**. Il s'agit de la plus petite concentration en antibiotique nécessaire pour inhiber la croissance d'une bactérie. En routine

routine hospitalière, ce paramètre est déterminé par le laboratoire de bactériologie, à la suite de l'identification du germe responsable de l'infection et la réalisation d'un antibiogramme permettant de déterminer les antibiotiques susceptibles d'être efficaces.

Les antibiotiques peuvent être classés en fonction de l'indice PK-PD qui décrit leur efficacité (Figure 2) (5-7) :

- (i) les **antibiotiques temps-dépendants** pour lesquels l'efficacité est corrélée au temps durant lequel la concentration libre de l'antibiotique est maintenue au-dessus de la CMI ( $fT > CMI$ ) (exemples : bétalactamines, linezolide). Ces antibiotiques sont généralement administrés en plusieurs prises par jour ou en perfusion continue, à la suite ou non d'une dose de charge.
- (ii) les **antibiotiques concentrations-dépendants** pour lesquels l'efficacité est liée au ratio de la concentration au pic sur la CMI ( $C_{max}/CMI$ ) (exemples : aminosides). L'adaptation posologique de ces molécules consiste à augmenter la dose journalière administrée afin d'optimiser le  $C_{max}$  et à augmenter l'intervalle de prise afin de diminuer la valeur de la concentration résiduelle, généralement liée à la toxicité de la molécule.
- (iii) les **antibiotiques à effets mixtes** pour lesquels l'efficacité est liée au ratio de l'aire sous la courbe de la concentration libre de la molécule pendant 24 h sur la CMI ( $fAUC_{u,0-24h}/CMI$ ) (exemples : fluoroquinolones, glycopeptides). L'augmentation de la dose journalière permet d'optimiser le traitement pour cette catégorie d'antibiotiques.

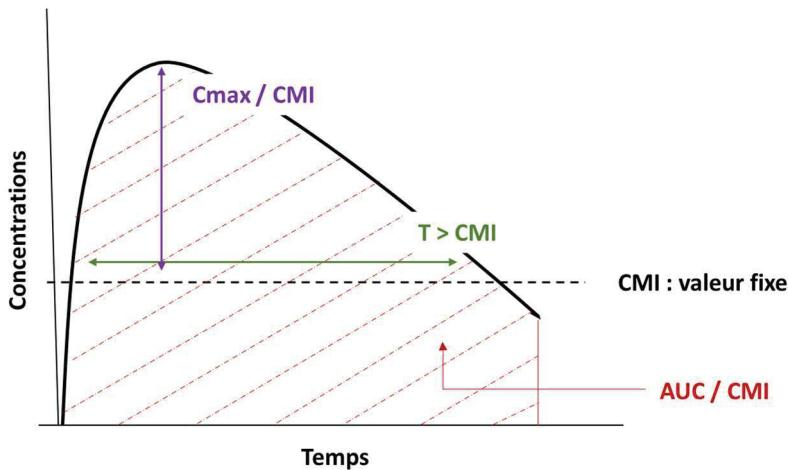


Figure 2 : Indices pharmacocinétiques / pharmacodynamiques, marqueurs prédictifs de l'efficacité microbiologique et clinique des antibiotiques (d'après Jacobs et al., 2001 (7)).

AUC/CMI : aire sous la courbe des concentrations en fonction du temps rapportée à la concentration minimale inhibitrice (CMI) ; Cmax/CMI : concentration maximale rapportée à la CMI ; T > CMI : temps pendant lequel la concentration est supérieure à la CMI.

### 3. Intérêt clinique du Suivi Thérapeutique Pharmacologique appliqué à l'antibiothérapie

Le **STP en antibiothérapie** joue un rôle primordial dans la prise en charge de l'infection du patient et permet, en plus de la surveillance de l'équilibre efficacité – toxicité précédemment citée, de **prévenir l'apparition de mutants résistants** (5). Afin de pouvoir interpréter les dosages, il est nécessaire de connaître (8) :

- L'état physiologique du patient et son statut immunitaire
- La nature et la sensibilité des bactéries responsables de l'infection
- La localisation anatomique de l'infection
- L'évolution de l'infection elle-même

Les dosages d'antibiotiques sont fortement conseillés pour les molécules à marges thérapeutiques étroites et pour lesquelles la méthode de dosage est simple et rapide (principalement les aminosides et

les glycopeptides). Pour les molécules à marge thérapeutique plus large comme les bétalactamines, les dosages sont à réaliser en fonction de l'état physiologique du patient, des potentielles interactions médicamenteuses, en cas de CMI élevées nécessitant de fortes posologies ou de résultats thérapeutiques insuffisants (8).

Le STP est particulièrement recommandé en cas **d'infections nosocomiales** généralement associées à des **bactéries plus résistantes présentant des CMI élevées**. Ce type d'infection se retrouve principalement chez des **patients sévères présentant des modifications pharmacocinétiques** (patients de réanimation, grands brûlés, néonatalogie, etc.).

De plus, la démarche d'adaptation posologique des antibiotiques doit également prendre en compte le risque d'émergence de résistances. La dose ainsi que la durée du traitement impacteraient la sélection de mutants résistants, d'où l'importance de (9) :

- Débuter le traitement antibiotique le plus rapidement possible afin de réduire la taille de l'inoculum et donc la probabilité de présence de mutants résistants
- Atteindre la valeur cible de l'indice PK-PD dès la première dose si possible
- Réduire la durée de traitement au minimum nécessaire

Le STP appliqué à l'antibiothérapie peut être résumé par le schéma suivant (Figure 3) :

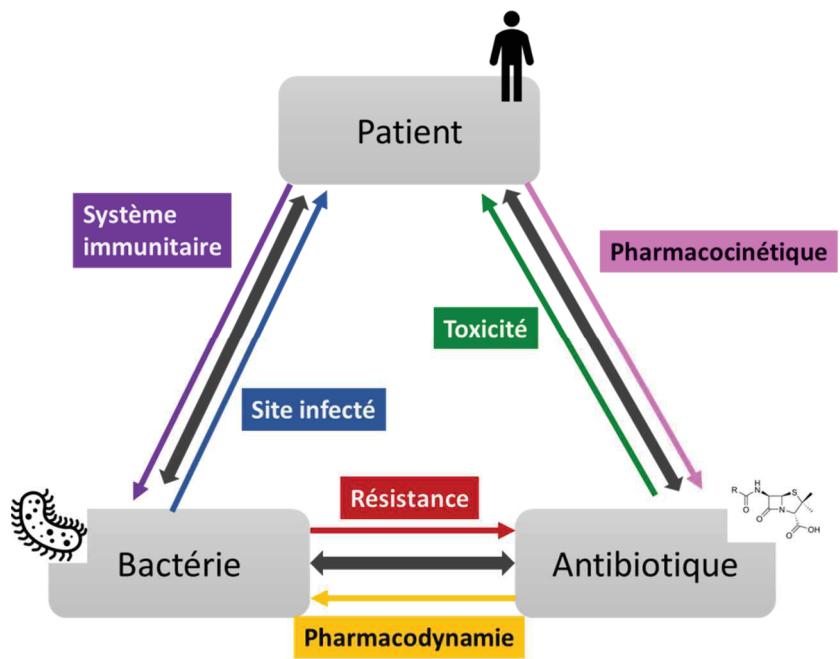


Figure 3 : Optimisation de l'antibiothérapie : Interactions entre Patient – Bactérie et Antibiotique

## II. Méthodologie utilisée lors du Suivi Thérapeutique Pharmacologique

Le STP constitue une discipline globale faisant appel à la **chimie analytique**, à la **pharmacocinétique**, à la connaissance des **mécanismes d'action des médicaments** et à la **thérapeutique**. Cette activité ne correspond pas à un simple dosage de médicament mais se doit d'être accompagnée d'une interprétation, et si possible d'une suggestion d'adaptation posologique (1).

Le STP représente une stratégie d'individualisation du traitement et appartient aux stratégies thérapeutiques de contrôle adaptif par « *feedback* » (Figure 4) (10). Le schéma de posologie initiale est choisi en fonction des caractéristiques spécifiques du patient, du but thérapeutique et de la concentration sanguine cible. Les concentrations sont ensuite mesurées et interprétées en fonction des données cliniques, du délai entre l'administration et le prélèvement, des zones thérapeutiques, de la population à laquelle appartient le patient ainsi que des performances et des limites analytiques de la technique utilisée (11).

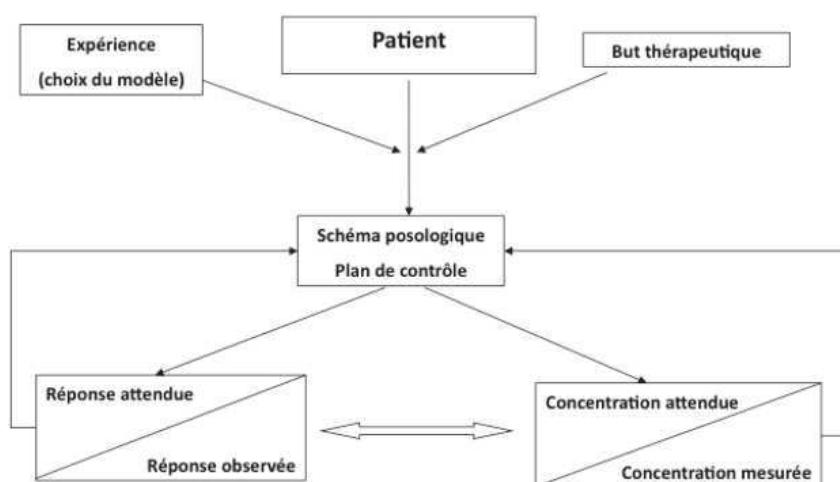


Figure 4 : Schéma du contrôle adaptatif du STP (d'après Rodman et al., 2006 (10))

La **marge thérapeutique** est un concept important du STP et doit être considérée comme un concept de *probabilités* et non comme une zone absolue et figée. Selon le patient, son état clinique, la pathologie dont il souffre, les limites hautes de la marge ne définissent pas forcément une borne au-delà de laquelle la toxicité commence de même que les bornes basses ne sont pas toujours associées à une absence d'effet thérapeutique. Le concept de **concentration cible** a été proposé pour remplacer celui de marge thérapeutique. Il s'agit d'une concentration unique dont il faut s'approcher au mieux et qui diffère selon la clinique du patient (12).

Il existe différentes approches pour adapter le schéma thérapeutique *a priori* (algorithmes) ou *a posteriori*, c'est-à-dire en fonction des concentrations mesurées (nomogrammes, approches mathématiques, approches bayésiennes) (3).

---

## 1. Rappels pharmacocinétiques

---

### a) Paramètres usuels

La pharmacocinétique décrit le devenir du médicament dans l'organisme et s'illustre en décrivant les concentrations en principe actif en fonction du temps, généralement dans le plasma ou le sérum. La pharmacocinétique d'une molécule est traditionnellement décrite par 4 étapes, étroitement liées entre elles : l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'élimination, comme représenté dans la Figure 5.

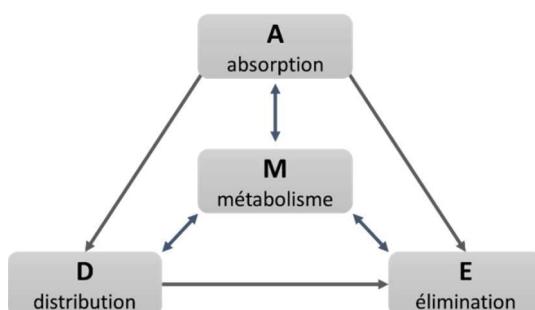


Figure 5 : Les différentes étapes de la pharmacocinétique du médicament

Lors de la phase **d'absorption**, la **biodisponibilité (F)** décrit la fraction de la dose du médicament administré qui atteint la circulation générale et la vitesse à laquelle elle l'atteint. Cette fraction conditionne de fait les concentrations systémiques et donc les notions d'efficacité et de toxicité. Lors d'une administration directement dans la circulation systémique (principalement par voie intraveineuse), la biodisponibilité est égale à 100%. Lorsqu'une autre voie d'administration est utilisée (voie orale, nébulisée, intrathécale, etc.), il est possible que la substance active ne puisse que partiellement se retrouver dans la circulation systémique.

Le principe actif se **distribue** ensuite dans le corps en fonction de ses propriétés physico-chimiques et / ou de l'affinité pour des protéines ou structures biologiques spécifiques. Dans la circulation générale, le médicament se trouve soit à l'état libre dissout dans l'eau plasmatique, soit fixé sur les protéines du sang (principalement l'albumine et l' $\alpha$ 1-glycoprotéine acide). Seule la molécule non liée peut diffuser dans les tissus, exercer un effet pharmacologique (thérapeutique ou toxique) et être métabolisée ou excrétée. Pour cette raison, il est important de connaître la **fraction libre (fu)** d'un médicament que de nombreuses conditions cliniques peuvent influencer.

Le **volume apparent de distribution (Vd)** est utilisé pour quantifier la distribution tissulaire des médicaments. Il s'agit d'un volume fictif dans lequel devrait se distribuer le médicament pour être à la même concentration que celle du plasma. Il peut également se définir comme le facteur de proportionnalité à un moment « t », entre la quantité de médicament présent dans l'organisme ( $A_t$ ) et la concentration de ce médicament ( $C_t$ ).

Équation 1 : 
$$Vd = \frac{A_t}{C_t}$$

Ce volume est souvent exprimé en litres et a pour valeur minimale le volume de plasma (3 L). Dans la majorité des cas il s'agit d'un volume fictif, sans signification physiologique, qui peut dépasser largement le volume d'eau total du corps (42 L pour un poids de 70 kg) ; cela signifiant que la substance s'accumule dans un tissu spécifique. Il est alors possible d'exprimer le volume de distribution comme suit (13) :

Équation 2 :

$$Vd = V_p + V_t \times \frac{f_{u,p}}{f_{u,t}}$$

Avec :

- $V_p$ , le volume de distribution plasmatique
- $V_t$ , le volume de distribution tissulaire
- $f_{u,p}$  la fraction libre ( « unbound » ) plasmatique
- $f_{u,t}$  la fraction libre tissulaire

Un volume élevé signifie que le médicament possède une forte affinité pour certains tissus. Le volume varie en fonction du rapport  $f_{u,p}/f_{u,t}$ :

- si  $f_{u,p} = f_{u,t}$ , le  $Vd$  est voisin de celui de l'organisme
- si  $f_{u,p} < f_{u,t}$ , le médicament est fortement fixé aux protéines plasmatiques et peu aux protéines tissulaires
- si  $f_{u,p} > f_{u,t}$ , le médicament est principalement fixé dans les tissus et le volume de distribution est supérieur au volume de l'organisme.

Dès l'absorption du médicament, son **élimination** commence. Selon ses caractéristiques physico-chimiques, la molécule s'élimine de l'organisme selon divers procédés :

- excrétion par voie biliaire ou rénale du produit sous forme inchangée
- biotransformations en métabolites

La **clairance totale (CL)** décrit quantitativement la vitesse d'élimination d'un médicament de l'organisme. Elle est usuellement exprimée en mL/min, ou L/h et décrit le volume épuré du médicament par unité de temps. Pour la plupart des médicaments, si la pharmacocinétique est linéaire, la clairance est indépendante de la dose administrée, de la concentration plasmatique et du temps. Toutefois, elle dépend de l'état clinique du patient, en particulier de la fonction des organes éliminateurs, principalement le foie et les reins.

Classiquement, l'élimination d'un médicament est quantifiée par sa **demi-vie d'élimination ( $t_{1/2}$ )**, paramètre pharmacocinétique secondaire qui dépend de la clairance totale et du volume apparent de distribution.

## b) Détermination des paramètres usuels

Des prélèvements à différents temps seront utiles pour décrire la cinétique d'une molécule (Figure 6) :

- La mesure de la concentration au moment du pic de concentration ( $T_{max}$ ) permet une estimation de la **concentration maximale (C<sub>max</sub>)**
- La mesure de la concentration juste avant une nouvelle administration permet une estimation de la concentration **résiduelle ou concentration minimale (C<sub>min</sub>)**
- La mesure de la concentration à différents temps **permet le calcul de l'aire sous la courbe (AUC)** qui constitue un paramètre d'exposition global

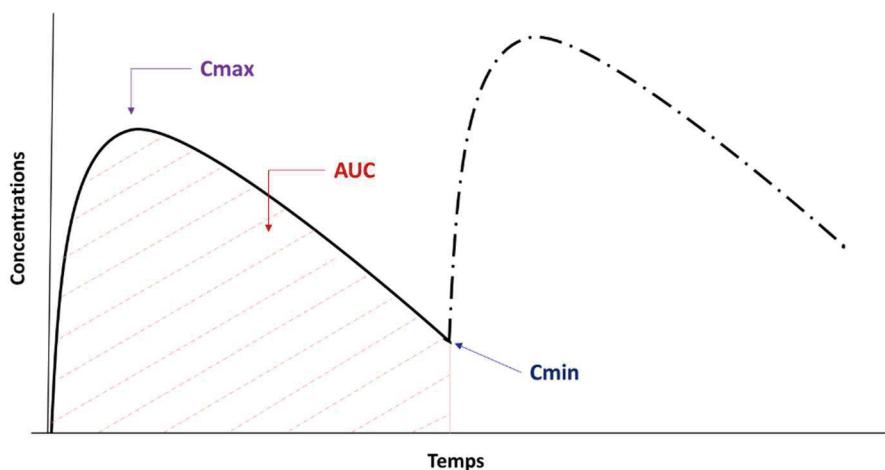


Figure 6 : Courbe représentant la concentration plasmatique d'un médicament après administration *per os* (AUC : *area under the curve*, aire sous la courbe)

## (1) Analyses non compartimentales

Les analyses de pharmacocinétique par analyses **non compartimentales (NCA)** sont réalisées individuellement pour chaque patient et nécessitent un nombre élevé de prélèvements qui doivent être réalisés à des temps précis suivant un protocole strict afin de réduire la variabilité au maximum. Puis, l'estimation des paramètres PK dits « modèles indépendants » est faite graphiquement à partir du calcul de **l'aire sous la courbe (AUC)** par la méthode des trapèzes (Figure 7). Si la concentration au dernier temps de prélèvement ( $C_t$ ) n'est pas nulle, il est nécessaire d'extrapoler la surface entre le temps «  $t$  » et l'infini ( $S_\infty$ ) comme suit :

$$\text{Équation 3 : } S_\infty = \frac{C_t}{k_e}$$

Avec :

- $C_t$ , la concentration du médicament dans le dernier prélèvement
- $k_e$ , la pente de la phase terminale de décroissance des concentrations log-transformées

Néanmoins, dans le cadre du STP, le calcul de l'AUC entre deux prises ou bien sur 24h constituent les paramètres les plus usuels pour définir l'exposition au principe actif.

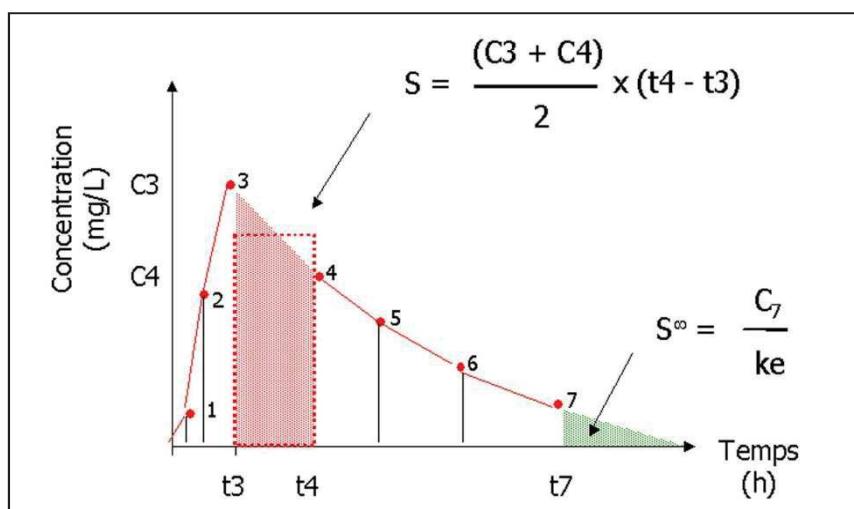


Figure 7 : Analyse non compartimentale : méthode des trapèzes pour déterminer l'AUC

Le calcul manuel de l'AUC permet de déterminer la **clairance totale du médicament (CL)** comme suit :

Équation 4 : 
$$CL = \frac{F \times Dose}{AUC}$$

Lors d'une administration par perfusion continue, **l'état d'équilibre** ou *steady-state*, est par définition la phase durant laquelle le débit de la dose (R) et la vitesse d'élimination sont à l'équilibre :

Équation 5 : 
$$R = CL \times Css$$

Avec :

- R, le débit d'administration du médicament
- Css, la concentration moyenne à l'équilibre du médicament

Lors d'administrations répétées, on parle **d'état de pseudo-équilibre** et la **concentration moyenne à l'équilibre (Css)**, se détermine par rapport au calcul de l'aire sous la courbe (AUC) au cours de l'intervalle entre deux administrations du médicament :

Équation 6 : 
$$C_{ss} = \frac{AUC_{0-\tau}}{\tau} = \frac{F \times Dose}{CL \times \tau}$$

Avec  $\tau$ , l'intervalle entre deux administrations de médicament

La **pente de la phase terminale** de décroissance permet également de déterminer la **demi-vie d'élimination** comme suit :

Équation 7 : 
$$t_{1/2} = \frac{0,693}{k_e}$$

Pour rappel, le **volume de distribution** se définit comme le facteur de proportionnalité entre la quantité de médicament présent dans l'organisme au temps « t » et la concentration au même moment (Équation

1). Sa détermination est toutefois plus délicate puisqu'il existe en réalité plusieurs types de volumes de distribution en fonction du moment où les prélèvements sont réalisés (Figure 8) (14) :

- **Vc** : correspond au **volume de distribution initial**. Il se calcule en fonction de la dose et de la concentration au temps « 0 » après administration de la molécule par bolus intra-veineux :

Équation 8 :

$$V_c = \frac{\text{Dose}}{C_0}$$

- **Varea** : correspond au volume de distribution au cours de la phase de pseudo-équilibre. Au cours d'une analyse non compartimentale, il peut être déterminé à partir de la valeur de la pente terminale ainsi que de la valeur de la clairance totale :

Équation 9 :

$$V_{\text{area}} = \frac{CL}{ke}$$

- **Vss** : correspond au volume de distribution à l'équilibre

Équation 10 :

$$V_{\text{ss}} = \frac{A_{\text{ss}}}{C_{\text{ss}}}$$

Avec :

- Ass, la quantité de médicament présent dans l'organisme à l'état d'équilibre
- Css, la concentration de ce médicament à l'état d'équilibre

Ainsi, au cours de la phase de distribution, le volume de distribution ne doit pas être considéré comme un paramètre mais comme une variable.

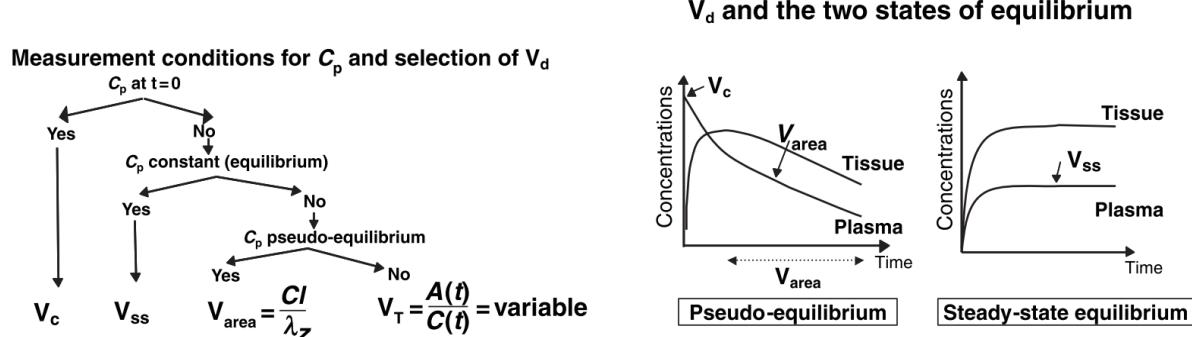


Figure 8 : Les différents volumes de distribution ( $V_d$ ), avec  $\lambda_z = ke$ , la valeur de la pente d'élimination (d'après Toutain et al., 2004 (14))

## (2) Analyses compartimentales par modélisation individuelle

La **méthode compartimentale** permet d'estimer les paramètres à partir de la détermination des concentrations plasmatiques des médicaments et d'un modèle mathématique simple. La **décroissance des concentrations plasmatiques au cours du temps** reflète les étapes de **distribution** et **d'élimination** du médicament et est le plus souvent de **nature exponentielle** : on parle alors de **cinétique linéaire**.

Comme pour les analyses non compartimentales citées précédemment, cette approche nécessite des **prélèvements répétés** sur un **nombre généralement réduit de patients**.

L'organisme est considéré comme un ou plusieurs compartiments virtuels dans lesquels le médicament se répartit. La représentation de différents modèles compartimentaux classiques est illustrée par la Figure 9. Dans le cas où la phase de distribution est très rapide et où seule la phase d'élimination peut être distinguée, l'évolution des concentrations (C) en fonction du temps (t) suit une équation mono-exponentielle de type :

Équation 11 : 
$$C_t = C_0 \times e^{-ke \cdot t}$$

Avec :

- $C_0$ , la concentration extrapolée au temps « 0 »
- $ke$ , la constante d'élimination

Dans le cas d'une décroissance biexponentielle des concentrations au cours du temps, la phase de décroissance rapide est appelée phase de distribution (phase  $\alpha$ ) et la phase de décroissance plus lente, la phase d'élimination (phase  $\beta$ ) (Figure 9). L'équation de la courbe est alors de type bi-exponentiel de type :

Équation 12 :  $C_t = A \cdot e^{-\alpha \cdot t} + B \cdot e^{-\beta \cdot t}$

Avec  $\alpha$  et  $\beta$ , les pentes respectives des phases de distribution et d'élimination.

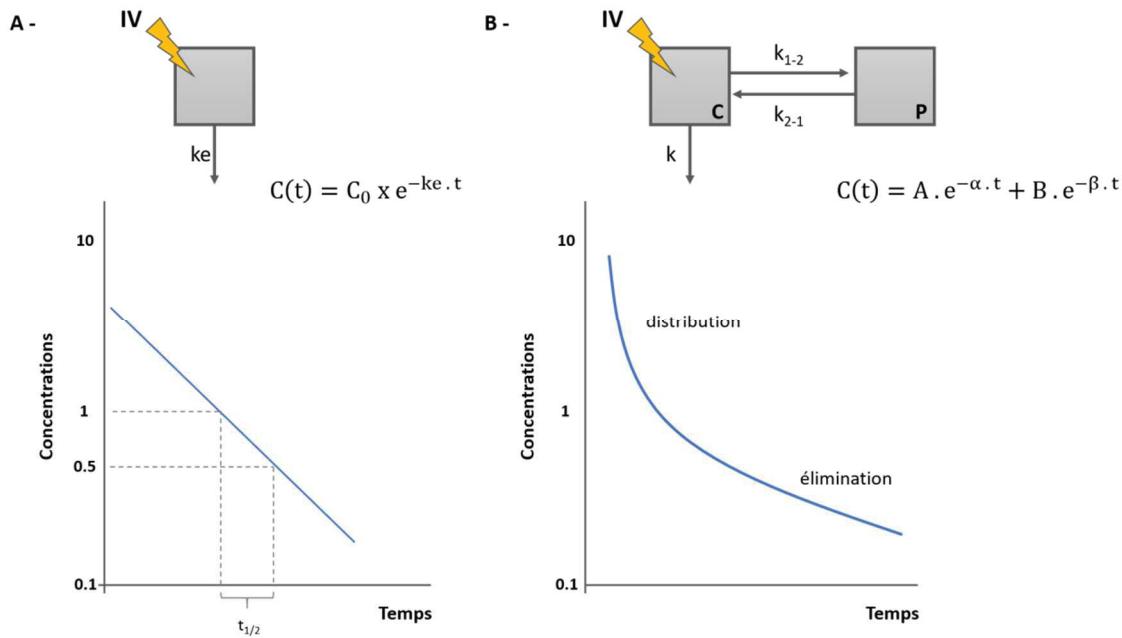


Figure 9 : Notion de compartiments : A: Modèle monocompartimental, B : Modèle bicompartimental  $k_e$  : constante d'élimination  $k_{12}$ ,  $k_{21}$  : constantes intercompartimentales. C correspond au compartiment central et P au compartiment périphérique

### (3) Analyse pharmacocinétique par approche de population

La pharmacocinétique de population (popPK) est à l'heure actuelle la méthode de choix pour la modélisation PK. L'approche non-linéaire à effets mixtes (*Non-linear mixed-effects approach*, ou *NLME*), introduite par Sheiner et Beal en 1972, est l'approche la plus utilisée (15). Elle est basée sur **l'analyse simultanée d'un faible nombre de concentrations provenant d'un grand nombre de patients** (16).

Le modèle statistique créé permet l'estimation simultanée des paramètres moyens (effets fixes) et leur variabilité (effets aléatoires). Cette approche permet une meilleure estimation de la distribution des paramètres par rapport à la méthode compartimentale classique (17).

Cette méthode permet en outre **d'identifier des covariables** pouvant être à l'origine de la variabilité inter- et intra-individuelle des paramètres PK. Pour information, une covariable désigne une caractéristique individuelle qui influence la disposition du médicament dans la population étudiée : âge, poids, sexe, fonction rénale, facteurs cliniques, etc. La dénomination « **effets mixtes** » est utilisée car la variable observée dépend de deux types d'effets :

- Des **effets fixes**, qui décrivent la prédiction du modèle pour un individu typique. Ce sont des variables indépendantes comme le temps, la dose ainsi que les paramètres PK moyens de la population.
- Des **effets aléatoires** prenant en compte la variabilité des paramètres PK chez les différents individus (**iiv**, pour *inter-individual variability*) ou chez un même individu au cours du temps (**iov**, pour *inter-occasion variability*) ainsi que la **variabilité résiduelle**. Cette dernière correspond à la variabilité restante, non expliquée par le modèle, et quantifie l'écart entre la valeur observée et la valeur prédictive.

De plus, le modèle à effets mixtes est dit « **non-linéaire** » car les observations dépendent non-linéairement des effets fixes et des effets aléatoires.

Le modèle non-linéaire à effets mixtes peut être formalisé de la manière suivante :

$$\text{Équation 13 : } Y_{i,j} = f(X_{i,j}, \theta_i) + \varepsilon_{i,j}$$

$$\text{Équation 14 : } \theta_i = g(\theta_{pop}, \eta_i)$$

$$\text{Équation 15 : } \eta_i \sim N(0, \omega^2)$$

$$\text{Équation 16 : } \varepsilon_{i,j} \sim N(0, \sigma^2)$$

Avec :

- $Y_{i,j}$  : variable dépendante : observation mesurée chez le  $i^{\text{ème}}$  individu au  $j^{\text{ème}}$  temps.
- $f()$  : fonction non linéaire correspondant au modèle structurel qui décrit l'évolution d'une observation au cours du temps chez un individu
- $X_{i,j}$  : variables indépendantes : vecteur des variables descriptives du processus pour le sujet  $i$  (temps, doses)
- $\theta_i$  : paramètre PK pour l'individu  $i$
- $\theta_{pop}$  : paramètre PK typique dans la population
- $\eta_i$  : variabilité inter-individuelle associée au paramètre de population  $\theta_{pop}$ .  $\eta_i$  est supposé être distribué selon une loi normale de variance  $\omega^2$
- $\varepsilon_{i,j}$  : erreur résiduelle, paramètre d'effets aléatoires.  $\varepsilon_{i,j}$  est supposé indépendant et identiquement distribué selon une loi normale de variance  $\sigma^2$

La Figure 10 reprend la formalisation des différentes variabilités.

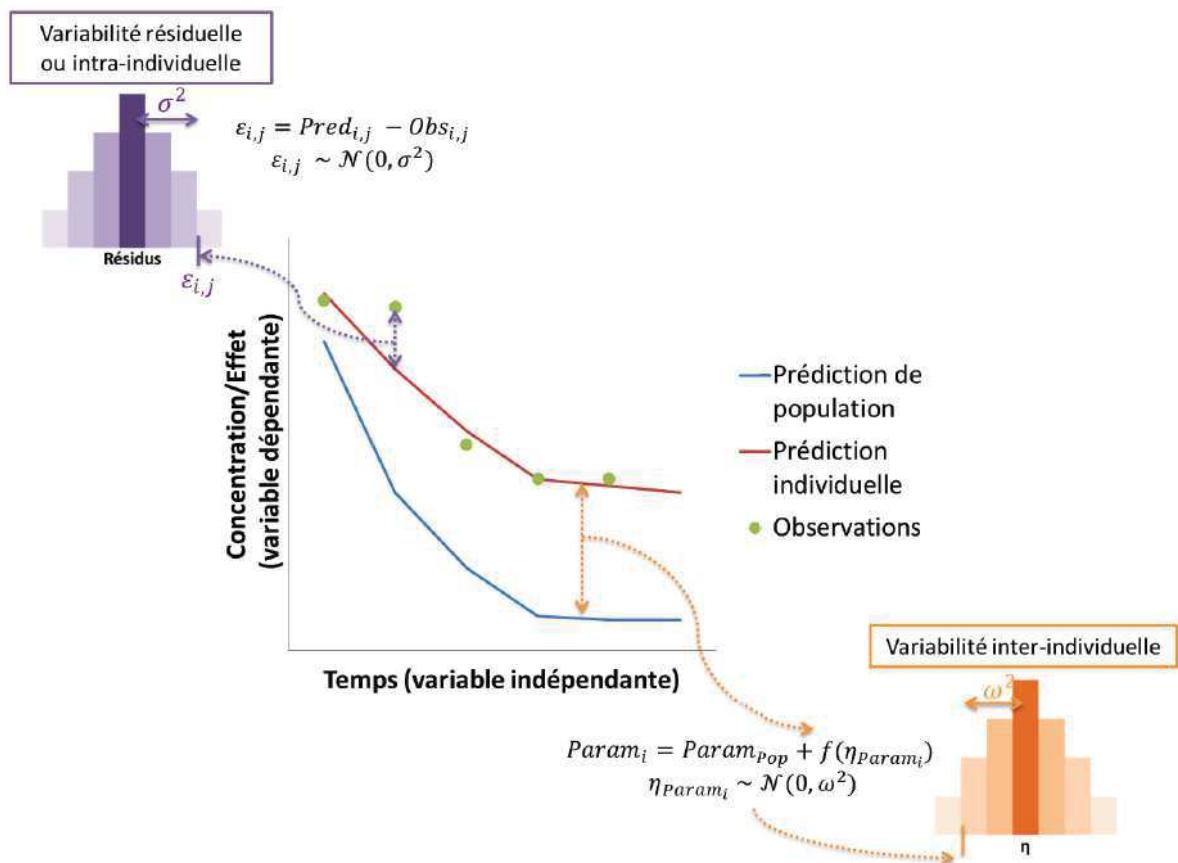


Figure 10 : Formalisation graphique des différentes variabilités

La création d'un modèle de pharmacocinétique de population permet d'estimer les paramètres PK propres à chaque individu et reconstituer ainsi leur profil PK individuel. Ceci est possible grâce aux analyses bayésiennes qui seront abordées dans le chapitre suivant.

### **Implications des paramètres PK usuels dans le Suivi Thérapeutique Pharmacologique :**

- En raison de son implication dans l'état d'équilibre et de pseudo-équilibre, **la valeur de la clairance totale (CL) détermine le choix de la dose d'entretien.**
- L'importance clinique du **volume de distribution (Vss)** est son influence importante sur la Cmax après la première dose **conditionne l'utilisation ou non d'une dose de charge en début de traitement** : plus grand est le Vss, plus faible sera la première Cmax.
- Le **temps de demi-vie ( $t_{1/2}$ )** est un paramètre secondaire qui dépend du volume de distribution (**Varea**) et de la clairance totale (**CL**). Il indique le temps nécessaire pour que la concentration plasmatique du médicament diminue de moitié. Le temps nécessaire pour éliminer une molécule de l'organisme est considéré comme étant égal à 4 à 5 fois le  $t_{1/2}$ . Il s'agit également du temps nécessaire pour atteindre l'état d'équilibre. La valeur du  **$t_{1/2}$  conditionne ainsi le choix de l'intervalle fixé entre deux prises du médicament.**

## 2. Méthodologie de l'ajustement posologique

### a) Méthodes *a priori*

Les méthodes dites *a priori* n'utilisent pas les concentrations plasmatiques mais seulement les facteurs individuels connus pour influencer ces concentrations : données morphologiques, physiologiques et/ou biologiques du patient. A titre d'exemple, l'Équation 17 permet d'estimer la clairance d'un anticancéreux, le carboplatine, (en mL/min), en fonction du sexe (sex), de l'âge (age, en années), du poids (WT, en kg), de la concentration en créatinine (Scr, en  $\mu\text{mol}/\text{L}$ ) et de la concentration en cystatine C (cysC, en mg/L) (18).

Équation 17 :

$$\text{clairance du carboplatine} = 117,8 \times \left(\frac{\text{Scr}}{75}\right)^{-0,450} \times \left(\frac{\text{cysC}}{1,00}\right)^{-0,385} \times \left(\frac{\text{WT}}{65}\right)^{+0,504} \times \frac{\text{age}}{56}^{-0,366} \times 0,847 \times \text{sex}$$

Ainsi pour une AUC cible égale à  $5 \text{ mg}/\text{L.h}^{-1}$ , il est possible de calculer la dose à administrer en fonction des caractéristiques du patient (confère Équation 4 :  $\text{CL} = \frac{F \times \text{Dose}}{\text{AUC}}$ ).

L'utilisation des algorithmes *a priori* nécessite une relation étroite entre le paramètre estimé et le facteur individuel comme cela est le cas entre le carboplatine et la fonction rénale (18). Ce type de méthodologie ne peut s'appliquer que si la pharmacocinétique du principe actif concernée est linéaire et si l'état physiologique du patient n'évolue pas rapidement (3).

### b) Méthodes *a posteriori*

#### (1) Nomogrammes

Des nomogrammes ont été développés pour différents médicaments. Ils permettent une adaptation posologique simple et ne nécessitent généralement qu'un seul dosage. Par exemple, la Figure 11

représente un nomogramme utilisé à l'Hôpital d'Hartford aux USA (19). La concentration sérique en aminosides est mesurée 6 à 14 h après l'administration. Si l'intersection heure – concentration se situe dans l'aire *q24h*, l'antibiotique est à administrer toutes les 24 h, etc.

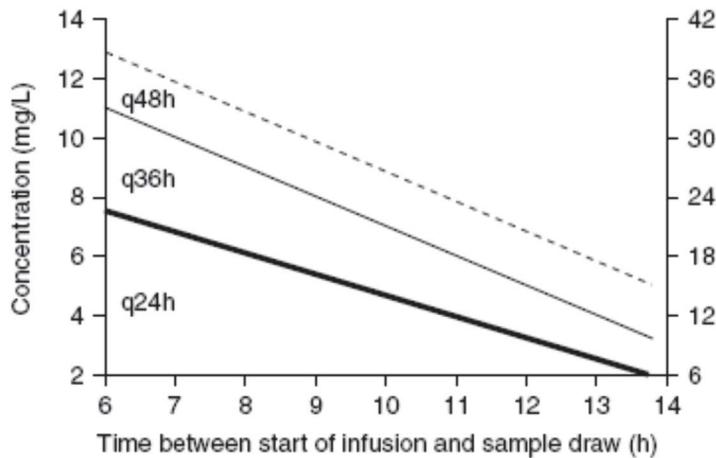


Figure 11 : Nomogramme utilisé pour définir l'intervalle de temps entre deux administrations de gentamycine ou de tobramycine à la dose de 7 mg/kg (axe de gauche) ou d'amikacine à la dose de 21 mg/kg (axe de droite) (d'après Nicolau et al., AAC, 1995 (19))

De même que pour les algorithmes, les nomogrammes ont l'avantage d'être très simples à utiliser et ne nécessitent pas de calculer les paramètres pharmacocinétiques.

## (2) Approches mathématiques

### (a) Ajustement linéaire

Parmi les approches mathématiques, la plus simple est l'ajustement linéaire ou « règle de trois » (Équation 18).

Équation 18 :

$$Dose_{suivante} = \frac{Dose_{précédente} \times Concentration_{ciblée}}{Concentration_{mesurée}}$$

Cette méthode peut théoriquement s'appliquer à tous les médicaments ayant une pharmacocinétique linéaire à condition que :

- La dose et l'intervalle soient constants
- L'état d'équilibre soit atteint
- La concentration cible est corrélé à l'efficacité et/ou la toxicité du traitement

Si ces conditions sont réunies, l'ajustement linéaire peut être réalisé sur la base d'un seul dosage.

Toutefois, seule la dose pourra être adaptée et non l'intervalle de prise.

### (b) Régression multilinéaire

Cette méthode mathématique permet d'évaluer une variable d'exposition (en général, l'AUC) en utilisant très peu d'échantillons sanguins collectés à des temps particuliers. L'exposition est souvent décrite comme une fonction linéaire des concentrations mesurées à des temps particuliers sous la forme de l'Équation 19 avec  $A_0, A_1, A_2, \text{etc.}$  des valeurs constantes et  $C_{t1}, C_{t2}, \text{etc.}$  les concentrations obtenues aux temps  $t1, t2, \text{etc.}$  (3).

Équation 19 : 
$$\text{AUC} = A_0 + A_1 \times C_{t1} + A_2 \times C_{t2} + \text{etc.}$$

Son application en routine est toutefois difficile car elle nécessite des **temps stricts de prélèvements**.

### (3) Approches bayésiennes

Les approches bayésiennes nécessitent d'avoir à disposition, pour la population concernée :

- Un modèle de pharmacocinétique de population validé pour la population concernée
- Quelques concentrations plasmatiques chez le patient
- Parfois, certains paramètres individuels (covariables)

Ces différents éléments vont permettre au pharmacologue de **reconstruire le profil individuel** du patient en se basant sur **l'estimation d'une combinaison de paramètres pharmacocinétiques les plus probables**.

Le théorème de Bayes appliqué à la pharmacocinétique est décrit par l'Équation 20. Pour chaque paramètre (Vd, CL, etc.) le maximum de vraisemblance du paramètre individuel va être calculé.

$$\text{Équation 20 : } P(\theta/\text{concentration}) = \frac{P(\theta) \times P(\text{concentration}/\theta)}{P(\text{concentration})}$$

Avec :

- $\theta$  : vecteur de paramètres d'effet fixe
- $P(\theta / \text{concentration})$  : la probabilité conditionnelle d'obtenir  $\theta$  sachant la concentration mesurée
- $P(\theta)$  : la probabilité d'obtenir ce paramètre PK (nécessite de connaître la distribution des paramètres dans la population dont est issu le patient)
- $P(\text{concentration} / \theta)$  : la probabilité de mesurer cette concentration sachant que la distribution du paramètre dans la population est connue
- $P(\text{concentration})$  : la probabilité d'obtenir cette concentration

La Figure 12 illustre par un exemple la détermination de l'estimation bayésienne des paramètres PK d'un patient dans le cas d'un modèle à trois paramètres incluant une constante d'absorption ( $ka$ ,  $Vd$  et  $CL$ ). Un prélèvement est réalisé à  $t = 5h$ . Une infinité de courbes, correspondant à une infinité de combinaisons de paramètres PK possibles passent par ce point. Dans la Figure 12 trois exemples de jeux de paramètres ( $ka$ ,  $CL$ ,  $Vd$ ) pour lesquels le profil PK passe par la concentration mesurée sont représentés par trois couleurs : le bleu (cas n°1), le rouge (cas n°2) et le vert (cas n°3).

Toutes les combinaisons de paramètres ne sont pas équiprobales. Lors de l'analyse bayésienne, le logiciel de modélisation utilisé ne retient que la combinaison pour laquelle la vraisemblance est la plus élevée. Dans le cas de cet exemple, il s'agit du cas n°2.

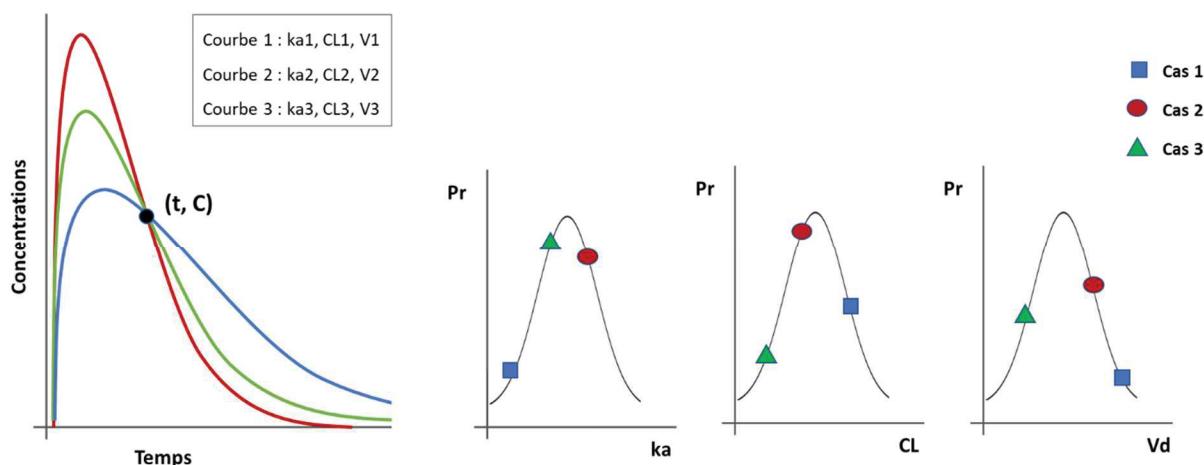


Figure 12 : Illustration de la détermination de l'estimation bayésienne des paramètres PK d'un patient donné en fonction de la valeur de la mesure d'une concentration. Les courbes situées sur la droite correspondent à des fonctions de densités de probabilité pour chacun des paramètres PK

L'avantage de l'analyse bayésienne, en comparaison avec les autres méthodes citées précédemment, est la **flexibilité dans les temps de prélèvements** que cette méthode apporte, en adéquation avec le quotidien des services cliniques.

Cette méthode possède toutefois certaines limites :

- Les indices d'exposition classique ( $C_{max}$  ou  $C_{min}$ ) ne sont pas toujours les valeurs les plus appropriées pour la détermination des paramètres PK (nécessité de modifier les habitudes cliniques)
- En cas de modèles PK complexes, plusieurs prélèvements seront nécessaires

# **CHAPITRE II**

-

## **LA COLISTINE**

# I. Généralités sur la colistine

---

## 1. Un « antibiotique critique »

---

**La colistine est un antibiotique** de la famille des polymyxines du groupe E **utilisé en dernier recours contre les infections à bacilles gram négatifs multirésistants** (20). L'autorisation de mise sur le marché (AMM) date de 1958 mais cette molécule a été rapidement délaissée au profit des aminoglycosides du fait de sa toxicité rénale et neurologique. La non-utilisation de la colistine en médecine humaine durant plusieurs années a protégé cet antibiotique contre l'émergence des bactéries multirésistantes. Toutefois, en contrepartie, le dossier d'AMM ne comporte que très peu d'informations sur sa pharmacocinétique face au regain d'intérêt de la molécule. En 2013, la colistine est classée comme « **antibiotique critique** » et « **de dernier recours** » vis-à-vis des bactéries à Gram négatif par l'ANSM et sa prescription a du dès lors être étroitement contrôlée (21).

La colistine est **administrée** par voie parentérale ou nébulisée **sous la forme de sa prodrogue inactive** et moins毒ique, le colistimethate sodique ou methanesulfonate de colistine (**CMS**) (22).

---

## 2. Notions d'unités

---

Lors de la première Conférence Internationale sur les Polymyxines qui a eu lieu à Prato en Italie en 2013, il a été statué que les doses de colistine devaient être exprimées en millions d'unités internationales (MUI) ou en mg de « colistin based activity » (mg CBA) afin d'éviter les erreurs médicales (23). **En Europe, les doses sont majoritairement exprimées en MUI**, tandis qu'en Amérique du Nord, en Asie du Sud-Est et en Australie, les doses sont préférentiellement exprimées en mg CBA. Pour convertir ces différentes unités, il est nécessaire de savoir qu'1 MUI correspond à environ 30 mg CBA et 80 mg de sulfate de CMS (24).

---

## 3. Structure chimique

---

La colistine est un **décapeptide amphiphile**, commercialisé sous la forme de **sulfate de colistine** (Figure 13). Il s'agit d'un **mélange complexe d'environ 30 composés** dont les principaux sont la **colistine A** (polymyxine E1) et la **colistine B** (polymyxine E2), la proportion de chacun pouvant varier en fonction des lots mis sur le marché (25). La colistine A et la colistine B sont de grosses molécules possédant un poids moléculaire respectif de 1169 g/mol et 1155 g/mol. Elles sont composées d'un cycle heptapeptidique hydrophile, d'une chaîne tripeptidique ainsi que d'une chaîne acyl hydrophobe, plus courte d'un carbone pour la colistine B par rapport à la colistine A (26). **Le CMS diffère de la colistine par la présence de groupes sulfométhyles additionnels** sur chacun des cinq résidus d'acide diaminobutyrique (*Dab*).

In vivo, le **CMS est hydrolysé** et forme un **mélange de composés intermédiaires sulfométhylés** pouvant éventuellement aboutir à la formation de colistine (27). Les poids moléculaires du CMS A et du CMS B sont supérieurs à ceux de la colistine (1635 et 1621 g/mol, respectivement) en raison de la présence des cinq groupements sulfométhylés.

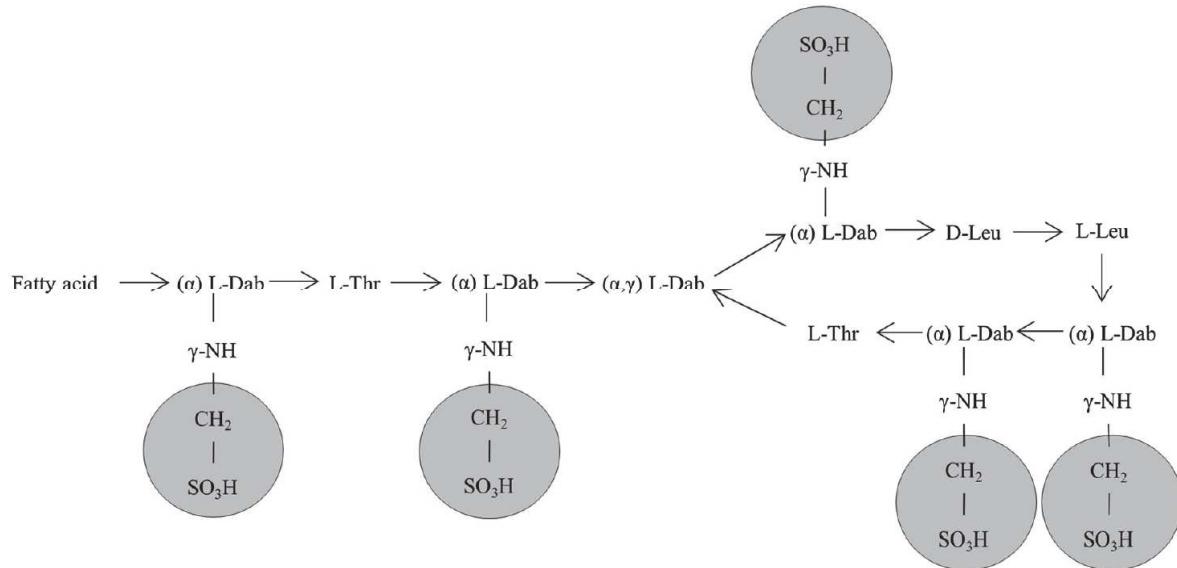


Figure 13 : Structure chimique du CMS et de la colistine. Les groupements sulfométhylés du CMS sont entourés de cercles gris. **Fatty acyl** : 6-methyloctanyl pour la colistine A et 6 méthylheptanyl pour la colistine B ; **Dab**, acide diaminobutyrique ; **Leu**, leucine ; **Thr**, thréonine.

Il a été décrit que le **CMS et la colistine s'agrégeaient sous forme de micelles** lorsqu'ils sont à fortes concentrations dans des solutions aqueuses ; leur concentration micellaire critique (CMC) est respectivement de 3.5 mmol/L (5,7 g/L) et 1.5 mmol/L (1.8 g/L) (28). Il a également été démontré que **la transformation du CMS en colistine était beaucoup plus rapide lorsque la concentration en CMS était inférieure à la CMC** (60% en 48h) que lorsqu'elle était supérieure à cette dernière (1 % en 48h) (28). Si la conversion *in vivo* du CMS en colistine est essentielle pour assurer une activité antibactérienne, la question de la stabilité du CMS à faibles concentrations dans les solutions aqueuses est particulièrement importante dans les formulations pharmaceutiques, en particulier du fait que la colistine est beaucoup plus toxique que le CMS (29).

---

## 4. Bioanalyse

---

### a) Les dosages microbiologiques sont à proscrire

Il est essentiel que la méthode de dosage utilisée soit capable de différencier le CMS et la colistine. Les études de pharmacocinétiques publiées il y a plusieurs décennies (avant le début des années 2000) se sont révélées inexploitables car la méthode de dosage utilisée, par microbiologie, ne permettait pas de faire la distinction entre les différents composants des polymyxines, mais également entre les différentes formes (CMS et colistine), la prodrogue se transformant *in vitro* en métabolite actif (20). Dorénavant, les méthodes de dosage sont basées sur une **technique séparative**, de type chromatographie liquide, **couplée à un détecteur** de type fluorimètre ou masse (30-33).

### b) Les difficultés analytiques rencontrées

L'une des principales difficultés analytiques repose sur le **contrôle de la conversion *in vitro* du CMS en colistine**. En effet, des études de stabilité réalisées sur du **plasma humain témoin surchargé en CMS et conservé à température ambiante** montre une **dégradation de 2 à 3 % de la molécule après 1 h et de 14 % après 4 h** (30). Ce pourcentage monte à 80 % lorsque le plasma surchargé est laissé 24 h à 37 °C (34) (Figure 14). Par ailleurs, aucune dégradation du CMS n'a été constatée sur les plasmas extraits (30).

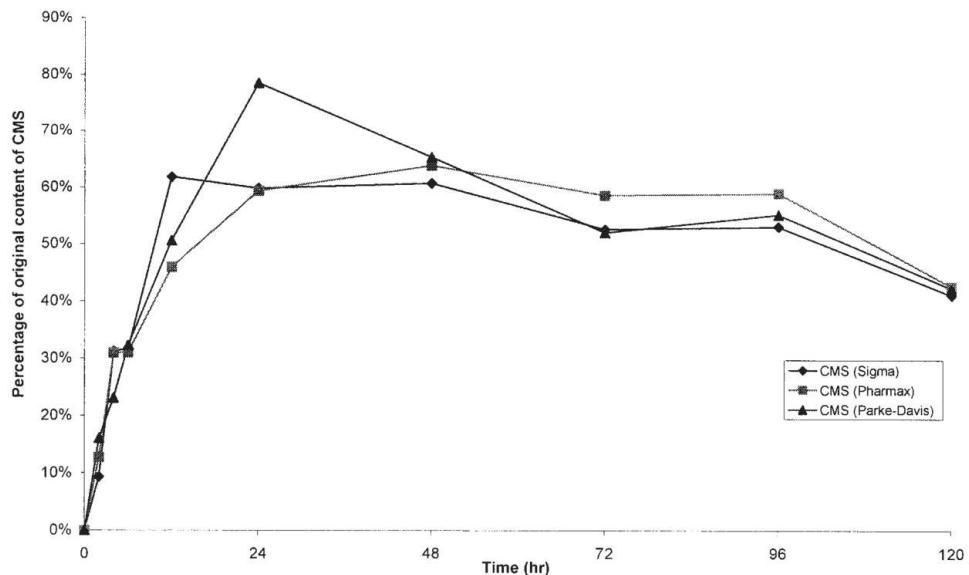


Figure 14 : Niveaux de colistine mesurés en fonction du temps dans du plasma surchargé en CMS et conservé à 37°C, exprimé en % de CMS sur une base molaire (d'après Li et al, 2003, AAC (34))

Analytiquement, la conséquence de cette dégradation conduit à une **surestimation des concentrations de colistine** et une **sous-estimation des concentrations de CMS**. Les conséquences sont particulièrement visibles sur les points précoce après l'administration du CMS, la demi-vie de la prodrogue étant plus courte que celle de la molécule active (35).

La Figure 15 illustre par un exemple ce phénomène. Les concentrations en CMS et colistine après administration de 3 MUI de CMS trois fois par jour sont représentées. Au temps  $t = 1$  h, la concentration de CMS est de 16 µg/mL et la concentration de colistine de 1.5 µg/mL. Une dégradation de 10% du CMS revient donc à estimer la concentration de CMS à 14.4 µg/mL et celle de colistine à 2.6 µg/mL (soit une surestimation de près de 80 %), en prenant en compte les poids moléculaires du CMS et de la colistine et en considérant une préparation contenant 50 % de CMS A et 50 % de CMS B. La même dégradation réalisée sur le prélèvement du temps  $t = 6$  h, conduirait quant à elle à une surestimation de seulement 3 % de la concentration en colistine.

Afin de maîtriser ce phénomène, il est essentiel que la phase de pré-traitement des échantillons soit la plus courte possible.

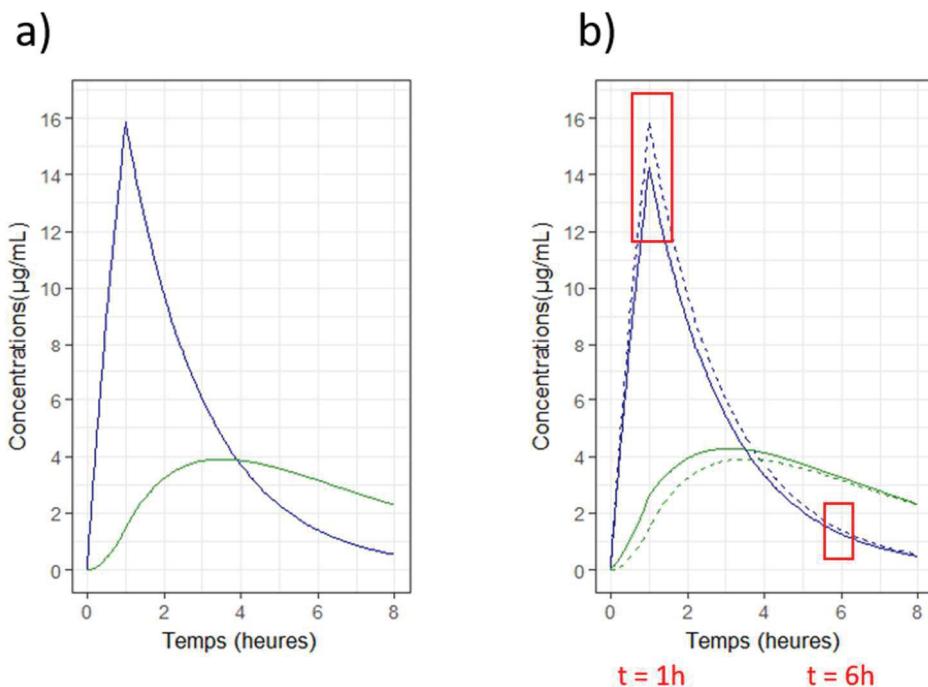


Figure 15 : a) Concentrations en CMS (courbe bleue) et colistine (courbe verte) après administration de 3 MUI x 3 / jour chez un patient de réanimation de 70 kg avec une CLcreat = 120 mL/min. b) Conséquences d'une dégradation du CMS de 10% sur les concentrations en colistine selon l'heure du prélèvement après l'injection (la courbe initiale est représentée en pointillée et la courbe erronée en trait plein).

Une autre difficulté analytique réside dans la **capacité de la colistine à se fixer aux parois des tubes** de laboratoires utilisés pour le pré-traitement des échantillons (30, 31, 36). Ce phénomène est lié à la nature amphiphile de la colistine, qui contient à la fois des composés polycationiques hydrophiles et hydrophobes (37, 38). Karvanen et al. (36) ont évalué l'adsorption de la colistine aux parois sur différents types de tubes (polypropylène, polystyrène et verre) et à diverses concentrations à partir d'échantillons préparés dans de l'eau stérile. Les résultats, présentés dans la Figure 16, suggèrent l'utilisation de tubes en polypropylène « low-binding protein » lors des expérimentations. Il a toutefois été démontré que la colistine se fixait préférentiellement aux protéines plasmatiques plutôt qu'aux parois des tubes (31). Ainsi, pour s'affranchir de ce phénomène d'adsorption lors du dosage de la colistine dans des matrices

biologiques diverses (comme l'urine ou le liquide céphalo-rachidien (LCR)), il est possible d'ajouter au préalable du plasma dans les échantillons, avant de démarrer la phase de pré-traitement (30, 31, 39).

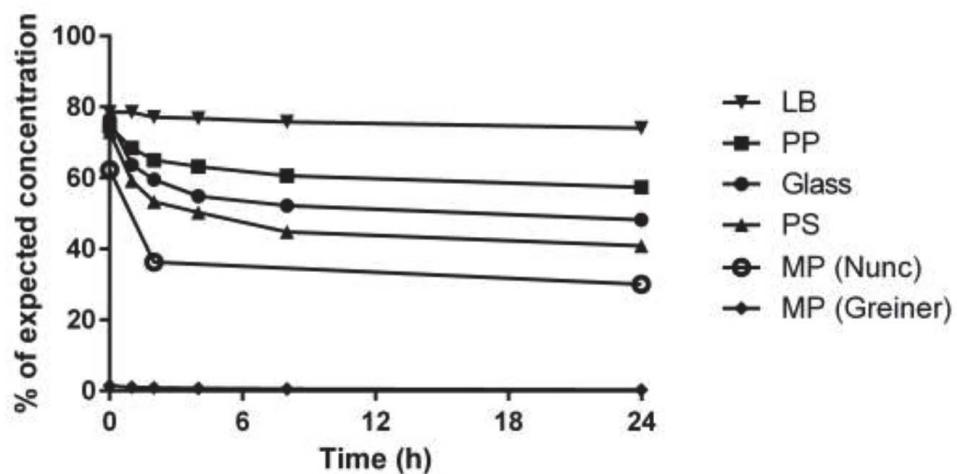


Figure 16 : Evaluation de la perte de colistine dans différents types de tubes en fonction du temps. LB low protein binding polypropylene ; PP polypropylene ; PS polystyrène ; MP micro-puits en polystyrene (d'après Karvanen et al., AAC, 2017 (36))

### c) Principe du dosage

Dans la plupart des méthodes publiées, l'**étalon interne utilisé est la polymyxine B**, dont la structure chimique est très proche de celle de la colistine (polymyxine E) (30-33).

La préparation des échantillons peut reposer sur une simple précipitation des protéines en utilisant un solvant contenant de l'acide trichloracétique ou trifluoroacétique (31), pouvant être suivie d'une étape de concentration des échantillons (40). Une extraction de la colistine sur phase solide (SPE) suivie ou non d'une étape de concentration des échantillons est également décrite (30, 32, 33). Après séparation des composés par chromatographie liquide, la détection est réalisée par un détecteur de type masse (30-32, 40) ou par fluorescence (33). Les limites de quantifications rapportées dans le plasma sont dix fois inférieures avec un détecteur de type masse (0.03-0.04 mg/L) (30, 31) que lors de l'utilisation de la fluorescence (0.1-0.3 mg/L) (33).

Les concentrations en colistine sont généralement estimées en additionnant les aires des pics de colistine A et de colistine B (Figure 17).

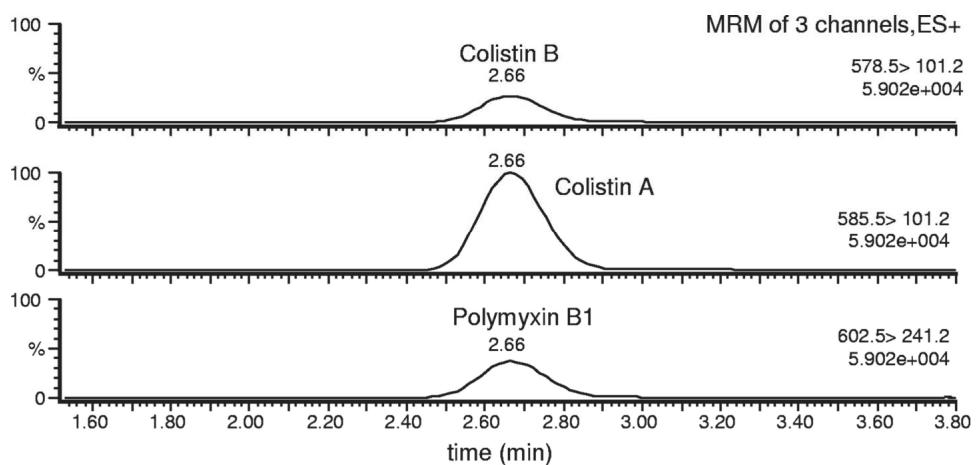


Figure 17 : Exemple de chromatogramme obtenu lors du dosage de la colistine par chromatographie liquide couplée par un spectromètre de masse en tandem (LC-MS/MS) (d'après Gobin et al., AAC, 2010 (30))

#### d) Cas particulier du CMS

La **quantification du CMS** requière un traitement d'échantillon particulier et repose sur un **dosage par soustraction** (30). Dans une première étape, la colistine est estimée dans l'échantillon à doser. Ensuite, la capacité du CMS à s'hydrolyser en colistine *in vitro* est utilisée et renforcée par l'ajout d'acide sulfurique. Cet échantillon ne contenant que de la colistine est ensuite dosé et la quantité de CMS est déterminée en soustrayant la concentration de colistine mesurée avant hydrolyse à celle mesurée après hydrolyse, en tenant compte des poids moléculaires du CMS et de la colistine.

## II. Notions de Pharmacocinétique de la colistine

---

### 1. Etudes chez le volontaire sain

---

La pharmacocinétique du CMS et de la colistine a été étudiée chez le volontaire sain après administration d'une dose unique de 1 MUI en une perfusion d'une heure (35). La concentration maximale (Cmax) en CMS mesurée à la fin de la perfusion était en moyenne de 4.8 mg/L puis la pro-drogue était éliminée très rapidement selon un modèle bi-exponentiel avec une demi-vie de distribution égale à 0.5 h et une demi-vie d'élimination égale à 2.0 h (Figure 18).

Le temps nécessaire pour atteindre la concentration maximale (Tmax) de colistine était en moyenne de 2 h après le début de la perfusion (soit 1 h après la fin de la perfusion) et la Cmax moyenne était de 0.83 mg/L. La colistine était ensuite éliminée selon un modèle mono-exponentiel avec une demi-vie d'élimination égale à 3.0 h.

Comme la demi-vie d'élimination de la colistine est plus élevée que celle du CMS, **la vitesse d'élimination du métabolite actif n'est pas conditionnée par la vitesse de sa formation.**

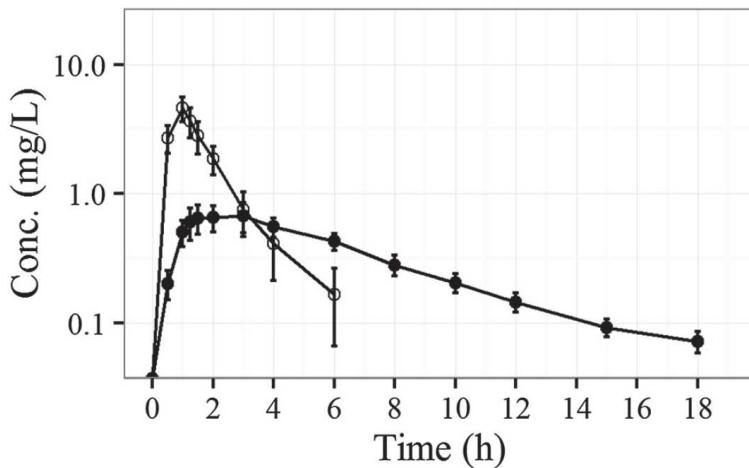


Figure 18 : Moyenne ( $\pm$  écart-type) des concentrations plasmatiques en CMS (cercles vides) et colistine (cercles pleins) chez 12 volontaires sains après administration de 1 MUI de CMS au cours d'une perfusion d'1 h. (d'après Couet et al., AAC, 2011 (35))

## 2. Clairance et métabolisme

Chez le volontaire sain, environ 2/3 de la dose de CMS administrée (fraction  $f_e$ ) est directement excrétée par voie urinaire (Figure 19) (35). La clairance rénale du CMS chez le volontaire sain est d'environ 100 mL/min, ce qui est proche du débit de filtration glomérulaire (DFG, égal à environ 120 mL/min) (35). Toutefois, comme la fraction libre ( $f_u$ ) du CMS est inconnue, la réabsorption tubulaire et la sécrétion du CMS ne peuvent pas être déterminées.

La clairance non-rénale de CMS est quant à elle égale à environ 50 mL/min chez le volontaire sain (35). L'une des voies d'élimination du CMS consiste en la formation de colistine, par hydrolyse de ses cinq groupements sulfométhylés fixés sur les résidus *Dab* (Figure 13). Cette hydrolyse conduit à la formation d'une série de différents dérivés sulfométhylés ( $2^5 = 32$  dérivés différents possibles) et, au final, à la colistine (Figure 19). D'autres voies d'élimination, impliquant notamment l'hydrolyse des liaisons peptidiques du CMS sont possibles mais n'ont pas encore été évaluées.

La fraction  $f_m$  représente la **fraction de la dose de CMS non excrétée directement par voie urinaire et se transformant en colistine** (Figure 19). Ainsi, il est possible d'introduire la fraction  $f_{m,col}$  correspondant à la fraction de la dose de CMS se convertissant en colistine (Équation 21) (41, 42).

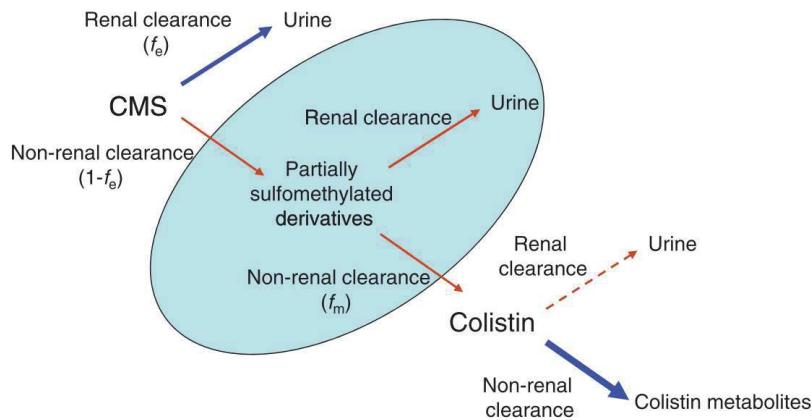
Équation 21 :

$$f_{m,col} = f_m \times (1 - f_e) = f_m \times \frac{CL_{NR,CMS}}{CL_{NR,CMS} + CL_{R,CMS}}$$

Avec :

- $f_e$  : fraction du CMS excrétée dans les urines sous forme inchangée
- $CL_{NR,CMS}$  : la clairance on rénale de CMS
- $CL_{R,CMS}$  : la clairance rénale de CMS

Bien qu'il soit fort probable que la fraction  $f_m$  comme définie ci-dessus soit  $< 1$ , certains auteurs ont fait l'hypothèse que la fraction de la dose de CMS non excrétée sous forme inchangée dans les urines ( $1-f_e$ ) se convertissait entièrement en colistine ( $f_m = 1$  et  $f_{m,col} = (1-f_e)$ ) (20, 35, 43) .



**Figure 19 :** Représentation schématique des voies d'élimination du CMS et de la colistine. L'épaisseur et la couleur des flèches indique l'importance relative de chaque voie d'élimination lorsque la fonction rénale est normale (d'après Couet et al, *Clin Microbiol Infect*, 2012 (44))

Par définition, à l'équilibre, la vitesse de formation de la colistine est égale à la vitesse d'élimination comme suit :

$$\text{Équation 22 : } f_{m,\text{col}} \times \frac{\text{Dose}}{\tau} = CL_{\text{COLI}} \times C_{ss,\text{avg}}$$

Avec :

- $f_{m,\text{col}}$  correspondant à la fraction de la dose de CMS convertie en colistine
- Dose /  $\tau$  à la dose d'entretien du CMS, exprimée en mg de colistine
- $\tau$ , l'intervalle entre deux injections
- $CL_{\text{COLI}}$ , la clairance de la colistine
- $C_{ss,\text{avg}}$ , la concentration moyenne en colistine à l'équilibre

L'Équation 22 peut être réorganisée afin d'obtenir l'Équation 23 qui permet de prédire la  $C_{ss,\text{avg}}$  de la colistine (44).

$$\text{Équation 23: } C_{ss,\text{avg}} = f_m \times \frac{CL_{NR,CMS}}{CL_{NR,CMS} + CL_{R,CMS}} \times \frac{\text{Dose}}{\tau \times CL_{\text{coli}}}$$

La  $C_{ss,\text{avg}}$  de la colistine est ainsi caractérisée par trois paramètres reflétant la formation (la clairance rénale de CMS,  $CL_{R,CMS}$  et la clairance non rénale de CMS,  $CL_{NR,CMS}$ ), ainsi que par un troisième paramètre caractérisant l'élimination (clairance de la colistine,  $CL_{\text{coli}}$ ). **Les volumes de distribution du CMS ( $V_{CMS}$ ) et de la colistine ( $V_{COLI}$ ) n'impactent pas la  $C_{ss,\text{avg}}$ .**

Toujours chez le volontaire sain, la **clairance rénale de la colistine décrite est très faible** (1.9 mL/min), en lien avec une **réabsorption tubulaire massive** (35). La réabsorption rénale de la colistine est sensible au pH des urines et pourrait impliquer des récepteurs cationiques (OCTN1), des transporteurs peptidiques (PEPT2) ainsi que la mégaline, qui est un récepteur de lipoprotéine à faible densité (45-47). Toutefois, même si l'excrétion rénale de la colistine est faible, de fortes concentrations de colistine peuvent être

retrouvées dans les urines après administration de CMS, à cause de l'hydrolyse post-excrétion du CMS en colistine dans le système urinaire.

**Le mécanisme d'élimination de la colistine n'est pas élucidé.** L'hypothèse la plus probable, considérant la structure peptidique de la molécule, consiste à penser que la colistine devrait être éliminée par hydrolyse, mais les enzymes impliquées ainsi que leur localisation sont toujours inconnues (48).

---

### 3. Distribution après administration systémique

---

A cause de leur poids moléculaire élevé et de leurs charges électriques (polyanioniques pour le CMS et polycationiques pour la colistine), CMS et colistine ne traversent que faiblement les membranes cellulaires au pH physiologique. Les volumes de distribution du CMS et de la colistine, respectivement égaux à 14.0 L et 12.4 L chez le volontaire sain, sont effectivement concordants avec une distribution restreinte à l'espace extra-cellulaire (35).

#### a) Fixation aux protéines plasmatiques

**La colistine se fixe préférentiellement à l' $\alpha$ 1-glycoprotéine (AGP), mais il a été démontré que son affinité pour le LPS était supérieure à celle pour l'AGP (49).** La fixation aux protéines plasmatiques peut être déterminée par ultrafiltration ou par dialyse à l'équilibre (50). Toutefois, la fixation intense et non spécifique de la colistine aux membranes des différents outils de laboratoire nécessite l'utilisation de cellules et membranes de dialyse spécifiques (36, 51).

Une **fixation aux protéines plasmatiques d'environ 59 à 74 %** a été décrite dans une étude réalisée *in vitro* à partir de plasma de volontaires sains, à 37°C, et pour un intervalle de concentration compris entre

0.01 et 15 mg/L (52). Cette étude montre que la fraction liée de colistine B est constante (57% en moyenne) tandis que la fraction liée de colistine A diminue avec la concentration en molécule (environ 84% à 0.1 mg/L et 69% à 10 mg/L). A noter que malgré les différences de fixation protéique entre colistine A et B, aucune différence d'efficacité entre ces deux composés n'a été décrite.

Les concentrations en AGP peuvent être variables, en particulier en fonction de la pathologie et du type d'infection bactérienne (53). Ainsi, la fixation protéique est probablement plus importante chez le patient de réanimation que chez le volontaire sain, même si cela n'a été décrit que sur des modèles murins (49) et qu'aucune différence majeure n'a pour l'heure été démontrée chez l'Homme (52).

## b) Distribution pulmonaire

Les concentrations en CMS et colistine mesurées dans le liquide épithélial (ELF) sont généralement déterminées à partir des concentrations mesurées dans des liquides de lavage broncho-alvéolaires (LBA) après application d'un facteur correctif. Le facteur de dilution devant être appliqué après l'injection du liquide de LBA est estimé en se basant sur l'hypothèse que les concentrations en urée sont identiques dans le plasma et dans l'ELF (39). La détermination des concentrations en colistine dans le LBA doit tenir compte du fait que la colistine peut fortement s'adsorber aux parois du matériel de prélèvement (jusqu'à 80% pour des concentrations en colistine < 1 mg/L (54)).

### (1) Après administration par voie IV

Après l'administration répétée de 2 MUI de CMS toutes les 8 h chez des patients de réanimation, Imberti et al. (55) n'ont pas pu détecter la colistine dans les prélèvements de LBA (limites de quantification = 0.1 mg/L). Toutefois, après l'administration de cette même dose chez la même population, Boisson et al. (56) ont estimé des **concentrations de colistine dans l'ELF très variables**, allant de 0.1 à 29 mg/L.

Aucun transporteur actif n'a été identifié à ce jour pour décrire le passage de la colistine à travers la barrière pulmonaire, même si OCTN1 et PEPT2, qui sont impliqués dans la réabsorption tubulaire de la colistine, sont également présents au niveau pulmonaire (57).

## (2) Après inhalation

Les **aérosols de colistine**, administrée sous forme de CMS, sont utilisés dans le **traitement des pneumonies nosocomiales à bacilles gram négatifs multi-résistants** (56, 58-62). Après administration pulmonaire de CMS, les concentrations en colistine mesurées dans le plasma peuvent résulter de l'absorption du CMS suivie d'une conversion systémique en colistine ou bien d'une conversion pré-systémique du CMS en colistine suivie de son absorption (Figure 20) (39). Toutefois, après administration de CMS par voie nébulisée chez des patients de réanimation ou des patients atteints de mucoviscidose, les concentrations plasmatiques en colistine détectées étaient inférieures à la limite de quantification (63) ou très faibles (< 0.73 mg/L) (56, 64).

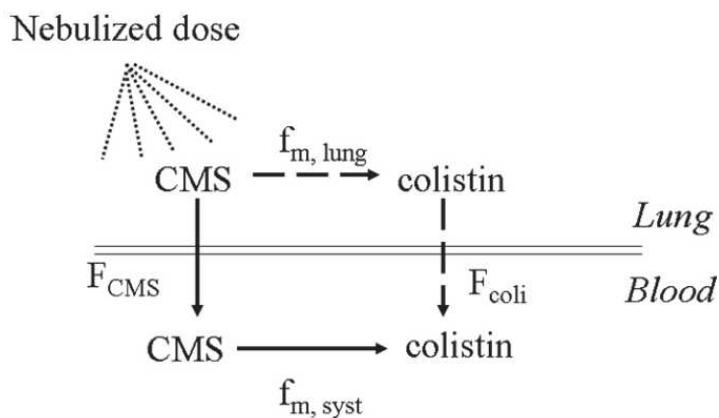


Figure 20 : Représentation schématique du devenir du CMS après nébulisation intratrachéale. Une fraction de la dose de CMS est directement absorbée ( $F_{CMS}$ ) puis partiellement convertie en colistine dans la circulation systémique ( $f_{m,syst}$ ). Une autre fraction de la dose de CMS est directement convertie en colistine dans le poumon ( $f_{m,lung}$ ) puis partiellement absorbée dans la circulation systémique ( $F_{coli}$ ) (d'après Marchand et al., AAC, 2010 (39))

Chez le patient de réanimation, **après administration de CMS par voie nébulisée, seul 9 % de la dose initiale atteint la circulation systémique** : 1.4 % sous la forme de colistine convertie en pré-systémique

( $F_{coli}$ ) et 7,6% sous la forme de CMS ( $F_{CMS}$ ) (56). De plus, les concentrations en colistine dans l'ELF sont beaucoup plus élevées que celles mesurées dans le plasma (de 5 à 1000 fois plus élevées) bien que les variations observées soient considérables (54, 56).

### c) Distribution dans le Système Nerveux Central

#### (1) *Après administration par voie IV*

Le passage du CMS et de la colistine à travers la barrière hémato-encéphalique (BHE) est limité. La pénétration de la colistine dans le liquide céphalo-rachidien (LCR) après administration de doses répétées de CMS par voie IV a été décrit comme étant très faible chez le patient de réanimation (5%) (65). Toutefois, en cas d'inflammation des méninges, la pénétration de la colistine est augmentée (11%) (66).

En pédiatrie, le ratio des concentrations en colistine dans le LCR par rapport au plasma a été décrit comme variant de 34 à 67 % dans les cas de méningite tandis qu'il était minime en l'absence d'inflammation des méninges (67). A l'heure actuelle, aucun transporteur impliqué dans le passage du CMS et de la colistine à travers la BHE n'a été identifié.

#### (2) *Après administration par voie intrathécale ou intraventriculaire*

Les concentrations en colistine dans le LCR sont nettement supérieures chez les patients ayant reçu une administration intrathécale ou intraventriculaire de CMS que chez ceux ayant reçu une administration systémique de la prodrogue. Imberti et al. (68) ont rapporté des concentrations en colistine dans le LCR supérieures à 2 mg/L après administration de CMS par voie intraventriculaire de doses supérieures à 60.000 UI toutes les 24h. Ziaka et al. (66) ont quant à eux rapporté des concentrations en colistine dans le LCR comprises entre 0,6 et 1,5 mg/L chez des patients ayant reçu une combinaison de CMS par voie IV à la dose de 3 MUI toutes les 8h en plus d'une administration intraventriculaire de CMS égale à 125.000 UI toutes les 24h.

## d) Distribution dans le liquide péritonéal

Un cas clinique rapporte des concentrations en colistine dans le péritoine chez un patient de réanimation ayant reçu des administrations intraveineuses multiples de CMS à la dose de 2 MUI toutes les 8h pour le traitement d'une péritonite sévère. Les résultats montrent que **la colistine se distribue lentement dans le liquide péritonéal avant d'atteindre des concentrations équivalentes aux concentrations plasmatiques à l'équilibre** (Figure 21) (69)

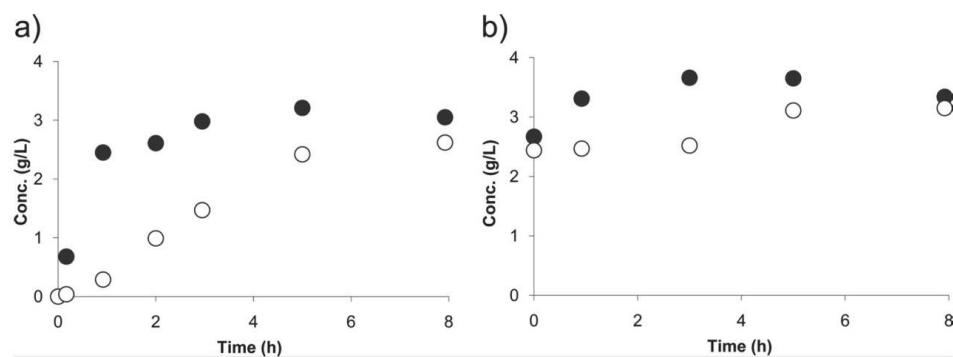


Figure 21 : Concentrations en colistine dans le plasma (cercles noirs) et le péritoine (cercles blancs) mesurées chez un patient présentant une péritonite après une dose de charge de 8 MUI de CMS (a) et à l'équilibre après administration de 2 MUI toutes les 8 h (b) (d'après Mimoz et al., AAC, 2012).

### III. Notions de pharmacodynamie de la colistine

---

#### 1. Mécanisme d'action

---

La colistine possède une activité **bactéricide sur la majorité des Bacilles Gram Négatifs** (BGN). Les peptides cationiques comme les polymyxines sont connues pour **agir sur les membranes cytoplasmiques** des bactéries. En effet, le lipopolysaccharide (LPS) présent à la surface de la membrane externe des BGN empêche la pénétration des antibiotiques hydrophobes et/ou de poids moléculaire trop élevé (70). Toutefois, grâce à leur anneau polycationique, les polymyxines interagissent avec la partie anionique des LPS, et déplacent ainsi de façon compétitive les ions  $\text{Ca}^{2+}$  et le  $\text{Mg}^{2+}$  issus des groupements phosphate des LPS (37, 71) (Figure 22). Cette interaction entraîne une augmentation de la perméabilité membranaire conduisant au relargage du contenu cellulaire et à la mort bactérienne (70, 72). Le CMS, qui diffère de la colistine par la présence de 5 groupements sulfométhylés masquant les amines responsables de la charge positive de la colistine, ne possède qu'une très faible activité antibactérienne.

Les endotoxines des BGN sont constituées d'une portion du LPS, le lipide A, qui peut être relargué par la bactérie au cours d'un traitement par anti-infectieux et qui peut être responsable d'un choc endotoxicique (73). La colistine neutraliserait également les LPS circulants au niveau plasmatique, limitant ainsi le pouvoir endotoxinique de certains BGN (73-75).

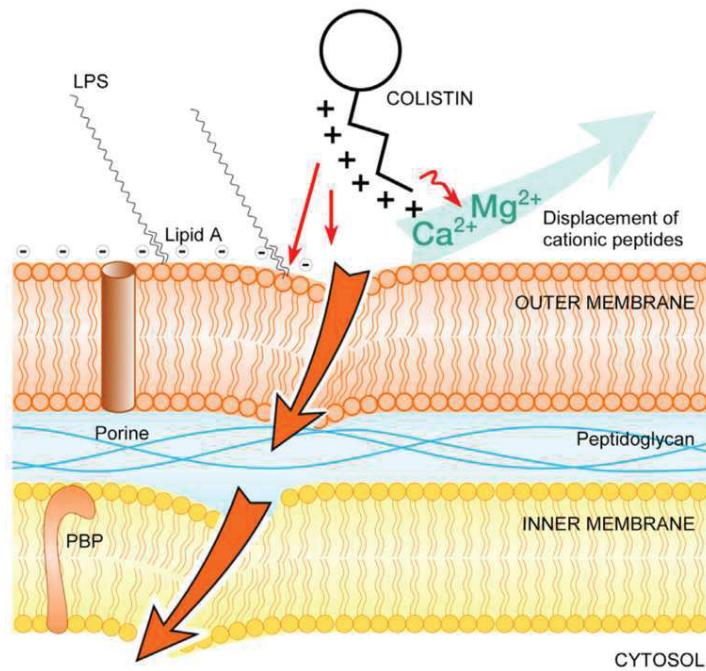


Figure 22 : Mécanisme d'action de la colistine sur la membrane bactérienne (d'après Martis et al., J infect, 2014 (75))

## 2. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice

Pour l'*European Committee on Antimicrobial Susceptibility and Resistance* (EUCAST) et le *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), la **méthode de référence pour déterminer la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)** des bactéries sensibles à la colistine est la technique de **microdilution** (76, 77). La méthode de diffusion en milieu solide doit être évitée car la colistine diffuse très mal dans l'agar (78). De plus, la méthode E-test doit être utilisée avec précaution, 50% des résultats obtenus avec cette méthode ayant été rapportés comme de faux résultats en comparaison à la méthode de référence par microdilution (79, 80).

### 3. Activité antibactérienne

La colistine possède un **spectre d'activité étroit**, limité à certains BGN (Tableau 2). Elle est principalement active sur **certaines Entérobactéries, *Acinetobacter spp.* et *Pseudomonas aeruginosa*** (81). Les bactéries à Gram positif, les cocci à Gram négatif, la majorité des bactéries anaérobies, les champignons et les parasites sont naturellement résistants à la colistine (82).

Tableau 2 : Spectre d'activité de la colistine parmi les bacilles à Gram négatif (d'après Frasca et al., Réanimation, 2008 (83))

	Entérobactéries	Pseudomonas	Autres Bacilles à Gram négatif	Anaérobies
<b>Espèces sensibles</b>	<i>E. coli</i> <i>Citrobacter</i> <i>Klebsiella</i> <i>Enterobacter</i> <i>Morganella</i> <i>Salmonella</i> <i>Shigella</i>	<i>P. aeruginosa</i> <i>P. fluorescens</i> <i>P. putida</i> <i>P. maltophilia</i>	<i>Acinetobacter</i> <i>S. maltophilia</i> <i>Moraxella</i> <i>H. influenzae</i> <i>Bordetella</i> <i>Pasteurella</i> <i>L. pneumophila</i>	<i>B. melaninoginecus</i> <i>B. oralis</i>
<b>Espèces résistantes</b>	<i>Proteus</i> <i>Providencia</i> <i>Serratia</i> <i>Brucella</i> <i>Nocardia</i> <i>Campylobacter</i>	<i>P. pseudomallei</i> <i>P. cepacia</i> <i>P. picketti</i>	<i>V. cholerae</i> <i>V. el tor</i>	<i>B. fragilis</i>

Pour l'EUCAST, la valeur seuil de sensibilité à la colistine est de 2 mg/L pour *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter spp.* et les Entérobactéries (84).

---

## 4. Résistances

---

L'utilisation croissante de la colistine depuis le début des années 2000 a conduit à l'**émergence croissante de résistances à travers le monde** (70). Ces résistances ont notamment été décrites chez des espèces d'*Acinetobacter baumanii*, *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa* (70, 85).

Les **mécanismes de résistance des BGN à la colistine les mieux décrits** sont liés à des **modifications du LPS** (70). Ainsi, la modification de la composition du lipide A par l'amino-arabose est responsable d'une perte de charges négatives, induisant une diminution de l'affinité du LPS pour les polymyxines (86). Un deuxième mécanisme concerne la réduction du nombre de LPS membranaires même si ce mécanisme est également médié par une modification de la composition du lipide A (87).

L'activation de pompes d'efflux, également décrite pour d'autres antibiotiques cationiques comme les aminosides (88) a également été identifié chez *Pseudomonas aeruginosa* pour la colistine (89).

L'**hétérorésistance** correspond à une **résistance manifestée par une sous-population de germes résistants au sein d'une population bactérienne considérée comme étant sensible** à l'antibiotique (90). Ce type de résistance a été observé à l'encontre de la colistine pour la première fois en 2006 chez *Acinetobacter baumanii* (91). Ce phénomène a ensuite été décrit pour d'autres espèces de BGN et semble fréquent parmi les souches sensibles à la colistine (92). La **présence potentielle d'une sous-population résistante** à la colistine avant tout traitement et l'**observation d'une croissance rapide de cette sous-population en monothérapie** incitent à la prudence et à l'**utilisation de la colistine en association avec un autre antibiotique**.

Récemment, il a également été mis en évidence l'**émergence d'un mécanisme de résistance à la colistine médié par un plasmide (mcr-1)** chez une souche d'*Escherichia coli* chez l'animal et chez l'humain (93).

Depuis, de nombreuses publications ont fait part de la présence de mcr-1 dans d'autres pays (94). Malgré un niveau de résistance relativement faible (CMI décrites autour de 4 à 8 mg/L), ce mécanisme de

résistance inquiète du fait de son risque de propagation aux bactéries de la flore intestinale des animaux et des humains (95).

---

## 5. Cibles Pharmacocinétique-Pharmacodynamique

---

### a) Données in-vitro

Les études de Pharmacocinétique-Pharmacodynamie (PKPD) de la colistine sont principalement réalisées *in vitro* et se focalisent sur trois germes en particulier : *P. aeruginosa*, *A. baumannii* et *K. pneumoniae*.

La détermination de l'index PKPD prédisant le mieux l'efficacité de la colistine sur *P. aeruginosa* a été réalisé en utilisant un modèle pharmacocinétique dynamique *in vitro*. Il a été démontré que le ratio *fAUC/CMI* (correspondant au ratio de l'aire sous la courbe des concentrations de la fraction non liée de la colistine sur la CMI) était le plus fortement associé à la lyse des *P. aeruginosa* avec des valeurs cibles correspondant à une diminution de  $2 \log_{10}$  de la population bactérienne en 24h entre 27,2 et 41,7 selon la référence de la souche (ATCC27853 et PAO1) (96). Lors de la réalisation de cinétiques bactériennes en présence de concentrations constantes en colistine, il a été démontré que la colistine était bactéricide sur 21 souches de *P. aeruginosa* lorsque les concentrations étaient strictement supérieures à  $0,5 \times \text{CMI}$ , avec une mort bactérienne complète 4 h après l'initiation du traitement. A des concentrations égales à  $0,5 \times \text{CMI}$ , une légère décroissance bactérienne est initialement observée, suivie d'une repousse bactérienne 24 h plus tard (Figure 23) (97).

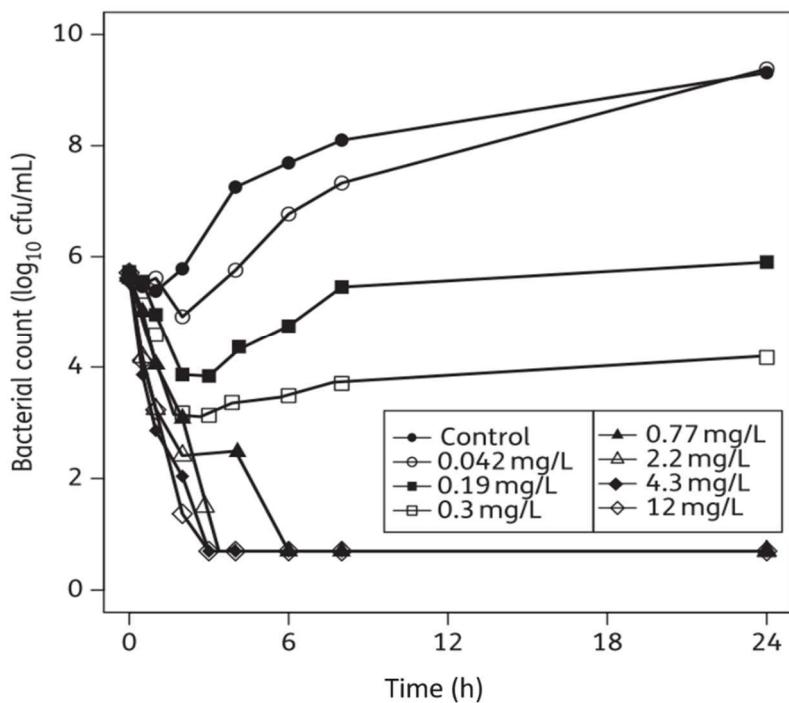


Figure 23 : Profils typiques observés lors d'une expérience de cinétique de *P. aeruginosa* sauvage (ATCC27853) en présence de différentes concentrations en colistine (CMI = 1 mg/mL) (d'après Mohamed et al., JAC, 2014 (98))

Des courbes de bactéricidie ont également été réalisées sur la souche de référence d'*Acinetobacter baumannii* ATCC 19606 et 16 autres souches isolées cliniquement. Les résultats sont similaires à ceux observés avec *P. aeruginosa*: de faibles concentrations en colistine produisent une décroissance bactérienne initiale suivie d'une repousse bactérienne dans les 24h (91). Concernant *K. pneumoniae*, les cinétiques bactériennes ont montré une repousse bactérienne après une décroissance initiale rapide des bactéries malgré l'utilisation de fortes concentrations en colistine (comme 64 x CMI) (99).

Des profils d'analyses de population (PAPs) peuvent être réalisés pour expliquer ce phénomène d'hétérorésistance, caractérisé par la présence de différentes sous-populations bactériennes présentant des sensibilités différentes à la colistine. Cette « hétérorésistance » a en particulier été observée sur des souches classées « sensibles à la colistine » en raison de la valeur de leur CMI (91).

Un modèle de pharmacocinétique dynamique *in vitro* a été réalisé pour comparer l'efficacité de différents schémas posologiques de colistine envers deux souches de *P. aeruginosa* avec des intervalles de doses de 8, 12 ou 24 h (92). Aucune différence n'a été observée quant à la mort bactérienne : cette dernière était plus importante après la première dose qu'après les suivantes, notamment pour la souche ATCC 27853 et ce, quel que soit le schéma posologique. Toutefois, les PAPs ont montré que l'administration de colistine toutes les 8 h minimisait l'émergence de résistances (92).

## b) Données *in vivo*

Seules quelques études de pharmacodynamie de la colistine ont été réalisées *in vivo*. Ces études se focalisent sur la recherche du meilleur indice PKPD et de ses valeurs cibles. Comme pour les études *in vitro*, il a été démontré que le ratio *fAUC/CMI* était le mieux corrélé à la décroissance bactérienne (50, 100, 101). Dans le modèle d'infection de la cuisse réalisé chez des souris par Cheah et al. (50), la valeur cible pour le ratio *fAUC/CMI* afin d'obtenir une décroissance bactérienne de 2 log<sub>10</sub> CFU/mL (colonies formant unité par mL) était d'environ 12 pour différentes souches de *P. aeruginosa* et *A. baumannii*. Dans le modèle d'infection pulmonaire, ce ratio était plus élevé, compris entre 36 et 105 pour une décroissance bactérienne de 2 log<sub>10</sub> CFU /mL (50). L'AUC est communément exprimée comme la concentration moyenne à l'équilibre ( $C_{ss,avg}$  = AUC divisée par 24 h). Ainsi, un ratio *fAUC/CMI* de 12 à 48 correspond à une  **$C_{ss,avg}$  totale en colistine** (si on admet une fraction libre de 50%) comprise entre 1 et 4 mg/L chez un patient infecté par un organisme avec une CMI de 1 mg/L (102).

---

## 6. Toxicité

---

Les deux principaux effets indésirables décrits avec la colistine sont la néphrotoxicité et la neurotoxicité.

### a) Néphrotoxicité

La néphrotoxicité est à l'origine du délaissement de la colistine peu après sa mise sur le marché. Toutefois, une revue de la littérature a récemment mis en évidence que la toxicité rénale de la colistine était moins fréquente et moins sévère que ce qui avait été décrit dans plusieurs cas cliniques publiés avant 1983 (103). Les anciennes études décrivent une incidence de la toxicité rénale proche de 50 % tandis que les études plus récentes estiment cette incidence entre 15 et 25 % des patients traités (103). La définition de la néphrotoxicité n'étant pas standardisée entre les études précédemment citées, les chiffres énoncés sont à analyser avec précaution. Toutefois, une récente étude menée chez 70 patients souffrant d'un sepsis sévère ou d'un choc septique a montré une incidence d'Insuffisance Rénale Aiguë (IRA) de 44 % suite à l'administration de colistine (104).

Les facteurs de risques de toxicité rénale consécutifs à l'utilisation de la colistine sont (104, 105):

- Une insuffisance rénale présente avant le début du traitement
- L'âge du patient
- La sévérité de l'infection
- L'administration concomitante d'agents néphrotoxiques
- La durée du traitement

Selon les études, une concentration résiduelle en colistine > 2.42 mg/L (106) ou > 2 mg/L (107) augmenterait le risque d'IRA.

La néphrotoxicité liée au traitement par colistine **apparaît généralement au cours des 5 premiers jours du traitement et est réversible à l'arrêt du traitement** (108, 109). L'insuffisance rénale se manifeste principalement par une diminution de la clairance de la créatinine mais une hématurie, une protéinurie, une oligurie ou la présence de cristaux cylindriques dans les urines peuvent également être constatés (103).

La néphrotoxicité de la colistine est probablement la conséquence de l'importante réabsorption tubulaire de cette molécule liée à la présence de nombreux transporteurs localisés dans les tubules proximaux et en particulier la mégaline (47, 110). La toxicité de la colistine pourrait être liée à son accumulation dans le reticulum endoplasmique et les mitochondries des cellules tubulaires rénales conduisant à une modification du sort de la cellule en cas de stress oxydatif (111). **La co-administration d'acide ascorbique à la dose de 2 à 4 g chez les patients avec un sepsis sévère diminuerait le risque d'IRA par quatre en comparaison aux patients ne recevant pas d'acide ascorbique** (104). Cet effet pourrait être expliqué par un double effet protecteur de l'acide ascorbique contre les dommages rénaux induits par la colistine et par le sepsis (104). Toutefois, une autre étude menée chez 28 patients répartis en deux groupes n'a pas montré d'effet protecteur de l'acide ascorbique (110).

### b) Neurotoxicité

La neurotoxicité associée à l'utilisation de colistine est moins fréquente que la néphrotoxicité (103). Elle se manifeste **le plus souvent par des paresthésies** mais également sous la forme de **confusion mentale**, de **vertiges**, une ataxie ou des convulsions (103). L'effet indésirable neurologique le plus redouté, bien que rare, est le blocage neuromusculaire pouvant conduire à une paralysie des muscles respiratoires et à une apnée (112, 113).

De même que la toxicité rénale, la **toxicité neurologique est dose dépendante et réversible à l'arrêt du traitement** (103).

### c) Autres effets indésirables

L'administration de colistine par aérosol est généralement bien tolérée malgré quelques effets indésirables rapportés tels que des irritations de la gorge, une toux ou des bronchospasmes (114, 115).

Les administrations intrathécales et intraventriculaires sont également bien tolérées. Parmi les effets indésirables rapportés, l'apparition d'une méningite chimique a été décrite (5/153 cas rapportés entre 1972 et 2016) avec une résolution complète après arrêt des administrations intrathécale (116).

## 7. Combinaisons thérapeutiques

Pour contrer l'émergence croissante de souches résistantes à la colistine, de nombreuses études récentes évaluent l'activité *in vitro* de la colistine seule en comparaison à la colistine administrée en combinaisons. Plusieurs méthodes peuvent être utilisées pour évaluer l'effet des combinaisons, en particulier la réalisation de « Chequerboards » ou l'utilisation de courbes de bactéricidies en fonction du temps, parfois analysées à l'aide de modèles PK-PD semi-mécanistiques.

Les « Chequerboards » permettent le calcul d'index de concentrations inhibitrices fractionnées (FICI) pouvant indiquer une synergie, un effet additif ou bien un antagonisme entre deux antibiotiques. Concernant la colistine, aucune classe particulière d'antibiotiques n'a montré d'effet synergique *via* cette méthode (117, 118).

Lors de la réalisation de courbes de bactéricidie, une combinaison thérapeutique est considérée comme étant synergique lorsqu'elle conduit à une diminution d'au moins  $2 \log_{10}$  CFU/mL supplémentaires en 24 h par rapport à l'utilisation d'une molécule en monothérapie. Il a ainsi été démontré que la **colistine possédait une activité synergique avec l'imipénème, la vancomycine, la rifampicine et le trimethoprime-sulfamethoxazole (cotrimoxazole)** contre différentes souches **d'*A. baumanii*** (119-122). Concernant les souches de ***K. pneumoniae***, la colistine posséderait une activité synergique avec **l'aztreonam, la fosfomycine, le méropénème, la rifampicine, le cotrimoxazole et la vancomycine** (121, 123). Dans le cas

de *P. aeruginosa*, les combinaisons thérapeutiques de choix se portent sur l'association de la colistine avec le **cotrimoxazole** ou la **vancomycine** (121).

Concernant les études *in vivo* d'évaluation de l'effet de la colistine en association avec d'autres antibiotiques, un modèle murin d'infection de la cuisse a été développé (124, 125). Il a été montré que **la rifampicine, l'acide fusidique et le méropénème en association avec la colistine avait une activité synergique contre les souches d'*A. baumannii* multirésistantes** (125). A l'inverse **l'association colistine – tigécycline semble avoir une activité antagoniste** contre différentes souches de *K. pneumoniae* et d'*E. coli* (124).

#### En résumé

##### Les combinaisons thérapeutiques à effet synergique

*A. baumanii* : imipénème, méropénème, vancomycine, rifampicine, cotrimoxazole, acide fusidique

*K. pneumoniae* : aztreonam, fosfomycine, méropénème, vancomycine, rifampicine, cotrimoxazole

*P. aeruginosa* : vancomycine, cotrimoxazole

##### Les combinaisons thérapeutiques à éviter

**association colistine + tigécycline**

## IV. Etat de l'art concernant le Suivi Thérapeutique Pharmacologique de la colistine dans des populations particulières

---

### 1. Patients de réanimation

---

#### a) Particularités pharmacocinétiques

Il existe à ce jour **trois modèles de population décrivant la pharmacocinétique du CMS et de la colistine chez le patient de réanimation suivant l'administration d'une dose de maintenance de CMS par voie intraveineuse** (41-43) et tous ont mis en évidence la **forte variabilité des concentrations en CMS et colistine** (Figure 24). Les paramètres pharmacocinétiques décrits par ces trois modèles sont présentés dans le Tableau 3 et comparés à ceux obtenus chez le volontaire sain (35).

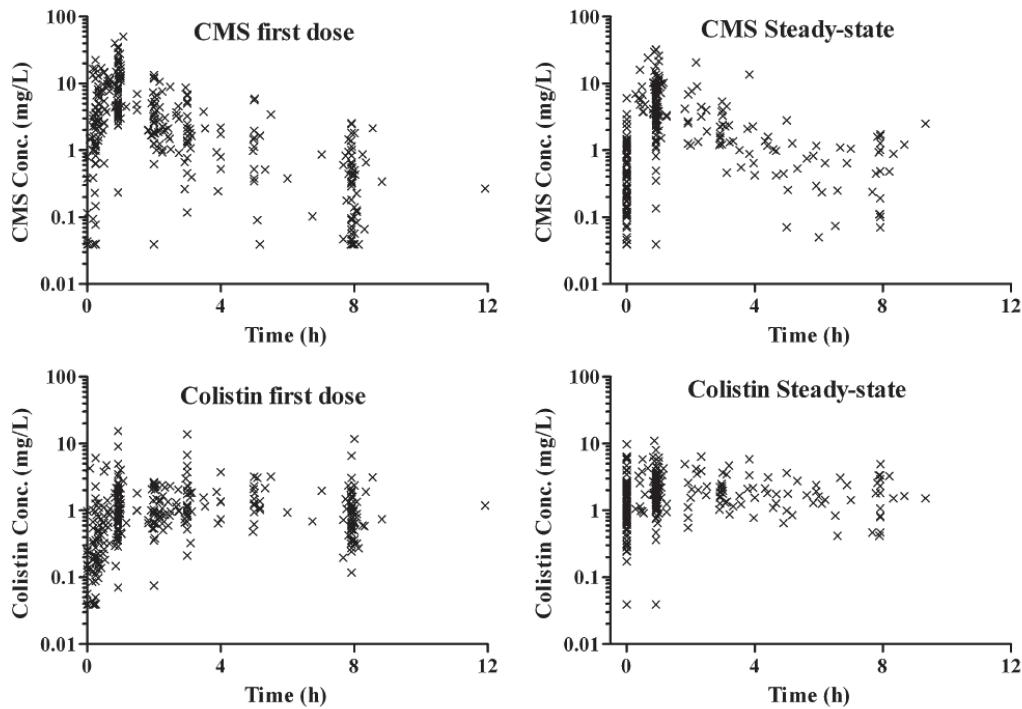


Figure 24 : Concentrations plasmatiques en CMS et colistine observées chez 73 patients de réanimation après la première administration de CMS et à l'état d'équilibre (d'après Grégoire et al., AAC, 2014 (41))

Concernant le **CMS**, la concentration maximale,  $C_{max}$ , est observée en fin de perfusion puis les concentrations décroissent selon un modèle mono- ou bi-compartimental avec une demi-vie d'élimination,  $t_{1/2\beta}$  comprise entre 1.9 et 4.5 h selon les études (41-43). Le profil plasmatique moyen était comparable à celui observé chez le volontaire sain (35), hormis lorsque la fonction rénale du patient était dégradée. Dans ce cas, la fraction de CMS excrétée dans les urines diminue, entraînant une augmentation de la fraction de CMS convertie en colistine (**Figure 19**). En effet, les concentrations en colistine sont liées à la clairance rénale de CMS (Équation 23), elle-même corrélée à la clairance de la créatinine (41, 42).

Par exemple, pour des patients avec des valeurs de clairance de la créatinine égales respectivement à 120, 50 et 25 mL/min, les clairances rénales typiques de CMS étaient égales à environ 100, 50 et 25 mL/min, entraînant une augmentation des fractions de CMS converties en colistine, respectivement égales à 33, 50 et 67 %, et ainsi une augmentation des concentrations moyennes en colistine.

De plus, il a été montré que le **volume de distribution du CMS était proportionnel au poids corporel**, ce qui impacte la Cmax du CMS (et dans une moindre mesure celle de la colistine) après la première dose.

Après administration de doses répétées, ce sont les fluctuations des concentrations qui sont impactées : plus le volume de distribution est important, plus les fluctuations des concentrations sont faibles (41, 42).

Concernant la **pharmacocinétique de la colistine après l'administration de CMS** chez les patients de réanimation, plusieurs points diffèrent selon les études. Ainsi, après administration d'une première dose de 2 MUI de CMS, Grégoire et al. (41) ont observé une Cmax typique de colistine égale à environ 2 mg/L, tandis qu'après l'administration d'une première dose de 3 MUI de CMS, Plachouras et al. (43) ont décrit une Cmax de colistine de 0.6 mg/L, proche des résultats obtenus par Garonzik et al. (42) (Figure 25). **En plus d'être plus élevées, les valeurs de Cmax de colistine sont atteintes plus rapidement selon Grégoire et al. (41)** (environ 3h) en comparaison aux valeurs de Plachouras et al. (43) (pas de pic de concentration observée avant la seconde administration, à savoir 8h plus tard). Ces différences dans le temps nécessaire pour atteindre la Cmax sont liées à une **estimation différente du volume apparent de distribution, plus faible chez Grégoire et al. (41)**, avec pour conséquence une **valeur typique de demi-vie d'élimination plus faible (3h vs 9 à 14h)** (41-43) (Tableau 3). L'une des conséquences majeures de ces différences est, qu'en raison d'une demi-vie d'élimination élevée, Plachouras et al. (43) décrivent un délai de 48h avant d'atteindre l'état d'équilibre tandis que Gregoire et al. (41) indiquent atteindre cet équilibre dès la 12<sup>ème</sup> heure de traitement.

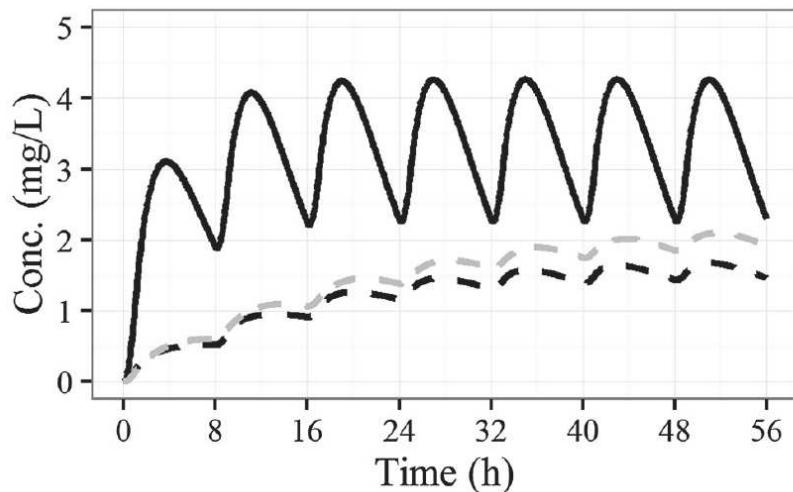


Figure 25 : Concentrations en colistine après l'administration d'une dose de CMS de 3 MUI toutes les 8 h au cours d'une perfusion de 60 minutes chez un patient de réanimation avec une clairance de la créatinine = 82 mL/min et un poids de 80 kg, prédictes à partir du modèle de Grégoire et al. (41) (ligne noire continue), Plachouras et al. (43) (ligne grise en pointillé) et Garonzik et al. (42) (ligne noire en pointillée) (d'après Grégoire et al., AAC, 2014 (41))

Une fois l'équilibre atteint, les différences sont plus faibles entre les études qui prédisent toutes, **après administration de 3 MUI de CMS toutes les 8 h chez un patient avec une clairance de la créatinine de 82 mL/min, une concentration moyenne en colistine ( $C_{ss,avg}$ ) comprise entre 1.5 et 3.5 mg/L (41-43).** Plachouras et al. (43) ont été les premiers à décrire les **difficultés à obtenir une  $C_{ss,avg}$  de 2 mg/L, ce qui correspond à la valeur cible généralement retenue chez les patients avec une fonction rénale normale.** Plus récemment, Nation et al. (126) ont suggéré l'utilisation d'un algorithme afin de calculer la dose de CMS à administrer en fonction de la clairance de la créatinine des patients et ont démontré que seuls **40 % des patients avec une fonction rénale préservée atteignaient une  $C_{ss,avg} > 2 \text{ mg/L}$ , malgré l'utilisation d'une dose maximale de 12 MUI par jour.**

Tableau 3 : Résumé des paramètres pharmacocinétiques primaires et secondaires chez le volontaire sain et dans les trois études de popPK de référence chez le patient de réanimation

	<b>Couet et al., 2011</b>	<b>Plachouras et al., 2009</b>	<b>Garonzik et al., 2011</b>	<b>Gregoire et al., 2014</b>
<b>Population</b>	Volontaires sains	ICU patients <sup>a</sup> avec fonctions rénales préservées	ICU patients <sup>a</sup> avec fonctions rénales variables	ICU patients <sup>a</sup> avec fonctions rénales variables
<b>Marque de CMS utilisée pour l'étude</b>	Colimycine; Sanofi-Aventis, France	Colistin; Norma, Greece	Colistate; Atlantic Pharm Co., Thailand,	CMS; Paddock Inc., NY, USA
<b>Schéma posologique</b>	1 MUI dose unique	3MUI q8h	posologie choisie par les médecins référents	posologie choisie par les médecins référents
<b>Primary parameters</b>				
CLCMS (mL/min) <sup>b</sup>	148	228	116	110
V <sub>CMS</sub> (L) <sup>c</sup>	14.0	13.5	15.9	15.7
V <sub>p,CMS</sub> (L) <sup>d</sup>	-	28.9	18.7	-
CLcol/fm,col (mL/min) <sup>e</sup>	162	152	207	94.3
V <sub>col/fm,col</sub> (L) <sup>f</sup>	41.3	189	165	<b>25.7</b>
<b>Secondary parameters</b>				
t <sub>1/2</sub> CMS (h)	0.7	2.1	3.5	1.6
t <sub>1/2</sub> col (h)	2.9	14.4	9.2	<b>3.2</b>

<sup>a</sup> ICU, intensive care unit patients pour patients de réanimation ; <sup>b</sup> CLCMS, clairance totale de CMS ; <sup>c</sup> VCMS, volume de distribution du CMS dans le compartiment central ; <sup>d</sup> V<sub>p,CMS</sub>, volume de distribution du CMS dans le compartiment périphérique ; <sup>e</sup> CLcol/fm,col , clairance apparente de colistine ; <sup>f</sup> V<sub>col/fm,col</sub>, volume de distribution apparent de la colistine

## b) Notion de dose de charge

En conclusion de leur étude montrant un délai de 48 h nécessaire avant d'atteindre l'équilibre des concentrations en colistine, Plachouras et al. (43) ont suggéré que l'administration d'une dose de charge de CMS pourrait être nécessaire pour atteindre des concentrations efficaces en colistine dès la première administration. Par la suite, deux études issues de la même équipe ont étudié la pharmacocinétique du CMS et de la colistine après administration d'une dose de charge (52, 127).

Dans la première étude, à la suite de l'administration d'une dose de 6 MUI de CMS chez 10 patients de réanimation, les valeurs moyennes de Cmax de colistine étaient de 1,3 mg/L (de 0,3 à 2,6 mg/L) et obtenues 8h après le début de la perfusion (52). Dans la seconde étude, après administration de 9 MUI de CMS chez 19 patients de réanimation, les valeurs de Cmax de la colistine étaient également très variables (2,65 mg/L en moyenne, comprises entre 0,9 et 5,1 mg/L) (52). Les concentrations en colistine observées dans cette dernière étude étaient plus élevées que celles prédictes par les précédentes études réalisées par la même équipe (43, 52) mais inférieures à celles prédictes par le modèle de Grégoire et al. (41).

Plusieurs hypothèses peuvent être avancées pour expliquer les variations observées entre ces différentes études :

- (a) Une proportion de CMS A et B plus importante dans les formulations récentes (127)
- (b) L'utilisation de CMS provenant de fournisseurs différents (« *brand effect* ») (25)
- (c) L'inclusion de patients ne présentant pas des fonctions rénales homogènes
- (d) L'utilisation de solutions de perfusion de CMS à des concentrations égales ou supérieures à la CMC de 5,7 g/L (71.250 UI/L)
- (e) Une conversion *in vitro* du CMS en colistine après réalisation des prélèvements sanguins (128)
- (f) Des différences dans les méthodes analytiques utilisées (127)

### c) Suggestion d'adaptation posologique

Compte tenu de la pharmacocinétique du CMS et de la colistine, **la dose de CMS administrée doit tenir compte de la fonction rénale du patient.** Dans le cas d'une **fonction rénale normale**, toutes les études citées précédemment recommandent l'utilisation d'une **dose d'entretien de 9 MUI, en 2 à 3 prises par jour** (41-43), les publications les plus récentes préconisant préférentiellement 2 administrations par jour (41, 52, 126, 127).

Chez les patients avec une fonction rénale altérée, il est nécessaire de tenir compte de l'augmentation de la fraction du CMS qui va pouvoir être converti en colistine. En se basant sur les études d'efficacité et de toxicité, les auteurs s'accordent pour proposer une concentration cible à l'équilibre en colistine autour de 2 mg/L sans dépasser 4 mg/L (44, 126).

La Figure 26 a été élaborée à partir des données publiées par Grégoire et al. (41) et suggère la séparation des patients en trois groupes en fonction de leur clairance de la créatinine. Ainsi, il est proposé que les patients avec une CLcreat > 60 mL/min reçoivent 9 MUI par jour, ceux avec une CLcreat comprise entre 30 et 60 mL/min, 6 MUI par jour et ceux avec une CLcreat < 30 mL/mn, 3 MUI par jour afin d'obtenir une concentration moyenne en colistine à l'équilibre entre 2 et 4 mg/L. Ces simulations confirment également les difficultés à obtenir une concentration en colistine élevée chez les patients avec une fonction rénale normale.

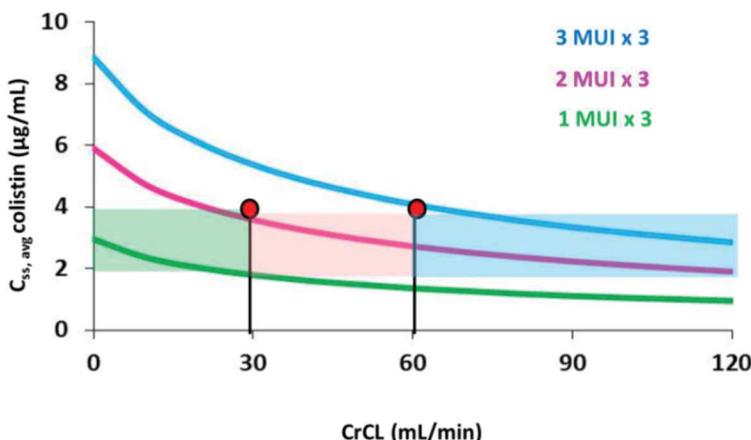


Figure 26 : Concentrations moyennes de colistine à l'équilibre ( $C_{ss,avg}$ ) simulées en fonction de différentes valeurs de clairance de la créatinine (CrCL) à partir des données publiées par Gregoire et al. (41). Trois posologies de CMS sont étudiées : 1 MUI x 1 (en vert), 2 MUI x 2 (en rose), 3 MUI x 3 (en bleu). Les bandes de couleur sont associées à la posologie optimale à utiliser pour obtenir des concentrations dans la marge thérapeutique selon la valeur de la CLcreat.

Garonzik et al. (42) ont quant à eux publié un algorithme afin de choisir une dose d'entretien en tenant compte de la fonction rénale des patients, sans les partager en différents groupes (Équation 24)

**Équation 24 :** Dose journalière (mg CBA) =  $C_{ss \text{ cible}} \times (1.50 \times CL_{creat} + 30)$

Avec 1 MUI correspondant à environ 30 mg CBA ;  $C_{ss \text{ cible}}$ , la concentration moyenne en colistine cible à l'équilibre en mg/L et  $CL_{creat}$ , la clairance de la créatinine en mL/min.

En s'appuyant sur les études citées ci-dessus, l'Agence Européenne du Médicament (EMA, European Medicines Agency) suggère l'adaptation posologique suivante (102, 129) :

- Patients avec une  $CL_{creat} > 50$  mL/min : 9 MUI / jour (maximum 12 MUI / jour)
- Patients avec une  $CL_{creat}$  compris entre 30 et 50 mL/min : entre 5.5 et 7 MUI / jour
- Patients avec une  $CL_{creat}$  entre 10 et 30 mL/min : 5 MUI / jour

Concernant l'utilisation d'une dose de charge, Garonzik et al. (42) suggèrent qu'elle soit adaptée au poids du patient, sans dépasser 10 MUI et sans tenir compte de sa fonction rénale, et de commencer la dose de maintenance 24 h plus tard.

$$\text{Équation 25 : Dose de charge (mg CBA)} = \text{Css cible} \times 2.0 \times \text{poids corporel}$$

Avec 1 MUI correspondant à environ 30 mg CBA ; Css cible, la concentration moyenne en colistine cible à l'équilibre en mg/L et le poids corporel exprimé en kg.

Karaiskos et al. (127) ont démontré que l'utilisation d'une dose de charge de 9 MUI suivie par une première dose d'entretien 24 h plus tard n'était pas toxique pour les 19 patients de réanimation de leur étude présentant des fonctions rénales variables. L'European Medicine Agency (EMA) propose quant à elle l'utilisation d'une dose de charge de 9 MUI chez les patients de plus de 60 kg et de 6 MUI chez les patients de moins de 60 kg (129). Une dose de charge de plus de 12 MUI pourrait être nécessaire pour certains patients mais les études cliniques utilisant de telles doses sont limitées (129).

En conclusion, une **dose de charge de 6 à 10 MUI** devrait être appliquée à tous les patients, sans tenir compte de l'état de leur fonction rénale. Récemment, il a été suggéré d'utiliser la **première dose d'entretien 12h après l'administration de la dose de charge** (126).

## 2. Patients avec épuration extra-rénale

### a) Particularités pharmacocinétiques

Chez les patients avec une fonction rénale très altérée, le CMS n'est que faiblement excrété par voie rénale et par conséquent, la fraction de la dose convertie en molécule active est plus élevée. Ainsi, les concentrations en colistine chez les patients de réanimation nécessitant d'être mis sous dialyse sont beaucoup plus élevées que chez les patients avec une fonction rénale normale (130).

La fraction non liée de CMS et de colistine passe facilement à travers les membranes de dialyse. De plus, il est également probable que la colistine s'adsorbe aux parois des membranes de dialyse, en particulier celles utilisées dans les hémodialyses continues, ce qui pourrait contribuer à son élimination (131).

**Le CMS et la colistine sont en effet fortement éliminés au cours des séances d'hémodialyse (42, 131-134).** Il a été décrit que la clairance moyenne du CMS au cours d'une séance d'hémodialyse était comprise entre 71 et 95 mL/min (42, 132, 134) et associée à une variabilité inter-individuelle faible (coefficient de variation = 26 %) (132) ou élevé (coefficient de variation = 96%) (42) selon les études. La clairance moyenne de la colistine au cours d'une séance d'hémodialyse a été décrite comme étant comprise entre 57 et 134 mL/min (42, 132, 134) avec une variabilité inter-individuelle modérée (15 et 44%) (42, 132).

Malgré la forte variabilité décrite entre les patients et les études, ces valeurs sont comparables à celles décrites chez le volontaire sain et le patient de réanimation (Tableau 3) (35, 41-43).

## b) Suggestion d'adaptation posologique chez les patients sous épuration extra-rénale

### (1) Cas de l'hémodialyse intermittente

Les données de la littérature suggéraient de **ne pas dépasser la dose de 3 MUI de CMS / jour les jours sans hémodialyse** (42, 130) mais une récente publication de Nation et al. (126) suggère d'administrer près de 4 MUI de CMS / jour pour atteindre la concentration moyenne de colistine à l'équilibre de 2 mg/L. Dans chacune de ces études, le **CMS est administré deux fois par jour les jours sans dialyse** (42, 126, 130).

Les jours de dialyse, en fonction du moment de la session par rapport aux heures d'injection du CMS, Jacobs et al. (130) suggèrent d'administrer une 3<sup>e</sup> dose de 1.5 MUI de CMS juste après la séance de dialyse tandis que Nation et al. (126) préconisent de réaliser la séance de dialyse à la fin de l'intervalle entre deux injections de CMS et d'augmenter la dose de 30 % après une séance de 3 h et de 40 % après une séance de 4 h.

## (2) Cas de l'hémodiafiltration continue

Dans les cas d'hémodiafiltration continue, Markou et al. (135) ont décrit que la clairance extra-corporelle contribuait à environ 50% de la clairance totale de la colistine. Toutefois, cette clairance totale de colistine restait plus faible que celle observée chez les patients avec une fonction rénale normale, suggérant de diminuer la dose de CMS journalière administrée chez les patients sous hémodiafiltration continue. A l'inverse, Karvanen et al. (136) ont rapporté que **les concentrations en colistine mesurées chez les patients sous hémodiafiltration continue et recevant 2 MUI de CMS toutes les 8 h** (soit 6 MUI / jour), étaient inférieures à celles rapportées chez les patients présentant une fonction rénale normale. Plus récemment, Karaiskos et al. (137) ont été plus loin en recommandant une dose plus élevée chez les patients sous hémodiafiltration continue avec une dose de charge de 12 MUI de CMS suivie d'une dose de maintenance de 13 à 15 MUI / jour.

Les dernières recommandations publiées par Nation et al. (126) correspondent à celles publiées par Karaiskos et al. (137) et suggèrent **l'utilisation d'une dose de maintenance de 13 MUI / jour divisée en deux administrations**. Concernant la dose de charge, même si il a été démontré que l'administration de 12 MUI était plus efficace, les données cliniques concernant la toxicité associées à cette dose manquent et il est recommandé de ne pas dépasser 9 MUI (42, 137).

Quoiqu'il en soit, au vu de la variabilité interindividuelle élevée décrite chez ces patients, le dosage régulier des concentrations résiduelles en colistine est fortement conseillé (138).

Il est ainsi possible de proposer le schéma posologique suivant aux patients sous hémodialyse intermittente ou continue, à adapter en fonction des concentrations résiduelles mesurées en colistine.

### Hémodialyse intermittente :

Les jours sans dialyse : 3 à 4 MUI de CMS en 2 administrations par jour (126, 130)

### Les jours avec dialyse :

- 1.5 MUI de CMS x 2/jour + 1.5 MUI de CMS à la fin de la séance de dialyse (130)
- Prévoir séance de dialyse 3 à 4 h avant la réadministration de CMS et ajouter respectivement 30 % à 40 % de la dose prévue (126)

#### **Hémodialyse continue :**

Utiliser **au minimum** la posologie recommandée chez le patient avec une fonction rénale préservée (à savoir **9 à 12 MUI / jour**)

### **3. Patients atteints de mucoviscidose**

#### **a) Particularités pharmacocinétiques**

De nombreuses modifications pharmacocinétiques ont été décrites chez les patients atteints de mucoviscidose par rapport aux volontaires sains et correspondent principalement à une augmentation du volume de distribution (aminosides, ceftazidime (139)) et une augmentation de la clairance rénale (aminosides (139), ticarcilline (140)) ou non rénale (ciclosporine (141)). Les mécanismes impliqués dans ces modifications pharmacocinétiques ne sont pas élucidés rendant nécessaire des études pour chaque molécules (142).

A noter toutefois qu'une récente publication (143) a analysé 16 études pharmacocinétiques concernant des antibiotiques de la famille des bêta-lactames chez les patients atteints de mucoviscidose au cours des 40 dernières années et pointé un biais probable dans la sélection des patients atteints de mucoviscidose dans les études les comparant aux volontaires sains et réalisées avant les années 1990. En effet, les « patients » ne pourraient pas être directement comparés aux « témoins » en raison de leur âge plus jeune (15 ans en moyenne, contre 25 ans chez les volontaires sains) et de la présence d'autres pathologies, en plus de la mucoviscidose, pouvant avoir un impact sur la fixation protéique des antibiotiques. L'application d'une échelle d'allométrie permettant de s'affranchir des différences de poids conduit ainsi à faire disparaître les différences observées au niveau des volumes de distribution et des clairances pour cette famille d'antibiotiques entre les patients atteints de mucoviscidose et les volontaires sains.

Concernant la colistine, la pharmacocinétique de la colistine chez les patients souffrant de mucoviscidose a été partiellement décrite après l'administration IV et après nébulisation de CMS en 2003 et en 2014 (63, 144).

Après administration d'une **dose d'entretien de 1 à 2 MUI trois fois par jour par voie intra-veineuse** chez 12 patients atteints de mucoviscidose avec une fonction rénale préservée, Li et al. (144) ont montré en l'absence de toxicité du traitement et la possibilité d'utiliser des doses plus élevées.

Après administration d'une dose unique de CMS par nébulisation à la dose de 2 ou 4 MUI chez 6 patients atteints de mucoviscidose, Yapa et al. (63) ont décrit des **concentrations plus élevées dans les expectorations** (Cmax en colistine entre 2,09 et 21,2 mg/L) que celles observées après administration d'une dose unique de 5 MUI de CMS par voie IV (Cmax dans les expectorations < 1,0 mg/L). De plus, la biodisponibilité du CMS était faible (environ 6%) et l'**exposition systémique du CMS et de la colistine négligeable**.

## b) Suggestion d'adaptation posologique

L'**administration de CMS par voie locale**, en utilisant la voie nébulisée, associée ou non à l'administration par voie IV est recommandée dans cette population. A travers le monde, les centres spécialisés dans le traitement de la mucoviscidose ont adopté des schémas posologiques différents concernant l'administration de CMS par nébulisation, allant de **1 MUI de CMS deux fois par jour à 2 MUI de CMS trois fois par jour** (145-147).

---

## 4. Population pédiatrique

---

Actuellement, les doses pédiatriques de CMS recommandées sont de 75.000 à 150.000 UI/kg/jour par l'EMA et de 83.000 à 166.000 UI/kg/jour par la FDA (Food and Drug Administration) à administrer **en 2 à 4 injections** (102). A ce jour, aucune étude de pharmacocinétique de population n'a été conduite en pédiatrie mais de récentes études conduites chez le nouveau-né et l'enfant de moins de 14 ans suggèrent néanmoins que l'utilisation des doses recommandées conduit à des concentrations en colistine en deçà des concentrations optimales (67, 148). De plus, deux études ont rapporté l'utilisation de doses entre 200.000 et 225.000 UI/kg/jour jusqu'à 93 jours consécutifs chez des enfants de 4 mois à 14 ans souffrant d'infections sévères sans avoir rapporté d'effets indésirables (149, 150). De nouvelles investigations sont nécessaires pour décrire la pharmacocinétique du CMS et de la colistine en pédiatrie mais les résultats de ces différentes études suggèrent l'utilisation de doses de CMS plus élevées que celles recommandées dans cette population (151).

Il n'existe pour le moment pas de données concernant l'utilisation d'une dose de charge, ni la valeur de cette dose, chez les enfants présentant un état sévère (149, 152). De plus, aucune recommandation posologique n'a été établie chez des enfants présentant une insuffisance rénale (149).

---

## 5. Résumé du STP de la colistine

---

La pharmacocinétique de la colistine a été étudiée dans différentes populations et des suggestions de schémas posologiques se dessinent en fonction des patients. Toutefois, **quelles que soit les études, la grande variabilité des concentrations observées conduit à suggérer fortement aux cliniciens un suivi régulier des concentrations en colistine.**

En fonction de la clinique du patient, du type d'infection, de la présence ou non de signes de toxicité, **les concentrations cibles en colistine avoisinent les 2 mg/L.**

Pour des raisons pratiques d'organisation dans les services cliniques et du fait des difficultés à contrôler la conversion in-vitro du CMS en colistine dans les prélèvements précoces, les **prélèvements de concentrations résiduelles sont conseillés.**

---

## V. Article de Synthèse

---

L'état des lieux des connaissances en pharmacocinétique et en pharmacodynamie de la colistine a fait l'objet de la rédaction d'un article de synthèse. La revue, publiée en mai 2017 dans le journal *Clinical Pharmacokinetics* est présenté dans l'Annexe I.

# Problématique et Objectifs

---

Comme cela a été montré en introduction, la pharmacocinétique de la colistine est complexe, sujette à une marge thérapeutique étroite et à une forte variabilité inter-individuelle ce qui fait de cette molécule un candidat de choix pour le Suivi Thérapeutique Pharmacologique. De plus, sa classification en tant qu' « antibiotique critique » utilisé en dernier recours seulement contre certains BGN multirésistants induit une méconnaissance de cet anti-infectieux par de nombreux cliniciens. Afin d'utiliser la posologie adaptée au patient, au germe identifié et au type d'infection, il est nécessaire d'accroître la compréhension des mécanismes impliqués dans la pharmacocinétique de la colistine, de s'appuyer en toute confiance sur les données de la littérature, de proposer précocelement des schémas d'adaptation posologique efficaces et de poursuivre les investigations dans des populations et pour des types d'infections particuliers.

Pour répondre à cette problématique, la suite de ce manuscrit s'articule en cinq parties :

- 1) La première étape du STP consiste à doser la molécule active dans la matrice d'intérêt. Compte-tenu de la complexité du dosage du CMS et de la colistine, et afin de vérifier l'exactitude des mesures à l'origine des publications, un contrôle de qualité inter-laboratoire a été envoyé à huit centres européens de référence afin de réaliser la première étude de cross-validation du CMS et de la colistine.

**Etude n°1 : Cross-validation des dosages de la colistine et du CMS**

**2)** Les analyses bayésiennes permettent de réaliser une adaptation posologique précise à partir d'un nombre limité de prélèvements. Dans le cas des traitements anti-infectieux, il est nécessaire d'utiliser une posologie efficace le plus rapidement possible après l'initiation du traitement afin de stopper la croissance bactérienne. A partir du modèle de cinétique de population développé par notre équipe et sur la base de simulations, une étude de faisabilité de l'adaptation posologique de la colistine après la première injection de CMS a été réalisée.

**Etude n°2 :** Etude de faisabilité de l'adaptation posologique précoce de la colistine

**3)** Les schémas posologiques actuels reposent sur l'administration de CMS en 2 à 3 injections journalières, quel que soit la population ou le type d'infection. Toutefois, il a été démontré que l'index PK-PD le plus efficace pour évaluer l'activité de la colistine est le ratio AUC<sub>0-24h</sub>/CMI. Théoriquement, ce ratio est indépendant du nombre d'administrations journalières compte tenu du fait qu'il a été décrit que la pharmacocinétique de la colistine était linéaire. De plus, il a également été montré que la toxicité de la colistine était principalement corrélée à des valeurs de concentrations résiduelles élevées. L'hypothèse a ainsi été émise qu'une administration du CMS en une injection par jour diminuerait la toxicité de la colistine sans perte d'efficacité. La pharmacocinétique du CMS et de la colistine avec ce nouveau schéma posologique a été évaluée au cours d'une étude présentée dans ce manuscrit.

**Etude n°3 :** Pharmacocinétique du CMS et de la colistine après administration de 9 MUI une fois par jour chez des patients de réanimation avec une fonction rénale préservée

**4)** La pharmacocinétique et la pharmacodynamie d'un antibiotique ne sont pas nécessairement impactées par son schéma posologique mais le sont généralement par la population bénéficiant du traitement ainsi que par la localisation et la gravité de l'infection. Dans le cas des patients

souffrant de mucoviscidose, la colistine est utilisée depuis déjà de nombreuses années, principalement via des aérosols, afin de lutter contre la colonisation du mucus des patients par des bactéries opportunistes. Toutefois, sa pharmacocinétique après administration de CMS par voie intraveineuse dans cette population est encore mal connue et a fait l'objet d'une étude.

**Etude n°4 : Etude de la pharmacocinétique de la colistine chez le patient atteint de mucoviscidose**

- 5) Pour la population pédiatrique, une extrapolation à partir d'un modèle PK réalisé chez le patient de réanimation adulte est délicate. En effet, l'enfant ne peut être assimilé à un « adulte miniature » et la pharmacocinétique de la colistine doit être évaluée indépendamment dans cette population, en prenant notamment en compte les données de maturation rénale.

**Etude n°5 : Cas Clinique – Pharmacocinétique du CMS et de la colistine chez un enfant de 8 ans traité pour une infection osseuse aiguë**



# **SECTION II**

-

# **TRAVAUX PERSONNELS**



# **CHAPITRE I**

---

## **Cross-validation des dosages de la colistine et du CMS**

---



## Points clés :

- ✓ Des **différences** ont été observées dans les **études de pharmacocinétiques** récemment publiées, notamment en **Europe**. L'une des **hypothèses** pour expliquer ces différences implique **l'étape bioanalytique** et notamment la phase de pré-traitement des échantillons contenant du CMS et de la colistine.
- ✓ Le **premier contrôle de qualité inter-laboratoire du CMS et de la colistine a été réalisé auprès de 8 centres européens de référence entre 2013 et 2014**.
- ✓ **15 échantillons de plasma surchargés en CMS et/ou en colistine** ont été préparés au sein de l'équipe INSERM U1070 de Poitiers dans un intervalle de concentrations de 0 à 24 mg/L pour le CMS et de 0 à 12 mg/L pour la colistine et envoyés « à l'aveugle » à chaque centre dans un délai de 48h, congelés.
- ✓ La **moyenne, l'écart-type**, les valeurs minimales et maximales, le **coefficients de variation** ainsi que les **biais moyens par rapport aux valeurs théoriques** ont été calculés pour le CMS et la colistine pour chaque échantillon.
- ✓ Les dosages de CMS et colistine ont été réalisés **par LC-MS/MS dans 6 centres**. Un centre n'a réalisé que des dosages de colistine par HPLC-UV et un centre n'a pas réalisé les dosages.
- ✓ Concernant le **CMS**, les **concentrations ont été sous-estimées** dans de nombreux centres et pour différents échantillons ((biais moyen = - 35%). Concernant la **colistine**, les **concentrations sont proches des cibles attendues** sans qu'une tendance de sous-estimation ou de surestimation ne se dessine (biais moyen = +12%).
- ✓ La **sous-estimation des concentrations en CMS n'est pas liée à une hydrolyse du CMS en colistine *in vitro*** conduisant à une surestimation des concentrations en colistine.
- ✓ Le CMS est un métabolite inactif, il n'y a donc **aucun impact clinique à une sous-estimation de ces concentrations**.
- ✓ Les difficultés de dosage de la colistine liées à l'adsorption de la molécule sur les parois des matériaux ont été évitées par les centres participants.

- ✓ Cette étude montre que **les différentes méthodes de dosage entre les laboratoires ne semblent pas être à l'origine des différences observées dans les études de pharmacocinétiques publiées en Europe.**

Ce travail a fait l'objet d'une publication en cours d'écriture dont les résultats préliminaires sont présentés dans les pages suivantes.

1   **Inter-laboratory cross-validation of plasma colistin and CMS assay for**  
2   **pharmacokinetic studies and therapeutic drug monitoring**

3

4   **Introduction**

5   Colistin, also called polymyxin E, is a polypeptide antibiotic used as a last resort against  
6   multidrug-resistant Gram-negative bacteria. The marketing authorization for this molecule  
7   was given in 1958, but this molecule was quickly left behind for aminoglycosides due to its  
8   nephro- and neurotoxicity. The non-usage of colistin for several years protected this antibiotic  
9   against the emergence of multidrug-resistant bacteria [1].

10   Colistin is made of a mixture of more than 30 different components with the main fractions  
11   being colistin A (polymyxin E1) and colistin B (polymyxin E2), which account for more than  
12   85% of colistin by weight [2]. The chemical structure of colistin is made up of a hydrophilic  
13   cycloheptapeptide ring, a trail tripeptide moiety and a hydrophobic acyl chain tail [3, 4]. Five  
14   positively charged amino groups are responsible for the bactericidal effect but also toxicity  
15   toward human cells.

16   Colistin is administered as an inactive prodrug, colistin methanesulfonate (CMS), which itself  
17   is a complex mixture of methanesulfonated colistin derivatives, mainly CMS A and CMS B,  
18   that are hydrolysed *in vivo* leading to potentially up to 2<sup>5</sup> (or 32) partially methanesulfonate  
19   derivatives, including colistin [1, 5]. Because of that, microbiological assays are totally  
20   irrelevant and should not be used anymore [6].

21   Several chromatographic assays of colistin and CMS in biological fluids have been published  
22   [7-10]. Although high performance liquid chromatography (HPLC) with post-column

23 derivatization and UV detection have been developed first and are still used in some  
24 analytical centers, nowadays most assays rely on liquid chromatography coupled to tandem  
25 mass spectrometry (LC/MS-MS). CMS concentrations are determined indirectly from the  
26 difference between colistin concentrations determined before and after CMS hydrolysis by  
27 sulfuric acid [7, 9]. Stability studies have demonstrated that CMS is stable in aqueous solution  
28 (<1.0% colistin A/B formation) for up to 24h when stored at 4°C or 21°C but could be readily  
29 hydrolysed into colistin at 37°C [5, 11]. Colistin formation from CMS is rapid in plasma at  
30 room temperature or 37°C [5, 7]. Accordingly, colistin concentrations may be overestimated  
31 due to inappropriate pre-analytical storage or treatment of biological samples. Another issue is  
32 that colistin may be readily adsorbed onto glass and tubing, although this effect is minimized  
33 in plasma samples as compared to aqueous media because colistin is preferentially bound to  
34 plasma proteins including albumin [8].

35 Several pharmacokinetic studies of CMS and colistin in critical care patients, using modern  
36 chromatographic assay methodologies, have recently been published [12-16]. Noticeably,  
37 results are fairly consistent between-studies, while discordances in PK data determined soon  
38 after treatment initiation as well as differences in colistin half-life estimates have also been  
39 reported [12-17]. Yet the CMS brand may account for at least part for the differences in CMS  
40 and/or colistin pharmacokinetics [18, 19]. To which extent the analytical assay may also  
41 contribute to these differences was unknown since at present no external quality control  
42 proficiency program has been yet organized for colistin, despite the growing clinical  
43 importance of this antibiotic in salvage antibiotic regimens. Cross-validation of various assay  
44 methodologies is of definitive importance since the values of colistin plasma concentrations  
45 that are used to adjust colistin dosage via Therapeutic Drug Monitoring (TDM) do impact the  
46 clinical care of critically ill patients [18, 20, 21]. This has prompted the initiation of the  
47 present european-wide inter-laboratory cross-validation study for colistin and colistimethate.

48 The objective of this first cross-validation study was to examine the strength of the correlation  
49 between results of colistin assay performed in different centers in Europe, receiving a series of  
50 plasma samples spiked with unstated CMS and colistin concentrations. This first external  
51 quality proficiency analysis should be the basis of more comprehensive program on  
52 therapeutic drug monitoring of colistin.

53

54 **Materials and Methods**

55

56 ***Procedure of the Inter-laboratory Cross-validation Studies***

57 The inter-laboratory cross-validation study for CMS and colistin has been performed from  
58 2013 to 2014. The eight participating centers assay colistin in biological fluids as a routine  
59 activity. All laboratories were academic and/or hospital units.

60 The colistin sulfate salt and CMS sodium salt used for sample preparation were purchased  
61 from Sigma Aldrich (respective batch number: 109K1574 and 131810634207215). Colistin  
62 purity and colistin and CMS subcomponent A and B molar fractions were determined by  
63 HPLC-UV and LC-MS/MS as previously described [7].

64 The purity of the CMS sodium salt was considered equal to 100%, according to the  
65 provider's specification. LC-MS/MS was applied to determine the molar fractions of the  
66 subcomponent A and B of CMS compounds: 81 and 19 %, respectively. The purity of the  
67 colistin sulfate salt used as the standard was determined to be 95% by HPLC-UV analysis.  
68 Virtually equal relative signal responses for subcomponents A and B of colistin were obtained  
69 by LC-MS/MS (35 and 65 % for subcomponents A and B, respectively). Purity, fractions of

70 subcomponents A and B and molecular weight of CMS and colistin as the base form (1632.14  
71 g/mol and 1160.335 g/mol, respectively) were considered for the samples preparation.

72

73 Eight sets (one per center) of a total of 15 plasma samples spiked with CMS and/or colistin at  
74 different concentrations were prepared in the Inserm-U1070 laboratories by a technician not  
75 involved in the rest of the study and blind to the other analysts of the organizing center in  
76 Poitiers.

77 Stock solutions of CMS and colistin base (2400 and 720 µg/mL, respectively) were prepared  
78 in high purity HPLC LC-MS grade water (HiPerSolv Chromanorm VWR®) in low protein  
79 binding polypropylene tubes to minimize the effect of colistin loss due to adsorption [22].  
80 Working solutions were obtained by appropriate dilution of stock CMS and colistin solutions  
81 in frozen human blank plasma obtained from the Etablissement Français du Sang (EFS) in a  
82 range of 0-24 µg/mL for CMS and 0-12 µg/mL for colistin with a maximum of four dilution  
83 steps.

84 One sample of each set was spiked with CMS only (sample number 10) and four with colistin  
85 only (samples number 3-8-14-15). Samples were then stored at -20°C before being sent to the  
86 participating centers for their analyze within one week after preparation. They were shipped  
87 frozen on dry ice and received frozen within 48 hours in the various centers. One set of spiked  
88 samples was analyzed by the organizing Center Inserm-U1070 laboratories by a laboratory  
89 technician not involved in the spiked samples preparation. The concentrations were kept blind  
90 until completion of the cross-validation study by all centers (except for one center that  
91 withdrew from the cross validation).

92

93

94

### ***Data analysis***

95 Mean values plus or minus standard deviation (SD), minimum (Min) and maximum (Max)  
96 values, coefficient of variation (CV%) and mean biases (difference) from theoretical  
97 (nominal, i.e. prepared) CMS and colistin concentrations were estimated for each sample.  
98 Biases were calculated as follows: (measured value – nominal value)/nominal value x 100.  
99 The biases distribution for CMS and colistin were determined by comparing measured and  
100 nominal values. A linear regression was performed to fit the experimentally determined  
101 values using the weighting factor 1/x to maximize the importance of small values. Mean  
102 biases of CMS and colistin for each center were calculated and presented as histograms. All  
103 calculations and graphical plots were performed using R software (Version 0.98, R foundation  
104 for statistical computing, Vienna, Austria).

105

## **106 Results**

107 CMS and colistin were quantified by LC/MS-MS in 6 centers, while the last center (Center D)  
108 quantified only colistin concentrations by HPLC with UV detection. Another center (Center  
109 B) withdrew from the cross-validation study.

110 Results of the analysis of CMS (6 centers) and colistin (7 centers) in the 15 plasma samples  
111 are collectively given in Table 1. The mean CMS concentrations derived from the individual  
112 values reported by the seven centers in the eleven CMS-containing samples, were all below  
113 the nominal value, with a negative mean bias equal to -34.8% and values ranging between -  
114 22.2% and -48.4%. This systemic bias is visible on Figure 1a, whereby most reported CMS  
115 concentrations are below the identity line (Figure 1a). Overall assay precision for CMS was  
116 rather unsatisfactory with a mean CV% of 50.7% and extreme CV values reaching 45.9% and

117 60.2%. For colistin, mean concentrations estimated from values reported by the seven centers  
118 in the 14 samples were mostly above the nominal value, with a mean bias equal to 11.7% and  
119 extreme values ranging between -9.3% and +42.7%. Accordingly, measured concentrations  
120 are equally distributed across the identity line (Figure 1b). Overall the precision of colistin  
121 assays was better than that of CMS with a mean CV% of 19.3% and extreme values at 14.5%  
122 and 31.6%.

123 Results for samples spiked with only CMS (sample N°10) or colistin (samples 3-8-14 and 15)  
124 are given in Table 2. Four out of seven centers found colistin in sample 10 (i.e. containing  
125 CMS only). CMS was properly not detected by any center in samples 3 and 14, while one  
126 center found CMS in sample 15, and half (3/6) of the centers reported a CMS concentration  
127 (0.092, 0.33, and 1.63 µg/mL) in sample 8.

128 Histograms reporting biases for CMS and colistin classified per center are shown in Figure 2.

129

## 130 Discussion

131 An interesting finding of this first cross validation study is the relatively large heterogeneity  
132 of the results for colistin and especially CMS, between the 7 participating centers.  
133 Fortunately, assays for colistin were overall more precise (lower CV%) and more accurate  
134 (lower bias) than those for the inactive pro-drug CMS. CMS concentrations were most always  
135 underestimated, which was not the case with colistin. CMS underestimation may be possibly  
136 explained by either incomplete hydrolysis or alternately pre-analytical degradation.  
137 Incomplete hydrolysis of CMS is not expected to interfere with colistin quantification as  
138 colistin is determined independently of that of CMS. By contrast pre-analytical hydrolysis of  
139 CMS into colistin would expectedly result in colistin concentration over-estimation. However,

140 the rather low bias found in general for colistin with no evidence of a systematic over-  
141 estimation of its levels, would suggest that CMS degradation should not be a major concern,  
142 at least in this strict experimental setting that may somewhat departs from the real-life and  
143 frequently less stringent conditions.

144 Concentrations have been selected to reflect those encountered in clinical practice, namely  
145 samples taken at peak (samples N°1, 2, 7 and 10), trough (samples N°3, 8, 14 and 15) and  
146 intermediate time after CMS administration (samples N°4, 5, 6, 9, 11, 12 and 13). However,  
147 this cross-validation study was conducted with spiked plasma samples that were frozen  
148 immediately after preparation, kept at -20°C during transfer and storage, and extracted soon  
149 after being thawed at room temperature. In real clinical practice, extra-steps such as blood  
150 centrifugation as well as various delays occurring during samples handling and treatment may  
151 contribute to uncontrolled CMS hydrolysis. Indeed, our group in Poitiers (Gobin et al.) has  
152 estimated that 14% of CMS in human plasma was converted in colistin *in vitro* after 4h at  
153 room temperature [7]. In addition, in this study plasma samples were spiked with CMS and/or  
154 colistin only, partially reflecting the samples from patients treated by CMS that do contain  
155 other species (i.e. various intermediate products of CMS hydrolysis) possibly interfering  
156 further with CMS and/or colistin assay.

157 Interestingly in Centers A and F, colistin tended towards higher concentrations values while  
158 CMS concentrations were underestimated, suggesting that CMS degradation may interfere  
159 with colistin quantification. But this is not supported by Centers C and H results as CMS was  
160 still underestimated, particularly in Center C, without colistin concentrations overestimation.  
161 At the present stage, the under-estimation of CMS levels overall remains difficult to explain.  
162 Overall, and probably most importantly, colistin concentrations reported by the participating  
163 centers appear relatively precise with a mean CV% less than 20%, and accurate with a mean

164 bias less than 15%. This indicates that the major difficulties encountered during this assay,  
165 including unspecific adsorption on glass and tubing have been appropriately handled by the  
166 participating centers. With the recognized but unavoidable limitation that spiked samples do  
167 not perfectly reflect real life patient samples, the present study suggests that, in comparison  
168 with other factors, such as a brand effect, inter-laboratory assay variability should not have a  
169 major impact on the reported between centers differences in colistin pharmacokinetics. Yet,  
170 the present study underscores the need to standardization between laboratories, and therefore  
171 constitutes only the first step to a strengthened generalized trans-european external quality  
172 proficiency program for CMS and colistin.

173

## 174 Acknowledgements

175 This work was supported by an unrestricted research grant from Forest Lab.( detail, xxx)

## References

1. Li J, Nation RL, Turnidge JD, Milne RW, Coulthard K, Rayner CR and Paterson DL Colistin: the re-emerging antibiotic for multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections *The Lancet Infectious diseases*. 2006;6:589-601.
2. Decolin D, Leroy P, Nicolas A and Archimbaud P Hyphenated liquid chromatographic method for the determination of colistin residues in bovine tissues *Journal of chromatographic science*. 1997;35:557-564.
3. Azzopardi EA, Ferguson EL and Thomas DW Colistin past and future: a bibliographic analysis *Journal of critical care*. 2013;28:219 e213-219.
4. Biswas S, Brunel JM, Dubus JC, Reynaud-Gaubert M and Rolain JM Colistin: an update on the antibiotic of the 21st century *Expert review of anti-infective therapy*. 2012;10:917-934.
5. Li J, Milne RW, Nation RL, Turnidge JD and Coulthard K Stability of colistin and colistin methanesulfonate in aqueous media and plasma as determined by high-performance liquid chromatography *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2003;47:1364-1370.

6. Nation RL, Li J, Cars O, Couet W, Dudley MN, Kaye KS, Mouton JW, Paterson DL, Tam VH, Theuretzbacher U, Tsuji BT and Turnidge JD Framework for optimisation of the clinical use of colistin and polymyxin B: the Prato polymyxin consensus *The Lancet Infectious diseases*. 2015;15:225-234.
7. Gobin P, Lemaitre F, Marchand S, Couet W and Olivier JC Assay of colistin and colistin methanesulfonate in plasma and urine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2010;54:1941-1948.
8. Jansson B, Karvanen M, Cars O, Plachouras D and Friberg LE Quantitative analysis of colistin A and colistin B in plasma and culture medium using a simple precipitation step followed by LC/MS/MS *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. 2009;49:760-767.
9. Li J, Milne RW, Nation RL, Turnidge JD, Coulthard K and Valentine J Simple method for assaying colistin methanesulfonate in plasma and urine using high-performance liquid chromatography *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2002;46:3304-3307.
10. Fiaccadori E, Antonucci E, Morabito S, d'Avolio A, Maggiore U and Regolisti G Colistin Use in Patients With Reduced Kidney Function *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*. 2016;68:296-306.
11. Healan AM, Gray W, Fuchs EJ, Griffiss JM, Salata RA and Blumer J Stability of colistimethate sodium in aqueous solution *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2012;56:6432-6433.
12. Plachouras D, Karvanen M, Friberg LE, Papadomichelakis E, Antoniadou A, Tsangaris I, Karaiskos I, Poulakou G, Kontopidou F, Armaganidis A, Cars O and Giannarellou H Population pharmacokinetic analysis of colistin methanesulfonate and colistin after intravenous administration in critically ill patients with infections caused by gram-negative bacteria *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2009;53:3430-3436.
13. Garonzik SM, Li J, Thamlikitkul V, Paterson DL, Shoham S, Jacob J, Silveira FP, Forrest A and Nation RL Population pharmacokinetics of colistin methanesulfonate and formed colistin in critically ill patients from a multicenter study provide dosing suggestions for various categories of patients *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2011;55:3284-3294.
14. Gregoire N, Mimoz O, Megarbane B, Comets E, Chatelier D, Lasocki S, Gauzit R, Balayn D, Gobin P, Marchand S and Couet W New colistin population pharmacokinetic data in critically ill patients suggesting an alternative loading dose rationale *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2014;58:7324-7330.
15. Mohamed AF, Karaiskos I, Plachouras D, Karvanen M, Pontikis K, Jansson B, Papadomichelakis E, Antoniadou A, Giannarellou H, Armaganidis A, Cars O and Friberg LE Application of a loading dose of colistin methanesulfonate in critically ill patients: population pharmacokinetics, protein binding, and prediction of bacterial kill *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2012;56:4241-4249.
16. Karaiskos I, Friberg LE, Pontikis K, Ioannidis K, Tsagkari V, Galani L, Kostakou E, Baziaka F, Paskalis C, Koutsoukou A and Giannarellou H Colistin Population Pharmacokinetics after Application of a Loading Dose of 9 MU Colistin Methanesulfonate in Critically Ill Patients *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2015;59:7240-7248.
17. Gregoire N, Mimoz O, Megarbane B, Comets E, Chatelier D, Lasocki S, Gauzit R, Balayn D, Gobin P, Marchand S and Couet W New colistin population pharmacokinetic data in critically ill patients suggesting an alternative loading dose rational *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2014.
18. Nation RL, Velkov T and Li J Colistin and polymyxin B: peas in a pod, or chalk and cheese? *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2014;59:88-94.
19. He H, Li JC, Nation RL, Jacob J, Chen G, Lee HJ, Tsuji BT, Thompson PE, Roberts K, Velkov T and Li J Pharmacokinetics of four different brands of colistimethate and formed colistin in rats *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2013;68:2311-2317.
20. Landersdorfer CB and Nation RL Colistin: how should it be dosed for the critically ill? *Seminars in respiratory and critical care medicine*. 2015;36:126-135.
21. Nation RL, Li J, Cars O, Couet W, Dudley MN, Kaye KS, Mouton JW, Paterson DL, Tam VH, Theuretzbacher U, Tsuji BT and Turnidge JD Consistent global approach on reporting of colistin doses

to promote safe and effective use *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2014;58:139-141.

22. Karvanen M, Malmberg C, Lagerback P, Friberg LE and Cars O Colistin is Extensively Lost during Standard in Vitro Experimental Conditions *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2017.

Table 1: Results of CMS and colistin measured concentrations per sample, mean bias and standard error associated per molecule

Samples number	CMS					Colistin					Ratio CMS/colistin
	Nominal concn (µg/mL)	Mean ± SD (µg/mL)	[Min-Max] (µg/mL)	CV%	Mean Biases (%)	Nominal conen (µg/mL)	Mean ± SD (µg/mL)	[Min-Max] (µg/mL)	CV%	Mean Biases (%)	
1	6	3.93 ± 2.11	[0-5.73]	53.8	-40.3	1.5	1.69 ± 0.31	[1.21-2.04]	18.6	12,7	4
2	10	6.94 ± 3.52	[0.94-10.41]	50.7	-35.6	2.5	3.57 ± 0.57	[2.67-4.27]	15.9	42,7	4
3	0	-	-	-	-	0.375	0.38 ± 0.08	[0.28-0.5]	19.8	0,95	-
4	1.5	0.88 ± 0.45	[0.28-1.47]	51.4	-48.4	2.25	2.19 ± 0.44	[1.60-2.82]	20.0	-0,03	0.7
5	5	3.46 ± 1.59	[0.81-4.89]	45.9	-35.9	3	3.01 ± 0.48	[2.23-3.50]	15.9	4,05	1.7
6	2.5	2.02 ± 1.22	[0.44-3.89]	60.2	-22.2	2.5	3.27 ± 0.48	[2.57-3.9]	14.5	30,8	1
7	10	7.12 ± 3.44	[1.09-10.58]	48.3	-33.6	1.5	1.74 ± 0.55	[1.27-2.78]	31.6	15,8	6.7
8	0	-	-	-	-	6	5.58 ± 0.90	[4.41-6.61]	16.1	-7,08	-
9	1.5	1.16 ± 0.61	[0.42-2.12]	52.6	-26.0	3	2.85 ± 0.46	[2.19-3.40]	16.2	-5,04	0.5
10	12	8.58 ± 3.99	[1.58-12.48]	46.5	-33.2	0	-	-	-	-	-
11	3	1.95 ± 0.92	[0.44-2.88]	47.2	-40.8	0.75	0.79 ± 0.15	[0.59-0.96]	19.2	5,54	4
12	1.25	0.97 ± 0.51	[0.4-1.89]	52.4	-26.4	4.5	4.08 ± 0.77	[3.1-5.1]	18.8	-9,29	0.3
13	1.25	0.82 ± 0.40	[0.38-1.4]	48.8	-40.6	1.25	1.74 ± 0.32	[1.36-2.15]	18.5	39,0	1
14	0	-	-	-	-	0.75	0.75 ± 0.15	[0.56-0.91]	19.5	0,08	-
15	0	-	-	-	-	1.25	1.75 ± 0.44	[1.28-2.51]	25.3	40,3	-

All samples without those with nominal value equal to zero (n= 90 for CMS and n=105 for colistin)

	Mean CV	Mean biases		Mean CV	Mean biases
	50.7%	- 34.8%		19.3%	11.7%

176 SD is standard deviation, Min is minimal measured value, Max is maximum measured value, CV is coefficient of variation, SE is standard error

Table 2: Results for nominal values equal to zero

Sample number	3	8	14	15	10
	CMS concentration : 0 µg/mL				Colistin concentration : 0 µg/mL
	Colistin concentration (µg/mL)				CMS concentration (µg/mL)
	0.375	6	0.75	1.25	12
Responded correctly (%)	6/6 (100%)	3/6 (50%)	6/6 (100%)	5/6 (83%)	3/7 (43%)
[Min – Max] for incorrect response (µg/mL)	-	[0.092 – 1.63]	-	[0.21]	[0.06-1.45]

Min is minimal measured value, Max is maximum measured value

## **Figures Legends**

Figure 1: CMS (a) and Colistin (b) measured values versus nominal (weighted) values (closed points), in respectively six and seven centers and for respectively 11 and 14 spiked samples (samples with nominal values equal to zero are not shown). The identity lines are represented (solid black line) along with the linear regression lines (dashed line) weighted by  $1/x$  and the 90% confidence intervals (grey shaded area)

Figure 2: Histograms of biases of cross validation samples per center for CMS and Colistin (dashed lines:  $\pm 15\%$ )

Figure 1

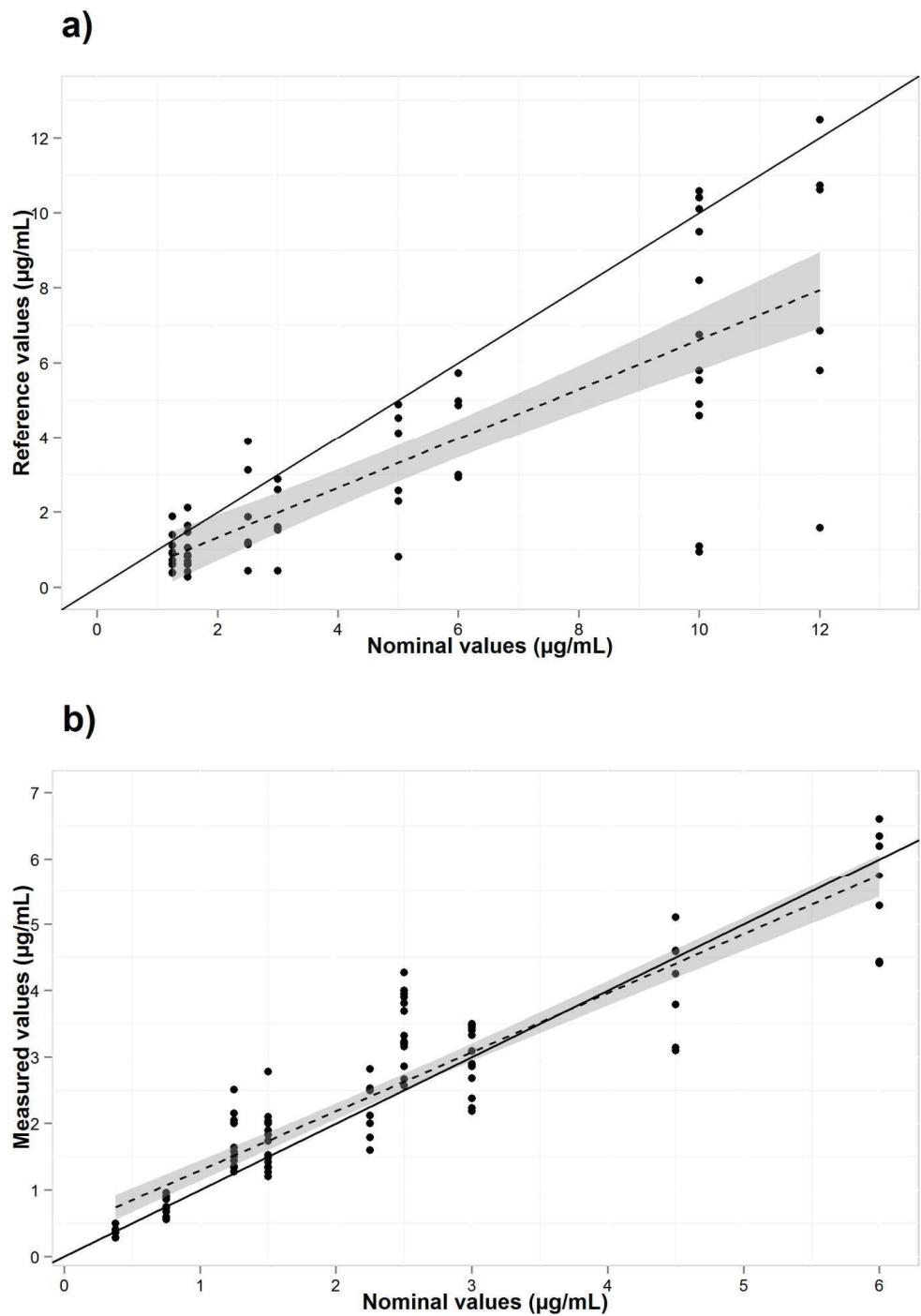
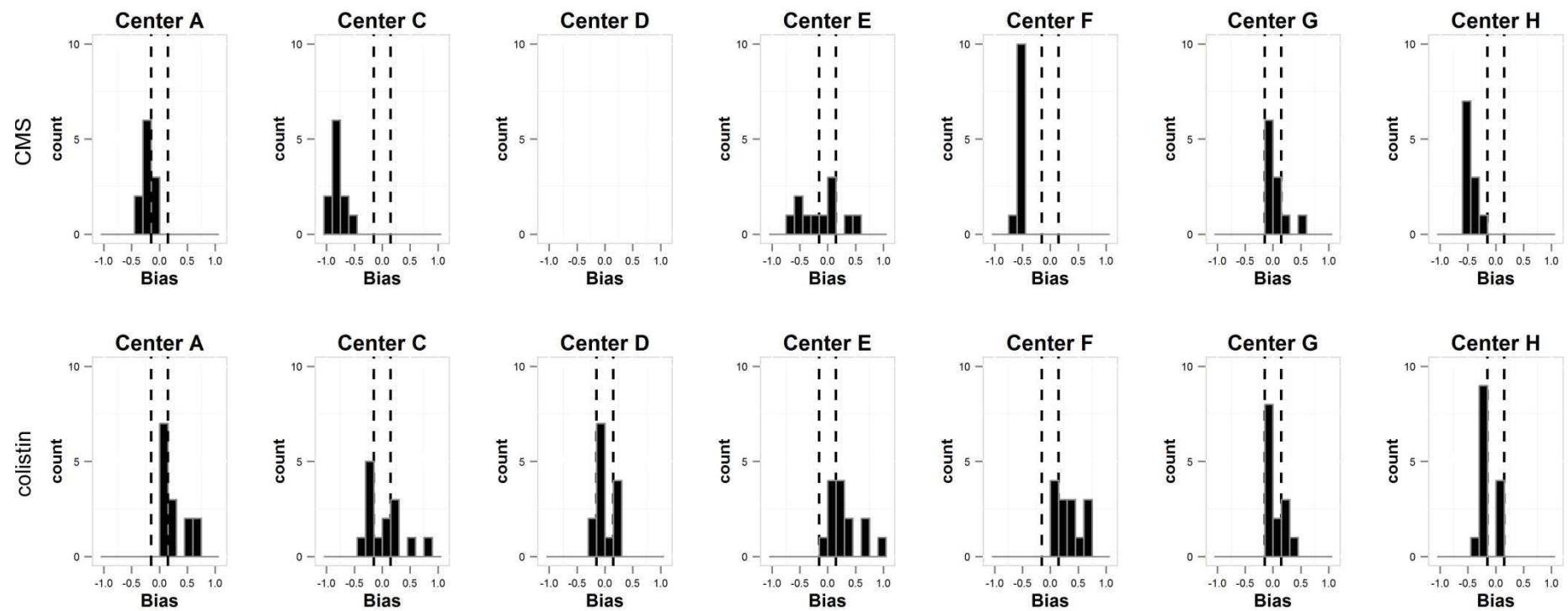


Figure 2





## **CHAPITRE II**

---

### **Etude de faisabilité de l'adaptation posologique précoce de la colistine**

---



## Points clés :

- ✓ La colistine, et sa prodrogue inactive, le CMS, sont connus pour avoir une **très forte variabilité inter-individuelle**.
- ✓ La **cible thérapeutique** est une **concentration moyenne en colistine à l'équilibre (Css) d'environ 2 mg/L** et les paramètres PK impliqués dans la valeur de la Css sont la  $CL_{R,CMS}$ , la  $CL_{NR,CMS}$  et la  $CL_{coli}$ .
- ✓ En raison de la **gravité des infections** nécessitant la mise en route de la colistine et du **risque important de néphrotoxicité** il est nécessaire **d'ajuster les posologies de CMS le plus rapidement possible.**
- ✓ A partir d'un modèle de population précédemment publié par notre équipe, des **simulations** ont été réalisées afin d'étudier la capacité du modèle à estimer la Css par **analyse bayésienne** à partir d'un nombre réduit de prélèvements réalisés **juste après la première injection de CMS**.
- ✓ En parallèle, des simulations ont également été réalisées afin de déterminer quel paramètre PK avait le plus fort impact sur la Css.
- ✓ Les simulations ont été réalisées **sans prendre en compte la variabilité intra-individuelle** décrite dans le modèle de population, pour un patient avec une **CLcreat de 40 mL/min recevant 6 MUI de CMS en 3 injections par jour**.
- ✓ Quelque soit le nombre de prélèvement ( $t=1h +/- t=4h +/- t=8h$ ), la **Css est estimée avec un biais moyen de 20 à 25%**.
- ✓ Le **paramètre PK ayant la plus grande influence sur la Css est la  $CL_{coli}$** . Toutefois, le mécanisme d'élimination de cette molécule reste à ce jour inconnu.

✓ Cette étude de faisabilité comporte de **nombreuses limites** et les résultats préliminaires obtenus à partir des simulations suggèrent la **difficulté à prédire la Css dès la première injection de CMS**. Toutefois, ce travail a permis une **meilleure description de la variabilité inter-individuelle de la colistine**.

Ce travail a fait l'objet d'une publication en cours d'écriture dont les résultats préliminaires sont présentés dans les pages suivantes.

1    **Are we ready for therapeutic drug monitoring of colistin using bayesian approaches?**

2    Authors: Sophie Magréault<sup>1,2</sup>, Nicolas Grégoire<sup>1</sup>, Sandrine Marchand<sup>1,2</sup>, Patrice Gobin<sup>1,2</sup>,  
3    France Roblot<sup>1,2</sup>, Olivier Mimoz<sup>1,2</sup>, William Couet<sup>1,2</sup>.

4    Affiliation:      <sup>1</sup> INSERM U1070, Pôle Biologie Santé, Poitiers      <sup>2</sup> CHU de Poitiers

5

6    **Introduction**

7    Colistin is a polypeptide antibiotic used as a last resort against multidrug-resistant Gram-negative  
8    bacilli, administered as an inactive prodrug, colistin methanesulfonate (CMS) [1]. The non-usage of  
9    colistin for several years protected this antibiotic against the emergence of multidrug-resistant  
10   bacteria, but in return the marketing authorization file provides very little information on its  
11   pharmacokinetics with the regained interest in this molecule. The main obstacles regarding the  
12   adaptation of Colistin dosing regimen are the high inter-individual variability and the narrow  
13   therapeutic window described with this molecule. For the moment CMS daily doses are adjusted for  
14   Creatinine Clearance (CL<sub>creat</sub>), to account for the effect of renal function on CMS excretion, which in  
15   turn determines how much of the CMS dose is eventually converted into colistin. Based upon a  
16   recent population PK study in ICU patients published by Gregoire *et al.* [2] daily doses may a priori be  
17   selected as described in Figure 1 to maintain average colistin concentrations at steady-state (Css)  
18   between a 2 to 4 µg/mL therapeutic window in a typical patient. However and in practice, authors  
19   agree that there is real difficulties to achieve a Css equal to 2 µg/mL in patients with preserved renal  
20   function, because a large part of the administrated CMS is then excreted unchanged by the kidneys  
21   [2-5]. This Css is characterized by two parameters reflecting colistin formation : CMS renal clearance  
22   ( $CL_{R,CMS}$ ) and CMS non-renal clearance ( $CL_{NR,CMS}$ ) and by a third parameter characterizing colistin  
23   elimination : colistin clearance ( $CL_{COLI}$ ) as described in Equation 1 [6]:

24      Equation 1:      $C_{ss} = \frac{CL_{NR,CMS}}{CL_{NR,CMS} + CL_{R,CMS}} \times \frac{Dose}{\tau \times CL_{COLI}}$

25      With  $\tau$ , the time range between two injection and Dose/ $\tau$ , the daily maintenance dose of CMS  
26      and colistin volumes of distribution (respectively  $V_{CMS}$  and  $V_{COLI}$ ) have no effect on  $C_{ss}$ .

27      The objectives of this study was to use the data recently published by our group [2] to characterize  
28      colistin inter-individual variability and to assess the feasibility of a bayesian approach for colistin  
29      TDM.

30

31      **Method**

32      **Characterization of inter-individual variability**

33      Monte Carlo simulations were performed using Berkeley-Madonna software version 8.3.18<sup>®</sup> from  
34      population model published by Grégoire *et al.* [2]. One thousand simulations were performed  
35      selecting randomly values for PK parameters and weight from the typical value and the distribution  
36      observed in the model to investigate which pharmacokinetic parameters were the most influent on  
37      the  $C_{ss}$ .  $CL_{creat}$  was considered as known (40mL/min) and 2MUI three times a day were  
38      administrated to the 1000 simulated patients. Intra-individual variability and residual error were not  
39      considered in this study.

40      The 90% interval of fluctuation of colistin concentrations was calculated. The distribution of  $C_{ss}$  was  
41      shown when the three parameters involved in  $C_{ss}$  variations evolve according to the inter-individual  
42      variability described in the study published by Gregoire *et al.* [2] and when the parameters evolve  
43      one by one, the others being set to the typical value of the study.

44

45       **$C_{ss}$  estimation using Bayesian analyses**

46      Subsequently, it was tried to assess if it was possible to estimate the  $C_{ss}$  by bayesian analysis of CMS  
47      and colistin concentrations measured after the first injection. The study was also realized with only

48 colistin concentrations. Bayesian analyses were performed from samples taken after the first  
49 injection in the 1000 simulated patients: trough +/- two other measured concentrations. PK  
50 parameters have been estimated for each simulated patient using a bayesian analysis with the  
51 Monolix software 4.2.2®. Css were estimated by divided colistin AUC between two CMS  
52 administrations at steady state by the time interval (8 h). The estimated Css ( $C_{est}$ ) has been then  
53 compared with the simulated Css ( $C_{sim}$ ) (Figure 2) and mean biases have been calculated for each  
54 parameter and for Css.

55

## 56 **Results**

### 57 **Characterization of inter-individual variability**

58 Simulated colistin concentrations obtained after administration of 2 MIU of CMS third daily in 1000  
59 patients with a creatinine clearance fixed at 40mL/min are represented on Figure 3. The predicted  
60 concentrations were comprised between 0.5 and 8 µg/mL at steady state and a major inter-individual  
61 variability had already been observed after the first dose. The corresponding Css calculated for each  
62 simulated patient is within the therapeutic margins, between 2 and 4 µg/mL, for half of the  
63 simulated patients (48 %) whereas this concentration was lower than 1 µg/mL and higher than 6  
64 µg/mL for 10% of the simulated patients (respectively 2% and 8%).

65 When assessing the impact of the inter-individual variability of each of the three parameters  
66 impacting Css,  $CL_{COLI}$  had the more impact as illustrated by the largest 90% interval of fluctuation  
67 (Figure 4).

68

### 69 **Css estimation using Bayesian analyses**

70 The mean bias between actual PK parameters and parameters estimated by bayesian analyses with a  
71 various number of samples collected after the first dose are presented in Table I. Collecting one

72 sample after the first injection of CMS does not provide a good estimation of the PK parameter but  
73 provides an estimation of Css with a quite good accuracy (mean bias = 24%). Measuring additional  
74 concentrations of colistin after the first dose improves the estimation of CMS and colistin volumes of  
75 distribution which do not impact the Css. To compare, the estimation of the Css *a priori* without any  
76 sample was associated to a bias of 45%. The use of CMS concentrations did not improve the bayesian  
77 analysis (data not shown).

78

## 79 **Discussion**

80 The main challenge related to the colistin dosage adjustment lies in the strong inter-individual  
81 variability associated to this molecule. According to Equation 1, the Css is determined by three PK  
82 parameters:  $CL_{NR,CMS}$ ,  $CL_{R,CMS}$ , and  $CL_{COLI}$  [6]. Garonzik et al. [5] believed that the renal function  
83 explained a great part of the inter-individual variability after all, using Monte Carlo simulations, this  
84 variability was proved to be very important although the creatinine clearance was fixed (Figure 3).  
  
85  $CL_{COLI}$  variations are those which generate the most variations over the Css with only 61% of the  
86 patients within the therapeutic margins (Figure 4) after the administration of 2 MIU three times a  
87 day. However, it is difficult to explain the impact of this parameter since the clearance mechanisms  
88 for colistin are largely unknown. On the other hand, the  $CL_{R,CMS}$  values are associated to the CLcreat  
89 values and thus to the glomerular filtration rate (GFR). The inter-individual variability, after  
90 considering the  $CL_{R,CMS}$  can have two origins. The first origin relies on the fact that, if we consider that  
91 the GFR provides a perfect description of the  $CL_{R,CMS}$  evolution, the variability associated comes from  
92 the mistake made when assessing the CLcreat from Cockcroft and Gault formula in critical-care  
93 patients. The second origin relies on the physiological mechanism associated to the  $CL_{R,CMS}$ : if this  
94 pro-drug is strongly fixed or if it is not only filtrated during the urinary excretion but also secreted or  
95 reabsorbed, then the GFR cannot predict the variations of the CMS renal clearance. When the  
96 CLcreat is fixed at 40mL/min and that only the inter-individual variability associated to the  $CL_{R,CMS}$  is

97 considered, the  $C_{ss}$  dispersion is also very important and only 2/3 of the patients are within the  
98 therapeutic margin (Figure 4). The Monte Carlo simulations also highlighted the low impact of the  
99  $CL_{NR,CMS}$  over the  $C_{ss}$ .

100 The  $CL_{R,CMS}$  and the  $CL_{COLI}$  are thus the two main parameters influencing the steady-state colistin  
101 concentrations. Besides, it is probable that the GFR does not explain the  $CL_{R,CMS}$  on its own. Yet,  
102 currently in practice, the CMS dosages are adapted according to the  $CL_{creat}$  and it was demonstrated  
103 that more efficient  $C_{ss}$  could be reached thank to an alteration of the renal function (Figure 1). Using  
104 bayesian analyses in order to adapt the CMS dose regimen would enable us to take into account the  
105 influence of all the PK parameters and not only the renal function.

106 Currently, bayesian analyses performed from the trough concentration after the first administration  
107 of the antibiotic provide an estimation of the  $C_{ss}$  with a bias of 29%, which is not satisfactory.  
108 Adding early times of sample measurement after the first injection at 1h and 4h mainly brings  
109 information regarding the volumes of distribution, which does not provide a better estimation of the  
110 mean steady-state concentration. Nevertheless, performing bayesian analyses provides a better  
111 estimation of the  $C_{ss}$  than when this concentration is calculated *a priori*, without considering any  
112 time of measurement (bias of 45%).

113

114 Of note, the Monte Carlo simulations were performed from three different hypotheses. To simplify  
115 the interpretations of this study, a special critical-care patient profile, for which creatinine clearance  
116 was fixed at 40mL/min, was chosen. Fixing this covariate associated to  $CL_{R,CMS}$  allowed us to abandon  
117 the variability associated to the differences regarding the patients' renal functions. Besides, the intra-  
118 individual variability was not considered in the study to best describe the impact of the parameters.  
119 Yet, in these critical-care patients, this variability is far from negligible and is not only related to the  
120 renal function [2]. Considering this intra-individual variability in bayesian analyses would only  
121 increase the mean bias over  $C_{ss}$ . Dosages must be repeated each time clinicians note clinical

122 modifications in their patients. Finally, the third hypothesis suggested during these simulations  
123 focuses on the dosing regimen. In order to be closer to the reference population model [2], the daily  
124 dose of 6 MIU was administered in three injections every 8 hours. Nevertheless, the current  
125 recommendations encourage to administrate CMS in two daily injections, with a loading dose before  
126 [4]. When the administration occurs every 8 hours, the fluctuations over the colistin concentrations  
127 are less important than if the administration occurred twice a day.

128

## 129 **Conclusion**

130 With the limits of the assumptions made for these simulations, a bayesian approach with  
131 determination of the first residual colistin concentration should improve the accuracy of Css  
132 prediction in ICU patients. Dosing the trough concentration after the first injection enables to predict  
133 the Css with a mean bias of 24% which is not totally satisfactory but really better than an *a priori*  
134 estimation.

## References

1. Li J, Nation RL, Turnidge JD, et al. Colistin: the re-emerging antibiotic for multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. *The Lancet Infectious diseases* **2006**; 6(9): 589-601.
2. Gregoire N, Mimoz O, Megarbane B, et al. New colistin population pharmacokinetic data in critically ill patients suggesting an alternative loading dose rationale. *Antimicrobial agents and chemotherapy* **2014**; 58(12): 7324-30.
3. Couet W, Gregoire N, Gobin P, et al. Pharmacokinetics of colistin and colistimethate sodium after a single 80-mg intravenous dose of CMS in young healthy volunteers. *Clinical pharmacology and therapeutics* **2011**; 89(6): 875-9.
4. Plachouras D, Karvanen M, Friberg LE, et al. Population pharmacokinetic analysis of colistin methanesulfonate and colistin after intravenous administration in critically ill patients with infections caused by gram-negative bacteria. *Antimicrobial agents and chemotherapy* **2009**; 53(8): 3430-6.
5. Garonzik SM, Li J, Thamlikitkul V, et al. Population pharmacokinetics of colistin methanesulfonate and formed colistin in critically ill patients from a multicenter study provide dosing suggestions for various categories of patients. *Antimicrobial agents and chemotherapy* **2011**; 55(7): 3284-94.
6. Couet W, Gregoire N, Marchand S, Mimoz O. Colistin pharmacokinetics: the fog is lifting. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **2012**; 18(1): 30-9.

## Figures legend

Figure 1: Simulated mean steady-state colistin concentrations according to CLcreat using typical CMS and colistin parameters from the model described by Gregoire et al [2]. Three CMS dose regimen were studied: 1 MIU (green line), 2 MIU (pink line) and 3 MIU (blue line) three times a day. Color bands are associated to the optimal dose regimen to be used depending on the CLcreat value.

Figure 2: Synthesis of the methodology and terminology used in this study.

Figure 3: Inter-individual variability observed regarding colistin concentrations according to time after the administration of a dose of 2 MIU x 3/day in 1000 simulated patients with a CLcreat fixed at 40 mL/min. The blue line represents the median colistin concentrations and the grey zone the 90% interval of fluctuation. The dashed line corresponds to the median estimated Css (3,2 µg/mL).

Figure 4: Colistin concentrations at steady state and distribution of Css when  $CL_{COLI}$  and  $CL_{NR,CMS}$  evolve and when we consider the estimation error of  $CL_{R,CMS}$

Figure 1

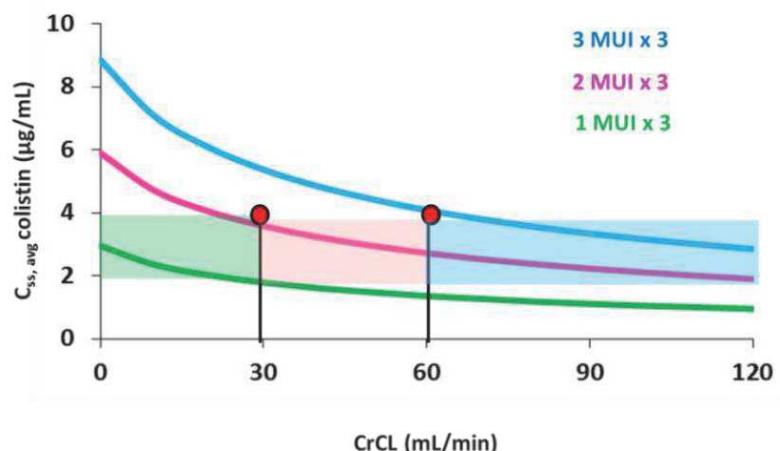


Figure 2

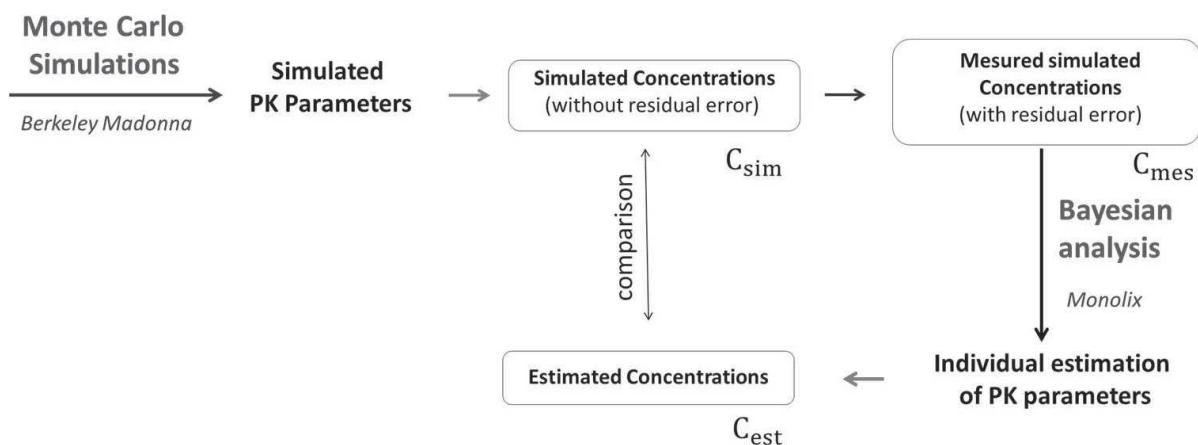


Figure 3

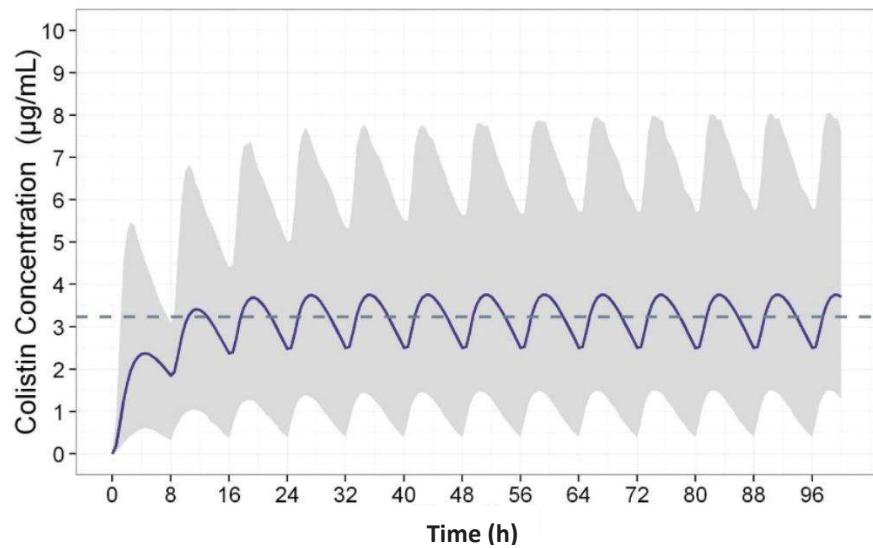


Figure 4

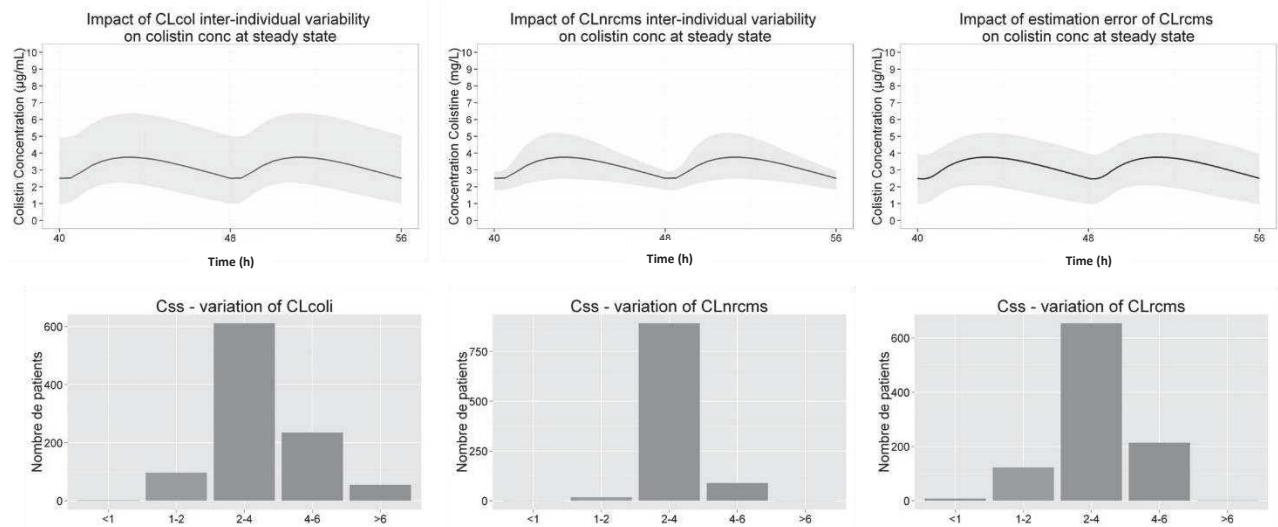


Table I: Mean biases calculated after bayesian analysis

Plasma sample after 8 hours		Plasma samples after 1 and 8 hours		Plasma samples after 1, 4 and 8 hours		No plasma sample	
Mean bias		Mean bias		Mean bias		Mean bias	
CLnrcms	39%	CLnrcms	33%	CLnrcms	30%	CLnrcms	41%
Clcoli	30%	Clcoli	30%	Clcoli	30%	Clcoli	37%
Vcms	41%	Vcms	32%	Vcms	30%	Vcms	41%
Vcol	86%	Vcol	49%	Vcol	44%	Vcol	86%
CLrcms	74%	CLrcms	74%	CLrcms	62%	CLrcms	95%
C <sub>ss,avg</sub>	24%	C <sub>ss,avg</sub>	22%	C <sub>ss,avg</sub>	21%	C <sub>ss,avg</sub>	45%



# **CHAPITRE III**

---

-

## **Impact PK de l'administration du CMS une fois par jour**

---



## Points clés :

- ✓ La colistine est administrée sous la forme de sa prodrogue inactive, le CMS, avec un **schéma posologique classique** constitué d'une **dose de charge de 9 MUI** suivi d'une **dose d'entretien adaptée à la fonction rénale** du patient répartie en **2 à 3 injections par jour**.
- ✓ L'**index PK-PD** décrivant le mieux l'efficacité de la colistine est le **ratio AUC<sub>0-24h</sub>/CMI**. En partant de l'hypothèse que la **pharmacocinétique de la colistine est linéaire**, le **fractionnement de la dose** journalière en une, deux ou trois administrations ne devraient **pas avoir d'impact sur ce ratio**.
- ✓ L'administration du CMS en **une seule dose journalière** permettrait par ailleurs d'obtenir une **concentration résiduelle (Cmin) plus faible et limiter ainsi les risques de néphrotoxicité**, associés à une Cmin > 2.4 mg/L.
- ✓ Afin de confirmer cette hypothèse, la **caractérisation de pharmacocinétique du CMS et de la colistine** chez des **patients de réanimation** recevant **une dose de CMS adaptée à leur fonction rénale en une seule injection journalière** était nécessaire.
- ✓ **Neuf patients** présentant une infection à BGN multirésistant et une fonction rénale préservée ont été enrôlés dans l'étude et ont reçu **9 MUI de CMS une fois par jour**. Des prélèvements ont été réalisés juste avant la 1<sup>ère</sup> et la 3<sup>ème</sup> injection de CMS puis 1h, 3h, 5h, 12h et 24h après l'injection. CMS et colistine ont été dosés par LC-MS/MS et un modèle de pharmacocinétique de population constitué d'un compartiment pour le CMS et un compartiment pour la colistine a permis d'analyser les données.
- ✓ Les résultats montrent une **faible accumulation de la colistine entre le 1<sup>er</sup> et le 3<sup>eme</sup> jour** avec des **courbes superposées pour chacun des 9 patients**.
- ✓ L'**infection a été résolue** chez les 9 patients et **aucun effet indésirable n'a été rapporté**.
- ✓ A l'**équilibre**, la valeur typique de la **concentration moyenne à l'équilibre en colistine** était égale à **4.3 mg/L** et la valeur typique de la **concentration résiduelle** était égale à **1.7 mg/L**.

- ✓ Bien qu'une étude avec un nombre plus élevé de patients soit nécessaire, l'**administration du CMS en une seule dose journalière** semble aboutir à une **exposition en colistine efficace** associée à des **concentrations résiduelles peu élevées**, réduisant ainsi le risque de néphrotoxicité. Des **études *in vitro*** afin d'étudier le **risque d'émergences de résistances bactériennes avec ce schéma posologique** doivent également être envisagées.

Ce travail a fait l'objet d'une publication en cours d'écriture dont les résultats préliminaires sont présentés dans les pages suivantes.

1    **Pharmacokinetics of colistin after once-daily intravenous administration of**  
2    **9 MIU as CMS in intensive care unit patients**

3

4    Authors: Sophie Magréault<sup>1</sup>, Dimitris Bassoulis<sup>2</sup>, Nicolas Grégoire<sup>1</sup>, Anna Skiada<sup>2</sup>,  
5    Sandrine Marchand<sup>1</sup>, William Couet, Georges Daikos<sup>2</sup>

6

7    <sup>1</sup> Université de Poitiers, CHU de Poitiers and Inserm U1070 ; <sup>2</sup> First Department of Medicine,  
8    Laiko General Hospital, National and Kapodistrian University of Athens, Greece

9

10

11    **INTRODUCTION**

12    Colistin is an old antibiotic that has recently gained a considerable renewal of interest as the  
13    last-line defense therapy against multidrug-resistant Gram-negative bacteria, and its  
14    antimicrobial efficacy is hampered by its potential nephrotoxicity (1). It is administered as an  
15    inactive prodrug, colistin methanesulfonate (CMS), starting with a 9MIU loading dose  
16    (approximately 270 mg colistin base activity), followed by a daily dose (typically 9MIU in  
17    patients with preserved renal function), divided into 2 or 3 administrations (2).

18    Yet because colistin efficacy is related to area under the curve (AUC) (3), daily dose  
19    fractionation should not improve efficacy (providing colistin pharmacokinetics is linear) but  
20    should increase trough concentrations (Cmin) and therefore nephrotoxicity, since this is  
21    related to Cmin>2.4mg/l (4).

22 The aim of this study was to characterize the pharmacokinetics of colistin administered at  
23 9MIU once daily in patients with preserved renal function.

24

25 **MATERIALS AND METHODS**

26 **Study Population**

27 The study was conducted between August 2016 and June 2017 in Laiko General Hospital, a  
28 500-bed tertiary care hospital located in Athens, Greece. Subjects older than 18 years of age  
29 who were receiving colistin once daily for presumed or confirmed infection caused by  
30 multidrug resistant gram-negative bacteria were eligible for the study. Patients with  
31 glomerular filtration rate (GFR) < 50 ml/min and patients with septic shock were excluded.  
32 Pertinent information, including demographic characteristics, age, weight, height, underlying  
33 diseases, type of infection, severity of sepsis, and serum creatinine were extracted from  
34 medical records. The institutional review board of the hospital approved the study and  
35 informed consent was obtained by all study participants.

36

37 **Procedures**

38 Patients were recruited on the day when colistin therapy was initiated. All study participants  
39 received 9 million IU (MIU) of colistin once daily intravenously in an infusion lasting one  
40 hour. On day 1, five blood samples were collected at pre-specified time points; 1h (that is  
41 upon completion of the infusion), 3h, 5h, 12h and 24h after the start of the infusion. On day 3,  
42 six samples were collected at 0h (that is immediately prior to the infusion), 1h (immediately  
43 after the infusion), 3h, 5h, 12h and 24h after the start of the infusion. Blood samples, 10 mL  
44 each, were collected using EDTA tubes and immediately placed in ice. They were centrifuged

45 in a cold centrifuge at -5° C at 2500g for 10 minutes. Plasma was transferred to two eppendorf  
46 vials and stored at -80° C until the time when colistin concentrations were determined. Plasma  
47 samples were then assayed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-  
48 MS/MS), as previously described (5) with a lower limit of quantification (LOQ) of 0.15 mg/l.

49

50 **Pharmacokinetic modeling**

51 Differences in the molecular masses between CMS (1.632 g/mol) and colistin (1.167 g/mol)  
52 were considered for biotransformation rate calculation. In the modeling, the estimated colistin  
53 PK parameters were scaled to the unknow fraction of administered CMS formed into colistin  
54 (fm).

55 CMS and colistin concentrations, as well as the interindividual variability (IIV), interoccasion  
56 variability (IOV), and residual errors, were analyzed simultaneously using non-linear mixed-  
57 effects regression (population approach) with Monolix Suite software program (v2016R1,  
58 Lixoft, Orsay, France) using SAEM algorithm (6). The inter-individual variability of the PK  
59 parameters was computed, assuming a log-normal distribution. The residual error was  
60 evaluated to be additive, proportional, or both additive and proportional. The final model was  
61 assessed by an inspection of the observed versus predicted concentrations, residual variability,  
62 precision of parameter estimates and normalized prediction distribution errors (NPDE).

63

64 **RESULTS**

65 **Patients**

66 Nine patients were enrolled in this study; 6 males and 3 females with a mean age  $69 \pm 16$  year  
67 (range: 41-87 years). Eight patients had confirmed infection and one presumed based on

68 clinical criteria. The mean serum creatinine concentration was  $0.64 \pm 0.25$  mg/dL and the  
69 mean creatinine clearance, as calculated using the Cockcroft-Gault equation, was  $109 \pm 38.3$   
70 mL/min.

71

72 **Pharmacokinetic analysis**

73 Maximum observed CMS concentrations ranged from 17 to 55 mg/l (median value = 34 mg/l)  
74 and from 25 to 62 mg/l (median value = 42 mg/l) at Day 1 and Day 3, respectively, while  
75 minimal CMS concentrations were almost always below the lower limit of quantification 24  
76 hours after the start of the infusion.

77 Concerning colistin, maximum observed concentrations ranged from 2.4 to 8.4 mg/l (median  
78 value = 5.3 mg/l) at Day 1 and from 2.4 to 9.2 mg/l (median value = 7.8 mg/l) at Day 3, with  
79 minimal value ranged from 0.1 to 3.7 mg/l (median value = 1.1 mg/l) and from 0.2 to 6.0 mg/l  
80 (median value = 2.3 mg/l) at Day 1 and Day 3, respectively.

81 Observed and model predicted plasma concentrations versus time of CMS and colistin after  
82 the 1st and 3rd CMS administrations are illustrated on Figure 1 for the 9 patients. Visual  
83 inspection suggests limited inter-day variability.

84

85 A one-compartment model was sufficient to describe both CMS and colistin  
86 pharmacokinetics and estimated PK parameters values are presented in Table 1. In some  
87 patients the estimation of the late concentrations of CMS (12 hours after the start of the  
88 infusion of CMS at Day 1 and at Day 3) was biased which is notice by the relatively high  
89 residual variability for CMS concentrations (33.5 % proportional and 0.64 mg/l additive)  
90 (Table 1) and the observation of the NPDE (supplemental material). Median CMS volume of

91 distribution ( $V_{CMS}$ ) was estimated at 12.6 L. Median total CMS clearance ( $CL_{CMS}$ ) was equal  
92 to 118 ml/min, with a resulting CMS elimination half-life equal to 1.2 h. The inclusion of  
93 inter-individual variability, as the inclusion of body weight and creatinine clearance as  
94 covariates did not improve the modeling for both  $V_{CMS}$  and  $CL_{CMS}$ .

95 Based on the model, the median predicted Cmax of CMS after the end of the first infusion  
96 was 34.9 mg/l (Table 2). No accumulation was observed, with residual CMS concentrations  
97 below the limit of quantification and Cmax of CMS also equal to 34.9 mg/l after the third  
98 injection.

99

100 For colistin concentrations, inspection of the observed versus predicted concentrations (Figure  
101 1), residual variability (49.4% proportional, Table 1), precision of parameter estimates (<  
102 20%, Table 1), and normalized prediction distribution errors (which follow a normal  
103 distribution, centered on zero with a standard deviation equal to 1, supplemental material) are  
104 satisfactory.

105 The interindividual variabilities in colistin PK parameters were relatively large (CV = 25%  
106 and 41% for  $V_{col}/fm$  and  $CL_{col}/fm$ , respectively, Table 1).

107

108 The median values of colistin apparent volume of distribution ( $V_{col}/fm$ ) and apparent  
109 clearance ( $CL_{col}/fm$ ), with fm corresponding to the fraction of the administered CMS  
110 converted in colistin, were estimated at 60.7 L and 66.7 ml/min respectively, with a  
111 corresponding elimination half-life equal to 8.4 h, that is much higher than that of CMS.

112

113 The typical Cmax after the first and the third administration of CMS were predicted at 6.2  
114 mg/l and at 7.3 mg/l, respectively, reflecting a small accumulation of the active metabolite.  
115 The typical time to achieve these concentrations (Tmax) was equal to 4 h.

116

117 **Discussion**

118 It is now widely admitted that colistin treatments should start with a loading dose, typically 9  
119 MIU of CMS, followed by a maintenance dose equal to 9 MIU daily for patients with  
120 preserved renal function, given in 2 or 3 administrations (7-11). But this is the first study  
121 describing CMS and colistin pharmacokinetics after once daily administrations of CMS.

122 Therefore, these new data can only be directly compared with those previously published after  
123 patients received a 9 MIU loading dose (11). However, between studies comparisons are  
124 important since CMS and colistin PK in ICU patients vary extensively between individuals (8,  
125 12) but also between brands (2). Yet because there is no evidence of concentration  
126 dependency of colistin PK both in animals (13) and human, concentrations may be  
127 normalized to dose for comparisons purpose.

128 However, precise comparisons between studies are difficult because of differences in study  
129 design and patient characteristics, particularly for renal functions. Table 2 compare data of PK  
130 parameters with previous population PK studies conducted with various dose regimen,  
131 various brand of CMS and in critical care patients with different renal functions (7, 8, 11, 12,  
132 14).

133 Concerning colistin, the apparent clearance of colistin of the present study (77.2 ml/min) is  
134 close to be half those described in Plachouras *et al.* (152 ml/min) (7), Garonzik *et al.* (207  
135 ml/min) (8) and Karaiskos *et al.* (126 ml/min L) (11) reports. The apparent volume of  
136 distribution is lower in the present study (56.1 L) than in the other studies (Table 2) (7, 8, 11,

137 14). These differences in primary PK parameters impact the computed colistin elimination  
138 half-life which is shorter in the present study (8.6 h) than in those conducted in ICU patients  
139 with preserved renal function (14.4 h (7) and 11.2 h (11)). This value is similar to those  
140 reported by Garonzik *et al.* (9.2 h (8)) but much higher than those reported by Grégoire et al.  
141 (3.2 h (12)) in patients with impacted renal functions.

142 Table 2 also summarized colistin maximal concentrations and time to achieve these  
143 concentrations after 60-min infusion of a loading dose of 9 MIU of CMS. Colistin Cmax is  
144 closed in the present study (6.2 mg/l) and in Grégoire *et al.* (9.4 mg/l (12)) but three fold  
145 higher than in the simulations made by Plachouras *et al.* (1.8 h (7)) and the study conducted  
146 by Karaikos *et al.* (2.3 mg/l (11)).

147 These discrepancies could be linked to the analytical methods or potential hydrolysis during  
148 the pre-analysis phase which may lead to artificially high colistin concentrations at early  
149 sampling times but seems rather related to the brand-to-brand variability in the composition of  
150 CMS formulations (15, 16). The last publication from Karaiskos *et al.* (11) have then shown  
151 that a lower total availability of all CMS doses was administered in the earlier study from  
152 Plachouras *et al.* (7) : the total availability was estimated to be 61 % compared to the  
153 formulation used in the more recent study. The authors explained that these differences were  
154 linked to a higher proportion of the A and B forms in more recent CMS formulations;  
155 consequently, both the CMS A plus B and the colistin A plus B concentrations will be higher  
156 in the new study.

157

158 Beyond the differences in PK parameters, efficacy and safety of the administration of CMS  
159 once daily have to be considered.

160 As previously mentioned, it has been reported that steady state average colistin concentration  
161 (Css) values should be higher than 2 mg/l to be effective (2). These target derives from the  
162 pharmacokinetic/pharmacodynamic indices to reach target values determined in a mouse  
163 thigh infection model (ratio of the area under the unbound concentration-time curve to the  
164 MIC [ $fAUC/MIC$ ] of about 12) for bacteria with an MIC lower than 2-4 mg/l (3). In the  
165 present study, the mean colistin Css is equal to 4.3 mg/l with minimum and maximum values  
166 equal to 1.5 mg/l and 7.6 mg/l, respectively.

167 PK of colistin was described to be linear in all the previous studies (7, 8, 11, 12), so changes  
168 in dose regimen should not impact  $AUC_{0-24h}$  values at steady state. Table 3 reports the  
169 estimation of colistin  $AUC_{0-24h}$  at steady state and the associated Css calculated with the PK  
170 parameters of the different studies previously cited, for a ICU patient with a preserved renal  
171 function ( $CL_{CR}$ , 82 ml/min) and a body weight equal to 80 kg. Estimations were realized  
172 using the dose regimen the most applied in each study, even when the dose regimen was  
173 freely chosen by physicians (8, 12).

174 However, these results highlight a higher Css in the present study (4.3 mg/l) than in previous  
175 studies (between 1.6 and 3.4 mg/l (7, 8, 11, 12). This could be linked to the lower  $CL_{col}/fm$   
176 calculated in this study, as Css is linked to  $CL_{col}/fm$  ( $Css = (fm \times dose)/CL_{col}$ ) and may  
177 suggest a non-linearity of colistin elimination with higher doses even if the number of patients  
178 in the present study is far too low to make this conclusion.

179

180 Nephrotoxicity is the main adverse effect reported with the use of colistin and is considered to  
181 be dose dependent (17). Colistin-associated nephrotoxicity usually occurs within the first 5  
182 days of treatments and is reversible upon cessation of treatment (18). It has previously been  
183 reported that a residual concentration of colistin  $\geq 3.3$  mg/l on day 7 of the treatment or  $\geq 2.4$

184 mg/l at the end of the treatment was a predictor for acute kidney injury (AKI) (19). Later, the  
185 same group of investigators reported results of a small prospective validation study (64  
186 patients) in which they assessed the trough plasma colistin concentration breakpoint of 2.42  
187 mg/l (20). More recently, a study conducted in 214 critical care patients by Forrest *et al.* (4)  
188 revealed that rates of AKI were substantially higher when average steady-state plasma colistin  
189 concentration was greater than ~ 2 mg/l. This study pointed the very low therapeutic window  
190 of colistin and the need to monitor both colistin residuals concentrations and creatinine  
191 values, as it was already described (21, 22).

192

193 Simulations with actual parameters and a dose regimen of 9 MIU q24h showed that 77.9 %  
194 and 64.8 % of the simulated profiles had a residual concentration of colistin on day 7 of the  
195 treatment < 3.3 and 2.4 mg/l, respectively with a typical value equal to 1.8 mg/l (Table 4).  
196 These simulations have also been applied with different dose regimen (3MIU q8h and 4.5  
197 MIU q12h), considering colistin PK was linear, and showed higher typical values of residual  
198 concentrations of colistin, equal to 3.7 mg/l and 3.2 mg/l, respectively, resulting in a higher  
199 risk of nephrotoxicity.

200

201 Considering the difficulties to achieve Css below 2 mg/l when CMS is administrated twice or  
202 three time a day, the administration of CMS once daily could be considered as an effective  
203 alternative. Complementary experiments are now needed in larger number of patients to  
204 provide a better characterization of colistin clearance and to ensure this dose regimen did not  
205 improve colistin toxicity and bacterial resistance.

206

207

## References

1. Li J, Nation RL, Turnidge JD, Milne RW, Coulthard K, Rayner CR, et al. Colistin: the re-emerging antibiotic for multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. *The Lancet Infectious diseases*. 2006;6(9):589-601.
2. Nation RL, Garonzik SM, Thamlikitkul V, Giambarellos-Bourboulis EJ, Forrest A, Paterson DL, et al. Dosing guidance for intravenous colistin in critically-ill patients. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2017;64(5):565-71.
3. Cheah SE, Wang J, Nguyen VT, Turnidge JD, Li J, Nation RL. New pharmacokinetic/pharmacodynamic studies of systemically administered colistin against *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* in mouse thigh and lung infection models: smaller response in lung infection. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2015;70(12):3291-7.
4. Forrest A, Garonzik SM, Thamlikitkul V, Giambarellos-Bourboulis EJ, Paterson DL, Li J, et al. Pharmacokinetic/toxicodynamic analysis of colistin-associated acute kidney injury in critically ill patients. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2017.
5. Gobin P, Lemaitre F, Marchand S, Couet W, Olivier JC. Assay of colistin and colistin methanesulfonate in plasma and urine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2010;54(5):1941-8.
6. Lavielle M. Monolix (MOdèles NOn LINéaires à effets miXtes). Lixoft, Orsay, France. 2008, postind date.
7. Plachouras D, Karvanen M, Friberg LE, Papadomichelakis E, Antoniadou A, Tsangaris I, et al. Population pharmacokinetic analysis of colistin methanesulfonate and colistin after intravenous administration in critically ill patients with infections caused by gram-negative bacteria. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2009;53(8):3430-6.
8. Garonzik SM, Li J, Thamlikitkul V, Paterson DL, Shoham S, Jacob J, et al. Population pharmacokinetics of colistin methanesulfonate and formed colistin in critically ill patients from a multicenter study provide dosing suggestions for various categories of patients. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2011;55(7):3284-94.
9. Dalfino L, Puntillo F, Mosca A, Monno R, Spada ML, Coppolecchia S, et al. High-dose, extended-interval colistin administration in critically ill patients: is this the right dosing strategy? A preliminary study. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2012;54(12):1720-6.
10. Mohamed AF, Karaiskos I, Plachouras D, Karvanen M, Pontikis K, Jansson B, et al. Application of a loading dose of colistin methanesulfonate in critically ill patients: population pharmacokinetics, protein binding, and prediction of bacterial kill. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2012;56(8):4241-9.
11. Karaiskos I, Friberg LE, Pontikis K, Ioannidis K, Tsagkari V, Galani L, et al. Colistin Population Pharmacokinetics after Application of a Loading Dose of 9 MU Colistin Methanesulfonate in Critically Ill Patients. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2015;59(12):7240-8.
12. Gregoire N, Mimoz O, Megarbane B, Comets E, Chatelier D, Lasocki S, et al. New colistin population pharmacokinetic data in critically ill patients suggesting an alternative loading dose rationale. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2014;58(12):7324-30.
13. Marchand S, Lamarche I, Gobin P, Couet W. Dose-ranging pharmacokinetics of colistin methanesulphonate (CMS) and colistin in rats following single intravenous CMS doses. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2010;65(8):1753-8.
14. Couet W, Gregoire N, Gobin P, Saulnier PJ, Frasca D, Marchand S, et al. Pharmacokinetics of colistin and colistimethate sodium after a single 80-mg intravenous dose of CMS in young healthy volunteers. *Clinical pharmacology and therapeutics*. 2011;89(6):875-9.
15. He H, Li JC, Nation RL, Jacob J, Chen G, Lee HJ, et al. Pharmacokinetics of four different brands of colistimethate and formed colistin in rats. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2013;68(10):2311-7.

16. Nation RL, Velkov T, Li J. Colistin and polymyxin B: peas in a pod, or chalk and cheese? *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America.* 2014;59(1):88-94.
17. Falagas ME, Kasiakou SK. Toxicity of polymyxins: a systematic review of the evidence from old and recent studies. *Critical care.* 2006;10(1):R27.
18. Deryke CA, Crawford AJ, Uddin N, Wallace MR. Colistin dosing and nephrotoxicity in a large community teaching hospital. *Antimicrobial agents and chemotherapy.* 2010;54(10):4503-5.
19. Sorli L, Luque S, Grau S, Berenguer N, Segura C, Montero MM, et al. Trough colistin plasma level is an independent risk factor for nephrotoxicity: a prospective observational cohort study. *BMC infectious diseases.* 2013;13:380.
20. Horcajada JP, Sorli L, Luque S, Benito N, Segura C, Campillo N, et al. Validation of a colistin plasma concentration breakpoint as a predictor of nephrotoxicity in patients treated with colistin methanesulfonate. *International journal of antimicrobial agents.* 2016;48(6):725-7.
21. Couet W, Gregoire N, Marchand S, Mimoz O. Colistin pharmacokinetics: the fog is lifting. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases.* 2012;18(1):30-9.
22. Gregoire N, Aranzana-Climent V, Magreault S, Marchand S, Couet W. Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Colistin. *Clinical pharmacokinetics.* 2017.

## Figures

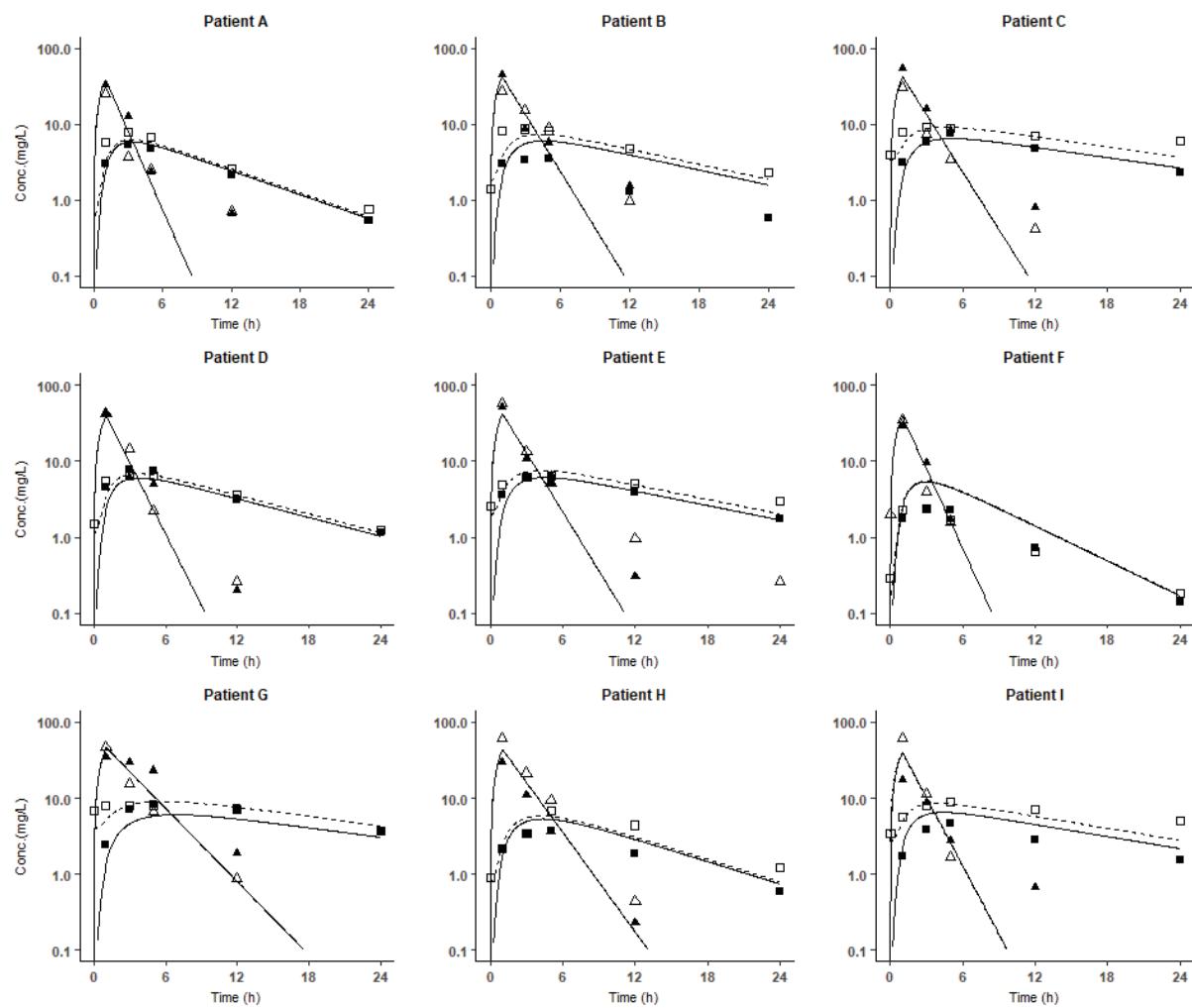


Figure 1 : CMS (triangles) and colistin (squares) observed plasma concentrations (Conc.) in 9 patients after first (full markers) and third (empty markers) CMS administration. Solid line and dashed line represents predicted concentrations for these patients after the first and the third dose, respectively.

## Tables

Table 1: Population pharmacokinetic parameters

Drug and parameter <sup>a</sup>	Typical value (RSE%) <sup>b</sup>	Interindividual variability CV% (RSE%) <sup>c</sup>
<b>CMS</b>		
$V_{CMS}$ (liters)	12.6 (8)	-
$CL_{CMS}$ (ml/min)	118 (10)	25 (28)
<b>Colistin</b>		
$V_{col}/f_m$ (liters)	56.1 (8)	-
$CL_{col}/f_m$ (ml/min)	77.2 (15)	41 (26)
<b>Residual error type</b>		
	Proportionnal CV% (RSE%) <sup>b</sup>	Additive (mg/l)
CMS plasma	33.5 (13)	0.64 (16)
Colistin plasma	49.4 (8)	

<sup>a</sup>  $V_{CMS}$ , volume of distribution of CMS;  $CL_{CMS}$ , total clearance of CMS;  $V_{col}$ , volume of distribution of colistin;  $f_m$ , fraction of the CMS dose not excreted unchanged that is converted into colistin;  $CL_{col}$ , total clearance of colistin.

<sup>b</sup> RSE, relative standard error (expressed as a percentage)

<sup>c</sup> CV, coefficient of variation

Table 2: Pharmacokinetic parameters across studies

	<b>Plachouras <i>et al.</i>, 2009</b>	<b>Garonzik <i>et al.</i>, 2011</b>	<b>Gregoire <i>et al.</i>, 2014</b>	<b>Karaiskos <i>et al.</i>, 2015</b>	<b>Present study, 2017</b>
Population	ICU patients <sup>a</sup> with preserved renal function	ICU patients with various renal function	ICU patients with various renal function	ICU patients with slightly impacted renal function and adm. of a LD <sup>b</sup>	Patients with preserved renal function
CMS brand	Colistin; Norma, Greece	Colistate; Atlantic Pharm Co., Thailand,	CMS; Paddock Inc., NY, USA	Colimycine; Sanofi-Aventis, France	Colistin; Norma, Greece
Dose regimen	3MIU q8h	dose regimens freely chosen by physicians	dose regimens freely chosen by physicians	9MIU + 4.5 MIU q12h	9 MIU q24h
<b>Primary parameters</b>					
CLcms (ml/min)	228	116	110	147	118
Vcms (L)	13.5	15.9	15.7	1.42	12.6
Vp,cms (L)	28.9	18.7	-	12.5	-
CLcol/fm (ml/min)	152	207	94.3	126	77.2
Vcol/fm (L)	189	165	25.7	122	56.1
<b>Secondary parameters</b>					
t1/2 cms (h)	2.1	3.5	1.6	1.7	1.2
t1/2 coli (h)	14.4	9.2	3.2	11.2	8.4
<b>Peak characteristics after the first injection</b>					
Dose at 1 <sup>st</sup> injection	3 MIU, normalized to 9 MIU	9 MIU (simulations)	9 MIU (simulations)	9 MIU	9 MIU
CMS					
Cmax (mg/l)	24	29	29	24	41
Colistin					
Cmax (mg/l)	1.8	1.6	9.4	2.3	7.3
Tmax (mg/l)	7	7	3	7	4

<sup>a</sup> ICU, intensive care unit patients; <sup>b</sup> LD, loading dose

**Table 3:** Secondary steady state pharmacokinetic parameters across studies in a typical Plachouras patient (i.e.,  $\text{CL}_{\text{CR}}$ , 82 ml/min, and body weight, 80 kg)

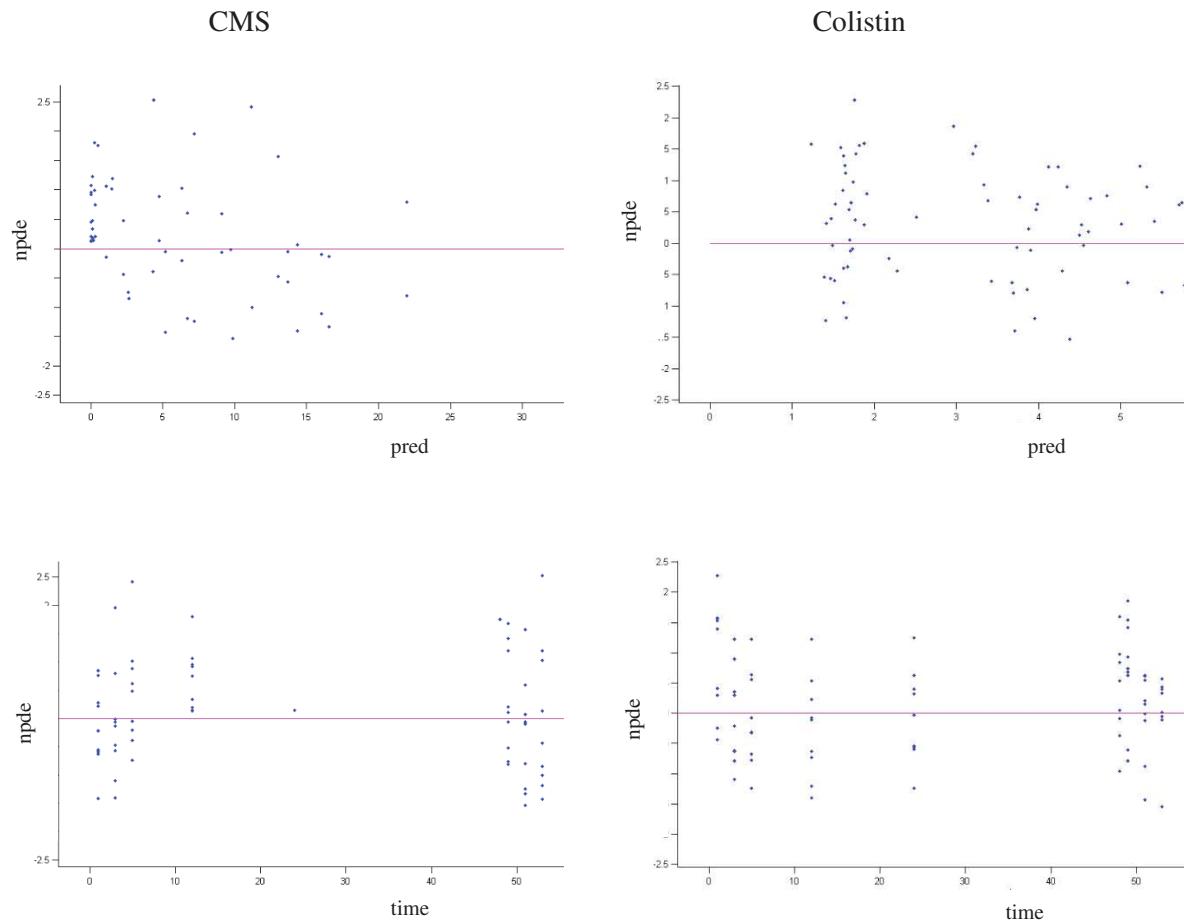
	<b>Plachouras <i>et al.</i>, 2009</b>	<b>Garonzik <i>et al.</i>, 2011</b>	<b>Gregoire <i>et al.</i>, 2014</b>	<b>Karaïskos <i>et al.</i>, 2015</b>	<b>Present study, 2017</b>
Population	ICU patients <sup>a</sup> with preserved renal function	ICU patients with various renal function	ICU patients with various renal function	ICU patients with slightly impacted renal function and adm. of a LD <sup>b</sup>	Patients with preserved renal function
Dose regimen used in the study	3MIU q8h	3 MIU q8h	3 MIU q8h	9MIU + 4.5 MIU q12h	9 MIU q24h
Colistin parameters at steady state					
AUC <sub>0-24h</sub> (mg/l.h <sup>-1</sup> )	52.4	38.6	82.0	61.8	104
C <sub>ss</sub> (mg/l)	2.2	1.6	3.4	2.6	4.3

**Table 4 :** Differences in residual concentrations at steady state for three different dose regimens (typical values and 1000 simulations realized with actual calculated PK parameters))

	3 MIU q8h typical value	4.5 MIU q12h typical value	9 MIU q24h typical value
$C_{\text{res}}$ (mg/l)	3.7	3.2	1.7
<b>Safety</b> (based on 1000 simulations)			
% Patients with $C_{\text{res}} < 3.3 \text{ mg/l}$	41.6 %	54.1 %	77.9 %
% Patients with $C_{\text{res}} < 2.4 \text{ mg/l}$	23.3 %	36.8 %	64.8 %

## Supplemental material

S1 : CMS and colistin npde





# **CHAPITRE IV**

---

## **Etude de la PK de la colistine chez le patient atteint de mucoviscidose**

---



## Points clés :

- ✓ Les patients atteints de **mucoviscidose** sont sujets à la **colonisation de leurs voies respiratoires** par des **bactéries multirésistantes**, fréquemment contrôlée par l'usage d'**aérosols contenant du CMS**. Le recours à l'utilisation du **CMS par voie intraveineuse** est parfois nécessaire.
- ✓ Cette population présente des **particularités physiologiques** conduisant généralement à une **sous-exposition aux traitements anti-infectieux** et nécessitant des **ajustements posologiques** par rapport à la population standard.
- ✓ Le but de cette étude était de **caractériser la pharmacocinétique du CMS et de la colistine après administration de CMS par aérosol et par voie intraveineuse chez les patients atteints de mucoviscidose**.
- ✓ **Six patients** âgés de 21 à 30 ans et présentant une **fonction rénale normale** ont été enrôlés dans l'étude. Leurs **concentrations en CMS et colistine** ont été étudiées après administration répétées **de CMS par aérosol** ainsi qu'après une **dose unique de CMS par voie intraveineuse**.
- ✓ La clairance rénale du CMS est apparue plus faible chez les patients atteints de mucoviscidose en comparaison des volontaires sains tandis que la **clairance apparente de colistine était quant à elle plus élevée** conduisant à une **sous-exposition en molécule active**.
- ✓ Après **administrations répétées de CMS par aérosols** les **concentrations en colistine étaient très faibles dans le plasma et très élevées au niveau pulmonaire**.

- ✓ Cette étude suggère que l'utilisation de **CMS par aérosols** chez les patients atteints de mucoviscidose permet d'obtenir une **meilleure exposition locale en limitant les effets indésirables systémiques**. Lorsque le **CMS est administré par voie IV** chez ces patients, les **concentrations en colistine sont diminuées de 34 %** par rapport à celles décrites chez le volontaire sain conduisant à la nécessité d'utiliser cette molécule en **associations thérapeutique**.

Ce travail a fait l'objet d'une publication soumise dans *Journal of Cystic Fibrosis* en septembre 2018 et présentée dans les pages suivantes.

1   **Article title:** Pharmacokinetics of colistin after nebulization or intravenous administration of  
2   colistin methanesulphonate (Colimycin®) to cystic fibrosis patients.

3   **Author names:** Sophie Magréault<sup>1,2</sup>, Julie Mankikian<sup>3</sup>, Sandrine Marchand<sup>1,2,4</sup>, Patrice  
4   Diot<sup>3,5,6</sup>, William Couet<sup>1,2,4</sup>, Thomas Flament<sup>3</sup>, Nicolas Grégoire<sup>1,2</sup>

5

6   **Affiliations:**

7   <sup>1</sup>Inserm U1070, Poitiers, France

8   <sup>2</sup>Université de Poitiers, UFR Médecine-Pharmacie, Poitiers, France

9   <sup>3</sup> CHRU de Tours, Service de Pneumologie et CRCM, Tours, France.

10   <sup>4</sup> CHU de Poitiers, Service de Toxicologie-Pharmacocinétique, Poitiers, France

11   <sup>5</sup> Inserm U1100, Centre d'études des Pathologies Respiratoires, Tours, France

12   <sup>6</sup>Université de Tours, Faculté de Médecine, Tours, France

13

14   **Corresponding author:**

15   Nicolas Grégoire

16   Telephone 33 (0)5 49 36 64 36

17   e-mail: [nicolas.gregoire@univ-poitiers.fr](mailto:nicolas.gregoire@univ-poitiers.fr)

18

19

20   **Short running title:** Pharmacokinetics of colistin in cystic fibrosis patients

21 **Synopsis:**

22 **Objectives.** Colistin, administered as the prodrug colistin methanesulphonate (CMS), is an  
23 antibiotic frequently administered as aerosol in cystic fibrosis (CF) patient. Our aim was to  
24 assess the plasma PK of colistin in CF patients treated with CMS administered intravenously  
25 or as aerosol and to compare these results with those previously reported in healthy  
26 volunteers.

27 **Methods.** Six (6) CF patients were included, CMS and colistin concentrations were measured  
28 in plasma, urine and sputum, either after single intravenous administration or after repeated  
29 nebulizations of CMS. PK of CMS and colistin were assessed by a mixed effect modelling  
30 approach.

31 **Results.** Renal clearance of CMS was lower in CF patients compared to that previously  
32 reported in healthy volunteers (64.3 mL/min vs. 103 mL/min). However, apparent clearance  
33 of colistin was higher in CF patients compared to healthy volunteers (124 mL/min vs. 48.7  
34 mL/min), resulting in reduced systemic exposure to colistin (dose normalized AUC of  
35 3.7 h.mg/L/MIU vs. 5.6 h.mg/L/MIU). After repeated nebulizations, colistin concentrations  
36 were very low in plasma (<0.21 mg/L) and variable but always higher in sputum (Cmax  
37 between 3 and 37 mg/L).

38 **Conclusions.**

39 Systemic exposure to colistin after IV administrations of CMS was 34% lower in CF patients  
40 compared to that previously reported in healthy volunteers, suggesting that effective  
41 concentrations of colistin should be difficult to reach in CF patients by IV. Nebulizations of  
42 CMS 2 MIU q12h led to low colistin plasma concentrations and high sputum concentrations,

43 suggesting better pulmonary efficacy against local colonization and lower systemic adverse  
44 events than intravenous administrations.

45

46

47 **Introduction**

48 Colistin occupies an important place for the treatment of infections caused by multidrug  
49 resistant Gram negative bacteria, especially in cystic fibrosis (CF) patients persistently  
50 colonized by *Pseudomonas aeruginosa*. The pharmacokinetics (PK) of colistin, which is  
51 administrated as the prodrug colistin methanesulphonate (CMS), has been described in  
52 healthy volunteers [1], critically ill patients [2-8] and CF patients [9-12]. However these  
53 results are difficult to compare, due to a potential brand effect as shown in rats [13], to  
54 differences in samples processing and bioanalytical methods [14].

55 Administration of CMS directly into the lung of CF patients by means of nebulization devices  
56 rely on the hypothesis that colistin concentrations at the site of action and then antimicrobial  
57 efficacy should be increased, whereas systemic concentrations and toxicity should be  
58 decreased compared with intravenous administration of CMS. Studies in rats [15-17], sheep  
59 [18], as well as in critically ill patients [19] have confirmed this hypothesis. Initial studies in  
60 CF patients seem also consistent with these observations[11, 12], but it should be interesting  
61 to confirm these results using different CMS brands and nebulizers.

62 Our primary objective was to assess the effect of CF on colistin PK by comparing PK  
63 parameters values with those previously estimated in healthy volunteers, after intravenous (iv)  
64 administration of the same CMS brand (Colimycin®) and using the same analytical assay.  
65 Our secondary objective was to assess colistin concentrations and PK in plasma and in  
66 sputum after repeated inhalations of CMS.

67 **Material and Methods**

68 Study population

69 The analysis was performed in 6 ambulatory adults (> 18 years) CF patients with proven  
70 colonization of their respiratory tract with *Pseudomonas aeruginosa*. The study protocol was  
71 approved by the local ethical committee (CPP Ouest III, 11.03.09). At study onset, the  
72 following data were collected: age, sex, weight, and creatinine clearance calculated according  
73 to the Cockcroft-Gault formula [20]. During the study period patients were administered all  
74 routine medications, of which other antibiotics, required for the management of their CF.

75 CMS administration

76 The study flow-chart is summarized on Figure 1. During 14 days patients were nebulized with  
77 2 Million International Unit (MIU) (equivalent to approximately 60 mg of CBA) of CMS  
78 (Colimycine®, Sanofi, Paris, France) every 12 h. For aerosol administration CMS powder  
79 was dissolved in 6 mL of sterile 0.9% saline solution and immediately nebulized via a LC Star  
80 nebulizer connected to a Pari Turbo Boy N compressor (Pari, Starnberg, Germany) over  
81 10 min. For IV administration 2 MIU of CMS (Colimycine®, Sanofi, Paris, France) powder  
82 was dissolved in 50 mL of sterile 0.9% saline solution and immediately administered as a 1 h  
83 infusion. Following IV infusion the line was flushed with 5 mL of physiological saline to  
84 ensure complete dose administration. On Day 7 patients were randomized to receive either IV  
85 (n=6 patients) or aerosol (n=6 patients) administration, on Day 14 they were treated by the  
86 other route of administration (Figure 1).

87 Sampling procedures

88 *Plasma samples.* Determinations of colistin and CMS concentrations in plasma were  
89 performed on days 7 and 14 immediately before and at 0.50, 1.0, 1.5, 2, 3, 4, 6, 9 and 12 h

90 after starting nebulization or infusion. Samples were immediately centrifuged (3 000 g, 10  
91 min) at 4°C and plasma was stored at -20°C until analysis.

92 *Sputum samples.* Determinations of colistin and CMS concentrations in sputum were  
93 performed on days 7 and 14 in three samples obtained during time intervals 0.5-1 h, 4-6 h and  
94 8-12 h after CMS administration. Sputum expectorations were promoted by chest  
95 physiotherapy, collected in 50 mL polypropylene vials, weighted and stored at -20°C until  
96 analysis.

97 *Urine samples.* Only CMS was assumed to be excreted in urine[1]. On days 7 and 14 urine  
98 was collected over 0-12 h post dosing for evaluation of CMS concentrations. Samples were  
99 stored at -20°C until analysis.

#### 100 Colistin and CMS assay

101 Plasma and urine samples were assayed by a validated LC/MS-MS method[21]. Sputum  
102 samples were liquefied using an Ultra-Turrax homogenizer (KA®-Werke GmbH & Co. KG,  
103 Germany), completed up to 10 mL with water, spiked with blank plasma (20% vol/vol), and  
104 then assayed as for plasma or urine. Briefly, polymyxin B1 was used as internal standard,  
105 CMS concentrations were obtained by subtracting colistin concentrations measured without  
106 samples hydrolysis, to those measured after complete hydrolysis of CMS into colistin with  
107 sulfuric acid. After extraction on a solid-phase extraction column colistin components were  
108 separated on a C18 column with a 0.1% (vol/vol) formic acid in acetonitrile-0.1% (vol/vol)  
109 formic acid in water (20:80, vol/vol). Ions were detected in a turbo-ion spray-positive and  
110 multiple-reaction-monitoring modes (Waters Micromass Quattro micro-API quadripole

111 tandem mass spectrometer). Limits of quantifications were 0.02 mg/L for CMS and 0.01  
112 mg/L for colistin in plasma, urine and sputum.

113

114 Population PK modeling

115 The pharmacokinetic (PK) analysis was performed using CMS and colistin concentrations  
116 measured in plasma and CMS concentrations measured in urine. It was chosen not to include  
117 sputum concentrations in the model because of their large variability (up to a 100-fold  
118 difference at a given time) and because concentrations in sputum after IV administration  
119 could not be accurately assessed due to relatively high residual concentrations from previous  
120 nebulization. Data were modeled simultaneously using a non-linear mixed-effect model, with  
121 Monolix Suite software program (v2016R1, Lixoft, Orsay, France). Concentrations below the  
122 limit of quantification were handled with the Beal M3 method [22].

123 The structural model is presented on Figure S1. Parameters characterizing the exchanges  
124 between lung and systemic compartments are defined in Table 1. After nebulization, a  
125 fraction  $F_{pul}$  of the CMS dose reached systemic compartments. For modelling, this fraction of  
126 the dose was introduced in a depot compartment (CMS lung) before either systemic  
127 absorption as CMS, or presystemic conversion into colistin (compartment “colistin lung” on  
128 Figure S1). CMS and colistin were absorbed from lung to plasma following first order  
129 kinetics of constants  $ka_{CMS}$  and  $ka_{col}$ , and the presystemic conversion of CMS into colistin  
130 within lung was assumed to follow a first order kinetic, whom the constant was previously  
131 estimated ( $k_{tr}=0.13 h^{-1}$ ) [19]. From central compartment it was assumed that CMS was  
132 eliminated either by renal clearance  $CL_{rCMS}$ , or by non-renal clearance  $CL_{nrCMS}$ . The non-

133 renal clearance of CMS may not correspond to a complete conversion of CMS into  
134 colistin[23]. As the fraction of CL<sub>nrcms</sub> that actually corresponded to a conversion of CMS  
135 into colistin ( $f_m$ ) was unknown, PK parameters estimated for colistin were apparent. Colistin  
136 was eliminated from systemic compartment with an apparent clearance CL<sub>col</sub>/ $f_m$ . It was  
137 assumed that only CMS was excreted in urine [1, 24], differences in molecular weights  
138 between CMS (1632 g/mol) and colistin (1167 g/mol) were considered for biotransformation  
139 rates calculations in plasma. Typical maximal concentrations (Cmax), terminal half-lives (t<sub>1/2</sub>)  
140 and areas under the curve of concentrations (AUC) were calculated by simulations in Berkley  
141 Madonna software (version 8.3.18, Berkeley Madonna Inc., University of California,  
142 Berkeley, CA, USA).

143 The interindividual variabilities were assumed to be log-normally distributed, the residual  
144 error was tested as additive, proportional or combined for plasma and urine data . Estimation  
145 of intra-individual variability on plasma parameter was tested. According to previously  
146 published results [2, 8] the relationships between CL<sub>rCMS</sub> and creatinine clearance and  
147 between body weight and V<sub>CMS</sub> were assessed. Model performances were assessed by visual  
148 inspection of diagnostic plots, evaluation of the residual error and precision of parameter  
149 estimates.

150

## 151 **Results**

152 Two (2) females and 4 males were enrolled; median (min-max) age was 22 yrs (21-30), body  
153 weight 61 kg (48-68) and creatinine clearance 120 mL/min (86-129).

154 Ninety (90) percent confidence intervals adequately overlapped observed concentrations in  
155 visual predictive check (Figure 2). Normalized prediction distribution errors over time (Figure  
156 S2) were evenly distributed around 0. Residual variability was low on colistin concentrations  
157 in plasma and moderate on CMS concentrations in plasma and urine (Table 1). Precision on  
158 parameter estimates was good with relative standard errors lower than 26% except for the  
159 absorption constant of colistin ( $k_{a,col}$ ) that could not be accurately estimated (RSE=85%) but  
160 that anyway was low ( $0.02\text{ h}^{-1}$ ). Interindividual variability could be estimated for all  
161 parameters, except the non-renal clearance of CMS. No intra-individual variability could be  
162 estimated.

163 Table 1 presents final parameter estimates. No significant relationship was elicited between  
164 body weight and the systemic volume of distribution of CMS and between the clearance of  
165 creatinine and the renal clearance of CMS. Volume of distribution of CMS was 11.4 L, its  
166 renal clearance 64.3 mL/min and its non-renal clearance 60.3 mL/min. The final model  
167 predicts that after IV administration of CMS 51% of the dose was excreted in urine. After IV  
168 administration of CMS 2 MUI, typical maximal plasma concentration of CMS was 9.8 mg/L  
169 and typical terminal half-life was 1.1 h (Figure 2, Table 2). The apparent volume of  
170 distribution of colistin ( $V_{col}/fm$ ) was 26.1 L and its apparent clearance ( $CL_{col}/fm$ )  
171 124 mL/min. After IV administration of CMS 2 MUI, typical maximal plasma concentration  
172 of colistin was 1.1 mg/L and terminal half-life was 2.4 h (Figure 2, Table 2).

173 PK parameters obtained after IV administration of the same CMS brand (Colymicin®) to  
174 healthy volunteers are presented in Table 2.

175 After nebulization of CMS 2 MUI it was estimated that less than 9.3% of the dose was  
176 available for systemic absorption. Typical maximal concentrations of CMS and colistin in

177 plasma were about 0.3 mg/L and 0.1 mg/L (Figure 2). Concentrations of CMS and colistin  
178 measured in sputum after repeated nebulizations of CMS are presented on Figure 3. In sputum  
179 maximal concentration of CMS was observed in the first sample, i.e 0.5-1h after nebulization,  
180 and ranged between 9 and 746 mg/L, then concentration of CMS in sputum declined with an  
181 half-life of 1 h. Maximal concentrations of colistin in sputum ranged between 3 and 37 mg/L  
182 with a large inter-individual variability (Figure 3), then they declined with an half-life of  
183 about 3 h.

184

## 185 **Discussion**

186 Compared to healthy male volunteers ( $73\pm9$  kg) intravenously administered with the same  
187 brand of CMS (Colymicin®), mean maximal concentrations (Cmax) of CMS, normalized to  
188 the dose, were similar in CF patients (4.9 mg/L vs. 4.8 mg/L). The terminal half-life was  
189 shorter in CF patients (1.1 h vs. 2.0 h) but as the number of phases of decay was different (one  
190 vs. two), the comparison is difficult. Total clearance of CMS was slightly lower in CF patients  
191 compared to healthy volunteers (125 mL/min vs. 148 mL/min), but the renal clearance was  
192 markedly lower (64.3 mL/min vs. 103 mL/min). The lower CMS renal clearance in CF  
193 patients was unexpected because creatinine clearance values of the included CF patients were  
194 normal (>86 mL/min), and because usually renal clearance of drugs is increased in CF  
195 patients [25]. However, as CMS undergoes secretion in kidney [26], which is not reflected by  
196 the clearance of creatinine, it is possible that in CF patients this transport would be altered  
197 [27]. As renal clearance of CMS strongly affects colistin PK  
198 ( $AUC_{col} = \frac{CL_{nr,CMS}}{CL_{r,CMS} + CL_{nr,CMS}} \times \frac{Dose}{CL_{col}/f_m}$ ) [28], this 40% reduction in CF patients compared to  
199 healthy volunteers should be further explored.

Because of the decreased renal clearance of CMS ( $CL_{r,CMS}$ ), the fraction of CMS dose converted into colistin should be increased in CF patients ( $1-f_e = 49\% \text{ vs } 30\%$ ). However, apparent clearance of colistin ( $CL_{col}/f_m$ ) was 2.5-folds greater in CF patients than in healthy volunteers, which more than compensated the lower  $CL_{r,CMS}$ . Indeed, colistin concentrations were decreased in CF patients compared to healthy volunteers, with dose normalized Cmax and AUC 33% and 34% lower (Table 2). This is in agreement with the low concentrations commonly measured in our laboratory during therapeutic drug monitoring of colistin in CF patients. Moreover, using another brand of CMS (Colistin Link®), after IV administration Yapa et al. [12] reported exposure to colistin even lower (dose normalized AUC 2.5-folds lower than in the present study). After IV administration of CMS, it seems difficult to reach the target for effective average colistin concentrations ( $C_{av} = AUC_{0-24}/24 \text{ above } 2 \text{ mg/L}$ ) in CF patients, even with a high 12 MIU daily dose, and dose recommendations published for other patients such as ICU patients [2] are most likely insufficient for CF patients. The higher  $CL_{col}/f_m$  in CF patients compared to healthy volunteers could be due either to a higher  $CL_{col}$  or to a lower  $f_m$ . Since colistin is a polypeptide, a high  $CL_{col}$  in CF patients could be due to the elevated protease levels observed in these patients [29]. However, the metabolism of colistin is mostly unknown and this hypothesis has to be verified. A lower  $f_m$  would signifie that the fraction of CMS converted into metabolites other than colistin is greater in CF patients than in healthy volunteers. As the *in vivo* hydrolysis of CMS is poorly known, this hypothesis has also to be explored. Another explanation to be explored for lower total concentrations of colistin in CF patients compared to healthy volunteers could be a lower protein binding of colistin.

After nebulization less than 10% of the CMS dose reached the systemic circulation, this result is consistent with those reported by Yapa et al in CF patient [12] and by Boisson et al. in

224 critically ill patients [19], although delivery systems were different (other conventional  
225 nebulizer system and vibrating-mesh nebulizer respectively). As for Yapa et al.,  
226 concentrations of colistin measured in plasma after nebulization were low (<0.21 mg/L).  
227 Therefore, the systemic toxicity after repeated nebulizations of CMS 2MIU q12h should be  
228 reduced compared to IV dosing, especially nephrotoxicity. After repeated nebulizations of  
229 CMS 2MIU, concentrations of colistin in sputum were high (Cmax ranging between 3 and  
230 37 mg/L, Figure 3), which is in accordance with colistin concentrations reported by Yapa et  
231 al. after a single nebulization of CMS 2MIU (colistin concentrations between 1 and 10 mg/L).  
232 However, the effective concentrations of colistin in sputum remained to be defined [12, 14,  
233 30, 31].

## 234 Conclusion

235 Whereas the renal clearance of CMS was 38% decreased in CF patients compared to healthy  
236 volunteers, which should result in higher colistin concentrations, the apparent clearance of  
237 colistin was increased by 155%, resulting in an exposure to total concentrations of colistin  
238 34% lower in CF patients. This suggests that regular ICU dosage recommendations for IV  
239 administrations of CMS (9 MIU/day) are most likely insufficient for CF patients, but toxicity  
240 of higher doses has to be assessed in CF patients. Nebulizations of CMS 2 MIU q12h led to  
241 low colistin plasma concentrations (<0.21 mg/L) and high sputum concentrations (Cmax  
242 ranging between 3 and 37 mg/L), thus suggesting better efficacy and lower adverse events  
243 than IV administrations for treatment of lung infections.

244

245 **Funding:**

246 This work was supported by the French national cystic fibrosis association (Vaincre La  
247 Mucoviscidose, VLM).

248

249 **Transparency declaration:**

250 None to declare.

Table 1. Population pharmacokinetic parameters

<b>Description</b>	<b>Unit</b>	<b>Typical value (RSE)</b>	<b>BSV CV% (RSE)</b>
<b>CMS plasma</b>			
V <sub>CMS</sub> (L)	L	11.4 (8%)	-
CL <sub>r,CMS</sub>	mL/min	64.3 (15%)	25 (34%)
CL <sub>n,r,CMS</sub>	mL/min	60.3 (15%)	-
<b>Colistin plasma</b>			
V <sub>col</sub> /f <sub>m</sub>	L	26.1 (17%)	26 (38%)
CL <sub>col</sub> /f <sub>m</sub>	mL/min	124 (13%)	16 (29%)
<b>CMS sputum</b>			
F <sub>pul</sub>	%	9.26 (26%)	60 (32%)
k <sub>a,CMS</sub>	1/h	0.354 (14%)	32 (28%)
k <sub>tr</sub>	1/h	0.130 *	-
<b>Colistin sputum</b>			
k <sub>a,col</sub>	1/h	0.020 (85%)	-
<b>Proportional residual error (%)</b>			
<b>CMS plasma</b>			
<b>Colistin plasma</b>			
<b>CMS urine</b>			

\* fixed value from the study of Boisson et al. [19]

Table 2. Comparison of PK parameters between CF patients and healthy volunteers intravenously administered with the same brand of CMS.

	Healthy volunteers treated with IV Colimycin® 1MIU [1]	Present study: CF patients treated with IV Colimycin® 2MIU
<b>CMS</b>		
CL (mL/min)	148	125
CL <sub>rCMS</sub> (mL/min)	103	64.3
1-fe	0.30	0.49
V <sub>c</sub> <sub>CMS</sub> (L)	8.9	11.4*
V <sub>p</sub> <sub>CMS</sub> (L)	5.1	-
Cmax (mg/L)	4.8	9.8
Dose normalized Cmax (mg/L/MIU)	4.8	4.9
t <sub>1/2</sub> (h)	2.0	1.1
<b>Colistin</b>		
CL <sub>col</sub> /f <sub>m</sub> (mL /min)	48.7	124
V <sub>col</sub> /f <sub>m</sub> (L)	12.4	26.1
Cmax (mg/L)	0.83	1.12
Dose normalized Cmax (mg/L/MIU)	0.83	0.56
Dose normalized AUC (h.mg/L/MIU)	5.6	3.7
t <sub>1/2</sub> (h)	3.0	2.4

\* 1 compartment model

Figure 1: Study flow-chart

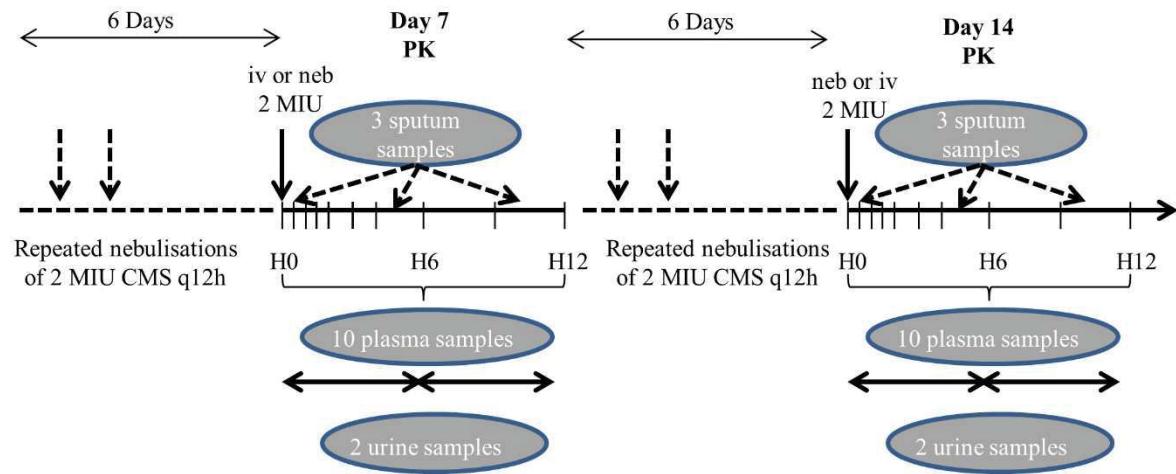


Figure 2: Observed CMS and colistin concentrations along with model visual predictive check (median and 90% confidence interval) after IV or nebulization treatment with CMS 2MIU administered at steady-state (CMS 2MIU nebulization q12h)

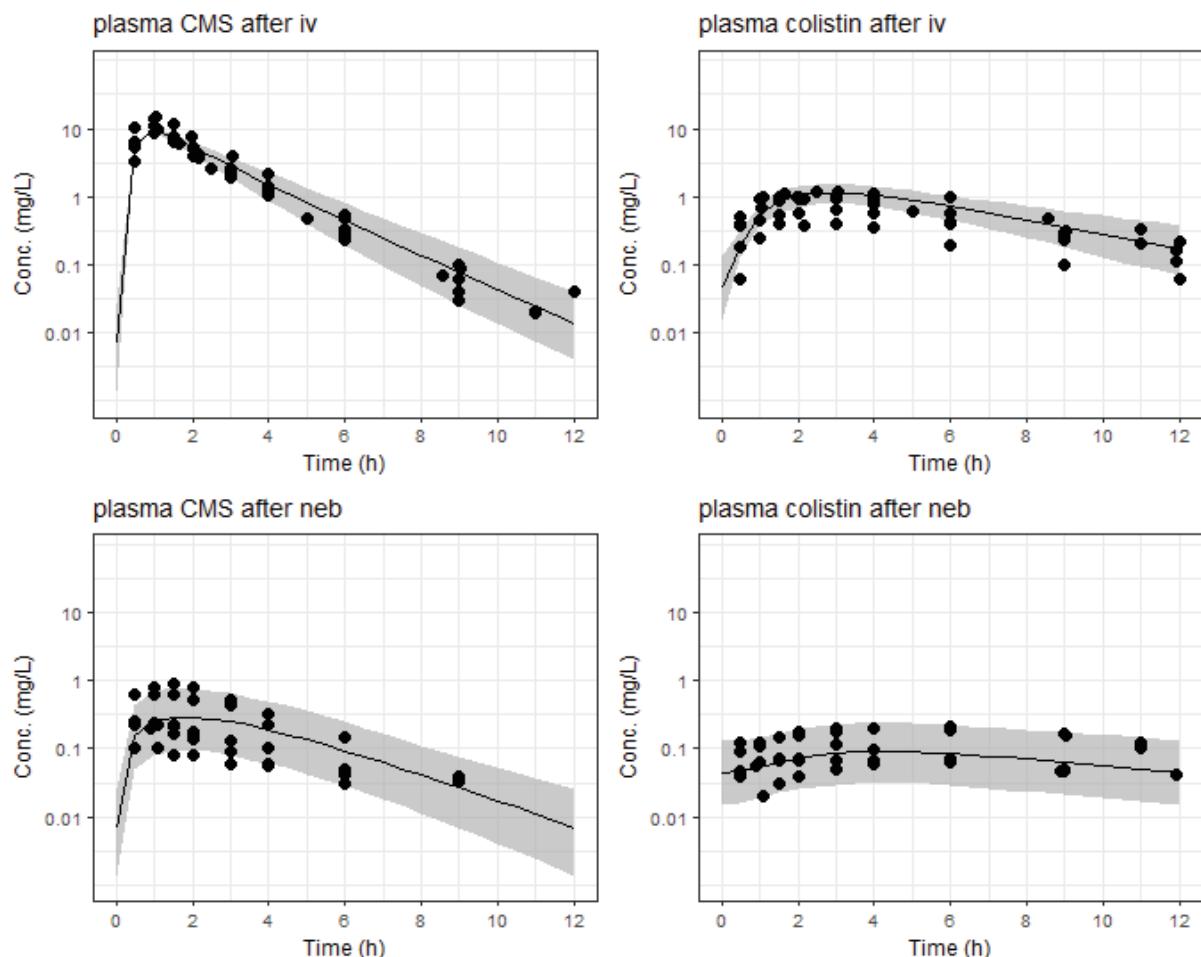
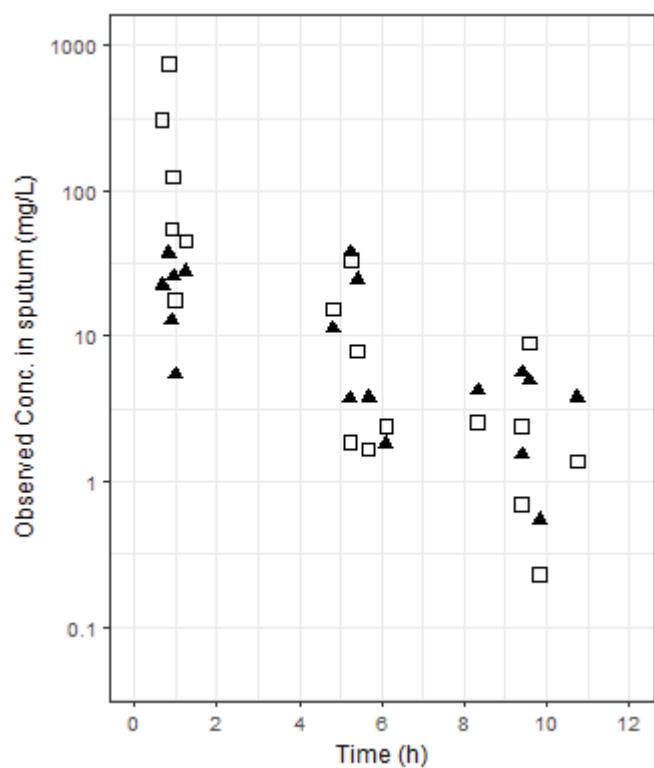


Figure 3: Observed CMS (open squares) and colistin (filled triangles) concentrations in sputum after repeated nebulization of 2 MIU of CMS



## References

- [1] Couet W, Gregoire N, Gobin P, Saulnier PJ, Frasca D, Marchand S, et al. Pharmacokinetics of colistin and colistimethate sodium after a single 80-mg intravenous dose of CMS in young healthy volunteers. *Clin Pharmacol Ther.* 2011;89:875-9.
- [2] Garonzik SM, Li J, Thamlikitkul V, Paterson DL, Shoham S, Jacob J, et al. Population pharmacokinetics of colistin methanesulfonate and formed colistin in critically ill patients from a multicenter study provide dosing suggestions for various categories of patients. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011;55:3284-94.
- [3] Plachouras D, Karvanen M, Friberg LE, Papadomichelakis E, Antoniadou A, Tsangaris I, et al. Population pharmacokinetic analysis of colistin methanesulfonate and colistin after intravenous administration in critically ill patients with infections caused by gram-negative bacteria. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53:3430-6.
- [4] Imberti R. Intravenous colistimethate administration and colistin lung tissue concentrations. *Intensive Care Med.* 2010;36:1795; author reply 6-7.
- [5] Li J, Rayner CR, Nation RL, Deans R, Boots R, Widdecombe N, et al. Pharmacokinetics of colistin methanesulfonate and colistin in a critically ill patient receiving continuous venovenous hemodiafiltration. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005;49:4814-5.
- [6] Markou N, Markantonis SL, Dimitrakis E, Panidis D, Boutzouka E, Karatzas S, et al. Colistin serum concentrations after intravenous administration in critically ill patients with serious multidrug-resistant, gram-negative bacilli infections: a prospective, open-label, uncontrolled study. *Clin Ther.* 2008;30:143-51.
- [7] Mohamed AF, Karaiskos I, Plachouras D, Karvanen M, Pontikis K, Jansson B, et al. Application of a loading dose of colistin methanesulfonate in critically ill patients: population pharmacokinetics, protein binding, and prediction of bacterial kill. *Antimicrobial agents and chemotherapy.* 2012;56:4241-9.
- [8] Gregoire N, Mimoz O, Megarbane B, Comets E, Chatelier D, Lasocki S, et al. New colistin population pharmacokinetic data in critically ill patients suggesting an alternative loading dose rationale. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58:7324-30.
- [9] Gikas E, Bazoti FN, Katsimardou M, Anagnostopoulos D, Papanikolaou K, Inglezos I, et al. Determination of colistin A and colistin B in human plasma by UPLC-ESI high resolution tandem MS: application to a pharmacokinetic study. *J Pharm Biomed Anal.* 2013;83:228-36.
- [10] Li J, Coulthard K, Milne R, Nation RL, Conway S, Peckham D, et al. Steady-state pharmacokinetics of intravenous colistin methanesulphonate in patients with cystic fibrosis. *J Antimicrob Chemother.* 2003;52:987-92.
- [11] Ratjen F, Rietschel E, Kasel D, Schwierz R, Starke K, Beier H, et al. Pharmacokinetics of inhaled colistin in patients with cystic fibrosis. *J Antimicrob Chemother.* 2006;57:306-11.
- [12] Yapa SWS, Li J, Patel K, Wilson JW, Dooley MJ, George J, et al. Pulmonary and systemic pharmacokinetics of inhaled and intravenous colistin methanesulfonate in cystic fibrosis patients: targeting advantage of inhalational administration. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58:2570-9.
- [13] He H, Li JC, Nation RL, Jacob J, Chen G, Lee HJ, et al. Pharmacokinetics of four different brands of colistimethate and formed colistin in rats. *J Antimicrob Chemother.* 2013;68:2311-7.
- [14] Gregoire N, Aranzana-Climent V, Magreault S, Marchand S, Couet W. Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Colistin. *Clinical pharmacokinetics.* 2017;56:1441-60.
- [15] Marchand S, Gobin P, Brillault J, Baptista S, Adier C, Olivier JC, et al. Aerosol therapy with colistin methanesulfonate: a biopharmaceutical issue illustrated in rats. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54:3702-7.
- [16] Yapa SWS, Li J, Porter CJ, Nation RL, Patel K, McIntosh MP. Population pharmacokinetics of colistin methanesulfonate in rats: achieving sustained lung concentrations of colistin for targeting respiratory infections. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57:5087-95.

- [17] Gontijo AV, Gregoire N, Lamarche I, Gobin P, Couet W, Marchand S. Biopharmaceutical characterization of nebulized antimicrobial agents in rats: 2. Colistin. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2014;58:3950-6.
- [18] Landersdorfer CB, Nguyen TH, Lieu LT, Nguyen G, Bischof RJ, Meeusen EN, et al. Substantial Targeting Advantage Achieved by Pulmonary Administration of Colistin Methanesulfonate in a Large-Animal Model. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017;61.
- [19] Boisson M, Jacobs M, Gregoire N, Gobin P, Marchand S, Couet W, et al. Comparison of Intrapulmonary and Systemic Pharmacokinetics of Colistin Methanesulfonate (CMS) and Colistin after Aerosol Delivery and Intravenous Administration of CMS in Critically Ill Patients. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014;58:7331-9.
- [20] Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron*. 1976;16:31-41.
- [21] Gobin P, Lemaitre F, Marchand S, Couet W, Olivier JC. Assay of colistin and colistin methanesulfonate in plasma and urine by liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). *Antimicrob Agents Chemother*. 2010;54:1941-48.
- [22] Beal SL. Ways to fit a PK model with some data below the quantification limit. *J Pharmacokinet Pharmacodyn*. 2001;28:481-504.
- [23] Gregoire N, Aranzana-Climent V, Magreault S, Marchand S, Couet W. Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Colistin. *Clin Pharmacokinet*. 2017.
- [24] Li J, Milne RW, Nation RL, Turnidge JD, Smeaton TC, Coulthard K. Use of high-performance liquid chromatography to study the pharmacokinetics of colistin sulfate in rats following intravenous administration. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2003;47:1766-70.
- [25] Nazareth D, Walshaw M. A review of renal disease in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*. 2013;12:309-17.
- [26] Viel A, Henri J, Bouchene S, Laroche J, Rolland JG, Manceau J, et al. A Population WB-PBPK Model of Colistin and its Prodrug CMS in Pigs: Focus on the Renal Distribution and Excretion. *Pharmaceutical research*. 2018;35:92.
- [27] Ashcroft FM. Ion channels and disease. San Diego: Academic press; 2000.
- [28] Couet W, Gregoire N, Marchand S, Mimoz O. Colistin pharmacokinetics: the fog is lifting. *Clin Microbiol Infect*. 2012;18:30-9.
- [29] Taggart C, Mall MA, Lalmanach G, Cataldo D, Ludwig A, Janciauskienė S, et al. Protean proteases: at the cutting edge of lung diseases. *The European respiratory journal*. 2017;49.
- [30] Bos AC, Passe KM, Mouton JW, Janssens HM, Tiddens HA. The fate of inhaled antibiotics after deposition in cystic fibrosis: How to get drug to the bug? *J Cyst Fibros*. 2017;16:13-23.
- [31] Cheah SE, Wang J, Nguyen VT, Turnidge JD, Li J, Nation RL. New pharmacokinetic/pharmacodynamic studies of systemically administered colistin against *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* in mouse thigh and lung infection models: smaller response in lung infection. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2015;70:3291-7.

## Supplemental material

Figure S1: Structural pharmacokinetic model

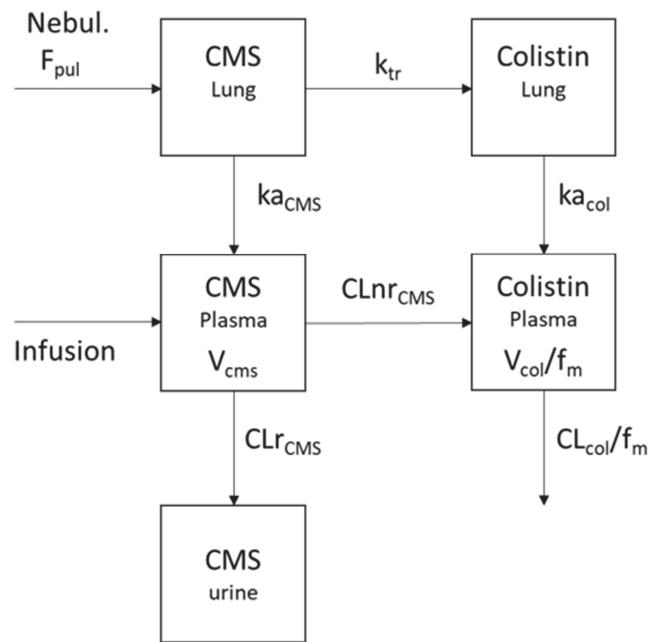
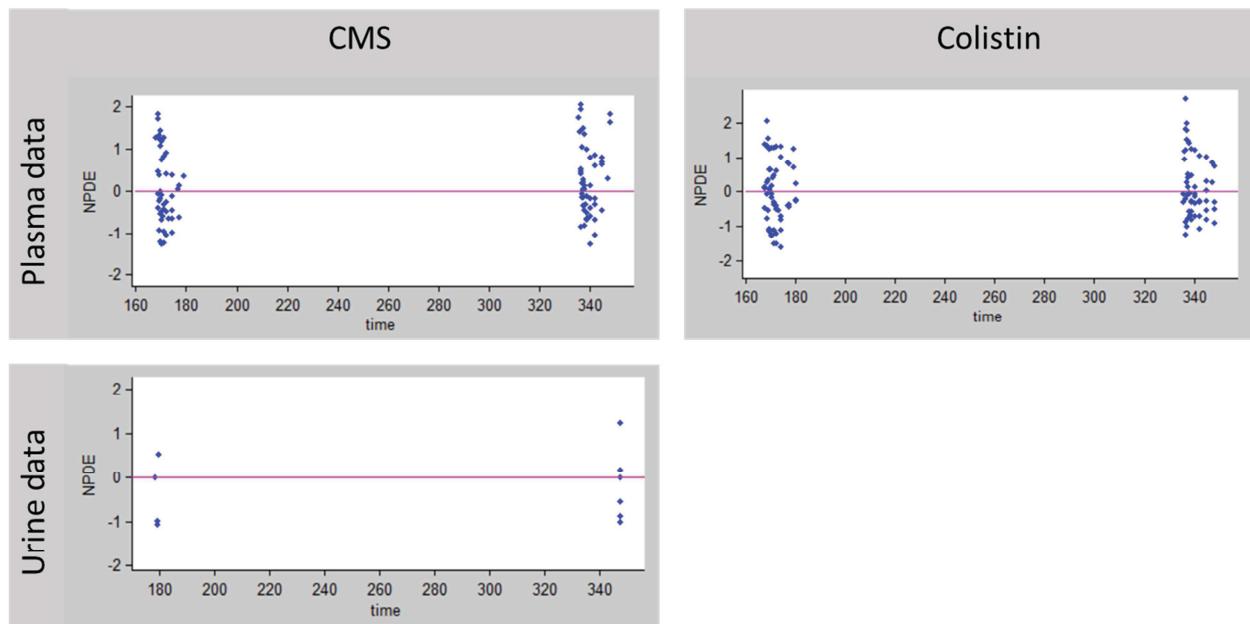


Figure S2. Normalized prediction distribution errors over time (h) for CMS concentrations in plasma and urine and for colistin concentrations in plasma.



# **CHAPITRE V**

---

-

## **Utilisation de la colistine en pédiatrie**

---



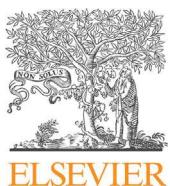
## Points clés :

- ✓ Actuellement, les doses pédiatriques de CMS recommandées par l'European Medicines Agency sont de 75.000 à 150.000 UI/kg/jour à administrer en 2 à 4 injections.
- ✓ De nombreuses études ont toutefois montré que ces doses étaient insuffisantes pour obtenir des concentrations efficaces en colistine.
- ✓ Deux études ont rapporté l'utilisation de doses entre 200.000 et 225.000 UI/kg/jour jusqu'à 93 jours consécutifs chez des enfants de 4 mois à 14 ans souffrant d'infections sévères sans avoir rapportés d'effets indésirables suggérant la possibilité d'augmenter les doses recommandées.
- ✓ La population pédiatrique présente de nombreuses particularités physiologiques. Toutefois, en l'absence de pathologie particulière, la fonction rénale est similaire à celle de l'adulte à partir de l'âge de 12 mois et devient même transitoirement plus importante peu avant la puberté. Les doses d'entretien de colistine étant calculées en fonction de la clairance de la créatinine et non en fonction du poids ou de l'âge, il n'existe théoriquement aucun rationnel à diminuer les posologies chez l'enfant.
- ✓ Le cas clinique présenté ci-après rapporte le cas d'un jeune garçon de 8 ans, pesant 25 kg pour 1.35 m, traité par CMS à la dose de 360.000 UI/kg/jour (soit 9 MUI/jour) pour une infection osseuse.
- ✓ La concentration moyenne en colistine à l'équilibre était de 1.0 mg/L et aucun effet indésirable n'a été décrit au cours du traitement.

✓ Bien que des études à plus grandes échelles soient désormais nécessaires, ce cas suggère que l'utilisation d'une posologie adulte chez l'enfant devrait être envisagée.

Les travaux en pédiatrie réalisés au cours de cette thèse ont fait l'objet :

- D'un cas clinique publié dans *Clinical Microbiology and Infection* en avril 2018 et présenté dans les pages suivantes
- D'une lettre à l'éditeur publiée dans *Clinical Infectious Diseases* en février 2018 et présentée en Annexe II



## Letter to the Editor

## Pharmacokinetics of colistin in a 8-year-old child with acute bone infection

Colistin pharmacokinetics (PK) has been recently extensively revisited [1,2], but limited and sometimes conflicting information is available for paediatric patients [3]. Further, the dosing regimen currently recommended for children by the European Medicines Agency (EMA) for the colistin methanesulfonate (CMS) prodrug (75 000 to 150 000 IU/kg per day) seems likely to result in suboptimal colistin plasma concentrations [3].

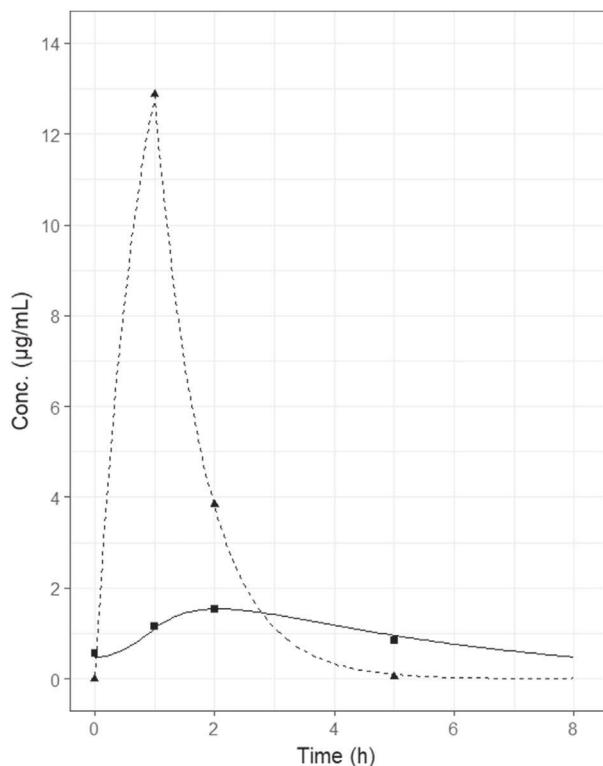
We report the case of a 8-year-old boy weighing 25 kg, 1.35 m in height and a plasma creatinine of 35 µmol/L, corresponding to a creatinine clearance ( $\text{CrCl}$ ) estimated at 103 mL/min according to the Schwartz estimate. The boy had an open fracture of the right femur resulting from a bicycle accident. Bacteriologic samples during the surgical procedure revealed the presence of a *Pseudomonas aeruginosa* metallo-carbapenemase sensitive to colistin. The patient received CMS as Colimycin at a dose of 3 MIU, approximately 90 mg colistin-based activity, every 8 hours (360 000 IU/kg per day, corresponding to 10.80 mg colistin-based activity/kg per day), infused intravenously over 60 minutes. Four blood samples were collected after the tenth infusion on day 4 for determinations of total colistin and CMS concentration in plasma [4], followed by their simultaneous PK analysis by Monolix Suite 2016R1 software (Lixoft, Orsay, France). Differences in molecular weight between CMS (1632 g/mol) and colistin (1167 g/mol) were considered for PK calculations. Satisfactory data fitting was obtained with a one-compartment model for both compounds (Fig. 1). Although the CMS daily dose (360 000 IU/kg per day) was more than twice the higher recommended dose (150 000 IU/kg per day) and equivalent to the adult daily dose (9 MIU per day) for a patient with preserved renal function, measured colistin plasma concentrations were relatively low, fluctuating between 0.5 and 1.5 µg/mL. The average concentration at steady state ( $C_{ss}$ ), corresponding to the ratio of the area under the concentration–time curve at steady state and during 24 hours to 24 ( $AUC_{0-24}/24$ ), was equal to 1.0 µg/mL, which is twice as low as the recommended target [1]. Compared to an adult, this 8-year-old child had a low weight (25 kg) but had adult renal function, with  $\text{CrCl}$  estimated at 103 mL/min.

To our knowledge, this is the first PK study of colistin in a paediatric patient with determination of CMS concentrations. At early time points, CMS concentrations should be substantially higher than those of colistin, and uncontrolled postsampling hydrolysis of CMS may lead to greatly overestimated colistin concentrations.

CMS volume of distribution ( $V_d$ ) and therefore peak concentration ( $C_{max}$ ) are related to body weight [2]. In this 25 kg child, the estimated  $V_d$  (10.1 L) was about two thirds of the typical values reported in adults [2] and was consistent with measured plasma concentration at the end of infusion ( $C_{max}$  at 12.9 µg/mL). Because CMS is mostly excreted unchanged in urine [1,2], its total clearance is related to  $\text{CrCl}$ . CMS clearance was estimated at 205 mL/min, consistent with typical values reported in healthy volunteers (148 mL/min) [4].

However, because the fraction of the CMS dose eventually converted into colistin is unknown, only apparent PK parameters values can be estimated for this active moiety. Therefore, the effects of body weight and  $\text{CrCl}$  on colistin PK are difficult to assess. Colistin systemic exposure after multiple dosing at steady state is only governed by its apparent clearance ( $\text{CL}_{\text{coli}}/\text{fm}$ ) according to  $AUC_{0-24} = [\text{daily dose}/(\text{CL}_{\text{coli}}/\text{fm})]$  [2], where  $\text{CL}_{\text{coli}}$  corresponds to colistin clearance and fm to the fraction of the CMS dose converted into colistin. In this child  $\text{CL}_{\text{coli}}/\text{fm}$  was estimated at 332 mL/min, twice as high as in healthy volunteers [4] (160 mL/min), which is responsible for the relatively low colistin concentrations (Fig. 1) and  $C_{ss}$  estimate (1.0 µg/mL) despite the 9 MIU daily dose. The relatively high  $\text{CL}_{\text{coli}}/\text{fm}$  value estimated in this child is difficult to interpret.  $\text{CL}_{\text{coli}}$  is hard to assess because the mechanism of colistin elimination is unknown and the fraction of CMS converted into colistin (fm) depends on the fraction of the CMS dose excreted unchanged in urine (fe), which is correlated to  $\text{CrCl}$ . Because the  $\text{CrCl}$  value in this child (103 mL/min) compared favorably with that of healthy volunteers, fm should not be markedly altered. This relatively high  $\text{CrCl}$  is actually not surprising considering that glomerular filtration rate reaches adult values at prepubertal age [5]. Therefore, the reason for this relatively high  $\text{CL}_{\text{coli}}/\text{fm}$  remains unknown, and although difficult to assess, an altered protein binding could also contribute to this high  $\text{CL}_{\text{coli}}/\text{fm}$  value. However, this parameter, which determines colistin  $C_{ss}$  for a given daily dose, is not decreased together with body weight, at least in this child, a finding that is in agreement with our recent understanding of colistin PK [1,2].

Although more data would be needed to confirm this observation, it appears that there is no clear justification for reducing CMS daily dose in children because of their low body weight, as far as their glomerular filtration rate reaches adults values. The



**Fig. 1.** Colistin methanesulfonate (CMS; solid triangles) and colistin (solid squares) plasma concentrations at steady state, after 1 hour's intravenous infusion of 3 MIU of CMS every 8 hours. Dashed line and solid line represent predicted concentrations of CMS and colistin respectively.

dosing regimen currently recommended by EMA in children may not be optimal, and we would recommend higher doses with close monitoring of concentrations, in particular to avoid nephrotoxicity.

### Transparency declaration

All authors report no conflicts of interest relevant to this article.

### References

- [1] Nation RL, Li J, Cars O, Couet W, Dudley MN, Kaye KS, et al. Framework for optimisation of the clinical use of colistin and polymyxin B: the Prato polymyxin consensus. *Lancet Infect Dis* 2015;15:225–34.
- [2] Grégoire N, Aranzana-Clement V, Magréault S, Marchand S, Couet W. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of colistin. *Clin Pharmacokinet* 2017;56:1441–60.
- [3] Nation RL. Dose suggestions for intravenous colistin in pediatric patients: caution required. *Clin Infect Dis* 2018;66:810–1.
- [4] Couet W, Grégoire N, Gobin P, Saulnier PJ, Frasca D, Marchand S, et al. Pharmacokinetics of colistin and colistimethate sodium after a single 80-mg intravenous dose of CMS in young healthy volunteers. *Clin Pharmacol Ther* 2011;89:875–9.
- [5] Rodieux F, Wilbaux M, van den Anker JN, Pfister M. Effect of kidney function on drug kinetics and dosing in neonates, infants, and children. *Clin Pharmacokinet* 2015;54:1183–204.

S. Magréault<sup>†</sup>

INSERM U1070, Université de Poitiers, CHU de Poitiers, Poitiers, France

C. Petyt<sup>†</sup>, E. Senneville, D. Fron, E. Nectoux, C. Loiez  
CHU Lille, Lille, France

S. Marchand, N. Grégoire, W. Couet\*

INSERM U1070, Université de Poitiers, CHU de Poitiers, Poitiers, France

\* Corresponding author. W. Couet, INSERM U1070, Pôle Biologie Santé, Bâtiment B36/B37, 1 Rue Georges Bonnet, TSA 51106, 86073 Poitiers Cedex 9, France.

E-mail address: [william.couet@univ-poitiers.fr](mailto:william.couet@univ-poitiers.fr) (W. Couet).

22 February 2018

Available online xxx

<sup>†</sup> The first two authors contributed equally to this article, and both should be considered first author.

# Discussion générale

---

L'objectif commun des travaux présentés dans ce manuscrit était de poursuivre la compréhension de la pharmacocinétique de la colistine chez différentes populations de patients et d'apporter de nouveaux éléments afin d'optimiser l'utilisation de cet antibiotique en pratique clinique.

En effet, comme cela a été rappelé en introduction, la colistine est un antibiotique relativement ancien, dont l'AMM date de la fin des années 1950 (20). Ecarté un temps du panel thérapeutique à disposition des cliniciens en raison de sa néphrotoxicité, la colistine bénéficie maintenant d'un statut d' « antibiotique critique » pouvant être utilisé en dernier recours contre des germes multirésistants (21). Depuis une dizaine d'années, plusieurs équipes de recherche ont tenté de pallier au manque de données cliniques et pharmacocinétiques initialement disponibles dans le dossier d'AMM afin d'accroître les connaissances sur cette molécule et d'optimiser son utilisation, notamment face à l'émergence de nouveaux mécanismes de résistance bactériens (118).

Toutefois, **la pharmacocinétique de la colistine est très complexe et certains points restent entourés d'inconnu**, notamment **chez le patient de réanimation**.

L'administration directe de colistine étant trop毒ique, la molécule est administrée sous la forme de sa prodrogue inactive, le CMS. Ce dernier est majoritairement excrété par voie rénale sous forme inchangée et seule une fraction, d'environ 1/3 de la dose, se transforme en colistine chez les volontaires sains avec une fonction rénale normale (35). Le mécanisme d'élimination de la colistine n'est quant à lui pas totalement connu mais ne semble pas impliquer la fonction rénale. Une forte réabsorption tubulaire a été décrite et permet d'expliquer en partie la néphrotoxicité associée à la molécule (47). La colistine réabsorbée au niveau tubulaire serait ensuite possiblement dégradée localement (153).

Les différentes études de pharmacocinétique de population du CMS et de la colistine chez le patient de réanimation montrent en outre des résultats discordants (41-43). Le principal point de divergence concerne l'estimation du volume de distribution apparent de la colistine, respectivement estimé à 189 L et 165 L par Plachouras *et al.* (43) et Garonzik *et al.* (42) tandis qu'il est estimé à 25.7 L par Grégoire *et al.* (41) conduisant à une différence d'estimation de la demi-vie d'élimination de la colistine, beaucoup plus courte chez Grégoire *et al.* (3.2 h versus 14.4 h et 9.2 h). En terme d'ajustement posologique, le volume de distribution de la colistine n'influe pas sur la concentration moyenne à l'équilibre de la molécule active (44), ces modifications ne conduisent donc pas à une modification de la dose d'entretien. Le volume de distribution est toutefois directement lié à la concentration maximale en colistine après la première administration de CMS ainsi qu'au délai nécessaire avant d'atteindre l'équilibre et conditionne ainsi l'utilisation d'une dose de charge lors de la mise en route du traitement.

L'un des arguments évoqués par l'équipe de Plachouras (127) afin de remettre en cause l'estimation du volume de distribution apparent de colistine plus faible chez Grégoire *et al.* repose sur le fait que ce volume (25.7 L) est similaire à celui rapporté chez le volontaire sain (41.3 L) (35). Leur raisonnement repose sur le fait que de nombreuses modifications physiopathologiques apparaissent chez le patient de réanimation conduisant à une altération du volume de distribution et de la clairance des antibiotiques. De plus, les bactéries à Gram négatif produisent des endotoxines qui induisent une réaction inflammatoire affectant l'endothélium vasculaire, conduisant à une augmentation de la perméabilité des capillaires et à une augmentation du volume de distribution (154).

L'hypothèse d'un mauvais contrôle de la conversion *in vitro* du CMS en colistine lors de la phase de pré-traitement des échantillons au cours de l'étape analytique a été abordée face aux différences observées entre les études. Cette transformation *in-vitro* du CMS en colistine aurait pour impact d'augmenter de façon artificielle les concentrations en molécule active et de conduire à une estimation erronée des paramètres PK (20). Ce mécanisme a été observé avant le début des années 2000 lorsque la colistine était dosée par méthode microbiologique et semble contenu depuis l'utilisation de méthodes analytiques séparatives faisant suite à un pré-traitement rapide des échantillons. Toutefois, l'exploration de cette

hypothèse fut l'un des arguments pour la réalisation du premier contrôle de qualité inter-laboratoires présenté dans le **Chapitre I** de ce manuscrit.

Quinze échantillons contenant du CMS +/- de la colistine ont été envoyés « en aveugle » à 8 centres européens réalisant des dosages par méthode séparative pour leur activité de routine et de recherche. Bien que les résultats aient montré une sous-estimation des concentrations de CMS dans la plupart des centres, cette dernière n'était pas associée à une surestimation des concentrations en colistine, écartant ainsi l'hypothèse d'une conversion *in vitro* de la prodrogue au cours de la phase pré-analytique. Cette étude a également montré que les dosages de colistine étaient relativement exacts (biais moyen = 12 %) et précis (%CV moyen < 20 %), ceci permettant l'exploitation et la comparaison des études européennes entre elles.

Comme cela a été évoqué dans l'introduction, il existe d'autres hypothèses pour expliquer les différences observées entre les études et qui concernent notamment les formulations de CMS utilisées : proportion de CMS A et B plus importantes dans les formulations récentes (127) ou utilisation de CMS provenant de fournisseurs différents (« brand effect ») (25). La présence de patients présentant une fonction rénale hétérogène entre les études peut également conduire à des différences dans l'estimation des paramètres PK.

Quoiqu'il en soit, les auteurs s'accordent pour considérer que la **cible thérapeutique de la colistine est une concentration moyenne à l'équilibre (Css) d'environ 2 mg/L**. Toutefois, une **meilleure compréhension des mécanismes impliqués dans la pharmacocinétique de la colistine et en particulier dans la valeur de la Css est nécessaire**. En effet, les paramètres PK impactant cette concentration sont constitués de deux paramètres reflétant la formation de la colistine (la clairance rénale de CMS,  $CL_{R,CMS}$  et la clairance non rénale de CMS,  $CL_{NR,CMS}$ ) ainsi que d'un troisième paramètre, caractérisant son élimination, la clairance de la colistine,  $CL_{coli}$  (Équation 23).

Ainsi, les divergences de volume de distribution et par conséquent de demi-vie d'élimination citées précédemment n'ont pas d'impact sur cette Css. Toutefois, il est nécessaire de rappeler que lorsque les paramètres PK sont comparés entre les études, ce sont généralement les valeurs médianes de ces paramètres qui sont citées. Or, le CMS et la colistine se caractérisent par une très forte variabilité inter-individuelle (iiv) et intra-individuelle (iov) (41-43, 127).

L'étude présentée dans le **Chapitre II** de ce manuscrit est basée sur des simulations de patients et s'appuie sur le modèle de population publié par Grégoire *et al.* (41). Les simulations prenaient en compte l'iiv décrite dans l'étude de Grégoire et al. (41) et une posologie de 2 MUI était administrée trois fois par jour à 1000 patients simulés présentant tous une clairance de la créatinine de 40 mL/min. Cette étude a montré que seuls 48 % des patients simulés présentaient une Css comprise entre 2 et 4 mg/L et que plus de 10 % d'entre eux devaient bénéficier d'un changement rapide de posologie ou bien en raison d'un risque élevé de néphrotoxicité aiguë ( $\text{Css} > 6 \text{ mg/L}$ ) ou bien en raison d'un risque d'inefficacité du traitement ( $\text{Css} < 1 \text{ mg/L}$ ).

Il a été décrit par plusieurs auteurs que la dose d'entretien devait être choisie en fonction de l'état rénal du patient, la clairance rénale de CMS étant directement liée à la clairance de la créatinine (42, 44, 126). Fixer la valeur de la clairance de la créatinine et utiliser une posologie standard adaptée à la fonction rénale des patients simulés avait ainsi pour but théorique de s'affranchir de la variabilité associée aux différences de fonction rénale. Dans cette même étude, des simulations ont également été réalisées en fixant les valeurs des paramètres PK du CMS et de la colistine à leur valeur médiane et en faisant varier les paramètres un à un en fonction de l'iiv décrite par Grégoire et al. (41). Toutefois, malgré le fait que la CLcreat ait été fixée chez les patients simulés et que les  $\text{CL}_{R,CMS}$  simulées prenaient en compte un lien de corrélation avec cette CLcreat, l'iiv observée lorsque la  $\text{CL}_{R,CMS}$  évoluait seule était très significative. Cela suggérait que la fonction rénale des patients n'expliquerait qu'une partie de cette variabilité, une autre part demeurant à ce jour inexpliquée. La variabilité inexpliquée de la  $\text{CL}_{R,CMS}$  pourrait être liée à une erreur d'estimation du débit de filtration glomérulaire (DFG) par la formule de Cockcroft et Gault chez les patients de réanimation ou bien au fait que ce paramètre ne dépende pas seulement du DFG.

Une fois noté l'impact de la  $\text{CL}_{\text{R,CMS}}$ , l'étude a également montré que l'iiv observée sur les concentrations en colistine était majoritairement liée aux variations de la CLcoli. Toutefois, le mécanisme d'élimination de la colistine est inconnu et aucune covariable associée à ce paramètre n'a été décrite dans la littérature. Il est ainsi difficile de s'appuyer sur l'état actuel des connaissances des mécanismes impliqués dans l'iiv des concentrations en colistine pour expliquer les valeurs de Css.

Des **études sont toujours en cours** afin de **définir le meilleur schéma posologique à utiliser chez le patient de réanimation**. Pour rappel, l'étude précédente présentée dans le **Chapitre II** de ce manuscrit se caractérisait par une estimation du volume de distribution de la colistine relativement faible et ne justifiait pas l'utilisation d'une dose de charge, l'état d'équilibre étant théoriquement atteint en moins de 24 h. Ainsi, en se basant sur l'utilisation d'une dose d'entretien adaptée à la fonction rénale, en trois administrations par jour et sans avoir recours à une dose de charge, cette étude avait pour but d'étudier s'il était possible de prédire la Css dès la première injection de CMS.

Le STP réalisé en routine à l'hôpital via la mise en place des analyses bayésiennes avec une stratégie de prélèvements limités s'est majoritairement développé en France dans le cas des traitements par immunosuppresseurs (155, 156) ou anticancéreux (157, 158). Ce type de traitement est généralement long et permet plus de « confort » dans l'ajustement posologique, en permettant notamment d'attendre l'état d'équilibre avant de réaliser les prélèvements, de réaliser le dosage des molécules en routine et non en urgence et de traiter les données dans un délai raisonnable. Toutefois, en raison de la gravité des infections bactériennes nécessitant le recours à la colistine et du risque élevé de néphrotoxicité, il est essentiel de trouver la bonne posologie de cet antibiotique très rapidement, si possible dès le premier jour du traitement. Des analyses bayésiennes ont ainsi été réalisées à partir de la prise en compte de 1, 2 ou 3 concentrations en colistine obtenues après la première administration de CMS chez les patients simulés (41). Les biais obtenus sur l'estimation de la Css n'étaient toutefois pas satisfaisants alors même qu'une seule population était étudiée (patients de réanimation avec une CLcreat = 40 mL/min) et que la variabilité intra-individuelle n'était pas prise en compte dans les simulations. Ajouté à cela la complexité

de la logistique entourant la prise en charge des dosages de colistine en routine, cette étude n'a pas permis de conclure sur la faisabilité d'un ajustement posologique précoce de cet antibiotique.

De plus, les publications les plus récentes ainsi que les recommandations européennes préconisent actuellement l'utilisation d'une dose de charge suivie d'une dose d'entretien administrée en 2 à 3 injections journalières (126, 129), complexifiant encore l'adaptation posologique dès la première injection.

L'efficacité clinique de la colistine est associée à une valeur de Css d'environ 2 mg/L et donc à une AUC<sub>0-24h</sub> à l'équilibre d'environ 48 mg/L.h<sup>-1</sup>. Parmi toutes les études réalisées chez le patient de réanimation, il a toujours été décrit une élimination linéaire de la colistine (41-43, 127). Ainsi, la fragmentation de la dose journalière en une, deux ou trois administrations ne devrait pas avoir d'impact sur la valeur de la Css mais devrait simplement être associée à des fluctuations de concentrations plus importantes. Et comme la toxicité de la colistine est étroitement liée à la valeur de sa Cmin, l'utilisation d'une seule dose journalière pourrait avoir un impact positif sur les cas de néphrotoxicité rapportés avec l'utilisation de cet antibiotique. L'étude présente dans le **Chapitre III** a été réalisée afin d'apporter des éléments pharmacocinétiques pour étayer cette hypothèse. Un modèle de population a été réalisé chez 9 patients de réanimation présentant une fonction rénale préservée et recevant 9 MUI de CMS une fois par jour. Des prélèvements ont été réalisés après la première et la troisième injection afin de caractériser la pharmacocinétique du CMS et de la colistine.

Un modèle à un compartiment pour le CMS et un compartiment pour la colistine avec une élimination linéaire d'ordre 1 pour ces deux paramètres a permis de caractériser la pharmacocinétique de ces deux composés. La Cmin typique prédite était de 1.7 mg/L et la Css typique de 4.3 mg/L, ce qui est relativement élevé par rapport aux Css décrites dans les publications précédentes réalisées chez des patients de réanimation avec une fonction rénale normale. Bien que le nombre de patients de cette étude soit trop faible pour conclure, cette Css élevée pourrait être liée à une estimation de la clairance apparente de la colistine plus faible dans cette étude que dans les précédentes publications, laissant supposer une élimination non-linéaire de la colistine lorsque le CMS est administré en une seule injection par jour. La

confirmation de cette hypothèse nécessite toutefois une étude de pharmacocinétique de population chez un nombre plus élevé de patients.

Compte-tenu de leurs particularités physiopathologiques, les études réalisées chez le patient de réanimation ne peuvent être transposées chez les **patients atteints de mucoviscidose**. Il a notamment été démontré que l'utilisation d'une dose standard d'antibiotique chez ces patients conduisait à une sous-exposition de la molécule conduisant à une mauvaise prise en charge des infections (139, 140). Les quelques études disponibles suggèrent d'utiliser en premier lieu une administration locale de CMS par voie nébulisée pour lutter contre les infections et colonisations pulmonaires chez les patients atteints de mucoviscidose (63, 144).

L'étude présentée dans le **Chapitre IV** de ce manuscrit a permis de caractériser la pharmacocinétique du CMS et de la colistine après l'utilisation de doses répétées de CMS par aérosol et d'une dose unique de CMS par voie intra-veineuse chez 9 patients atteints de mucoviscidose et présentant une fonction rénale non altérée.

Un modèle de pharmacocinétique de population a été réalisé et de façon inattendue, la  $CL_{R,CMS}$  estimée était plus faible chez ces patients que celle décrite chez les volontaires sains (64.3 mL/min versus 103 mL/min (35)) alors même que la clairance rénale des médicaments est usuellement plus élevée chez les patients atteints de mucoviscidose (159). De plus, si l'on considère que la fraction de CMS non excrétée sous forme inchangée dans les urines se transforme en colistine, cette diminution de la  $CL_{R,CMS}$  devrait théoriquement conduire à une augmentation de la  $C_{ss}$  (44). Or, cette étude montre également une diminution de 34 % de l'exposition à la colistine chez les patients atteints de mucoviscidose par rapport aux volontaires sains (35), liée à une  $CL_{coli}$  apparente 2.5 fois plus élevée.

Une fois encore, le métabolisme de la colistine étant encore largement méconnu, il est difficile d'expliquer cette sous-exposition à la colistine chez cette population. Toutefois, contrairement à la problématique soulevée par Bulitta *et al.* (143) concernant les études réalisées pour les antibiotiques de

la famille des bêta-lactames chez des patients atteints de mucoviscidose plus jeunes et multi-pathologiques, les patients de l'étude présentée dans ce manuscrit peuvent être comparés aux volontaires sains compte tenu de leur âge, leur poids et leur condition physique.

Cette étude montre également qu'après une administration répétée de CMS par voie nébulisée, les concentrations locales en colistine sont très élevées (parfois > 20 mg/L) et les concentrations plasmatiques très basses (toujours < 0.21 mg/L) conduisant à une diminution du risque de toxicité systémique.

Ainsi, chez les **patients atteints de mucoviscidose** :

- L'**administration du CMS par aérosols** est préférable dans le cas d'**infection locale**
- En cas d'**infection systémique**, l'augmentation des posologies de CMS ne permettrait a priori pas d'atteindre une exposition suffisante en colistine chez les patients avec une fonction rénale normale et les **combinaisons thérapeutiques** doivent être favorisées.

Une autre population ne permettant pas l'extrapolation directe des études réalisées chez le patient de réanimation est la **population pédiatrique**. Le **Chapitre V** de ce manuscrit s'appuie sur la présentation d'un cas clinique et d'une lettre à l'éditeur (présentée en **Annexe II**) afin de proposer une révision des recommandations actuelles qui suggèrent l'utilisation de posologies plus faibles chez l'enfant que chez l'adulte mais qui semblent conduire à une sous-exposition en colistine des patients (67, 148, 149). Le cas clinique présenté rapportait le cas d'un jeune garçon de 8 ans, pesant 25 kg pour 1.35 m, traité par CMS à la dose de 360.000 UI/kg/jour (soit 9 MUI/jour) pour une infection osseuse. Malgré l'utilisation d'une posologie équivalente à celle proposée chez l'adulte, la concentration moyenne en colistine à l'équilibre était de 1.0 mg/L et aucun effet indésirable n'a été décrit au cours du traitement. Ce cas illustre par l'exemple ce que les études suggèrent depuis plusieurs années (67, 150, 160) et une analyse à plus grande échelle est désormais nécessaire afin d'évaluer l'efficacité et la sécurité de ce schéma posologique en pédiatrie.

# Conclusion

---

Quel que soit la population étudiée ou le type d'infection, le clinicien se doit de trouver une stratégie thérapeutique efficace. En tant qu'antibiotique de « dernier recours » la colistine n'apparaît généralement dans l'arsenal thérapeutique qu'après retour d'un antibiogramme présentant de nombreuses résistances bactériennes face aux autres classes thérapeutiques. Ainsi, non seulement son utilisation doit être optimale pour soigner le patient en question mais également pour éviter l'émergence de résistances bactériennes.

Or, comme cela a été montré dans ce manuscrit, **l'efficacité d'un traitement par colistine est associée à une Css autour de 2 mg/L, et la posologie journalière doit être adaptée à la fonction rénale du patient.** Cette valeur de 2 mg/L peut toutefois être très difficile à atteindre chez des patients avec une fonction rénale normale ou dans une population particulière comme cela est le cas chez les patients atteints de mucoviscidose. De plus, cette valeur est également liée à la CMI du germe incriminé et peut par conséquent être plus élevée (44, 50, 126).

**Augmenter la dose journalière de CMS au-delà de 12 MUI par jour n'est pas une solution envisageable :** cela ne conduirait pas à augmenter la valeur de la Css, du fait que le CMS serait majoritairement excrété sous forme inchangée et cela risquerait de conduire à des cas d'insuffisance rénale aiguë (126). La stratégie à adopter consiste donc à avoir **recours à une combinaison thérapeutique**, notamment avec les **carbapénèmes**, en s'appuyant sur le mécanisme de synergie décrit avec cette classe thérapeutique (124, 125).

Une autre alternative consiste à **utiliser la colistine par voie locale** lorsque cela est possible, afin d'obtenir des concentrations les plus élevées possibles au niveau du site infectieux tout en réduisant le risque de toxicité systémique. Cela a notamment été étudié dans le cas des infections pulmonaires avec le recours aux aérosols de CMS chez le patient de réanimation (54) et le patient atteint de mucoviscidose (63).

(Chapitre IV), dans le cas d'infection du système nerveux central (66, 68) ainsi que dans le cas d'infection péritonéale (69). Récemment, un cas clinique a également été publié concernant l'ajout d'une combinaison thérapeutique constituée de gentamicine, vancomycine et colistine dans un ciment chez un patient présentant des infections articulaires plurimicrobiennes récidivantes (Cas clinique présenté en Annexe III) (161). Ce type d'utilisation est idéalement associé à la réalisation de **dosages de colistine dans les différentes matrices d'intérêt** (liquide broncho-alvéolaire, liquide céphalo-rachidien, liquide péritonéal, redon,...) et nécessite un **contact étroit entre biologistes et cliniciens** afin d'assurer une prise en charge optimale des patients.

# Références

---

1. Marquet P. Suivi Thérapeutique Pharmacologique. Elsevier, Collection OPTION BIO, 2004 544 p.
2. Widmer N, Csajka C, Werner D, Grouzmann E, Decosterd LA, Eap CB, et al. [Principles of therapeutic drug monitoring]. Revue medicale suisse. 2008;4(165):1644-8.
3. Rousseau A, Marquet P. Application of pharmacokinetic modelling to the routine therapeutic drug monitoring of anticancer drugs. Fundamental & clinical pharmacology. 2002;16(4):253-62.
4. Craig WA. Pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters: rationale for antibacterial dosing of mice and men. Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America. 1998;26(1):1-10; quiz 1-2.
5. Roberts JA, Norris R, Paterson DL, Martin JH. Therapeutic drug monitoring of antimicrobials. British journal of clinical pharmacology. 2012;73(1):27-36.
6. Mouton JW, Dudley MN, Cars O, Derendorf H, Drusano GL. Standardization of pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) terminology for anti-infective drugs: an update. The Journal of antimicrobial chemotherapy. 2005;55(5):601-7.
7. Jacobs MR. Optimisation of antimicrobial therapy using pharmacokinetic and pharmacodynamic parameters. Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. 2001;7(11):589-96.
8. Garraffo RL, T., . The clinical importance of relationship between antibiotic pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters in critical ill patients. Reanimation 2005;14:264-75.
9. Martinez MN, Papich MG, Drusano GL. Dosing regimen matters: the importance of early intervention and rapid attainment of the pharmacokinetic/pharmacodynamic target. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2012;56(6):2795-805.
10. Rodman JH DAD, Peck CC. Analysis of pharmacokinetic data for individualisation of dosage regimens. In: Burton ME, Shaw LM, Schentag JJ, Evans WE, editors. Applied Pharmacokinetics & Pharmacodynamics Principles of Therapeutic Drug Monitoring. 4 ed: Lippincott Williams & Wilkins; 2006. p. 40-59.
11. Bowers LD. Analytical goals in therapeutic drug monitoring. Clinical chemistry. 1998;44(2):375-80.
12. Morris RG. Target concentration strategy for cyclosporin monitoring. Clinical pharmacokinetics. 1997;32(3):175-9.
13. Rowland M, Tozer T. Clinical pharmacokinetics; concepts and application. Lea et Fediger - Philadelphia; 1980.
14. Toutain PL, Bousquet-Melou A. Volumes of distribution. Journal of veterinary pharmacology and therapeutics. 2004;27(6):441-53.
15. Sheiner LB, Rosenberg B, Melmon KL. Modelling of individual pharmacokinetics for computer-aided drug dosage. Computers and biomedical research, an international journal. 1972;5(5):411-59.
16. Aarons L. Population pharmacokinetics: theory and practice. British journal of clinical pharmacology. 1991;32(6):669-70.
17. Bonate PL. Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Modeling and Simulation. Springer, New York. 2006.
18. Schmitt A, Gladieff L, Lansiaux A, Bobin-Dubigeon C, Etienne-Grimaldi MC, Boisdran-Celle M, et al. A universal formula based on cystatin C to perform individual dosing of carboplatin in normal weight, underweight, and obese patients. Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research. 2009;15(10):3633-9.

19. Nicolau DP, Freeman CD, Belliveau PP, Nightingale CH, Ross JW, Quintiliani R. Experience with a once-daily aminoglycoside program administered to 2,184 adult patients. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 1995;39(3):650-5.
20. Li J, Nation RL, Turnidge JD, Milne RW, Coulthard K, Rayner CR, et al. Colistin: the re-emerging antibiotic for multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. *The Lancet Infectious diseases*. 2006;6(9):589-601.
21. ANSM. Les antibiotiques considérés comme "critiques" : premières réflexions sur leur caractérisation - Point d'information. 2013.
22. Nation RL, Li J. Colistin in the 21st century. *Current opinion in infectious diseases*. 2009;22(6):535-43.
23. Nation RL, Li J, Cars O, Couet W, Dudley MN, Kaye KS, et al. Framework for optimisation of the clinical use of colistin and polymyxin B: the Prato polymyxin consensus. *The Lancet Infectious diseases*. 2015;15(2):225-34.
24. Nation RL, Li J, Cars O, Couet W, Dudley MN, Kaye KS, et al. Consistent global approach on reporting of colistin doses to promote safe and effective use. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2014;58(1):139-41.
25. He H, Li JC, Nation RL, Jacob J, Chen G, Lee HJ, et al. Pharmacokinetics of four different brands of colistimethate and formed colistin in rats. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2013;68(10):2311-7.
26. Rhouma M, Beaudry F, Theriault W, Bergeron N, Laurent-Lewandowski S, Fairbrother JM, et al. Gastric stability and oral bioavailability of colistin sulfate in pigs challenged or not with *Escherichia coli* O149: F4 (K88). *Research in veterinary science*. 2015;102:173-81.
27. Bergen PJ, Landersdorfer CB, Lee HJ, Li J, Nation RL. 'Old' antibiotics for emerging multidrug-resistant bacteria. *Current opinion in infectious diseases*. 2012;25(6):626-33.
28. Wallace SJ, Li J, Nation RL, Prankerd RJ, Velkov T, Boyd BJ. Self-assembly behavior of colistin and its prodrug colistin methanesulfonate: implications for solution stability and solubilization. *The journal of physical chemistry B*. 2010;114(14):4836-40.
29. Wallace SJ, Li J, Rayner CR, Coulthard K, Nation RL. Stability of colistin methanesulfonate in pharmaceutical products and solutions for administration to patients. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2008;52(9):3047-51.
30. Gobin P, Lemaitre F, Marchand S, Couet W, Olivier JC. Assay of colistin and colistin methanesulfonate in plasma and urine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2010;54(5):1941-8.
31. Jansson B, Karvanen M, Cars O, Plachouras D, Friberg LE. Quantitative analysis of colistin A and colistin B in plasma and culture medium using a simple precipitation step followed by LC/MS/MS. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. 2009;49(3):760-7.
32. Zhao M, Wu XJ, Fan YX, Guo BN, Zhang J. Development and validation of a UHPLC-MS/MS assay for colistin methanesulphonate (CMS) and colistin in human plasma and urine using weak-cation exchange solid-phase extraction. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. 2016;124:303-8.
33. Li J, Milne RW, Nation RL, Turnidge JD, Coulthard K, Johnson DW. A simple method for the assay of colistin in human plasma, using pre-column derivatization with 9-fluorenylmethyl chloroformate in solid-phase extraction cartridges and reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Journal of chromatography B, Biomedical sciences and applications*. 2001;761(2):167-75.
34. Li J, Milne RW, Nation RL, Turnidge JD, Coulthard K. Stability of colistin and colistin methanesulfonate in aqueous media and plasma as determined by high-performance liquid chromatography. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2003;47(4):1364-70.
35. Couet W, Gregoire N, Gobin P, Saulnier PJ, Frasca D, Marchand S, et al. Pharmacokinetics of colistin and colistimethate sodium after a single 80-mg intravenous dose of CMS in young healthy volunteers. *Clinical pharmacology and therapeutics*. 2011;89(6):875-9.

36. Karvanen M, Malmberg C, Lagerback P, Friberg LE, Cars O. Colistin is Extensively Lost during Standard in Vitro Experimental Conditions. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2017.
37. Li J, Nation RL, Milne RW, Turnidge JD, Coulthard K. Evaluation of colistin as an agent against multi-resistant Gram-negative bacteria. *International journal of antimicrobial agents*. 2005;25(1):11-25.
38. Vaara M. Agents that increase the permeability of the outer membrane. *Microbiological reviews*. 1992;56(3):395-411.
39. Marchand S, Gobin P, Brillault J, Baptista S, Adier C, Olivier JC, et al. Aerosol therapy with colistin methanesulfonate: a biopharmaceutical issue illustrated in rats. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2010;54(9):3702-7.
40. Van den Meersche T, Van Pamel E, Van Poucke C, Herman L, Heyndrickx M, Rasschaert G, et al. Development, validation and application of an ultra high performance liquid chromatographic-tandem mass spectrometric method for the simultaneous detection and quantification of five different classes of veterinary antibiotics in swine manure. *Journal of chromatography A*. 2016;1429:248-57.
41. Gregoire N, Mimoz O, Megarbane B, Comets E, Chatelier D, Lasocki S, et al. New colistin population pharmacokinetic data in critically ill patients suggesting an alternative loading dose rationale. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2014;58(12):7324-30.
42. Garonzik SM, Li J, Thamlikitkul V, Paterson DL, Shoham S, Jacob J, et al. Population pharmacokinetics of colistin methanesulfonate and formed colistin in critically ill patients from a multicenter study provide dosing suggestions for various categories of patients. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2011;55(7):3284-94.
43. Plachouras D, Karvanen M, Friberg LE, Papadomichelakis E, Antoniadou A, Tsangaris I, et al. Population pharmacokinetic analysis of colistin methanesulfonate and colistin after intravenous administration in critically ill patients with infections caused by gram-negative bacteria. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2009;53(8):3430-6.
44. Couet W, Gregoire N, Marchand S, Mimoz O. Colistin pharmacokinetics: the fog is lifting. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2012;18(1):30-9.
45. Ma Z, Wang J, Nation RL, Li J, Turnidge JD, Coulthard K, et al. Renal disposition of colistin in the isolated perfused rat kidney. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2009;53(7):2857-64.
46. Lu X, Chan T, Xu C, Zhu L, Zhou QT, Roberts KD, et al. Human oligopeptide transporter 2 (PEPT2) mediates cellular uptake of polymyxins. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2016;71(2):403-12.
47. Suzuki T, Yamaguchi H, Ogura J, Kobayashi M, Yamada T, Iseki K. Megalin contributes to kidney accumulation and nephrotoxicity of colistin. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2013;57(12):6319-24.
48. Diao L, Meibohm B. Pharmacokinetics and pharmacokinetic-pharmacodynamic correlations of therapeutic peptides. *Clinical pharmacokinetics*. 2013;52(10):855-68.
49. Azad MA, Huang JX, Cooper MA, Roberts KD, Thompson PE, Nation RL, et al. Structure-activity relationships for the binding of polymyxins with human alpha-1-acid glycoprotein. *Biochemical pharmacology*. 2012;84(3):278-91.
50. Cheah SE, Wang J, Nguyen VT, Turnidge JD, Li J, Nation RL. New pharmacokinetic/pharmacodynamic studies of systemically administered colistin against *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* in mouse thigh and lung infection models: smaller response in lung infection. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2015;70(12):3291-7.
51. Matzneller P, Gobin P, Lackner E, Zeitlinger M. Feasibility of microdialysis for determination of protein binding and target site pharmacokinetics of colistin in vivo. *Journal of clinical pharmacology*. 2015;55(4):431-7.
52. Mohamed AF, Karaiskos I, Plachouras D, Karvanen M, Pontikis K, Jansson B, et al. Application of a loading dose of colistin methanesulfonate in critically ill patients: population pharmacokinetics, protein binding, and prediction of bacterial kill. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2012;56(8):4241-9.

53. Kremer JM, Wilting J, Janssen LH. Drug binding to human alpha-1-acid glycoprotein in health and disease. *Pharmacological reviews*. 1988;40(1):1-47.
54. Boisson M, Gregoire N, Cormier M, Gobin P, Marchand S, Couet W, et al. Pharmacokinetics of nebulized colistin methanesulfonate in critically ill patients. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2017;72(9):2607-12.
55. Imberti R, Cusato M, Villani P, Carnevale L, Iotti GA, Langer M, et al. Steady-state pharmacokinetics and BAL concentration of colistin in critically ill patients after IV colistin methanesulfonate administration. *Chest*. 2010;138(6):1333-9.
56. Boisson M, Jacobs M, Gregoire N, Gobin P, Marchand S, Couet W, et al. Comparison of intrapulmonary and systemic pharmacokinetics of colistin methanesulfonate (CMS) and colistin after aerosol delivery and intravenous administration of CMS in critically ill patients. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2014;58(12):7331-9.
57. Nickel S, Clerkin CG, Selo MA, Ehrhardt C. Transport mechanisms at the pulmonary mucosa: implications for drug delivery. *Expert opinion on drug delivery*. 2016;13(5):667-90.
58. Swaan PW, Bensman T, Bahadduri PM, Hall MW, Sarkar A, Bao S, et al. Bacterial peptide recognition and immune activation facilitated by human peptide transporter PEPT2. *American journal of respiratory cell and molecular biology*. 2008;39(5):536-42.
59. Kofteridis DP, Alexopoulou C, Valachis A, Maraki S, Dimopoulos D, Georgopoulos D, et al. Aerosolized plus intravenous colistin versus intravenous colistin alone for the treatment of ventilator-associated pneumonia: a matched case-control study. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2010;51(11):1238-44.
60. Korbila IP, Michalopoulos A, Rafailidis PI, Nikita D, Samonis G, Falagas ME. Inhaled colistin as adjunctive therapy to intravenous colistin for the treatment of microbiologically documented ventilator-associated pneumonia: a comparative cohort study. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2010;16(8):1230-6.
61. Michalopoulos A, Fotakis D, Virtzili S, Vletsas C, Raftopoulou S, Mastora Z, et al. Aerosolized colistin as adjunctive treatment of ventilator-associated pneumonia due to multidrug-resistant Gram-negative bacteria: a prospective study. *Respiratory medicine*. 2008;102(3):407-12.
62. Tumbarello M, De Pascale G, Trecarichi EM, De Martino S, Bello G, Maviglia R, et al. Effect of aerosolized colistin as adjunctive treatment on the outcomes of microbiologically documented ventilator-associated pneumonia caused by colistin-only susceptible gram-negative bacteria. *Chest*. 2013;144(6):1768-75.
63. Yapa WS, Li J, Patel K, Wilson JW, Dooley MJ, George J, et al. Pulmonary and systemic pharmacokinetics of inhaled and intravenous colistin methanesulfonate in cystic fibrosis patients: targeting advantage of inhalational administration. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2014;58(5):2570-9.
64. Ratjen F, Rietschel E, Kasel D, Schwierz R, Starke K, Beier H, et al. Pharmacokinetics of inhaled colistin in patients with cystic fibrosis. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2006;57(2):306-11.
65. Markantonis SL, Markou N, Fousteri M, Sakellaridis N, Karatzas S, Alamanos I, et al. Penetration of colistin into cerebrospinal fluid. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2009;53(11):4907-10.
66. Ziaka M, Markantonis SL, Fousteri M, Zygoulis P, Panidis D, Karvouniaris M, et al. Combined intravenous and intraventricular administration of colistin methanesulfonate in critically ill patients with central nervous system infection. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2013;57(4):1938-40.
67. Antachopoulos C, Karvanen M, Iosifidis E, Jansson B, Plachouras D, Cars O, et al. Serum and cerebrospinal fluid levels of colistin in pediatric patients. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2010;54(9):3985-7.
68. Imberti R, Cusato M, Accetta G, Marino V, Procaccio F, Del Gaudio A, et al. Pharmacokinetics of colistin in cerebrospinal fluid after intraventricular administration of colistin methanesulfonate. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2012;56(8):4416-21.

69. Mimoz O, Petitpas F, Gregoire N, Gobin P, Marchand S, Couet W. Colistin distribution in the peritoneal fluid of a patient with severe peritonitis. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2012;56(7):4035-6.
70. Bialvaei AZ, Samadi Kafil H. Colistin, mechanisms and prevalence of resistance. *Current medical research and opinion*. 2015;31(4):707-21.
71. Schindler M, Osborn MJ. Interaction of divalent cations and polymyxin B with lipopolysaccharide. *Biochemistry*. 1979;18(20):4425-30.
72. Koike M, Iida K, Matsuo T. Electron microscopic studies on mode of action of polymyxin. *Journal of bacteriology*. 1969;97(1):448-52.
73. Gough M, Hancock RE, Kelly NM. Antiendotoxin activity of cationic peptide antimicrobial agents. *Infection and immunity*. 1996;64(12):4922-7.
74. Bannatyne RM, Harnett NM, Lee KY, Biggar WD. Inhibition of the biologic effects of endotoxin on neutrophils by polymyxin B sulfate. *The Journal of infectious diseases*. 1977;136(4):469-74.
75. Martis N, Leroy S, Blanc V. Colistin in multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* blood-stream infections: a narrative review for the clinician. *The Journal of infection*. 2014;69(1):1-12.
76. Matuschek E, Åhman J, Webster C, Kahlmeter G. Antimicrobial susceptibility testing of colistin – evaluation of seven commercial MIC products against standard broth microdilution for *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Acinetobacter* spp. *Clinical Microbiology and Infection*. 2017.
77. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). M100-S25. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-fifth informational supplement. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute. 2015.
78. Lo-Ten-Foe JR, de Smet AM, Diederens BM, Kluytmans JA, van Keulen PH. Comparative evaluation of the VITEK 2, disk diffusion, etest, broth microdilution, and agar dilution susceptibility testing methods for colistin in clinical isolates, including heteroresistant *Enterobacter cloacae* and *Acinetobacter baumannii* strains. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2007;51(10):3726-30.
79. Hindler JA, Humphries RM. Colistin MIC variability by method for contemporary clinical isolates of multidrug-resistant Gram-negative bacilli. *Journal of clinical microbiology*. 2013;51(6):1678-84.
80. Dafopoulou K, Zarkotou O, Dimitroulia E, Hadjichristodoulou C, Gennimata V, Pournaras S, et al. Comparative Evaluation of Colistin Susceptibility Testing Methods among Carbapenem-Nonsusceptible *Klebsiella pneumoniae* and *Acinetobacter baumannii* Clinical Isolates. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2015;59(8):4625-30.
81. Storm DR, Rosenthal KS, Swanson PE. Polymyxin and related peptide antibiotics. *Annual review of biochemistry*. 1977;46:723-63.
82. Catchpole CR, Andrews JM, Brenwald N, Wise R. A reassessment of the in-vitro activity of colistin sulphomethate sodium. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 1997;39(2):255-60.
83. Frasca D, Dahyot-Fizelier C, Mimoz O. La colistine en réanimation. *Réanimation*. 2008;17(3):251-8.
84. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. EUCAST. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters, Version 8.0, [http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST\\_files/Breakpoint\\_tables/v\\_8.0\\_Breakpoint\\_Tables.pdf](http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_8.0_Breakpoint_Tables.pdf), Accessed 01.02.2018. 2018.
85. Gales AC, Jones RN, Sader HS. Contemporary activity of colistin and polymyxin B against a worldwide collection of Gram-negative pathogens: results from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2006-09). *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2011;66(9):2070-4.
86. Lee H, Hsu FF, Turk J, Groisman EA. The PmrA-regulated pmrC gene mediates phosphoethanolamine modification of lipid A and polymyxin resistance in *Salmonella enterica*. *Journal of bacteriology*. 2004;186(13):4124-33.

87. Moffatt JH, Harper M, Harrison P, Hale JD, Vinogradov E, Seemann T, et al. Colistin resistance in *Acinetobacter baumannii* is mediated by complete loss of lipopolysaccharide production. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2010;54(12):4971-7.
88. Hocquet D, Vigne C, El Garch F, Vejux A, Gotoh N, Lee A, et al. MexXY-OprM efflux pump is necessary for adaptive resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to aminoglycosides. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2003;47(4):1371-5.
89. Pamp SJ, Gjermansen M, Johansen HK, Tolker-Nielsen T. Tolerance to the antimicrobial peptide colistin in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms is linked to metabolically active cells, and depends on the pmr and mexAB-oprM genes. *Molecular microbiology*. 2008;68(1):223-40.
90. El-Halfawy OM, Valvano MA. Chemical communication of antibiotic resistance by a highly resistant subpopulation of bacterial cells. *PloS one*. 2013;8(7):e68874.
91. Li J, Rayner CR, Nation RL, Owen RJ, Spelman D, Tan KE, et al. Heteroresistance to colistin in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2006;50(9):2946-50.
92. Bergen PJ, Li J, Nation RL, Turnidge JD, Coulthard K, Milne RW. Comparison of once-, twice- and thrice-daily dosing of colistin on antibacterial effect and emergence of resistance: studies with *Pseudomonas aeruginosa* in an in vitro pharmacodynamic model. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2008;61(3):636-42.
93. Liu YY, Wang Y, Walsh TR, Yi LX, Zhang R, Spencer J, et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *The Lancet Infectious diseases*. 2016;16(2):161-8.
94. Castanheira M, Griffin MA, Deshpande LM, Mendes RE, Jones RN, Flamm RK. Detection of mcr-1 among *Escherichia coli* Clinical Isolates Collected Worldwide as Part of the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program in 2014 and 2015. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2016;60(9):5623-4.
95. Schwarz S, Johnson AP. Transferable resistance to colistin: a new but old threat. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2016;71(8):2066-70.
96. Bergen PJ, Bulitta JB, Forrest A, Tsuji BT, Li J, Nation RL. Pharmacokinetic/pharmacodynamic investigation of colistin against *Pseudomonas aeruginosa* using an in vitro model. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2010;54(9):3783-9.
97. Li J, Turnidge J, Milne R, Nation RL, Coulthard K. In vitro pharmacodynamic properties of colistin and colistin methanesulfonate against *Pseudomonas aeruginosa* isolates from patients with cystic fibrosis. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2001;45(3):781-5.
98. Mohamed AF, Cars O, Friberg LE. A pharmacokinetic/pharmacodynamic model developed for the effect of colistin on *Pseudomonas aeruginosa* in vitro with evaluation of population pharmacokinetic variability on simulated bacterial killing. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2014;69(5):1350-61.
99. Poudyal A, Howden BP, Bell JM, Gao W, Owen RJ, Turnidge JD, et al. In vitro pharmacodynamics of colistin against multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2008;62(6):1311-8.
100. Dudhani RV, Turnidge JD, Nation RL, Li J. fAUC/MIC is the most predictive pharmacokinetic/pharmacodynamic index of colistin against *Acinetobacter baumannii* in murine thigh and lung infection models. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2010;65(9):1984-90.
101. Dudhani RV, Turnidge JD, Coulthard K, Milne RW, Rayner CR, Li J, et al. Elucidation of the pharmacokinetic/pharmacodynamic determinant of colistin activity against *Pseudomonas aeruginosa* in murine thigh and lung infection models. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2010;54(3):1117-24.
102. Nation RL, Garonzik SM, Li J, Thamlikitkul V, Giamparellos-Bourboulis EJ, Paterson DL, et al. Updated US and European Dose Recommendations for Intravenous Colistin: How Do They Perform? *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2016;62(5):552-8.
103. Falagas ME, Kasiakou SK. Toxicity of polymyxins: a systematic review of the evidence from old and recent studies. *Critical care*. 2006;10(1):R27.

104. Dalfino L, Puntillo F, Ondok MJ, Mosca A, Monno R, Coppolecchia S, et al. Colistin-associated Acute Kidney Injury in Severely Ill Patients: A Step Toward a Better Renal Care? A Prospective Cohort Study. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2015;61(12):1771-7.
105. Phe K, Johnson ML, Palmer HR, Tam VH. Validation of a model to predict the risk of nephrotoxicity in patients receiving colistin. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2014;58(11):6946-8.
106. Sorli L, Luque S, Grau S, Berenguer N, Segura C, Montero MM, et al. Trough colistin plasma level is an independent risk factor for nephrotoxicity: a prospective observational cohort study. *BMC infectious diseases*. 2013;13:380.
107. Forrest A, Garonzik SM, Thamlikitkul V, Giamarellos-Bourboulis EJ, Paterson DL, Li J, et al. Pharmacokinetic/toxicodynamic analysis of colistin-associated acute kidney injury in critically ill patients. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2017.
108. Deryke CA, Crawford AJ, Uddin N, Wallace MR. Colistin dosing and nephrotoxicity in a large community teaching hospital. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2010;54(10):4503-5.
109. Kelesidis T, Falagas ME. The safety of polymyxin antibiotics. *Expert opinion on drug safety*. 2015;14(11):1687-701.
110. Sirijatuphat R, Limmahakhun S, Sirivatanaukorn V, Nation RL, Li J, Thamlikitkul V. Preliminary clinical study of the effect of ascorbic acid on colistin-associated nephrotoxicity. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2015;59(6):3224-32.
111. Yun B, Azad MA, Nowell CJ, Nation RL, Thompson PE, Roberts KD, et al. Cellular Uptake and Localization of Polymyxins in Renal Tubular Cells Using Rationally Designed Fluorescent Probes. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2015;59(12):7489-96.
112. Spapen H, Jacobs R, Van Gorp V, Troubleyn J, Honore PM. Renal and neurological side effects of colistin in critically ill patients. *Annals of intensive care*. 2011;1(1):14.
113. Spapen HD, Honore PM, Gregoire N, Gobin P, de Regt J, Martens GA, et al. Convulsions and apnoea in a patient infected with New Delhi metallo-beta-lactamase-1 Escherichia coli treated with colistin. *The Journal of infection*. 2011;63(6):468-70.
114. . !!! INVALID CITATION !!!
115. Antoniu SA, Cojocaru I. Inhaled colistin for lower respiratory tract infections. *Expert opinion on drug delivery*. 2012;9(3):333-42.
116. Bargiacchi O, De Rosa FG. Intrathecal or intraventricular colistin: a review. *Le infezioni in medicina : rivista periodica di eziologia, epidemiologia, diagnostica, clinica e terapia delle patologie infettive*. 2016;24(1):3-11.
117. Nation RL, Velkov T, Li J. Colistin and polymyxin B: peas in a pod, or chalk and cheese? *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2014;59(1):88-94.
118. Gregoire N, Aranzana-Climent V, Magreault S, Marchand S, Couet W. Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Colistin. *Clinical pharmacokinetics*. 2017;56(12):1441-60.
119. Yang H, Lv N, Hu L, Liu Y, Cheng J, Ye Y, et al. In vivo activity of vancomycin combined with colistin against multidrug-resistant strains of *Acinetobacter baumannii* in a *Galleria mellonella* model. *Infectious diseases*. 2016;48(3):189-94.
120. Sheng WH, Wang JT, Li SY, Lin YC, Cheng A, Chen YC, et al. Comparative in vitro antimicrobial susceptibilities and synergistic activities of antimicrobial combinations against carbapenem-resistant *Acinetobacter* species: *Acinetobacter baumannii* versus *Acinetobacter* genospecies 3 and 13TU. Diagnostic microbiology and infectious disease. 2011;70(3):380-6.
121. Vidaillac C, Benichou L, Duval RE. In vitro synergy of colistin combinations against colistin-resistant *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Klebsiella pneumoniae* isolates. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2012;56(9):4856-61.

122. Leite GC, Oliveira MS, Perdigao-Neto LV, Rocha CK, Guimaraes T, Rizek C, et al. Antimicrobial Combinations against Pan-Resistant *Acinetobacter baumannii* Isolates with Different Resistance Mechanisms. *PloS one*. 2016;11(3):e0151270.
123. Tangden T, Hickman RA, Forsberg P, Lagerback P, Giske CG, Cars O. Evaluation of double- and triple- antibiotic combinations for VIM- and NDM-producing *Klebsiella pneumoniae* by in vitro time-kill experiments. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2014;58(3):1757-62.
124. Michail G, Labrou M, Pitiriga V, Manousaka S, Sakellaridis N, Tsakris A, et al. Activity of Tigecycline in combination with Colistin, Meropenem, Rifampin, or Gentamicin against KPC-producing Enterobacteriaceae in a murine thigh infection model. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2013;57(12):6028-33.
125. Fan B, Guan J, Wang X, Cong Y. Activity of Colistin in Combination with Meropenem, Tigecycline, Fosfomycin, Fusidic Acid, Rifampin or Sulbactam against Extensively Drug-Resistant *Acinetobacter baumannii* in a Murine Thigh-Infection Model. *PloS one*. 2016;11(6):e0157757.
126. Nation RL, Garonzik SM, Thamlikitkul V, Gimarellos-Bourboulis EJ, Forrest A, Paterson DL, et al. Dosing guidance for intravenous colistin in critically-ill patients. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2017;64(5):565-71.
127. Karaiskos I, Friberg LE, Pontikis K, Ioannidis K, Tsagkari V, Galani L, et al. Colistin Population Pharmacokinetics after Application of a Loading Dose of 9 MU Colistin Methanesulfonate in Critically III Patients. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2015;59(12):7240-8.
128. Vardakas KZ, Rellos K, Triarides NA, Falagas ME. Colistin loading dose: evaluation of the published pharmacokinetic and clinical data. *International journal of antimicrobial agents*. 2016;48(5):475-84.
129. European Medicines Agency CfMP, (CHMP). fHU. Assessment report. Polymyxin based products. Available at: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Report/2015/05/WC500187326.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Report/2015/05/WC500187326.pdf) Accessed 21.01.2018.
130. Jacobs M, Gregoire N, Megarbane B, Gobin P, Balayn D, Marchand S, et al. Population Pharmacokinetics of Colistin Methanesulfonate and Colistin in Critically III Patients with Acute Renal Failure Requiring Intermittent Hemodialysis. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2016;60(3):1788-93.
131. Honore PM, Jacobs R, Lochy S, De Waele E, Van Gorp V, De Regt J, et al. Acute respiratory muscle weakness and apnea in a critically ill patient induced by colistin neurotoxicity: key potential role of hemoadsorption elimination during continuous venovenous hemofiltration. *International journal of nephrology and renovascular disease*. 2013;6:107-11.
132. Jitmuang A, Nation RL, Koomanachai P, Chen G, Lee HJ, Wasuwattakul S, et al. Extracorporeal clearance of colistin methanesulphonate and formed colistin in end-stage renal disease patients receiving intermittent haemodialysis: implications for dosing. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2015;70(6):1804-11.
133. Luque S, Sorli L, Li J, Collado S, Barbosa F, Berenguer N, et al. Effective removal of colistin methanesulphonate and formed colistin during intermittent haemodialysis in a patient infected by polymyxin-only-susceptible *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of chemotherapy*. 2014;26(2):122-4.
134. Marchand S, Frat JP, Petitpas F, Lemaitre F, Gobin P, Robert R, et al. Removal of colistin during intermittent haemodialysis in two critically ill patients. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2010;65(8):1836-7.
135. Markou N, Fousteri M, Markantonis SL, Zidianakis B, Hroni D, Boutzouka E, et al. Colistin pharmacokinetics in intensive care unit patients on continuous venovenous haemodiafiltration: an observational study. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2012;67(10):2459-62.
136. Karvanen M, Plachouras D, Friberg LE, Paramythiotou E, Papadomichelakis E, Karaiskos I, et al. Colistin methanesulfonate and colistin pharmacokinetics in critically ill patients receiving continuous venovenous hemodiafiltration. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2013;57(1):668-71.

137. Karaiskos I, Friberg LE, Galani L, Ioannidis K, Katsouda E, Athanassa Z, et al. Challenge for higher colistin dosage in critically ill patients receiving continuous venovenous haemodiafiltration. International journal of antimicrobial agents. 2016;48(3):337-41.
138. Fiaccadori E, Antonucci E, Morabito S, d'Avolio A, Maggiore U, Regolisti G. Colistin Use in Patients With Reduced Kidney Function. American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation. 2016;68(2):296-306.
139. Lindsay CA, Bosso JA. Optimisation of antibiotic therapy in cystic fibrosis patients. Pharmacokinetic considerations. Clinical pharmacokinetics. 1993;24(6):496-506.
140. de Groot R, Hack BD, Weber A, Chaffin D, Ramsey B, Smith AL. Pharmacokinetics of ticarcillin in patients with cystic fibrosis: a controlled prospective study. Clinical pharmacology and therapeutics. 1990;47(1):73-8.
141. Tan KK, Trull AK, Hue KL, Best NG, Wallwork J, Higenbottam TW. Pharmacokinetics of cyclosporine in heart and lung transplant candidates and recipients with cystic fibrosis and Eisenmenger's syndrome. Clinical pharmacology and therapeutics. 1993;53(5):544-54.
142. Le Guellec CP, G., Autret-Leca, E.. Modifications pharmacocinétiques dans la mucoviscidose. La Lettre du Pharmacologue. 1999; Volume 13 - n° 7:174-8.
143. Bulitta JB, Jiao Y, Drescher SK, Oliver A, Louie A, Moya B, et al. Four Decades of beta-Lactam Antibiotic Pharmacokinetics in Cystic Fibrosis. Clinical pharmacokinetics. 2018.
144. Li J, Coulthard K, Milne R, Nation RL, Conway S, Peckham D, et al. Steady-state pharmacokinetics of intravenous colistin methanesulphonate in patients with cystic fibrosis. The Journal of antimicrobial chemotherapy. 2003;52(6):987-92.
145. Banerjee D, Stableforth D. The treatment of respiratory pseudomonas infection in cystic fibrosis: what drug and which way? Drugs. 2000;60(5):1053-64.
146. Hansen CR, Pressler T, Hoiby N. Early aggressive eradication therapy for intermittent Pseudomonas aeruginosa airway colonization in cystic fibrosis patients: 15 years experience. Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society. 2008;7(6):523-30.
147. Schuster A, Haliburn C, Doring G, Goldman MH. Safety, efficacy and convenience of colistimethate sodium dry powder for inhalation (Colobreathe DPI) in patients with cystic fibrosis: a randomised study. Thorax. 2013;68(4):344-50.
148. Nakwan N, Usaha S, Chokephaibulkit K, Villani P, Regazzi M, Imberti R. Pharmacokinetics of Colistin Following a Single Dose of Intravenous Colistimethate Sodium in Critically Ill Neonates. The Pediatric infectious disease journal. 2016;35(11):1211-4.
149. Antachopoulos C, Iosifidis E. Colistin Use in Neonates and Children With Infections Due to Carbapenem-resistant Bacteria. The Pediatric infectious disease journal. 2017;36(9):905-7.
150. Iosifidis E, Antachopoulos C, Ioannidou M, Mitroudi M, Sdougka M, Drossou-Agakidou V, et al. Colistin administration to pediatric and neonatal patients. European journal of pediatrics. 2010;169(7):867-74.
151. Nation RL. Dose suggestions for intravenous colistin in pediatric patients: Caution required. Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America. 2017.
152. Tamma PD, Newland JG, Pannaraj PS, Metjian TA, Banerjee R, Gerber JS, et al. The use of intravenous colistin among children in the United States: results from a multicenter, case series. The Pediatric infectious disease journal. 2013;32(1):17-22.
153. Viel A, Henri J, Bouchene S, Laroche J, Rolland JG, Manceau J, et al. A Population WB-PBPK Model of Colistin and its Prodrug CMS in Pigs: Focus on the Renal Distribution and Excretion. 2018;35(5):92.
154. Roberts JA, Lipman J. Pharmacokinetic issues for antibiotics in the critically ill patient. Critical care medicine. 2009;37(3):840-51; quiz 59.

155. Monchaud C, de Winter BC, Knoop C, Estenne M, Reynaud-Gaubert M, Pison C, et al. Population pharmacokinetic modelling and design of a Bayesian estimator for therapeutic drug monitoring of tacrolimus in lung transplantation. *Clinical pharmacokinetics*. 2012;51(3):175-86.
156. Woillard JB, Bader-Meunier B, Salomon R, Ranchin B, Decramer S, Fischbach M, et al. Pharmacokinetics of mycophenolate mofetil in children with lupus and clinical findings in favour of therapeutic drug monitoring. *British journal of clinical pharmacology*. 2014;78(4):867-76.
157. Mercier C, Ciccolini J, Pourroy B, Fanciullino R, Duffaud F, Digue L, et al. Dose individualization of carboplatin after a 120-hour infusion schedule: higher dose intensity but fewer toxicities. *Therapeutic drug monitoring*. 2006;28(2):212-8.
158. Chatelut E, Pivot X, Otto J, Chevreau C, Thyss A, Renee N, et al. A limited sampling strategy for determining carboplatin AUC and monitoring drug dosage. *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)*. 2000;36(2):264-9.
159. Nazareth D, Walshaw M. A review of renal disease in cystic fibrosis. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society*. 2013;12(4):309-17.
160. Nation RL. Dose Suggestions for Intravenous Colistin in Pediatric Patients: Caution Required. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2018;66(5):810-1.
161. Ferry T, Desmarchelier R, Magreault S, Valour F. Gentamicin-vancomycin-colistin local antibiotherapy in a cement spacer in a 54-year-old haemophilic patient with relapsing plurimicrobial severe prosthetic joint infection. *BMJ case reports*. 2017;2017.

# Annexes

---



## **Annexe I :**

**revue – *Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Colistin***





## Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Colistin

Nicolas Grégoire<sup>1,2</sup> · Vincent Aranzana-Climent<sup>1,2</sup> · Sophie Magréault<sup>1,2</sup> ·  
Sandrine Marchand<sup>1,2,3</sup> · William Couet<sup>1,2,3</sup>

Published online: 26 May 2017  
© Springer International Publishing Switzerland 2017

**Abstract** In this review, we provide an updated summary on colistin pharmacokinetics and pharmacodynamics. Colistin is an old molecule that is frequently used as last-line treatment for infections caused by multidrug-resistant Gram-negative bacteria. Colistin is a decapeptide administered either as a prodrug, colistin methanesulfonate (CMS), when used intravenously, or as colistin sulfate when used orally. Because colistin binds to laboratory materials, many experimental issues are raised and studies on colistin can be tricky. Due to its large molecular weight and its cationic properties at physiological pH, colistin passes through physiological membranes poorly and is mainly distributed within the extracellular space. Renal clearance of colistin is very low, but the dosing regimen should be adapted to the renal function of the patient because CMS is partly eliminated by the kidney. Therapeutic drug monitoring of colistin is warranted because the pharmacokinetics of colistin are very variable, and because its therapeutic window is narrow. Resistance of bacteria to colistin is increasing worldwide in parallel to its clinical and veterinary uses and a plasmid-mediated resistance mechanism (MCR-1) was recently described in animals and humans. In vitro, bacteria develop various resistance mechanisms rapidly when exposed to colistin. The use of a loading dose might reduce the emergence of resistance but the use of colistin in combination also seems necessary.

### Key Points

Because colistin binds to laboratory materials, many experimental issues are raised.

The dosing regimen of colistin methanesulfonate should be adapted to the renal function of patients, and the use of a loading dose is recommended.

Therapeutic drug monitoring of colistin is warranted.

Because the resistance of bacteria to colistin is increasing, its use in combination seems necessary.

### 1 Introduction

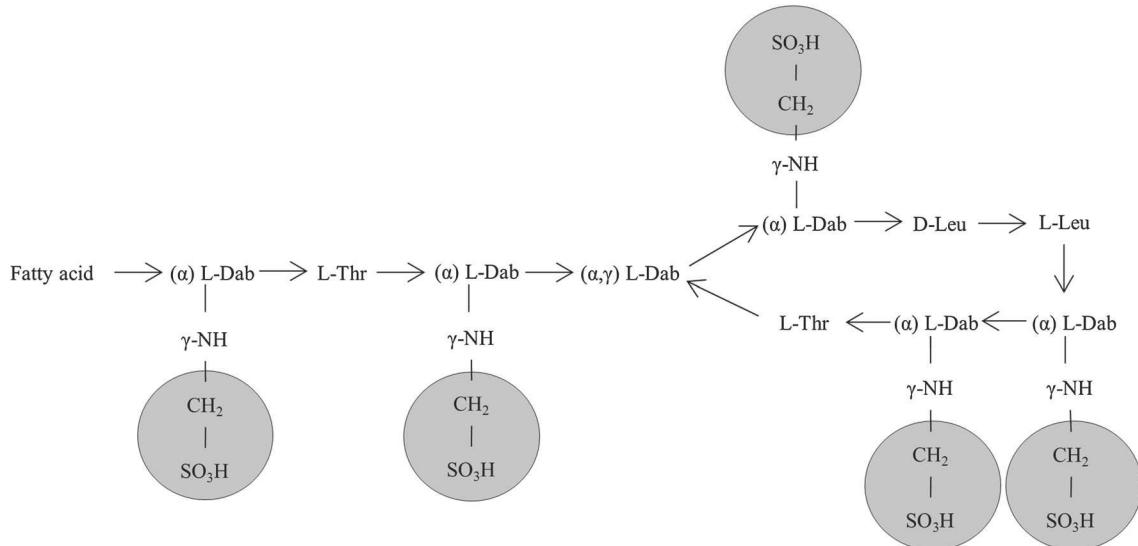
Colistin, also called polymyxin E, belongs to the group of polymyxin antibiotics (antibacterials). It is an old antibiotic discovered in the 1940s but its clinical use was largely abandoned in the 1970s mainly due to its nephrotoxicity. However, the increase of multidrug resistance (MDR) in Gram-negative bacteria (GNB), particularly *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* and *Klebsiella pneumoniae*, led to the re-emergence of its use during the last few years [1]. Parenteral and nebulisation formulations for colistin contain the sodium salt of colistin methanesulfonate (CMS), also called colistimethate, which is an inactive prodrug. The aim of this review is to give an updated summary on colistin with respect to its complex pharmacokinetics and pharmacodynamics. A literature search was conducted using PubMed where colistin or colistin methanesulfonate were combined with key words such as “chemistry”, “bioanalysis”, “pharmacokinetics”

✉ Nicolas Grégoire  
nicolas.gregoire@univ-poitiers.fr

<sup>1</sup> INSERM U1070, Poitiers, France

<sup>2</sup> Université de Poitiers, UFR Médecine-Pharmacie, Poitiers, France

<sup>3</sup> CHU Poitiers, Poitiers, France



**Fig. 1** Structure of colistin methanesulfonate and colistin. Sulfomethyl groups of colistin methanesulfonate are highlighted with grey circles. Fatty acyl: 6-methyloctanyl for colistin A and

6-methylheptanyl for colistin B;  $\alpha$  and  $\gamma$  indicate the respective  $-NH_2$  involved in the peptide linkage. *Dab*  $\alpha,\gamma$ -diaminobutyric acid, *Leu* leucine, *Thr* threonine

or “pharmacodynamics” to identify relevant literature. Additional references were identified from the references lists of published articles.

## 2 Conventions Used to Describe Doses of Colistin

At the first International Conference of Polymyxins in Prato, Italy, in 2013, it was stated that colistin doses should be referred to using international units (IU) or mg of colistin base activity (CBA) in order to avoid medication errors [2]. In Europe, India and few other countries, doses of CMS are expressed in million international units (MIU), but also in mg of CMS. By contrast, in North and South America, Southeast Asia and Australia, doses are expressed in mg CBA. In order to convert these different units, it should be known that 1 MIU is equivalent to about 30 mg of CBA, which corresponds to about 80 mg of CMS [2].

## 3 Chemistry

Colistin (commercially available as the sulfate salt) is a decapeptide compound, corresponding to a complex mixture of about 30 different compounds with two main components, colistin A and colistin B, the proportion of which can vary from batch to batch [3]. Colistin A and B are large molecules with molecular weights of 1169 and 1155 g/mol, respectively. They are composed of a hydrophilic cycloheptapeptide ring, a tail tripeptide moiety and a hydrophobic acyl chain tail, being one carbon shorter for

colistin B than for colistin A (Fig. 1) [4]. Colistin is a hydrophilic drug ( $\log P = -2.4$  [5]) but with an amphiphatic property due to the presence of both lipophilic and hydrophilic groups [6]. Colistin exhibits basic properties (acid dissociation constant [ $pK_a$ ] of about 10) due to the unmasked  $\gamma$ -amino groups of the five L- $\alpha,\gamma$ -diaminobutyric acid (Dab) residues present in the cyclopeptide ring and tripeptide moiety (Fig. 1) [7]. Therefore, colistin is polycationic at pH 7.4 [8].

Colistin is administered parenterally as a prodrug, CMS. CMS differs from colistin by additional sulfomethyl groups on each of the five Dab residues (Fig. 1). In vivo, CMS undergoes hydrolysis to form a mixture of partially sulfomethylated derivatives that can eventually convert to colistin [9]. CMS A and B molecular weights are higher than for colistin (1635 and 1621 g/mol, respectively) due to the five additional sulfomethyl groups. CMS is more hydrophilic ( $\log P = -12.1$  [10]), and is supposed to be less basic than colistin, but to our knowledge its  $pK_a$  has not been reported yet [11, 12]. At a physiological pH of 7.4, CMS is a polyanion [1].

CMS and colistin were shown to aggregate into micelles at high concentrations in aqueous solution: their critical micelle concentrations (CMCs) were 3.5 mmol/L (5.7 g/L) and 1.5 mmol/L (1.8 g/L), respectively [13]. The conversion of CMS into colistin was much faster when the concentration of CMS was below the CMC (60% over 48 h) than when it was above the CMC (1% over 48 h) [13]. The instability of CMS at low concentrations in pharmaceutical formulations is of concern, particularly because active colistin is much more toxic than CMS [14].

## 4 Bioanalysis

It is important that bioanalytical methods discriminate between colistin and CMS. Yet in old studies (overall before the start of the twenty-first century), colistin concentrations were measured by microbiological assays that could not discriminate between the two components because CMS was converted into colistin during the experimental time-course. By contrast, recent methods use high-performance liquid chromatography (HPLC) or liquid chromatography–tandem mass spectrometry (LC–MS/MS) that separate CMS and colistin. Colistin concentrations are generally calculated by summing the peak areas of the major components, i.e. colistin A and B. The internal standard is generally polymyxin B [15]. The measurement of CMS concentrations implies a two-step method with firstly the quantitation of colistin alone and secondly the hydrolysis of CMS into colistin by sulphuric acid, and the quantitation of the total colistin formed [15, 16]. CMS concentration is then obtained by subtracting the concentration of colistin measured before hydrolysis to that measured after hydrolysis. This method does not allow the discrimination of the different sulfomethyl derivatives and therefore the reported CMS concentrations should be interpreted as the summed concentrations of all these derivatives. Therefore, the reported pharmacokinetic parameters for CMS may best be considered as hybrid parameters for CMS and partially sulfomethylated derivatives [17].

For measuring plasma concentration, sample preparation can include a simple protein precipitation using trichloroacetic acid and methanol [18–21] and/or a solid-phase extraction [15, 18–21]. After separation by chromatography, detection is carried out either by LC–MS/MS [15, 21] or fluorimetry after derivatisation of colistin [18, 19]. The reported limits of quantification for colistin concentration in plasma are 0.03–0.04 mg/L with LC–MS/MS [15, 21] and 0.1–0.3 mg/L by HPLC-fluorimetry [18, 19]. It is of note that for measuring colistin concentrations in broth culture medium, urine, broncho-alveolar liquid and other biological fluids (cerebrospinal fluid [CSF], peritoneal, etc.) it has been recommended to spike the samples with blank plasma in order to avoid matrix effect and colistin binding to experimental materials [15, 21, 22].

## 5 Mechanism of Action

Most investigations on the mechanisms of action of polymyxins were carried out with polymyxin B, but the similarities between the chemical structures of polymyxin

B and colistin suggest that their mechanisms of action are identical [23]. The lipopolysaccharide (LPS) present at the surface of the outer membrane of GNB prevents the penetration of hydrophobic and/or large antibiotics (antibacterials) [24]. Due to its positive charge, colistin interacts electrostatically with the negatively charged outer membrane of GNB and competitively displaces calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) and magnesium ( $\text{Mg}^{2+}$ ) ions from the phosphate groups of LPS [7, 25]. Binding of colistin on the outer membrane is antagonised by divalent cations [26–28], resulting in a decreased antibacterial activity. It is of note that CMS, which differs from colistin by the addition of sulfomethyl groups masking the amines responsible for the positive charge, has a very weak antibacterial activity. Moreover, as the outer leaflet of mammalian cell membranes is charged neutral at physiological pH, colistin interacts less with mammalian cells [29]. Destabilisation of LPS leads to the disruption of the outer membrane, the loss of periplasmic and cytoplasmic contents and eventually bacterial death [24, 25, 30].

The endotoxin of GNB consists of the lipid A portion of the LPS, which can be shed by bacteria during antimicrobial therapy and can be responsible for endotoxic shock [31]. Colistin has an anti-endotoxin activity by binding to and neutralising the LPS [31–35].

Colistin also acts by several other mechanisms [36], such as an inhibition of vital respiratory enzymes (nicotinamide adenine dinucleotide [NADH]-quinone oxidoreductase) in the bacterial inner membrane [37].

## 6 Minimum Inhibitory Concentration Determination

For the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) and the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), the reference method for minimum inhibitory concentration (MIC) determination of Enterobacteriaceae, *P. aeruginosa* and *Acinetobacter* spp. is the ISO (International Organization for Standardization)-standard broth microdilution [38, 39]. Cation-adjusted Mueller-Hinton broth (CAMHB) is used as the broth medium, with no additives included (in particular no polysorbate-80 or surfactants), the tray must be of plain polystyrene and not treated before use, and sulfate salt of colistin must be used [38, 39]. Addition of polysorbate-80 reduces the adsorption of colistin to polystyrene wells (see Sect. 12.1.1), but is currently not recommended by EUCAST and CLSI [40, 41]. The disc diffusion method should be avoided because colistin poorly diffuses in agar [42]. Moreover, the E-test method should be used with caution because about 50% of the results were reported to

be false when compared with the results of the broth microdilution method [41, 43].

## 7 Antibacterial Activity

Susceptibility breakpoints for colistin published by EUCAST are 2 mg/L for *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* spp. and Enterobacteriaceae [44]. For now, the susceptibility breakpoint published by CLSI is 2 mg/L for both *P. aeruginosa* and *Acinetobacter* spp. (resistance if MIC  $\geq$  8 and 4 mg/L, respectively) [38], but this breakpoint should be revised in 2017.

Colistin is active against several GNB including *Acinetobacter* spp., *P. aeruginosa*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Yersinia* spp. and *Citrobacter* spp. [40, 45]. By contrast, colistin is inactive on Gram-positive bacteria, anaerobes and some GNB (*Proteus* spp., *Providencia* spp., *Morganella morganii*, *Serratia* spp. and *Burkholderia cepacia*) [40, 45].

## 8 Resistance

Increasing use of colistin has led to the emergence of colistin resistance worldwide and although resistance to colistin is generally less than 10%, colistin resistance rates are continually increasing [24]. Resistance to colistin has been described in many GNB species such as *A. baumannii*, *K. pneumoniae* and *P. aeruginosa* [24, 46].

Colistin resistance in GNB is most commonly related to LPS modifications via diverse routes, of which several involve two-component regulatory systems (TCSs) [24]. PhoPQ and PmrAB are two TCSs whose functions and regulations overlap [47]. PhoPQ and PmrAB both include a sensor kinase (PhoQ and PmrB, respectively), which senses environmental signals such as low Mg<sup>2+</sup>, low pH or the presence of antimicrobial peptides. Moreover, exposure to colistin might also change the expression patterns of these TCSs [48, 49]. Activation of these sensor kinases lead to the phosphorylation of a response regulator (PhoP and PmrA, respectively), which, once phosphorylated, typically enhances their binding to promoters of regulated genes. Hence, phosphorylation of PhoP enhances the transcription of several genes, including *pmrD*, whose product binds to and stabilises PmrA in its phosphorylated state. Phosphorylation of PmrA upregulates the transcription of enzymes that are required for the addition of 4-aminoarabinose (L-ara4N) and/or ethanolamine to the lipid A component of LPS [6, 49–51]. These additions contribute to colistin resistance by reducing the negative charge of the bacterial membrane, and thereby decreasing the binding of

positively charged colistin [50, 52, 53]. These adaptive mechanisms of resistance were generally of moderate level [52].

Recently, a plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 was described for an *E. coli* strain in animals and human [54]. MCR-1 is a member of the phosphoethanolamine transferase enzyme family, with expression resulting in the addition of an ethanolamine moiety to the lipid A. Despite its relatively low level (MICs about 4–8 mg/L), this plasmid-mediated mechanism of resistance causes concern about a possible spread of colistin resistance into a range of enteric bacteria in humans and animals [55].

The phenomenon of colistin heteroresistance due to mutations in the chromosomal genes, involved in mechanisms such as lipid A biosynthesis (*lpxA*, *lpxC*, *lpxD*) or addition of L-ara4N, have also been described in *A. baumannii* and *P. aeruginosa* [53, 56–58]. This mechanism of resistance was shown to be of high level (MIC >128 mg/L) and was associated with a fitness cost for the bacteria [53, 56, 58]. Mutant strains were stable but in some patients the original susceptible isolate was able to re-emerge [53]. The reasons of this re-emergence were unclear, and could be due to the presence of a dormant persister population [59] or to the bacterial presence in locations inaccessible to colistin. Moreover, resistance was lost in one patient via the acquisition of a secondary mutation, which compensated for the fitness cost of drug resistance [53].

## 9 Clinical Pharmacokinetics

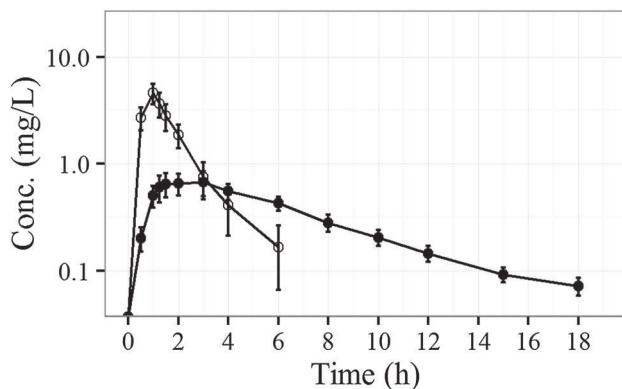
### 9.1 Plasma Concentrations in Healthy Volunteers

After a 1 h intravenous (IV) infusion of 1 MIU of CMS to healthy volunteers the CMS plasma concentrations reached a mean maximal value of 4.8 mg/L at the end of administration [60]. Thereafter, CMS concentrations declined biexponentially with a distribution half-life ( $t_{1/2\alpha}$ ) of 0.5 h and a terminal half-life ( $t_{1/2\beta}$ ) of 2.0 h (Fig. 2).

The time to maximal plasma concentrations ( $C_{max}$ ) of the active compound colistin was 2 h after the start of the infusion (1 h after the infusion stop), and the mean colistin  $C_{max}$  was 0.83 mg/L. Colistin plasma concentrations declined monoexponentially with a  $t_{1/2\beta}$  of 3.0 h. It is of note that as the  $t_{1/2\beta}$  of colistin was longer than that of CMS, meaning that colistin elimination is not rate-limited by its formation.

### 9.2 Clearance and Metabolism

CMS was two-thirds cleared by renal excretion in healthy volunteers [60]. The renal clearance of CMS in healthy volunteers was about 100 mL/min, which was close to the



**Fig. 2** Colistin methanesulfonate (open circles) and colistin (filled circles) mean ( $\pm$ standard deviation) plasma concentrations observed in 12 healthy volunteers after a single 1 h infusion of colistin methanesulfonate 1 MIU (million international units) (data from Couet et al. [60]). Conc. concentrations

glomerular filtration rate (GFR; around 120 mL/min) [60]. However, as the unbound fraction ( $f_u$ ) of CMS in plasma is unknown, tubular reabsorption and secretion of CMS were not able to be estimated.

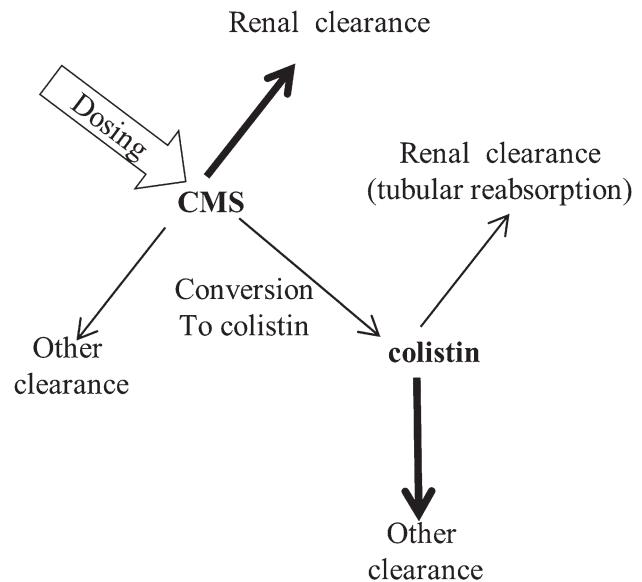
The non-renal clearance of CMS in healthy volunteers was about 50 mL/min [60]. One of the non-renal pathways for CMS clearance is its conversion into colistin by hydrolysis and removal of the five sulfomethyl groups from Dab residues. This hydrolysis leads to the formation of a series of different sulfomethylated derivatives ( $2^5 = 32$  possible different derivatives) and to colistin. Other non-renal pathways, such as hydrolysis of peptide bonds, are possible for CMS but have not yet been assessed (Fig. 3).

The colistin average concentration at steady state ( $C_{ss,avg}$ ) depends on both the fraction of CMS that is converted into colistin and the colistin clearance (adapted from Couet et al. [61]) (Eq. 1):

$$C_{ss,avg} = \frac{CL_{conv}}{CL_R + CL_{NR}} \times \frac{\text{Dose}}{\tau \times CL_{coli}}, \quad (1)$$

where  $CL_{conv}$  is the conversion clearance of CMS into colistin,  $CL_R$  is the renal clearance of CMS,  $CL_{NR}$  is the non-renal clearance of CMS ( $=CL_{conv} +$  clearance due to other non-renal pathways),  $\tau$  is the dosing interval and  $CL_{coli}$  is the total clearance of colistin. As the fraction of CMS eventually converted into colistin is unknown, clearance and volume of distribution parameters for colistin are apparent parameters.

Colistin renal clearance was very low in healthy volunteers (1.9 mL/min) due to extensive tubular reabsorption [60]. The renal reabsorption of colistin may involve organic cation transporters (OCTN1), peptide transporters (PEPT2) and megalin, which is a low-density lipoprotein receptor. The renal reabsorption process is sensitive to the pH of urine [62–64]. Although renal excretion of colistin is



**Fig. 3** Overview of the elimination pathways for colistin methanesulfonate and colistin. The thickness of the arrows indicates the relative magnitude of the respective clearance pathways when kidney function is normal. Colistin methanesulfonate includes fully and partially sulfomethylated derivatives of colistin (adapted from Nation et al. [23]). CMS colistin methanesulfonate

very low, urine concentrations of colistin after administration of CMS can be high because of post-excretion hydrolysis of CMS into colistin within the urinary tract.

Elimination pathways of colistin are for the most part unknown. Considering its peptidic structure, colistin should be eliminated through hydrolysis but the enzymes involved and their localisation are still unknown. Blood, liver and kidneys are likely important sites for colistin elimination because they contain large amounts of proteases and peptidases; however, due to the ubiquitous availability of these enzymes throughout the body, proteolytic degradation of colistin should not be limited to classic elimination organs [65]. It is of note that the cyclic structure of colistin helps to protect colistin from proteolytic endopeptidases and the hydrophobic acyl chain helps to protect against exopeptidases, thus explaining that the colistin half-life ( $t_{1/2}$ ) is longer than that of many peptides [65].

### 9.3 Distribution After Systemic Administration

Due to their large molecular weights and electric charge (polyanionic for CMS and polycationic for colistin) at physiologic pH, CMS and colistin cross cellular membranes and physiological barriers poorly. Indeed, volumes of distribution of CMS and colistin in healthy volunteers (14.0 and 12.4 L, respectively, apparent volume for colistin) have been shown to be consistent with a distribution restricted to the extracellular space [60].

### 9.3.1 Protein Binding

Colistin has been reported to bind to  $\alpha$ -1-acid glycoprotein (AGP), whereas the binding to other plasma components such as albumin, lipoproteins or globulins remains to be elucidated [66]. Colistin is a large molecule that cannot enter the cavity of AGP to form a tight complex and instead a two-step process of binding has been proposed [66]. An initial electrostatic attraction occurs between the positive Dab residues of colistin and the negative sialyloligosaccharides proximal to the binding cavity of AGP. The second step consists of a stabilisation of the liaison by insertion of the lipophilic tail of colistin into the hydrophobic ligand binding cavity of AGP and/or binding to lipidic substances, such as phospholipid, bound to AGP. Therefore, both the positive charge and the amphipathic properties of colistin seem necessary for its binding to AGP in plasma. The importance of the charge is exemplified by the fact that CMS, for which Dab moieties are masked, does not bind to AGP [66]. It has been shown that colistin binds to AGP with less affinity than for bacterial LPS, thus suggesting that *in vivo* the affinity for LPS is strong enough to dissociate and sequester the colistin from AGP [66].

Protein binding can be determined either by ultrafiltration or equilibrium dialysis [67]. However, the extensive non-specific binding (>99%) of colistin to commonly used membranes [68] requires these experiments to be implemented with specific dialysis cells and membranes [67]. The assessment of colistin protein binding using a microdialysis method raises the same problem of colistin adhesion to experimental equipment [69].

In animals, plasma protein binding of 55% ( $f_u = 45\%$ ) has been reported for colistin in rats, dogs and calves [68, 70]. In mice, the average percentage bound was around 91% ( $f_u = 9\%$ ) in the total concentration range of 2–50 mg/L [67].

In critically ill patients, colistin binding to plasma components was about 59–74% [71]. Across the 0.01–15 mg/L range of total concentrations, at 37 °C, the bound fraction of colistin B was constant (average 57%), whereas the bound fraction of colistin A was dependent on the concentration. At 0.1 mg/L the average binding of colistin A was 84% against 69% at 10 mg/L, meaning that the  $f_u$  of colistin A varied greatly as a function of the concentration (average 16% at 0.1 mg/L and 31% at 10 mg/L). This greater binding of colistin A, also demonstrated in rats [68], is most probably due to its longer fatty acid chain, since it is the only difference with colistin B. Whereas there is a difference in protein binding between colistin A and colistin B, to our knowledge, no difference in potency has been reported.

The level of plasma AGP can increase, depending on the disease condition, particularly bacterial infection [72].

Therefore, protein binding of colistin is expected to be higher in critically ill patients than in healthy volunteers. This has not been reported yet; however, protein binding of colistin was greater in infected mice than in healthy mice [66]. Moreover, protein binding of polymyxin B, which is chemically close to colistin, is greater in critically ill patients than in healthy volunteers [73].

In airways, colistin binds to mucin, which may reduce its antibacterial efficacy as illustrated by the >100-fold increase of MICs when mucin is added to growth medium [74].

### 9.3.2 Distribution Within Lung

Concentrations of CMS and colistin in epithelial lining fluid (ELF) are generally determined from concentrations measured in bronchoalveolar lavage (BAL) fluid after correction for dilution. The dilution factor is estimated based on the assumption that urea concentration is identical in plasma and ELF, by measurement of urea concentrations in plasma and BAL [22]. The determination of colistin concentration in BAL fluid should take into account the non-specific binding to the BAL material, which can be particularly high at low concentrations (80% for colistin concentrations <1 mg/L; unpublished data).

*Intravenous (IV) Administration* After repeated IV administrations of 2 MIU CMS every 8 h to critically ill patients, Imberti et al. [75] could not measure colistin in BAL (limit of quantification = 0.1 mg/L). By contrast, Boisson et al. [76] reported colistin concentrations in the ELF at steady state ranging between 0.1 and 29 mg/L. For their part, Yapa et al. [77] reported colistin concentrations in sputum lower than 1 mg/L after a single IV administration of CMS 5 MIU. No active transport has been reported yet for the passage of the pulmonary barrier by colistin. However, OCTN1 and PEPT2, which are involved in the renal reabsorption of colistin, are also present in the lung [78]. Moreover, the involvement of these proteins in the pulmonary transport of active substances has already been suggested: the uptake of anti-cholinergic drugs for OCTN [79] and transport of bacterial peptides for PEPT2 [80]. In addition to their capability to pass through pulmonary barrier, CMS and colistin distribution into lung also depends on their binding to lung components. This issue is not yet elucidated but it has been shown that colistin binds to mucin [74].

*Inhalation* Aerosolised colistin, administered as CMS, is used to treat nosocomial pneumonia caused by MDR GNB [76, 80–84]. After pulmonary administration of CMS, the presence of colistin in plasma can either result from the absorption of CMS followed by systemic conversion into colistin or from the pre-systemic conversion of CMS into colistin followed by its absorption [22]. When nebulised

directly as colistin, the absolute bioavailability was shown to be high (69%) in rats [85]. However, after nebulisation of CMS to critically ill or cystic fibrosis (CF) patients, colistin plasma concentrations were either below the limit of quantification [77] or low (<0.73 mg/L) [76, 86], except for one study for which concentrations up to 2 mg/L were reported [87]. In critically ill patients, when nebulised as CMS, only 9% of the dose reached the systemic circulation: 1.4% as colistin converted presystemically and 7.6% as CMS [76].

After aerosol delivery of CMS to critically ill patients ELF colistin concentrations were much higher than those in plasma (5- to 1000-fold) but varied considerably, from 1 to 1100 mg/L, depending on dose (1 or 2 MIU single dose or every 8 h), time (1–8 h post-dose) and the study [76, 87].

In CF patients, CMS and colistin concentrations are generally determined in sputum. In these patients, after nebulisation of single 2 or 4 MIU doses of CMS, systemic exposure to colistin was very low, whereas colistin concentrations measured in sputum ranged from 1 to 45 mg/L [77, 86]. However, a conversion of CMS to colistin during the preparation of sputum samples before bioanalytical assay cannot be ruled out in one of these studies, due to a relatively high concentration of trifluoroacetic acid used for sample preparation [86].

Overall, these studies show that colistin systemic exposure is low after CMS nebulisation, whereas colistin concentrations in lung are high.

### 9.3.3 Distribution Within the Central Nervous System

**IV Administration** The passage across the blood–brain barrier (BBB) by CMS and colistin is limited. Colistin penetration into the CSF after repeated IV administrations of CMS was demonstrated to be low (5%) in critically ill patients [88]. The presence of meningeal inflammation enhanced penetration in CSF (11%) [89]. In paediatric patients the CSF/serum ratios were reported to be 34–67% in the presence of meningitis (measurement before and after IV CMS administration), whereas it was minimal in the absence of meningeal inflammation [90]. Moreover, it has been shown in mice that LPS can induce BBB disruption by decreasing the tight junction function; this effect depends on the bacterial species and can increase colistin uptake into the brain [91]. For now, the effect of transporters on the passage of BBB by CMS or colistin has not been reported.

**Intrathecal–Intraventricular Administrations** Colistin concentrations in CSF are higher when patients are treated by intraventricular or intrathecal CMS administration than when they are treated intravenously. Imberti et al. [92] reported CSF concentrations continuously above 2 mg/L if the intraventricular CMS dose was greater than 0.06 MIU

every 24 h. Ziaka et al. [89] reported CSF concentrations ranging between 0.6 and 1.5 mg/L when patients were treated with combined IV CMS 3 MIU every 8 h and intraventricular CMS 0.125 MIU every 24 h.

### 9.3.4 Distribution in Peritoneal Fluid

In one case report, after multiple administrations of CMS 2 MIU every 8 h, colistin distributed slowly into the peritoneal fluid of a patient with severe peritonitis, but colistin concentrations in peritoneal fluid were close to that in plasma at steady state [93].

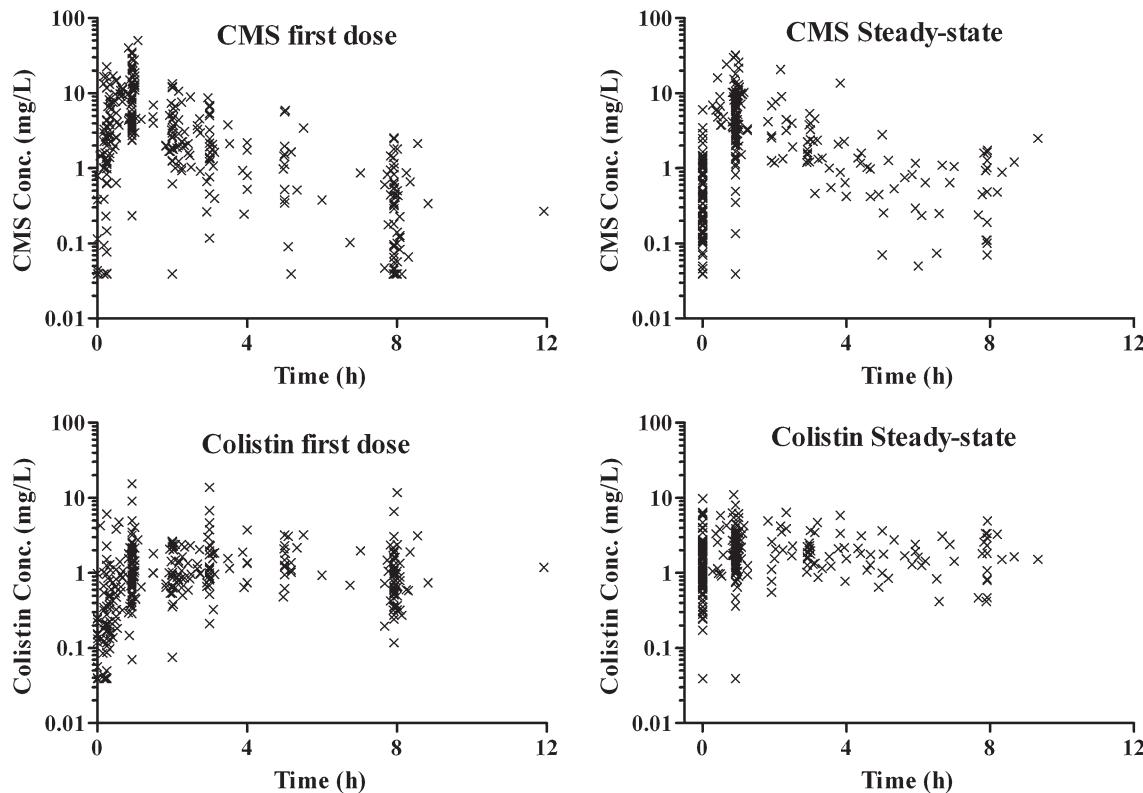
## 9.4 Oral Route of Administration

Colistin absorption from the gastrointestinal tract is slight or absent [94]. In simulated gastric fluid it has been shown that colistin was rapidly degraded by rupture of peptide bonds in the tail tripeptide moiety under the action of pepsin [4], the formed metabolites keeping an antimicrobial activity. Colistin sulfate is sometimes used for perioperative decontamination of the digestive tract, particularly for the suppression of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae (ESBL-E). In this indication, colistin sulfate is generally administered orally following a dosing regimen of 100 mg every 6 h, in combination with other anti-infective agents (e.g., amphotericin B, tobramycin) [94–99]. However, this practice has been shown to select colistin-resistant bacteria and its use is controversial [99–103].

## 9.5 Pharmacokinetics in Special Populations

### 9.5.1 Pharmacokinetics in Critically Ill Patients

**Maintenance Dose** After IV administration of CMS to critically ill patients, the pharmacokinetics of CMS was very variable (Fig. 4). The  $C_{\max}$  values were observed at the end of infusion; thereafter, CMS concentrations decreased in a mono- or bi-exponential manner, with a mean  $t_{1/2\beta}$  ranging from 1.9 to 4.5 h depending on the study [103–106]. The mean plasma profile was comparable to that observed in healthy volunteers, except when the renal function of the patient was altered. Indeed, concentrations of colistin are related to the renal clearance of CMS (Eq. 1), which correlates with creatinine clearance [104, 105]. For illustration, for patients with creatinine clearance values of 120, 50 and 25 mL/min, the typical renal clearances of CMS were about 100, 50 and 25 mL/min, respectively. The main impact of this decrease of CMS renal clearance when the renal function was impaired was that the fraction of CMS converted into colistin increased, e.g. 33, 50 and 67% for the three different values

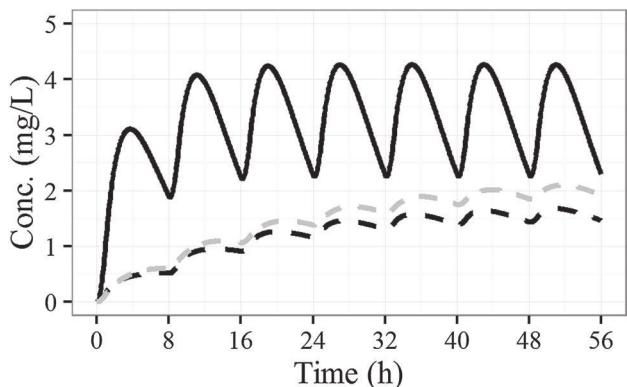


**Fig. 4** Colistin methanesulfonate and colistin plasma concentrations observed ( $\times$ ) in 73 critically ill patients after first colistin methanesulfonate dose and at steady state. Reproduced from Grégoire et al.

[105] with permission of the American Society of Microbiology. CMS colistin methanesulfonate, Conc. concentrations

of creatinine clearance of 120, 50 and 25 mL/min, thus resulting in greater colistin concentrations for patients with altered renal function. Moreover, the volume of distribution of CMS was shown to be proportional to the body weight, which after a single dose impacts on the  $C_{\max}$  of CMS and colistin (to a lesser extent) and after repeated administrations impacts on the fluctuation of concentrations, i.e. the larger the volume of distribution is, the lower the concentrations fluctuate [104, 105]. However, even when considering individual renal function and body weight, the pharmacokinetics of CMS were very variable between patients after IV administration of CMS [104, 105].

Concerning the pharmacokinetics of colistin after administration of CMS to critically ill patients, some discrepancies were observed between studies. Indeed, after a first dose of 2 MIU of CMS, Grégoire et al. [105] observed typical colistin  $C_{\max}$  values of about 2 mg/L, whereas after a first dose of 3 MIU of CMS Plachouras et al. [106] observed a colistin  $C_{\max}$  of 0.6 mg/L [106] (Fig. 5). Moreover, the  $C_{\max}$  values were reached sooner for Grégoire et al. [105] (about 3 h) than for Plachouras et al. [106] (maximum not reached at next administration, i.e. 8 h). These different time to  $C_{\max}$  values were related to greater apparent volumes of distribution, resulting in longer



**Fig. 5** Colistin concentrations following a 3 MIU (million international units) dose of colistin methanesulfonate infused over 60 min every 8 h in a critically ill patient with a creatinine clearance of 82 mL/min and a body weight of 80 kg, predicted from Grégoire et al. [105] (solid black line), Plachouras et al. [106] (dashed grey line) and Garonzik et al. [104] (dashed black line). Reproduced from Grégoire et al. [105] with permission of the American Society of Microbiology. Conc. concentrations

typical  $t_{1/2}$  values for colistin (9–14 vs. 3 h) [103–106]. One major consequence of a longer  $t_{1/2}$  is that from Plachouras et al. [106] at least 48 h is necessary to reach steady state, whereas from Grégoire et al. [105] steady state should be reached after as soon as 12 h. At steady state there were

fewer discrepancies between studies: for a patient with a clearance of creatinine of 82 mL/min, treated with CMS 3 MIU every 8 h, the typical colistin  $C_{ss,avg}$  was predicted to be between 1.5 and 3.5 mg/L depending on the study (Fig. 5) [103–106]. Plachouras et al. [106] were the first to point out the difficulties in attaining a  $C_{ss,avg}$  of 2 mg/L for patients with a creatinine clearance  $\geq 80$  mL/min [106]. Recently, Nation et al. [107] suggested the use of an algorithm to calculate the CMS dose to administer according to the creatinine clearance, and demonstrated that less than 40% of the patients with creatinine clearance above 80 mL/min attained a  $C_{ss,avg} > 2$  mg/L, even with a maximal 12 MIU daily dose.

**Loading Dose** Plachouras et al. [106] suggested that administration of a loading dose is necessary to achieve effective colistin concentrations as soon as the first CMS administration; two subsequent studies have assessed this suggestion [71, 108]. In the first study, after administration of 6 MIU of CMS to ten critically ill patients, colistin  $C_{max}$  values were on average 1.3 mg/L (range 0.3–2.6 mg/L) at 8 h following dosing and the mean colistin  $t_{1/2}$  was 18.5 h [71]. In the second study, following administration of a 9 MIU loading dose to 19 critically ill patients the  $C_{max}$  values of colistin were also very variable (mean 2.65 mg/L, range 0.9–5.1 mg/L) and the mean colistin  $t_{1/2}$  was 11.2 h [108]. Colistin concentrations observed in this latter study were therefore higher than expected from previous studies performed by the same team [71, 106] but lower than those predicted by Grégoire et al. [105]. Overall, these discrepancies of colistin pharmacokinetics between studies were attributed either to (1) a higher proportion of the A and B forms in the more recent CMS formulations [108]; (2) the use of different CMS brands; (3) the inclusion of patients with different renal function; (4) CMS solutions for infusions at concentrations below or above the CMCs of 5.7 g/L (71,250 IU/mL); (5) in vitro conversion of CMS to colistin after blood collection [109]; or (6) potential discrepancies in the analytical methods (e.g. in the quantification of partly sulfomethylated compounds and potential hydrolysis during work-up) [108].

**Dosing Suggestions** Considering the pharmacokinetics of both CMS and colistin, the CMS dose has to be adapted to each patient's renal function. In case of normal renal function, all of the previous cited studies recommend a maintenance dose of 9 MIU of CMS per day in two or three injections [105, 106], which corresponds to the calculated maintenance dose suggested by the algorithm of Garonzik et al. [104]. It is of note that the most recent publications all agree that CMS should be administered twice daily [105–108]. The maintenance dose should be adapted to the renal function of the patient. The European Medicines Agency (EMA) suggests that for patients with a creatinine clearance above 50 mL/min the daily dose

should be 9 MIU (up to 12 MIU in some cases, for patients with good renal function), for patients with a creatinine clearance between 30 and 50 mL/min the daily dose should be between 5.5 and 7.5 MIU, and for patients with a creatinine clearance between 10 and 30 mL/min the daily dose should be 5 MIU [110, 111].

Concerning the loading dose, Garonzik et al. [104] suggest it should be adapted to the patient's body weight without exceeding 10 MIU, whatever their renal function, and to begin maintenance doses 24 h later. Karaiskos et al. [108] demonstrated that a loading dose of 9 MIU followed by the beginning of a maintenance dose 24 h later was safe for their 19 critically ill patients with normal renal function. The Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP) of the EMA proposed a loading dose of 9 MIU for patients above 60 kg and 6 MIU for patients below 60 kg; doses up to 12 MIU may be required for patients but the clinical experience with such doses is limited [110]. The loading dose should apply to all patients regardless of renal function. Recently, it was suggested that the first maintenance dose be administered 12 h after the loading dose [107].

### 9.5.2 Pharmacokinetics in Patients with Haemodialysis

In patients with highly impaired renal function, CMS is poorly excreted in urine and therefore the fraction of dose available for conversion to colistin is higher. As a consequence, on days without a haemodialysis session, colistin exposure was threefold greater in critically ill patients requiring haemodialysis than in patients with preserved renal function and treated with the same dosage [112].

Considering their molecular weights, CMS and colistin fractions unbound in plasma can freely pass through dialysis membranes. Moreover, colistin might also adsorb on dialysis membranes, notably those used for continuous renal replacement therapy, which could contribute to the removal mechanism [113]. Indeed, during intermittent haemodialysis sessions, CMS and colistin are efficiently cleared [104, 113–116]. Mean clearance of CMS during haemodialysis session was reported to be between 71 and 95 mL/min [104, 114, 116], and associated estimation of inter-individual variability was sometimes low (26% coefficient of variation) [114] but sometimes high (96%) [104]. Mean clearance of colistin during haemodialysis session was reported to be between 57 and 134 mL/min [104, 114, 116]; inter-individual variability was estimated to be moderate (15 and 44%) [104, 114].

**Dosing Suggestions for Intermittent Renal Replacement Therapy** Previous data suggested that during a non-haemodialysis day, the CMS daily dose should not exceed 3 MIU [104, 112], but recently Nation et al. [107] suggested administration of 3.95 MIU per day to achieve the

average steady-state colistin concentration of 2 mg/L. During a haemodialysis day, it is suggested that a supplemental dose be administered at the end of the haemodialysis session (30–50% of the daily dose) [104]. In each study, CMS was administered twice daily [104, 107, 112].

During continuous venovenous haemofiltration (CVVH) Garonzik et al. [104] reported mean CMS and colistin removal clearances slightly lower than those measured during intermittent haemodialysis (64 vs. 95 mL/min and 34 vs. 57 mL/min for CMS and colistin, respectively). During continuous venovenous haemodiafiltration (CVVHDF) Markou et al. [117] reported that extracorporeal clearance contributed to about 50% of total colistin clearance; however, the total colistin clearance was lower than that in patients with normal renal function, suggesting that a dose reduction may be needed in critically ill patients with CVVHDF. By contrast, Karvanen et al. [118] reported that colistin concentrations obtained under CVVHDF and receiving 2 MIU CMS every 8 h were lower than those for corresponding patients without CVVHDF, and consequently that CMS dosage should not be reduced for patients undergoing CVVHDF. More strongly, Karaiskos et al. [119] recommended an increased dose for patients under CVVH with a loading dose of 12 MIU of CMS followed by 13–15 MIU daily maintenance doses.

*Dosing Suggestions for Patients Under Continuous Venovenous Haemofiltration* The last recommendations published by Nation et al. [107] correspond with those published by Karaiskos et al. [119] and suggest a maintenance dose of 13 MIU daily divided into two doses. Concerning the loading dose, even if a loading dose of 12 MIU has been found more appropriate, clinical data of safety are limited and it is recommended not to exceed 9 MIU [107, 119]. Considering the large inter-individual variability, therapeutic drug monitoring (TDM) is advised for patients undergoing CVVHDF [120].

### 9.5.3 Pharmacokinetics in Cystic Fibrosis (CF) Patients

The pharmacokinetics of colistin in CF patients have been described after IV administration [77, 121] and after nebulisation of CMS. Following IV infusion of CMS, plasmatic pharmacokinetics for CMS were consistent between studies [77, 121] and with healthy volunteers [60], i.e. the reported values for clearance were about 100 mL/min, volume of distribution about 18 L and  $t_{1/2}$  about 2.5 h. Colistin pharmacokinetics in plasma after infusion of CMS were also characterised by a  $t_{1/2}$  close to that in healthy volunteers (4–7 h) [77, 121]. However, it should be noted that after a single IV infusion with the same CMS brand (Colimycin<sup>®</sup>), colistin (the active compound) exposure was 39% lower in CF patients than in healthy volunteers, suggesting that colistin clearance could be higher in CF patients [122].

After single nebulisation of CMS 2 or 4 MIU to CF patients, Yapa et al. [77] reported CMS and colistin concentrations in sputum that were higher ( $C_{max}$  for colistin in sputum ranging from 2.09 to 21.2 mg/L) than those resulting from IV administration ( $C_{max} < 1.0$  mg/L) [77]. Moreover, the systemic availability of CMS was low (about 6%) and systemic exposures to CMS and colistin were minimal. Ratjen et al. [86] reported colistin concentrations that were significantly higher (mean  $C_{max}$  about 40 mg/L) than those reported by Yapa et al. [77] in sputum following nebulisation of a single dose of 2 MIU of CMS, but their bioanalytical method for quantitating colistin might have promoted the conversion of CMS into colistin and thus overestimate colistin concentrations in sputum.

*Dosing Suggestion for CF Patients* Local administration of CMS by nebulization with or without IV administration is suggested for this population. CF centres worldwide have adopted different inhaled CMS dosing regimens (dose and dosing interval), with current therapies ranging from 1 MIU of CMS twice daily to 2 MIU of CMS three times daily [122–125].

### 9.5.4 Pharmacokinetics in Burn Patients

In burn patients, after IV administration of CMS 5 MIU every 12 h, the typical  $t_{1/2}$  of colistin was reported to be 6.6 h [126] and the clearance of colistin was comparable to that of critically ill patients [103–106] and healthy volunteers [60, 127], suggesting that it was not affected by the hypermetabolism in burn patients. The volume of distribution of colistin was slightly greater than that reported in healthy volunteers and either greater [105] or lower [104, 106] than those reported in critically ill patients.

## 10 Adverse Events

Two main types of toxicity, nephrotoxicity and neurotoxicity, are reported with the use of colistin. However, recent studies have reported that the incidence of nephrotoxicity is less common and severe than that reported in studies and case reports published until 1983 [128]. The observed nephrotoxicity was as high as 50% in old studies versus 15–25% in recent studies, although the definition of nephrotoxicity was not standardised between the studies [128]. However, in a recent study in patients with severe sepsis or septic shock, there was an incidence rate of acute kidney injury (AKI) of 44% following colistin administration [129]. Risk factors for nephrotoxicity include baseline renal impairment, age, severity of illness, nephrotoxic agents, duration of therapy and daily dose by ideal body weight [129, 130]. A residual concentration of colistin >2.42 mg/L was also reported as a predictor for

AKI [131]. In contrast, CF might be protective against the development of nephrotoxicity [130].

Colistin-associated nephrotoxicity usually occurs within the first 5 days of treatment and is reversible upon cessation of treatment [132, 133]. Renal insufficiency generally manifests as a decrease in creatinine clearance but haematuria, proteinuria, cylindruria or oliguria can also occur [128]. The nephrotoxicity of colistin is certainly related to its extensive renal tubular reabsorption due to the numerous transporters located in the proximal tubules, particularly the megalin (see Sect. 9.2) [64, 134]. Colistin toxicity could be due to its accumulation in the endoplasmic reticulum and mitochondria of renal tubular cells, resulting in a modification of the cell fate under oxidative stress [135]. Coadministration of ascorbic acid at a daily dose of 2–4 g in patients with severe sepsis was shown to reduce the AKI risk to four times lower than that in patients who did not receive ascorbic acid [129]. This effect could be explained by a double kidney-protective effect toward both colistin-induced and septic renal damage [129]. However, in another study with moderately ill patients the ascorbic acid did not offer a nephroprotective effect [134].

The incidence of neurotoxicity related to the use of colistin is lower than that of nephrotoxicity [128]. The most frequent neurological adverse effect is paraesthesia, which in old studies was reported to occur in 27 and 7.3% of patients receiving IV and intramuscular CMS, respectively. Other neurological adverse events include mental confusion, vertigo, ataxia and seizure, but the most dreaded complication is neuromuscular blockade presenting as respiratory muscle paralysis and apnoea [128, 136]. Like renal toxicity, neurological toxicity is considered to be dose dependent and is usually reversible after early discontinuation of the treatment [128].

Colistin aerosol therapy is generally well-tolerated, with few reported adverse events such as throat irritation, cough and bronchospasm [137, 138].

Intrathecal/intraventricular administration is also well-tolerated. One of the adverse effects reported is chemical meningitis (5/153 cases reported between 1972 and 2016) with complete resolution after the discontinuation of the intrathecal administrations, and there is no mention of nephrotoxicity [139].

## 11 Therapeutic Drug Monitoring

Because the pharmacokinetics of colistin is very variable between patients (Fig. 4), and because its therapeutic window is narrow, TDM of colistin is warranted after IV administration [140]. TDM of colistin requires a validated bioanalytical method (see Sect. 4). Because CMS can hydrolyse into colistin after sampling, it is recommended

that blood specimens be drawn just before the next dose (trough), i.e. when the CMS concentrations are the lowest, and to handle the samples quickly.

It has been reported that colistin  $C_{ss,avg}$  values should be higher than 2 mg/L to be effective [107]. These plasma concentrations of colistin should allow the pharmacokinetic/pharmacodynamic indices to reach target values determined in the mouse thigh infection model (ratio of the area under the unbound concentration–time curve to the MIC [ $fAUC/MIC$ ] of about 12) for bacteria with an MIC lower than 2–4 mg/L [111], which correspond to the EUCAST breakpoint for susceptibility [44]. However, minimum plasma concentrations ( $C_{min}$ ) of colistin higher than 2.5 mg/L have been associated with an increased risk of nephrotoxicity [131, 141]. Therefore, to be effective and avoid adverse events,  $C_{ss,avg}$  should ideally be between 2 and 2.5 mg/L. In practice, the clinically desirable range of  $C_{ss,avg}$  is rather from 2 to 4 mg/L [107], but renal function has to be monitored. Because it is preferable to draw the samples just before the next dose and because the fluctuations of plasma concentrations are relatively weak, this therapeutic window can also apply to residual concentrations. CMS dosing regimen has to be individualised according to concomitant medications and to the risk/benefit ratio for each patient.

## 12 Pharmacodynamics

### 12.1 In Vitro Pharmacodynamics

#### 12.1.1 Experimental Issues

As the presence of  $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{Mg}^{2+}$  ions modifies the susceptibility of bacteria to colistin, their concentration into broth should be controlled and CAMHB is generally used for in vitro pharmacodynamic experiments with colistin [41]. From an experimental point of view, the fraction of colistin bound to CAMHB with initial colistin concentrations of 10 and 30 mg/L was 5% [142]. Therefore, the growth medium seems to not affect unbound concentrations of colistin used for in vitro experiments.

The in vitro determination of bacterial susceptibility to colistin poses numerous experimental problems. Several studies reported potential non-specific binding of colistin to experimental material [142–145]. Karvanen [146] characterised the extent of the colistin loss in different types of laboratory materials during simulated time-kill experiments without bacteria. The type of material and the concentration of colistin were the two main factors contributing to non-specific binding of colistin: out of four tested materials (glass, polypropylene, polystyrene and low protein-binding polypropylene), none performed well enough to enable to

ignore binding to material at concentrations between 0.125 and 8 mg/L. The best performing material was low protein-binding polypropylene with colistin loss between 45 and 10%. The relative loss due to binding increased when the concentration decreased; for instance in CAMHB, when using large polypropylene tubes, at 24 h the measured colistin concentration represented 13 and 62% of the 0 h concentrations of 0.125 and 4 mg/L, respectively. In polystyrene microplates the colistin losses were even larger, e.g. the measured concentration represented 4% of the expected 8 mg/L concentrations [146]. The impact of this non-specific binding on in vitro pharmacodynamic results is unclear. However, it is recommended, when possible, that low protein-binding polypropylene be used and colistin concentrations are measured during the time course of the experiments.

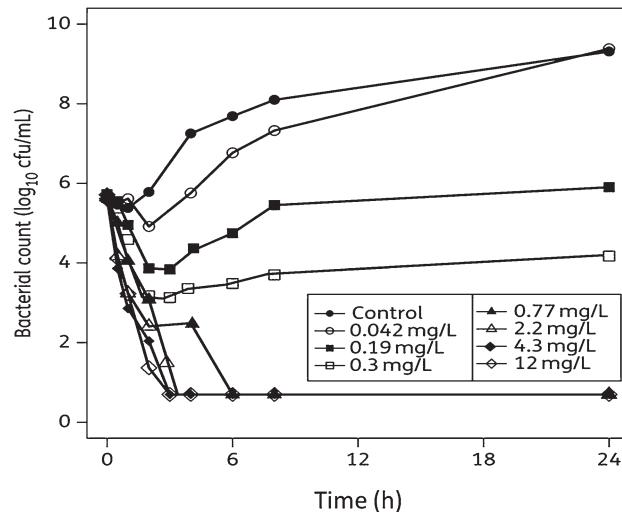
### 12.1.2 Pharmacokinetics/Pharmacodynamics of Colistin Alone

For colistin, in vitro pharmacokinetic/pharmacodynamic studies mainly focused on three Gram-negative pathogens: *P. aeruginosa*, *A. baumannii* and *K. pneumoniae*.

Determination of the pharmacokinetic/pharmacodynamic index that best predicted colistin efficacy on *P. aeruginosa* was performed using a dynamic in vitro pharmacokinetic model. *fAUC/MIC* was shown to be the pharmacokinetic/pharmacodynamic index that most closely correlated with the killing of *P. aeruginosa*, with target values for 2  $\log_{10}$  kill at 24 h of between 27.2 and 41.7 for reference strains (ATCC27853 and PAO1) [147].

In time-kill experiments, with a constant concentration of colistin over time, colistin was shown to be bactericidal on 21 *P. aeruginosa* strains at concentrations higher than  $0.5 \times \text{MIC}$ , with complete killing happening very quickly and bacteria becoming undetectable 4 h after treatment initiation. At concentrations equal to  $0.5 \times \text{MIC}$ , a small initial decrease in the concentration of colony forming units (cfu) was observed, followed by regrowth at 24 h [148] (Fig. 6). Time-kill experiments were also performed on the *A. baumannii* ATCC19606 reference strain and on 16 clinical isolates. Similar to what was observed with *P. aeruginosa*, low concentrations of colistin produced an initial decrease in cfu/mL followed by regrowth at 24 h [149]. In time-kill experiments on reference and clinical strains of *K. pneumoniae*, a regrowth was also observed after an initial rapid killing, even at a high colistin concentration (i.e.  $64 \times \text{MIC}$ ) [150].

Dynamic in vitro models allow mimicking of human clinical regimens and evaluation of antimicrobial efficacy at concentrations varying over time. In this way, the efficacy of four different clinical dosing regimens of colistin against *A. baumannii* were compared, but none were able to eradicate the bacterial strain [151].



**Fig. 6** Typical observed profile from one experiment for static time-kill curves for *Pseudomonas aeruginosa* exposed to colistin. Time-kill curve experiments for wild-type (ATCC27853) *P. aeruginosa* with concentrations ranging between 0.042 and 12 mg/L (minimum inhibitory concentration [MIC] = 1 mg/L). Reproduced from Mohamed et al. [155] with permission of the American Society of Microbiology. cfu colony-forming units

Population analysis profiles (PAPs) can be performed during time-kill or dynamic experiments in order to explore the heteroresistance phenomenon, characterised by the presence of several subpopulations of bacteria with different susceptibilities to colistin. A dynamic in vitro pharmacokinetic model was used to compare the efficacy of colistin regimens with 8, 12 or 24 h dosing intervals against *P. aeruginosa* [152]. No difference in bacterial kill was observed between regimens, but PAPs suggested that the 8 h dosing interval minimised the emergence of resistance [152]. PAPs on *A. baumannii* strains showed that 15 of 16 clinical isolates contained a resistant subpopulation, representing a small fraction of bacteria, at the start of the experiment. This so-called 'heteroresistance' was observed even though all strains were classified as colistin sensitive according to their MIC values [149]. Heteroresistance was also observed with reference and clinical *K. pneumoniae* strains, even in strains categorised as colistin sensitive based on their MIC [150].

**Semi-Mechanistic Modelling** Traditional analysis of pharmacokinetic/pharmacodynamic experiments are mostly qualitative, based on the variations of bacteria counts at a given time. Analysis data with semi-mechanistic mathematical models are useful to quantify the phenomenon observed during time-kill or dynamic experiments, such as bacterial resistance, antimicrobial efficacy or inoculum effect. Moreover, once a model has been developed it can be used to simulate different dosing regimens.

**Table 1** Chequerboard results

Drug class	Bacteria species			References
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>	
β-Lactam	–	18/125	63/245	[161, 164, 165, 183, 184]
Carbapenem	3/8	1/1	63/124	[156, 158, 161, 167]
Ciprofloxacin	–	14/26	–	[183]
Fosfomycin	–	19/87	–	[157]
Glycopeptide	1/12	0/4	38/111	[157–160, 162, 169, 171, 172, 174]
Linezolid	–	–	6/40	[162]
Daptomycin	–	–	2/2	[170]
Rifampicin	8/8	–	10/45	[158, 172, 184]
Tigecycline	6/8	–	18/95	[158, 166, 184]
Trimethoprim	2/8	0/8	8/8	[174]

Fractions are given as the number of strains with a Fractional Inhibitory Concentration Index (FICI)  $\leq 0.5$ /total number of strains tested

These pharmacokinetic/pharmacodynamic models have to describe the bacterial resistance to colistin. Resistance of *P. aeruginosa* and *A. baumannii* has been modelled either by splitting the bacterial population into several growing subpopulations with different susceptibility to colistin [153, 154], or with one sensitive subpopulation that adapts itself in the presence of colistin and gradually becomes resistant to it, but that can also switch to a non-growing ‘persistent’ form [155].

Mechanistic models can take into account some other aspects of the colistin mechanism of action, such as the inoculum effect and the competitive binding between cations (i.e.  $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{Mg}^{2+}$ ) and colistin on the bacterial LPS [153, 154].

These models enable characterisation of the susceptibility of a specific strain to colistin (e.g. concentration of drug producing 50% of maximum effect [ $\text{EC}_{50}$ ] = 1.16 mg/L for *P. aeruginosa* ATCC27853 [155]), the bacterial growth rate (e.g. mean turnover time of 75 min for *A. baumannii* ATCC19606 [154]) or the adaptation development rate (first-order adaptation rate constant of 7.2 h<sup>-1</sup> for *A. baumannii* ATCC19606 [154]).

Based on a pharmacokinetic/pharmacodynamic model, recommendation of a flat fixed loading dose followed by 8- or 12-hourly maintenance doses with an infusion duration of up to 2 h was made for patients infected with *P. aeruginosa* [155]. In *A. baumannii* infection, these simulations suggested that with current regimens used in the clinical setting, polymyxin B administration was better than colistin administered as CMS because of more rapid target concentration attainment [154].

### 12.1.3 Pharmacokinetics/Pharmacodynamics of Colistin in Combination

In order to counteract the growing number of colistin-resistant strains, recent studies have shifted from studying

colistin monotherapy to studying colistin activity in combination. Multiple methods have been used to evaluate the efficacy of combinations. Chequerboards and E-tests have been used for initial screening but, given the problems encountered with colistin E-tests (see Sect. 12.1.1), results obtained with this method are not covered in this review. Interesting combinations have been more thoroughly studied using time-kill experiments, with data resulting from these experiments being analysed with traditional methods or mathematical modelling.

*Chequerboards* Chequerboard results reported in the literature are summarised in Table 1. Chequerboard studies were interpreted by calculating the Fractional Inhibitory Concentration Index (FICI). Thresholds for FICI were usually as follows: FICI  $\leq 0.5$  indicated synergy, FICI between 0.5 and  $< 4$  indicated indifference/additivity and FICI  $\geq 4$  indicated antagonism [23, 155–171].

The most studied species was *A. baumannii* ( $n = 670$ ) and the most tested antibiotic family were β-lactams ( $n = 370$ ). From this review of the literature, the global rate of synergy between colistin and various antibiotics was 29% (280/965). When synergy was not elicited, the different combinations were at least additive or indifferent, except for some very rare cases of antagonism. Therefore, these chequerboard results support the use of colistin in combination, even if no particular antibiotic class seems to be synergistic with colistin.

*Time-Kill Experiments* In time-kill experiments, combinations were considered synergistic when they led at least to a  $2 \log_{10}$  cfu/mL decrease compared to the most active monotherapy at 24 h.

Colistin was shown to be synergistic with imipenem, doripenem, vancomycin, rifampicin (rifampin), trimethoprim and trimethoprim/sulfamethoxazole against *A. baumannii* strains [167, 171–174]. The addition of sulbactam improved the efficacy of the doripenem–colistin combination [173].

Against *K. pneumoniae* strains, colistin was shown to be synergistic with aztreonam, fosfomycin, meropenem, rifampicin, trimethoprim, trimethoprim/sulfamethoxazole and vancomycin [168, 174]. The same was true for aztreonam, fosfomycin and rifampicin in triple-antibiotic combinations with meropenem and colistin [168].

Colistin was shown to be synergistic with trimethoprim, trimethoprim/sulfamethoxazole and vancomycin against one colistin-resistant strain of *P. aeruginosa* [174].

Traditional time-kill criteria for evaluating synergy (e.g.  $\Delta\log_{10}$  cfu/mL at 24 h) have the same limitations as FICI to show a synergy when one of the tested drugs is already effective against the studied strain, because it is hard to improve an already important effect. This could explain why synergy was more often observed against strains that were resistant to one antibiotic of the combination than against sensitive strains. Moreover, time-kill studies found synergistic combinations more often than checkerboards. This could be either because the time-kill experiments are a more powerful tool to demonstrate synergy or because time-kill experiments focused on more resistant strains. Indeed, the number of strains tested by checkerboards was generally greater than that tested by time-kill experiments because checkerboards are quicker and cheaper.

*Semi-Mechanistic Modelling* Built on a previously developed pharmacokinetic/pharmacodynamic model for colistin against *P. aeruginosa* [153], a model for the colistin–doripenem combination effect on *P. aeruginosa* was developed from time-kill and PAPs data [163]. In this study, multiple dosing regimens and inocula were tested. Results suggested that colistin monotherapy, even at a high dose, should be avoided due to rapid amplification of resistant subpopulations. In contrast, the results suggest that the colistin–doripenem combination would be efficient. The impact of the combination on the different subpopulations characterised by the PAPs was also assessed.

Based on another previously developed pharmacokinetic/pharmacodynamic model of colistin on *P. aeruginosa* [155], a model of the colistin–meropenem combination effect on *P. aeruginosa* was developed from time-kill data [175]. This pharmacokinetic/pharmacodynamic model suggested that the combination at clinically achievable concentrations would be efficient to treat infections with meropenem-resistant *P. aeruginosa*.

## 12.2 In Vivo Pharmacodynamics

Only a few in vivo pharmacodynamic studies have been performed with colistin alone or in combination. Studies of colistin monotherapy focused on the determination of the best pharmacokinetic/pharmacodynamic index and its target value. Studies of colistin combination therapy used  $\Delta\log_{10}$  cfu/mL at different timepoints to assess synergism.

### 12.2.1 Colistin Alone

The pharmacokinetic/pharmacodynamic index that best predicted in vivo colistin efficacy was determined in mice thigh and lung infection models with three *P. aeruginosa* strains and three *A. baumannii* strains. Initially, two studies reported in vivo pharmacokinetic/pharmacodynamic index target values [176, 177], but errors in the determination of the in vivo  $f_u$  of colistin led the experiments to be repeated [67]. In this next study, fAUC/MIC was the pharmacokinetic/pharmacodynamic index that most closely correlated with the killing of bacteria. In the thigh infection model, target values for 2  $\log_{10}$  kill were between 7.4 and 13.7 for *P. aeruginosa* strains and between 7.4 and 17.6 for *A. baumannii* strains. In the lung infection model the target values for efficacy were much higher. It was possible to achieve 2  $\log_{10}$  kill in lung for only two-thirds of *P. aeruginosa* and one-third of *A. baumannii* strains (target values of fAUC/MIC between 36.8 and 105) [178].

### 12.2.2 Colistin in Combination

A murine thigh infection model was used to evaluate combinations of colistin and several antibiotics against extensively drug-resistant (XDR) *A. baumannii* [179] and against *K. pneumoniae* and *E. coli* [180]. Efficacy was evaluated with bacterial counts in thigh at 24 h. Rifampicin, fusidic acid and meropenem combined with colistin were synergistic against XDR *A. baumannii* [179]. By contrast, colistin and tigecycline in association were antagonist against several strains of *K. pneumoniae* and *E. coli* [180].

Colistin monotherapy and its combination with tigecycline were compared in a mice sepsis model infected by carbapenem-resistant *K. pneumoniae* [181]. Colistin and tigecycline monotherapies significantly reduced bacterial counts in liver and lung tissues, but the combination therapy was not superior to these monotherapies.

Readers especially interested in clinical combinations of polymyxins are referred to Lenhard et al. [182] for a more detailed review.

## 13 Conclusion

Pharmacokinetic and pharmacodynamic studies on colistin are difficult to carry out because it binds to many types of laboratory materials. Colistin renal clearance is very low due to intensive tubular reabsorption. However, the dosing regimen of colistin should be adapted to the renal function of the patient because CMS is partly eliminated by the kidney. Moreover, because the pharmacokinetics of colistin are very variable, and because its therapeutic window

is narrow, TDM of colistin is warranted. Resistance of bacteria to colistin is increasing worldwide in parallel to its clinical and veterinary uses. In vitro, when exposed to colistin, bacteria develop resistance mechanisms rapidly. In these cases, pharmacokinetic/pharmacodynamic models can be used to quantify the loss of colistin efficacy and determine optimal dosing regimens. The use of a loading dose might reduce the emergence of resistance but the use of colistin in combination also seems necessary. Some pharmacokinetic/pharmacodynamic studies of colistin in combination have already been conducted, but further investigations are necessary.

### Compliance with Ethical Standards

**Funding** No support was received for the preparation of this manuscript.

**Conflicts of interest** Nicolas Grégoire, Vincent Aranzana-Climent, Sophie Magrault, Sandrine Marchand and William Couet declare that they have no conflicts of interest.

### References

- Li J, Nation RL, Turnidge JD, Milne RW, Coulthard K, Rayner CR, et al. Colistin: the re-emerging antibiotic for multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. *Lancet Infect Dis.* 2006;6(9):589–601.
- Nation RL, Li J, Cars O, Couet W, Dudley MN, Kaye KS, et al. Framework for optimisation of the clinical use of colistin and polymyxin B: the Prato polymyxin consensus. *Lancet Infect Dis.* 2015;15(2):225–34.
- He H, Li JC, Nation RL, Jacob J, Chen G, Lee HJ, et al. Pharmacokinetics of four different brands of colistimethate and formed colistin in rats. *J Antimicrob Chemother.* 2013;68(10):2311–7.
- Rhouma M, Beaudry F, Theriault W, Bergeron N, Laurent-Lewandowski S, Fairbrother JM, et al. Gastric stability and oral bioavailability of colistin sulfate in pigs challenged or not with *Escherichia coli* O149: F4 (K88). *Res Vet Sci.* 2015;102:173–81.
- Shah SR, Henslee AM, Spicer PP, Yokota S, Petrichenko S, Allahabadi S, et al. Effects of antibiotic physicochemical properties on their release kinetics from biodegradable polymer microparticles. *Pharm Res.* 2014;31(12):3379–89.
- Velkov T, Roberts KD, Nation RL, Thompson PE, Li J. Pharmacology of polymyxins: new insights into an ‘old’ class of antibiotics. *Future Microbiol.* 2013;8(6):711–24.
- Li J, Nation RL, Milne RW, Turnidge JD, Coulthard K. Evaluation of colistin as an agent against multi-resistant Gram-negative bacteria. *Int J Antimicrob Agents.* 2005;25(1):11–25.
- Bergen PJ, Landersdorfer CB, Zhang J, Zhao M, Lee HJ, Nation RL, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of ‘old’ polymyxins: what is new? *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2012;74(3):213–23.
- Bergen PJ, Landersdorfer CB, Lee HJ, Li J, Nation RL. ‘Old’ antibiotics for emerging multidrug-resistant bacteria. *Curr Opin Infect Dis.* 2012;25(6):626–33.
- Yapa SWS, Li J, Porter CJ, Nation RL, Patel K, McIntosh MP. Population pharmacokinetics of colistin methanesulfonate in rats: achieving sustained lung concentrations of colistin for targeting respiratory infections. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57(10):5087–95.
- DrugBank. Colistimethate. <https://www.drugbank.ca/drugs/DB01111>. Accessed 30 Oct 2016.
- DrugBank. Colistin. <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00803>. Accessed 30 Oct 2016.
- Wallace SJ, Li J, Nation RL, Prankerd RJ, Velkov T, Boyd BJ. Self-assembly behavior of colistin and its prodrug colistin methanesulfonate: implications for solution stability and solubilization. *J Phys Chem B.* 2010;114(14):4836–40.
- Wallace SJ, Li J, Rayner CR, Coulthard K, Nation RL. Stability of colistin methanesulfonate in pharmaceutical products and solutions for administration to patients. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008;52(9):3047–51.
- Gobin P, Lemaitre F, Marchand S, Couet W, Olivier JC. Assay of colistin and colistin methanesulfonate in plasma and urine by liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;22(54):1941–8.
- Li J, Milne RW, Nation RL, Turnidge JD, Coulthard K, Valentine J. Simple method for assaying colistin methanesulfonate in plasma and urine using high-performance liquid chromatography. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002;46(10):3304–7.
- Li J, Milne RW, Nation RL, Turnidge JD, Smeaton TC, Coulthard K. Pharmacokinetics of colistin methanesulphonate and colistin in rats following an intravenous dose of colistin methanesulphonate. *J Antimicrob Chemother.* 2004;53(5):837–40.
- Chepyala D, Tsai IL, Sun HY, Lin SW, Kuo CH. Development and validation of a high-performance liquid chromatography-fluorescence detection method for the accurate quantification of colistin in human plasma. *J Chromatogr B Anal Technol Biomed Life Sci.* 2015;1(980):48–54.
- Li J, Milne RW, Nation RL, Turnidge JD, Coulthard K, Johnson DW. A simple method for the assay of colistin in human plasma, using pre-column derivatization with 9-fluorenylmethyl chloroformate in solid-phase extraction cartridges and reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl.* 2001;761(2):167–75.
- Van den Meersche T, Pamel EV, Poucke CV, Herman L, Heyndrickx M, Rasschaert G, et al. Development, validation and application of an ultra high performance liquid chromatographic-tandem mass spectrometric method for the simultaneous detection and quantification of five different classes of veterinary antibiotics in swine manure. *J Chromatogr A.* 2016;15(1429):248–57.
- Jansson B, Karvanen M, Cars O, Plachouras D, Friberg LE. Quantitative analysis of colistin A and colistin B in plasma and culture medium using a simple precipitation step followed by LC/MS/MS. *J Pharm Biomed Anal.* 2009;49(3):760–7.
- Marchand S, Gobin P, Brillault J, Baptista S, Adier C, Olivier JC, et al. Aerosol therapy with colistin methanesulfonate: a biopharmaceutical issue illustrated in rats. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54(9):3702–7.
- Nation RL, Velkov T, Li J. Colistin and polymyxin B: peas in a pod, or chalk and cheese? *Clin Infect Dis.* 2014;59(1):88–94.
- Bialvaei AZ, Samadi Kafil H. Colistin, mechanisms and prevalence of resistance. *Curr Med Res Opin.* 2015;31(4):707–21.
- Dixon RA, Chopra I. Leakage of periplasmic proteins from *Escherichia coli* mediated by polymyxin B nonapeptide. *Antimicrob Agents Chemother.* 1986;29(5):781–8.
- Chen CC, Feingold DS. Locus of divalent cation inhibition of the bactericidal action of polymyxin B. *Antimicrob Agents Chemother.* 1972;2(5):331–5.
- Schindler M, Osborn MJ. Interaction of divalent cations and polymyxin B with lipopolysaccharide. *Biochemistry.* 1979;18(20):4425–30.

28. Davis SD, Iannetta A, Wedgwood RJ. Activity of colistin against *Pseudomonas aeruginosa*: inhibition by calcium. *J Infect Dis.* 1971;124(6):610–2.
29. Clauzel A, Garcia-Subirats M, Pujol M, Busquets MA, Rabanal F, Cajal Y. Gram-negative outer and inner membrane models: insertion of cyclic cationic lipopeptides. *J Phys Chem B.* 2007;111(3):551–63.
30. Peterson AA, Hancock RE, McGroarty EJ. Binding of polycationic antibiotics and polyamines to lipopolysaccharides of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol.* 1985;164(3):1256–61.
31. Gough M, Hancock RE, Kelly NM. Antiedotoxin activity of cationic peptide antimicrobial agents. *Infect Immun.* 1996;64(12):4922–7.
32. Martis N, Leroy S, Blanc V. Colistin in multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* blood-stream infections: a narrative review for the clinician. *J Infect.* 2014;69(1):1–12.
33. Gardiner KR, Erwin PJ, Anderson NH, McCaigue MD, Halliday MI, Rowlands BJ. Lactulose as an antiedotoxin in experimental colitis. *Br J Surg.* 1995;82(4):469–72.
34. Escartin P, Rodriguez-Montes JA, Cuervas-Mons V, Rossi I, Alvarez-Cienfuegos J, Maganto P, et al. Effect of colistin on reduction of biliary flow induced by endotoxin in *E. coli*. *Dig Dis Sci.* 1982;27(10):875–9.
35. Lopes J, Inniss WE. Electron microscopy of effect of polymyxin on *Escherichia coli* lipopolysaccharide. *J Bacteriol.* 1969;100(2):1128–9.
36. Storm DR, Rosenthal KS, Swanson PE. Polymyxin and related peptide antibiotics. *Annu Rev Biochem.* 1977;46:723–63.
37. Deris ZZ, Akter J, Sivanesan S, Roberts KD, Thompson PE, Nation RL, et al. A secondary mode of action of polymyxins against Gram-negative bacteria involves the inhibition of NADH-quinone oxidoreductase activity. *J Antibiot (Tokyo).* 2014;67(2):147–51.
38. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). M100-S25. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-fifth informational supplement. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2015.
39. EUCAST. Recommendations for MIC determination of colistin (polymyxin E). As recommended by the joint CLSI-EUCAST Polymyxin Breakpoints Working Group. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing; 2016. [http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST\\_files/General\\_documents/Recommendations\\_for\\_MIC\\_determination\\_of\\_colistin\\_March\\_2016.pdf](http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/General_documents/Recommendations_for_MIC_determination_of_colistin_March_2016.pdf). Accessed 24 May 2017.
40. Cai Y, Lee W, Kwa AL. Polymyxin B versus colistin: an update. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2015;13(12):1481–97.
41. Hindler JA, Humphries RM. Colistin MIC variability by method for contemporary clinical isolates of multidrug-resistant Gram-negative bacilli. *J Clin Microbiol.* 2013;51(6):1678–84.
42. Lo-Ten-Foe JR, de Smet AM, Diederen BM, Kluytmans JA, van Keulen PH. Comparative evaluation of the VITEK 2, disk diffusion, etest, broth microdilution, and agar dilution susceptibility testing methods for colistin in clinical isolates, including heteroresistant *Enterobacter cloacae* and *Acinetobacter baumannii* strains. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007;51(10):3726–30.
43. Dafopoulos K, Zarkotou O, Dimitroulia E, Hadjichristodoulou C, Gennimata V, Pournaras S, et al. Comparative evaluation of colistin susceptibility testing methods among carbapenem-non-susceptible *Klebsiella pneumoniae* and *Acinetobacter baumannii* clinical isolates. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;59(8):4625–30.
44. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Version 7.1, 2017. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Available from: [http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST\\_files/Breakpoint\\_tables/v\\_7.1\\_Breakpoint\\_Tables.pdf](http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_7.1_Breakpoint_Tables.pdf). Accessed 24 May 2017.
45. Kwa AL, Tam VH, Falagas ME. Polymyxins: a review of the current status including recent developments. *Ann Acad Med Singap.* 2008;37(10):870–83.
46. Park YK, Choi JY, Shin D, Ko KS. Correlation between over-expression and amino acid substitution of the PmrAB locus and colistin resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Int J Antimicrob Agents.* 2011;37(6):525–30.
47. Gunn JS. The *Salmonella* PmrAB regulon: lipopolysaccharide modifications, antimicrobial peptide resistance and more. *Trends Microbiol.* 2008;16(6):284–90.
48. Kim SY, Choi HJ, Ko KS. Differential expression of two-component systems, pmrAB and phoPQ, with different growth phases of *Klebsiella pneumoniae* in the presence or absence of colistin. *Curr Microbiol.* 2014;69(1):37–41.
49. Raetz CR, Guan Z, Ingram BO, Six DA, Song F, Wang X, et al. Discovery of new biosynthetic pathways: the lipid A story. *J Lipid Res.* 2009;50(Suppl):S103–8.
50. Fernandez L, Jenssen H, Bains M, Wiegand I, Gooderham WJ, Hancock RE. The two-component system CprRS senses cationic peptides and triggers adaptive resistance in *Pseudomonas aeruginosa* independently of ParRS. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56(12):6212–22.
51. McPhee JB, Bains M, Winsor G, Lewenza S, Kwasnicka A, Brazas MD, et al. Contribution of the PhoP-PhoQ and PmrA-PmrB two-component regulatory systems to Mg<sup>2+</sup>-induced gene regulation in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol.* 2006;188(11):3995–4006.
52. Beceiro A, Llobet E, Aranda J, Bengoechea JA, Doumith M, Hornsey M, et al. Phosphoethanolamine modification of lipid A in colistin-resistant variants of *Acinetobacter baumannii* mediated by the pmrAB two-component regulatory system. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011;55(7):3370–9.
53. Snitkin ES, Zelazny AM, Gupta J, Palmore TN, Murray PR, Segre JA. Genomic insights into the fate of colistin resistance and *Acinetobacter baumannii* during patient treatment. *Genome Res.* 2013;23(7):1155–62.
54. Liu YY, Wang Y, Walsh TR, Yi LX, Zhang R, Spencer J, et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *Lancet Infect Dis.* 2016;16(2):161–8.
55. Schwarz S, Johnson AP. Transferable resistance to colistin: a new but old threat. *J Antimicrob Chemother.* 2016;71(8):2066–70.
56. Moffatt JH, Harper M, Harrison P, Hale JD, Vinogradov E, Seemann T, et al. Colistin resistance in *Acinetobacter baumannii* is mediated by complete loss of lipopolysaccharide production. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54(12):4971–7.
57. Li J, Rayner CR, Nation RL, Owen RJ, Spelman D, Tan KE, et al. Heteroresistance to colistin in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006;50(9):2946–50.
58. Lee JY, Park YK, Chung ES, Na IY, Ko KS. Evolved resistance to colistin and its loss due to genetic reversion in *Pseudomonas aeruginosa*. *Sci Rep.* 2016;06(6):25543.
59. Lewis K. Persister cells, dormancy and infectious disease. *Nat Rev Microbiol.* 2007;5(1):48–56.
60. Couet W, Gregoire N, Gobin P, Saulnier PJ, Frasca D, Marchand S, et al. Pharmacokinetics of colistin and colistimethate sodium after a single 80-mg intravenous dose of CMS in young healthy volunteers. *Clin Pharmacol Ther.* 2011;89(6):875–9.
61. Couet W, Gregoire N, Marchand S, Mimoz O. Colistin pharmacokinetics: the fog is lifting. *Clin Microbiol Infect.* 2012;18(1):30–9.
62. Ma Z, Wang J, Nation RL, Li J, Turnidge JD, Coulthard K, et al. Renal disposition of colistin in the isolated perfused rat kidney. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53(7):2857–64.

63. Lu X, Chan T, Xu C, Zhu L, Zhou QT, Roberts KD, et al. Human oligopeptide transporter 2 (PEPT2) mediates cellular uptake of polymyxins. *J Antimicrob Chemother.* 2016;71(2):403–12.
64. Suzuki T, Yamaguchi H, Ogura J, Kobayashi M, Yamada T, Iseki K. Megalin contributes to kidney accumulation and nephrotoxicity of colistin. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57(12):6319–24.
65. Diao L, Meibohm B. Pharmacokinetics and pharmacokinetic-pharmacodynamic correlations of therapeutic peptides. *Clin Pharmacokinet.* 2013;52(10):855–68.
66. Azad MA, Huang JX, Cooper MA, Roberts KD, Thompson PE, Nation RL, et al. Structure-activity relationships for the binding of polymyxins with human alpha-1-acid glycoprotein. *Biochem Pharmacol.* 2012;84(3):278–91.
67. Cheah SE, Wang J, Nguyen VT, Turnidge JD, Li J, Nation RL. New pharmacokinetic/pharmacodynamic studies of systemically administered colistin against *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* in mouse thigh and lung infection models: smaller response in lung infection. *J Antimicrob Chemother.* 2015;70(12):3291–7.
68. Li J, Milne RW, Nation RL, Turnidge JD, Smeaton TC, Coulthard K. Use of high-performance liquid chromatography to study the pharmacokinetics of colistin sulfate in rats following intravenous administration. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003;47(5):1766–70.
69. Matzner P, Gobin P, Lackner E, Zeitlinger M. Feasibility of microdialysis for determination of protein binding and target site pharmacokinetics of colistin in vivo. *J Clin Pharmacol.* 2015;55(4):431–7.
70. al-Khayyat AA, Aronson AL. Pharmacologic and toxicologic studies with the polymyxins. 3. Consideration regarding clinical use in dogs. *Cancer Chemotherapy.* 1973;19(2):98–108.
71. Mohamed AF, Karaikos I, Plachouras D, Karvanen M, Pontikis K, Jansson B, et al. Application of a loading dose of colistin methanesulphonate in critically ill patients: population pharmacokinetics, protein binding, and prediction of bacterial kill. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56(8):4241–9.
72. Kremer JM, Wilting J, Janssen LH. Drug binding to human alpha-1-acid glycoprotein in health and disease. *Pharmacol Rev.* 1988;40(1):1–47.
73. Zavascki AP, Goldani LZ, Cao G, Superti SV, Lutz L, Barth AL, et al. Pharmacokinetics of intravenous polymyxin B in critically ill patients. *Clin Infect Dis.* 2008;47(10):1298–304.
74. Huang JX, Blaskovich MA, Pelengin R, Ramu S, Kavanagh A, Elliott AG, et al. Mucin binding reduces colistin antimicrobial activity. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;59(10):5925–31.
75. Imberti R, Cusato M, Villani P, Carnevale L, Iotti GA, Langer M, et al. Steady-state pharmacokinetics and BAL concentration of colistin in critically ill patients after IV colistin methanesulfonate administration. *Chest.* 2010;138(6):1333–9.
76. Boisson M, Jacobs M, Gregoire N, Gobin P, Marchand S, Couet W, et al. Comparison of intrapulmonary and systemic pharmacokinetics of colistin methanesulfonate (CMS) and colistin after aerosol delivery and intravenous administration of CMS in critically ill patients. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58(12):7331–9.
77. Yapa SWS, Li J, Patel K, Wilson JW, Dooley MJ, George J, et al. Pulmonary and systemic pharmacokinetics of inhaled and intravenous colistin methanesulfonate in cystic fibrosis patients: targeting advantage of inhalational administration. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58(5):2570–9.
78. Nickel S, Clerkin CG, Selo MA, Ehrhardt C. Transport mechanisms at the pulmonary mucosa: implications for drug delivery. *Expert Opin Drug Deliv.* 2016;13(5):667–90.
79. Nakamura T, Nakanishi T, Haruta T, Shirasaka Y, Keogh JP, Tamai I. Transport of ipratropium, an anti-chronic obstructive pulmonary disease drug, is mediated by organic cation/carnitine transporters in human bronchial epithelial cells: implications for carrier-mediated pulmonary absorption. *Mol Pharm.* 2010;7(1):187–95.
80. Swaan PW, Bensman T, Bahadduri PM, Hall MW, Sarkar A, Bao S, et al. Bacterial peptide recognition and immune activation facilitated by human peptide transporter PEPT2. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2008;39(5):536–42.
81. Koferidis DP, Alexopoulou C, Valachis A, Maraki S, Dimopoulos D, Georgopoulos D, et al. Aerosolized plus intravenous colistin versus intravenous colistin alone for the treatment of ventilator-associated pneumonia: a matched case-control study. *Clin Infect Dis.* 2010;51(11):1238–44.
82. Korbila IP, Michalopoulos A, Rafailidis PI, Nikita D, Samonis G, Falagas ME. Inhaled colistin as adjunctive therapy to intravenous colistin for the treatment of microbiologically documented ventilator-associated pneumonia: a comparative cohort study. *Clin Microbiol Infect.* 2010;16(8):1230–6.
83. Michalopoulos A, Fotakis D, Virtzili S, Vletsas C, Raftopoulou S, Mastora Z, et al. Aerosolized colistin as adjunctive treatment of ventilator-associated pneumonia due to multidrug-resistant Gram-negative bacteria: a prospective study. *Respir Med.* 2008;102(3):407–12.
84. Tumbarello M, De Pascale G, Trecarichi EM, De Martino S, Bello G, Maviglia R, et al. Effect of aerosolized colistin as adjunctive treatment on the outcomes of microbiologically documented ventilator-associated pneumonia caused by colistin-only susceptible gram-negative bacteria. *Chest.* 2013;144(6):1768–75.
85. Gontijo AV, Gregoire N, Lamarche I, Gobin P, Couet W, Marchand S. Biopharmaceutical characterization of nebulized antimicrobial agents in rats: 2. Colistin. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58(7):3950–6.
86. Ratjen F, Rietschel E, Kasel D, Schwierz R, Starke K, Beier H, et al. Pharmacokinetics of inhaled colistin in patients with cystic fibrosis. *J Antimicrob Chemother.* 2006;57(2):306–11.
87. Athanassa ZE, Markantonis SL, Fousteri MZ, Myrianthefs PM, Boutzouka EG, Tsakris A, et al. Pharmacokinetics of inhaled colistimethate sodium (CMS) in mechanically ventilated critically ill patients. *Intensive Care Med.* 2012;38(11):1779–86.
88. Markantonis SL, Markou N, Fousteri M, Sakellaridis N, Karatzas S, Alamanos I, et al. Penetration of colistin into cerebrospinal fluid. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53(11):4907–10.
89. Ziaka M, Markantonis SL, Fousteri M, Zygoulis P, Panidis D, Karvouniaris M, et al. Combined intravenous and intraventricular administration of colistin methanesulfonate in critically ill patients with central nervous system infection. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57(4):1938–40.
90. Antachopoulos C, Karvanen M, Iosifidis E, Jansson B, Plachouras D, Cars O, et al. Serum and cerebrospinal fluid levels of colistin in pediatric patients. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54(9):3985–7.
91. Jin L, Nation RL, Li J, Nicolazzo JA. Species-dependent blood-brain barrier disruption of lipopolysaccharide: amelioration by colistin in vitro and in vivo. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57(9):4336–42.
92. Imberti R, Cusato M, Accetta G, Marino V, Procaccio F, Del Gaudio A, et al. Pharmacokinetics of colistin in cerebrospinal fluid after intraventricular administration of colistin methanesulfonate. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56(8):4416–21.
93. Mimoz O, Petipas F, Gregoire N, Gobin P, Marchand S, Couet W. Colistin distribution into the peritoneal fluid of a patient with

- severe peritonitis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56(7):4035–6.
94. Guyonnet J, Manco B, Baduel L, Kaltsatos V, Aliabadi MH, Lees P. Determination of a dosage regimen of colistin by pharmacokinetic/pharmacodynamic integration and modeling for treatment of G.I.T. disease in pigs. *Res Vet Sci.* 2010;88(2):307–14.
  95. Abis GS, Oosterling SJ, Stockmann HB, van der Bij GJ, van Egmond M, Vandebroucke-Grauls CM, et al. Perioperative selective decontamination of the digestive tract and standard antibiotic prophylaxis versus standard antibiotic prophylaxis alone in elective colorectal cancer patients. *Dan Med J.* 2014;61(4):A4695.
  96. Huttner B, Haustein T, Uckay I, Renzi G, Stewardson A, Schaerrer D, et al. Decolonization of intestinal carriage of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae with oral colistin and neomycin: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Antimicrob Chemother.* 2013;68(10):2375–82.
  97. Melsen WG, de Smet AM, Kluytmans JA, Bonten MJ. Selective decontamination of the oral and digestive tract in surgical versus non-surgical patients in intensive care in a cluster-randomized trial. *Br J Surg.* 2012;99(2):232–7.
  98. Oren I, Sprecher H, Finkelstein R, Hadad S, Neuberger A, Hussein K, et al. Eradication of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae gastrointestinal colonization with nonabsorbable oral antibiotic treatment: a prospective controlled trial. *Am J Infect Control.* 2013;41(12):1167–72.
  99. Saidel-Odes L, Polacheck H, Peled N, Riesenbergs K, Schlaeffer F, Trabelsi Y, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of selective digestive decontamination using oral gentamicin and oral polymyxin E for eradication of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* carriage. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2012;33(1):14–9.
  100. Brink AJ, Coetze J, Corcoran C, Clay CG, Hari-Makkan D, Jacobson RK, et al. Emergence of OXA-48 and OXA-181 carbapenemases among Enterobacteriaceae in South Africa and evidence of in vivo selection of colistin resistance as a consequence of selective decontamination of the gastrointestinal tract. *J Clin Microbiol.* 2013;51(1):369–72.
  101. Halaby T, Al Naiemi N, Kluytmans J, van der Palen J, Vandebroucke-Grauls CM. Emergence of colistin resistance in Enterobacteriaceae after the introduction of selective digestive tract decontamination in an intensive care unit. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57(7):3224–9.
  102. Lubbert C, Faucheuix S, Becker-Rux D, Laudi S, Durrbeck A, Busch T, et al. Rapid emergence of secondary resistance to gentamicin and colistin following selective digestive decontamination in patients with KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae*: a single-centre experience. *Int J Antimicrob Agents.* 2013;42(6):565–70.
  103. Strenger V, Gschliesser T, Grisold A, Zarfel G, Feierl G, Masoud L, et al. Orally administered colistin leads to colistin-resistant intestinal flora and fails to prevent faecal colonisation with extended-spectrum beta-lactamase-producing enterobacteria in hospitalised newborns. *Int J Antimicrob Agents.* 2011;37(1):67–9.
  104. Garonzik SM, Li J, Thamlikitkul V, Paterson DL, Shoham S, Jacob J, et al. Population pharmacokinetics of colistin methanesulfonate and formed colistin in critically ill patients from a multicenter study provide dosing suggestions for various categories of patients. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011;55(7):3284–94.
  105. Grégoire N, Mimoz O, Mégarbane B, Comets E, Chatelier D, Lasocki S, et al. New colistin population pharmacokinetic data in critically ill patients suggesting an alternative loading dose rationale. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58(12):7324–30.
  106. Plachouras D, Karvanen M, Friberg LE, Papadomichelakis E, Antoniadou A, Tsangaris I, et al. Population pharmacokinetic analysis of colistin methanesulfonate and colistin after intravenous administration in critically ill patients with infections caused by Gram-negative bacteria. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53(8):3430–6.
  107. Nation RL, Garonzik SM, Thamlikitkul V, Giannarellis-Bourboulis EJ, Forrest A, Paterson DL, et al. Dosing guidance for intravenous colistin in critically ill patients. *Clin Infect Dis.* 2016. doi:10.1093/cid/ciw839.
  108. Karaikos I, Friberg LE, Pontikis K, Ioannidis K, Tsagkari V, Galani L, et al. Colistin population pharmacokinetics after application of a loading dose of 9 MU colistin methanesulfonate in critically ill patients. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;59(12):7240–8.
  109. Vardakas KZ, Rellos K, Triarides NA, Falagas ME. Colistin loading dose: evaluation of the published pharmacokinetic and clinical data. *Int J Antimicrob Agents.* 2016;48(5):475–84.
  110. European Medicines Agency, Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP). Assessment report. Polymyxin-based products. 2014. [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Referrals\\_document/Polymyxin\\_31/WC500179664.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Referrals_document/Polymyxin_31/WC500179664.pdf). Accessed 23 March 2017.
  111. Nation RL, Garonzik SM, Li J, Thamlikitkul V, Giannarellis-Bourboulis EJ, Paterson DL, et al. Updated US and European dose recommendations for intravenous colistin: how do they perform? *Clin Infect Dis.* 2016;62(5):552–8.
  112. Jacobs M, Gregoire N, Megarbane B, Gobin P, Balayn D, Marchand S, et al. Population pharmacokinetics of colistin methanesulphonate (CMS) and colistin in critically ill patients with acute renal failure requiring intermittent haemodialysis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2016;60(3):1788–93.
  113. Honore PM, Jacobs R, Lochy S, De Waele E, Van Gorp V, De Regt J, et al. Acute respiratory muscle weakness and apnea in a critically ill patient induced by colistin neurotoxicity: key potential role of hemoadsorption elimination during continuous venovenous hemofiltration. *Int J Nephrol Renovasc Dis.* 2013;6:107–11.
  114. Jitmuang A, Nation RL, Koomanachai P, Chen G, Lee HJ, Wasuwattakul S, et al. Extracorporeal clearance of colistin methanesulphonate and formed colistin in end-stage renal disease patients receiving intermittent haemodialysis: implications for dosing. *J Antimicrob Chemother.* 2015;70(6):1804–11.
  115. Luque S, Sorli L, Li J, Collado S, Barbosa F, Berenguer N, et al. Effective removal of colistin methanesulphonate and formed colistin during intermittent haemodialysis in a patient infected by polymyxin-only-susceptible *Pseudomonas aeruginosa*. *J Chemother.* 2014;26(2):122–4.
  116. Marchand S, Frat JP, Petitpas F, Lemaitre F, Gobin P, Robert R, et al. Removal of colistin during intermittent haemodialysis in two critically ill patients. *J Antimicrob Chemother.* 2010;65(8):1836–7.
  117. Markou N, Fousteri M, Markantonis SL, Zidianakis B, Hroni D, Boutzouka E, et al. Colistin pharmacokinetics in intensive care unit patients on continuous venovenous haemodiafiltration: an observational study. *J Antimicrob Chemother.* 2012;67(10):2459–62.
  118. Karvanen M, Plachouras D, Friberg LE, Paramythiotou E, Papadomichelakis E, Karaikos I, et al. Colistin methanesulfonate and colistin pharmacokinetics in critically ill patients receiving continuous venovenous hemodiafiltration. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57(1):668–71.
  119. Karaikos I, Friberg LE, Galani L, Ioannidis K, Katsouda E, Athanassa Z, et al. Challenge for higher colistin dosage in critically ill patients receiving continuous venovenous haemodiafiltration. *Int J Antimicrob Agents.* 2016;48(3):337–41.

120. Fiaccadori E, Antonucci E, Morabito S, d'Avolio A, Maggiore U, Regolisti G. Colistin use in patients with reduced kidney function. *Am J Kidney Dis.* 2016;68(2):296–306.
121. Li J, Coulthard K, Milne R, Nation RL, Conway S, Peckham D, et al. Steady-state pharmacokinetics of intravenous colistin methanesulphonate in patients with cystic fibrosis. *J Antimicrob Chemother.* 2003;52(6):987–92.
122. Marchand S, Diot P, Gregoire N, Henriet A, Gobin P, Couet W. Plasma pharmacokinetics and sputum concentrations of colistin after nebulization or intravenous administration of colistin methanesulphonate (CMS) to ambulatories cystic fibrosis patients. In: 52nd international conference on antimicrobial agents and chemotherapy (ICAAC), 9–12 Sep 2012, San Francisco (Poster A-036).
123. Banerjee D, Stableforth D. The treatment of respiratory *Pseudomonas* infection in cystic fibrosis: what drug and which way? *Drugs.* 2000;60(5):1053–64.
124. Hansen CR, Pressler T, Hoiby N. Early aggressive eradication therapy for intermittent *Pseudomonas aeruginosa* airway colonization in cystic fibrosis patients: 15 years experience. *J Cyst Fibros.* 2008;7(6):523–30.
125. Schuster A, Haliburn C, Doring G, Goldman MH. Safety, efficacy and convenience of colistimethate sodium dry powder for inhalation (Cobreathe DPI) in patients with cystic fibrosis: a randomised study. *Thorax.* 2013;68(4):344–50.
126. Lee J, Han S, Jeon S, Hong T, Song W, Woo H, et al. Population pharmacokinetic analysis of colistin in burn patients. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57(5):2141–6.
127. Mizuyachi K, Hara K, Wakamatsu A, Nohda S, Hirama T. Safety and pharmacokinetic evaluation of intravenous colistin methanesulfonate sodium in Japanese healthy male subjects. *Curr Med Res Opin.* 2011;27(12):2261–70.
128. Falagas ME, Kasiakou SK. Toxicity of polymyxins: a systematic review of the evidence from old and recent studies. *Crit Care.* 2006;10(1):R27.
129. Dalfino L, Puntillo F, Ondok MJ, Mosca A, Monno R, Copolecchia S, et al. Colistin-associated acute kidney injury in severely ill patients: a step toward a better renal care? A prospective cohort study. *Clin Infect Dis.* 2015;61(12):1771–7.
130. Phe K, Johnson ML, Palmer HR, Tam VH. Validation of a model to predict the risk of nephrotoxicity in patients receiving colistin. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58(11):6946–8.
131. Sorli L, Luque S, Grau S, Berenguer N, Segura C, Montero MM, et al. Trough colistin plasma level is an independent risk factor for nephrotoxicity: a prospective observational cohort study. *BMC Infect Dis.* 2013;13:380.
132. Deryke CA, Crawford AJ, Uddin N, Wallace MR. Colistin dosing and nephrotoxicity in a large community teaching hospital. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54(10):4503–5.
133. Kelesidis T, Falagas ME. The safety of polymyxin antibiotics. *Expert Opin Drug Saf.* 2015;14(11):1687–701.
134. Sirijatuphat R, Limmahakhun S, Sirivatanauksorn V, Nation RL, Li J, Thamlikitkul V. Preliminary clinical study of the effect of ascorbic acid on colistin-associated nephrotoxicity. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;59(6):3224–32.
135. Yun B, Azad MA, Nowell CJ, Nation RL, Thompson PE, Roberts KD, et al. Cellular uptake and localization of polymyxins in renal tubular cells using rationally designed fluorescent probes. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;59(12):7489–96.
136. Spapen HD, Honore PM, Gregoire N, Gobin P, de Regt J, Martens GA, et al. Convulsions and apnoea in a patient infected with New Delhi metallo-beta-lactamase-1 *Escherichia coli* treated with colistin. *J Infect.* 2011;63(6):468–70.
137. Antoniu SA, Cojocaru I. Inhaled colistin for lower respiratory tract infections. *Expert Opin Drug Deliv.* 2012;9(3):333–42.
138. Gurjar M. Colistin for lung infection: an update. *J Intensive Care.* 2015;3(1):3.
139. Bargiacchi O, De Rosa FG. Intrathecal or intraventricular colistin: a review. *Infez Med.* 2016;24(1):3–11.
140. Landersdorfer CB, Nation RL. Colistin: how should it be dosed for the critically ill? *Semin Respir Crit Care Med.* 2015;36(1):126–35.
141. Horcajada JP, Sorli L, Luque S, Benito N, Segura C, Campillo N, et al. Validation of a colistin plasma concentration breakpoint as a predictor of nephrotoxicity in patients treated with colistin methanesulfonate. *Int J Antimicrob Agents.* 2016;48(6):725–7.
142. Bergen PJ, Bulitta JB, Forrest A, Tsuji BT, Li J, Nation RL. Pharmacokinetic/pharmacodynamic investigation of colistin against *Pseudomonas aeruginosa* using an in vitro model. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54(9):3783–9.
143. Duhhani RV, Turnidge JD, Coulthard K, Milne RW, Rayner CR, Li J, et al. Elucidation of pharmacokinetic/pharmacodynamic determinant of colistin activity against *Pseudomonas aeruginosa* in murine thigh and lung infection models. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54(3):1117–24.
144. Mohamed AF, Cars O, Friberg LE. A pharmacokinetic/pharmacodynamic model developed for the effect of colistin on *Pseudomonas aeruginosa* in vitro with evaluation of population pharmacokinetic variability on simulated bacterial killing. *J Antimicrob Chemother.* 2014;69(5):1350–61.
145. Wiegand I, Hilpert K, Hancock RE. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nat Protoc.* 2008;3(2):163–75.
146. Karvanen M. Optimisation of colistin dosage in the treatment of multi-resistant gram-negative infections. Uppsala: Uppsala Universitet; 2013.
147. Bergen PJ, Bulitta JB, Forrest A, Tsuji BT, Li J, Nation RL. Pharmacokinetic/pharmacodynamic investigation of colistin against *Pseudomonas aeruginosa* using an in vitro model. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54:3783–9.
148. Li J, Turnidge J, Milne R, Nation RL, Coulthard K. In vitro pharmacodynamic properties of colistin and colistin methanesulfonate against *Pseudomonas aeruginosa* isolates from patients with cystic fibrosis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001;45:781–5.
149. Li J, Rayner CR, Nation RL, Owen RJ, Spelman D, Tan KE, et al. Heteroresistance to colistin in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006;50:2946–50.
150. Poudyal A, Howden BP, Bell JM, Gao W, Owen RJ, Turnidge JD, et al. In vitro pharmacodynamics of colistin against multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *J Antimicrob Chemother.* 2008;62:1311–8.
151. Tan C-H, Li J, Nation RL. Activity of colistin against heteroresistant *Acinetobacter baumannii* and emergence of resistance in an in vitro pharmacokinetic/pharmacodynamic model. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007;51:3413–5.
152. Bergen PJ, Li J, Nation RL, Turnidge JD, Coulthard K, Milne RW. Comparison of once-, twice- and thrice-daily dosing of colistin on antibacterial effect and emergence of resistance: studies with *Pseudomonas aeruginosa* in an in vitro pharmacodynamic model. *J Antimicrob Chemother.* 2008;61:636–42.
153. Bulitta JB, Yang JC, Yohonn L, Ly NS, Brown SV, D'Hondt RE, et al. Attenuation of colistin bactericidal activity by high inoculum of *Pseudomonas aeruginosa* characterized by a new mechanism-based population pharmacodynamic model. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54:2051–62.
154. Cheah S-E, Li J, Tsuji BT, Forrest A, Bulitta JB, Nation RL. Colistin and polymyxin B dosage regimens against *Acinetobacter baumannii*: differences in activity and the emergence of resistance. *Antimicrob Agents Chemother.* 2016;60:3921–33.
155. Mohamed AF, Cars O, Friberg LE. A pharmacokinetic/pharmacodynamic model developed for the effect of colistin on

- Pseudomonas aeruginosa* in vitro with evaluation of population pharmacokinetic variability on simulated bacterial killing. *J Antimicrob Chemother.* 2014;69:1350–61.
156. Cirioni O, Ghiselli R, Silvestri C, Kamysz W, Orlando F, Mocchegiani F, et al. Efficacy of tachyplesin III, colistin, and imipenem against a multiresistant *Pseudomonas aeruginosa* strain. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007;51:2005–10.
  157. Di X, Wang R, Liu B, Zhang X, Ni W, Wang J, et al. In vitro activity of fosfomycin in combination with colistin against clinical isolates of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antibiot.* 2015;68:551–5.
  158. Gaibani P, Lombardo D, Lewis RE, Mercuri M, Bonora S, Landini MP, et al. In vitro activity and post-antibiotic effects of colistin in combination with other antimicrobials against colistin-resistant KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* bloodstream isolates. *J Antimicrob Chemother.* 2014;69:1856–65.
  159. Gordon NC, Png K, Wareham DW. Potent synergy and sustained bactericidal activity of a vancomycin-colistin combination versus multidrug-resistant strains of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54:5316–22.
  160. Hornsey M, Wareham DW. In vivo efficacy of glycopeptide-colistin combination therapies in a *Galleria mellonella* model of *Acinetobacter baumannii* infection. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011;55:3534–7.
  161. Le Minh V, Thi Khanh Nhu N, Vinh Phat V, Thompson C, Huong Lan NP, Thieu Nga TV, et al. In vitro activity of colistin in antimicrobial combination against carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolated from patients with ventilator-associated pneumonia in Vietnam. *J Med Microbiol.* 2015;64:1162–9.
  162. Liu B, Liu Y, Di X, Zhang X, Wang R, Bai Y, et al. Colistin and anti-Gram-positive bacterial agents against *Acinetobacter baumannii*. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2014;47:451–6.
  163. Ly NS, Bulitta JB, Rao GG, Landersdorfer CB, Holden PN, Forrest A, et al. Colistin and doripenem combinations against *Pseudomonas aeruginosa*: profiling the time course of synergistic killing and prevention of resistance. *J Antimicrob Chemother.* 2015;70:1434–42.
  164. Marie MAM, Krishnappa LG, Alzahrani AJ, Mubaraki MA, Alyousef AA. A prospective evaluation of synergistic effect of sulbactam and tazobactam combination with meropenem or colistin against multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*. *Bosn J Basic Med Sci.* 2015;15:24–9.
  165. Mitsugui CS, Tognim MCB, Cardoso CL, Carrara-Marroni FE, Garcia LB. In vitro activity of polymyxins in combination with  $\beta$ -lactams against clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *Int J Antimicrob Agents.* 2011;38:447–50.
  166. Ni W, Cui J, Liang B, Cai Y, Bai N, Cai X, et al. In vitro effects of tigecycline in combination with colistin (polymyxin E) and sulbactam against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Antibiot.* 2013;66:705–8.
  167. Sheng W-H, Wang J-T, Li S-Y, Lin Y-C, Cheng A, Chen Y-C, et al. Comparative in vitro antimicrobial susceptibilities and synergistic activities of antimicrobial combinations against carbapenem-resistant *Acinetobacter* species: *Acinetobacter baumannii* versus *Acinetobacter* genospecies 3 and 13TU. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2011;70:380–6.
  168. Tangden T, Hickman RA, Forsberg P, Lagerback P, Giske CG, Cars O. Evaluation of double- and triple-antibiotic combinations for VIM- and NDM-producing *Klebsiella pneumoniae* by in vitro time-kill experiments. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58:1757–62.
  169. Wareham DW, Gordon NC, Hornsey M. In vitro activity of teicoplanin combined with colistin versus multidrug-resistant strains of *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother.* 2011;66:1047–51.
  170. Yang H, Chen G, Hu L, Liu Y, Cheng J, Li H, et al. In vivo activity of daptomycin/colistin combination therapy in a *Galleria mellonella* model of *Acinetobacter baumannii* infection. *Int J Antimicrob Agents.* 2015;45:188–91.
  171. Yang H, Lv N, Hu L, Liu Y, Cheng J, Ye Y, et al. In vivo activity of vancomycin combined with colistin against multidrug-resistant strains of *Acinetobacter baumannii* in a *Galleria mellonella* model. *Infect Dis.* 2016;48:189–94.
  172. Leite GC, Oliveira MS, Perdigão-Neto LV, Rocha CKD, Guimarães T, Rizek C, et al. Antimicrobial combinations against pan-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates with different resistance mechanisms. *PLoS One.* 2016;11:e0151270.
  173. Oleksiuk LM, Nguyen MH, Press EG, Updike CL, O'Hara JA, Doi Y, et al. In vitro responses of *Acinetobacter baumannii* to two- and three-drug combinations following exposure to colistin and doripenem. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58:1195–9.
  174. Vidaillac C, Benichou L, Duval RE. In vitro synergy of colistin combinations against colistin-resistant *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Klebsiella pneumoniae* isolates. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56:4856–61.
  175. Mohamed AF, Kristoffersson AN, Karvanen M, Nielsen EI, Cars O, Friberg LE. Dynamic interaction of colistin and meropenem on a WT and a resistant strain of *Pseudomonas aeruginosa* as quantified in a PK/PD model. *J Antimicrob Chemother.* 2016;71(5):1279–90.
  176. Duhhani RV, Turnidge JD, Coulthard K, Milne RW, Rayner CR, Li J, et al. Elucidation of the pharmacokinetic/pharmacodynamic determinant of colistin activity against *Pseudomonas aeruginosa* in murine thigh and lung infection models. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54:1117–24.
  177. Duhhani RV, Turnidge JD, Nation RL, Li J. fAUC/MIC is the most predictive pharmacokinetic/pharmacodynamic index of colistin against *Acinetobacter baumannii* in murine thigh and lung infection models. *J Antimicrob Chemother.* 2010;65:1984–90.
  178. Cheah S-E, Wang J, Nguyen VTT, Turnidge JD, Li J, Nation RL. New pharmacokinetic/pharmacodynamic studies of systemically administered colistin against *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* in mouse thigh and lung infection models: smaller response in lung infection. *J Antimicrob Chemother.* 2015;70:3291–7.
  179. Fan B, Guan J, Wang X, Cong Y. Activity of colistin in combination with meropenem, tigecycline, fosfomycin, fusidic acid, rifampin or sulbactam against extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* in a murine thigh-infection model. *PLoS One.* 2016;11:e0157757.
  180. Michail G, Labrou M, Pitiriga V, Manousaka S, Sakellaridis N, Tsakris A, et al. Activity of tigecycline in combination with colistin, meropenem, rifampin, or gentamicin against KPC-producing Enterobacteriaceae in a murine thigh infection model. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57:6028–33.
  181. Demiraslan H, Dinc G, Ahmed SS, Elmali F, Metan G, Alp E, et al. Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* sepsis in corticosteroid receipt mice: tigecycline or colistin monotherapy versus tigecycline/colistin combination. *J Chemother.* 2014;26:276–81.
  182. Lenhard JR, Nation RL, Tsuji BT. Synergistic combinations of polymyxins. *Int J Antimicrob Agents.* 2016;48:607–13.
  183. D'Souza BB, Padmaraj SR, Rekha PD, Tellis RC, Prabhu S, Pothen P. In vitro synergistic activity of colistin and ceftazidime or ciprofloxacin against multidrug-resistant clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *Microb Drug Resist.* 2014;20:550–4.
  184. Dong X, Chen F, Zhang Y, Liu H, Liu Y, Ma L. In vitro activities of rifampin, colistin, sulbactam and tigecycline tested alone and in combination against extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Antibiot.* 2014;67:677–80.

## **Annexe II :**

**Lettre à l'éditeur – *Colistin Pharmacokinetics in Paediatrics***



Alessio Mesini,<sup>1</sup> Anna Loy,<sup>2</sup>  
Marco Gattorno,<sup>2</sup>  
Andrea Moscatelli,<sup>2</sup>  
Roberto Bandettini,<sup>2</sup> Maura Faraci,<sup>2</sup>  
Giuliana Cangemi,<sup>2</sup> and Elio Castagnola<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Infectious Diseases Unit, University of Genoa, S. Martino Hospital, and <sup>2</sup>Istituto Giannina Gaslini, Children's Hospital Genoa, Italy

## References

1. Nation RL, Garonzik SM, Li J, et al. Updated US and European dose recommendations for intravenous colistin: how do they perform? *Clin Infect Dis* 2016; 62:552–8.
2. Cangemi G, Barco S, Castagnola E, Tripodi G, Favata F, D'Avolio A. Development and validation of UHPLC-MS/MS methods for the quantification of colistin in plasma and dried plasma spots. *J Pharm Biomed Anal* 2016; 129:551–7.
3. Pai MP, Russo A, Novelli A, Venditti M, Falcone M. Simplified equations using two concentrations to calculate area under the curve for antimicrobials with concentration-dependent pharmacodynamics: daptomycin as a motivating example. *Antimicrob Agents Chemother* 2014; 58:3162–7.
4. Roberts JA, Abdul-Aziz MH, Lipman J, et al; International Society of Anti-Infective Pharmacology and the Pharmacokinetics and Pharmacodynamics Study Group of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Individualised antibiotic dosing for patients who are critically ill: challenges and potential solutions. *Lancet Infect Dis* 2014; 14:498–509.
5. Bergen PJ, Landersdorfer CB, Zhang J, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of 'old' polymyxins: what is new? *Diagn Microbiol Infect Dis* 2012; 74:213–23.
6. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 7.1, 2017. Available at: <http://www.eucast.org>. Accessed 28 July 2017.

Correspondence: E. Castagnola, Infectious Diseases Unit, Istituto Giannina Gaslini, Children's Hospital, Via G. Gaslini, 5, 16147 Genoa, Italy ([elio.castagnola@gaslini.org](mailto:elio.castagnola@gaslini.org)).

**Clinical Infectious Diseases®** 2018;66(5):808–9  
© The Author(s) 2017. Published by Oxford University Press for the Infectious Diseases Society of America. All rights reserved.  
For permissions, e-mail: [journals.permissions@oup.com](mailto:journals.permissions@oup.com).  
DOI: 10.1093/cid/cix757

## Colistin Pharmacokinetics in Pediatrics

TO THE EDITOR—Mesini et al have recently published an article relying on colistin area under the time-concentration curve (AUC) in children, leading to dosing regimen recommendations [1]. Measured colistin concentrations are surprisingly high and uncontrolled degradation of the infused prodrug

(colistin methanesulfonate [CMS]) may be suspected, but this is impossible to assess as CMS concentrations are not reported. Yet there is no doubt that AUC estimate based on 2 concentrations is inappropriate.

First, drug concentration measured at the end of an infusion is considered to correspond to peak concentration ( $C_{max}$ ). This would be true for the infused CMS, but not for colistin, which is formed progressively in the body from CMS hydrolysis, leading to a delayed peak as shown on many occasions in adult patients [2–4] or healthy volunteers [5]. Second, the formula used to estimate  $AUC_{0-24h}$  uses 3 parameters that are all inappropriate. Peak concentration values ( $C_{max}$ ) are erroneous for reasons just mentioned. Then, since CMS was administered twice daily, trough concentrations ( $C_{min}$ ) measured 12 hours after infusion would provide an estimate of  $AUC_{0-12h}$  but not  $AUC_{0-24h}$  as considered by the authors for dosing recommendations. Last, the elimination rate constant  $K_{el}$  may be estimated from 2 data points only if these were obtained during the terminal elimination phase, which is not the case here as the so-called  $C_{max}$  concentration was actually determined at a time when colistin concentrations were still increasing with time and therefore not during the decay phase.

Based on these comments, dosing recommendations derived from this article should be considered with great care.

## Note

**Potential conflicts of interest.** All authors: No reported conflicts of interest. All authors have submitted the ICMJE Form for Disclosure of Potential Conflicts of Interest. Conflicts that the editors consider relevant to the content of the manuscript have been disclosed.

Sophie Magréault,<sup>1,2</sup> Nicolas Grégoire,<sup>1,2</sup>  
Sandrine Marchand,<sup>1,2,3</sup> and William Couet<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>INSERM U1070, Poitiers, <sup>2</sup>Université de Poitiers, and <sup>3</sup>CHU Poitiers, France

## References

1. Mesini A, Loy A, Gattorno M, et al. Colistin AUC in children treated with intravenous loading dose and maintenance therapy. *Clin Infect Dis* 2018; 66:808–9.

2. Plachouras D, Karvanen M, Friberg LE, et al. Population pharmacokinetic analysis of colistin methanesulfonate and colistin after intravenous administration in critically ill patients with infections caused by gram-negative bacteria. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53:3430–6.

3. Garonzik SM, Li J, Thamlikitkul V, et al. Population pharmacokinetics of colistin methanesulfonate and formed colistin in critically ill patients from a multicenter study provide dosing suggestions for various categories of patients. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55:3284–94.

4. Grégoire N, Mimoz O, Mégarbane B, et al. New colistin population pharmacokinetic data in critically ill patients suggesting an alternative loading dose rationale. *Antimicrob Agents Chemother* 2014; 58:7324–30.

5. Couet W, Grégoire N, Gobin P, et al. Pharmacokinetics of colistin and colistimethate sodium after a single 80-mg intravenous dose of CMS in young healthy volunteers. *Clin Pharmacol Ther* 2011; 89:875–9.

Correspondence: W. Couet, School of Medicine and Pharmacy, University of Poitiers, Inserm U-1070 "Pharmacologie des Antimicrobiens" – Pôle Biologie Santé, 1 rue Georges Bonnet-BP 633 - 86022 POITIERS cedex - FRANCE ([william.couet@univ-poitiers.fr](mailto:william.couet@univ-poitiers.fr))

**Clinical Infectious Diseases®** 2017;66(5):809

© The Author(s) 2017. Published by Oxford University Press for the Infectious Diseases Society of America. All rights reserved. For permissions, e-mail: [journals.permissions@oup.com](mailto:journals.permissions@oup.com). DOI: 10.1093/cid/cix1046

## Reply to Magréault et al

TO THE EDITOR—We thank Magréault and colleagues for their comments [1] that allow us to better specify our approach to colistin plasma determination.

We know that colistimethate degrades spontaneously in plasma and this could modify the results of liquid chromatography–mass spectrometry. However, within 1 hour from sampling, this degradation is negligible, as documented by Gobin and coworkers [2]. Indeed our procedure for colistin plasma determination provides that plasma samples are stored at  $-30^{\circ}\text{C}$  within 30 minutes from sampling and until they are analyzed [3]. This eliminates the risk of overestimation by spontaneous degradation.

As for the equation used for area under the concentration-time curve (AUC) calculation, we know that it represents a simplification as more samples could be needed to have a precise AUC, whereas actual computation from 1 or 2 samples requires sophisticated mathematical methods that can be difficult to apply in the everyday clinical practice. However,



### **Annexe III :**

**Cas clinique - *Gentamicin-vancomycin-colistin local antibiotherapy in a cement spacer in a 54-year-old haemophilic patient with relapsing plurimicrobial severe prosthetic joint infection.***



# Gentamicin–vancomycin–colistin local antibioticotherapy in a cement spacer in a 54-year-old haemophilic patient with relapsing plurimicrobial severe prosthetic joint infection

Tristan Ferry,<sup>1,2,3,4</sup> Romain Desmarchelier,<sup>5</sup> Sophie Magréault,<sup>6,7</sup> Florent Valour,<sup>1,2,3,4</sup> on behalf of the Lyon BJI Study group

<sup>1</sup>Service de Maladies Infectieuses et Tropicales, Hôpital de la Croix-Rousse, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

<sup>2</sup>Université Claude Bernard Lyon 1, Lyon, France

<sup>3</sup>Centre International de Recherche en Infectiologie, CIRI, Lyon, France

<sup>4</sup>Centre Interrégional de Référence des Infections Ostéo-articulaires complexes (CRIORAc), Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

<sup>5</sup>Service de Chirurgie orthopédique et de Traumatologie, Centre Hospitalier Lyon Sud, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

<sup>6</sup>Laboratoire Pharmacologie des anti-infectieux, Inserm U-1070, Poitiers, France

<sup>7</sup>Université de Poitiers, UFR Médecine-Pharmacie, Poitiers, France

**Correspondence to**  
Pr Tristan Ferry,  
tristan.ferry@univ-lyon1.fr

Accepted 1 October 2017

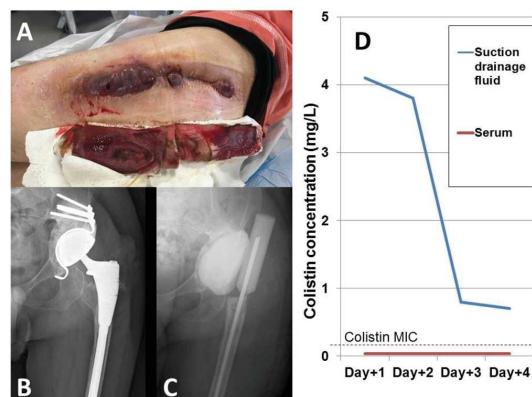


CrossMark

**To cite:** Ferry T, Desmarchelier R, Magréault S, et al. BMJ Case Rep Published Online First: [please include Day Month Year]. doi:10.1136/bcr-2017-221743

## DESCRIPTION

A 54-year-old patient with haemophilia and hepatitis C virus infection experienced acute left prosthetic joint infection due to *Klebsiella pneumoniae* and *Staphylococcus aureus* following unipolar exchange in September 2015. As the outcome was not favourable with bloody discharge despite haemophilic factor substitution, a new local debridement was performed in May 2016 and multidrug-resistant *Enterobacter asburiae* (only susceptible to imipenem, colistin, amikacin and fosfomycin) and *Corynebacterium striatum* (only susceptible to vancomycin, rifampin and linezolid) grew in cultures. As explantation was considered too risky due to the potential bleeding, systemic intravenous treatment was proposed with imipenem (3 g/day), vancomycin (2.5 g/day) and fosfomycin (12 g/day). After 3 months of therapy, the bloody discharge persisted. One month after discontinuation of antibiotics, the patient presented a large 'bourgeon charnu' with impressive bloody discharge (figure 1A). X-ray revealed trochanter osteolysis, without prosthesis loosening (figure 1B). Prosthesis explantation was performed, and a commercial articulated spacer was inserted. We used the COPAL G+V, which delivers locally a high amount of gentamicin and vancomycin. To have an activity against the Gram-negative pathogen, we decided to add 6 MUI of Colimycine to each dose of cement even if few data were available on this practice.<sup>1</sup> A total of five doses were required to do the articulated spacer (figure 1C), leading to a total local dose of 30 MUI of colimycin. Additionally, the patient received as empirical therapy meropenem (6 g/day) and daptomycin (700 mg/day). Colistin (the active form of Colimycine) concentrations were measured locally from suction drainage fluid and in plasma (to ensure that there is no systemic diffusion) using liquid chromatography. High concentrations of colistin were measured locally during several days, 32 times (at day 1) and 5 times (at day 4) above the *E. asburiae* colistin minimum inhibitory concentration ( $MIC=0.125\text{ mg/L}$ ). Cultures of per operative samples yielded the same *E. asburiae*, but not the *Corynebacterium*. Colistin concentration in plasma was below the limit of quantification set at  $0.04\text{ mg/L}$ . Colistin was then administered systemically at day 5, taking over the local administration. The outcome was initially favourable, but



**Figure 1** Local (A) and radiological (B) aspects before prosthesis explantation; radiological aspect of the antibiotic-loaded articulated spacer, after prosthesis explantation (C); colistin concentrations in the suction drainage fluid and in plasma (D). MIC, minimum inhibitory concentration.

debridement and spacer explantation were required several weeks later as haematoma with bloody discharge occurred. Superinfection with *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans* was detected and treated. The *E. asburiae* was never found again. Nine months later, a small intermittent haemorrhagic discharge was still observed, making prosthesis reimplantation impossible.

Articulated spacers are currently used in patients with knee prosthesis infection, as they are associated with significant improvement of clinical results and knee functionality after reimplantation.<sup>2</sup> Moreover, in prosthetic joint infections, there is growing evidence concerning the potential efficacy of antibiotic-loaded spacer that provides a high local concentration of antibiotic.<sup>3</sup> Commercially or locally

## Learning points

- Antibiotic-loaded spacer delivers high concentrations of colistin locally, without systemic diffusion.
- Combination of local antimicrobials could be useful for the treatment of multidrug-resistant prosthetic joint infection.

## Images in...

made gentamicin or vancomycin spacers are usually used in this indication. Facing polymicrobial prosthetic joint infection with multidrug-resistant pathogens, it could be useful to use a combination of antibiotics in the spacer. Gentamicin and vancomycin are synergistic against staphylococci and might also prevent superinfection with these pathogens. Here, awaiting the culture results, the addition of colimycin in the spacer allowed high local concentrations of colistin, with no potential of systemic toxicity.

**Contributors** TF designed the management of the patient with the antibiotic-loaded spacer and wrote the draft of the manuscript. All authors (TF, RD, SM and FV) participated in the patient care, the literature review and the improvement of the manuscript. SM performed the measurements of colistine.

**Competing interests** None declared.

**Patient consent** Obtained.

**Provenance and peer review** Not commissioned; externally peer reviewed.

© BMJ Publishing Group Ltd (unless otherwise stated in the text of the article) 2017. All rights reserved. No commercial use is permitted unless otherwise expressly granted.

## REFERENCES

- 1 Krajewski J, Bode-Böger SM, Tröger U, et al. Successful treatment of extensively drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* osteomyelitis using a colistin- and tobramycin-impregnated PMMA spacer. *Int J Antimicrob Agents* 2014;44:363–6.
- 2 Vasso M, Del Regno C, Corona K, et al. Articulated spacer provides long-term knee improvement after two-stage reimplantation. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2016;24:3100–5.
- 3 Bertazzoni Minelli E, Benini A, Samaila E, et al. Antimicrobial activity of gentamicin and vancomycin combination in joint fluids after antibiotic-loaded cement spacer implantation in two-stage revision surgery. *J Chemother* 2015;27:17–24.

Copyright 2017 BMJ Publishing Group. All rights reserved. For permission to reuse any of this content visit

<http://group.bmj.com/group/rights-licensing/permissions>.

BMJ Case Report Fellows may re-use this article for personal use and teaching without any further permission.

Become a Fellow of BMJ Case Reports today and you can:

- Submit as many cases as you like
- Enjoy fast sympathetic peer review and rapid publication of accepted articles
- Access all the published articles
- Re-use any of the published material for personal use and teaching without further permission

For information on Institutional Fellowships contact [consortiasales@bmjgroup.com](mailto:consortiasales@bmjgroup.com)

Visit [casereports.bmj.com](http://casereports.bmj.com) for more articles like this and to become a Fellow







# Pharmacocinétique et Suivi thérapeutique pharmacologique de la colistine

La colistine est un antibiotique utilisé en dernier recours dans les infections à bacilles gram négatifs multirésistants. Elle est administrée sous la forme de sa prodrogue, le colistiméthate sodique (CMS). Bien que les données disponibles sur cet antibiotique aient largement augmenté depuis l'apparition des dosages du CMS et de la colistine par méthode séparative couplée à un détecteur, les disparités entre les études perdurent, les mécanismes pharmacocinétiques impliqués ne sont pas tous élucidés et les données manquent quant à l'optimisation de l'utilisation de cet antibiotique.

Cette thèse a ainsi permis de :

- 1) Vérifier que les dosages de CMS et colistine réalisés dans différents centres européens étaient conformes et homogènes via la réalisation d'une étude de cross-validation multicentrique.
- 2) Mettre en évidence l'ampleur de la variabilité interindividuelle des concentrations moyennes à l'équilibre en colistine et montrer que cette variabilité était essentiellement due à la clairance de la colistine.
- 3) Montrer les difficultés de la mise en place d'une optimisation posologique précoce du CMS par analyse bayésienne.
- 4) Evaluer l'impact pharmacocinétique d'une administration du CMS en une seule injection journalière.
- 5) Etudier la pharmacocinétique du CMS et de la colistine après administration par voie intraveineuse et nébulisée de CMS chez les patients souffrant de mucoviscidose.
- 6) Suggérer une augmentation de la posologie de la colistine en pédiatrie.

Ces travaux ont permis d'accroître les connaissances sur la pharmacocinétique de la colistine et de proposer de nouvelles stratégies thérapeutiques afin de contribuer à l'amélioration de la prise en charge des patients.

**Mots clés :** colistine, antibiothérapie, suivi thérapeutique pharmacologique, pharmacocinétique, LC-MS/MS