

Master en Pharmacie

Travail Personnel de Recherche

Evaluation dans un modèle in vitro de la quantité inhalée de tobramycine chez des patients sous ventilation mécanique

présenté à la

Faculté des sciences de
l'Université de Genève

par

Anabela Alves dos Santos

Pharmacie du CHUV

Prof. F. Sadeghipour

Autres responsables

PD Dr. P. Voirol et Dr. E. Di Paolo

RESUME

Evaluation dans un modèle *in vitro* de la quantité inhalée de tobramycine chez des patients sous ventilation mécanique

Anabela Alves dos Santos

Responsables : PD Dr. P. Voirol et Dr. E. Di Paolo

Superviseur : Prof. F. Sadeghipour

Service de pharmacie, Centre Hospitalier Universitaire Vaudois, 1011 Lausanne, Suisse.

La Pneumonie acquise sous ventilateur (VAP) est une des infections nosocomiales les plus communes dans les services de soins intensifs. La bactérie gram-négatif *Pseudomonas aeruginosa* est la principale responsable de ces infections nosocomiales.

Pour combattre cette infection, des études démontrent que la voie inhalée présente l'avantage d'obtenir de meilleures concentrations qu'en administration intraveineuse (i.v.), donc une meilleure réponse clinique, tout en réduisant la toxicité. Une des molécules les plus utilisées pour le traitement de la VAP est la tobramycine. L'efficacité de cet antibiotique de la classe des aminoglycosides est dose dépendante, néanmoins la tobramycine a une marge thérapeutique étroite, l'ototoxicité et la néphrotoxicité étant liées à des concentrations plasmatiques résiduelles (C_{\min}) élevées.

Etant donné les caractéristiques pharmacologiques de la tobramycine, l'objectif de ce travail consiste à déterminer le montage le plus efficace en simulant les conditions réelles d'utilisation en ventilation mécanique.

Pour se faire, un nébuliseur à maille vibrante est positionné à cinq endroits différents (nommés position A, B, C, D et E) du circuit ventilatoire. La position A correspond à celle où le nébuliseur se trouve le plus proche du tube endotrachéal, la position B correspond à celle où le nébuliseur se trouve avant la pièce en y, à la position C le nébuliseur se trouve à 15 cm de la pièce en Y, alors que le nébuliseur se trouve à 45cm de la pièce en y à la position D, à la position E le nébuliseur se trouve à la sortie du ventilateur.

L'efficacité des montages est évaluée par détermination des quantités de tobramycine retenue par des filtres, afin de connaître les quantités inhalées et expirées, et par dosage des solutions de lavage du nébuliseur (quantité résiduelle) après nébulisation. Les dosages des filtres et des solutions de lavage du nébuliseur sont effectués par LC-MS/MS.

Les résultats obtenus indiquent que les quantités de tobramycine inhalées en positions A et D sont les plus élevées avec $39.5 \pm 2.8\%$ et $36.3 \pm 39.0\%$ de la dose initiale respectivement. Le mode de nébulisation est un paramètre qui influence la quantité inhalée. Les positions proches de la pièce en y obtiennent une quantité inhalée plus élevée par nébulisation en mode continu, alors que les positions plus éloignées bénéficient d'un effet spacer en mode intermittent. Malgré des quantités inhalées plus constantes en position A, la position D présente l'avantage de permettre une quantité expirée plus réduite, ce qui permet de diminuer le risque de contamination de l'air environnant le patient.

REMERCIEMENTS

Je tiens avant tout à remercier le Docteur Ermino Di Paolo et le Docteur Pierre Voirol pour leur soutien lors des moments les plus décevants et leurs précieux conseils tout en long de ce travail.

Je remercie le Professeur Farshid Sadeghipour, pharmacien-chef de la pharmacie centrale du CHUV, sans qui ce travail n'aurait pu être réalisé.

Je tiens également à remercier Dr. Lise Piquilloud, cheffe de clinique aux unités de soins intensifs adulte du CHUV, pour sa disponibilité et pour ses précieuses suggestions apportées au long de ce travail.

Je remercie également David Thévoz, physiothérapeute au service des soins intensifs adultes, pour m'avoir aidée, de par son expérience professionnelle, à interpréter le pourquoi de certaines difficultés auxquelles je me suis heurtée pendant ce travail.

Je remercie Thomas Mercier, ingénieur chimiste au laboratoire de pharmacologie clinique, qui a mis sur pied un protocole analytique LC-MS/MS pour la tobramycine et qui a effectué les nombreux dosages d'échantillons rapportés pour ce travail.

Je remercie les apprentis et les laborantines du service de Contrôle Qualité, en particulier à Brigitte pour sympathie, sa disponibilité et son soutien même si les résultats analytiques n'étaient pas ceux espérés

Je remercie le service de Fabrication de la Pharmacie centrale qui m'a concédé un espace dans leurs locaux pour l'imposant ventilateur qui a servi pour ce travail. Je remercie également les préparateurs en pharmacie, dont j'ai eu le plaisir de côtoyer, pour leur bonne humeur.

Je remercie mes « collègues » de l'assistance pharmaceutique pour les bons moments passés pendant ces quelques mois.

Je tiens également à remercier l'ensemble des collaborateurs du Service de Pharmacie du CHUV pour l'accueil qu'ils m'ont accordé.

Je remercie mes collègues de l'Université de Genève qui, tout comme moi, ont effectué leur travail de master à la Pharmacie centrale avec qui j'ai pu partager les bons moments et les difficultés tout au long de ce travail dans un contexte moins académique.

Malgré son jeune âge, je tiens à remercier mon fils, dont je suis très fière, pour sa patience (surtout en temps d'examen...) tout au long de mon parcours académique, car il n'est pas toujours aisé d'être mère et étudiante.

Finalement, j'aimerais dédier ce travail à mes grands-parents maternels et en particulier à mon grand-père décédé en avril dernier.

ABREVIATIONS

CMI	concentration minimale inhibitrice
C _p	concentration plasmatique
ECH	filtre échangeur de chaleur et d'humidité
E.I.	Effet indésirable
EMA	European Medicines Agency
FR	fréquence respiratoire
i.v.	Intraveineuse
MMAD	Mean mass aerodynamic diameter (= diamètre aérodynamique massique médian)
NIV ou VNI	non invasive ventilation ou ventilation non invasive
PA	principe actif
PEEP	Positive end-expiratory pressure (= pression expiratoire positive)
Ph. Eur.	Pharmacopée européenne
pMDI	pressurised metered dose inhaler (= inhalateur doseur pressurisé)
SI	Standard interne
SIP	Soins intensifs de pédiatrie
SMIA	Service de médecine intensive adulte
USI	Unité de soins intensifs
VAP	Ventilator-associated pneumonia (= pneumonie acquise sous ventilateur)
VM	Ventilation mécanique
V _T	Tidal volume (= volume courant) = volume d'air expiré à chaque respiration

TABLE DES MATIÈRES

1. INTRODUCTION	1
1.1 Physiologie du système respiratoire.....	1
1.2 Administration par voie pulmonaire	2
1.3 Propriétés physiques, pénétration et dépôt des aérosols	2
1.4 Nébuliseurs et aérosolthérapie	3
1.5 La ventilation mécanique	4
1.6 Pneumonie acquise sous ventilateur (VAP)	6
1.7 Pharmacologie de la tobramycine	7
1.8 Pratique clinique au SMIA et revue de la littérature.....	13
2. OBJECTIF DU TRAVAIL	13
3. MATÉRIEL ET MÉTHODE	14
3.1 Solution à nébuliser, ventilateur et nébuliseur	14
3.2 Quantités de tobramycine résiduelle et nébulisée	15
3.2.1 Nébulisation et prélèvement	15
3.2.2 Perméabilité des filtres.....	16
3.2.3 Méthode analytique.....	17
3.2.4 Traitement des résultats	17
4. RÉSULTATS	18
4.1 Quantités de tobramycine nébulisée	18
4.1.1 Validation de la perméabilité des filtres	18
4.1.2 Modèle in vitro de VM	18
4.2 Durée de la nébulisation	22
5. DISCUSSION	22
5.1 Quantités de tobramycine nébulisée	22
5.1.1 Validation de la perméabilité des filtres	22
5.1.2 Modèle in vitro de VM	23
5.2 Durée de la nébulisation	24

6. LIMITES DU TRAVAIL	25
6.1 Optimisation de la méthode de lavage des filtres	25
6.2 Interprétation du modèle	25
7. PERSPECTIVES D'AVENIR	26
8. CONCLUSION	27
9. RÉFÉRENCES	27
10. ANNEXES	30

1. INTRODUCTION

1.1 Physiologie du système respiratoire

Fonctions du système respiratoire

Le système respiratoire permet les échanges gazeux entre l'air ambiant et la circulation sanguine à travers trois composants fonctionnels : Les voies de conduction, les surfaces respiratoires et l'appareil ventilatoire. Ce sont les surfaces respiratoires qui sont responsables de ces échanges gazeux. Elles comprennent les bronchioles respiratoires, les canaux et sacs alvéolaires. L'appareil ventilatoire comprend les os et les muscles de la cage thoracique, du diaphragme et de l'abdomen, la plèvre, le tissu élastique des poumons, les centres respiratoires du tronc cérébral et des nerfs. Les voies de conduction comprennent la cavité nasale, les sinus du nez, le nasopharynx, l'oropharynx et le larynx (voies supérieures), ainsi que la trachée, les bronches et toutes leurs ramifications jusqu'aux bronchioles terminales (voies inférieures). En plus de leur fonction conductrice de l'air entre le milieu extérieur et l'appareil ventilatoire, les voies de conduction ont aussi comme fonction d'humidifier, de réchauffer et d'expulser les poussières et les micro-organismes présents dans l'air inhalé. (1)

Mécanismes de protection des voies respiratoires

Les voies respiratoires – d'une surface épithéliale de 70 à 150 m² – sont constamment en contact avec l'air ambiant, et donc avec les microorganismes véhiculés par l'air inhalé. Certains microorganismes inhalés sont pathogènes et peuvent induire une infection respiratoire. De plus, l'aspiration, dans le tractus respiratoire inférieur, de sécrétions oropharyngées contenant des microorganismes peut aussi être une source d'infection respiratoire. Néanmoins, les voies respiratoires inférieures sont habituellement stériles grâce aux mécanismes de défense de l'organisme (voir figure 1) et dû au fait que la flore bactérienne oropharyngée a une faible virulence. Les défenses pulmonaires comportent des barrières anatomiques et mécaniques, l'immunité humorale et cellulaire, la phagocytose et la réaction inflammatoire.(1)

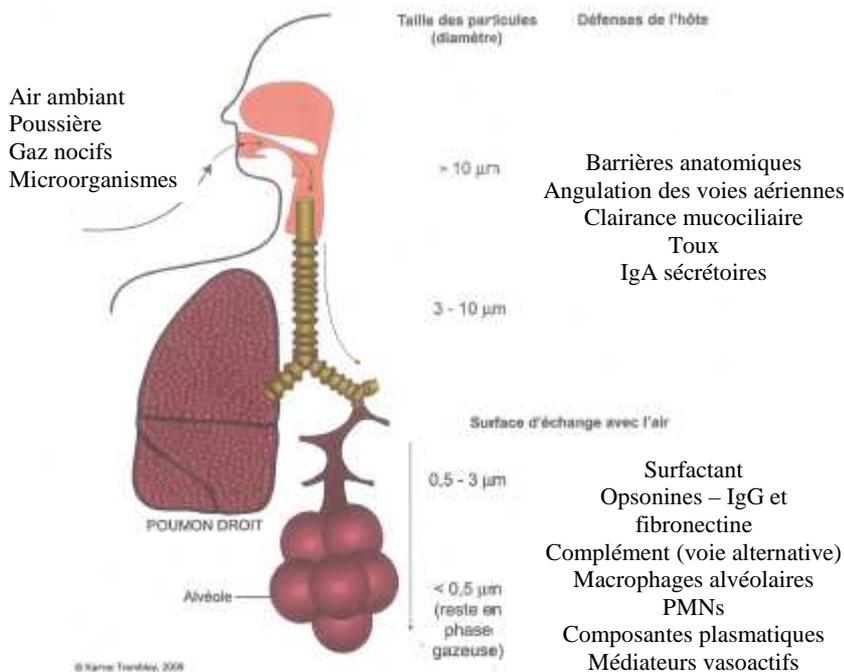


Figure 1: Mécanismes de protection des voies aérienne (1)

1.2 Administration par voie pulmonaire

Préparations pour inhalation : monographie de la Ph. Eur. 8

Les préparations pour inhalation sont des préparations liquides ou solides destinées à être administrées dans les poumons sous forme de vapeurs ou d'aérosols, en vue d'une action locale ou systémique.

Les préparations sont converties en aérosols à l'aide de nébuliseur ou d'inhalateur. Les préparations liquides pour nébulisation sont des solutions, suspension ou émulsions destinées à être converties en aérosols - sous l'effet de gaz sous haute pression ou de vibrations ultrasonique, ou par d'autres méthodes - au moyen de nébuliseurs.

Les nébuliseurs peuvent être autodéclenchés par l'inspiration ou mettre en œuvre d'autres techniques de synchronisation ou de modification du fonctionnement du nébuliseur avec la respiration du patient.

Avantages de l'administration par voie pulmonaire (2)

Comparativement à la voie parentérale, la voie pulmonaire présente certains avantages :

- Début d'action plus rapide qu'en administration intraveineuse (i.v.)
- Plus forte concentration de principe actif (PA) dans les poumons avec une moindre dose d'aérosol
- Réduction des effets indésirables (E.I.) dus au passage du PA dans la circulation systémique

Limitations de l'administration par voie pulmonaire

Les mécanismes de protection des voies aériennes constituent néanmoins une limitation à l'administration de médicaments. Comme le montre la figure 1, seul des particules d'un certain diamètre atteignent les alvéoles pulmonaires. Ce qui implique que la dose administrée ne correspond pas forcément à la dose déposée dans les poumons.

La granulométrie de l'aérosol est habituellement décrite par le diamètre aérodynamique massique médian (MMAD pour *mean mass aerodynamic diameter*). Les particules avec MMAD supérieur à 5 μm se déposent dans le circuit de ventilation, les particules de 3–5 μm dans les bronches proximales et les particules de 1–3 μm dans les alvéoles et bronchioles terminales, les particules inférieures à 1 μm étant en majeure partie exhalées. (3) Ainsi il convient de distinguer la fraction inhalable (pourcentage de charge du nébuliseur effectivement inhalée) de la fraction déposée (pourcentage d'aérosol atteignant les poumons).

1.3 Propriétés physiques, pénétration et dépôt des aérosols

Propriétés physiques des aérosols (4)

Comme indiqué dans le point précédent, la granulométrie joue un rôle important pour prédire la localisation du dépôt médicamenteux.

D'autres paramètres sont à prendre en considération. La densité des substances en suspension affecte leur masse et leur déplacement. Cette effet est peu important pour les aérosols formés de particules de taille inférieure à 0.2 μm , mais prend de plus en plus d'importance à partir de 0.5 μm pour les particules solides, puisque leur diamètre aérodynamique équivalent (D_{ae}) croît selon la racine carrée de la densité. Les aérosols liquides ne présentent pas de telles variations, puisque les gouttelettes de solutions qui les constituent ont des densités voisines de l'unité.(4)

L'hygroscopie est un paramètre important en VM et bien documenté. Les substances solubles dans l'eau forment des aérosols dont les particules sont hygroscopiques à des degrés variés. La croissance hygroscopique est d'autant plus rapide que les particules initiales sont plus fines. Ce phénomène induit des variations de densité et donc des variations de D_{ae} . (4)

Toutes les particules en suspension ont tendance à la coagulation (coalescence) lors de leur déplacement et de leur rencontre avec d'autres particules, aboutissant à des particules plus grosses au bout d'un temps plus ou moins long. Ce phénomène affecte très rapidement les particules fines de diamètre géométrique (D_g) inférieures à $0.1 \mu\text{m}$. Le phénomène de coagulation est d'autant plus important que, lors de leur production, les particules d'aérosol sont porteuses de charges électrostatique dues en grande partie aux frottements. Les particules de même signe contribuent à maintenir l'aérosol en suspension mais celles de signes opposés augmentent le phénomène de coalescence. (4)

1.4 Nébuliseurs et aérosolthérapie

La nébulisation est un procédé qui transforme un médicament, initialement sous forme liquide ou pulvérulente, en un aérosol médicamenteux au moyen de générateurs plus ou moins complexes.(4) Actuellement, il existe trois types de nébuliseurs : les nébuliseurs pneumatique, ultrasonique et à plaque vibrante.

Nébuliseurs pneumatiques

Les nébuliseurs pneumatiques sont les plus anciens. Une source de gaz comprimé est connectée au nébuliseur par un fin gicleur. Le liquide à nébuliser est aspiré dans le gicleur du nébuliseur, puis expulsé à vitesse élevée sous forme d'un jet composé de grosses et de petites gouttelettes : c'est la génération primaire ou atomisation. Ce jet de gouttelettes est ensuite brisé et/ou sélectionné sur une surface solide appelée déflecteur : c'est la génération secondaire. Les particules les plus grosses vont s'impacter sur les parois du nébuliseur, puis elles vont être recyclés en solution médicamenteuse. Les particules les plus fines vont sortir du nébuliseur. L'aérosol produit est directement transporté à l'extérieur du nébuliseur par le courant d'air provenant de la source de gaz comprimé. (4) La sélection par taille de l'aérosol fait que l'aérosol final n'est qu'une petite fraction de l'aérosol original produit par atomisation. (5)

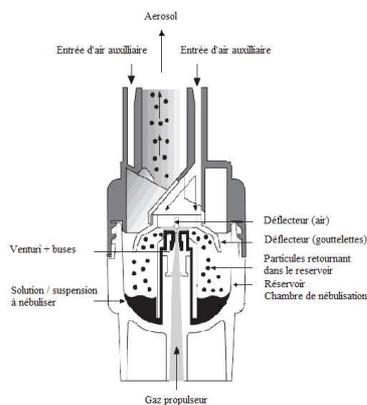


Figure 2: Nébuliseur pneumatique à double Venturi, Sidestream®, Profile Therapeutics, Royaume-Uni

Nébuliseurs ultrasoniques

Pour éviter le recours à une source d'air comprimé, la vibration à haute fréquence peut être utilisée comme mécanisme de formation de gouttelettes. Il existe plusieurs approches utilisées à cet égard. L'approche la plus ancienne s'appuie sur les vibrations d'un élément piézo-électrique immergée dans le liquide pour créer des ondes de pression qui se propagent à l'interface air-liquide. (5) Cette vibration transmise à la solution médicamenteuse crée en surface une colonne appelée fontaine de cavitation, d'où vont se détacher les particules formant l'aérosol. Les particules générées sont stockées dans la chambre de nébulisation et sont véhiculées vers le patient soit par l'air mobilisé par le patient, soit par une ventilation intégrée à l'appareil. (4)

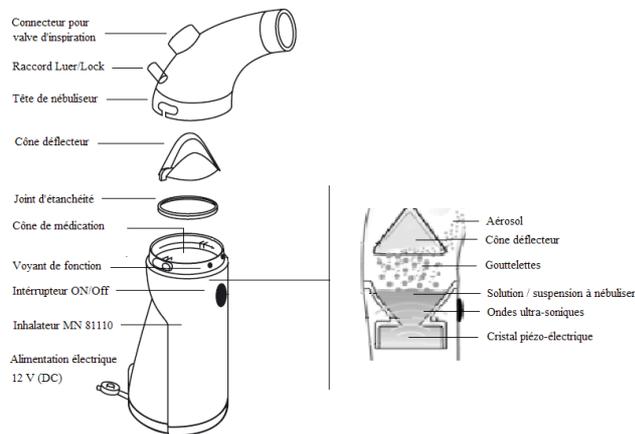


Figure 3: Nébuleuseur ultrasonique, Multisonic® Infra Control, Schill GmbH, Probstzella, Allemagne

Nébuleuseurs à plaque vibrante

Une autre approche également basée sur le principe de la vibration à haute fréquence consiste en l'extrusion de gouttelettes à travers une plaque mince, une membrane ou une grille avec de nombreux trous de taille micrométrique. (5) Le passage du liquide médicamenteux à travers la membrane transforme le liquide en gouttelettes d'aérosol de taille sensiblement équivalente à la taille des trous de la membrane. Ces nébuleuseurs ne provoquent pas de réchauffement du médicament. (4) Deux sous-catégories existent : une impliquant une vibration de la plaque et l'autre impliquant une oscillation forcée du fluide à travers un tamis stationnaire. La maille vibrante produit un aérosol à travers les orifices par micropompage. (5)

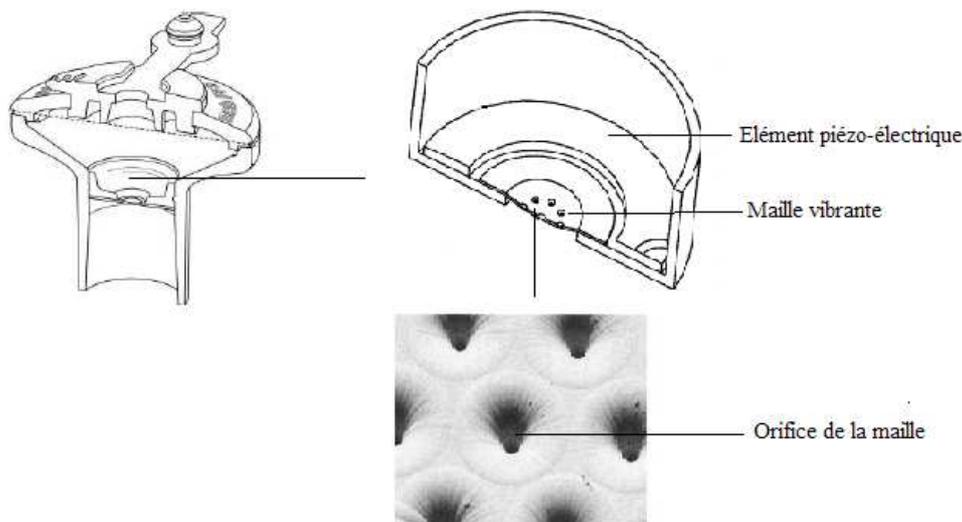


Figure 4: Aeroneb® Pro, Aerogen®, Galway, Ireland et vue microscopique de la maille vibrante

1.5 La ventilation mécanique

Principales indications de la VM

Les principales indications de la ventilation mécanique sont l'insuffisance ventilatoire, l'hyperventilation (pour contrôlé d'œdème cérébral), l'hypoxémie sévère, l'insuffisance circulatoire aigüe (choc), l'anesthésie générale ou de sédation/ analgésie importante. (6)

La ventilation non invasive (VNI) doit être utilisée comme première option afin d'éviter l'intubation endotrachéale. La VNI est utilisé lors de BPCO décompensée et lors de l'œdème pulmonaire hémodynamique. Il existe toutefois des contre-indications à la VNI : Le manque de complaisance du patient, l'altération de l'état mental, la présence de sécrétions abondantes avec difficulté à expectorer, l'état hémodynamique instable, des arythmies préoccupantes, un

risque important d'inhalation de contenu gastrique, l'épistaxis entraînant l'inhalation de sang et un traumatisme facial. (6)

L'intubation endotrachéale – procédure invasive – doit être considérée lors d'une tendance à l'hypercapnie et/ ou à l'hypoxémie ou s'il n'y a pas d'amélioration après une heure de VNI. Cette procédure permet d'ouvrir les voies aériennes en cas d'obturation, la protection des voies aériennes vis-à-vis de l'inhalation du contenu gastrique, la toilette bronchique et pour faciliter la ventilation mécanique. (6)

Facteurs influençant le dépôt pulmonaire en VM

En ventilation mécanique, le circuit de ventilation et la prothèse endotrachéale sont des facteurs à prendre en compte, car ils sont susceptibles d'influencer le dépôt pulmonaire. Inversement, la possibilité de contrôler chaque aspect de la ventilation (fréquence, volume courant, débit d'insufflation, rapport I/E du temps d'insufflation sur le temps d'expiration) peut contribuer à optimiser la nébulisation. (4)

Dans le cadre de la VM, un aérosol médicamenteux est un nuage de gouttelettes liquides ou de particules solides, dont le diamètre est suffisamment petit pour qu'elles restent en suspension dans le gaz inspiré. La pharmacocinétique d'un aérosol peut être approchée lors d'une modélisation *in vitro*, les deux déterminants essentiels étant la masse inhalée et la granulométrie (diamètre des particules). (4) La littérature démontre une corrélation entre les observations faites *in vitro* et *in vivo*, mais un strict contrôle du ventilateur est nécessaire et des conditions de nébulisation si la dose est importante pour l'évaluation de la réponse clinique (7) comme c'est le cas de la tobramycine, dont l'efficacité est concentration dépendante.

D'autres paramètres sont à prendre en compte pour évaluer la dose délivrée au patient. *In vitro*, la quantité d'aérosol délivrée est dépendante des dimensions du circuit de l'aérosol, du type de nébuliseur et des réglages du ventilateur. Les facteurs influençant l'aérosol délivré sont la vitesse du flux du ventilateur, le diamètre du tube endotrachéal et le temps d'inspiration. (8)

Le tube endotrachéal est la partie la plus étroite du système ventilatoire. C'est aussi la partie du système qui offre une plus grande résistance au débit d'air. (8)

La chute de pression à travers un tube endotrachéal augmente de façon exponentielle avec l'augmentation de débit, transformant un flux d'air laminaire en un flux d'air turbulent. (8)

La délivrance médicamenteuse aux poumons dépend aussi des facteurs qui influencent la vitesse de l'aérosol. Parmi ces facteurs, on peut énumérer le volume minute respiratoire (V_E), le ratio inspiration/ expiration (I:E ratio) et le diamètre du tube endotrachéal. (8)

La configuration pour un traitement optimal pour un patient consiste en un large diamètre du tube endotrachéal, un ratio I:E élevé et un flux inspiratoire bas. (8)

L'humidité joue un rôle important en VM. Hormis un auteur (3), il existe un consensus dans la littérature quant au fait que l'humidité présente dans le circuit ventilatoire diminue la quantité de médicament déposé dans les poumons, raison pour laquelle les humidificateurs chauffants doivent être éteints pendant la nébulisation et les filtres échangeurs de chaleur et d'humidité retirés. (8) (9)

Modes de ventilation

Il existe deux modes ventilatoires : un mode en volume contrôlé, qui délivre un débit fixe, et un mode en pression contrôlée. (10)

Dans le mode volume contrôlé, il est nécessaire de fixer certains paramètres du ventilateur comme le volume courant VT (compris entre 6 et 8 mL/kg de poids prédit), le débit d'insufflation, donné par la fréquence respiratoire, et le temps d'insufflation, donné par le rapport inspiration-expiration (rapport I : E). (10) Pour un adulte, le VT standard est de 500ml.

Dans le mode pression contrôlé, le ventilateur mesure à chaque instant la différence entre la pression dans les voies aériennes et la pression de consigne. Pour ce mode ventilatoire, le volume n'est pas contrôlé et dépend des caractéristiques mécaniques du patient.(10)

Filtre expiratoire

Un filtre à haut pouvoir de rétention, mis en fin de branche expiratoire permet de protéger le ventilateur et l'entourage en empêchant la contamination de l'environnement.(4) Cette protection est d'autant plus importante dans le cas de nébulisation d'antibiotiques dans la mesure où elle évite les contaminations croisées et l'apparition de souches résistantes.

Ce type de filtre est aussi utile pour éviter les dommages sur l'appareil de mesure du débit expiratoire causé par les particules expirées. Néanmoins en présence d'un grand nombre de particules expirées, la résistance expiratoire augmente avec une possible obstruction du filtre (11), ce qui peut induire un pic de pression dans les voies aériennes, voire un arrêt cardiaque.(12)

1.6 Pneumonie acquise sous ventilateur (VAP)

Définitions

Une pneumonie est une infection du poumon provoquée par une bactérie, un champignon ou un virus. La pneumonie franche lobaire aiguë, la plus fréquente et la plus grave, est due à l'infection du poumon par le pneumocoque et se traduit par une alvéolite. Les symptômes, d'apparition brutale, associent une fièvre élevée (39-40 °C), des frissons intenses et souvent une douleur thoracique augmentant à l'inspiration. (13)

Conceptuellement, la VAP est définie comme une inflammation du parenchyme pulmonaire causé par des agents infectieux absents ou en incubation au moment de l'instauration de la VM, mais il n'y a pas de consensus sur les critères de diagnostic de la VAP, qui ne sont pas standardisés.(9)

Incidence, mortalité, morbidité et coûts

La pneumonie est l'infection nosocomiale la plus fréquente en USI. L'incidence de pneumonie nosocomiale est considérablement plus fréquente chez les patients ventilés que chez les autres patients en USI. La VAP survient chez 9% à 27% des patients intubés avec une augmentation de l'incidence avec la durée de la ventilation. (9) Cette observation peut s'expliquer par le fait que le tube endotrachéal est une porte d'entrée de microorganismes potentiellement pathogènes (6), mais surtout une grande partie de la défense pulmonaire réside dans les différentes barrières physiques des voies aériennes supérieures (1), barrières qui sont contournées lors de l'intubation.

Parmi les patients sous VM, le taux de mortalité lié à la VAP est de 20% à 50%. Les patients sous ventilation mécanique atteints de VAP ont 2 à 10 fois plus de risque de mourir comparativement aux patients ne présentant pas de VAP. D'autres facteurs entrent en compte dans le taux de mortalité. En effet, le pronostic est plus défavorable chez les patients avec une maladie de sévérité intermédiaire, si le traitement initial est inadéquat et/ ou lorsque la VAP est causée par des pathogènes à haut risque, comme la *Pseudomonas aeruginosa*. (9)

Il n'est pas possible d'évaluer précisément la morbidité et l'augmentation des coûts associées à la VAP. Néanmoins, les études montrent clairement que la VAP prolonge la durée de la VM, ainsi que le séjour en USI (4 à 6 jours) et à l'hôpital. (9)

Bactéries responsables de la VAP

Les microorganismes responsables de la VAP varient selon la population de patients en USI et la durée du séjour en USI. Plusieurs études montrent que les bacilles gram-négatifs sont responsables de la plupart des VAP (58%), les bactéries prédominantes étant *P. aeruginosa* (24.4%) et *Acinetobacter* spp, suivi de *Proteus* spp, *E. Coli*, *Klebsiella* spp et *H. influenzae*.

Parmi les bactéries gram positives, *Staphylococcus aureus* est responsable de plus de 20% des cas d'infection (dont 55.7% de MRSA). Beaucoup de cas de VAP sont causées par de multiples pathogènes. L'infection par *S. Pneumoniae* et par des champignons est plus rare, 4.1% et 0.9% respectivement. (9) Dans la littérature, le principal germe cité est *P. aeruginosa*.

Utilisations d'antibiotiques : prophylaxie et traitement

P. aeruginosa est la bactérie la plus citée dans la littérature comme étant la responsable de la VAP. Les antibiotiques inhalés sont utilisés en traitement off-label pour la VAP. Parmi les antibiotiques les plus cités dans la littérature figurent les aminoglycosides (famille d'antibiotique dont fait parti la tobramycine), les polymyxins (famille d'antibiotique dont fait partie la colistine) et l'aztreonam. (14)

Au CHUV, les deux antibiotiques utilisés en aérosol chez les patients sous VM sont le Bramitob® (tobramycine) et la colistin® (colistine sous forme de colistiméthate sodique).

Environ 50% de tous les antibiotiques prescrits en USI sont administrés pour des infections du tractus respiratoire. (9)

Selon une méta-analyse, l'administration d'antibiotiques à but prophylactique dans les USI est associée à une diminution de la prévalence de pneumonie acquise en USI sans diminution de la mortalité. Par contre, cette stratégie préventive peut conduire à une augmentation de l'émergence de bactéries résistantes. (15) Les études utilisées pour cette méta-analyse incluent 8 études dont 6 qui incluent des patients sous VM, 2 sous VM et non VM et 1 sans VM.

D'autres auteurs précisent que l'administration prophylactique d'antibiotique durant les 8 premiers jours d'hospitalisation diminue le risque d'apparition précoce de VAP. Mais cet effet apparemment protecteur des antibiotiques disparaît au bout de 2 à 3 semaines, ce qui suggère qu'un risque élevé de VAP n'est pas à exclure à partir de ce moment-là, et donc le facteur de risque de VAP change avec le temps. (9)

Quant à l'utilisation d'antibiotiques à but curatif chez les patients atteints de VAP, une étude de cohorte rétrospective a comparé l'efficacité de l'utilisation d'antibiotiques d'appoint sous forme d'aérosol (adjunctive aerosolized antibiotics – AAA) avec un groupe de patients qui n'ont pas reçu d'AAA (NAAA). Cette étude a démontré que malgré une sévérité de la maladie plus grande et l'apparition de souches multirésistantes (MDR) chez les patients AAA, ceux-ci ont un taux de survie supérieur à 30 jours, comparativement au groupe NAAA.(16)

Néanmoins, cet effet protecteur des antibiotiques contre la VAP s'atténue avec le temps et l'incidence de pathogènes multirésistants varie largement d'une institution à l'autre. (9)

Effets indésirables

Le principal E.I. de l'administration d'antibiotique sous forme d'aérosol à des patients atteints de VAP est la broncoconstriction aiguë, surtout lorsqu'une préparation i.v. d'antibiotique est utilisée pour l'administration d'aérosol.(2) D'autres E.I. propre à certains antibiotiques peuvent survenir.

1.7 Pharmacologie de la tobramycine

Indications officielles de la tobramycine

Bien que l'utilisation de la tobramycine pour la prévention et le traitement de la VAP soit documentée ces dix dernières années, les études randomisées et contrôlées prouvant l'efficacité de l'administration d'antibiotiques sous forme d'aérosol sont rares et ont un échantillonnage très faible de patients. (17) De plus, la tobramycine inhalé n'est pas approuvée pour des patients non atteints de mucoviscidose ni par la Food and Drug Administration (FDA) ni par la European Medicines Agency (EMA), (2) ni par Swissmedic. Les antibiotiques inhalés sont des traitements off-label pour la VAP. (14) Néanmoins, selon une méta-analyse, la pharmacocinétique de la tobramycine ne diffère pas significativement

chez les patients atteints de mucoviscidose par rapport aux patients non atteints de mucoviscidose. (18)

Selon le Compendium, le Bramitob® est indiquée pour le traitement des infections pulmonaires chroniques à *Pseudomonas aeruginosa* chez les patients atteints de mucoviscidose dès l'âge de 6 ans (voir tableau 1). La dose recommandée chez l'adulte et l'enfant à partir de 6 ans correspond au contenu d'un récipient unidose (300 mg) deux fois par jour (matin et soir) pendant 28 jours. L'intervalle entre les doses devrait être, si possible, de 12 heures exactement et, en tous cas, pas inférieur à 6 heures.(19)

Tableau 1: Indications thérapeutiques de la tobramycine selon la voie d'administration (19)

Voie d'administration	Nom des spécialités	Indications thérapeutiques
Inhalation	BRAMITOB (75mg/ml) et TOBI (60mg/ml)	Traitement à long terme des patients âgés de 6 ans ou plus atteints de mucoviscidose et présentant une infection pulmonaire chronique due à <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .
Parentérale (i.v. ou i.m.)	OBRACIN (40mg/ml et 75mg/ml)	Infections des voies urinaires compliquées et récidivantes; infections des voies respiratoires inférieures y compris les pneumonies, les broncho-pneumonies et les bronchites; septicémie chez le nouveau-né, l'enfant et l'adulte; infections cutanées, osseuses et des parties molles y compris les brûlures; infections du tractus gastro-intestinal, péritonites; infections du SNC dues à des germes résistants aux autres antibiotiques (nécessité d'une administration intrathécale).
Ophthalmique	TOBREX (3mg/ml et 3mg/g) et TOBRADEX (3mg tobramycine + 1mg dexaméthasone)	Infections du segment antérieur de l'œil et de ses annexes, provoquées par des bactéries sensibles à la tobramycine, p. ex.: kérato-conjonctivite, kératite, dacryocystite, ulcère cornéen, conjonctivite, blépharite, blépharo-conjonctivite.

Caractérisation physico-chimique de la tobramycine

La tobramycine (figure 5) est un antibiotique de la famille des aminoglycosides (ou aminosides) découverte en 1967 et obtenue à partir de la culture de *Streptomyces tenebrarius* (20).

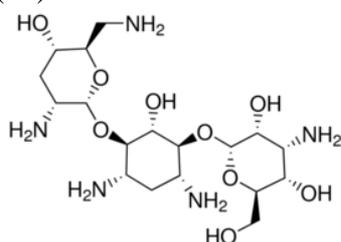


Figure 5: Formule développée de la tobramycine

Comme l'indique le tableau 2, les aminosides sont des molécules hydrosolubles, stables à température ambiante. Leur activité antibactérienne est inhibée en milieu acide, en anaérobiose et en présence de pus. (20) Le transport des aminoglycosides à travers la membrane cytoplasmique bactérienne dépend du transport d'électrons. Cette phase du transport, appelée « energy-dependent phase I » (EDP₁), est l'étape limitante de la vitesse et peut être bloquée ou inhibée par des cations bivalents, l'hyperosmolarité, un pH réduit ou

des conditions anaérobiques. (21) Comme l'indique le tableau 3, le pH des spécialités utilisés en inhalation varie sensiblement selon la spécialité.

Tableau 2: Caractéristiques physico-chimiques de la tobramycine

Poids moléculaire	467.51448 g/mol (22)
Formule moléculaire	C ₁₈ H ₃₇ N ₅ O ₉ (22)
LogP expérimental	-5.8 (22)
Solubilité	Soluble dans l'eau (1000 mg/ml), substance hygroscopique (22) Très légèrement soluble dans l'éthanol, pratiquement insoluble dans le chloroforme et l'éther (23)
pH	Basique (22)
pKa	9.83 et 12.54 (24)
[α] _D ²⁰	+ 129° (23)

Tableau 3: pH et osmolarité de deux solutions pour inhalation de tobramycine

	pH (25)	Osmolarité [mOsmol/kg] (25)	Excipients (19)
BRAMITOB®	5.38 ± 0.03	244.0 ± 1.0	NaCl, acide sulfurique, NaOH, eau pour solution (qsp 4 ml)
TOBI®	6.09 ± 0.02	171.0 ± 1.5	NaCl, eau pour solution (qsp 5 ml)

Mécanisme d'action de la tobramycine

En se liant à la sous-unité 30S du ribosome, les aminoglycosides inhibent la synthèse de protéines, déployant leur potentiel bactéricide en 1-2h. La tobramycine se lie à plusieurs sites de la sous-unité 30S (cible primaire des aminosides), ainsi qu'à la sous-unité 50S du ribosome. Ces ancrages produisent une déformation du ribosome, ce qui perturbe la phase d'initiation de la synthèse protéique. Les aminosides induisent également des erreurs de lecture de l'ARN messager, qui entraînent des substitutions d'acides aminés. De plus, en diminuant l'AMP cyclique intracellulaire, les aminosides peuvent interférer avec le transport énergétique membranaire. (20) Les protéines aberrantes ainsi produites peuvent être insérées dans la membrane cellulaire, résultant en une perméabilité altérée et la stimulation du transport aminoglycodiques. (21)

L'action bactéricide des aminoglycosides est concentration dépendante : les bactéries sont plus efficacement tuées à des concentrations élevées. Les aminoglycosides ont la particularité d'avoir un effet post-antibiotique, c'est-à-dire qu'une activité résiduelle bactéricide se maintient même si la Cp est inférieure à la CMI. (21)

Efficacité de la tobramycine

Selon la littérature, pour les patients atteints de mucoviscidose, la dose optimale est de 11 mg/kg toutes les 24 heures en administration intraveineuse. (18) Le compendium indique que, chez les patients atteints de mucoviscidose, les propriétés pharmacocinétiques de la tobramycine peuvent être altérées et il peut être nécessaire de porter la dose à 8 à 10 mg/kg par jour afin d'atteindre des concentrations sériques thérapeutiques. (19)

Pour les patients non atteints de mucoviscidose, la posologie habituelle est de 5-7 mg/kg/jour en i.v. avec adaptation de l'intervalle d'administration en cas d'insuffisance rénale.(26)
Comme indiqué précédemment (1.2 Administration par voie pulmonaire), la voie inhalée présente l'avantage de pouvoir obtenir une concentration supérieure dans le poumon et une moindre concentration systémique par rapport à la voie parentérale, ce qui est confirmé dans le tableau 4 pour la tobramycine.(27)

Tableau 4: Concentrations de tobramycine dans le sérum et dans l'expectoration selon la voie d'administration. * moyenne ± erreur type (27)

Patient n°	Voie	Dose	Nébuliseur	Cmax moyen (sérum), µg/mL	Cmax moyen (expectorations), µg/g
10	IV	6–10.8 mg/kg/j	aucun	7.5	82
61	Aérosol	300 mg	PARI LC	0.58 ± 0.38*	666
61	Aérosol	300 mg	Sidestream	0.74 ± 0.43*	480
247	Aérosol	300 mg	PARI LC PLUS	1.01 ± 0.57*	1199.2

Pour les solutions pour inhalation, la dose d'aérosol peut être déterminée de plusieurs manières. Celle-ci peut être trouvée en additionnant la dose intraveineuse avec la déposition extra-pulmonaire. Selon une autre stratégie la « meilleure » dose d'aérosol est définie comme étant la dose fournissant les concentrations systémiques dans l'intervalle de celles obtenues après administration intraveineuse, mais cette stratégie est plus difficile à implémenter en pratique clinique (9). Le Compendium recommande 300mg 2x/j d'inhalation pendant 15 minutes pour les patients atteints de mucoviscidose.(19)

CMI

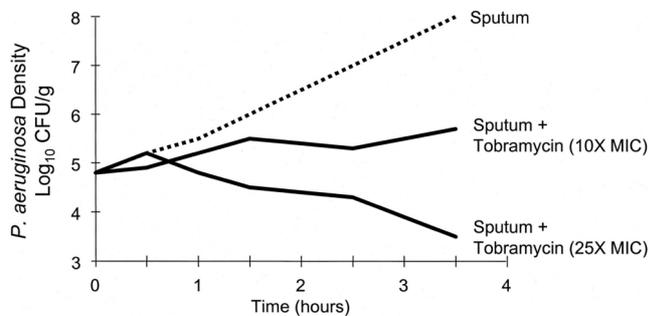
La tobramycine présente l'avantage d'avoir une CMI basse pour la plupart des germes impliqués dans la VAP (voir tableau 5).

Tableau 5: CMI d'antibiotiques selon différentes bactéries (21)

SPECIES	MIC ₉₀ µg/ml				
	KANAMYCIN	GENTAMICIN	NETILMICIN	TOBRAMYCIN	AMIKACIN
<i>Citrobacter freundii</i>	8	0.5	0.25	0.5	1
<i>Enterobacter spp.</i>	4	0.5	0.25	0.5	1
<i>Escherichia coli</i>	16	0.5	0.25	0.5	1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	32	0.5	0.25	1	1
<i>Proteus mirabilis</i>	8	4	4	0.5	2
<i>Providencia stuartii</i>	128	8	16	4	2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	>128	8	32	4	2
<i>Serratia spp.</i>	>64	4	16	16	8
<i>Enterococcus faecalis</i>	—	32	2	32	≥64
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	0.5	0.25	0.25	16

Adapted with permission from Wiedemann B, Atkinson BA. Susceptibility to antibiotics: Species incidence and trends. In: *Antibiotics in Laboratory Medicine*, 3rd ed. (Lorian V, ed.), Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, 1991, pp. 962–1208.)

Plusieurs études démontrent que la réponse clinique aux aminosides est meilleure si les concentrations sériques sont beaucoup plus élevées que la CMI de l'antibiotique contre la bactérie impliquée (20) (voir figure 6), la CMI variant selon la sensibilité de la bactérie en question (voir tableau 6).



Adapted from Mendelman PM, Smith AL, Levy J, et al. Am Rev Respir Dis 1985;132:761-765

Figure 6: activité inhibitrice de la tobramycine *in vitro* dans l'expectoration. CFU colony-forming units (27)

Tableau 6: Sensibilité bactérienne à la tobramycine selon la CMI (27)

Catégories de sensibilité	CMI de Tobramycine <i>In Vitro</i> , µg/mL
Sensible	≤ 4
Intermédiaire	8
Résistant	≥ 16

Mécanismes de résistance

Plusieurs mécanismes de résistance sont connus (voir tableau 7). En ce qui concerne les aminosides, il existe trois grands mécanismes de résistance : un défaut de perméabilité au niveau de la membrane externe et/ou cytoplasmique ; une altération de la cible (peu important pour la tobramycine) et la modification enzymatique de l'antibiotique. Cette dernière est la forme de résistance la plus commune pour les aminosides.(6)

Tableau 7: Exemples de mécanismes de résistance aux antibiotiques (27)

Mécanisme de résistance	Exemples
Inactivation enzymatique	Aminoglycoside transférases and β-lactamases
Altération de la cible	Penicillin-binding proteins et dihydrofolate réductase
Limitation d'accès	Pompe à efflux et diminution de la prise du médicament

Fréquence d'administration

Si l'on compare la cinétique des aminoglycosides (voir figure 7), on remarque que le traitement à haute dose induit des C_{max} très élevées et une période de plusieurs heures (± 16h) où les concentrations sériques sont au-dessus de la CMI. Cependant, environ 8h après l'administration du médicament, les concentrations sériques sont en dessous de la CMI. L'effet post-antibiotique (± 10h) compense cette période subthérapeutique. Si l'on donne l'antibiotique toutes les 8h, les C_{max} sont plus faibles, mais les périodes subthérapeutiques sont courtes ou inexistantes. (20) Donc en administrant la tobramycine toutes les 8h, il y a un risque accru de sélection de souches résistantes puisque les C_{max} sont plus faibles.

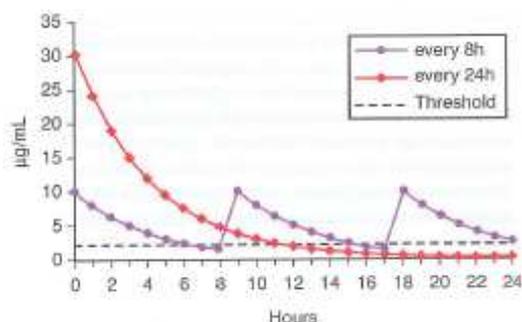


Figure 7: Cp après l'administration i.v. de 5.1 mg/kg de gentamicine. Le seuil de toxicité correspond à 2µg/mL (21)

En termes de toxicité, la capture d'aminoglycosides dans le cortex rénal et au niveau de l'oreille interne est saturable. Des doses moins élevés mais administrées plusieurs fois par jour (traitement conventionnel) sont possiblement plus dommageables que des doses très élevés mais d'administration moins fréquente d'aminoside. (20)

L'élimination nette d'aminoglycosides dans l'oreille interne et dans les reins a lieu plus lentement quand les Cp sont relativement élevés. (21)

De plus la tobramycine est un antibiotique dont l'efficacité dépend de la concentration du médicament. L'avantage des antibiotiques concentration-dépendants est qu'une fréquence de nébulisation moindre permet d'obtenir des concentrations élevées dans le tissu pulmonaire afin d'atteindre l'effet bactéricide sur le site d'infection pour une période de 12 à 14 heures. L'effet post-antibiotique prévient une nouvelle croissance bactérienne, même si la concentration d'antibiotique dans le tissu pulmonaire est inférieure à la CMI. Après plusieurs nébulisations quotidiennes d'aminoglycosides, l'accumulation tissulaire n'est pas dépendante du temps. (9)

E.I. de la tobramycine

Les aminoglycosides ont une marge thérapeutique étroite. Des concentrations élevées ne sont trouvées que dans le cortex rénal et l'endolymph et la périlymphe de l'oreille interne. (21)

L'ototoxicité et la néphrotoxicité sont liées à des C_{min} élevées d'aminoglycosides (28), le seuil de toxicité pour la tobramycine étant de 2.0 µg/ml (29).

Bien que la tobramycine inhalée (300mg, 2x/j) soit sûre en routine, il se peut qu'une dysfonction rénale ou un patient sous ventilation à pression positive atteigne des Cp toxiques. (29) La seule voie d'excrétion des aminosides étant la filtration glomérulaire, en cas d'insuffisance rénale, il est nécessaire d'adapter la dose et/ou l'intervalle entre les doses selon la clairance à la créatinine comme indiqué dans le tableau 8 (20), car chez les patients anuriques, la demi-vie varie de 20 à 40 fois celle d'un individu avec une fonction rénale normale. (21) L'excrétion des aminoglycosides est similaire chez les adultes et chez les enfants de plus de 6 mois. (21)

Tableau 8: Réduction des doses (21) et de changement de l'intervalle d'administration (20) d'aminoglycosides selon la clairance à la créatinine

Clairance à la créatinine (ml/min)	% de la dose journalière maximale	Fréquence de dosage	Clairance à la créatinine (ml/min.)	Dose (mg/kg)	Intervalle (h)
100	100	24h	> 60	7	24
75	75		40-59	7	36
50	50		20-39	7	48
25	25	48h			
20	80				
10	60				
<10	40				

La néphrotoxicité est généralement réversible, mais peut évoluer en insuffisance rénale aiguë. L'ototoxicité cochléaire ou vestibulaire a lieu surtout en cas d'administration prolongée (> 2 semaines), chez les patients en insuffisance rénale et en association avec d'autres agents ototoxiques comme le furosémide. (6) Contrairement à la néphrotoxicité, l'ototoxicité de la tobramycine est irréversible.(28)

Les aminoglycosides doivent être utilisés avec prudence chez les patients avec un trouble neuromusculaire, telles que la myasthénie ou le syndrome parkinsonien, puisque ces médicaments peuvent aggraver la faiblesse musculaire en raison de leur potentiel pour produire un blocage neuromusculaire. Si des signes de paralysie respiratoire surviennent

pendant le traitement des aminoglycosides, la respiration doit être assistée et la prise du médicament doit être arrêtée. (28)

Selon les indications du CHUV, les intervalles thérapeutiques varient selon le mode d'administration (voir tableau 9). Une concentration plasmatique résiduelle (C_{\min}) et/ou un pic de concentration plasmatique (C_{\max}) excessives sont des indicateurs de potentielle toxicité systémique. (30)

Tableau 9: Intervalles thérapeutiques recommandés au CHUV (26)

Administration	Résiduel (C_{\min})	Pic (C_{\max})
Traditionnelle	≤ 1 (2) mg/l	6 – 8 mg/l
Journalière unique	≤ 0.5 mg/l	20 – 25 mg/l
Mucoviscidose	≤ 1 (2) mg/l	25 – 30 mg/l

1.8 Pratique clinique au SMIA et revue de la littérature

Au SMIA, le système Aeroneb Solo est utilisé chez les patients intubés, les patients trachéotomisés et les patients en respiration spontanée.

Actuellement, en cas de VAP, la pratique clinique au SMIA consiste à nébuliser 300mg de tobramycine (Bramitob[®]) en mode de nébulisation continue avec le nébuliseur Aeroneb Solo placé à 15cm de la pièce en y. Le contenu d'un récipient unidose est administré pendant environ 15 minutes. La dose est de 300mg 2x/j.

Dans la littérature, trois études utilisant un nébuliseur à plaque vibrante (31)(32)(33) comparent la quantité inhalée de principes actifs autres que la tobramycine selon la localisation du nébuliseur, mais aucune études n'a été élaborée spécifiquement pour la tobramycine. Parmi ces trois études, la quantité inhalée est supérieure lorsque le nébuliseur est positionné proche du ventilateur.

2. Objectif du travail

L'objectif de ce travail consiste à déterminer, dans un modèle *in vitro* simulant les conditions réelles d'utilisation en soins intensifs adultes, le pourcentage de la dose initiale de tobramycine qui est inhalé.

Cinq localisations d'un nébuliseur Aeroneb Solo sont testées en mode de nébulisation continu et intermittent (pendant la phase d'inspiration).

Pour chacune des positions, la quantité de tobramycine inhalée après 15 minutes de nébulisation est récoltée par un filtre (« filtre inspiratoire ») et son contenu est dosé par LC-MS/MS.

Les pourcentages de tobramycine inhalée dans les cinq positions en mode continu et intermittent sont comparés entre eux afin de déterminer le montage le plus performant.

Pour chaque position, les quantités relatives de principe actif expirées récoltées par un second filtre (« filtre expiratoire ») sont également obtenues par dosage, ainsi que les quantités de principe actif non nébulisées (quantité résiduelle).

Connaitre la dose inhalée d'antibiotique permet de déterminer les paramètres influençant l'efficacité du système, afin d'optimiser la délivrance médicamenteuse.

3. MATERIEL ET METHODE : MODELE *IN VITRO*

3.1 Solution à nébuliser, ventilateur et nébuliseur

Solution à nébuliser

Parmi les deux solutions pour inhalations présentes sur le marché suisse, le SMIA utilise le Bramitob® (Tobramycine, Vifor SA, Suisse, lot 610614), 300mg/4mL (75mg/mL), composé de NaCl, acide sulfurique et NaOH (pour ajuster le pH), eau.

Modèle du ventilateur (adulte et pédiatrique)

Le ventilateur utilisé au SMIA est le Servo-i® (Maquet Critical Care AB, Solna, Suède). Le ventilateur a été réglé selon les spécifications présentées dans le tableau 10.

Tableau 10: Paramètres du ventilateur (validé par Dr. Lise Piquilloud, cheffe de clinique aux unités de soins intensifs adulte du CHUV)

	Modèle adulte
Volume courant V_T [ml]	500
Fréquence respiratoire FR [respirations/ min.]	15
Ratio I:E	1:2
PEEP [cm H ₂ O]	5
FiO ₂	21%
Volume	constant
Débit	carré

Nébuliseur utilisé

Le nébuliseur utilisé au SMIA est le nébuliseur à plaque vibrante Aeroneb Solo (Aerogen, Galway, Ireland, n° de lot 150126) à usage patient unique. Les mesures sont effectuées sur cinq appareils différents issus du même lot.

Filtres antibactériens et antiviraux

Le filtre antibactérien utilisé au SMIA est le filtre Clear-guard midi, 1644000, Intersurgical, United Kingdom, lot 2131637 et 2142883.

Le filtre Respirgard II, 303, Vital Signs Colorado, Inc., Englewood CO, USA, lot 4420L a également été testé car de précédentes études ont déjà été menées avec ce filtre.

Tube endotrachéal (ETT)

Tube endotrachéal adulte TaperGuard Evac œil de Murphy Mallinckrodt (Covidien, Mansfield, USA, lot 14D0094JZX). Diamètre interne : 7.0 mm

Humidificateur et circuit respiratoire

Le système F&P 850 utilisé au SMIA (voir figure 8) est composé d'un humidificateur chauffant MR850 et d'une chambre à remplissage automatique MR290 et d'un Kit de circuit respiratoire chauffé à deux branches pour adultes RT200 (Fisher & Paykel Healthcare, New Zealand, USA, lot 1410060301). La branche inspiratoire est composée d'un tuyau de 55cm (avant humidificateur) et de 160cm (après humidificateur). La branche expiratoire est composée d'un tuyau de 160cm. Les tuyaux ont un diamètre de 22cm.



Figure 8: système d'humidificateur chauffant MR 850

Rallonges

Rallonge de 15 cm, connexions 22 flex-22 flex DAR pour le circuit respiratoire adulte (Covidien, Mansfield, USA, lot 141000732X) pour la position C et D.

Ballon test

Poumon test Maquet avec un ballon ventilatoire de 2L – 121 C.



Figure 9: Photographie du montage général

3.2 Quantités de tobramycine résiduelle et nébulisée

3.2.1 Nébulisation et prélèvement

Le modèle *in vitro* de VM employé pour la détermination de la distribution des aérosols de tobramycine dans le circuit est présenté dans la figure 10.

Ce modèle se base sur un montage utilisant des filtres pour récolter les quantités inhalées et expirées pendant la nébulisation de principe actifs.(34) Un filtre Respirguard (« filtre inspiratoire ») a été inséré entre le tube endotrachéal et un poumon test Maquet avec un ballon ventilatoire de 2L – 121 C. Un deuxième filtre Respirguard (« filtre expiratoire ») a été fixé entre le tuyau expiratoire et la pièce en Y. Le filtre Respirguard a été choisi car l'extraction est efficace avec la tobramycine et qu'il a déjà utiliser lors de précédentes études.

Pour la position C, le nébuliseur se trouve à 15cm de la pièce en Y (utilisation d'une rallonge) et pour la position D, le nébuliseur de trouve à 45cm de la pièce en Y (utilisation de deux rallonges raccordées entre elles). Chaque position est testée en mode continu et intermittent (nébulisation pendant l'inspiration) pendant 15 minutes.

Afin d'éviter une possible interférence de l'humidification du circuit, les nébulisations sont faites sans avoir recours à l'humidificateur.

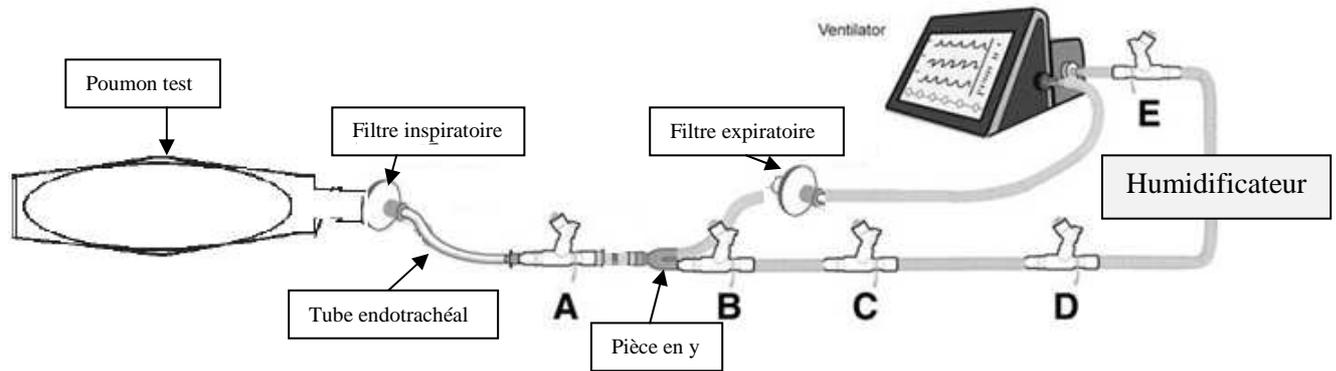


Figure 10: Schéma du circuit ventilatoire (adapté de Dugernier et al., 2014). Le filtre expiratoire est directement lié à la pièce en Y.

La quantité de solution résiduelle correspond à la masse de la solution contenue dans le nébuliseur (tête de l'Aéroneb) après 15 minutes de nébulisation.

La quantité de tobramycine inhalée correspond à la quantité de tobramycine récoltée dans le filtre inspiratoire et la quantité expirée correspond à la quantité récoltée dans le filtre expiratoire. Les quantités inspirées et expirées sont exprimées en pourcentage par rapport à la masse initiale de Bramitob contenue dans le nébuliseur.

Le nébuliseur a été pesé vide, rempli avec le contenu d'une ampoule de Bramitob et après nébulisation avec une balance analytique Mettler Toledo, afin de connaître la quantité résiduelle après nébulisation.

La quantité déposée dans le circuit respiratoire a été calculé en soustrayant la quantité de tobramycine dans le nébuliseur avant nébulisation (100%) de la quantité récoltée dans les filtres inspiratoire, expiratoire et la quantité résiduelle après nébulisation.

La validation et la méthode de l'extraction de la tobramycine contenue dans les filtres après nébulisation figure en annexe 3. La quantité résiduelle de tobramycine contenue dans le nébuliseur est récoltée par lavage de la tête Aéroneb avec 5ml d'eau déminéralisée conforme au protocole de lavage utilisé par le SMIA.

3.2.2 Perméabilité des filtres

Le nébuliseur Aeroneb Solo® est placé à la fin de la branche inspiratoire, suivi d'un filtre Respiriguard et par la pièce en y. Le flux de l'aérosol est alimenté par le ventilateur Servo-i qui délivre 60 L/min. d'air comprimé avec 21% d'oxygène.

Le circuit respiratoire est humidifié à 36.5°C, puis l'humidificateur est éteint. Après 10 minutes d'attente, le contenu d'une solution unidose (4ml) de tobramycine à 75mg/mL (Bramitob®) est versé dans la tête Aeroneb et la nébulisation en mode continu est enclenchée. La durée de nébulisation est considérée comme le temps nécessaire pour qu'il n'y ait plus de nébulisation visible à œil nu. La nébulisation est arrêtée trente secondes après la fin de la durée de nébulisation.

Après nébulisation, le contenu des filtres (n = 5) est extrait et la quantité de tobramycine est dosée par LC-MS/MS. La même procédure est répétée avec le filtre Clear-guard midi® (lot n° 2142883) (voir annexe 4)

L'influence de l'humidification préalable du circuit est testée avec un filtre échangeur de chaleur humidité (HME), afin de vérifier si l'humidité contenue dans le circuit est retenue par les filtres.

Dans une première phase, le filtre HME est mis en absence de filtres Respirguard avec et sans humidification préalable du circuit. Dans une deuxième phase, le filtre HME est mis entre deux filtres Respirguard positionnés en série et le tube endotrachéal (voir figure 11) avec et sans humidification préalable du circuit.

Le circuit ventilatoire est enclenché pendant 15 minutes sans nébulisation. Les critères testés sont l'utilisation de l'humidificateur et la présence de deux filtres Respirguard en série (voir annexe 5).



Figure 11: Montage pour le test d'humidification

3.2.3 Méthode analytique

Une première méthode spectrophotométrique UV a été testée. Comme la tobramycine est un composé qui absorbe peu dans le domaine UV et visible, une méthode spectrophotométrique indirecte a été testée avec un réactif contenant 1mg/ml d'o-phthaldialdéhyde (OPA, Phthaldialdehyde reagent, complete solution, Sigma-Aldriche, USA, réf. P0532, lot) comme agents de dérivatisation. Les conditions expérimentales décrites dans la littérature ont été reproduites. (35)

Après plusieurs expériences, l'absorbance du complexe tobramycine : réactif se maintient proche de l'absorbance du réactif seul (voir annexe 6), malgré d'importantes différences de concentration de tobramycine.

Cette situation s'est maintenue même en évitant tout contact de la tobramycine avec le verre, dont la tobramycine est connue pour s'y adsorber.(36)

Le pH du complexe a été contrôlé et se trouvait proche de 10.5, cette valeur étant considérée comme celle où l'absorbance du complexe est la plus élevée.(35)

C'est pour ces raisons que cette méthode de dosage par UV a été abandonnée, en faveur d'une méthode de dosage par LC-MS/MS plus précise et fiable. Le protocole LC-MS/MS fournit par le laboratoire de pharmacologie clinique du CHUV est décrit en annexe 7. La limite inférieure de quantification (LOQ) par LC-MS/MS est de 50ng/ml (voir droite de calibration en annexe 7).

3.2.4 Traitement des résultats

Le traitement statistique des résultats est obtenu à l'aide du logiciel InStat 3.0 (GraphPad Software) avec répétition de mesures ANOVA et traitement post-test selon la méthode Student-Newman-Keuls.

4. RÉSULTATS

4.1 Quantité de tobramycine nébulisée

4.1.1 Validation de la perméabilité des filtres

Après nébulisation d'une ampoule unidose de Bramitob® à 75mg/ml (304.6mg), les filtres Respirguard et Clear-guard Midi contenaient 231.7 ± 92.1 mg/ml et 266.6 ± 64.9 mg/ml de tobramycine respectivement.

Lors de la nébulisation avec le filtre Clear-guard Midi, sur 2 des 5 expériences, le débit carré est passé à un débit en pointe, avec un volume minutes expiré (V Me) bas de 4.2 l/min et 3.9 l/min respectivement pour la première et deuxième expérience.

Le test d'humidification indique qu'avec l'humidification préalable du circuit, la rétention du filtre HME passe de 0.59% à 0.66% en ajoutant deux filtres Respirguard en série.

La rétention de l'humidité par des filtres primaires et secondaires est de 0.01% en présence ou absence d'humidification préalable du circuit.

4.1.2 Modèle *in vitro* de VM

La distribution du contenu des ampoules de Bramitob nébulisé est indiquée dans le tableau 11. La position A correspond à celle où le nébuliseur est après la pièce en y. Dans la position B, le nébuliseur se trouve avant la pièce en y, la position C inclut une rallonge de 15cm, la position D deux rallonges d'une longueur totale de 45cm et pour la position E, le nébuliseur se trouve proche du ventilateur, au début de la branche inspiratoire.

A partir de la position D, la quantité résiduelle de Bramitob a augmenté de façon significative, indiquant un problème de performance généralisé pour tous les nébuliseurs. C'est pour cette raison que les nébuliseurs ont été échangés par cinq nébuliseurs neufs en mode intermittent pour les positions D et E et que les données issues du tableau 11 correspondent à la distribution de la tobramycine dans le circuit de ventilation pour la deuxième série de nébulisation (voir discussion).

Tableau 11: Distribution de la tobramycine dans le circuit de ventilation

Position du nébuliseur	Mode de nébulisation	Quantité inhalée (%) ^{1 2}	Quantité expirée (%) ^{1 2}	Quantité résiduelle (%) ^{1 2}	Dépôt dans le circuit (%) ^{1 2}
A	Intermittent	34.3 ± 1.7 (5.0)	38.5 ± 4.3 (11.3)	6.1 ± 5.4 (89.0)	21.2 ± 4.4 (20.9)
	Continue	39.5 ± 2.8 (7.0)	40.8 ± 4.1 (10.1)	4.4 ± 4.0 (91.1)	15.3 ± 6.0 (39.1)
B	Intermittent	13.3 ± 1.6 (12.1)	35.1 ± 3.4 (9.8)	1.6 ± 0.8 (51.2)	50.0 ± 4.9 (9.9)
	Continue	18.2 ± 7.2 (39.7)	28.0 ± 6.5 (23.3)	1.8 ± 0.3 (19.0)	52.0 ± 10.1 (19.3)
C	Intermittent	23.3 ± 8.3 (35.4)	14.8 ± 4.6 (30.9)	3.1 ± 2.2 (72.0)	58.8 ± 9.2 (15.7)
	Continue	21.4 ± 7.1 (33.4)	19.5 ± 4.0 (20.4)	4.6 ± 5.3 (115.5)	54.5 ± 12.2 (22.4)
D	Intermittent	36.3 ± 14.2 (39.0)	10.1 ± 1.1 (11.3)	2.9 ± 2.6 (90.5)	50.7 ± 12.0 (23.8)
	Continue	33.5 ± 10.6 (31.7)	11.1 ± 1.5 (13.8)	19.1 ± 11.1 (58.2)	36.3 ± 8.7 (23.9)
E	Intermittent	17.4 ± 2.5 (14.5)	9.4 ± 1.2 (12.4)	1.6 ± 1.1 (71.9)	71.7 ± 2.8 (3.8)
	Continue	10.16 ± 4.5 (44.9)	4.6 ± 2.2 (16.9)	31.0 ± 33.9 (109.3)	54.3 ± 28.5 (52.5)

1 Moyenne ± écart-type (n = 5) ; 2 Entre parenthèses, le CV exprimé en %

Nébulisation en mode intermittent

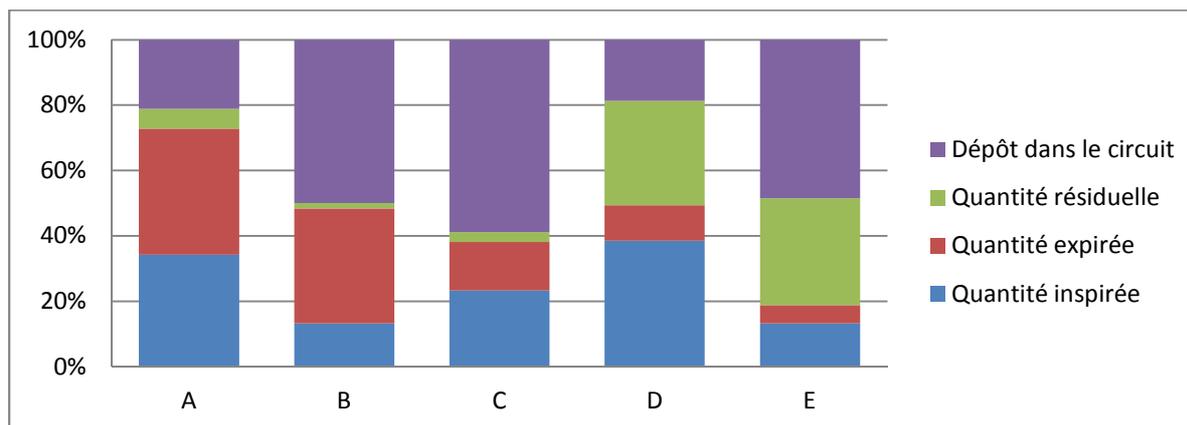


Figure 12: Répartition de la tobramycine lors de la nébulisation en mode intermittent (première série de nébulisations)

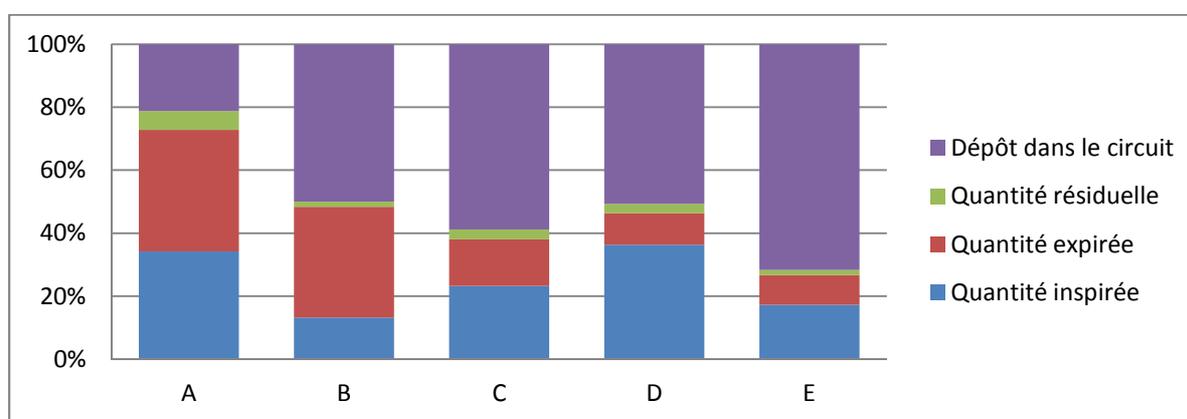


Figure 13 : Répartition de la tobramycine lors de la nébulisation en mode intermittent (données des positions D et E issues de la deuxième série de nébulisations)

Tableau 12: Différences entre les positions du nébuliseur en mode intermittent: ANOVA et test de comparaison Student-Newman-Keuls. Première série de nébulisations

	Quantité inhalée		Quantité expirée		Quantité résiduelle		Dépôt dans le circuit	
	P		P		P		P	
A VS B	<0.001	***	>0.05	NS	>0.05	NS	<0.01	**
A VS C	<0.05	*	<0.001	***	>0.05	NS	<0.001	***
A VS D	>0.05	NS	<0.001	***	<0.001	***	>0.05	NS
A VS E	<0.001	***	<0.001	***	<0.01	**	<0.001	***
B VS C	>0.05	NS	<0.001	***	>0.05	NS	>0.05	NS
B VS D	<0.001	***	<0.001	***	<0.001	***	<0.001	***
B VS E	>0.05	NS	<0.001	***	<0.001	***	>0.05	NS
C VS D	<0.01	**	>0.05	NS	<0.001	***	<0.001	***
C VS E	>0.05	NS	<0.001	***	<0.01	**	>0.05	NS
D VS E	<0.001	***	<0.05	*	>0.05	NS	<0.001	***

NS : non significatif ; * : significativement différent ; ** : fortement significativement différent ; *** : extrêmement significativement différent

Tableau 13: Différences entre les positions du nébuliseur en mode intermittent: ANOVA et test de comparaison Student-Newman-Keuls. Deuxième série de nébulisations

	Quantité inhalée		Quantité expirée		Quantité résiduelle		Dépôt dans le circuit	
	P		P		P		P	
A VS B	<0.01	**	>0.05	NS	>0.05	NS	<0.001	***
A VS C	<0.05	*	<0.001	***	>0.05	NS	<0.001	***
A VS D	>0.05	NS	<0.001	***	>0.05	NS	<0.001	***
A VS E	<0.01	**	<0.001	***	>0.05	NS	<0.001	***
B VS C	>0.05	NS	<0.001	***	>0.05	NS	>0.05	NS
B VS D	<0.01	**	<0.001	***	>0.05	NS	>0.05	NS
B VS E	>0.05	NS	<0.001	***	>0.05	NS	<0.01	**
C VS D	<0.05	*	<0.05	*	>0.05	NS	>0.05	NS
C VS E	>0.05	NS	<0.05	*	>0.05	NS	<0.05	*
D VS E	<0.01	**	>0.05	NS	>0.05	NS	<0.01	**

NS : non significatif ; * : significativement différent ; ** : fortement significativement différent ; *** : extrêmement significativement différent

Nébulisation en mode continu

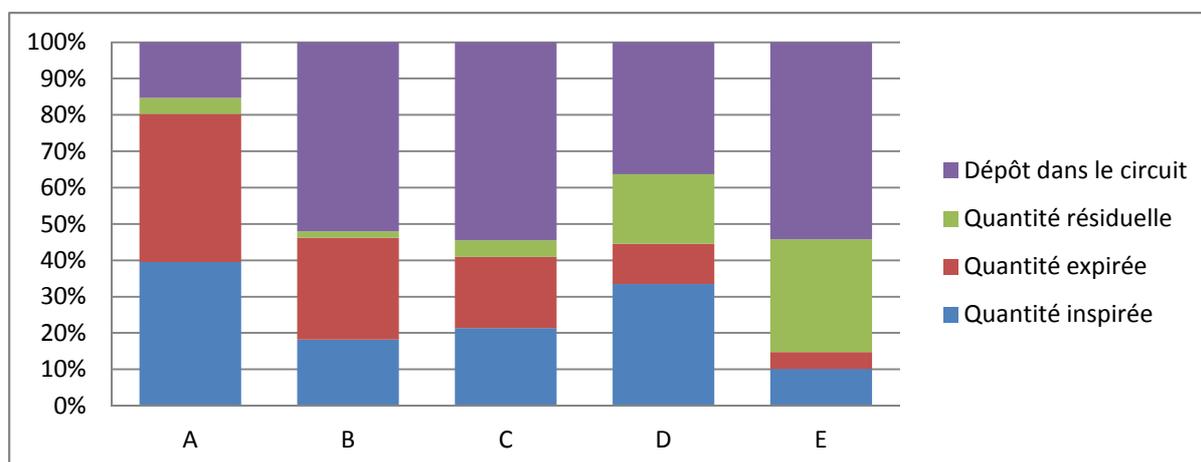


Figure 14: Répartition de la tobramycine lors de la nébulisation en mode continu

Tableau 14: Différences entre les positions du nébuliseur en mode continu: ANOVA et test de comparaison Student-Newman-Keuls

	Quantité inhalée		Quantité expirée		Quantité résiduelle		Dépôt dans le circuit	
	P		P		P		P	
A VS B	<0.001	***	<0.001	***	>0.05	NS	<0.01	**
A VS C	<0.01	**	<0.001	***	>0.05	NS	<0.01	**
A VS D	>0.05	NS	<0.001	***	>0.05	NS	<0.05	*
A VS E	<0.001	***	<0.001	***	>0.05	NS	<0.01	**
B VS C	>0.05	NS	<0.01	**	>0.05	NS	>0.05	NS
B VS D	<0.01	**	<0.001	***	>0.05	NS	>0.05	NS
B VS E	>0.05	NS	<0.001	***	>0.05	NS	>0.05	NS
C VS D	<0.05	*	<0.01	**	>0.05	NS	>0.05	NS
C VS E	>0.05	NS	<0.001	***	>0.05	NS	>0.05	NS
D VS E	<0.001	***	<0.05	*	>0.05	NS	>0.05	NS

NS : non significatif ; * : significativement différent ; ** : fortement significativement différent ; *** : extrêmement significativement différent

Dosage du contenu de la marmite (seulement pour la position E)

Etant donné qu'une forte condensation a été observée dans la marmite, celle-ci a été rincée avec 50ml d'eau et son contenu a été dosé par LC-MS/MS. La quantité de tobramycine contenue dans la marmite est de $11.5 \pm 1.6\%$ en mode intermittent et $13.8 \pm 5.4\%$ en mode continu.

Efficacité des nébuliseurs

Etant donné la variabilité observée dans les quantités inhalées, expirées et résiduelles, une analyse des cinq nébuliseurs utilisés a été élaborée afin de comparer les performances des nébuliseurs.

Tableau 15: Quantités résiduelles selon le nébuliseur utilisé

		Nébuliseur 1	Nébuliseur 2	Nébuliseur 3	Nébuliseur 4	Nébuliseur 5
Intermittent	A	3.1%	14.4%	8.5%	1.3%	2.9%
	B	1.0%	1.9%	0.7%	1.6%	2.7%
	C	0.5%	6.5%	2.5%	3.1%	2.7%
	D	32.4%	41.8%	19.9%	15.5%	50.2%
	E	57.0%	36.5%	21.0%	9.0%	39.8%
Continu	A	1.5%	6.6%	10.5%	1.4%	2.1%
	B	1.5%	2.1%	1.6%	1.4%	2.1%
	C	1.0%	13.7%	4.3%	3.0%	0.8%
	D	16.6%	30.8%	17.3%	2.7%	28.1%
	E	89.5%	23.6%	18.0%	1.5%	22.3%

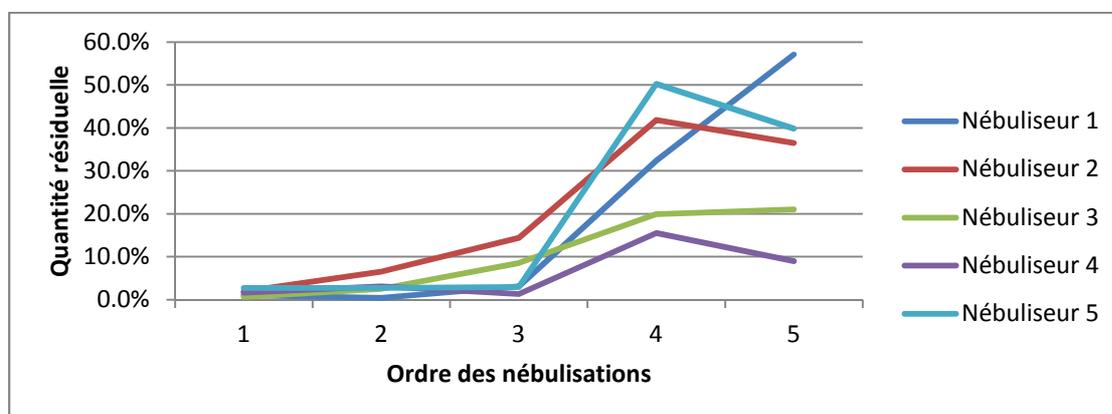


Figure 15: Evolution de la quantité résiduelle en fonction du nébuliseur (mode intermittent)

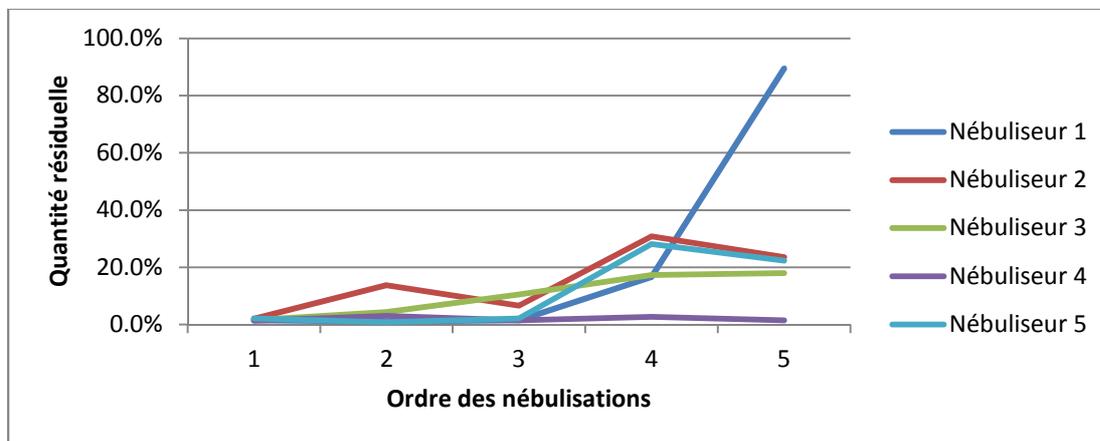


Figure 16: Evolution de la quantité résiduelle en fonction du nébuliseur (mode continu)

4.2 Durée de la nébulisation

Le temps de nébulisation lors de la deuxième série de nébulisation de la validation des filtres a été de 12.74 ± 3.18 minutes pour le filtre Respirgard® 303 et 12.05 ± 3.50 minutes pour le filtre Clear-guard midi®. Les CV sont de 25% et de 29% respectivement pour les filtres Respirgard et Clear-guard midi (voir annexe 8).

5. DISCUSSION

5.1 Quantité de tobramycine nébulisée

5.1.1 Validation de la perméabilité des filtres

Malgré une méthode d'extraction fiable, une variabilité importante est constatée lors de la nébulisation de la même quantité de tobramycine tant avec le filtre Respirgard comme avec le filtre Clear-guard Midi. Une importante condensation est visible sur le connecteur du nébuliseur, ce qui empêche la captation d'une partie de la tobramycine par le filtre. A chaque nébulisation, l'alarme s'enclenche indiquant une « pression des voies aériennes élevées », probablement due à la condensation excessive entre le connecteur et le filtre qui pourrait expliquer l'importante variabilité d'une nébulisation à l'autre. Ce problème de pression n'est pas observé lorsque le filtre est placé après le tube endotrachéal (filtre inspiratoire), ce qui indique que la proximité des filtres influence l'augmentation de pression constatée dans le circuit.

Le volume minute expiré insuffisant indique un problème au niveau de la résistance du filtre Clear-guard Midi qui se manifeste par un filtre bouché. En clinique, le filtre Clear-guard Midi est utilisé à la fin de la branche expiratoire et les cliniciens du SMIA observent déjà ce phénomène de filtre bouché, avec la possibilité de graves répercussions sur le patient, lorsque l'humidificateur est enclenché.

Le test d'humidification indique qu'avec l'humidification préalable du circuit, la rétention du filtre HME passe de 0.59% à 0.66% en ajoutant deux filtres Respirgard en série.

Par contre, la perméabilité des filtres – et donc sa capacité de captation – n'est pas influencée par l'humidification préalable du circuit puisque la masse retenue par les filtres varie de 0.01% que se soit avec un circuit préalablement humidifié ou à sec.

5.1.2 Modèle *in vitro* de VM

Quantité inhalée

Comme observé dans ce travail, il n'y a pas de différence significative entre la position A et la position D ($p > 0.05$), néanmoins nos observations montrent que la quantité inhalée en position D est moins constante par rapport à la position A.

La position B est légèrement plus favorable que la position C, néanmoins la différence n'est pas significative ($p > 0.05$).

L'analyse de la littérature permet de suggérer que la quantité inhalée de médicament varie selon la molécule étudiée.

Dans le cas de l'amikacine, l'efficacité en position A est supérieure par rapport au salbutamol, alors que la position C est la plus favorable pour le salbutamol.

Basée sur la littérature, la position E semble la plus efficace quelle que soit la molécule étudiée. Néanmoins les données expérimentales issues de ce travail ne suivent pas cette tendance, car la position E est celle où la quantité inhalée est parmi les plus faibles. Il est nécessaire de prendre en considération que, lors de ce montage, le nébuliseur se situe avant l'humidificateur et que le dosage du contenu de la marmite indique la présence de $11.5 \pm 1.6\%$ de la solution tobramycine en mode intermittent et $13.8 \pm 5.4\%$ de tobramycine en mode continu (voir Annexe 9). De plus, lors de la deuxième série de nébulisations en position E, la quantité de tobramycine contenue dans le circuit est environ 20% supérieure en position E que lors des autres positions ce qui peut s'expliquer par la présence d'une quantité importante de tobramycine dans la marmite de l'humidificateur. Le travail de Dugernier et al. (33) n'intègre pas l'humidificateur dans le circuit, ce qui peut expliquer la différence importante de médicament inhalé en cette position. Par contre, les deux travaux d'Ari et al. (31)(32) incluent un humidificateur dont le nébuliseur se situe avant l'humidificateur en position E. Aucune information complémentaire n'est donnée quant aux spécifications techniques de l'humidificateur utilisé par Ari et al. Dans le cadre de ce travail, la marmite de l'humidificateur comprend un système d'auto-remplissage avec un mécanisme de double flotteur relié par le circuit inspiratoire (voir figure 8).

Tableau 16: Comparaison avec la littérature (nébulisation en mode continu uniquement)

Source	Médicament	Position A	Position B	Position C	Position D	Position E
Dugernier et al. (33)	Amikacine	$21.2 \pm 1.3\%$	$16.4 \pm 1.2\%$	$18.3 \pm 0.2\%$	$21.2 \pm 0.9\%$	$24.3 \pm 1.9\%$
Ari et al. (31)	Salbutamol	$14.5 \pm 1.0\%$	-	$30.2 \pm 1.0\%$	-	$24.2 \pm 1.2\%$
Ari et al. (32)	Salbutamol	-	$13.4 \pm 1.1\%$	-	-	$23.8 \pm 1.0\%$

Indépendamment du mode de nébulisation, les quantités inhalées selon les positions B, C et E ne sont pas significativement différentes et les quantités inhalées sont plus faibles qu'en positions A et D.

Le mode de nébulisation a une incidence directe sur la quantité inhalée. En position A et B, qui correspondent aux positions plus proches de la pièce en y, la quantité inhalée est supérieure en mode continu en comparaison au mode intermittent. La situation s'inverse dans les positions restantes, ce qui suggère un effet spacer bénéfique en mode intermittent.

Quantité expirée

On observe une tendance à la diminution de la quantité expirée en s'éloignant du tube endotrachéal. Cette diminution progressive de la quantité expirée est d'autant plus claire en

nébulisation continue où l'on observe des différences significatives de quantités expirées en fonction de la position du nébuliseur.

En mode intermittent, il n'y a pas de différences significatives entre la quantité expirée en positions A et B ($p > 0.05$).

En termes de sécurité, les informations sur la quantité expirée sont importantes. Plus la quantité expirée est importante, plus il existe un risque de contamination de l'air ambiant avec l'antibiotique nébulisé. Cette contamination peut être dangereuse pour le personnel soignant, avec un risque accru de résistances et de contaminations croisées par contact entre malades.

Quantité résiduelle

La quantité résiduelle de tobramycine restant dans le nébuliseur Aeroneb Solo après 15 minutes de nébulisation est un marqueur important de l'efficacité du nébuliseur avec de possibles répercussions cliniques. La quantité résiduelle rencontrée en mode intermittent comme en mode continu reflète l'évolution de l'utilisation des nébuliseurs (positions B, C, A, D, E), avec une quantité croissante de quantité résiduelle (voir figure 15 et 16).

Pour des nébuliseurs neufs (cf position B), la quantité résiduelle est de $1.6 \pm 0.8\%$ en mode intermittent et de $1.8 \pm 0.3\%$ en mode continu. Ces valeurs sont proches de celles obtenues par U. Dolci ($2.2 \pm 0.5\%$) pour le salbutamol.(37)

D'une façon générale, la performance des nébuliseurs diminue drastiquement à partir de la position D (après 6 nébulisations), raison pour laquelle une nouvelle série de nébulisations a été faite en mode intermittent pour les positions D et E avec des nébuliseurs neufs. Les résultats de la deuxième série de nébulisations ont confirmé que les quantités résiduelles particulièrement élevées obtenues lors de la première série de nébulisation sont dû à une diminution de la performance des nébuliseurs avec l'usage.

Le nébuliseur n° 2 est particulièrement problématique, dans la mesure où une importante diminution de sa performance est visible dès la troisième nébulisation (position C).

Le test ANOVA avec traitement post-test selon la méthode Student-Newman-Keuls n'a révélé aucune différence statistiquement significative entre les 5 nébuliseurs testés, ce qui peut s'expliquer par une tendance dans la performance des nébuliseurs.

Quantité restant dans le circuit

Hormis pour la position A où les pertes sont réduites, environ la moitié de la dose initiale de tobramycine est perdue dans circuit ventilatoire.

Tout comme pour la quantité résiduelle, il existe une importante différence entre les valeurs obtenues lors de la première et la seconde série de nébulisation.

Pour la deuxième série de nébulisations, les quantités extrapolées pour les positions D et E augmentent en moyenne de 32% en position D et de 23.2% en position E, ce qui peut s'expliquer par la diminution de la quantité résiduelle.

5.2 Durée de la nébulisation

Le nébuliseur n° 2 a une durée de nébulisation bien supérieure au temps de nébulisation attendu (environ 18 minutes). Normalement la durée de nébulisation ne devrait pas être supérieure à 15 minutes, ce qui démontre un défaut de fabrication de ce nébuliseur. Si l'on retire les valeurs du nébuliseur défectueux, le CV passe à 12% et 15% pour le Respirguard et le Clear-guard midi respectivement. Cette observation indique que la qualité de la nébulisation dépend du nébuliseur utilisé.

Le nébuliseur défectueux utilisé pour la validation des filtres a été substitué par un autre nébuliseur neuf pour les expériences qui ont suivi. Cette procédure correspond à la procédure habituellement employée par les physiothérapeutes au SMIA lorsque la durée de nébulisation augmente excessivement. Comme la durée de nébulisation du nébuliseur n° 1 s'éloigne aussi de la durée de nébulisation des autres nébuliseurs, celui-ci a aussi été substitué afin de prévenir des sources d'erreur.

La durée de nébulisation varie d'un nébuliseur à l'autre, même en utilisant des nébuliseurs ayant un numéro de série identique.

Cette observation peut aussi être due à un nettoyage déficient du nébuliseur qui ne permet pas de nettoyer convenablement les mailles du nébuliseur, ce qui entraîne une diminution de la performance du nébuliseur

6. LIMITES DU TRAVAIL

6.1 Optimisation de la méthode de lavage des filtres

La validation de la méthode d'extraction indique que le recouvrement est élevé (100.7% et 99.8%, respectivement pour les filtres Clear-guard midi et Respiriguard) et la variabilité de la méthode est faible (CV de 6.6% et 8.0%) lorsque 4ml d'une solution de tobramycine à 75mg/ml est déposée directement sur les filtres, indépendamment de la marque de filtre testée. Malgré la confirmation de la fiabilité de la méthode d'extraction, la validation de la perméabilité des filtres indique que lorsque la même quantité de tobramycine est nébulisée, la quantité récoltée par le filtre varie plus que lors de la validation de la méthode d'extraction (CV de 24% et 40%) avec des recouvrements de 88% et 76%.

Cette différence peut être expliquée par la présence de condensation dans le connecteur Aeroneb qui empêche une partie de l'aérosol d'atteindre le filtre. Il se peut également qu'un phénomène de surpression constaté dû à la proximité du filtre par rapport au système Aeroneb altère la conduction de l'aérosol vers le filtre.

Une source d'erreur moins importante est directement liée au système d'extraction utilisé. Comme un tuyau relie le filtre au tube Falcon qui permet de récolter la solution extraite, une partie de la solution est perdue dans le tuyau ou lorsque, par manque d'étanchéité ou par pression, une partie de la solution sort du tube Falcon.

6.2 Interprétation du modèle

Ce travail ne tient pas compte de la taille des particules. Pour que les particules soient déposées au niveau des alvéoles pulmonaires, elles doivent avoir une taille comprise entre 1–3 µm (voir introduction). La fraction respirable de PA (delivery efficiency) correspond à la fraction de PA nébulisé [%] multiplié par le pourcentage de PA de taille comprise entre 1 et 3 µm. (3) Les quantités inhalées indiquées donc sont probablement surestimées.

Un modèle in vitro ne peut reproduire totalement une situation in vivo. Ce modèle ne tiens pas compte du métabolisme pulmonaire lié au cytochrome P450 ou d'autres enzymes comme la glycoronyl-transférase, la sulfo-transférase, l'N-acétyl-transférase, la monoaminoxidase, les estérases et les peptidases. (4)

Les dosages in vivo permettent d'obtenir des informations importantes grâce à la formule $AUIC = \frac{AUC_{24h}}{CMI}$. Si AUIC est inférieure à 125, il y a 42% et 26% de probabilité de guérison (paramètre clinique et microbiologique, respectivement) (9) De plus, un modèle in vitro ne permet pas de tenir des conclusions sur la toxicité puisque les Cp ne sont pas connues. (30)

Néanmoins, pour la majorité des variables définies in vitro, les prédictions de la délivrance d'aérosol sont corrélées avec les niveaux d'antibiotique mesurés dans les expectorations aspirées chez les patients intubés. (7)

7. PERSPECTIVES D'AVENIR

Les quantités variables de tobramycine inhalés sont un problème récurrent rencontré lors de ce travail, avec des CV de l'ordre de 30% pour la plupart des paramètres étudiés. Cette forte variabilité peut être cliniquement problématique dans certains cas où la dose inhalée passe du simple au double. L'étude des causes de la variabilité de quantités inhalées est un sujet important car, dans certains cas, il est difficile de prévoir précisément la dose inhalée par le patient avec un risque de toxicité.

Ce travail a mis en avant une des possibles causes de la variabilité de la distribution de la tobramycine dans le circuit ventilatoire, à savoir la fiabilité des nébuliseurs Aeroneb Solo en fonction du degré d'utilisation. Il s'est avéré que la capacité de production de l'aérosol diminue avec l'usage. Plus le nébuliseur est utilisé, plus la quantité de tobramycine résiduelle augmente. Ce phénomène peut être partiellement remédié par augmentation de la durée de nébulisation, mais il se peut qu'un temps de nébulisation influence la distribution de la tobramycine dans le circuit. De plus, en augmentant la durée de nébulisation, le patient se maintient plus longtemps sans humidification des voies respiratoires, ce qui peut lui être néfaste. Ainsi, il serait intéressant d'évaluer le temps de vie optimum des nébuliseurs Aéroneb Solo, afin de savoir après combien d'utilisations il serait judicieux de le remplacer par un nébuliseur neuf. Il pourrait également être envisageable de revoir le protocole de nettoyage du nébuliseur, afin de vérifier si celui-ci est efficace.

Cette étude a été menée avec une solution contenant 300mg de tobramycine, il serait envisageable de comparer l'efficacité de l'Aéroneb Solo avec une solution pour inhalation moins concentré comme le salbutamol 0.05% (1.25mg), afin de vérifier si l'effet concentration et si l'utilisation d'une molécule différente influence la performance du nébuliseur.

Pour une question de temps, il n'a pas pu être possible de vérifier si la quantité inhalé de tobramycine varie en cas d'humidification et chauffage préalable du circuit dans les mêmes conditions que celles utilisées dans la pratique courante du SMIA. Les nébulisations dans les cinq positions testées ont toutes été élaborées sans utilisation de l'humidificateur. Il est possible que l'humidité et la chaleur influence la quantité inhalée de tobramycine. La validité de perméabilité des filtres s'est basée sur un circuit préalablement humidifié et chauffé mais ce n'a pas été le cas des tests effectués dans les diverses localisations du nébuliseur. Ainsi, lorsque le filtre est proche du nébuliseur, il n'y a, a priori, pas d'influence de l'humidité et la chaleur résiduelles, mais cette situation pourrait ne pas se vérifier lorsque le filtre en plus éloigné du nébuliseur.

Comme des problèmes de résistances ont été détectés avec le filtre Clear-guard Midi, il serait important de mesurer la pression dans le système afin de vérifier s'il existe des différences significatives de pression mesuré entre les deux types de filtres testés.

Ce travail se base sur un modèle adulte. Le modèle pédiatrique n'étant pas été testé, il serait intéressant que vérifier si les conclusions émises pour le modèle adulte est également valable pour le modèle pédiatrique.

8. CONCLUSION

L'objectif de ce travail qui consistait à déterminer la meilleure position du nébuliseur pour la nébulisation de la tobramycine a pu être atteint. Mais il a surtout permis de mettre en lumière certains problèmes propres non pas au circuit ventilatoire en soi, mais au système de nébulisation utilisé.

Dans le cas de solutions pour inhalation de tobramycine, les positions A et D sont celles où la quantité inhalée est la plus élevée. Pour la position A, il est plus judicieux de procéder à une nébulisation en mode continu, ce qui d'obtenir une quantité inhalée de $39.5 \pm 2.8\%$. Pour la position D, le mode intermittent est plus avantageux, avec une quantité inhalée de $36.3 \pm 39.0\%$.

L'analyse statistique indique qu'il n'y a pas de différences significatives entre ces deux positions.

La position A présente l'avantage d'obtenir des quantités inhalées mais variables d'une nébulisation à l'autre. Cette position possède le désavantage d'une quantité expirée plus importante, qui implique une vigilance accrue à travers l'utilisation de filtres fiables afin de protéger l'espace environnant le patient.

La position D diminue le risque de contamination de l'air et permet d'atteindre des quantités inhalées plus importantes qu'en position A. Par contre, cette position présente le désavantage d'obtenir des quantités inhalées plus variables. La quantité inhalée peut être supérieure aux quantités obtenus en position A comme l'être inférieure à celle-ci.

Le nébuliseur Aeroneb Solo est conçu pour usage « patient unique », c'est-à-dire qu'il est possible de l'utiliser sur le même patient, en règle général pendant 7 jours. Malgré ces recommandations, il s'est avéré que la performance du nébuliseur peut être insuffisante dans la pratique clinique et que le protocole de nettoyage peut être une des causes de cette observation.

9. RÉFÉRENCES

1. Boulet L-P, editor. Physiopathologie respiratoire appliquée. Canada: De Boeck : Presses de l'Université Laval; 2014. 350 p.
2. Michalopoulos A, I. Metaxas E, E. Falagas M. Aerosol Delivery of Antimicrobial Agents During Mechanical Ventilation: Current Practice and Perspectives. *Curr Drug Deliv*. 2011 Mar 1;8(2):208–12.
3. Ehrmann S, Guillon A, Mercier E, Vecellio L, Dequin P-F. Administration d'aérosols médicamenteux au cours de la ventilation mécanique. *Réanimation*. 2012 Jan 1;21(1):42–54.
4. Dautzenberg B, Diot P. Aérosolthérapie par nébulisation. 2e éd. Paris: Margaux Orange; 2006.
5. Martin AR, Finlay WH. Nebulizers for drug delivery to the lungs. *Expert Opin Drug Deliv*. 2014 Dec 23;1–12.
6. Vincent JL. Le manuel de réanimation, soins intensifs et médecine d'urgence. 2e éd. Paris [etc.]: Springer; 2005. 557 p.

7. Miller DD, Amin MM, Palmer LB, Shah AR, Smaldone GC. Aerosol Delivery and Modern Mechanical Ventilation. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003 Nov 15;168(10):1205–9.
8. Pedersen KM, Handlos VN, Heslet L, Kristensen HG. Factors Influencing the In Vitro Deposition of Tobramycin Aerosol: A Comparison of an Ultrasonic Nebulizer and a High-Frequency Vibrating Mesh Nebulizer. *J Aerosol Med.* 2006 Jun 1;19(2):175–83.
9. Tobin MJ, editor. Principles and practice of mechanical ventilation. 3rd ed. New York: McGraw-Hill Medical; 2013. 1562 p.
10. Brochard L. Ventilation artificielle: de la physiologie à la pratique. Issy-les-Moulineaux: Elsevier Masson; 2008. 323 p.
11. Ehrmann S, Roche-Campo F, Sferrazza Papa G, Isabey D, Brochard L, Apiou-Sbirlea G. Aerosol therapy during mechanical ventilation: an international survey. *Intensive Care Med.* 2013 Jun 1;39(6):1048–56.
12. Lu Q, Yang J, Liu Z, Gutierrez C, Aymard G, Rouby J-J. Nebulized Ceftazidime and Amikacin in Ventilator-associated Pneumonia Caused by *Pseudomonas aeruginosa*. *Am J Respir Crit Care Med.* 2011 Jul 1;184(1):106–15.
13. Encyclopédie Larousse en ligne - pneumonie [Internet]. [cited 2015 Feb 24]. Available from: <http://www.larousse.fr/encyclopedie/medical/pneumonie/3426>
14. Falagas ME, Trigkidis KK, Vardakas KZ. Inhaled antibiotics beyond aminoglycosides, polymyxins and aztreonam: A systematic review. *Int J Antimicrob Agents.* 2014 Nov 6;
15. Falagas ME, Siempos II, Bliziotis IA, Michalopoulos A. Administration of antibiotics via the respiratory tract for the prevention of ICU-acquired pneumonia: a meta-analysis of comparative trials. *Crit Care Lond Engl.* 2006;10(4):R123.
16. Arnold HM, Sawyer AM, Kollef MH. Use of Adjunctive Aerosolized Antimicrobial Therapy in the Treatment of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* Ventilator-Associated Pneumonia. *Respir Care.* 2012 Aug 1;57(8):1226–33.
17. Hallal A, Cohn SM, Namias N, Habib F, Baracco G, Manning RJ, et al. Aerosolized Tobramycin in The Treatment of Ventilator-Associated Pneumonia: A Pilot Study. *Surg Infect.* 2007 Feb 1;8(1):73–82.
18. Hennig S, Standing JF, Staatz CE, Thomson AH. Population pharmacokinetics of tobramycin in patients with and without cystic fibrosis. *Clin Pharmacokinet.* 2013 Apr;52(4):289–301.
19. Compendium Suisse des Médicaments. Bâle: Documed; 2015.
20. Schorderet M, editor. Pharmacologie: des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques. 3e éd. Paris : Genève: Frison-Roche ; Slatkine; 1998. 1010 p.
21. Brunton LL, Chabner BA, Knollmann BC. Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. 12th ed. New York: McGraw-Hill Medical; 2011.
22. U. S. National Library of Medicine. PubChem. Tobramycin [Internet]. [cited 2015 Feb 22]. Available from: <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/36294#section=Top>

23. The Merck index online. Cambridge: Royal Society of Chemistry;
24. DrugBank, editor. Tobramycin [Internet]. DrugBank. 2013 [cited 2015 Mar 2]. Available from: <http://www.drugbank.ca/drugs/DB00684>
25. Wollstadt A, Krämer I, Kamin W. Physicochemical compatibility of nebulizable drug admixtures containing colistimethate and tobramycin. *Pharm.* 2013 Sep;68(9):744–8.
26. Langenegger S. Fiche clinique TDM. Tobramycine. Lausanne: CHUV; 2012.
27. LiPuma JJ. Microbiological and immunologic considerations with aerosolized drug delivery. *Chest.* 2001 Sep 1;120(3_suppl):118S – 123S.
28. TOXNET - Tobramycin [Internet]. [cited 2015 Feb 22]. Available from: <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/f?./temp/~Dgqasv:3>
29. Kahler DA, Schowengerdt KO, Fricker FJ, Mansfield M, Visner GA, Faro A. Toxic Serum Trough Concentrations After Administration of Nebulized Tobramycin. *Pharmacother J Hum Pharmacol Drug Ther.* 2003;23(4):543–5.
30. Govoni M, Poli G, Acerbi D, Santoro D, Cicirello H, Annoni O, et al. Pharmacokinetic and tolerability profiles of tobramycin nebuliser solution 300 mg/4 ml administered by PARI eFlow® rapid and PARI LC Plus® nebulisers in cystic fibrosis patients. *Pulm Pharmacol Ther.* 2013 Apr;26(2):249–55.
31. Ari A, Areabi H, Fink JB. Evaluation of Aerosol Generator Devices at 3 Locations in Humidified and Non-humidified Circuits During Adult Mechanical Ventilation. *Respir Care.* 2010 Jul 1;55(7):837–44.
32. Ari A, Atalay OT, Harwood R, Sheard MM, Aljamhan EA, Fink JB. Influence of Nebulizer Type, Position, and Bias Flow on Aerosol Drug Delivery in Simulated Pediatric and Adult Lung Models During Mechanical Ventilation. *Respir Care.* 2010 Jul 1;55(7):845–51.
33. Dugernier J, Wittebole X, Roeseler J, Michotte J-B, Sottiaux T, Dugernier T, et al. Influence of Inspiratory Flow Pattern and Nebulizer Position on Aerosol Delivery with a Vibrating-Mesh Nebulizer During Invasive Mechanical Ventilation: An in Vitro Analysis. *J Aerosol Med Pulm Drug Deliv.* 2014 Nov 13;
34. Di Paolo ER. Optimisation de la nébulisation du salbutamol chez l'enfant sous ventilation mécanique. Lausanne: Université de Lausanne - Faculté des sciences; 2000. 159 p.
35. Sampath SS, Robinson DH. Comparison of new and existing spectrophotometric methods for the analysis of tobramycin and other aminoglycosides. *J Pharm Sci.* 1990 May 1;79(5):428–31.
36. Josephson L, Houle P, Haggerty M. Stability of Dilute Solutions of Gentamicin and Tobramycin. *Clin Chem.* 1979;25(2):298–300.
37. Dolci U. Evaluation dans un modèle in vitro de quatre nébuliseurs employés chez des enfants sous ventilation mécanique. [Genève-Lausanne]: Ecole de Pharmacie Genève-Lausanne; 2008.

10. ANNEXES

ANNEXE 1 : Photographies des montages

ANNEXE 2 : Protocole de manipulation : nébulisation de Bramitob

ANNEXE 3 : Validation de la méthode d'extraction

ANNEXE 4 : Validation de la perméabilité des filtres

ANNEXE 5 : Influence de l'humidification du circuit respiratoire

ANNEXE 6 : Validation de la méthode analytique

ANNEXE 7 : Protocole LC-MS/MS

ANNEXE 8 : Durée de la nébulisation

ANNEXE 9 : Dosages de tobramycine

ANNEXE 10 : Traitement statistique des résultats

ANNEXE 11 : Influence du nébuliseur utilisé

ANNEXE 12 : Dosages des nébulisations répétées

ANNEXE 1 : Photographies des montages

Position A



Figure 1 : Nébuliseur en position A

Position B

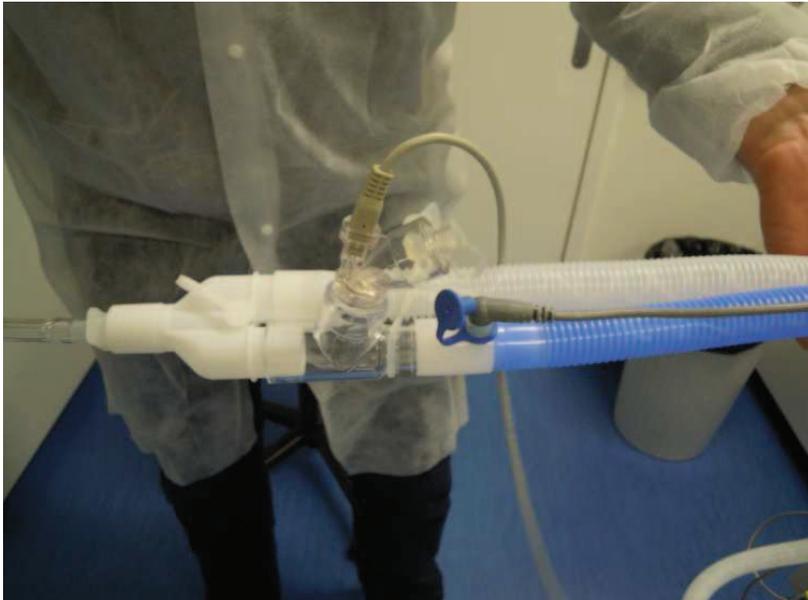


Figure 2 : Nébuliseur en position B

Position C



Figure 3 : Nébuliseur en position C

Position D

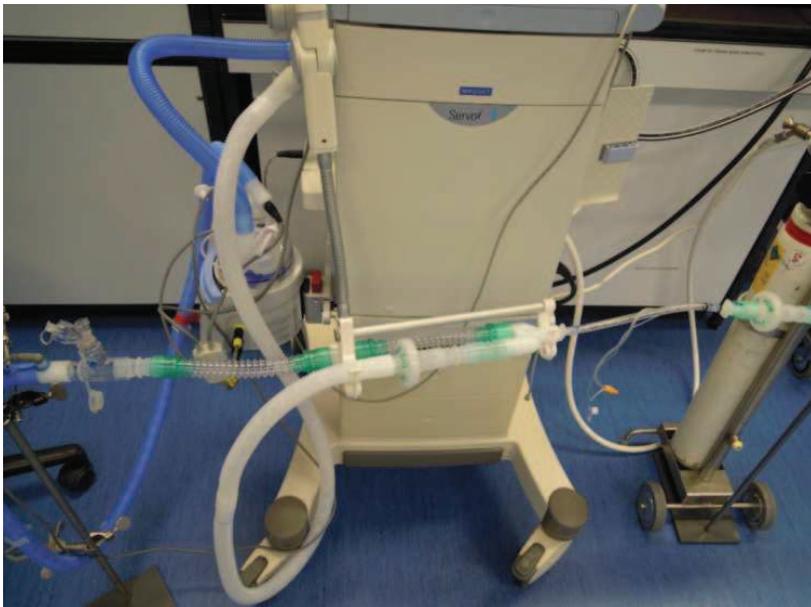


Figure 4 : Nébuliseur en position D

Position E



Figure 5 : Nébuliseur en position E

ANNEXE 2 : Protocole de manipulation : nébulisation de Bramitob

Pesées et préparation du circuit ventilatoire

1. Pesée des filtres inspiratoires et expiratoires (avant nébulisation)
2. Pesée de la tête Aeronéb vide et avec le contenu d'une ampoule de Bramitob
3. Installation du circuit avec le nébuliseur dans la position testée

Nébulisation

4. Attendre quatre cycles respiratoires
5. Enclencher la nébulisation selon le mode de nébulisation testé (mode intermittent pendant 15 minutes ou en mode continu)
6. Après 15 minutes de nébulisation, éteindre le ventilateur

Nettoyage et récolte du matériel

7. Retirer et peser les filtres inspiratoire et expiratoire et les bouchés les orifices avec du parafilm
8. Rincer à l'eau déminéralisée et sécher à l'air comprimé le tube endotrachéal, la pièce en y, le tube reliant la pièce en y et le filtre expiratoire et les rallonges
9. Retirer la tête Aeronéb, sécher la partie inférieure de la tête aeronéb avec un kleenex et la peser
10. Peser un tube de 10ml vide
11. Peser le tube de 10ml avec la solution de lavage de la tête Aeronéb (5ml)
12. Nettoyer en agitant la tête Aeronéb avec 3 – 4 gouttes d'eau déminéralisée pendant 30 secondes
13. Mettre au frigo les filtres inspiratoire et expiratoire et la solution de lavage de la tête Aeronéb

Seulement pour la position E

14. Peser un tube Falcon de 50ml vide
15. Rincer la marmite de l'humidificateur chauffant avec 50ml d'eau
16. Récolter et peser la solution de lavage de la marmite dans le tube Falcon de 50ml
17. Mettre au frigo le tube Falcon

ANNEXE 3 : Méthode d'extraction des filtres antibactériens

Protocole d'extraction des filtres

Le contenu des filtres antibactériens est rincé avec 5x 5ml par face du filtre avec de l'eau déminéralisée grâce à un cylindre gradué et récolté dans un tube Falcon de 50ml préalablement taré par aspiration sous vide (voir figure 7). Pour éviter le contact de la tobramycine avec le verre de la fiole à filtrer, un tuyau relie le filtre et le tube Falcon. Le volume est obtenu par pesée du tube Falcon après extraction (masse volumique de $1.0025 \pm 0.0005\text{g/cm}^3$ déterminée à l'aide d'un densimètre DMA 48, AP Paar, Autriche).

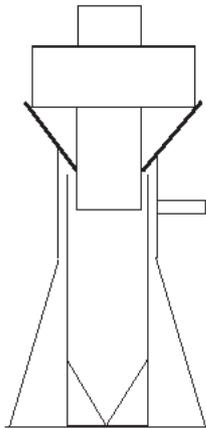


Figure 6: Schéma du montage pour l'extraction des filtres

Validation de la méthode d'extraction

Cinq filtres Respirguard® sont chargés avec le contenu d'une ampoule de Bramitob® 75mg/ml par filtre. Le contenu des filtres Respirguard® est rincé avec 5x 5ml par face du filtre avec de l'eau déminéralisée et récolté dans un tube Falcon de 50ml par aspiration sous vide. L'échantillon récolté est analysé par LC-MS/MS. La procédure est répétée avec cinq filtres Clear-guard Midi.

Tableau 1 : Résultat de la validation de l'extraction des filtres Respirguard

	Concentration [mg/mL]
1,1 Respirguard	6.7375
2,1 Respirguard	6.6934
3,1 Respirguard	5.7818
4,1 Respirguard	6.5760
5,1 Respirguard	7.2529
Moyenne	6.6083
Ecart-type	0.5300
CV	8.0%

Tableau 2: Résultat de la validation de l'extraction des filtres Clear-guard Midi

	Concentration [mg/mL]
1,1 Midi	6.6995
2,1 Midi	7.2142
3,1 Midi	7.2004
4,1 Midi	7.9940
5,1 Midi	7.5934
Moyenne	7.3403
Ecart-type	0.4841
CV	6.6%

Tableau 3 : Recouvrement pour l'extraction des filtres Respirguard et Clear-guard Midi

	Concentration moyenne [mg/ml]	Volume moyen [ml]	Masse [mg]	Recouvrement
Respirguard	6.6083	46.0	303.9834	99.8%
Midi	7.3403	41.8	306.8240	100.7%
Bramitob	76.1489	4.0	304.5955	100.0%

ANNEXE 4 : Validation de la perméabilité des filtres

Tableau 4: Validation des filtres Respirguard (pesées des nébuliseurs et des filtres)

Expérience	Nébuliseur Aeronéb solo			Filtre Respirguard	
	Masse de Bramitob [g]	Masse résiduelle [g]	Masse résiduelle [%]	Masse retenue [g]	Masse retenue [%]
1	4.22	0.50	11.8%	4.10	20.6%
2	4.22	0.30	7.1%	3.79	19.3%
3	4.24	0.69	16.3%	3.07	16.3%
4	4.27	0.58	13.6%	3.16	16.6%
5	4.22	0.90	21.3%	3.25	17.1%
Moyenne	4.23		14%		18%
Ecart-type	0.02		5%		2%
CV	1%		38%		10%

Tableau 5 : Dosage des filtres Respirguard pour la validation de la perméabilité des filtres

Extrait	Masse de tobramycine nébulisée [mg]	Concentration de l'extrait [mg/ml]	Masse volumique [g/ml]	Masse de solution extraite [g]	Volume extrait [ml]	Masse de tobramycine nébulisée [mg/ml]	Taux de tobramycine récoltée
1	304.5955	8.4604	1.0025	46.3104	46.1949	390.8264	128%
2		5.0950		45.0516	44.9393	228.9650	75%
3		3.9811		44.8827	44.7708	178.2352	59%
4		3.7339		44.4937	44.3827	165.7227	54%
5		3.9142		49.8400	49.7157	194.5996	64%
Moyenne		5.0369		46.0007	231.6698	0.7606	
Ecart-type		1.9872		2.1850	92.0824	0.3023	
CV		39%		5%	40%	40%	

Tableau 6: Validation des filtres Clear-guard Midi (pesées des nébuliseurs et des filtres)

Expérience	Nébuliseur Aeronéb solo			Filtre Clear-guard Midi	
	Masse de Bramitob [g]	Masse résiduelle [g]	Masse résiduelle [%]	Masse retenue [g]	Masse retenue [%]
1	4.21	0.51	12.1%	3.52	16.0%
2	4.33	0.34	7.9%	3.91	17.6%
3	4.26	0.81	19.0%	2.87	13.4%
4	4.34	1.23	28.3%	3.03	14.1%
5	4.30	1.06	24.7%	3.11	14.5%
Moyenne	4.29		18%		15%
Ecart-type	0.05		8.5%		2%
CV	1%		46%		11%

Tableau 7 : Dosage des filtres Respirguard pour la validation de la perméabilité des filtres

Extrait	Masse de tobramycine nébulisée [mg]	Concentration de l'extrait [mg/ml]	Masse volumique [g/ml]	Masse de solution extraite [g]	Volume extrait [ml]	Masse de tobramycine nébulisée [mg/ml]	Taux de tobramycine récoltée
1	304.5955	8.0588	1.0025	43.02997	42.9227	345.9035	114%
2		5.1206		40.38854	40.2878	206.2979	68%
3		7.2812		41.15387	41.0512	298.9025	98%
4		7.1672		40.36491	40.2642	288.5822	95%
5		4.3402		44.62093	44.5097	193.1821	63%
Moyenne		6.3936			41.8071	266.5736	0.8752
Ecart-type		1.5808			1.8580	64.8888	0.2130
CV		25%			4%	24%	24%

ANNEXE 5 : Influence de l'humidification du circuit respiratoire

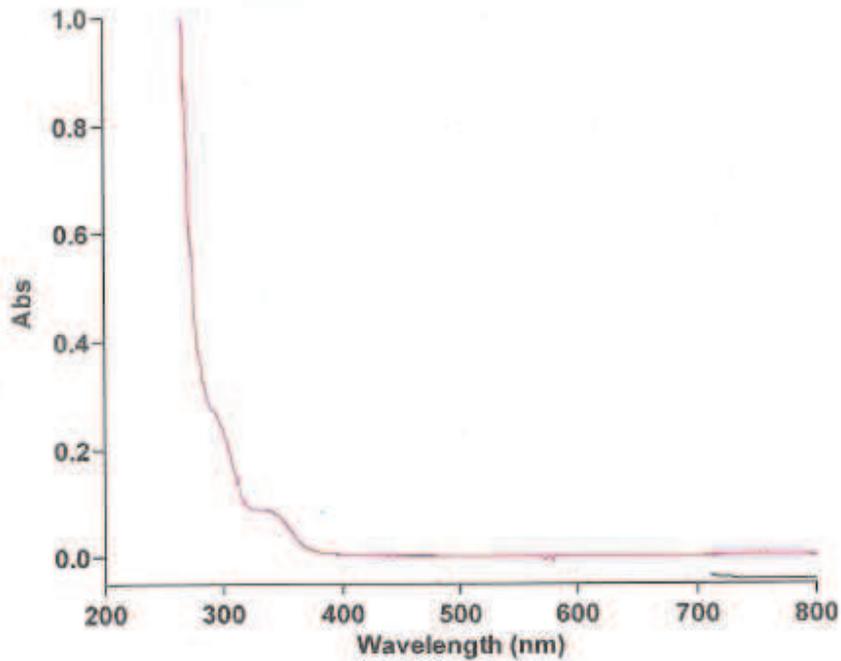
Tableau 8 : Test d'humidification sans nébulisation

	Durée ventilation [min.]	Filtre HME	Filtre primaire	Filtre secondaire
		Teneur d'eau	Teneur d'eau	Teneur d'eau
Avec humidification	15	0.59%		
	15	0.66%	0.01%	0.01%
Sans humidification	15	-0.28%		
	15	-0.27%	0.00%	0.01%

Tableau 9 : Test d'humidification avec nébulisation de 4ml de NaCl 0.9%

	Durée nébulisation [min.]	Filtre HME	Filtre primaire	Filtre secondaire	Nébuliseur
		Masse retenue [%]	Masse retenue [%]	Masse retenue [%]	Masse résiduelle NaCl [%]
Avec humidification	7	4.28%			7.7%
	7	0.51%	17.57%	0.07%	2.5%
Sans humidification	6.24	4.52%			5.3%
	6.49	0.43%	12.86%	0.01%	2.4%

ANNEXE 6 : Validation de la méthode analytique



Zero Report

Read	Abs (800.0 nm)
Zero	0.0428

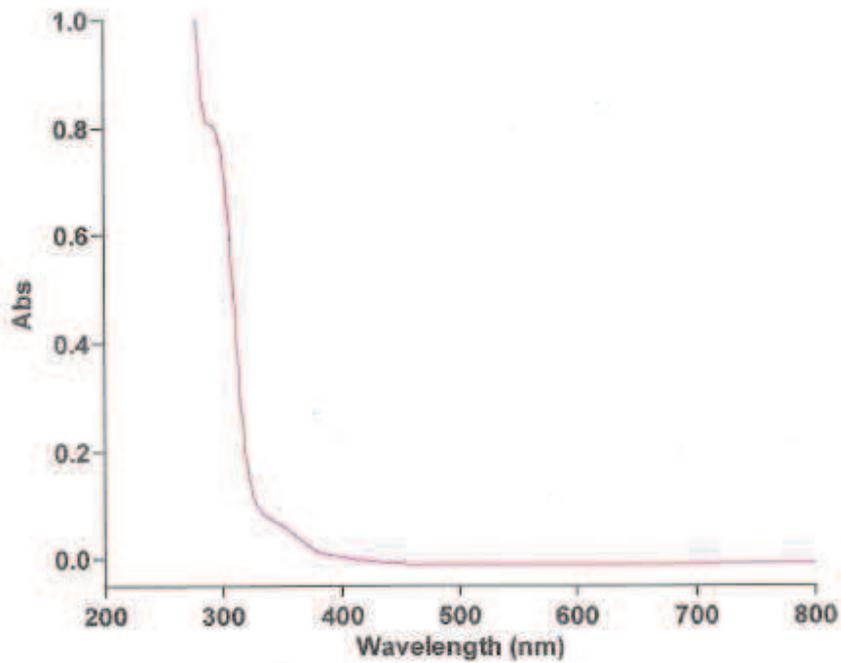
Scan Analysis Report

Report Time :	lun, 30 mars 01:40:34 PM 2015
Method	
Batch:	C:\TEMP\sauvegarde LAB01503\Varian\ResultatsUV\Routine\Essai\Tobra_100%_J1_3.DSW
Software version:	5.0.0.999
Operator:	Anabela S.

Instrument Parameters

Instrument	Cary 50
Instrument Version	3.00
Start (nm)	800.0
Stop (nm)	200.0
X Mode	Nanometers
Y Mode	Abs
UV-Vis Scan Rate (nm/min)	600.00
UV-Vis Data Interval (nm)	1.00
UV-Vis Ave. Time (sec)	0.1000
Beam Mode	Dual Beam
Baseline Correction	On
Baseline Type	Baseline correction
Baseline File Name	
Baseline Std Ref File Name	
Cycle Mode	Off
Comments	Tobramycine 100%_jour 1

Figure 7: Analyse UV de 50µl de Bramitob ad 50ml en mode scan



Scan Analysis Report

Report Time: lun. 30 mars 02:50:27 PM 2015
 Method:
 Batch: C:\TEMP\savegarde LAB01503\Varian\ResultatsUV\Routine\E\saal\phthalidialdehyde.DSW
 Software version: 5.0.0.999
 Operator: Anabela S.

Instrument Parameters

Instrument: Cary 50
 Instrument Version: 3.00
 Start (nm): 800.0
 Stop (nm): 200.0
 X Mode: Nanometers
 Y Mode: Abs
 UV-Vis Scan Rate (nm/min): 600.00
 UV-Vis Data Interval (nm): 1.00
 UV-Vis Ave. Time (sec): 0.1000
 Beam Mode: Dual Beam
 Baseline Correction: On
 Baseline Type: Baseline correction
 Baseline File Name:
 Baseline Std Ref File Name:
 Cycle Mode: Off
 Comments: Test isopropanol-phthalidialdehyde (1:5:1)

Zero Report

Read: Abs (800.0 nm)

Figure 8 : Analyse UV de 1.5ml d'OPA ad 5ml sans tobramycine en mode scan

09.04.2015 12:54:37

Advanced Reads Report

Report time 09.04.2015 12:42:43
 Method
 Batch name C:\TEMP\sauvegarde
 LAB01503\Varian\ResultatsUV\Routine\Routine_2015\Tobramycine_master\Etal_1.BAB
 Application Advanced Reads 5.0.0.999
 Operator Anabela S.

Instrument Settings

Instrument Cary 50
 Instrument version no. 3.00
 Wavelength (nm) 333.0
 Ordinate Mode Abs
 Ave Time (sec) 0.1000
 Replicates 3
 Sample averaging OFF
 Comments: Droite d'étalonnage

Zero Report

Read Abs (333.0 nm)
 Zero 0.0909

Analysis

Collection time 09.04.2015 12:42:43

Sample	F	Mean	SD	%RSD	Readings
0.200mg/ml					0.2793
					0.2790
		0.2792	0.0002	0.06	0.2793
0.150mg/ml					0.2811
					0.2812
		0.2811	0.0001	0.04	0.2810
0.050mg/ml					0.3624
					0.3632
		0.3630	0.0005	0.14	0.3633
0.030mg/ml					0.3738
					0.3741
		0.3737	0.0005	0.14	0.3731
0.005mg/ml					0.2812
					0.2810
		0.2812	0.0002	0.05	0.2813

Results Flags Legend

R = Repeat reading

Figure 9: Analyse UV de 5 à 200µl/ml de tobramycine avec 2ml d'OPA ad 10ml

Advanced Reads Report

Report time 09.04.2015 16:16:58
 Method
 Batch name C:\TEMP\savegarde
 LAB01503\Varian\ResultatsUV\Routine\Routine_2015\Tobramycine_master\Etal_2.BAB
 Application Advanced Reads 5.0.0.999
 Operator Anabela S.

Instrument Settings

Instrument Cary 50
 Instrument version no. 3.00
 Wavelength (nm) 333.0
 Ordinate Mode Abs
 Ave Time (sec) 0.1000
 Replicates 3
 Sample averaging OFF
 Comments Droite d'étalonnage

Zero Report

Read Abs (333.0 nm)
 Zero 0.0843

Analysis

Collection time 09.04.2015 16:16:58

Sample	F	Mean	SD	%RSD	Readings
0.050mg/ml		0.3600	0.0001	0.03	0.3599
					0.3601
0.300mg/ml		0.2946	0.0002	0.05	0.3600
					0.2948
0.500mg/ml		0.2842	0.0011	0.39	0.2946
					0.2945
1.5mg/ml		0.2572	0.0033	1.26	0.2843
					0.2852
2.5mg/ml		0.2498	0.0009	0.35	0.2830
					0.2535
					0.2597
					0.2583
					0.2507
					0.2498
					0.2490

Results Flags Legend

R = Repeat reading

Figure 10: Analyse UV de 50 à 2500µl/ml de tobramycine avec 2ml d'OPA ad 10ml

Advanced Reads Report

Report time 10.04.2015 08:59:52
 Method
 Batch name C:\TEMP\issauvegarde
 LAB01503\Varian\Resultats\UV\Routine\Routine_2015\Tobramycine_master\Test OPA.BAB
 Application Advanced Reads 5.0 0.999
 Operator Anabela S.

Instrument Settings

Instrument Cary 50
 Instrument version no. 3.00
 Wavelength (nm) 333.0
 Ordinate Mode Abs
 Ave Time (sec) 0.1000
 Replicates 3
 Sample averaging OFF
 Comments Bramitob sans OPA
 OPA sans Bramitob.

Zero Report

Read Abs (333.0 nm)
 Zero 0.0846

Analysis

Collection time 10.04.2015 08:59:52

Sample	F	Mean	SD	%RSD	Readings
Bramitob_0.5mg/ml					-0.0003 0.0004
		0.0009	0.0015	>100	0.0026
OPA					0.2614 0.2618
		0.2614	0.0004	0.13	0.2611

Results Flags Legend

R = Repeat reading

Figure 11: Analyse UV de 0.5mg/ml de Bramitob et de 2ml ad 10ml d'OPA sans Bramitob

ANNEXE 7 : Protocole LC- MS/MS

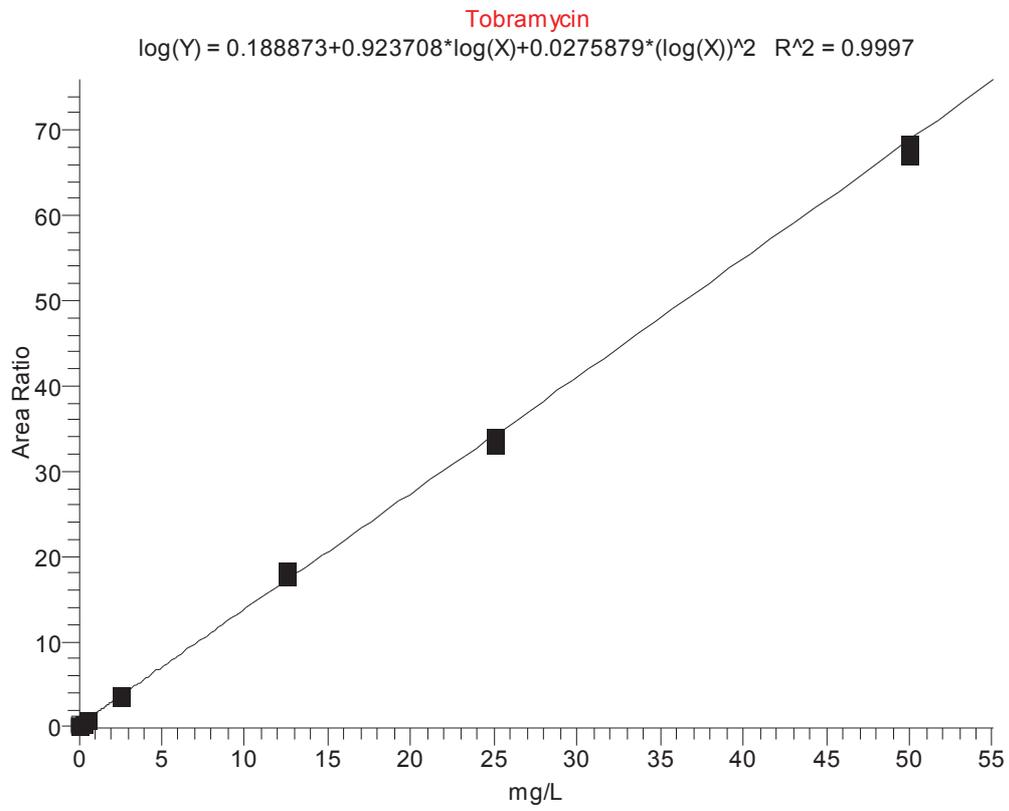


Figure 12: Droite d'étalonnage de la tobramycine par LC-MS/MS

SOP Tobramycine MS/MS PCL	PCL8
written by : Thomas Mercier, Ing chemist 02.06.15	Approved by Prof LA Decosterd
	Version : 1

Dosage de Tobramycine en solution aqueuse, par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS)

Phases mobile

Solvent A: 10mM de formate d'ammonium + 0.4% d'acide formique dans l'eau ultrapure

Solvent B: Acetonitrile + 0.1% d'acide formique

Solutions stock

- **Tobramycine, TRC T524000, 5mg/mL in H₂O**
- **Tobramycine-d, TRC T524002, 1mg/mL in H₂O**
- **Gentamicine C1a Pentaacetate, TRC G360590, 5mg/mL in H₂O**

Dilution de calibrateurs

Avec la solution stock de tobramycine (WS), diluer avec H₂O.

Name	WS	Vol [μl]	H ₂ O [μl]	Tot. [μl]	Conc. [μg/ml]
100	Stock solution	20	980	1000	100.0
50	100	500	500	1000	50.0
20	50	400	600	1000	20.0
10	20	500	500	1000	10.0
5	10	500	500	1000	5.0
2	5	400	600	1000	2.0
1	2	500	500	1000	1.0
0.5	1	500	500	1000	0.5
0.2	0.5	400	600	1000	0.2
0.1	0.2	500	500	1000	0.1
0.05	0.1	500	500	1000	0.05

SOP Tobramycine MS/MS PCL	PCL8
written by : Thomas Mercier, Ing chemist 02.06.15	Approved by Prof LA Decosterd
	Version : 1

Procédure

- Les échantillons sont dilués 100 fois avec l'H₂O.
- 30 µL d'échantillon sont remplis dans le vial en polypropylène.
- 90 µL de 2µg/mL de Tobramycine deutérée et de 10µg/mL de Gentamicine C1a dans l'acétonitrile contenant de 0.4% d'acide formique sont ajoutés dans le vial.
- Les vials sont vortexés, puis ils sont injectés (20 µl) dans LC-MS/MS.

ATTENTION :

- a) La tobramycine s'adsorbe sur le verre. Toujours utiliser du matériel en plastique (i.e. polypropylène)
- b) La gentamicine (C1a) doit être ajoutée dans les solutions des vials LC-MS/MS pour éviter l'adsorption de la tobramycine (la gentamicine sature des sites actifs)

Gradient

Le run dure 6 minutes.

Time (minutes)	A (%)	B (%)	Flow (µL/min)
0.00	20	80	300
0.10	20	80	300
0.20	70	30	300
2.40	70	30	300
2.50	20	80	300
6.00	20	80	300

Paramètres de LC/LC-MS

Colonne LC: Waters XBridge BEH Amide 2.1 x 50 mm, 2.5 µm no: 186006089

Volume d'injection: 20µl

Temperature du vial: 5°C

Instrument

Triple stage quadripôle (TSQ) Quantum Ultra mass spectrometer (MS) de Thermo Fischer Scientific, Inc., équipé avec un electro-spray ionization (ESI) interface et piloté avec Xcalibur 2.0.7 software (Thermo Fischer Scientific Inc, Waltham, MA).

Conditions de LC-MS/MS

Spray Voltage: 3800V

Sheath Gas Pressure: 60 arbitrary units

Auxiliary Gas Pressure: 10 arbitrary units

Capillary Temperature: 350°C

Source Collision Induced Dissociation (CID): 10V

Q2 Collision Gas Pressure: 1.0mTorr

Peak Width Q1: 1.50FWHM (Full-width half maximum)

Peak Width Q3: 1.50FWHM (Full-width half maximum)

Scan Width: 0.5m/z

Scan Time: 0.02s

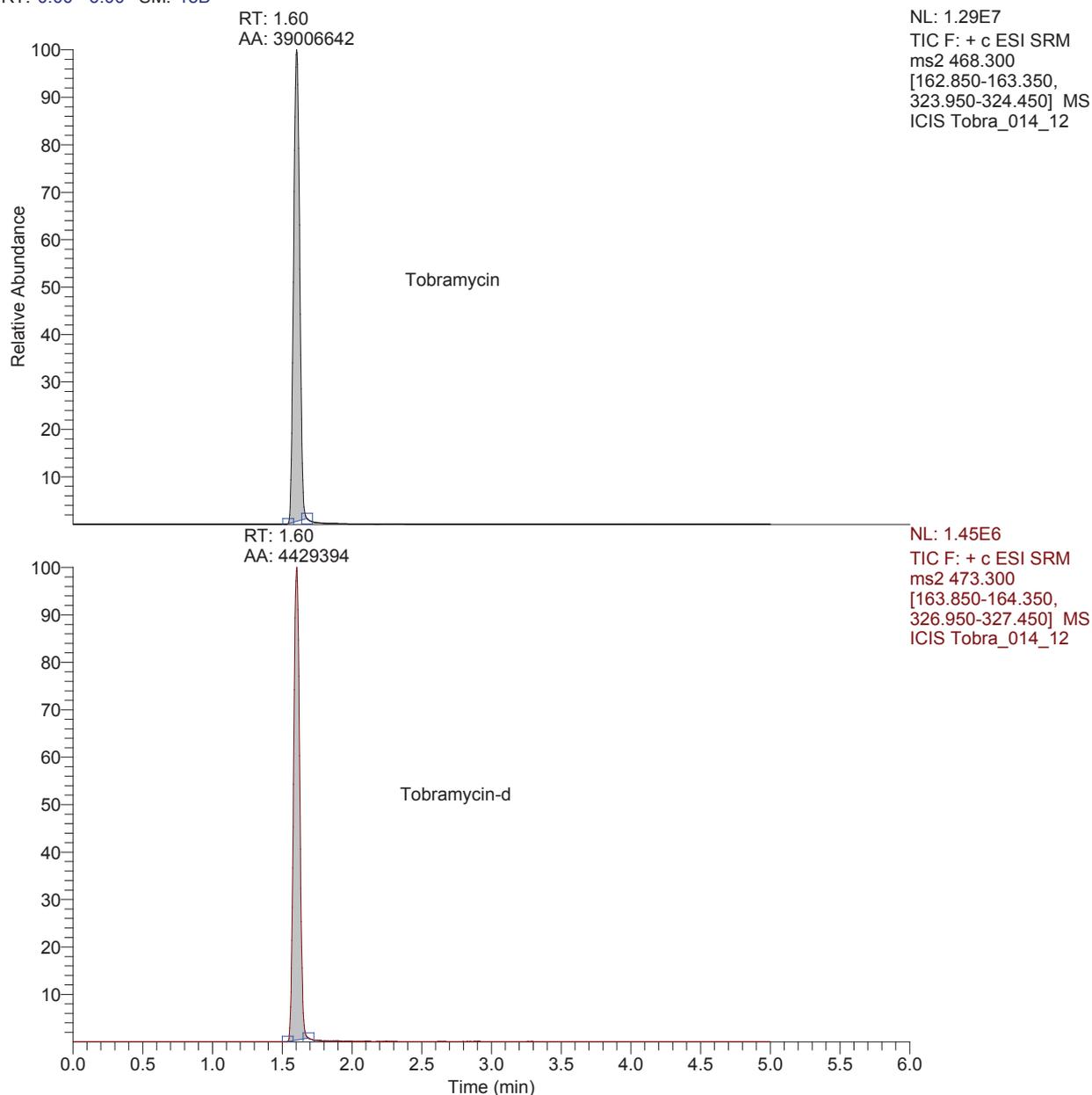
SOP Tobramycine MS/MS PCL	PCL8
written by : Thomas Mercier, Ing chemist 02.06.15	Approved by Prof LA Decosterd
	Version : 1

Détection de LC-MS/MS

Produit	Temps de retention	Transition <i>m/z</i>
Tobramycine	1.6 min	468.3 → 163.1 468.3 → 324.2
Tobramycine-d	1.6 min	473.3 → 164.1 473.3 → 327.2

Chromatogrammes (Tobramycine 10 µg/ml)

RT: 0.00 - 6.00 SM: 15B



ANNEXE 8 : Durée de la nébulisation

Tableau 10 : Durée de la nébulisation déterminée lors de la phase de validation de la perméabilité des filtres avec 5 nébuliseurs Aeroneb Solo

Filtre	Nébuliseur	Temps de nébulisation [min.]	Moyenne [min.]	Ecart-type [min.]	CV
Respirguard	1	13.42	12.74	3.18	25%
	2	18.00			
	3	10.23			
	4	11.25			
	5	10.78			
Clear-guard Midi	1	12.68	12.05	3.50	29%
	2	17.83			
	3	9.05			
	4	9.98			
	5	10.70			

ANNEXE 9 : Dosages de tobramycine

Quantité inspirée

Tableau 11: Quantités récoltées par les filtres inspiratoires

	A	B	C	D	E
Intermittent	34.7%	14.4%	15.2%	30.7%	7.8%
	33.7%	15.3%	34.0%	39.3%	17.7%
	32.2%	11.4%	29.2%	27.8%	11.1%
	33.8%	13.1%	22.3%	59.0%	16.1%
	36.9%	12.1%	15.8%	35.7%	13.4%
Moyenne	34.3%	13.3%	23.3%	38.5%	13.2%
Ecart-type	1.7%	1.6%	8.3%	12.3%	3.9%
CV	5.0%	12.1%	35.4%	31.9%	29.9%
	A	B	C	D	E
Continu	38.4%	13.9%	26.4%	27.6%	4.2%
	38.3%	25.8%	22.8%	26.5%	10.1%
	38.1%	13.3%	18.4%	26.4%	8.0%
	44.5%	11.8%	10.7%	51.1%	16.3%
	38.3%	26.4%	28.7%	35.9%	12.2%
Moyenne	39.5%	18.2%	21.4%	33.5%	10.1%
Ecart-type	2.8%	7.2%	7.1%	10.6%	4.6%
CV	7.0%	39.7%	33.4%	31.7%	44.9%

Quantité expirée

Tableau 12: Quantité récoltées par les filtres expiratoires

	A	B	C	D	E
Intermittent	34.6%	31.8%	11.4%	12.2%	4.0%
	34.6%	40.6%	9.1%	8.8%	6.3%
	37.1%	32.6%	17.4%	10.7%	4.3%
	42.7%	35.4%	15.8%	13.0%	7.8%
	43.5%	35.3%	20.4%	9.7%	5.8%
Moyenne	38.5%	35.1%	14.8%	10.9%	5.6%
Ecart-type	4.3%	3.4%	4.6%	1.7%	1.6%
CV	11.3%	9.8%	30.9%	16.0%	27.5%

	A	B	C	D	E
Continu	35.7%	33.1%	22.6%	11.6%	2.0%
	41.3%	35.2%	23.1%	10.9%	4.5%
	37.8%	21.2%	18.9%	9.7%	3.4%
	46.0%	29.3%	13.1%	13.4%	7.6%
	43.0%	21.3%	19.9%	9.8%	5.5%
Moyenne	40.8%	28.0%	19.5%	11.1%	4.6%
Ecart-type	4.1%	6.5%	4.0%	1.5%	2.2%
CV	10.1%	23.3%	20.4%	13.8%	46.9%

Quantité résiduelle

Tableau 13: Quantités récoltées dans le nébuliseur

	A	B	C	D	E
Intermittent	3.1%	1.0%	0.5%	32.4%	57.0%
	14.4%	1.9%	6.5%	41.8%	36.5%
	8.5%	0.7%	2.5%	19.9%	21.0%
	1.3%	1.6%	3.1%	15.5%	9.1%
	2.9%	2.7%	2.7%	50.2%	39.8%
Moyenne	6.1%	1.6%	3.1%	32.0%	32.7%
Ecart-type	5.4%	0.8%	2.2%	14.6%	18.4%
CV	89.0%	51.2%	72.0%	45.6%	56.2%
	A	B	C	D	E
Continu	1.5%	1.5%	1.0%	16.6%	89.5%
	6.6%	2.1%	13.7%	30.8%	23.6%
	10.5%	1.6%	4.3%	17.3%	18.0%
	1.4%	1.4%	3.0%	2.7%	1.5%
	2.1%	2.1%	0.8%	28.1%	22.3%
Moyenne	4.4%	1.7%	4.6%	19.1%	31.0%
Ecart-type	4.0%	0.3%	5.3%	11.1%	33.9%
CV	91.1%	19.7%	115.5%	58.2%	109.3%

Quantité déposée dans le reste du circuit

Tableau 14: Quantités présentes dans le reste du circuit (extrapolation)

	A	B	C	D	E
Intermittent	27.6%	52.8%	73.0%	24.7%	31.2%
	17.3%	42.2%	50.3%	10.1%	39.5%
	22.2%	55.3%	50.9%	41.6%	63.6%
	22.1%	49.9%	58.9%	12.5%	67.1%
	16.6%	49.9%	61.0%	4.4%	41.0%
Moyenne	21.2%	50.0%	58.8%	18.7%	48.5%
Ecart-type	4.4%	4.9%	9.2%	14.8%	15.9%
CV	20.9%	9.9%	15.7%	79.5%	32.7%
	A	B	C	D	E
Continu	24.4%	51.6%	50.0%	44.2%	4.4%
	13.8%	36.9%	40.5%	31.8%	61.8%
	13.6%	63.9%	58.4%	46.6%	70.6%
	8.0%	57.5%	73.2%	32.8%	74.6%
	16.7%	50.2%	50.5%	26.3%	59.9%
Moyenne	15.3%	52.0%	54.5%	36.3%	54.3%
Ecart-type	6.0%	10.1%	12.2%	8.7%	28.5%
CV	39.1%	19.3%	22.4%	23.9%	52.5%

Dosage de la marmite (seulement position E)

Tableau 15: Dosages des solutions de rinçage de la marmite en position E

Mode de nébulisation	Quantité retenue [%]	Mode de nébulisation	Quantité retenue [%]
Mode intermittent	10.0%	Mode continue	4.8%
	11.1%		14.2%
	14.1%		18.1%
	11.9%		14.4%
	10.2%		17.7%
Moyenne	11.5%	Moyenne	13.8%
Ecart-type	1.6%	Ecart-type	5.4%
CV	14.3%	CV	38.8%

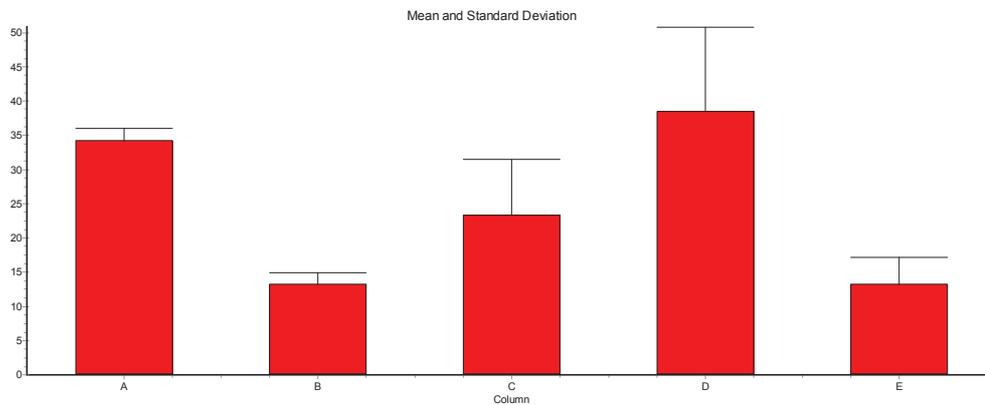
ANNEXE 10 : Traitement statistique des résultats

Quantité inspiré (mode intermittent)

Comparison	Mean Difference	q	P value	
E vs D	-25.280	8.616	***	P<0.001
E vs A	-21.040	7.171	***	P<0.001
E vs C	-10.080	3.436	ns	P>0.05
E vs B	-0.04000	---	ns	P>0.05
B vs A	-21.000	7.157	***	P<0.001
B vs C	-10.040	---	ns	P>0.05
B vs D	-25.240	8.603	***	P<0.001
C vs D	-15.200	5.181	**	P<0.01
C vs A	-10.960	3.735	*	P<0.05
A vs D	-4.240	1.445	ns	P>0.05

Group	n	Mean	SD	Standard Error of Mean	Median
A	5	34.260	1.727	0.7724	33.800
B	5	13.260	1.604	0.7174	13.100
C	5	23.300	8.249	3.689	22.300
D	5	38.500	12.289	5.496	35.700
E	5	13.220	3.946	1.764	13.400

Group	Minimum	Maximum	95% Confidence Interval	
			From	To
A	32.200	36.900	32.116	36.404
B	11.400	15.300	11.269	15.251
C	15.200	34.000	13.060	33.540
D	27.800	59.000	23.244	53.756
E	7.800	17.700	8.322	18.118

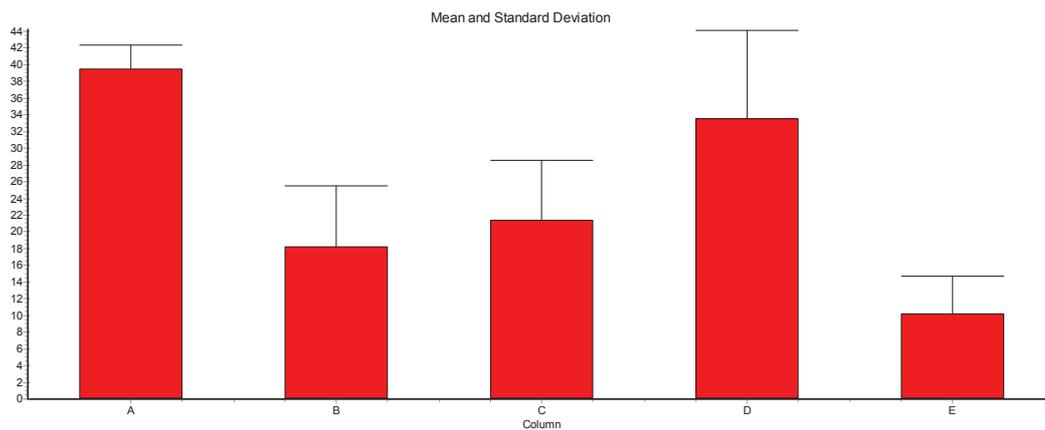


Quantité inspiré (mode continu)

Comparison	Mean Difference	q	P value
E vs A	-29.360	9.411	*** P<0.001
E vs D	-23.340	7.481	*** P<0.001
E vs C	-11.240	3.603	ns P>0.05
E vs B	-8.080	---	ns P>0.05
B vs A	-21.280	6.821	*** P<0.001
B vs D	-15.260	4.891	** P<0.01
B vs C	-3.160	---	ns P>0.05
C vs A	-18.120	5.808	** P<0.01
C vs D	-12.100	3.878	* P<0.05
D vs A	-6.020	1.930	ns P>0.05

Group	n	Mean	SD	Standard Error of Mean	Median
A	5	39.520	2.786	1.246	38.300
B	5	18.240	7.219	3.228	13.900
C	5	21.400	7.137	3.192	22.800
D	5	33.500	10.604	4.742	27.600
E	5	10.160	4.529	2.025	10.100

Group	Minimum	Maximum	95% Confidence Interval	
			From	To
A	38.100	44.500	36.061	42.979
B	11.800	26.400	9.278	27.202
C	10.700	28.700	12.540	30.260
D	26.400	51.100	20.336	46.664
E	4.200	16.300	4.537	15.783

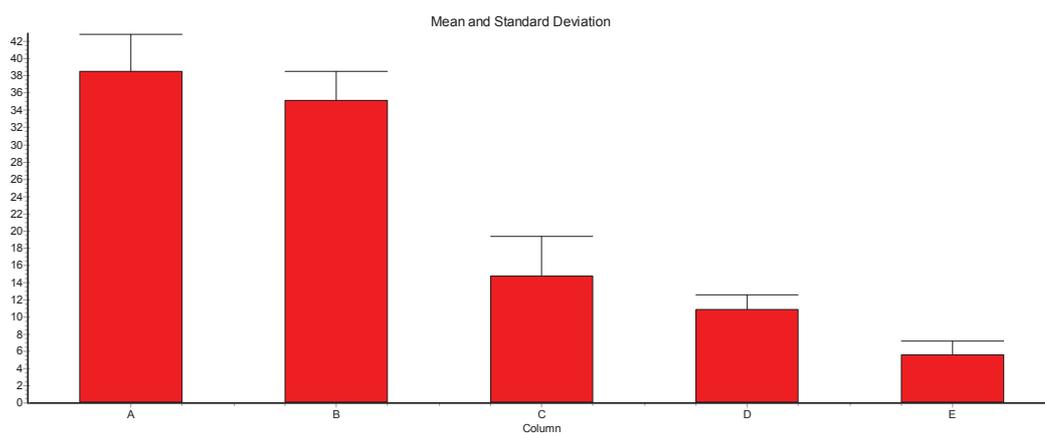


Quantité expiré (mode intermittent)

Comparison	Mean Difference	q	P value
E vs A	-32.860	23.418	*** P<0.001
E vs B	-29.500	21.024	*** P<0.001
E vs C	-9.180	6.542	*** P<0.001
E vs D	-5.240	3.734	* P<0.05
D vs A	-27.620	19.684	*** P<0.001
D vs B	-24.260	17.289	*** P<0.001
D vs C	-3.940	2.808	ns P>0.05
C vs A	-23.680	16.876	*** P<0.001
C vs B	-20.320	14.482	*** P<0.001
B vs A	-3.360	2.395	ns P>0.05

Group	n	Mean	SD	Standard Error of Mean	Median
A	5	38.500	4.331	1.937	37.100
B	5	35.140	3.446	1.541	35.300
C	5	14.820	4.560	2.039	15.800
D	5	10.880	1.731	0.7742	10.700
E	5	5.640	1.550	0.6933	5.800

Group	Minimum	Maximum	95% Confidence Interval	
			From	To
A	34.600	43.500	33.124	43.876
B	31.800	40.600	30.861	39.419
C	9.100	20.400	9.159	20.481
D	8.800	13.000	8.731	13.029
E	4.000	7.800	3.716	7.564

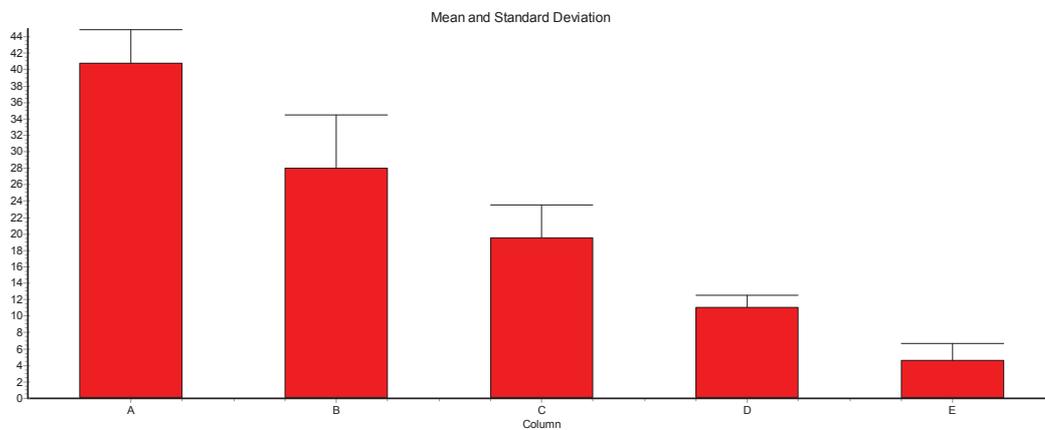


Quantité expiré (mode continu)

Comparison	Mean Difference	q	P value
E vs A	-36.160	20.019	*** P<0.001
E vs B	-23.420	12.966	*** P<0.001
E vs C	-14.920	8.260	*** P<0.001
E vs D	-6.480	3.587	* P<0.05
D vs A	-29.680	16.431	*** P<0.001
D vs B	-16.940	9.378	*** P<0.001
D vs C	-8.440	4.673	** P<0.01
C vs A	-21.240	11.759	*** P<0.001
C vs B	-8.500	4.706	** P<0.01
B vs A	-12.740	7.053	*** P<0.001

Group	n	Mean	SD	Standard Error of Mean	Median
A	5	40.760	4.097	1.832	41.300
B	5	28.020	6.532	2.921	29.300
C	5	19.520	4.001	1.790	19.900
D	5	11.080	1.519	0.6793	10.900
E	5	4.600	2.122	0.9492	4.500

Group	Minimum	Maximum	95% Confidence Interval	
			From	To
A	35.700	46.000	35.674	45.846
B	21.200	35.200	19.911	36.129
C	13.100	23.100	14.552	24.488
D	9.700	13.400	9.194	12.966
E	2.000	7.600	1.965	7.235

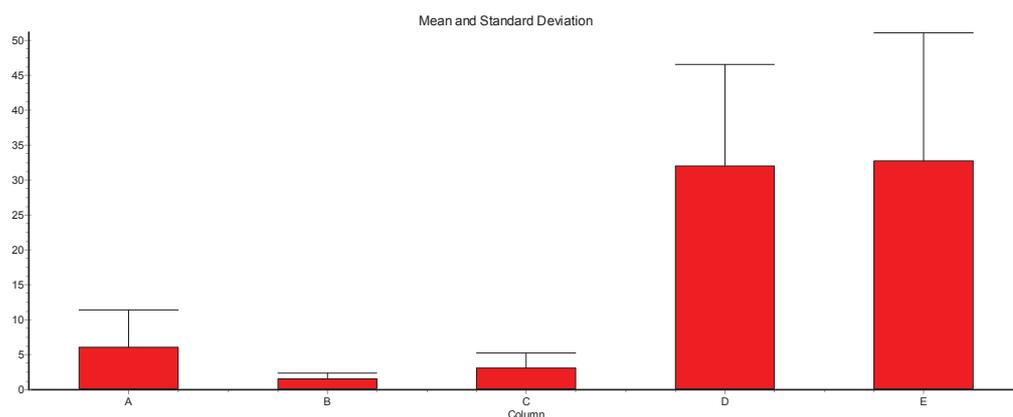


Quantité résiduelle (mode intermittent)

Comparison	Mean Difference	q	P value
B vs E	-31.100	7.130	*** P<0.001
B vs D	-30.380	6.965	*** P<0.001
B vs A	-4.460	1.023	ns P>0.05
B vs C	-1.480	---	ns P>0.05
C vs E	-29.620	6.791	** P<0.01
C vs D	-28.900	6.626	*** P<0.001
C vs A	-2.980	---	ns P>0.05
A vs E	-26.640	6.108	** P<0.01
A vs D	-25.920	5.943	*** P<0.001
D vs E	-0.7200	0.1651	ns P>0.05

Group	n	Mean	SD	Standard Error of Mean	Median
A	5	6.040	5.406	2.418	3.100
B	5	1.580	0.7855	0.3513	1.600
C	5	3.060	2.170	0.9704	2.700
D	5	31.960	14.544	6.504	32.400
E	5	32.680	18.366	8.213	36.500

Group	Minimum	Maximum	95% Confidence Interval	
			From	To
A	1.300	14.400	-0.6717	12.752
B	0.7000	2.700	0.6048	2.555
C	0.5000	6.500	0.3663	5.754
D	15.500	50.200	13.904	50.016
E	9.100	57.000	9.880	55.480



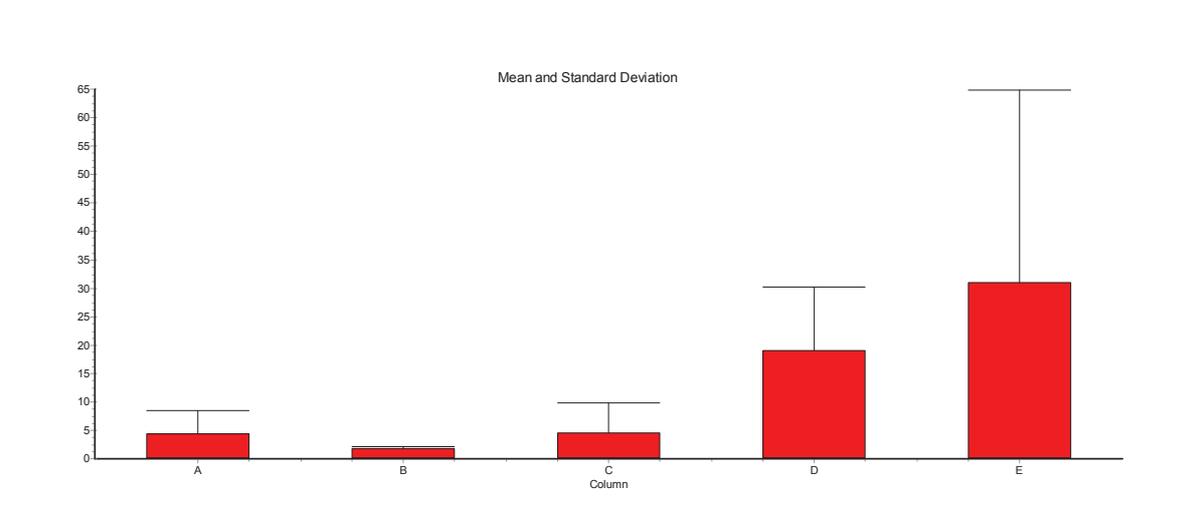
Quantité résiduelle (mode continu)

Comparison	Mean Difference	q	P value
B vs E	-29.240	4.040	ns P>0.05
B vs D	-17.360	---	ns P>0.05
B vs C	-2.820	---	ns P>0.05
B vs A	-2.680	---	ns P>0.05
A vs E	-26.560	---	ns P>0.05
A vs D	-14.680	---	ns P>0.05
A vs C	-0.1400	---	ns P>0.05
C vs E	-26.420	---	ns P>0.05
C vs D	-14.540	---	ns P>0.05
D vs E	-11.880	---	ns P>0.05

Group	KS	P Value	Passed normality test?
A	0.3179	>0.10	Yes
B	0.2615	>0.10	Yes
C	0.3195	>0.10	Yes
D	0.2112	>0.10	Yes
E	0.3862	0.0141	No

Group	n	Mean	SD	Standard Error of Mean	Median
A	5	4.420	4.023	1.799	2.100
B	5	1.740	0.3362	0.1503	1.600
C	5	4.560	5.312	2.375	3.000
D	5	19.100	11.139	4.982	17.300
E	5	30.980	33.882	15.152	22.300

Group	Minimum	Maximum	95% Confidence Interval	
			From	To
A	1.400	10.500	-0.5748	9.415
B	1.400	2.100	1.323	2.157
C	0.8000	13.700	-2.034	11.154
D	2.700	30.800	5.271	32.929
E	1.500	89.500	-11.083	73.043

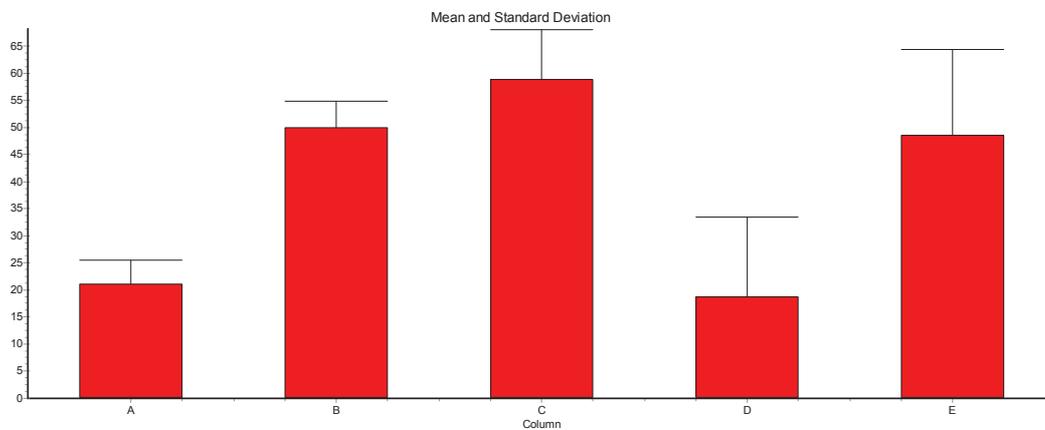


Quantité restant dans le circuit (mode intermittent)

Comparison	Mean Difference	q	P value
D vs C	-40.160	8.786	*** P<0.001
D vs B	-31.360	6.861	*** P<0.001
D vs E	-29.820	6.524	*** P<0.001
D vs A	-2.500	0.5470	ns P>0.05
A vs C	-37.660	8.239	*** P<0.001
A vs B	-28.860	6.314	** P<0.01
A vs E	-27.320	5.977	*** P<0.001
E vs C	-10.340	2.262	ns P>0.05
E vs B	-1.540	---	ns P>0.05
B vs C	-8.800	---	ns P>0.05

Group	n	Mean	SD	Standard Error of Mean	Median
A	5	21.160	4.448	1.989	22.100
B	5	50.020	4.919	2.200	49.900
C	5	58.820	9.235	4.130	58.900
D	5	18.660	14.810	6.623	12.500
E	5	48.480	15.894	7.108	41.000

Group	Minimum	Maximum	95% Confidence Interval	
			From	To
A	16.600	27.600	15.638	26.682
B	42.200	55.300	43.913	56.127
C	50.300	73.000	47.355	70.285
D	4.400	41.600	0.2745	37.046
E	31.200	67.100	28.748	68.212



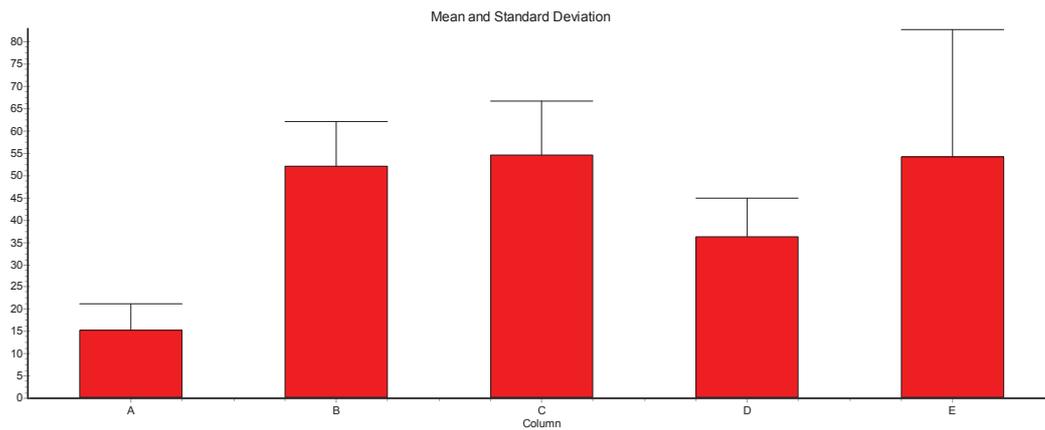
Quantité restant dans le circuit (mode continu)

Comparison	Mean Difference	q	P value
A vs C	-39.220	5.776	** P<0.01
A vs E	-38.960	5.738	** P<0.01
A vs B	-36.720	5.408	** P<0.01
A vs D	-21.040	3.099	* P<0.05
D vs C	-18.180	2.678	ns P>0.05
D vs E	-17.920	---	ns P>0.05
D vs B	-15.680	---	ns P>0.05
B vs C	-2.500	---	ns P>0.05
B vs E	-2.240	---	ns P>0.05
E vs C	-0.2600	---	ns P>0.05

Group	KS	P Value	Passed normality test?
A	0.2075	>0.10	Yes
B	0.2281	>0.10	Yes
C	0.2289	>0.10	Yes
D	0.2584	>0.10	Yes
E	0.3784	0.0183	No

Group	n	Mean	SD	Standard Error of Mean	Median
A	5	15.300	5.983	2.676	13.800
B	5	52.020	10.041	4.490	51.600
C	5	54.520	12.218	5.464	50.500
D	5	36.340	8.675	3.879	32.800
E	5	54.260	28.528	12.758	61.800

Group	Minimum	Maximum	95% Confidence Interval	
			From	To
A	8.000	24.400	7.872	22.728
B	36.900	63.900	39.555	64.485
C	40.500	73.200	39.351	69.689
D	26.300	46.600	25.571	47.109
E	4.400	74.600	18.843	89.677



ANNEXE 11 : Influence du nébuliseur utilisé

Quantité inspirée

Tableau 16: Quantités inspirés selon le nébuliseur utilisé (mode intermittent et continu)

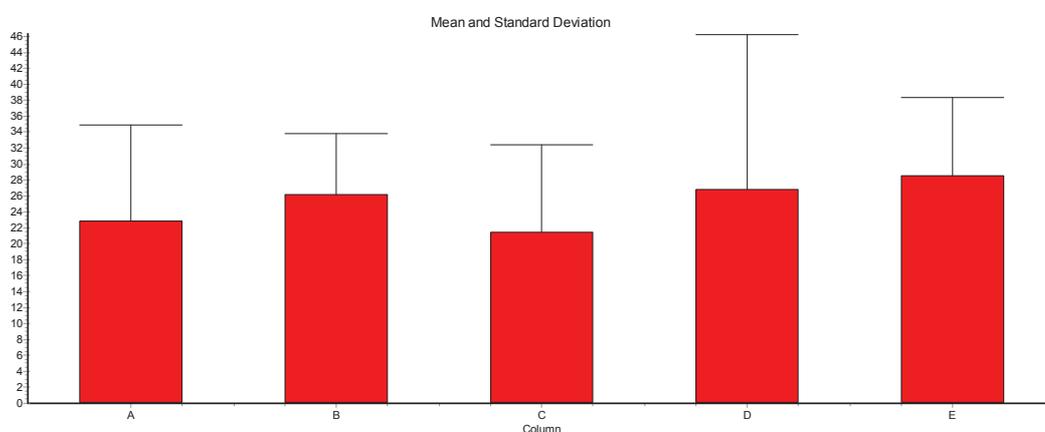
		Nébuliseur 1	Nébuliseur 2	Nébuliseur 3	Nébuliseur 4	Nébuliseur 5
Intermittent	A	34.7%	33.7%	32.2%	33.8%	36.9%
	B	14.4%	15.3%	11.4%	13.1%	12.1%
	C	15.2%	34.0%	29.2%	22.3%	15.8%
	D	30.7%	39.3%	27.8%	59.0%	35.7%
	E	7.8%	17.7%	11.1%	16.1%	13.4%
Continu	A	38.4%	38.3%	38.1%	44.5%	38.3%
	B	13.9%	25.8%	13.3%	11.8%	26.4%
	C	26.4%	22.8%	18.4%	10.7%	28.7%
	D	27.6%	26.5%	26.4%	51.1%	35.9%
	E	4.2%	10.1%	8.0%	16.3%	12.2%

Mode intermittent

Comparison	Mean Difference	q	P value
Nébuliseur 3 vs Nébuliseur 5	-7.080	2.264	ns P>0.05
Nébuliseur 3 vs Nébuliseur 4	-5.380	---	ns P>0.05
Nébuliseur 3 vs Nébuliseur 2	-4.760	---	ns P>0.05
Nébuliseur 3 vs Nébuliseur 1	-1.360	---	ns P>0.05
Nébuliseur 1 vs Nébuliseur 5	-5.720	---	ns P>0.05
Nébuliseur 1 vs Nébuliseur 4	-4.020	---	ns P>0.05
Nébuliseur 1 vs Nébuliseur 2	-3.400	---	ns P>0.05
Nébuliseur 2 vs Nébuliseur 5	-2.320	---	ns P>0.05
Nébuliseur 2 vs Nébuliseur 4	-0.6200	---	ns P>0.05
Nébuliseur 4 vs Nébuliseur 5	-1.700	---	ns P>0.05

Group	n	Mean	Standard		Median
			SD	Error of Mean	
Nébuliseur 1	5	22.820	12.079	5.402	26.400
Nébuliseur 2	5	26.220	7.591	3.395	25.800
Nébuliseur 3	5	21.460	11.006	4.922	18.400
Nébuliseur 4	5	26.840	19.381	8.667	16.100
Nébuliseur 5	5	28.540	9.788	4.378	28.700

Group	Minimum	Maximum	95% Confidence Interval	
			From	To
Nébuliseur 1	7.800	38.400	7.825	37.815
Nébuliseur 2	17.700	38.300	16.797	35.643
Nébuliseur 3	11.100	38.100	7.796	35.124
Nébuliseur 4	10.700	51.100	2.779	50.901
Nébuliseur 5	13.400	38.300	16.388	40.692

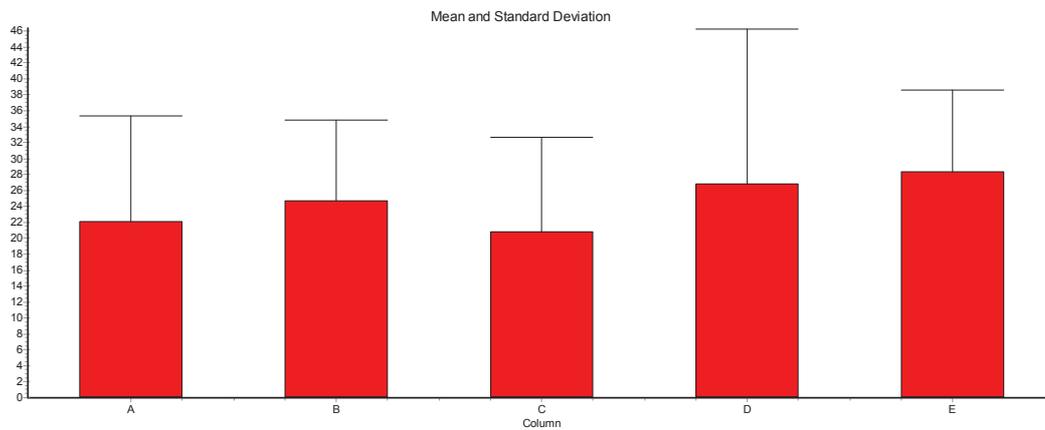


Mode continu

Comparison	Mean Difference	q	P value
Nébuliseur 3 vs Nébuliseur 5	-7.460	2.391	ns P>0.05
Nébuliseur 3 vs Nébuliseur 4	-6.040	---	ns P>0.05
Nébuliseur 3 vs Nébuliseur 2	-3.860	---	ns P>0.05
Nébuliseur 3 vs Nébuliseur 1	-1.260	---	ns P>0.05
Nébuliseur 1 vs Nébuliseur 5	-6.200	---	ns P>0.05
Nébuliseur 1 vs Nébuliseur 4	-4.780	---	ns P>0.05
Nébuliseur 1 vs Nébuliseur 2	-2.600	---	ns P>0.05
Nébuliseur 2 vs Nébuliseur 5	-3.600	---	ns P>0.05
Nébuliseur 2 vs Nébuliseur 4	-2.180	---	ns P>0.05
Nébuliseur 4 vs Nébuliseur 5	-1.420	---	ns P>0.05

Group	n	Mean	SD	Standard Error of Mean	Median
Nébuliseur 1	5	22.100	13.248	5.925	26.400
Nébuliseur 2	5	24.700	10.077	4.507	25.800
Nébuliseur 3	5	20.840	11.795	5.275	18.400
Nébuliseur 4	5	26.880	19.353	8.655	16.300
Nébuliseur 5	5	28.300	10.256	4.587	28.700

Group	Minimum	Maximum	95% Confidence Interval	
			From	To
Nébuliseur 1	4.200	38.400	5.653	38.547
Nébuliseur 2	10.100	38.300	12.190	37.210
Nébuliseur 3	8.000	38.100	6.197	35.483
Nébuliseur 4	10.700	51.100	2.853	50.907
Nébuliseur 5	12.200	38.300	15.568	41.032



Quantité expirée

Tableau 17: Quantités expirées selon le nébuliseur utilisé (mode intermittent et continu)

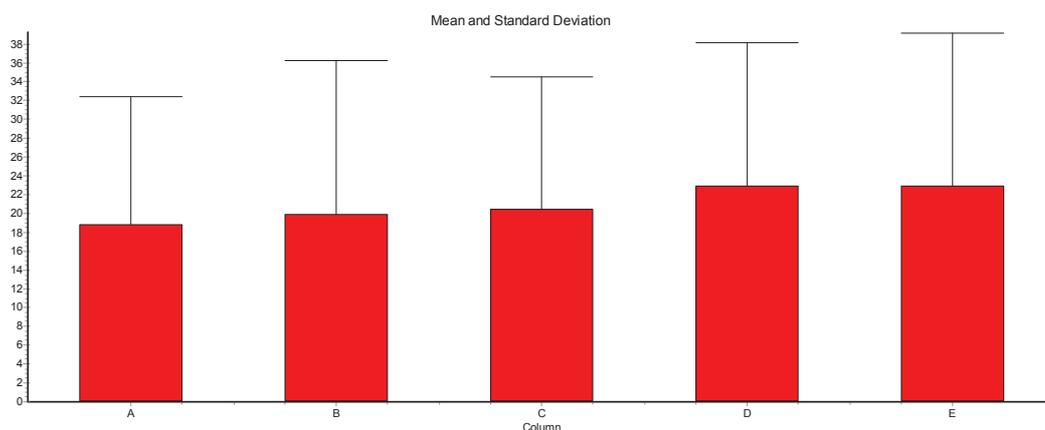
		Nébuliseur 1	Nébuliseur 2	Nébuliseur 3	Nébuliseur 4	Nébuliseur 5
Intermittent	A	34.6%	34.6%	37.1%	42.7%	43.5%
	B	31.8%	40.6%	32.6%	35.4%	35.3%
	C	11.4%	9.1%	17.4%	15.8%	20.4%
	D	12.2%	8.8%	10.7%	13.0%	9.7%
	E	4.0%	6.3%	4.3%	7.8%	5.8%
Continu	A	35.7%	41.3%	37.8%	46.0%	43.0%
	B	33.1%	35.2%	21.2%	29.3%	21.3%
	C	22.6%	23.1%	18.9%	13.1%	19.9%
	D	11.6%	10.9%	9.7%	13.4%	9.8%
	E	2.0%	4.5%	3.4%	7.6%	5.5%

Mode intermittent

Comparison	Mean Difference	q	P value
Nébuliseur 1 vs Nébuliseur 4	-4.140	2.950	ns P>0.05
Nébuliseur 1 vs Nébuliseur 5	-4.140	---	ns P>0.05
Nébuliseur 1 vs Nébuliseur 3	-1.620	---	ns P>0.05
Nébuliseur 1 vs Nébuliseur 2	-1.080	---	ns P>0.05
Nébuliseur 2 vs Nébuliseur 4	-3.060	---	ns P>0.05
Nébuliseur 2 vs Nébuliseur 5	-3.060	---	ns P>0.05
Nébuliseur 2 vs Nébuliseur 3	-0.5400	---	ns P>0.05
Nébuliseur 3 vs Nébuliseur 4	-2.520	---	ns P>0.05
Nébuliseur 3 vs Nébuliseur 5	-2.520	---	ns P>0.05
Nébuliseur 5 vs Nébuliseur 4	-1.735E-18	---	ns P>0.05

Group	n	Mean	Standard		Median
			SD	Error of Mean	
Nébuliseur 1	5	18.800	13.565	6.066	12.200
Nébuliseur 2	5	19.880	16.351	7.312	9.100
Nébuliseur 3	5	20.420	14.054	6.285	17.400
Nébuliseur 4	5	22.940	15.205	6.800	15.800
Nébuliseur 5	5	22.940	16.210	7.249	20.400

Group	Minimum	Maximum	95% Confidence Interval	
			From	To
Nébuliseur 1	4.000	34.600	1.960	35.640
Nébuliseur 2	6.300	40.600	-0.4189	40.179
Nébuliseur 3	4.300	37.100	2.973	37.867
Nébuliseur 4	7.800	42.700	4.064	41.816
Nébuliseur 5	5.800	43.500	2.816	43.064

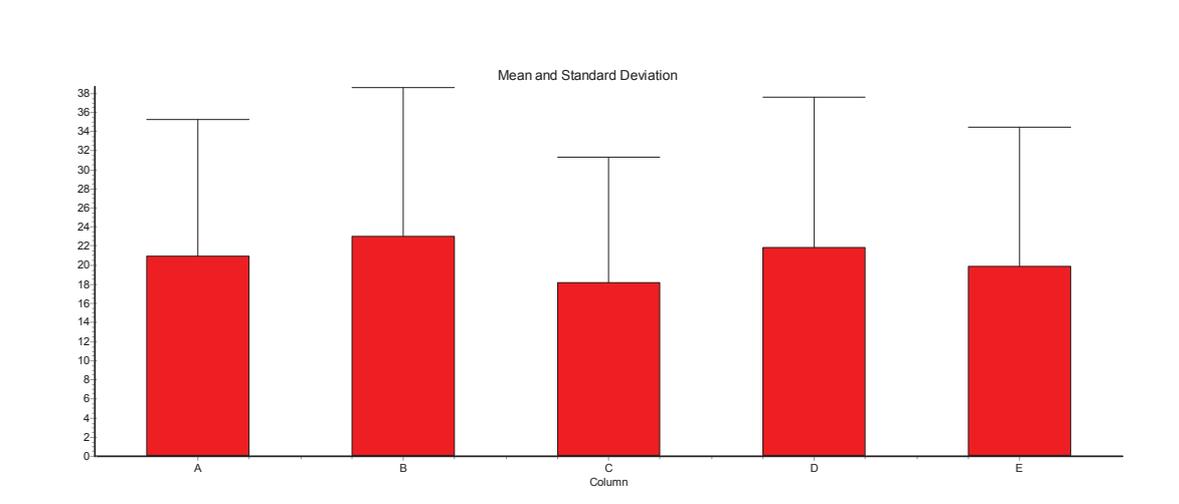


Mode continu

Comparison	Mean Difference	q	P value
Nébuliseur 3 vs Nébuliseur 2	-4.800	2.657	ns P>0.05
Nébuliseur 3 vs Nébuliseur 4	-3.680	---	ns P>0.05
Nébuliseur 3 vs Nébuliseur 1	-2.800	---	ns P>0.05
Nébuliseur 3 vs Nébuliseur 5	-1.700	---	ns P>0.05
Nébuliseur 5 vs Nébuliseur 2	-3.100	---	ns P>0.05
Nébuliseur 5 vs Nébuliseur 4	-1.980	---	ns P>0.05
Nébuliseur 5 vs Nébuliseur 1	-1.100	---	ns P>0.05
Nébuliseur 1 vs Nébuliseur 2	-2.000	---	ns P>0.05
Nébuliseur 1 vs Nébuliseur 4	-0.8800	---	ns P>0.05
Nébuliseur 4 vs Nébuliseur 2	-1.120	---	ns P>0.05

Group	n	Mean	Standard		Median
			SD	Error of Mean	
Nébuliseur 1	5	21.000	14.269	6.381	22.600
Nébuliseur 2	5	23.000	15.592	6.973	23.100
Nébuliseur 3	5	18.200	13.086	5.852	18.900
Nébuliseur 4	5	21.880	15.730	7.035	13.400
Nébuliseur 5	5	19.900	14.534	6.500	19.900

Group	Minimum	Maximum	95% Confidence Interval	
			From	To
Nébuliseur 1	2.000	35.700	3.286	38.714
Nébuliseur 2	4.500	41.300	3.643	42.357
Nébuliseur 3	3.400	37.800	1.955	34.445
Nébuliseur 4	7.600	46.000	2.352	41.408
Nébuliseur 5	5.500	43.000	1.857	37.943



Quantité résiduelle

Tableau 18: Quantités résiduelles selon le nébuliseur utilisé (mode intermittent et continu)

		Nébuliseur 1	Nébuliseur 2	Nébuliseur 3	Nébuliseur 4	Nébuliseur 5
Intermittent	A	3.1%	14.4%	8.5%	1.3%	2.9%
	B	1.0%	1.9%	0.7%	1.6%	2.7%
	C	0.5%	6.5%	2.5%	3.1%	2.7%
	D	32.4%	41.8%	19.9%	15.5%	50.2%
	E	57.0%	36.5%	21.0%	9.0%	39.8%
Continu	A	1.5%	6.6%	10.5%	1.4%	2.1%
	B	1.5%	2.1%	1.6%	1.4%	2.1%
	C	1.0%	13.7%	4.3%	3.0%	0.8%
	D	16.6%	30.8%	17.3%	2.7%	28.1%
	E	89.5%	23.6%	18.0%	1.5%	22.3%

Mode intermittent

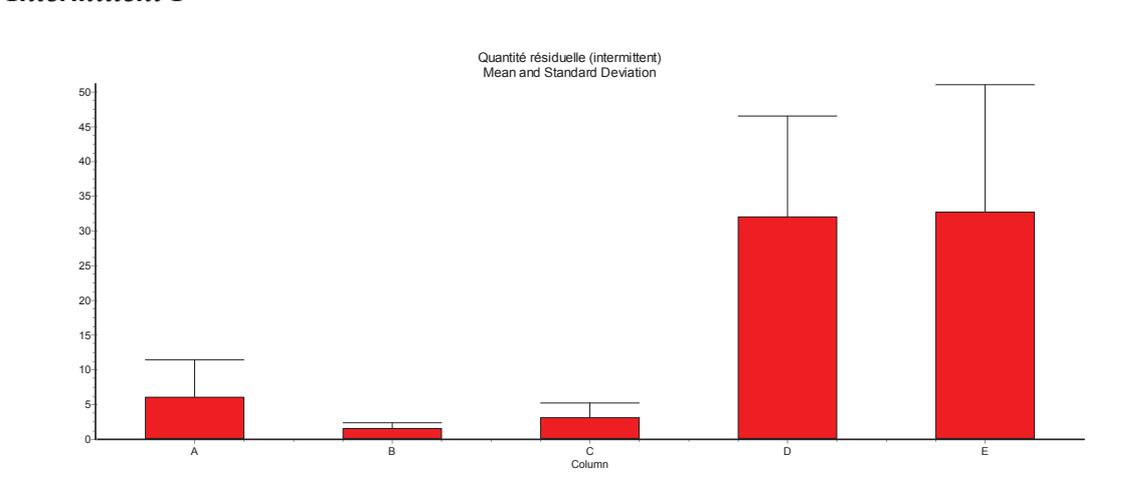
Comparison	Mean Difference	q	P value
Nébuliseur 4 vs Nébuliseur 2	-14.100	3.233	ns P>0.05
Nébuliseur 4 vs Nébuliseur 5	-13.540	---	ns P>0.05
Nébuliseur 4 vs Nébuliseur 1	-12.680	---	ns P>0.05
Nébuliseur 4 vs Nébuliseur 3	-4.400	---	ns P>0.05
Nébuliseur 3 vs Nébuliseur 2	-9.700	---	ns P>0.05
Nébuliseur 3 vs Nébuliseur 5	-9.140	---	ns P>0.05
Nébuliseur 3 vs Nébuliseur 1	-8.280	---	ns P>0.05
Nébuliseur 1 vs Nébuliseur 2	-1.420	---	ns P>0.05
Nébuliseur 1 vs Nébuliseur 5	-0.8600	---	ns P>0.05
Nébuliseur 5 vs Nébuliseur 2	-0.5600	---	ns P>0.05

Group	KS	P Value	Passed normality test?
Nébuliseur 1	0.3333	0.0725	Yes
Nébuliseur 2	0.2271	>0.10	Yes
Nébuliseur 3	0.2377	>0.10	Yes
Nébuliseur 4	0.2892	>0.10	Yes
Nébuliseur 5	0.3628	0.0302	No

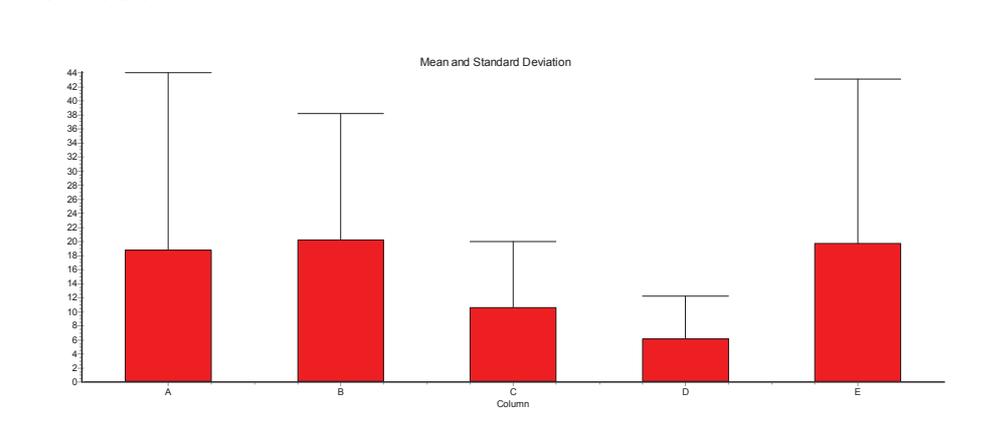
Group	n	Mean	SD	Standard	
				Error of Mean	Median
Nébuliseur 1	5	18.800	25.211	11.275	3.100
Nébuliseur 2	5	20.220	17.948	8.026	14.400
Nébuliseur 3	5	10.520	9.522	4.258	8.500
Nébuliseur 4	5	6.120	6.117	2.735	3.100
Nébuliseur 5	5	19.660	23.423	10.475	2.900

Group	Minimum	Maximum	95% Confidence Interval	
			From	To
Nébuliseur 1	0.5000	57.000	-12.499	50.099
Nébuliseur 2	1.900	41.800	-2.061	42.501
Nébuliseur 3	0.7000	21.000	-1.301	22.341
Nébuliseur 4	1.300	15.500	-1.473	13.713
Nébuliseur 5	2.700	50.200	-9.418	48.738

Intermittent 1



Intermittent 2



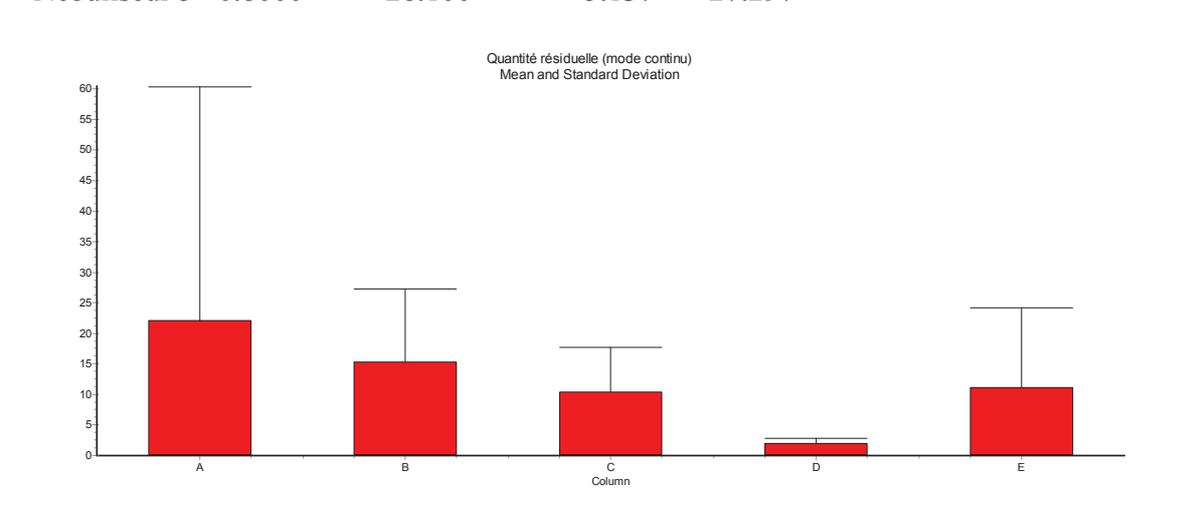
Mode continu

Comparison	Difference	q	P value
Nébuliseur 4 vs Nébuliseur 1	-20.020	2.766	ns P>0.05
Nébuliseur 4 vs Nébuliseur 2	-13.360	---	ns P>0.05
Nébuliseur 4 vs Nébuliseur 5	-9.080	---	ns P>0.05
Nébuliseur 4 vs Nébuliseur 3	-8.340	---	ns P>0.05
Nébuliseur 3 vs Nébuliseur 1	-11.680	---	ns P>0.05
Nébuliseur 3 vs Nébuliseur 2	-5.020	---	ns P>0.05
Nébuliseur 3 vs Nébuliseur 5	-0.7400	---	ns P>0.05
Nébuliseur 5 vs Nébuliseur 1	-10.940	---	ns P>0.05
Nébuliseur 5 vs Nébuliseur 2	-4.280	---	ns P>0.05
Nébuliseur 2 vs Nébuliseur 1	-6.660	---	ns P>0.05

Group	KS	P Value	Passed normality test?
Nébuliseur 1	0.3563	0.0370	No
Nébuliseur 2	0.1701	>0.10	Yes
Nébuliseur 3	0.2260	>0.10	Yes
Nébuliseur 4	0.3381	0.0632	Yes
Nébuliseur 5	0.3541	0.0395	No

Group	n	Mean	SD	Standard	
				Error of Mean	Median
Nébuliseur 1	5	22.020	38.298	17.127	1.500
Nébuliseur 2	5	15.360	11.849	5.299	13.700
Nébuliseur 3	5	10.340	7.416	3.317	10.500
Nébuliseur 4	5	2.000	0.7842	0.3507	1.500
Nébuliseur 5	5	11.080	13.063	5.842	2.100

Group	Minimum	Maximum	95% Confidence Interval	
			From	To
Nébuliseur 1	1.000	89.500	-25.525	69.565
Nébuliseur 2	2.100	30.800	0.6497	30.070
Nébuliseur 3	1.600	18.000	1.133	19.547
Nébuliseur 4	1.400	3.000	1.026	2.974
Nébuliseur 5	0.8000	28.100	-5.137	27.297



Quantité déposée dans le reste du circuit

Tableau 19: Quantités déposées dans le reste du circuit selon le nébuliseur utilisé (mode intermittent et continu)

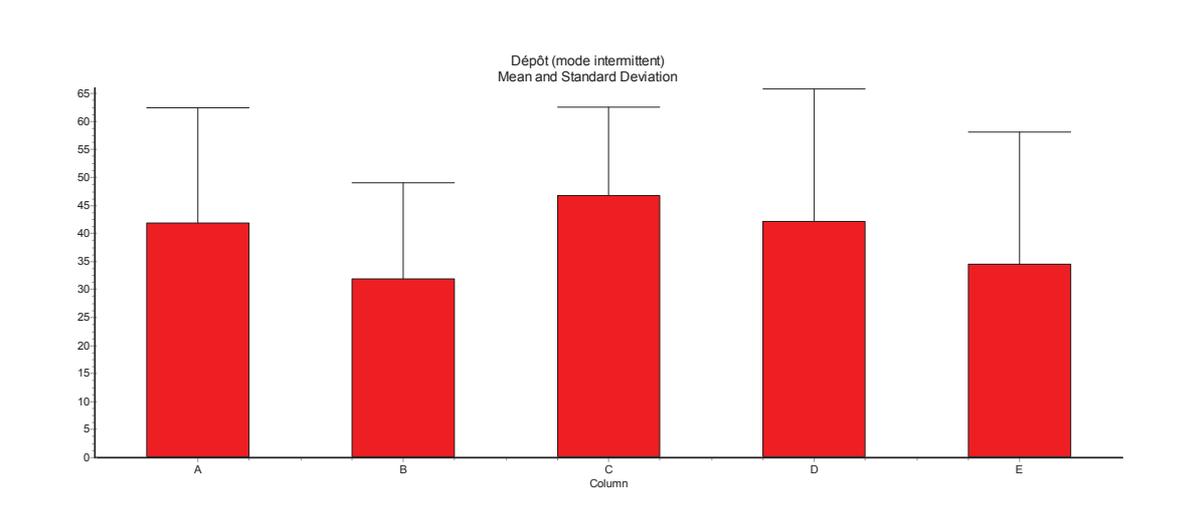
		Nébuliseur 1	Nébuliseur 2	Nébuliseur 3	Nébuliseur 4	Nébuliseur 5
Intermittent	A	27.6%	17.3%	22.2%	22.1%	16.6%
	B	52.8%	42.2%	55.3%	49.9%	49.9%
	C	73.0%	50.3%	50.9%	58.9%	61.0%
	D	24.7%	10.1%	41.6%	12.5%	4.4%
	E	31.2%	39.5%	63.6%	67.1%	41.0%
Continu	A	24.4%	13.8%	13.6%	8.0%	16.7%
	B	51.6%	36.9%	63.9%	57.5%	50.2%
	C	50.0%	40.5%	58.4%	73.2%	50.5%
	D	44.2%	31.8%	46.6%	32.8%	26.3%
	E	4.4%	61.8%	70.6%	74.6%	59.9%

Mode intermittent

Comparison	Difference	q	P value
Nébuliseur 2 vs Nébuliseur 3	-14.840	3.247	ns P>0.05
Nébuliseur 2 vs Nébuliseur 4	-10.220	---	ns P>0.05
Nébuliseur 2 vs Nébuliseur 1	-9.980	---	ns P>0.05
Nébuliseur 2 vs Nébuliseur 5	-2.700	---	ns P>0.05
Nébuliseur 5 vs Nébuliseur 3	-12.140	---	ns P>0.05
Nébuliseur 5 vs Nébuliseur 4	-7.520	---	ns P>0.05
Nébuliseur 5 vs Nébuliseur 1	-7.280	---	ns P>0.05
Nébuliseur 1 vs Nébuliseur 3	-4.860	---	ns P>0.05
Nébuliseur 1 vs Nébuliseur 4	-0.2400	---	ns P>0.05
Nébuliseur 4 vs Nébuliseur 3	-4.620	---	ns P>0.05

Group	n	Mean	Standard		Median
			SD	Error of Mean	
Nébuliseur 1	5	41.860	20.621	9.222	31.200
Nébuliseur 2	5	31.880	17.254	7.716	39.500
Nébuliseur 3	5	46.720	15.839	7.083	50.900
Nébuliseur 4	5	42.100	23.687	10.593	49.900
Nébuliseur 5	5	34.580	23.495	10.507	41.000

Group	Minimum	Maximum	95% Confidence Interval	
			From	To
Nébuliseur 1	24.700	73.000	16.260	67.460
Nébuliseur 2	10.100	50.300	10.460	53.300
Nébuliseur 3	22.200	63.600	27.057	66.383
Nébuliseur 4	12.500	67.100	12.694	71.506
Nébuliseur 5	4.400	61.000	5.412	63.748

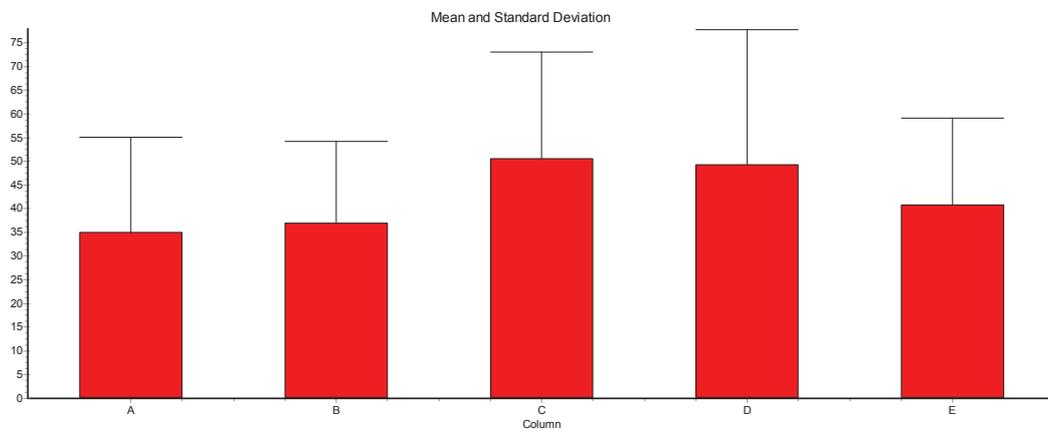


Mode continu

Comparison	Mean Difference	q	P value
Nébuliseur 1 vs Nébuliseur 3	-15.700	2.312	ns P>0.05
Nébuliseur 1 vs Nébuliseur 4	-14.300	---	ns P>0.05
Nébuliseur 1 vs Nébuliseur 5	-5.800	---	ns P>0.05
Nébuliseur 1 vs Nébuliseur 2	-2.040	---	ns P>0.05
Nébuliseur 2 vs Nébuliseur 3	-13.660	---	ns P>0.05
Nébuliseur 2 vs Nébuliseur 4	-12.260	---	ns P>0.05
Nébuliseur 2 vs Nébuliseur 5	-3.760	---	ns P>0.05
Nébuliseur 5 vs Nébuliseur 3	-9.900	---	ns P>0.05
Nébuliseur 5 vs Nébuliseur 4	-8.500	---	ns P>0.05
Nébuliseur 4 vs Nébuliseur 3	-1.400	---	ns P>0.05

Group	n	Mean	Standard		Median
			SD	Error of Mean	
Nébuliseur 1	5	34.920	20.211	9.038	44.200
Nébuliseur 2	5	36.960	17.267	7.722	36.900
Nébuliseur 3	5	50.620	22.487	10.057	58.400
Nébuliseur 4	5	49.220	28.533	12.760	57.500
Nébuliseur 5	5	40.720	18.291	8.180	50.200

Group	Minimum	Maximum	95% Confidence Interval	
			From	To
Nébuliseur 1	4.400	51.600	9.829	60.011
Nébuliseur 2	13.800	61.800	15.524	58.396
Nébuliseur 3	13.600	70.600	22.703	78.537
Nébuliseur 4	8.000	74.600	13.798	84.642
Nébuliseur 5	16.700	59.900	18.012	63.428



ANNEXE 12 : Dosages des nébulisations répétées

Quantité inspirée

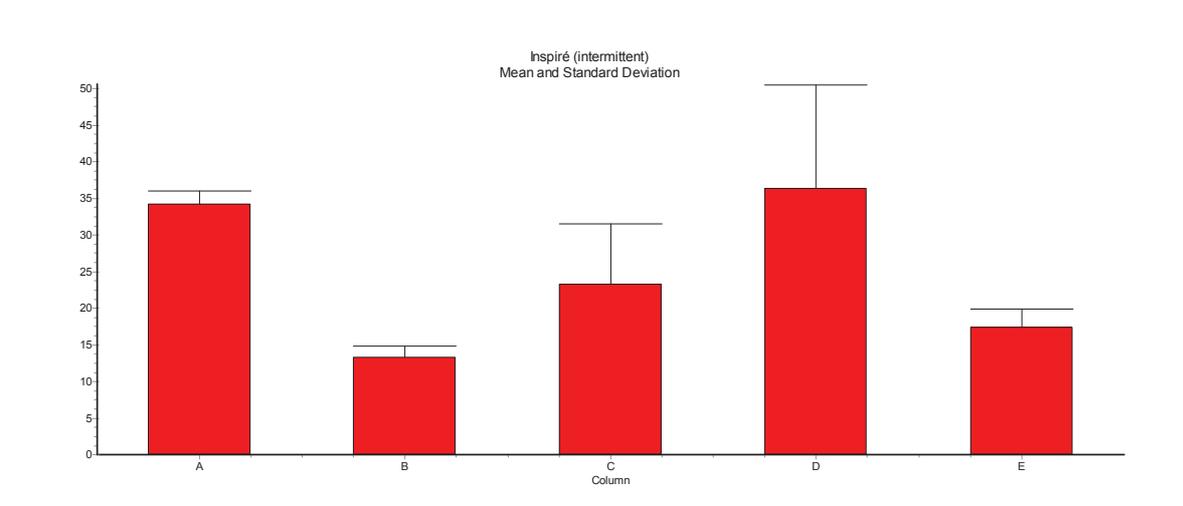
Tableau 20: Quantités inspirée de tobramycine par rapport à la dose initiale (positions D et E avec des nébuliseurs neufs)

	D	E
Intermittent	46.8%	14.5%
	27.9%	19.9%
	36.7%	20.0%
	52.7%	17.0%
	17.5%	15.5%
Moyenne	36.3%	17.4%
Ecart-type	14.2%	2.5%
CV	39.0%	14.5%

Comparison	Mean Difference	q	P value
A vs B	-21.000	6.173	** P<0.01
A vs C	-10.960	3.222	* P<0.05
A vs D	-2.060	0.6056	ns P>0.05
A vs E	-16.880	4.962	** P<0.01
B vs C	-10.040	2.951	ns P>0.05
B vs D	-23.060	6.779	** P<0.01
B vs E	-4.120	---	ns P>0.05
C vs D	-13.020	3.828	* P<0.05
C vs E	-5.920	---	ns P>0.05
D vs E	-18.940	5.568	** P<0.01

Group	n	Mean	Standard SD	Error of Mean	Median
A	5	34.260	1.727	0.7724	33.800
B	5	13.260	1.604	0.7174	13.100
C	5	23.300	8.249	3.689	22.300
D	5	36.320	14.172	6.338	36.700
E	5	17.380	2.509	1.122	17.000

Group	Minimum	Maximum	95% Confidence Interval	
A	32.200	36.900	32.116	36.404
B	11.400	15.300	11.269	15.251
C	15.200	34.000	13.060	33.540
D	17.500	52.700	18.726	53.914
E	14.500	20.000	14.265	20.495



Quantité expirée

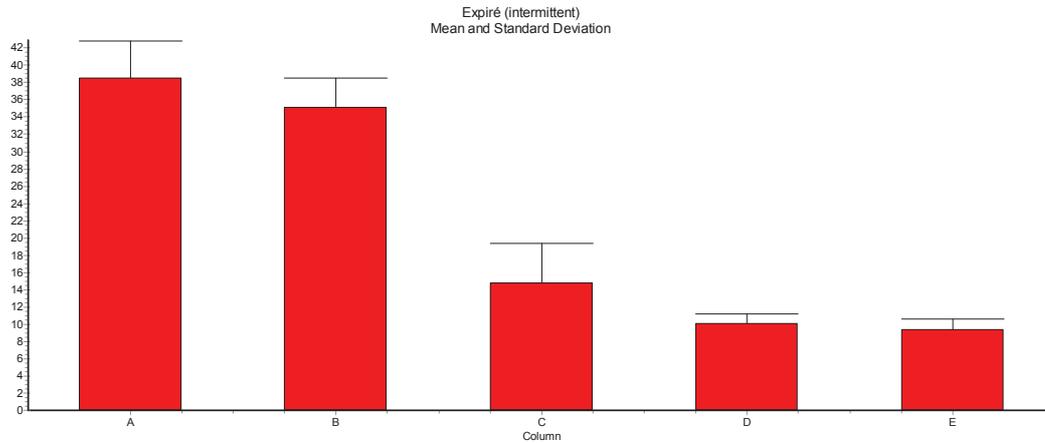
Tableau 21: Quantités expirées de tobramycine par rapport à la dose initiale (positions D et E avec des nébuliseurs neufs)

	D	E
Intermittent	9.9%	7.5%
	11.4%	9.9%
	8.8%	10.6%
	9.1%	9.8%
	11.1%	9.0%
Moyenne	10.1%	9.4%
Ecart-type	1.1%	1.2%
CV	11.3%	12.4%

Comparison	Mean Difference	q	P value
A vs B	-3.360	2.436	ns P>0.05
A vs C	-23.680	17.167	*** P<0.001
A vs D	-28.440	20.617	*** P<0.001
A vs E	-29.140	21.125	*** P<0.001
B vs C	-20.320	14.731	*** P<0.001
B vs D	-25.080	18.182	*** P<0.001
B vs E	-25.780	18.689	*** P<0.001
C vs D	-4.760	3.451	* P<0.05
C vs E	-5.460	3.958	* P<0.05
D vs E	-0.7000	0.5075	ns P>0.05

Group	n	Mean	SD	Standard Error of Mean	Median
A	5	38.500	4.331	1.937	37.100
B	5	35.140	3.446	1.541	35.300
C	5	14.820	4.560	2.039	15.800
D	5	10.060	1.163	0.5202	9.900
E	5	9.360	1.184	0.5297	9.800

Group	95% Confidence Interval			
	Minimum	Maximum	From	To
A	34.600	43.500	33.124	43.876
B	31.800	40.600	30.861	39.419
C	9.100	20.400	9.159	20.481
D	8.800	11.400	8.616	11.504
E	7.500	10.600	7.890	10.830



Quantité résiduelle

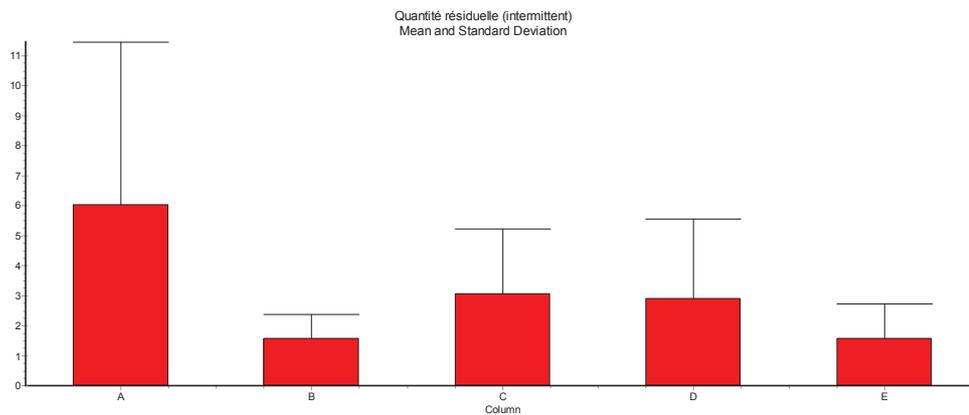
Tableau 22: Quantités résiduelles de tobramycine par rapport à la dose initiale (positions D et E avec des nébuliseurs neufs)

	D	E
Intermittent	2.2%	3.6%
	0.6%	0.9%
	5.7%	1.0%
	0.4%	1.1%
	5.7%	1.3%
Moyenne	2.9%	1.6%
Ecart-type	2.6%	1.1%
CV	90.5%	71.9%

Comparison	Mean Difference	q	P value
A vs B	-4.460	---	ns P>0.05
A vs C	-2.980	---	ns P>0.05
A vs D	-3.120	---	ns P>0.05
A vs E	-4.460	3.420	ns P>0.05
B vs C	-1.480	---	ns P>0.05
B vs D	-1.340	---	ns P>0.05
B vs E	-2.168E-19	---	ns P>0.05
C vs D	-0.1400	---	ns P>0.05
C vs E	-1.480	---	ns P>0.05
D vs E	-1.340	---	ns P>0.05

Group	n	Mean	SD	Standard Error of Mean	Median
A	5	6.040	5.406	2.418	3.100
B	5	1.580	0.7855	0.3513	1.600
C	5	3.060	2.170	0.9704	2.700
D	5	2.920	2.632	1.177	2.200
E	5	1.580	1.139	0.5093	1.100

Group	Minimum	Maximum	95% Confidence Interval	
			From	To
A	1.300	14.400	-0.6717	12.752
B	0.7000	2.700	0.6048	2.555
C	0.5000	6.500	0.3663	5.754
D	0.4000	5.700	-0.3474	6.187
E	0.9000	3.600	0.1661	2.994



Quantité déposée dans le reste du circuit

Tableau 23: Quantités déposées dans le reste du circuit de tobramycine par rapport à la dose initiale (positions D et E avec des nébuliseurs neufs)

	D	E
Intermittent	41.0%	74.4%
	60.1%	69.2%
	48.8%	68.5%
	37.8%	72.1%
	65.7%	74.2%
Moyenne	50.7%	71.7%
Ecart-type	12.0%	2.8%
CV	23.8%	3.8%

Comparison	Mean Difference	q	P value
A vs B	-28.860	8.354	*** P<0.001
A vs C	-37.660	10.902	*** P<0.001
A vs D	-29.520	8.545	*** P<0.001
A vs E	-50.520	14.625	*** P<0.001
B vs C	-8.800	2.547	ns P>0.05
B vs D	-0.6600	---	ns P>0.05
B vs E	-21.660	6.270	** P<0.01
C vs D	-8.140	---	ns P>0.05
C vs E	-12.860	3.723	* P<0.05
D vs E	-21.000	6.079	** P<0.01

Group	n	Mean	SD	Standard Error of Mean	Median
A	5	21.160	4.448	1.989	22.100
B	5	50.020	4.919	2.200	49.900
C	5	58.820	9.235	4.130	58.900
D	5	50.680	12.015	5.373	48.800
E	5	71.680	2.747	1.229	72.100

Group	Minimum	Maximum	95% Confidence Interval	
			From	To
A	16.600	27.600	15.638	26.682
B	42.200	55.300	43.913	56.127
C	50.300	73.000	47.355	70.285
D	37.800	65.700	35.763	65.597
E	68.500	74.400	68.269	75.091

