

Ministère de l'Enseignement Supérieur  
et de la Recherche Scientifique  
Université Mouloud Mammeri  
FACULTE DE MEDECINE  
TIZI OUZOU



وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

جامعة مولود معمري  
كلية الطب  
تيزي وزو

ⵜⴰⴳⴷⴰⵢⵜ ⵜⴰⵎⴻⵔⴰⵏⵜ ⵜⴰⵖⴻⵔⴰⵏⵜ ⵜⴰⵙⴻⵎⴻⵔⴰⵏⵜ

Département de Pharmacie

فرع الصيدلة

## Mémoire de fin d'étude

Présenté et soutenu publiquement

Le 22 Juillet 2021

En vue de l'obtention du diplôme de Docteur en pharmacie

# Suivi thérapeutique pharmacologique du méthotrexate à hautes doses chez les patients atteints d'hémopathies malignes

Réalisé par :

BENTALEB Khadidja      BOUKADOUM Meriem

BOUMZAR Chanez      TAIR Yasmine

Encadré par :

Promotrice : Dr SADOU Salima

Co-promoteur : Dr YAMANI Arezki

Composition du jury :

Pr GHERRAS S      MCA      Faculté de médecine UMMTO      Présidente du jury

Pr MEKACHER L R      MCA      Faculté de médecine UMMTO      Examineur

Dr MATMAR A      Assistant      Faculté de médecine UMMTO      Examineur

Année universitaire: 2020/2021

## **Remerciements**

*Nos remerciements s'adressent en premier lieu, à **ALLAH** le tout puissant, miséricordieux et clément qui nous a accordé la vie, donné la santé, la prospérité, la force et la détermination tout au long de notre cursus.*

*Nous tenons à exprimer nos profondes reconnaissances et sincères remerciements à notre promotrice Docteur **SADOUS** maitre-assistante en toxicologie, pour son soutien permanent, sa compétence, ses orientations et sa disponibilité. Merci pour vos précieux conseils, votre gentillesse, bienveillance, et de nous avoir permis de bénéficier de votre savoir inépuisable et de votre expérience. Ce fut un plaisir et un honneur de travailler à vos côtés. Nous espérons avoir mérité votre confiance.*

*Nous remercions notre Co-promoteur Docteur **YAMANI.A** assistant en toxicologie pour avoir participé à l'élaboration de ce travail.*

*Nos vifs remerciements à Professeur **GHERRAS.S**, maitre de conférences classe A en hématologie pour l'intérêt qu'elle a bien voulu porter à ce travail en acceptant de présider le jury.*

*Nous tenons à remercier très chaleureusement Professeur **MEKACHER.L.R** pour l'intérêt qu'il a immédiatement porté au sujet, vous nous faites l'honneur de juger notre travail.*

*Nos profondes reconnaissances s'adressent à Docteur **MATMAR.A** assistant en toxicologie d'avoir accepté d'examiner ce travail et de participer à la soutenance de ce mémoire, Hommages respectueux,*

*Par ailleurs, nous ne pourrions omettre de remercier Professeur **ALLOUDA**, chef de service d'hématologie au CHU de Tizi-Ouzou, et tous les résidents pour leur aide concernant la récolte des données de l'étude.*

*Notre profonde gratitude s'adresse à Professeur **BENSAADI**, chef de service d'hémo-pédiatrie au CHU de Tizi-Ouzou, ainsi que toute son équipe pour l'hospitalité et la liberté qu'ils nous ont accordé au sein du service et pour leur aide inestimable dans l'élaboration de ce travail.*

*Nous sommes très reconnaissants pour toute l'équipe du laboratoire de toxicologie, merci pour votre aide et votre collaboration pour la réalisation de cette étude.*

*Enfin, un grand remerciement à nos amis et toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à l'enrichissement de notre travail, à toute personne qui nous a encouragé par un simple mot, par un simple sourire, par un simple regard et qui nous souhaite une bonne réussite.*

*Merci à tous !*



## *Dédicaces*

*Tout d'abord je remercie le tout puissant de m'avoir donné la force, la volonté et la patience d'achever ce modeste travail  
C'est avec joie et profonde gratitude que je dédie ce travail :*

*À mes chers parents*

*Qui m'ont toujours soutenue et poussée à donner le meilleur de moi, nulle dédicace ne saurait traduire tout le respect, l'amour, le dévouement et l'estime que j'ai pour vous. Rien au monde ne vaut tous les sacrifices et les efforts fournis durant toutes ces années.*

*Puisse Dieu vous accorde santé, bonheur et longue vie.*

*À mon frère AMIR, à mes deux confidentes : ma chère MOUNA et ma meilleure IKRAM, qui m'ont toujours soutenue, encouragée et motivée, merci tout simplement pour votre présence.*

*À l'ensemble des membres de notre quadrinôme : CHANEZ, KHADIDJA et YASMINE je vous remercie pour votre sérieux, efforts, dévouement au travail et assiduité sans lesquels ce travail n'aurait pas pu aboutir. Au final ça n'a pas été facile mais on l'a fait.*

*À tous les amis avec qui j'ai passé des moments inoubliables et partagé des merveilleux souvenirs, sachez que tout est devenu facile grâce à votre présence.*

***MERTEM***



## *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail aux êtres les plus chers à mon cœur.*

*A mon tendre papa Abdelkrim et ma maman chérie MEKACHER Nadja. Que vous puissiez trouver dans ce travail le résultat de tant d'années de sacrifices qui ont fait de moi la personne que je suis aujourd'hui. Tous les mots ne sauraient exprimer ma gratitude pour votre dévouement, l'amour, la bienveillance et l'encouragement que vous m'avez toujours apporté. Je tiens à vous témoigner l'expression de mon éternelle reconnaissance.*

*A mon grand frère Redouane et mon petit frère Mohamed Reda, mes deux piliers dans cette vie. Aucune dédicace ne pourrait être assez éloquente pour exprimer l'estime que j'ai pour vous. Merci pour vos conseils, votre soutien et pour la force que vous me donnez sans cesse. Vous rendez l'impossible possible pour moi, je vous aime plus que tout.*

*A mon grand-père Abdelaziz qui a toujours cru en moi et en ma réussite. La fin de mon cursus n'est que le début d'un parcours qui te rendra encore plus fier. Que dieu te garde pour nous et t'accorde longue vie et bonne santé.*

*A ma tante bien aimée Fadila avec qui j'ai appris à lire et écrire, l'exemple de la bonté exceptionnelle. Merci pour ta gentillesse et ta tendresse sans égal.*

*A Chanez, Meriem et Yasmine avec qui j'ai eu le plaisir de réaliser ce projet. Merci pour les efforts inestimables que vous avez fourni pour que ce travail puisse aboutir. Puisse dieu vous accorder sante, bonheur et réussite.*

*A toutes les personnes qui m'ont aidée et guidée. A tata Warda qui m'a tant aidé, à Hassiba qui n'a pas hésité une seconde à répondre à toutes mes questions, merci.*

**KHADIDJA**

## Dédicaces

*Je m'incline devant Dieu tout puissant, qui m'a ouvert la porte du savoir et m'a aidé à la franchir.*

*Je dédie ce travail comme fruit de toutes mes études :*

*Aux être les plus chères à mon cœur mes parents qui mon transmitt la vie, le courage, l'amour, le soutien moral ainsi que leurs sacrifices, leur prières et leur aide continue tout au long de mon parcours. Aucune dédicace ne saurait exprimer mon profond amour et ma reconnaissance. Merci d'avoir fait de moi ce que je suis aujourd'hui, je suis contente de réaliser une partie de ce que ma chère mère avait tant attendu de moi que dieu lui accorde sa miséricorde et l'accueille dans son vaste paradis. Je souhaite aussi le bonheur, la santé et une longue vie mon cher père.*

*A ma très chère sœur **Sabrina** que Dieu te garde pour moi, à mon mari bien aimé, **Adel**, à qui je dois ma réussite, merci d'avoir toujours cru en moi et de m'avoir tant aidé, soutenu et encouragé.*

*A mon petit ange, mon fils, **Mohamed Réda** qui a raccourci mes nuits et adouci ma vie, tu es la prune de mes yeux, que Dieu te bénisse et te garde pour moi et pour ton papa.*

*A mes très chers beaux-parents, à ma belle-sœur et son époux et à mes beaux-frères et leurs épouses, ainsi qu'à tous leurs enfants.*

*A toute ma famille, que j'aime et qui m'aime, en particulier ma très chère tante **Fatouma**, à qui je suis très reconnaissante pour son grand cœur, et sa famille.*

*A mes amis avec qui j'ai passé les six ans de mes études en pharmacie, à mes collègues avec qui j'ai réalisé ce projet dans un environnement plein de soutien, de motivation et du travail dur jours et nuits. En souvenir de tous les moments qu'on a vécu ensemble durant notre projet je vous remercie infiniment **Meriem, Khadidja** et **Chanez** et je vous souhaite une vie pleine de santé, de bonheur et de réussite.*

*Yasmine*

## *Dédicaces*

*Merci Dieu le tout miséricordieux, ton amour et tes grâces à mon égard m'ont donné la confiance et le courage pour accomplir ce travail.*

*Je dédie ce modeste travail accompagné d'un profond amour :*

*A mes chers parents,*

*mon magnifique modèle de labeur et de persévérance,  
qui n'ont jamais cessé de formuler des prières à mon égard, de me soutenir et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs.*

*A mon frère, Mohamed, mon support dans la vie,*

*A ma douce sœur Malia et son mari Sofiane,  
pour leur indéfectible soutien, leurs conseils précieux et leur patience infinie tout au long de mes études.*

*A ma petite princesse Zina,*

*Ma source de joie et d'affection,  
pour le sourire qu'elle m'a apporté, ma vie ne serait pas aussi magique sans sa présence et son amour.*

*A tous les membres de ma famille, particulièrement à mes grands-parents qui m'ont béni par leurs prières.*

*A mes collègues : Khadidja, Meriem et Yasmine , pour leur effort constant et leur soutien moral lors de la réalisation de ce mémoire.*

*A tous ceux et celles qui me sont chers pour leur encouragement et motivation continue.*

*A tous mes enseignants tout au long de mes études.*

*Ainsi qu'à toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réussite de ce travail.*

**CHANEZ**

# Table des matières

Table des matières	
Liste des abréviations.....	i
Liste des figures .....	iv
Liste des tableaux.....	vii
Introduction.....	1
Objectifs. ....	3
<b>PARTIE THEORIQUE</b>	
<b>CHAPITRE I: LES HEMOPATHIES MALIGNES</b>	
<b>1 Définition .....</b>	<b>4</b>
<b>2 Les leucémies .....</b>	<b>4</b>
2.1 Leucémies aigües .....	4
2.2 Leucémies chroniques .....	7
<b>3 Les lymphomes .....</b>	<b>7</b>
3.1 La maladie de Hodgkin.....	8
3.2 Lymphomes non hodgkiniens .....	8
<b>CHAPITRE II: MONOGRAPHIE DU METHOTREXATE</b>	
<b>1 Définition .....</b>	<b>12</b>
<b>2 Structure et formule chimique .....</b>	<b>12</b>
<b>3 Propriétés physico-chimiques .....</b>	<b>13</b>
<b>4 Stabilité et conservation .....</b>	<b>13</b>
<b>5 Formes galéniques et posologiques .....</b>	<b>14</b>
<b>6 Pharmacocinétique .....</b>	<b>14</b>
6.1 Absorption .....	14
6.2 Distribution .....	14
6.3 Métabolisme.....	15
6.4 Elimination.....	16

<b>7</b>	<b>Les facteurs influençant la pharmacocinétique.....</b>	<b>17</b>
7.1	Insuffisance rénale.....	17
7.2	Variabilité interindividuelle.....	17
7.3	Interactions médicamenteuses.....	18
<b>8</b>	<b>Mécanisme d'action pharmacologique.....</b>	<b>18</b>
8.1	Folates : structure, apports et métabolisme.....	18
8.2	Mécanisme d'action du methotrexate.....	21
<b>9</b>	<b>Interactions médicamenteuses.....</b>	<b>22</b>
9.1	Contre-indications.....	23
9.2	Associations déconseillées.....	23
9.3	Associations faisant l'objet de précautions d'emploi.....	25
9.4	Autres associations.....	25
9.5	Interaction avec les anticancéreux.....	26
<b>10</b>	<b>Facteurs de risque.....</b>	<b>26</b>
<b>11</b>	<b>Toxicité.....</b>	<b>28</b>
11.1	Toxicité rénale.....	28
11.2	Neurotoxicité.....	28
11.3	Toxicité hématologique.....	29
11.4	Toxicité cutanéomuqueuse.....	29
11.5	Toxicité gastro-intestinale.....	29
11.6	Toxicité hépatique.....	29
11.7	Toxicité pulmonaire.....	29
<b>12</b>	<b>Prévention de la toxicité du MTX-HD.....</b>	<b>30</b>
12.1	Hyperhydratation et alcalinisation des urines.....	30
12.2	Drainage des fluides du troisième espace.....	31
12.3	Eviter les interactions médicamenteuses.....	31
12.4	Sauvetage à l'acide folinique.....	31
12.5	Surveillance de la concentration plasmatique de MTX.....	33
<b>13</b>	<b>Conduite à tenir devant une toxicité au MTX-HD.....</b>	<b>33</b>
13.1	Prolongation de l'hyperhydratation alcaline.....	33
13.2	Intensification du sauvetage par acide folinique.....	33

13.3	Élimination du méthotrexate circulant .....	34
<b>14</b>	<b>Résistance au méthotrexate.....</b>	<b>36</b>
<b>15</b>	<b>Utilisations actuelles du méthotrexate haute dose.....</b>	<b>37</b>
<b>CHAPITRE III: SUIVI THERAPEUTIQUE PHARMACOLOGIQUE DU METHOTREXATE</b>		
<b>1</b>	<b>Définition .....</b>	<b>38</b>
<b>2</b>	<b>Intérêt du suivi thérapeutique.....</b>	<b>38</b>
<b>3</b>	<b>Suivi thérapeutique du méthotrexate .....</b>	<b>39</b>
3.1	Détermination du surdosage .....	39
3.2	Adaptation de la posologie de l'acide folinique.....	40
<b>4</b>	<b>Processus du suivi thérapeutique et pharmacologique .....</b>	<b>40</b>
4.1	Collecte d'informations .....	40
4.2	Prélèvement.....	42
4.3	Transport et conservation .....	42
4.4	Prétraitement .....	43
<b>5</b>	<b>Méthodes analytiques de dosage du méthotrexate .....</b>	<b>43</b>
5.1	Techniques immunologiques .....	43
5.2	Techniques chromatographiques.....	44
<b>PARTIE PRATIQUE</b>		
<b>CHAPITRE I: MATERIELS ET METHODES</b>		
<b>1</b>	<b>Type de l' étude .....</b>	<b>46</b>
<b>2</b>	<b>Population de l'étude.....</b>	<b>46</b>
2.1	Critères d'inclusion .....	46
2.2	Critères de non inclusion .....	46
<b>3</b>	<b>Période de l'étude .....</b>	<b>46</b>
<b>4</b>	<b>Recueil des renseignements .....</b>	<b>46</b>
<b>5</b>	<b>Matériel.....</b>	<b>47</b>
5.1	Echantillonnage.....	47
5.2	Appareillage .....	47

5.3	Consommable et petit matériel .....	48
5.4	Réactifs .....	48
<b>6</b>	<b>Méthode d'analyse.....</b>	<b>49</b>
6.1	Pré traitement .....	49
6.2	Technique analytique.....	50
6.3	Mode opératoire .....	51
6.4	Procédure de dosage du méthotrexate par Siemens VIVA E .....	53
 <b>CHAPITRE II: RESULTATS</b>		
<b>1</b>	<b>Présentation de la population d'étude .....</b>	<b>54</b>
1.1	Données principales des patients .....	54
1.2	Profil de la population étudiée .....	57
<b>2</b>	<b>Suivi thérapeutique pharmacologique du MTX.....</b>	<b>61</b>
2.1	Démarche analytique .....	61
2.2	Résultats de méthotrexatémie et interprétation des résultats .....	62
<b>3</b>	<b>Etude de la cinétique d'élimination .....</b>	<b>69</b>
2.3	Cinétique d'élimination normale du méthotrexate (RCP de la FDA) .....	69
2.4	Cinétique d'élimination du méthotrexate chez les patients du service hématologie .	70
2.5	Cinétique d'élimination du MTX chez les patients du service hémato pédiatrie .....	78
<b>3</b>	<b>Etude des variabilités .....</b>	<b>78</b>
3.1	Etude de la variabilité interindividuelle.....	78
<b>4</b>	<b>Etude de cas .....</b>	<b>87</b>
<b>CHAPITRE III : DISCUSSION.....</b>		<b>113</b>
<b>CONCLUSION.....</b>		<b>117</b>
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES		
ANNEXES		

## Liste des abréviations

**7-OH-MTX:** 7-hydroxy-méthotrexate.

**ABCC:** ATP-binding cassette.

**ABL:** Tyrosine-protein kinase.

**ADME:** Absorption, distribution, métabolisme et élimination.

**ADN:** Acide désoxyribonucléique.

**AICAR:** 5-aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleotide.

**AINS:** Anti-inflammatoire non stéroïdien.

**ALAT:** Alanine aminotransférase.

**ANSM:** Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé.

**ASAT:** Aspartate aminotransférase.

**ATP:** Adénosine triphosphate.

**BCR:** Breakpoint cluster region protein.

**CBS:** Cystathionine- $\beta$ -synthase.

**CEDIA:** Cloned Enzyme Immuno Donor Assay.

**CHU:** Centre hospitalo-universitaire.

**C $\gamma$ L:** Cystathionine- $\gamma$ -lyase.

**DAMPA:** Acide 2,4 diamino-10 méthylptéroïque.

**DHF:** Dihydrofolate.

**DHFR:** Dihydrofolate réductase.

**dTMP:** Acide désoxythymidyl-5'-monophosphate.

**dUMP:** Acide désoxyuridyl-5'-monophosphate.

**EBV:** Virus d'Epstein-Barr.

**EDTA:** Ethylenediamine tetraacetic acid.

**ELISA:** Enzyme linked immuno sorbent assay.

**EMIT:** Enzyme multiplied immunoassay technique.

**FAB:** Franco-américano-britannique.

**FDA:** Food and Drug Administration.

**FIA:** Fluorescence Immuno- Assay.

**FNS:** Formule numération sanguine.

**FPIA:** Fluorescence Polarization Immuno Assay.

**FPGS:** Folylpolyglutamyl synthase.

**G6PDH:** Enzyme glucose-6-phosphate déshydrogénase.

**GB:** globule blanc.

**GGH:**  $\gamma$ -glutamyl hydrolase.

**HB:** Hémoglobine.

**HPLC:** High performance liquid chromatography.

**IMC:** Indice de masse corporelle.

**IUPAC:** Union internationale de chimie pure et appliquée.

**IV:** Intraveineuse.

**LA:** Leucémie aigue.

**LAL:** Leucémie aigue lymhoïde.

**LAM:** Leucémie aigue myéloïde.

**LB:** Lymphome de Burkitt.

**LDGC:** Lymphome diffus à grande cellules B.

**LLC:** Leucémie lymphoïde chronique.

**LMC:** Leucémie myéloïde chronique.

**LNH:** Lymphome non hodgkinien.

**LPSNC:** Lymphome primaire du système nerveux central.

**MRP:** Multidrug Resistance Protein.

**MTHFR:** Méthylène-tétrahydrofolate réductase.

**MTX:** Méthorexate.

**MTX-HD:** Méthotrexate hautes doses.

**NAD:** Nicotine adénine dinucléotide.

**NADH:** Nicotine adénine dinucléotide réduite.

**NADP:** Nicotine adénine dinucléotide phosphate.

**OAT:** Organic Anion Transporter.

**OMEDIT:** Observatoire du Médicament, des Dispositifs Médicaux et de l'Innovation  
Thérapeutique.

**OMS:** Organisation mondiale de la santé.

**PABA:** Acide para-aminobenzoïque.

**PDH:** Glucose-6-phosphate déshydrogénase.

**PNN:** polynucléaire neutrophile.

**RCP:** Résumé des caractéristiques du produit.

**RFC:** Reduced Folate Carrier.  
**SAH :** S-adénosyl-L-homocystéine.  
**SC:** surface corporelle  
**SHMT:** Sérine hydroxyméthyltransférase.  
**SNC:** Système nerveux central.  
**STP :** Suivi thérapeutique pharmacologique.  
**TDM:** Therapeutic Drug Monitoring.  
**THF:** Tétrahydrofolate.  
**TS:** Thymidylate synthase.  
**VIH:** Virus de l'immunodéficience humaine.

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1:</b> Schéma des différentes étapes du cycle cellulaire.....	12
<b>Figure 2:</b> Structures de dihydrofolate (DHF) et du méthotrexate .....	12
<b>Figure 3:</b> MTX et ses principaux métabolites .....	16
<b>Figure 4:</b> les transporteurs rénaux du MTX .....	17
<b>Figure 5:</b> Structure chimique partagée par les différents dérivés de folates R et X indiquent les sites de substitution possibles en fonction de la nature du dérivé .....	18
<b>Figure 6:</b> Métabolisme des folates et cycle de l'homocystéine/méthionine .....	20
<b>Figure 7:</b> Transporteurs de méthotrexate (MTX), voies métaboliques et cibles enzymatiques intracellulaires. ....	22
<b>Figure 8:</b> Mécanisme d'action de l'acide folinique .....	32
<b>Figure 9:</b> Principe de la méthode EMIT. ....	44
<b>Figure 10:</b> Automate Viva E® SIEMENS.....	48
<b>Figure 11:</b> Flacons de la solution tampon et des réactifs A et B.....	49
<b>Figure 12:</b> Flacons des calibrants du méthotrexate Emit® 0, 0.2, 0.5, 1, 1.5, 2. ....	49
<b>Figure 13:</b> Les contrôles Lyphochek Therapeutic Drug Monitoring Control (TDM) BIO-RAD®.....	52
<b>Figure 14:</b> Répartition des patients selon les tranches d'âge .....	57
<b>Figure 15:</b> Répartition des patients selon le sexe .....	58
<b>Figure 16:</b> Répartition des patients du service hématopédiatrie selon le sexe.....	58
<b>Figure 17:</b> Répartition des patients du service hématologie selon le sexe .....	58
<b>Figure 18:</b> Répartition des patients selon la pathologie.....	59
<b>Figure 19:</b> Répartition des patients selon l'apparition de la toxicité.....	59
<b>Figure 20:</b> Répartition des patients selon les signes de toxicité.....	60
<b>Figure 21:</b> Répartition des patients selon les perturbations du bilan biologique .....	60
<b>Figure 22:</b> Répartition des patients selon le type de perturbation biologique .....	61
<b>Figure 23:</b> Cinétique d'élimination normale du méthotrexate.....	69
<b>Figure 24:</b> La cinétique d'élimination du méthotrexate du patient n°1 après la première cure. ....	70

<b>Figure 25:</b> La cinétique d'élimination du méthotrexate du patient n°1 après la deuxième cure. .....	70
<b>Figure 26:</b> Comparaison entre les cinétiques d'élimination du méthotrexate de la 1 <sup>ère</sup> et 2 <sup>ème</sup> cure du patient n° 1.....	71
<b>Figure 27:</b> La cinétique d'élimination du méthotrexate du patient n°2 après la deuxième cure. .....	71
<b>Figure 28:</b> La cinétique d'élimination du méthotrexate du patient n°2 après la troisième cure. .....	72
<b>Figure 29:</b> Comparaison entre les cinétiques d'élimination du méthotrexate de la 2 <sup>ème</sup> et la 3 <sup>ème</sup> cure du patient n° 2.....	72
<b>Figure 30:</b> La cinétique d'élimination du méthotrexate du patient n°3.....	73
<b>Figure 31:</b> La cinétique d'élimination du méthotrexate du patient n°4 après la première cure. .....	73
<b>Figure 32:</b> La cinétique d'élimination du méthotrexate du patient n°5.....	74
<b>Figure 33:</b> La cinétique d'élimination du méthotrexate du patient n°6.....	74
<b>Figure 34:</b> La cinétique d'élimination du méthotrexate du patient n°7.....	75
<b>Figure 35:</b> La cinétique d'élimination du méthotrexate du patient n°8 après la première cure. .....	75
<b>Figure 36:</b> La cinétique d'élimination du méthotrexate du patient n°8 après la deuxième cure. .....	76
<b>Figure 37:</b> La cinétique d'élimination du méthotrexate du patient n°9 après la première cure .....	76
<b>Figure 38:</b> La cinétique d'élimination du méthotrexate chez le patient n°10.....	77
<b>Figure 39:</b> La cinétique d'élimination du méthotrexate chez le patient n°11.....	77
<b>Figure 40:</b> La cinétique d'élimination du méthotrexate du patient n°13.....	78
<b>Figure 41:</b> Variabilité interindividuelle de la concentration du méthotrexate chez la population adulte.....	79
<b>Figure 42:</b> Variabilité interindividuelle de la concentration de méthotrexate chez la population pédiatrique.....	79
<b>Figure 43:</b> Créatininémies des patients n°1 et 2 avant et après les cures.....	80
<b>Figure 44:</b> Créatininémies des patients 3,5 et 7 avant et après la cure.....	81
<b>Figure 45:</b> Variation du bilan hépatique avant et après les deux cures du patient n° 8.....	82
<b>Figure 46:</b> Variation du bilan hépatique avant et après la cure des patients n°3, 5 et 15.....	82

<b>Figure 47:</b> Variation du taux de l'hémoglobine et des globules blancs avant et après les deux cures du patient n° 1 .....	83
<b>Figure 48:</b> Variation du taux de l'hémoglobine et des globules blancs avant et après la première et la troisième cure du patient n° 2 .....	84
<b>Figure 49:</b> Variation du taux de l'hémoglobine et des globules blancs avant et après la cure des patients n° 3, 8 et 14 .....	84
<b>Figure 50:</b> Variation du taux de plaquettes avant et après la cure des patients 6, 7, 8, 9, 10, 12 et 14 .....	85
<b>Figure 51:</b> Variation du taux de plaquettes avant et après les deux cures du patient n°1 .....	85
<b>Figure 52:</b> Variation du taux de plaquettes avant et après la cure des patients 3 et 4 .....	86

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1:</b> Classification de Ann Arbor modifiée .....	9
<b>Tableau 2:</b> Formes galéniques et posologiques du MTX .....	14
<b>Tableau 3:</b> Apports nutritionnels conseillés en folates (µg/j) .....	19
<b>Tableau 4:</b> Associations avec le méthotrexate faisant l'objet de précautions d'emploi .....	25
<b>Tableau 5:</b> Facteurs de risque associés à une toxicité au MTX .....	27
<b>Tableau 6:</b> Conduite à tenir en cas d'élimination retardée du méthotrexate décrite dans le RCP de la FDA.....	34
<b>Tableau 7:</b> Tableau décisionnel en cas de surdosage au méthotrexate – OMEDIT Centre 2008 .....	36
<b>Tableau 8:</b> Liste des différentes formules de calcul de la surface corporelle.....	37
<b>Tableau 9:</b> Informations collectées avant le dosage du methotrexate.....	42
<b>Tableau 10:</b> Comparaison entre les méthodes immunologiques et les méthodes chromatographiques .....	45
<b>Tableau 11 :</b> Les différents constituants du kit de dosage du Méthotrexate .....	48
<b>Tableau 12:</b> Cibles et plages d'acceptabilité des contrôles qualité internes BIO-RAD®.....	52
<b>Tableau 13:</b> Données principales des patients .....	54
<b>Tableau 14:</b> Résultats des méthotrexatémie des patients. ....	63
<b>Tableau 15:</b> Les bilans biologiques avant et après la première cure du patient n°1. ....	88
<b>Tableau 16:</b> Les bilans biologiques pour les jours suivant l'apparition de toxicité après la première cure du patient n°1. ....	90
<b>Tableau 17:</b> Les bilans biologiques avant et après la deuxième cure du patient n°1 .....	91
<b>Tableau 18:</b> Les bilans biologiques avant et après la première cure du patient n°2 .....	94
<b>Tableau 19:</b> Les bilans biologiques avant et après la deuxième cure de la patiente n°2.....	95
<b>Tableau 20:</b> Les bilans biologiques avant et après la troisième cure du patient n°2 .....	96
<b>Tableau 21:</b> Les bilans biologiques avant et après la cure du patient 3 .....	99
<b>Tableau 22:</b> Les bilans biologiques avant et après la première cure du patient n°8 .....	101
<b>Tableau 23:</b> Les bilans biologiques avant et après la deuxième cure du patient n°8.....	102

<b>Tableau 24:</b> Les bilans biologiques avant et après la première cure du patient n°10 .....	105
<b>Tableau 25:</b> Les bilans biologiques avant et après la première cure du patient n°12 .....	106
<b>Tableau 26:</b> Les bilans biologiques avant et après la cure du patient n° 13 .....	109
<b>Tableau 27:</b> Les bilans biologiques avant et après la cure du patient numéro 14.....	112

# Introduction

Les hémopathies malignes désignent une catégorie générale de cancer du sang. Il s'agit d'un cancer qui se développe à partir des cellules sanguines donnant des leucémies, des myélomes ou des lymphomes. Le traitement de ces maladies repose sur la chimiothérapie, les thérapies ciblées, la greffe des cellules de la moelle osseuse ou du sang et parfois la radiothérapie.

Le méthotrexate est une molécule appartenant à la classe pharmaco thérapeutique des antimétabolites, la sous-classe des antifolates.

A haute dose ( $\geq 1\text{g/m}^2$ ) il est largement utilisé depuis de nombreuses années pour le traitement des hémopathies malignes telles que les leucémies aiguës lymphoïdes, certains lymphomes non hodgkiniens et ostéosarcomes de haut grade de malignité ce qui a permis d'améliorer notablement le pronostic de ces pathologies [1].

Malgré l'identification partielle des mécanismes de toxicité du méthotrexate et l'amélioration des pratiques visant à réduire son incidence, une part non négligeable des patients la développerait. Cette toxicité est le plus souvent bénigne, mais peut également mettre en jeu le pronostic vital. Il n'est actuellement pas possible de prédire chez quels patients elle se manifesterait.

Cette toxicité importante ainsi que la grande variabilité inter et intra individuelle de réponse imposent un dosage plasmatique régulier du médicament d'où l'intérêt du suivi thérapeutique et pharmacologique.

Notre travail vise à démontrer l'intérêt du suivi thérapeutique pharmacologique du méthotrexate haute dose chez les patients atteints d'hémopathies malignes.

La première partie consiste en une revue de la littérature concernant les hémopathies malignes traitées par méthotrexate haute dose, nous aborderont ensuite une monographie du méthotrexate ainsi que le principe de son suivi et les différentes techniques utilisées pour son dosage.

La deuxième partie concerne l'étude pratique qui consiste en une application du STP sur une population de patients atteints d'hémopathies malignes traités par méthotrexate haute dose

afin de démontrer l'intérêt du dosage du méthotrexate dans la surveillance et la prise en charge des patients.

# Objectifs

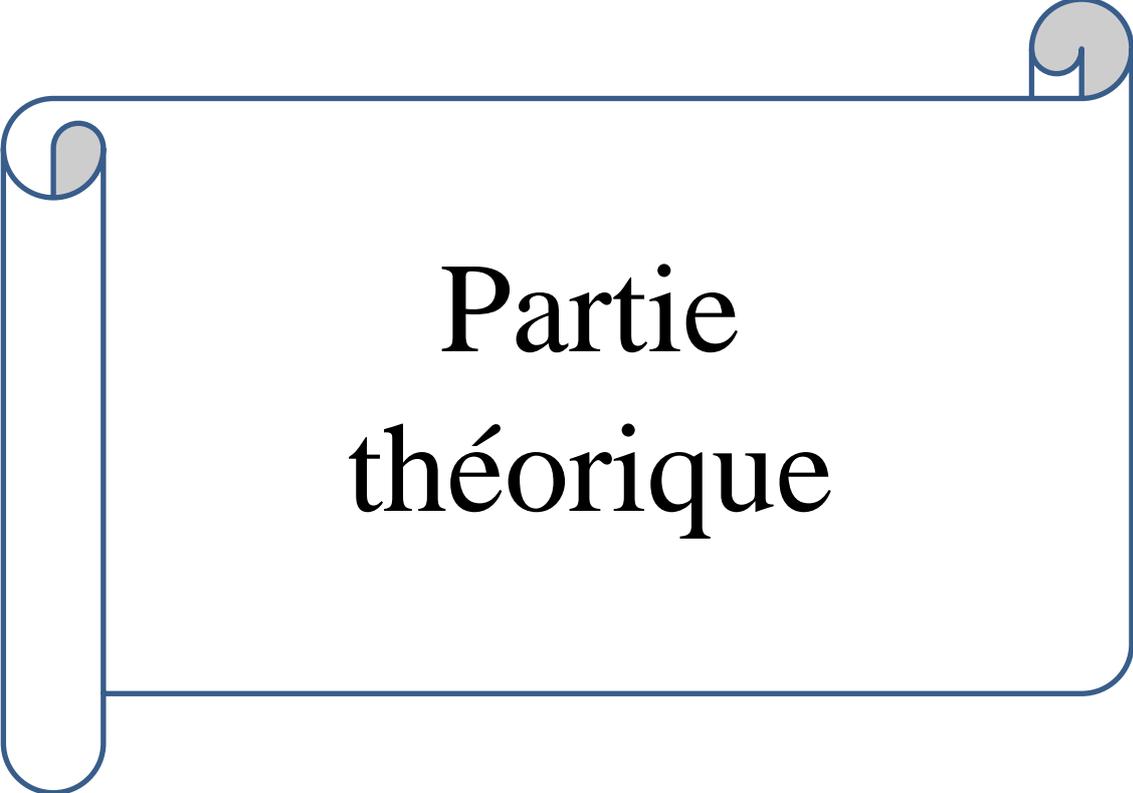
L'objectif de ce travail est de mettre en avant l'intérêt du suivi thérapeutique pharmacologique du méthotrexate haute dose chez les patients atteints d'hémopathies malignes

L'objectif principal de notre étude est d'étudier la cinétique d'élimination du méthotrexate et connaître les concentrations présentes dans le compartiment sanguin.

Dans cette optique, nous nous sommes intéressés à l'étude de la variabilité interindividuelle ainsi qu'à la corrélation entre les concentrations sanguines et la dose administrée.

Nous nous sommes également intéressés en second lieu à :

- Déceler les patients chez qui l'élimination du médicament est retardée et qui sont plus sensibles à sa toxicité ;
- Adapter la posologie du sauvetage folinique ainsi que sa durée d'administration en fonction des taux plasmatiques du méthotrexate obtenu.



Partie  
théorique

**CHAPITRE I : LES HEMOPATHIES  
MALIGNES**

## 1 Définition

Les hémopathies malignes sont l'ensemble des cancers développés aux dépens du tissu hématopoïétique et des organes lymphoïdes [2].

Ce sont des proliférations anormales et anarchiques des cellules sanguines matures (responsables d'hémopathies d'évolution lente ou chronique) ou immatures (entraînant les hémopathies d'évolution rapide ou aigüe) [3].

Selon le site initial du développement de la maladie, deux classes peuvent être distinguées : les leucémies et les lymphomes.

## 2 Les leucémies

Actuellement, la leucémie n'est plus considérée comme une maladie unique mais un groupe de maladies [4]. On distingue des pathologies chroniques telles que la leucémie myéloïde chronique et la leucémie lymphoïde chronique, et des pathologies aiguës ; la leucémie aiguë myéloïde et la leucémie aiguë lymphoblastique. Cette dernière se subdivise en LAL T, qui consiste en une prolifération de cellules immatures de la lignée lymphoïde T, et en LAL B lorsque ce sont des cellules immatures lymphoïdes B qui prolifèrent [5].

### 2.1 Leucémies aiguës

Les leucémies aiguës (LA) sont des proliférations malignes dans le sang, la moelle et éventuellement d'autres organes (ganglions, foie, rate, système nerveux central...), de précurseurs des cellules sanguines bloqués à un stade précoce de leur maturation (blastes). Ces blastes tumoraux vont progressivement envahir la moelle osseuse et vont être retrouvés dans le sang. Ils prolifèrent très rapidement [6].

Selon les précurseurs concernés, les leucémies aiguës se différencient en :

- Les leucémies aiguës lymphoïde (LAL), si les précurseurs sont lymphoïdes.
- Les leucémies aiguës myéloïde (LAM) s'il s'agit d'un précurseur myéloïde.

Ils représentent entre 10 et 15% des hémopathies malignes (7).

Chez l'enfant, les leucémies aiguës myéloïdes (LAM) sont rares et surviennent avant l'âge de 2 ans ou après 15 ans. À l'inverse, la leucémie aiguë lymphoïde (LAL) est le cancer le plus

fréquent chez les enfants et représente environ un quart de tous les cancers chez les sujets de moins de 15 ans [8].

Le diagnostic des LA repose avant tout sur des critères cytologiques et immunophénotypiques des blastes de la moelle osseuse [9].

### **2.1.1 Les leucémies aiguës lymphoblastiques (LAL)**

La leucémie aiguë lymphoblastique est une affection médullaire caractérisée par une prolifération clonale de lymphoblastes malins. Il s'agit en effet d'un groupe hétérogène d'affections hématologiques avec des sous-groupes de pronostic différent, l'évolution est spontanée et rapidement mortelle dans des situations d'infections sévères ou d'hémorragies importantes [10].

#### **A. Classification Franco-Américano-britannique**

##### **– La Leucémie Aiguë Lymphoïde de type 1 (LAL1-FAB)**

Présente des petites cellules leucémiques avec une chromatine nucléaire homogène et un noyau de forme régulière. La principale caractéristique des formes LAL1 est l'homogénéité de tous les caractères précédemment décrits chez un même malade Cette catégorie constitue la majorité des cas de LAL pédiatriques [11].

##### **– La Leucémie Aiguë Lymphoïde de type 2 (LAL2-FAB)**

Les LAL 2 ont de plus larges cellules leucémiques avec une chromatine de distribution variable et un noyau de forme plus irrégulière que les L1 (il y a parfois même plusieurs noyaux). Chez un même malade, il existe habituellement une hétérogénéité de la taille cellulaire et d'importantes irrégularités de la forme nucléaire Cette entité représente environ 25% des cas de LAL pédiatriques [12].

##### **– La Leucémie Aiguë Lymphoïde de type 3 (LAL3-FAB) ou LAL de « Burkitt »**

La variété L3 est le type « Burkitt » de LAL ; les cellules sont analogues à celles des malades atteints de lymphome de Burkitt et qui évoluent vers une phase leucémique. Les cellules ont un aspect à peu près homogène d'un malade à l'autre et chez un même malade : elles sont volumineuses avec une chromatine nucléaire d'apparence «dense » finement ponctuée présentant souvent d'importantes vacuoles dans le cytoplasme basophile.

**B. Selon OMS**

La classification cytologique FAB en LAL 1,2 et 3 a laissé place à la classification OMS qui intègre les données cytogénétiques et moléculaires et non seulement cytologiques, permettant la définition d'entités distinctes dont la valeur pronostique, en termes d'évolution et de réponse au traitement, est mieux définie.

⇒ **LAL/LL de la lignée B (75 % des cas)**

**▪ Translocation (9;22) (q34;q11) ou chromosome Philadelphie**

C'est l'anomalie chromosomique la plus fréquente chez l'adulte (15-30 %) elle correspond à une translocation réciproque entre les chromosomes 9 et 22 - (9:22) (q34;q11) - mettant en contact les gènes ABL et BCR conduisant à la formation donc des protéines BCR-ABL de différents poids moléculaires (M-BCR/p210 ou m-BCR/p190) en fonction de la localisation du point de cassure dans le gène BCR [11].

**▪ Translocation (4;11) (q21;q23)**

La translocation (4;11) représente environ 3 à 8% des LAL de l'adulte.

**▪ Translocation (1;19) (q23;p13)**

La translocation (1;19) (q23;p13) est retrouvée avec une fréquence quasi-identique (5%) dans les LAL de l'adulte et de l'enfant.

⇒ **LAL/LL de la lignée T (25 % des cas)**

**2.1.2 La leucémie aigüe myéloïde (LAM)**

Les leucémies aigües myéloïdes sont des proliférations néoplasiques de précurseurs médullaires des cellules sanguines, associées à un blocage de maturation de ces précurseurs au stade de blastes, qui s'accumulent dans la moelle, dans le sang, et éventuellement dans d'autres organes. Par ailleurs, il existe un déficit de production de cellules matures, d'où une anémie, une neutropénie et une thrombopénie, et leurs conséquences cliniques [13].

Tout comme les LAL, il existe une classification OMS tenant compte des caractères cytogénétiques et une classification Franco-Américano-Britannique « FAB » basée sur les caractères cytologiques bien que c'est cette dernière qui est très utilisée actuellement.

## 2.2 Leucémies chroniques

### 2.2.1 La leucémie lymphoïde chronique (LLC)

Est une prolifération lymphoïde monoclonale responsable d'une infiltration médullaire, sanguine parfois ganglionnaire constituée de lymphocytes matures de morphologie normale, d'origine monoclonale et de phénotype B dans 95 % des cas ou T dans 5% des cas. Dans 30% des cas, il n'y a aucun signe clinique et les anomalies sont uniquement biologiques [14].

Son évolution est chronique, mais avec une survie qui peut varier de moins de 1 an à plus de 20 ans, elle est incurable cependant une guérison peut être obtenue par une greffe allogénique [15].

### 2.2.2 La leucémie myéloïde chronique (LMC)

La leucémie myéloïde chronique (LMC) est un syndrome myéloprolifératif, Il s'agit d'une prolifération monoclonale prédominante sur la lignée granuleuse sans blocage de maturation.

La présentation clinique de la LMC comprend 3 phases évolutives :

Une première phase dite chronique, pauci symptomatique. Suivie d'une deuxième phase, caractérisée par une accélération de la maladie, et enfin une troisième phase, appelée transformation aiguë, prenant l'aspect d'une leucémie aiguë secondaire, résistante ou réfractaire au traitement, conduisant au décès du patient [15].

## 3 Les lymphomes

Les lymphomes sont des cancers du sang qui touchent le système lymphatique, principal élément du système immunitaire de l'organisme. Cette maladie du sang est caractérisée par la prolifération maligne de lymphocytes qui tendent à infiltrer tout l'organisme et différents organes contenant du tissu lymphoïde, la plupart du temps aux ganglions, du foie et de la rate, provoquant une augmentation de leur taille. Près de la moitié des cancers du sang sont des lymphomes.

Il s'agit essentiellement de :

- La maladie de Hodgkin qui concerne 20% des lymphomes ;
- Des lymphomes non hodgkiniens, dans 80% des cas, auxquels le lymphome primaire du SNC, lymphome diffus a grande cellules B et lymphome de Burkitt sont rattachés.

### 3.1 La maladie de Hodgkin

Ce type de lymphome est relativement rare. Il est caractérisé par la présence dans les organes atteints de cellules réticulaires dystrophiques : les cellules de Sternberg [16].

Le lymphome hodgkinien survient principalement chez les jeunes adultes, dans la majorité des cas entre 20 et 30 ans, et chez les personnes âgées de plus de 60 ans. Il peut également atteindre les enfants et les adolescents (il est exceptionnel avant l'âge de 5 ans).

En cas de maladie de Hodgkin, la prolifération de cellules anormales entraîne une augmentation de volume des ganglions lymphatiques. Les lymphocytes ne fonctionnent plus correctement. L'organisme perd donc une partie de son système de défense contre les virus et les bactéries et par conséquent, des infections surviennent plus aisément.

Vraisemblablement, la maladie apparaît initialement en un endroit déterminé, habituellement un ganglion lymphatique, parfois ailleurs dans le système lymphatique dans la rate, le foie ou la moelle osseuse.

En raison de sa grande sensibilité aux traitements par chimiothérapie et par radiothérapie, le lymphome hodgkinien peut être guéri dans plus de 80 % des cas [16].

### 3.2 Lymphomes non hodgkiniens

Les lymphomes non hodgkiniens (LNH) englobent un groupe hétérogène de cancers. Ces lymphomes ne contiennent pas de cellules de Sternberg. Ils étaient désignés autrefois sous les termes de lymphosarcomes.

Dans les LNH, les lymphocytes sont produits en trop grande quantité et leur durée de vie est plus longue que la normale. Ces lymphocytes anormaux sont à l'origine de tumeurs qui se développent, au détriment des cellules saines, dans les ganglions lymphatiques (lymphome ganglionnaire) ou dans le tissu lymphoïde que l'on trouve dans la plupart des organes (lymphome extra ganglionnaire). La tumeur peut se disséminer dans l'organisme par la circulation des lymphocytes anormaux dans la lymphe [17].

Il existe plusieurs classifications des lymphomes malins non hodgkiniens, on distingue :

#### 3.2.1 Classification d'Ann Arbor modifiée

On définit quatre stades différents selon le nombre d'aires ganglionnaires atteintes et leur localisation par rapport au diaphragme ainsi que par la présence ou non d'atteinte extra-ganglionnaires d'origine hématogène (**Tableau 1**) [17,18]

**Tableau 1:** Classification de Ann Arbor modifiée

Stade	Extension de la maladie
<b>Stade I</b>	Un seul territoire ganglionnaire atteint.
<b>Stade II</b>	Plus de deux territoires ganglionnaires atteints mais tous situés du même côté de diaphragme.
<b>Stade III</b>	Plus de deux territoires ganglionnaires atteints et situés des deux côtés de diaphragme.
<b>Stade IV</b>	Atteinte médullaire ou viscérale (d'origine hématogène)
Classification clinico-biologique	
<b>A</b>	Absence de signe clinique d'évolutivité
<b>B</b>	Présence d'au moins un des signes cliniques d'évolutivité
<b>a</b>	Absence de syndrome inflammatoire
<b>b</b>	Présence d'un syndrome inflammatoire
<b>X</b>	Présence d'une masse Bulky
<b>E</b>	Présence d'une atteinte viscérale de contiguïté

### 3.2.2 Classifications pronostiques

Schématiquement et sur le plan pratique, on distingue :

- lymphomes B (85 %) contre lymphomes T (15 %) ;
  - lymphomes agressifs et lymphomes indolents :
    - ❖ les lymphomes T sont tous considérés comme des lymphomes agressifs (sauf les lymphomes T cutanés) ;
    - ❖ les lymphomes B sont eux séparés en agressifs (ou de haut grade de malignité) contre indolents (ou de bas grade de malignité)
  - lymphomes localisés (de stades I-II) contre lymphomes disséminés (de stades III-IV)
- [17,19]

### 3.2.3 Le lymphome primitif du système nerveux central

Le lymphome primitif du système nerveux central (LPSNC) est un type de lymphome rare et agressif qui touche uniquement le cerveau et qui peut s'étendre à la moelle épinière, aux méninges et aux yeux. Dans plus de 90 % des cas, les cellules cancéreuses à l'origine de la maladie sont des lymphocytes B. Cette maladie ne représente que 2% des lymphomes non hodgkiniens.

Ce type de lymphome survient avec une fréquence accrue chez les personnes présentant un déficit immunitaire, notamment chez les patients atteints de sida. Le nombre de cas de LPSNC chez ces patients est toutefois en diminution depuis que les combinaisons antirétrovirales efficaces sont disponibles.

La maladie peut survenir à tout âge, le pic de fréquence étant autour de 60 ans. Elle se manifeste par des symptômes divers, notamment des maux de tête avec nausées, des troubles intellectuels ou de la parole, une faiblesse musculaire, des troubles de la marche et de l'équilibre, des crises d'épilepsie ou des troubles visuels.

Le LPSNC est une maladie grave, mais habituellement très sensible aux traitements, et potentiellement curable. Le traitement repose sur une chimiothérapie à base de méthotrexate à fortes doses. Chez les sujets jeunes, elle est susceptible d'être complétée par de la radiothérapie ou par une chimiothérapie intensive [19,21]

### 3.2.4 Lymphomes diffus à grandes cellules B

Les lymphomes diffus à grandes cellules B (LDGCB) représentent la forme la plus fréquente des lymphomes non hodgkiniens (environ 40%). Leur diagnostic est réalisé par examen anatomo-pathologique d'une biopsie. Ils sont caractérisés par une évolution spontanément agressive ainsi qu'une prolifération diffuse de grandes cellules dans les ganglions ou les autres organes touchés, d'où le nom donné à cette maladie.

La plupart des LDFGB sont primitifs, mais ils peuvent également se développer durant l'évolution d'un lymphome indolent (lymphome folliculaire, lymphome de la zone marginale ou leucémie lymphoïde chronique). Le stae de la maladie est déterminé en fonction de la classification d'Ann Arbor (**Tableau 1**).

Ce type de lymphome est à localisation ganglionnaire dans la majorité des cas sous la forme d'adénopathies périphériques ou profondes mais atteint également de façon fréquente les territoires extra-ganglionnaires (tube digestif, tissu cutané, système nerveux central, etc.)

Ce LNH peut survenir à tout âge, mais reste rare chez les enfants. Le choix du traitement repose sur une évaluation systématique des principaux critères pronostiques de ses maladies (âge, état général au diagnostic, stade de la maladie, nombre de sites extra-ganglionnaires envahis). La poly-chimiothérapie reste le traitement de référence dont le type et le nombre de cycles dépendent du score pronostique [19,22,24].

### 3.2.5 Lymphome de Burkitt

Le lymphome de Burkitt (LB) est une sous-entité de lymphome à cellules B matures. Il s'agit d'une pathologie assez agressive avec une évolution très rapide [25]. C'est le lymphome non hodgkinien le plus fréquent chez les enfants dans le monde et représente le premier cancer pédiatrique en Afrique Sub-Saharienne. Chez les adultes, il ne représente que 2% de l'ensemble des LNH [26].

Il est composé de 3 sous-types : la forme endémique, la forme sporadique et la forme liée à l'immunodéficience.

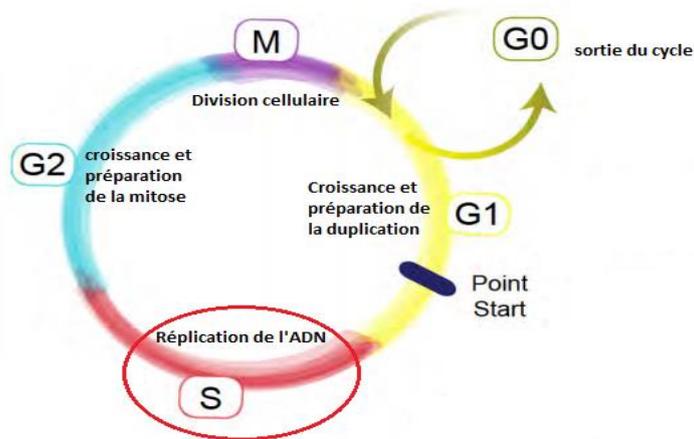
Ces sous types différent par leur présentations cliniques et géographiques mais possèdent tous des réarrangements de l'oncogène c-myc, la caractéristique génétique du lymphome de Burkitt ce qui contribue à la prolifération massive des LB [27].

La forme endémique, appelée aussi la forme africaine est liée à la présence du virus Epstein Barr. Elle se localise le plus souvent au niveau de la mâchoire mais peut atteindre certains sites nodulaires, elle touche surtout les enfants africains. La forme sporadique quant à elle ou forme non africaine, non endémique est retrouvée au niveau de différents sites extra ganglionnaires, elle se localise majoritairement au niveau de l'abdomen et peut se propager à d'autres organes tel que les ovaires, les testicules ou même les reins. Cette forme domine chez les enfants en occident mais peut également être retrouvée chez les jeunes adultes. Enfin, la forme liée à l'immunodéficience qui se manifeste chez les personnes dont le système immunitaire est affaibli, généralement atteints de VIH. C'est une forme qui n'est pas associée à l'EBV [22,28,29]

**CHAPITRE II : MONOGRAPHIE DU  
METHOTREXATE**

## 1 Définition

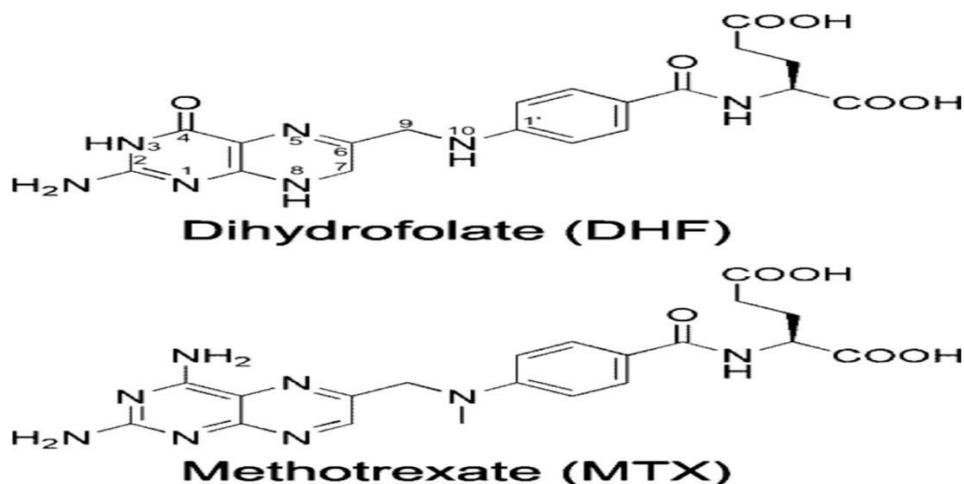
Le méthotrexate (MTX) est un médicament antinéoplasique, anti métabolite phase S dépendant, analogue de l'acide folique.



**Figure 1:** Schéma des différentes étapes du cycle cellulaire [30].

## 2 Structure et formule chimique

La structure de la molécule du méthotrexate est très similaire à celle des folates naturels (Figure 2).



**Figure 2:** Structures de dihydrofolate (DHF) et du méthotrexate [31]

- Dénomination commune internationale : Méthotrexate ;
- Dénomination chimique selon IUPAC : Acide (2*S*)-2-[[4-[(2,4-diaminopteridin-6-yl)methyl-methylamino]benzoyl]amino]pentanedioïque [32] ;
- Formule moléculaire brute et masse moléculaires : C<sub>20</sub> H<sub>22</sub> N<sub>8</sub> O<sub>5</sub> (454.45 g/mol).

### 3 Propriétés physico-chimiques

- Forme physique : poudre cristalline hygroscopique jaune ou orangée;
- C'est un acide faible et son pK<sub>a</sub> est 4.8-5.5 ;
- Solubilité :
  - pratiquement insoluble dans l'eau, l'éthanol (96%) et dichlorométhane ;
  - soluble dans des solutions diluées d'acides minéraux, d'hydroxydes alcalins et carbonates [2].

### 4 Stabilité et conservation

L'usage du méthotrexate à hautes doses est réservé exclusivement aux services hospitaliers, avant la dilution, le produit doit être stocké dans un endroit à température contrôlée (inférieure à 25°C) et à l'abri de la lumière dans ces conditions il peut être conservé pendant 2 à 3 ans[33].

Le MTX est plus stable pour un pH compris entre 6 et 8.

La préparation des solutions injectables de MTX doit être obligatoirement réalisée par un personnel spécialisé et entraîné, dans des conditions assurant la protection de l'environnement et surtout la protection du personnel qui manipule. Elle nécessite un local de préparation réservé à cet usage. L'élimination des déchets contaminés se fait par incinération dans des conteneurs rigides étiquetés à cet effet.

La dilution peut être effectuée dans du sérum salé isotonique ou du sérum glucosé à 5%.

Après ouverture, le produit doit être utilisé immédiatement. Une fois la dilution est effectuée, la durée de stabilité varie entre 12 et 24h à température ambiante n'excédant pas 25°C.

Toutefois d'un point de vue microbiologique, le produit doit être utilisé extemporanément.

Tout médicament non utilisé doit être jeté.

## 5 Formes galéniques et posologiques

**Tableau 2:** Formes galéniques et posologiques du MTX

Nom commercial	Formes galéniques
METHOTREXATE 2.5%	Solution injectable à diluer
METHOTREXATE 10%	Solution injectable à diluer
METHOTREXATE 2.5 mg	Comprimé
METHOTREXATE 10 mg	Comprimé sécable

## 6 Pharmacocinétique

### 6.1 Absorption

L'absorption de MTX administré par voie orale est incomplète, dose dépendante et très variable (biodisponibilité varie de 13-76%). Pour les doses inférieures à  $30\text{mg}/\text{m}^2$  l'absorption est bonne (la biodisponibilité est de 42% ) avec un pic plasmatique qui est atteint dans 1 à 2h [23], au-dessus de  $40\text{mg}/\text{m}^2$  une saturation de l'absorption apparaît ce qui diminue significativement la biodisponibilité (approche les 18% approximativement), cela explique l'utilisation de la voie IV pour des doses plus élevées [35].

Pour la voie intraveineuse l'absorption est rapide et complète avec une biodisponibilité de 100% ainsi les concentrations sériques maximales surviennent dans un délai de 30 à 60 minutes [36].

### 6.2 Distribution

Après administration intraveineuse, le MTX est distribué initialement avec un volume de 18% (0,18 L/kg de poids corporel) et le volume de distribution à l'équilibre est de 40 à 80% (0.4L/Kg à 0.8L/Kg de poids corporel), la phase initiale de distribution possède un  $t_{1/2}$  de 30 à 45 min [37].

Le MTX est un acide faible, non liposoluble, très ionisé à pH physiologique, qui se lie aux protéines plasmatiques, cette liaison implique majoritairement l'albumine à l'ordre de 50% [38].

Le méthotrexate se concentre particulièrement dans les organes suivants : rein, rate, foie, vésicule biliaire et peau ainsi que dans les liquides d'épanchement pleural et d'ascite (troisième secteur) impliquant un relargage retardé vers le sang, augmentant ainsi son exposition et donc sa toxicité, ce phénomène est plus problématique lorsque des hautes doses de MTX sont administrées [37].

En plus de la diffusion passive, le MTX utilise un système de transport transmembranaire actif, le passage à travers la membrane cellulaire s'effectue en utilisant différentes protéines de transports saturables telles que Reduced Folate Carrier (RFC) utilisé par les folates endogènes et l'acide folinique avec qui le MTX entre donc en compétition [34].

Après l'administration des hautes doses de MTX, les concentrations plasmatiques varient entre  $10^{-4}$  à  $10^{-3}$  mol, pour ces concentrations le transport actif est saturé laissant place à la diffusion passive qui serait alors majoritaire [37]

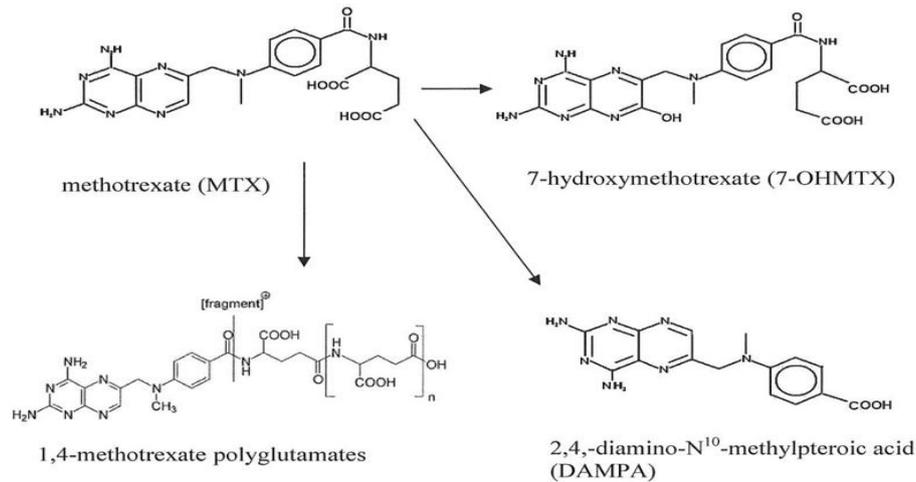
Le MTX administré à moyennes et hautes doses traverse la barrière hémato-encéphalique.

### 6.3 Métabolisme

Le 7-hydroxy-méthotrexate (7-OH-MTX) est le principal métabolite du MTX, produit par action de l'aldéhyde oxydase hépatique présente dans le foie .40% de la dose administrée de MTX haute dose est métabolisée en 7-OH- MTX qui est néphrotoxique , moins hydrosoluble et ne possède pas d'action cytotoxique [39]. Le 7-OH-MTX représente moins de 10% du médicament excrété et sa demi-vie est de 6h tout comme le MTX il peut également subir des polyglutamylations.

Le second métabolite est l'acide 2,4 diamino-10 méthylptéroïque (DAMPA) qui est minoritaire et inactif, le MTX est hydrolysé après son excrétion biliaire dans le tractus digestif, par les carboxypeptidases enzyme présente dans les bactéries de la flore intestinale [34].

Le méthotrexate est transformé également en dérivés polyglutamylés par ajouts successifs de 1 à 4 résidus glutamyl en position terminale, liés par des liaisons peptidiques. Cette réaction est effectuée par la folylpolylglutamate synthase, enzyme ATP-dépendante. La forme polyglutamylée lui permet de rester plus longtemps dans les cellules de façon croissante [37]



**Figure 3:** MTX et ses principaux métabolites [40]

#### 6.4 Elimination

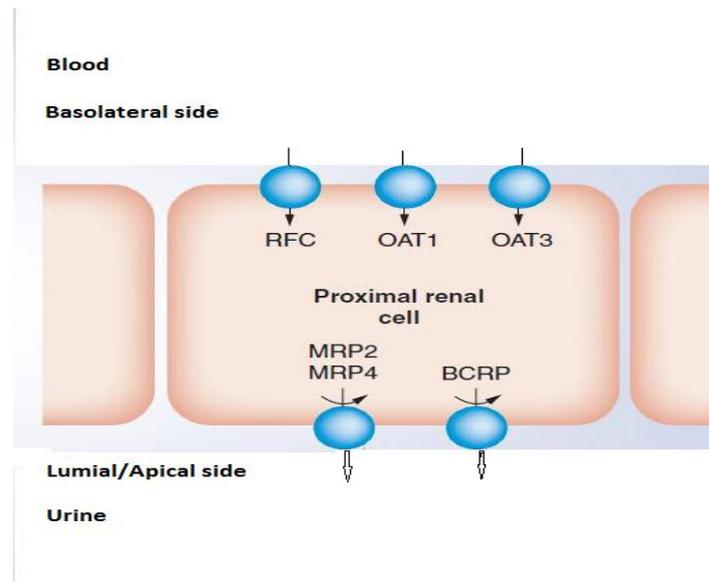
L'élimination du MTX et du 7-OH MTX est essentiellement urinaire par filtration glomérulaire et sécrétion tubulaire grâce à différents transporteurs. Une petite partie subit un cycle entérohépatique et est éliminée dans les fèces [41].

Après administration unique, près de 90 % du MTX est éliminé dans les urines en 48 h, la majorité l'étant dans les 8 à 12 premières heures. Une grande partie (80 %) est éliminée sous forme inchangée et 10 % sous forme de 7-OH MTX.

La demi-vie plasmatique est estimée entre 8 et 15 h pour des doses supérieures à 30 mg/m<sup>2</sup> mais celle-ci ne traduit pas la demi-vie d'élimination du MTX de l'organisme car il reste stocké dans les cellules [41].

Les principaux transporteurs impliqués dans l'élimination du MTX sont les Organic Anion Transporter (OAT) qui sont des protéines de transport membranaire, dans le rein les OAT1 et OAT3 sont situés sur la membrane basolatérale du tubule proximal alors que l'OAT4 se situe sur la membrane apicale du tubule. Ces transporteurs sont inhibés compétitivement par certains médicaments [42].

Les Multidrug Resistance Proteins (MRP) sont également impliqués, les MRP1, 2, 3 et 4 peuvent transporter le méthotrexate, mais pas sa forme polyglutamylée. MRP4 transporte ainsi les folates [43].



**Figure 4:** les transporteurs rénaux du MTX [35].

## 7 Les facteurs influençant la pharmacocinétique

### 7.1 Insuffisance rénale

Un dysfonctionnement rénal entraîne un retard d'élimination ainsi l'administration de MTX-HD s'accompagne d'une altération précoce de la filtration glomérulaire, dès la 24<sup>ème</sup> heure de traitement [44] donc pour les patients ayant une insuffisance rénale, une surveillance intensifiée doit être recommandée pour des raisons de toxicité citant essentiellement l'hépatotoxicité, la myélosuppression et les mucites [45].

### 7.2 Variabilité interindividuelle

L'excrétion du méthotrexate au niveau des cellules tubulaires rénales fait intervenir les transporteurs MRP2 et MRP4. L'analyse génétique d'un patient qui a présenté un surdosage et une toxicité rénale en l'absence d'anomalie initiale de sa fonction glomérulaire ou d'interactions médicamenteuses a permis d'identifier une nouvelle mutation à l'état hétérozygote dans le gène ABCC2 codant pour MRP2. Plusieurs auteurs ont depuis confirmé le lien entre les variants génétiques du gène ABCC2 et le risque de toxicité [46].

En plus, un polymorphisme du gène de la méthylène-tétrahydrofolate réductase (MTHFR), pourrait être associé à un risque de toxicité hématologique accrue et une moindre efficacité du MTX lorsque le génotype est homozygote 677 TT (mutation chez 15 % des Caucasiens environ). La recherche de cette anomalie pourrait dans le futur devenir un outil intéressant pour sélectionner les patients à risque nécessitant potentiellement une surveillance plus étroite

et des précautions plus importantes dans la gestion du traitement par MTX voire de la supplémentation en acide folique.

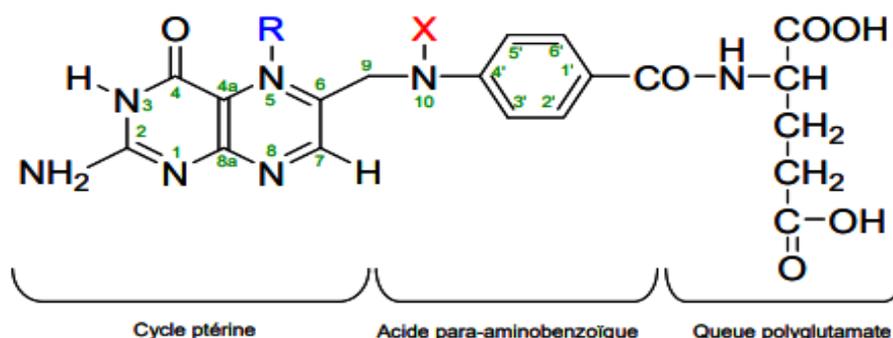
### 7.3 Interactions médicamenteuses

Beaucoup d'interactions pouvant modifier la pharmacocinétique du MTX sont décrites soit par diminution de l'élimination rénale du MTX citant le cas du triméthoprim, les AINS et les inhibiteurs de la pompe à protons [47] en réduisant la filtration glomérulaire, ou bien par le biais d'une liaison aux protéines plasmatiques avec des molécules fortement liées à l'albumine telles que les AINS, les pénicillines, les sulfamides antibactériens et le kétoconazole [48,50].

## 8 Mécanisme d'action pharmacologique

### 8.1 Folates : structure, apports et métabolisme

Le terme folate(s) désigne un ensemble de molécules qui ont pour structure de base l'acide folique (ou acide ptéroylglutamique ou vitamine B9). Il s'agit d'une molécule composée de trois parties bien distinctes : un noyau ptérine lié à un acide para-aminobenzoïque (PABA) sur lequel s'articule une chaîne de glutamate dont le nombre de résidus varie de 1 à 14 (**Figure 5**) [51]. Ce sont des vitamines hydrosolubles du groupe B. Leur principal rôle, dans le métabolisme végétal et animal, est d'être des donneurs de groupements monocarbonés [52]. Au niveau cellulaire, les formes actives sont les dérivés du dihydrofolate (DHF) et du tétrahydrofolate (THF) qui sont les formes réduites de l'acide folique [53].



**Figure 5:** Structure chimique partagée par les différents dérivés de folates R et X indiquent les sites de substitution possibles en fonction de la nature du dérivé [54].

L'homme ne peut pas synthétiser l'acide folique et dépend donc des sources alimentaires [45]. La plus grande partie des folates alimentaires est apportée par les légumes verts et les fruits (orange, fruits rouges, melon, banane...), mais tous les fromages en sont une bonne source, ainsi que les œufs, le foie et les graines en général.

Les apports alimentaires recommandés sont mentionnés dans le tableau suivant (**Tableau 3**)

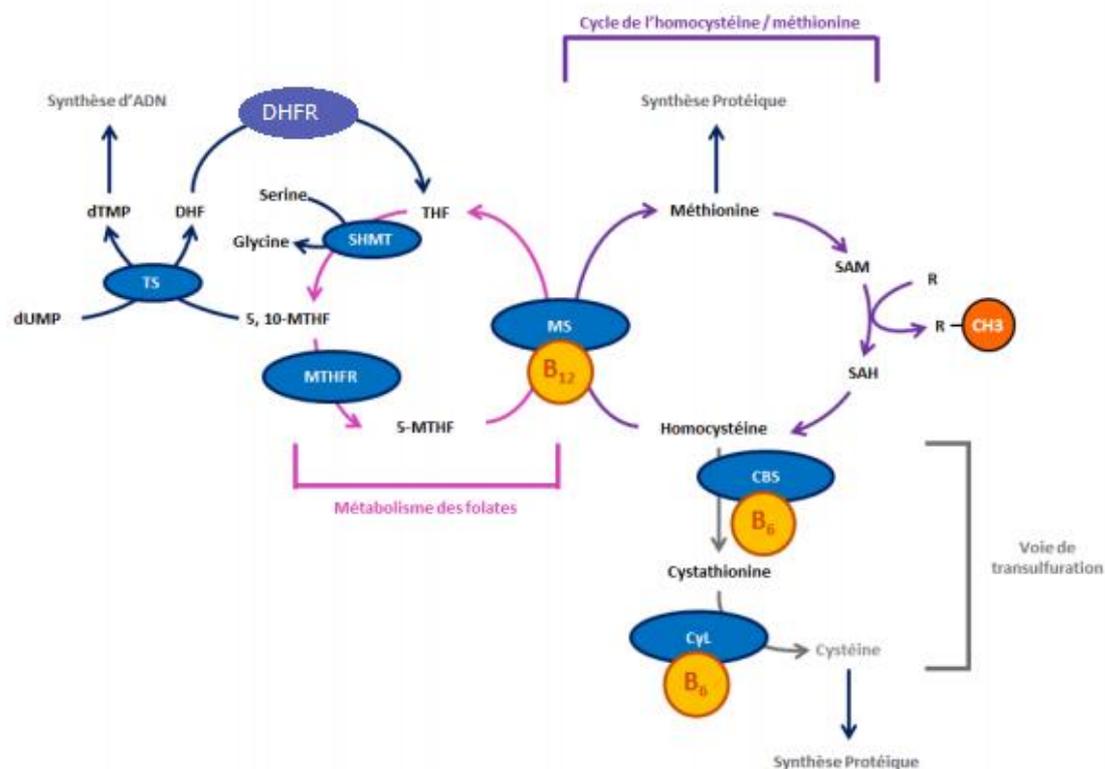
**Tableau 3:** Apports nutritionnels conseillés en folates ( $\mu\text{g/j}$ ) [55]

<b>Population</b>	<b>Dose recommandée (<math>\mu\text{g/j}</math>)</b>
Nourrissons	70
Enfants 1-3 ans	100
Enfants 4-6 ans	150
Enfants 7-9 ans	200
Enfants 10-12 ans	250
Adolescent(e)s 13-15 ans	300
Adolescents 16-19 ans	330
Adolescentes 16-19 ans	300
Hommes adultes	330
Femmes adultes	300
Personnes âgées > 75 ans	330/400
Femmes enceintes et allaitantes	400

Les folates alimentaires existent principalement sous forme de polyglutamates qui ne peuvent pas traverser les membranes cellulaires et doivent être hydrolysés enzymatiquement en forme monoglutamate dans l'intestin pour être absorbés [55]. Une fois que le folate a pénétré dans l'entérocyte par un transport membranaire spécifique, la synthèse intracellulaire de polyglutamate se produit pour répondre aux besoins cellulaires du métabolisme du folate et également pour maintenir un gradient de concentration en faveur de l'entrée du

monoglutamate dans la cellule [56]. La polyglutamylation est assurée par la folylpolyglutamate synthase, enzyme ATP-dépendante. Les formes polyglutamate obtenues sont préférentiellement retenues à l'intérieur des cellules et sont des cofacteurs plus efficaces que les composés monoglutamate [18].

Les composés de folate doivent être sous la forme réduite et polyglutamate pour fonctionner comme coenzymes. La réduction de l'acide folique ou du dihydrofolate DHF en tétrahydrofolate THF est catalysée par la dihydrofolate réductase DHFR. La conversion du THF en 5,10-méthylène THF est une première étape cruciale du cycle qui utilise le carbone 3 de la sérine comme principale source de carbone. Une partie du 5,10-méthylène-tétrahydrofolate ainsi produit subit une réduction enzymatique en 5-méthyl-THF par la méthylène tétrahydrofolate réductase (MTHFR) [57]. C'est sous la forme de 5-méthyl-THF que les folates sont majoritairement présents dans l'organisme. Dans la synthèse des noyaux pyrimidiques catalysée par la thymidylate synthase, l'acide désoxythymidyl-5'-monophosphate (dTMP) est synthétisé à partir de l'acide désoxyuridyl-5'-monophosphate (dUMP) et du 5,10-méthylène-THF. Le produit de cette réaction est la dihydrofolate (DHF) ( **Figure 6**) [57,58].



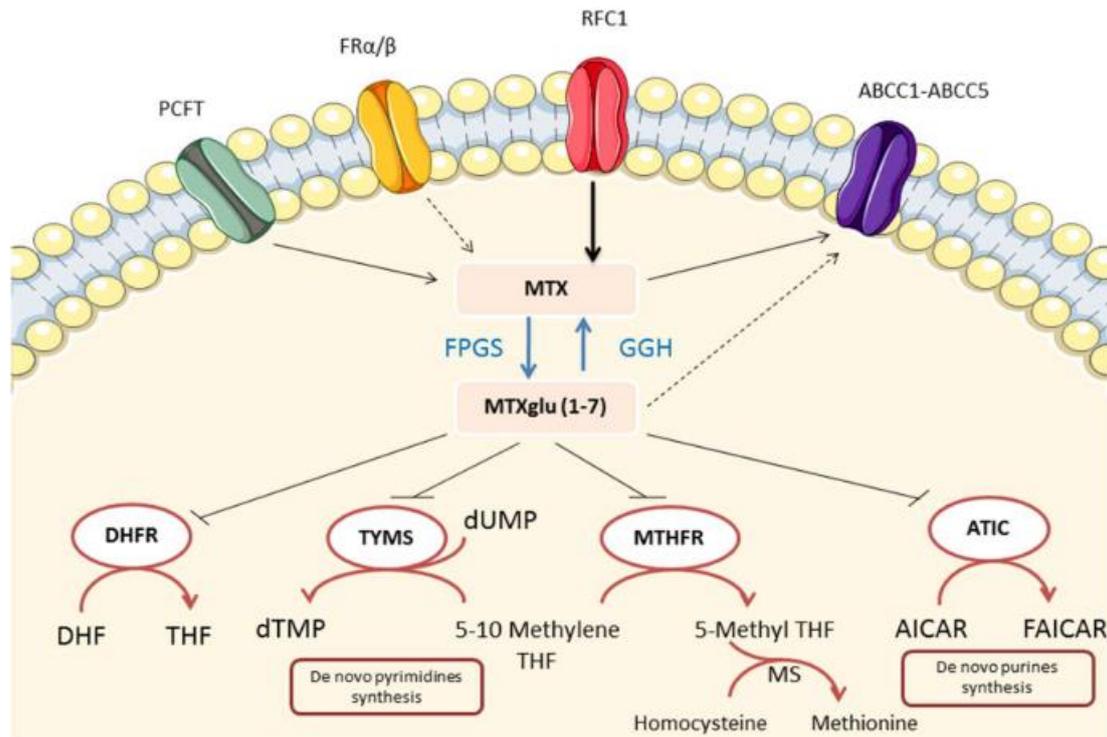
**Figure 6:** Métabolisme des folates et cycle de l'homocystéine/méthionine

5,10-MTHF : méthylène-tetrahydrofolate, 5-MTHF : méthyl-tetrahydrofolate, DHF: dihydrofolate, dTMP : désoxythymidine monophosphate, dUMP : désoxyuridine monophosphate, TS : thymidylate synthase, SAH : S-adenosyl-L-homocystéine, SHMT : sérine hydroxyméthyltransférase, CBS : cystathionine- $\beta$ -synthase, C $\gamma$ L : cystathionine- $\gamma$ -lyase [58].

## 8.2 Mécanisme d'action du methotrexate

Après absorption et pénétration intracellulaire, le MTX est métabolisé par la folylpolyglutamyl synthase (FPGS) en un dérivé polyglutamate dont le temps de séjour dans les cellules et la bioactivité sont nettement supérieurs à ceux de la forme initiale. Il s'agit d'une étape pharmacocinétique clé qui détermine l'effet attribué à ce médicament, définissant le MTX comme un promédicament qui subit une bioactivation à l'intérieur de la cellule [59]. La polyglutamylation réduit l'efflux du MTX hors de la cellule et augmente sa demie vie intracellulaire [60]. Son effet antifolate provient de sa structure qui est similaire à celle de l'acide folique ce qui permet une inhibition compétitive de la dihydrofolate réductase (DHFR) [61]. Cette enzyme catalyse la conversion du dihydrofolate en tetrahydrofolate (THF) et son inhibition entraîne l'arrêt de la synthèse de novo des bases puriques et pyrimidiques [62].

Il induit également l'inhibition d'autres enzymes comme la thymidylate synthase (TS) qui catalyse la réaction de production du nucléotide pyrimidine dTMP à partir de dUMP, cette inhibition entraîne une déplétion en thymidylate qui est toxique pour les cellules en division active. L'inhibition de la DHFR conduit à un appauvrissement en 5-10-méthylène-THF ce qui peut contribuer à une inhibition indirecte de la TS par le MTX. De plus, Le MTX polyglutamate est un puissant inhibiteur de l'AICAR transformylase qui est une enzyme transformant le 10-formyl THF en THF et formyl-AICAR (FAICAR), une réaction qui est essentielle pour la synthèse de novo des nucléotides puriques [63].



**Figure 7:** Transporteurs de méthotrexate (MTX), voies métaboliques et cibles enzymatiques intracellulaires [60].

Le transport du MTX à travers les membranes biologiques est médié par le transporteur de folate réduit (RFC1), le transporteur de folate couplé au proton (PCFT) (principalement exprimé dans la partie proximale de l'intestin grêle au niveau de la membrane apicale des entérocytes) avec une contribution limitée des récepteurs de folate (FR). Le MTX est exporté hors de la cellule par les transporteurs de la famille ABCC (ATP-binding cassette). Dans la cellule, le MTX est converti en formes polyglutamate dans une réaction réversible médiée par la folylpolyglutamate synthétase (FPGS) et la  $\gamma$ -glutamyl hydrolase (GGH). La forme polyglutamate du MTX inhibe la dihydrofolate réductase (DHFR) et plusieurs enzymes dépendantes des folates, telles que la thymidylate synthase (TYMS), la 5-amino-imidazole-4-carboxyde ribonucléotide (AICAR) transformylase (ATIC) et la méthylène tétrahydrofolate réductase (MTHFR), diminuant les intermédiaires de la voie des folates en aval, nécessaires à la synthèse des nucléotides [60].

## 9 Interactions médicamenteuses

Environ 20 à 30 % des réactions indésirables liées aux médicaments sont dues aux interactions médicamenteuses [64].

Les interactions du MTX avec d'autres médicaments peuvent résulter des modifications de la pharmacocinétique ou de la pharmacodynamique ce qui pourrait modifier de façon significative son efficacité ou sa toxicité [64].

Plusieurs sites potentiels ont été proposés pour ces interactions : une augmentation de la fraction non liée au MTX résultant de la compétition sur les sites de liaison à l'albumine (association avec AINS, les pénicillines), une inhibition de la sécrétion tubulaire du MTX ou une action synergique sur l'inhibition de la DHFR [65].

### 9.1 Contre-indications

L'utilisation du méthotrexate est contre-indiquée en cas de :

- Insuffisance Rénale sévère ;
- Atteinte hépatique sévère ;
- Insuffisance Respiratoire Chronique ;
- Grossesse ;
- Allaitement ;
- Hypersensibilité au méthotrexate.

Les associations contre-indiquées mentionnées dans le Résumé des Caractéristiques du produit du Méthotrexate sont les suivantes :

- Probenécide: Majoration de la toxicité hématologique suite à l'inhibition de la sécrétion tubulaire rénale du MTX, il est décrit comme un inhibiteur puissant de nombreux transporteurs des familles OAT notamment OAT1, OAT2, OAT3, des OATP et MRP [66];
- Triméthoprim: Inhibition synergique de la DHFR et diminution de l'excrétion rénale du MTX conduisant à une augmentation de la toxicité hématologique ;
- Acide acétylsalicylique: utilisé à des doses antalgiques, antipyrétiques ou anti inflammatoires pour des doses de MTX supérieures à 20 mg : majoration de la toxicité notamment hématologique par diminution de la clairance rénale ;
- Phénylbutazone : quel que soit la dose du MTX et pour toutes les formes de phénylbutazone, y compris locales : augmentation de la toxicité hématoloroncgique du MTX due à la diminution de la clairance rénale.

### 9.2 Associations déconseillées

- Ciprofloxacine: inhibition de la sécrétion tubulaire du méthotrexate ou altération de la liaison aux protéines plasmatiques [67], par conséquent augmentation de sa toxicité ;
- Pénicillines: augmentation des effets et de la toxicité hématologique par inhibition de la sécrétion tubulaire du méthotrexate (inhibition des transporteurs OAT) [68] ;

- Acitrétine: risque de majoration de la toxicité hépatique d'où la nécessité de renforcer la surveillance du bilan hépatique en cas d'association nécessaire ;
- Anti sécrétoires inhibiteurs de la pompe à proton: la prescription des IPP est déconseillée avec le MTX à des doses supérieures à 20mg par semaine. De nombreux cas d'altération de la clairance rénale du MTX ont été rapportés favorisant la survenue des manifestations toxiques. Le mécanisme de cette interaction met en jeu une inhibition des transporteurs BCRP, OAT1, OAT3 ou encore MRP par les IPP [33] ;
- Kétoprofène: un intervalle d'au moins 12 heures entre l'arrêt ou le début du Kétoprofène et la prise de MTX est nécessaire (lors de l'association avec du MTX à des doses supérieures à 20 mg par semaine) ;
- Les autres AINS sont déconseillés avec le MTX à des doses supérieures à 20 mg par semaine.

### 9.3 Associations faisant l'objet de précautions d'emploi

**Tableau 4:** Associations avec le méthotrexate faisant l'objet de précautions d'emploi [69]

Médicament associé	Conséquence de l'interaction	Précautions d'emploi
Sulfamides antibactériens	↑ de la toxicité hématologique du MTX.	Dosage des concentrations de MTX  Adaptation posologique si nécessaire pendant l'association et après son arrêt.
Ciclosporine	↑ de la toxicité du MTX et de la ciclosporine.  Augmentation de la créatininémie  Diminution réciproque des clairances des deux médicaments.	Dosage des concentrations plasmatiques du MTX et de la ciclosporine.  Adaptation posologique si nécessaire pendant l'association et après son arrêt.
Médicaments néphrotoxiques : les aminosides, les produits de contraste iodé, les organoplatines, la pentamidine, le foscarnet avec le MTX-HD	↑ du risque de néphrotoxicité.	renforcer la surveillance biologique rénale.
Protoxyde d'azote	Potentialisation de l'effet du MTX sur le métabolisme des folates.  <b>Toxicité accrue :</b> myélosuppression sévère et imprévisible, stomatite lors de l'administration intrathécale, neurotoxicité	Possibilité d'atténuer cette toxicité par administration de folinate de calcium  Cependant l'association doit être évitée

### 9.4 Autres associations

- Vaccin antiamarile (contre la fièvre jaune): risque de maladie vaccinale généralisée mortelle ;
- Phénytoïne et par extrapolation fosphénytoïne: risque de survenue de convulsions par diminution de l'absorption digestive de la phénytoïne ;
- Immunosuppresseurs (ciclosporine, évérolimus, tacrolimus, sirolimus): risque de syndrome lymphoprolifératif suite à une immunosuppression excessive

- Le furosémide: c'est un inhibiteur puissant des transporteurs OAT1 et OAT3, il inhibe donc la sécrétion rénale [70]. De plus, les diurétiques favorisent l'apparition d'une insuffisance rénale aigüe en diminuant la volémie, la co-prescription du furosémide avec le MTX est donc un facteur de risque d'élimination retardée [66].

### 9.5 Interaction avec les anticancéreux

- Méthotrexate et Mesna: parmi les effets indésirables du Mesna on retrouve les éruptions cutanées. Cependant il n'affecte pas l'action et l'efficacité du MTX [71] ;
- Méthotrexate et Rituximab : aucune interaction n'a été observée avec ces deux médicaments, cela n'exclut pas la possibilité de leur manifestation. L'EMA (Agence européenne du médicament) et l'ANSM (Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé), informe les professionnels de santé du risque de réactions cutanées sévères, tels que des syndromes de Lyell et des syndromes de Stevens-Johnson, associé à l'utilisation du Rituximab solution à diluer pour perfusion IV, Ces effets indésirables graves sont survenus avec une fréquence très rare [72].

Le Rituximab présente des effets secondaires cutanés de type prurit, éruption, urticaire ;

- Méthotrexate et cyclophosphamide: les éruptions cutanées, prurit, syndrome de Stevens Johnson sont décrits comme effet indésirable associé au cyclophosphamide [70] ;
- Méthotrexate et doxorubicine: l'éruption cutanée et le prurit sont des effets indésirables de la doxorubicine. Une toxicité additive peut survenir notamment pour les effets médullaires/hématologiques et gastro-intestinaux [73].

## 10 Facteurs de risque

Les différents facteurs de risque associés à une élimination retardée du MTX et à l'apparition d'une toxicité ont été étudiés.

Ils sont évoqués par les auteurs par une connaissance préalable de la physiopathologie de la toxicité rénale du MTX et par des études rétrospectives des patients traités par MTX. Le nombre de patients et de cycles analysés varient d'une étude à l'autre. Certains facteurs de risque sont seulement issus d'observation sur un nombre limité de patients [66].

**Tableau 5:** Facteurs de risque associés à une toxicité au MTX [66]

<b>Liés au patient</b> Âge > 50ans Sexe masculin IMC > 25 kg/m <sup>2</sup> 3 <sup>ème</sup> secteur : ascite, œdème, épanchement pleural, liquide intracrânien Antécédents de toxicité rénale
<b>Biologiques / Génétiques</b> Clairance de la créatinine < 60 ml/min Hypoalbuminémie, hyperhomocystéinémie Anomalies hépatiques Polymorphismes génétiques au niveau des transporteurs du MTX et la MTHFR
<b>Liés au MTX</b> Exposition cumulative (à partir du 4 <sup>ème</sup> cycle) Dose de méthotrexate > 3,5 g / m <sup>2</sup> Perfusion courte
<b>Pendant la cure</b> Diarrhées / Vomissements Infection à <i>Clostridium difficile</i> Polyuries / Hypovolémie / Hypo perfusion rénale Fièvre pH urinaire < 7 Apport hydrique < 3l/m <sup>2</sup> Courte durée de pré-hydratation Acide folinique par voie orale Alimentation acidifiant les urines : Coca-cola, fromage, viande, riz blanc
<b>Interactions médicamenteuses</b> Inhibiteurs de la pompe à proton Furosémide Pénicilline

## 11 Toxicité

Les effets secondaires liés au MTX sont de fréquence et sévérité variable et peuvent survenir à toutes les posologies et tout au long du traitement. La plupart des effets indésirables sont réversibles s'ils sont détectés précocement. La moelle osseuse, la muqueuse gastro-intestinale et les cheveux sont particulièrement vulnérables à ces effets, en raison de leur taux élevé de renouvellement cellulaire [33,74].

### 11.1 Toxicité rénale

La néphrotoxicité causée par l'MTX-HD est due à une néphropathie à cristaux, entraînant une diminution modérée et transitoire du débit de filtration glomérulaire. La solubilité du MTX est faible dans un environnement à pH acide, de plus, celle de son métabolite, le 7-OH-MTX, est six à dix fois plus faible induisant ainsi leur précipitation dans les tubules rénaux [75,76].

Le méthotrexate peut également agir comme un toxique directe sur les cellules tubulaires proximales en donnant une nécrose aigüe [77], ainsi qu'une vasoconstriction de l'artériole afférente [75].

En raison de l'absence de symptômes cliniques d'altération de la fonction rénale à un stade précoce, une surveillance quotidienne de la concentration de MTX dans le plasma et la créatinine sérique est nécessaire dès le début du traitement afin de prédire le développement d'un dysfonctionnement rénal [77].

### 11.2 Neurotoxicité

Le MTX est généralement associé à des effets neurologiques néfastes. Les manifestations cliniques rapportées comprennent les céphalées, la confusion, les crises, la désorientation et peu fréquemment une leuco encéphalopathie qui peut se présenter sous deux formes :

- Aiguës : leuco-encéphalopathie débutant par une insomnie puis pouvant conduire vers la confusion, stupeur, agitation et peut aller jusqu'à la crise comitiale généralisée ;
- Retardées : leuco-encéphalopathie nécrosante pouvant apparaître plusieurs mois après le traitement [75].

Les mécanismes de cette toxicité ne sont pas encore pleinement connus, mais de nombreuses hypothèses peuvent l'expliquer, comme l'interférence de MTX avec le métabolisme des protéines, de lipides et de la myéline, diminution du taux de méthionine ainsi qu'une augmentation des taux d'homocystéine qui est neurotoxique [78,79].

### 11.3 Toxicité hématologique

La toxicité hématologique est une complication grave souvent observée avec le MTX-HD [80]. La toxicité médullaire est la principale complication [81], elle consiste en une thrombocytopénie suivie d'une leuco neutropénie rapidement progressive [75]. En résultent principalement des risques hémorragiques et infectieux [18]. Des hémogrammes réguliers permettent de poser l'indication d'éventuelles transfusions [75].

### 11.4 Toxicité cutanéomuqueuse

Le MTX est occasionnellement associé à des réactions cutanées cytotoxiques sévères parfois fatales, telles que le syndrome de Stevens-Johnson, nécrolyse épidermique toxique (syndrome de Lyell) et érythème polymorphe qui ont été observés dans les jours suivant son administration. La destruction de l'épiderme et des muqueuses est due à l'inhibition de la synthèse d'ADN qui affecte les tissus à renouvellement rapide ce qui explique l'incidence des mucites [18,75,82,83].

### 11.5 Toxicité gastro-intestinale

Le MTX peut induire une variété de troubles gastro-intestinaux. Les patients qui présentent cette toxicité se plaignent souvent de douleurs abdominales qui peuvent s'accompagner de vomissements et de diarrhée [74].

### 11.6 Toxicité hépatique

La toxicité hépatique du MTX-HD est bien décrite. Elle est caractérisé par une cytolyse réversible et transitoire en une à deux semaines, se traduisant par une augmentation brutale et réversible des enzymes hépatiques [75]. Ces atteintes hépatiques répétées peuvent être la voie vers une maladie chronique du foie, caractérisée par une fibrose ou une cirrhose qui peut se développer en une insuffisance hépatocellulaire [76,83].

Le degré de l'atteinte hépatique augmente avec la dose cumulée, la fréquence d'administration étant un facteur favorisant des lésions hépatiques. Enfin, la voie d'administration n'a pas d'impact sur l'hépatotoxicité [84].

### 11.7 Toxicité pulmonaire

La toxicité pulmonaire secondaire au méthotrexate est peu fréquente[85]. Des pneumopathies immunoallergiques pouvant évoluer vers la fibrose pulmonaire peuvent être observées [74].

## 12 Prévention de la toxicité du MTX-HD

Pour prévenir la toxicité de MTX-HD, le suivi des patients traités par MTX-HD requiert des précautions strictes et doit être réalisées en milieu spécialisé.

### 12.1 Hyperhydratation et alcalinisation des urines

#### 12.1.1 L'hyperhydratation

L'hyperhydratation permet d'optimiser l'élimination rénale du MTX et de ses métabolites en augmentant le débit de filtration glomérulaire et éviter leur précipitation intra tubulaire [86].

De nombreux protocoles pédiatriques recommandent au moins 2 heures d'hyperhydratation d'un minimum de 100 - 200 ml/m<sup>2</sup> par heure commençant 4 à 12 heures avant le début de la perfusion du méthotrexate et se poursuivant pendant 24 à 48 heures ou plus si le patient a des antécédents de toxicité du méthotrexate ou développe une élimination retardée du méthotrexate [86].

#### 12.1.2 L'alcalinisation

Le MTX et ses métabolites sont des acides faibles, peu solubles dans l'urine acide. L'augmentation, par exemple, du pH urinaire de 6 à 7 multiplie par un facteur de 5 à 8 fois la solubilité du MTX et de ses métabolites [87].

L'alcalinisation est impérative pour réduire la formation des cristaux intra tubulaire ( précipitation ) [86].

L'hyperhydratation alcaline est généralement composée de deux tiers de chlorure de sodium 0,9% et d'un tiers de bicarbonate de sodium à 1,4% [65].

#### 12.1.3 Maintien du pH et du débit urinaire

Il est important de vérifier les valeurs du pH urinaire régulièrement pendant la perfusion afin de ne pas détecter de longues périodes de temps avec une urine acide, ce qui pourrait augmenter le risque de précipitation, de néphrotoxicité et d'élimination retardée du méthotrexate[87]. Une valeur inférieure à 7 devrait imposer l'administration d'une dose supplémentaire de bicarbonate de sodium et la cure devrait être différée jusqu'à ce que cette valeur soit atteinte[76].

### 12.2 Drainage des fluides du troisième espace

Les liquides du troisième espace comme les épanchements pleuraux, œdèmes ou une ascite conduisent à une demi-vie plasmatique prolongée du MTX, donc une exposition prolongée au MTX et risque de toxicité. Le drainage des fluides du troisième espace avant la cure de MTX-HD est recommandé pour éviter cette toxicité [88].

### 12.3 Eviter les interactions médicamenteuses

La toxicité avec le MTX-HD peut être augmentée en cas de co-administration de médicaments ayant le potentiel de déplacer le MTX des protéines sériques, de réduire la clairance du MTX ou une modification de son élimination [89].

### 12.4 Sauvetage à l'acide folinique

L'acide folinique reconstitue la réserve cellulaire de folates réduits. C'est le dérivé formyle de l'acide tétrahydrofolique, c'est-à-dire la forme active de l'acide folique. Il existe deux stéréoisomères de l'acide folinique : la forme L- active et la forme D- inactive [90].

L'acide folinique et le MTX partagent le même transporteur membranaire (RFC-1) et entrent en compétition pour le transport à l'intérieur des cellules. Après entrée dans la cellule, l'acide folinique est activé via le métabolisme intracellulaire en 5-méthyltétra- hydro folate en contournant l'enzyme DHFR donc il protège les cellules des effets de MTX en restaurant le pool de folates réduits[86].



### **12.5 Surveillance de la concentration plasmatique de MTX**

La surveillance du MTX plasmatique est un élément essentiel de la thérapie MTX-HD. Elle vise à identifier les patients présentant le risque le plus élevé de toxicité du MTX (**voir chapitre III**) [44,74].

## **13 Conduite à tenir devant une toxicité au MTX-HD**

De nombreux cas de surdosage au MTX sont décrits et définis par une méthotrexatémie à 24h supérieure ou égale à 10  $\mu\text{mol/l}$  ou à 1  $\mu\text{mol/l}$  à 48h ou à 0.2  $\mu\text{mol/l}$  à 72h associée ou non à une augmentation d'au moins 1,5 fois la valeur de la créatinine de base [44,92].

En présence de concentrations très supérieures aux valeurs attendues à un temps de prélèvement donné ou d'altération précoce de la fonction rénale, plusieurs stratégies peuvent être mises en œuvre selon l'intensité de la surexposition.

### **13.1 Prolongation de l'hyperhydratation alcaline**

Dans le cas de toxicité au MTX-HD, l'hyperhydratation alcaline doit être maintenue jusqu'à ce que le taux plasmatique du MTX revienne à la normale au moment du prélèvement.

### **13.2 Intensification du sauvetage par acide folinique**

Plusieurs abaques existent afin d'adapter la dose d'acide folinique en fonction de la méthotrexatémie. La conduite à tenir décrite par le RCP américain du méthotrexate est présentée dans le tableau suivant:

**Tableau 6:** Conduite à tenir en cas d'élimination retardée du méthotrexate décrite dans le RCP de la FDA

Situation clinique	Résultats biologiques	Administration d'acide folinique
Elimination normale du MTX	MTXémie < 10µmol/L à H24 <1µmol/L à H48 <0,2µmol/L à H72	15mg per os, intramusculaires ou intraveineux toutes les 6 heures pour 10 doses en commençant 24 heures après le début de la perfusion de MTX
Elimination retardée tardive du MTX	MTXémie > 0,2 µmol/L à H72 >0,05µmol/L à H96	Continuer le schéma ci-dessus jusqu'à ce que la MTXémie soit inférieure à 0,05µmol/L
Elimination retardée précoce du MTX et/ou preuve d'Insuffisance Rénale Aigue	MTXémie ≥ 50 µmol/L à H24 ≥5µmol/L à H48 OU Doublement de la créatininémie à H24 par rapport à la valeur de base	150mg IV toutes les 3heures jusqu'à ce que MTXémie < 1µmol/L, puis 15mgIV toutes les 3heures jusqu'à ce que MTXémie < 0,05 µmol/L

### 13.3 Élimination du méthotrexate circulant

Pour les surdosages sévères, il est possible d'avoir recours à des techniques visant à éliminer le méthotrexate circulant. En effet, il a été montré que pour des méthotrexatémies très importantes, de hautes doses d'acide folinique ne suffisaient pas à contrer les effets toxiques.

#### 13.3.1 Dialyse

L'hémodialyse à haut débit semble être la méthode d'épuration extracorporelle la plus efficace en cas de méthotrexatémies toxiques, avec une diminution des concentrations de MTX de 42 à 94 % en un temps de 4 à 12 heures [90,93].

Cependant, l'efficacité n'est que partielle car on observe souvent un effet rebond qui peut aller jusqu'à une augmentation de 90 à 100 % de la concentration avant dialyse. Il est dû à une redistribution du MTX à partir des compartiments tissulaires et intracellulaires vers le compartiment sanguin [44].

### 13.3.2 Carboxypeptidase G2

Un traitement enzymatique des surdosages au MTX a pu être envisagé suite à la découverte et l'isolement de la carboxypeptidase G1 extraite de *Pseudomonas stutzeri* dans les années 1970. Cette enzyme bactérienne hydrolyse le glutamate en position terminale du MTX conduisant à la formation d'un métabolite non toxique (n'inhibant pas la dihydrofolate réductase et non cytotoxique sur cellules leucémique), l'acide 4-désoxy-4- amino-N10-méthylptéroïque (DAMPA) [93]. Une enzyme recombinante aux propriétés similaires a été développée, la carboxypeptidase G2 ou glucarpidase, obtenue après clonage dans *Escherichia coli* [94].

Les études ont montré qu'après l'administration intraveineuse de glucarpidase en 5 minutes, une hydrolyse rapide du MTX circulant conduisant à une diminution de plus de 95 % de la méthotrexatémie dans les 15 minutes[95].

En 2012, la glucarpidase a obtenu une autorisation de mise sur le marché américain par la Food and Drug Administration dans le cadre des retards d'élimination associé à une insuffisance rénale, avec concentrations toxiques de MTX de plus de 1 mmol/l. En France et dans les autres pays européens, ce médicament reste utilisable dans le cadre d'une autorisation temporaire d'utilisation nominative.

Enfin, Il est noté qu'en cas d'utilisation de glucarpidase, l'administration d'acide folinique doit être décalée d'au moins 2 heures (en raison d'un risque de compétition avec le MTX comme substrat de l'enzyme) et les doses d'acide folinique ajustées au taux de MTX avant l'administration de glucarpidase pendant 48 heures.

Les méthodes standard de dosage immunoenzymatique ne permettent pas de distinguer le MTX du DAMPA, produit par le clivage induit par la glucarpidase (surestimation des taux circulants de MTX pendant une durée supérieure à 5 jours), il est recommandé de surveiller les méthotrexatémies après le traitement par chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) en laboratoire spécialisé.

L'Observatoire du Médicament, des Dispositifs Médicaux et de l'Innovation Thérapeutique (OMEDIT) de la région Centre proposait en 2008 le tableau décisionnel suivant et précisait qu'il est possible d'administrer la Carboxypeptidase G2 jusqu'à 96 heures après le début de la perfusion de méthotrexate [96].

**Tableau 7:** Tableau décisionnel en cas de surdosage au méthotrexate – OMEDIT Centre 2008 [96]

	<b>Méthotexatémie à H48</b>		
	3µmol/L < MTXémie	<10µmol/L	MTXémie > 10µmol/L
<b>Créatininémie</b>	<1,5 x valeur basale	>1,5 x valeur basale	Non prise en compte
<b>Interprétation</b>	Retard d'élimination	Surexposition	
<b>Conduite à tenir</b>	Surveillance rapprochée  Intensification des mesures de sauvetage (hydratation, alcalinisation, acide folinique)	Administration de Carboxypeptidase G2	

#### 14 Résistance au méthotrexate

La résistance au MTX peut être un problème clinique important et reste l'un des principaux obstacles à l'efficacité clinique de ce médicament. A de fortes doses de MTX, elle peut se développer en trois ou quatre périodes répétées d'exposition. Dans de nombreux cas plusieurs mécanismes de résistance sont connus [97]:

- Diminution du transport membranaire intracellulaire en raison de l'altération du système d'absorption actif. En effet les cellules tumorales deviennent résistantes suite à une diminution de l'affinité du transporteur pour le méthotrexate. Ce mécanisme s'explique par la diminution de l'expression ou mutation du gène du RFC ou une augmentation de l'activité des mécanismes d'efflux. Dans ce cas, les concentrations intracellulaires de MTX sont beaucoup plus faibles que prévu ;
- Diminution des concentrations intracellulaires de MTX polyglutamylé. Cela se produit via une diminution de l'activité de la FPGS ou une augmentation de l'activité de la gamma glutamyl hydrolase, enzyme catalysant la réaction

réversible. En conséquence, une proportion plus élevée de MTX intracellulaire n'est pas polyglutamée, ce qui permet une diffusion passive hors de la cellule ;

- Une inhibition réduite de la DHFR qui se produit en raison d'une surexpression de cette enzyme due à une amplification du gène ou des mutations entraînant une diminution de l'affinité pour la liaison du MTX et de ses polyglutamates.

### 15 Utilisations actuelles du méthotrexate haute dose

Le méthotrexate haute dose est indiqué dans le traitement de l'ostéosarcome, de certains Lymphomes Non Hodgkiniens (LNH) et des Leucémies Aiguës Lymphoblastiques (LAL).

Sa posologie est exprimée par rapport à la surface corporelle.

Celle-ci est une mesure approximative de la surface extérieure du corps humain. C'est une variable extrêmement délicate à mesurer de façon reproductible, elle est estimée comme une fonction mathématique du poids combiné à la taille.

**Tableau 8:** Liste des différentes formules de calcul de la surface corporelle.

Auteurs	Formules
<b>Dubois et Dubois</b> [98]	$SC (m^2) = 0.20247 \times \text{taille}(m)^{0.725} \times \text{poids} (kg)^{0.425}$
<b>Mosteller</b> [99]	$SC (m^2) = [(\text{taille} (cm) \times \text{poids} (kg))/3600]^{1/2}$
<b>Haycock</b> [100]	$SC (m^2) = 0.24265 \times \text{taille} (cm)^{0.3964} \times \text{poids} (kg)^{0.5378}$
<b>Gehan et George</b> [101]	$SC (m^2) = 0.0235 \times \text{taille} (cm)^{0.42246} \times \text{poids} (kg)^{0.51456}$
<b>Boyd</b> [102]	$SC (m^2) = 0.0003207 \times \text{taille} (cm)^{0.3} \times \text{poids}(g)^{(0.7265 - (0.0188 \times \log (\text{poids}))}$

La formule la plus utilisée est celle de **Mosteller** mais une formule plus simplifiée est adaptée, celle-ci est utilisée chez la population adulte et pédiatrique [103]:

$$SC (m^2) = [4 \times \text{Poids} (kg) + 7] / [\text{Poids} (kg) + 90]$$

**CHAPITRE III : SUIVI THERAPEUTIQUE  
PHARMACOLOGIQUE DU METHOTREXATE**

## 1 Définition

Le suivi thérapeutique pharmacologique ou Therapeutic Drug Monitoring (TDM) est une spécialité clinique de la pharmacologie visant à améliorer la prise en charge du patient en ajustant individuellement la dose des médicaments pour lesquels le bénéfice clinique du suivi thérapeutique a été démontré dans la population générale ou dans une population particulière [104].

Il repose à priori sur des informations pharmacogénétiques, démographiques et cliniques et/ou à posteriori sur la mesure des concentrations sanguines du médicament (suivi pharmacocinétique) ou de paramètres biologiques d'effet (suivi pharmacodynamique).

Il s'agit du dosage dans les milieux biologiques du patient (généralement dans le sang) de certains médicaments afin d'optimiser le traitement curatif ou préventif.

Il fait partie des outils de personnalisation du traitement qui a un double objectif :

- Diminuer le taux d'échecs thérapeutiques liés à une mauvaise observance ou à une dose insuffisante de médicament ;
- Diminuer la fréquence des effets indésirables et/ou toxiques des médicaments liés à une dose ou une posologie excessive [105].

Le STP ne peut pas être appliqué à tous les médicaments, seul un nombre restreint sont éligibles au titre du STP. Ces molécules répondent à la fois aux conditions suivantes [105] :

- Relation concentration-effet du médicament est meilleure que la relation dose/effet ;
- Relation dose-concentration du médicament présente une importante variabilité interindividuelle ;
- Une zone thérapeutique étroite ;
- Une réponse pharmacologique difficilement accessible par une mesure directe de l'effet et donc absence d'outils cliniques ou biologiques de surveillance du traitement.

## 2 Intérêt du suivi thérapeutique

La relation concentration-effet clinique (efficacité ou toxicité) est meilleure que la relation dose-effet clinique pour de nombreux médicaments. Comme l'effet pharmacologique dépend de la quantité ou de la concentration en principe actif au niveau des sites d'action, et qu'il est impossible de la déterminer à ce niveau, il convient de mesurer la concentration sanguine du médicament [106].

Les variations interindividuelles de la relation dose-effet et la relative difficulté à les anticiper justifient la réalisation d'une mesure de la concentration. De ce fait, il n'est pas rare qu'une posologie normale puisse s'avérer inefficace, de même, cette posologie peut s'avérer trop élevée. En effet, il faut tenir compte des multiples sources de variabilités interindividuelles des phases du devenir du médicament dans l'organisme, ou ADME (Absorption, distribution, métabolisme et élimination) [106].

Une variation intra-individuelle peut exister au-delà d'une variabilité interindividuelle des relations dose-concentration et dose-effet. Ainsi, pour une même dose maintenue au cours du temps chez un même patient, une fluctuation de l'exposition et donc de l'effet peut être observée [106].

### 3 Suivi thérapeutique du méthotrexate

Le suivi thérapeutique du méthotrexate est recommandé en raison de l'importante variabilité inter individuelle de la pharmacocinétique et la pharmacodynamie de cette molécule. Il permet de vérifier que la posologie est efficace, sans atteindre la zone de toxicité, et de déceler précocement les patients chez qui l'élimination du médicament est retardée et qui présentent de ce fait un risque accru de toxicité.

Un suivi thérapeutique pharmacologique est recommandé parmi les horaires suivants : h 24, h 36, h 48, h 72 depuis le début de la perfusion. Des prélèvements supplémentaires sont proposés si le seuil de non-toxicité n'est pas atteint à h 72. Dans ce cas, un contrôle est répété toutes les 24 h jusqu'à atteinte d'un seuil considéré comme non toxique [44].

Le suivi thérapeutique pharmacologique trouve son intérêt dans :

- La détermination du surdosage ;
- L'adaptation de la posologie de l'acide folinique ;
- Le suivi de la cinétique d'élimination du MTX.

#### 3.1 Détermination du surdosage

Le STP du méthotrexate administré à haute dose est unanimement recommandé, cette pratique repose sur un ensemble d'arguments cliniques montrant un lien entre des concentrations élevées et le risque de toxicité [44].

La réalisation systématique du dosage sanguin du méthotrexate au décours de son administration permet également d'objectiver ou de confirmer une surexposition franche, situation nécessitant une prise en charge particulière immédiate [44].

### 3.2 Adaptation de la posologie de l'acide folinique

L'acide folinique permet de rétablir la synthèse des nucléotides et prévenir ainsi les risques de toxicité potentiellement grave du MTX-HD en fournissant une source de tétrahydrofolates intracellulaires qui entrent dans le cycle des folates en aval du DHFR enzyme inhibée par le MTX [107].

L'administration d'acide folinique débute généralement 24 à 36 heures après le début de la perfusion de méthotrexate et ne doit pas dépasser les 48h et doit être poursuivie jusqu'à l'obtention d'une méthotrexatémie inférieure à 0,05  $\mu\text{mol/l}$  [108,109].

La dose de l'acide folinique ainsi que le temps du début d'administration sont les deux critères à considérer lors du sauvetage puisque une administration précoce pourrait altérer l'efficacité anti tumorale du MTX par contre un retard d'administration pourrait induire une toxicité sévère [110].

## 4 Processus du suivi thérapeutique et pharmacologique

### 4.1 Collecte d'informations

La récolte des informations du patient est d'une importance capitale pour pouvoir prendre en compte leur contribution à la variation interindividuelle de la pharmacocinétique et de la pharmacodynamique du MTX [111]. Ces détails doivent être communiqués de manière efficace par le clinicien lors d'une demande d'analyse du MTX et ce, en remplissant une fiche de renseignement qui accompagne le prélèvement.

Parmi ces informations on retrouve :

- Les médicaments associés utilisés en prophylaxie ou dans le cadre du protocole de chimiothérapie. En effet il existe une multitude d'interactions médicamenteuses qui s'accompagnent d'une influence significative sur la pharmacocinétique du MTX et par conséquent une augmentation de sa toxicité. Il est donc important de les déceler afin d'interpréter les résultats du dosage et d'expliquer d'éventuelles manifestations toxiques (**voir section 9 du chapitre II**);
- Les antécédents pathologiques du patient dans le but de mieux interpréter sa réponse au traitement ainsi que la cinétique d'élimination du MTX. L'élimination du médicament est prolongée chez les patients souffrants d'insuffisance rénale, de

même, l'insuffisance hépatique diminue le métabolisme du MTX et augmente sa concentration sous forme inchangée [106] ;

- Bilans biologiques avant et après administration du MTX (FNS, bilan rénal, bilan hépatique, ionogramme, albuminémie,...) ce qui va permettre une comparaison entre l'état initial du patient et son état après l'administration, détecter précocement la perturbation des différentes fonctions et prévenir l'apparition d'une toxicité ;
- Heure et quantité de l'hyperhydratation alcaline ainsi que le pH urinaire qui doit être supérieur à 7 avant le début de la perfusion de MTX-HD et doit être maintenu à ce niveau jusqu'à ce que la concentration plasmatique de MTX tombe en dessous du seuil de toxicité [112] ;
- Schéma posologique du sauvetage folinique auquel des modifications seront apportées en fonction de la concentration plasmatique du MTX. Tout retard d'élimination justifie l'adaptation du sauvetage par l'acide folinique afin de limiter la cytotoxicité engendrée par le MTX [44] ;
- Données cliniques avant administration notamment la présence d'un troisième secteur qui entraîne une rétention du MTX, une clairance plus lente et une demi-vie plus longue, ce qui nécessite un sauvetage plus long avec l'acide folinique [38].

Les autres informations fournies sont résumées dans le tableau ci-dessous :

**Tableau 9:** Informations collectées avant le dosage du methotrexate.

Informations liées au patient	Informations liées au médicament
Identité du patient	Voie d'administration et dose administrée par m <sup>2</sup>
Age et sexe	Protocole actuel et schéma posologique du MTX
Poids, taille, surface corporelle	Rythme d'administration du MTX
Tolérance à la cure actuelle	Date et heure exacte du début de la perfusion
Antécédents de traitement au MTX	Date et heure exacte de la fin de la perfusion
Antécédents de toxicité au MTX	Durée de la perfusion
Les signes cliniques de la toxicité antérieure	Date et heure exacte de la dernière administration du MTX
Date et heure exacte du prélèvement	Indication du dosage (contrôle, toxicité)

#### 4.2 Prélèvement

Le MTX sous forme inchangée est le paramètre le plus recherché en STP. L'analyse de la littérature confirme qu'il existe des valeurs seuils à différents moments de prélèvement au-delà desquels il existe un risque élevé de toxicité. Le temps en heure étant compté à partir du début de la perfusion, les temps de mesure sont le plus souvent fixés parmi les horaires suivants, h24, h36, h48, h72 (selon le protocole). Des prélèvements supplémentaires sont proposés si le taux plasmatique normal n'est pas atteint à h72 [44,111].

Le MTX est contrôlé dans le sang veineux, le dosage peut être fait sur sérum ou plasma [112]. Les anticoagulants acceptables sont l'héparine, l'EDTA et l'oxalate (**voir Annexe III**).

#### 4.3 Transport et conservation

Le méthotrexate est un paramètre instable à la lumière et à la chaleur, de ce fait, l'échantillon sanguin doit être rapidement transporté au laboratoire et maintenu à une température comprise entre 2 et 8° C à l'abri de la lumière [113].

#### 4.4 Prétraitement

Une fois reçu, accompagné de la fiche de renseignements, le prélèvement sanguin subit deux traitements essentiels : la centrifugation et la dilution (elle n'est pas systématique). L'échantillon récupéré sera ensuite analysé.

### 5 Méthodes analytiques de dosage du méthotrexate

Différentes méthodes ont été décrites pour la détermination du méthotrexate dans le plasma et d'autres liquides biologiques ; y compris les techniques immunologiques et chromatographiques [114].

#### 5.1 Techniques immunologiques

Les méthodes de dosage immunologique sont le plus souvent réalisées par techniques immuno enzymatiques : EMIT (Enzyme Multiplied Immunoassay Technic), CEDIA (Cloned Enzyme Immuno Donor Assay) ou immunofluorescentes : FPIA (Fluorescence Polarization Immuno Assay), ELISA et FIA (Fluorescence Immuno- Assay).

##### **EMIT (Enzyme Multiplied Immunoassay Technic)**

Le dosage Emit est une technique d'immunodosage enzymatique en phase homogène utilisée pour l'analyse de composés spécifiques dans les fluides biologiques. Cette technique est basée sur l'activité enzymatique d'une enzyme marquée au médicament, la glucose-6-phosphate déshydrogénase (PDH), modulée par des anticorps dirigés contre le médicament. L'activité enzymatique (en présence de glucose-6-phosphate) entraîne la conversion de la nicotine adénine dinucléotide (NAD) en la forme réduite NADH et l'augmentation subséquente de l'absorbance à 340 nm est surveillée par spectrophotométrie.

L'addition de l'anticorps anti-médicament entraîne la liaison à l'enzyme marquée par le médicament, ce qui réduit efficacement l'activité enzymatique. Tout médicament dans l'échantillon entre en compétition avec l'enzyme marquée par le médicament en se liant à l'anticorps, ce qui permet à l'enzyme non liée de devenir active et augmente ainsi l'absorbance à 340 nm. Par conséquent, des quantités croissantes de médicament dans l'échantillon produisent une activité enzymatique accrue et donc une augmentation de la vitesse de variation de l'absorbance à 340 nm [107,115].

L'utilisation de la PDH bactérienne, qui utilise le NAD comme coenzyme, évite l'interférence de la PDH endogène, qui utilise la nicotine adénine dinucléotide phosphate (NADP).

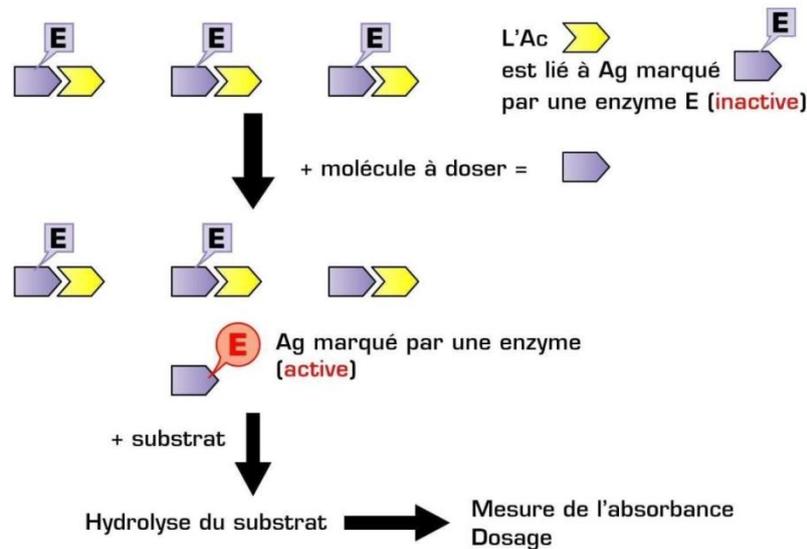


Figure 9: Principe de la méthode EMIT.

## 5.2 Techniques chromatographiques

### Chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

La chromatographie en phase liquide est une méthode de séparation des constituants d'un mélange même très complexe. Elle a permis de réaliser des analyses qui n'étaient auparavant pas possible avec les techniques sur couche mince ou en phase gazeuse. A l'origine elle se faisait sur des colonnes en verre. Le liquide traversait la phase stationnaire par gravité ou sous faible pression. Puis pour augmenter le débit, des manipulations ont été réalisées sous pression plus forte. C'est ce que l'on a appelé la chromatographie liquide sous haute pression (HPLC) [116].

**Tableau 10:** Comparaison entre les méthodes immunologiques et les méthodes chromatographiques [114,117]

Méthode Emit	Méthode HPLC
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Convient aux laboratoires cliniques qui traitent un grand nombre d'échantillons.</li> <li>- Permet de mesurer l'ensemble de MTX et ses métabolites.</li> <li>- Les kits sont assez chers et que les enzymes ont des dates de péremption. Cela peut entraîner un gaspillage important lorsque l'on ne traite qu'un petit nombre d'échantillons.</li> <li>- Moins spécifique : elle mesure la concentration totale de MTX (avec ou sans liaison aux protéines plasmatiques)</li> <li>- Sensibilité limitée</li> <li>- Risque de Réactions croisées (ex : avec aminoptérine).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Elle convient aux laboratoires de recherches.</li> <li>- Permet de séparer le MTX de ses métabolites,</li> <li>- Un haut degré de spécificité et de sensibilité.</li> <li>- Rapide</li> </ul>



**PARTIE  
PRATIQUE**

# **CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODE**

## 1 Type de l' étude

C'est une étude prospective descriptive

## 2 Population de l'étude

L'étude porte sur des patients adultes et enfants atteints des hémopathies malignes, hospitalisés au niveau du service hématologie et hémato-pédiatrie du CHU de TIZI-OUZOU et traités par méthotrexate à fortes doses.

### 2.1 Critères d'inclusion

Tous les patients adultes et enfants, des deux sexes traités par méthotrexate à haute dose, administré par voie intraveineuse, dans le cadre d'un traitement des hémopathies malignes.

### 2.2 Critères de non inclusion

- L'administration du méthotrexate par voie intra thécale ou intra musculaire.
- Patients traités par méthotrexate pour d'autres pathologies (Psoriasis, maladie de Crohn)

## 3 Période de l'étude

L'étude a été réalisée sur une période de 4 mois allant de Mars 2021 à Juin 2021.

## 4 Recueil des renseignements

Le recueil des informations est réalisé au moyen d'une fiche de renseignements préétablie spécifique au dosage du méthotrexate à hautes doses et qui doit accompagner chaque prélèvement (**voir Annexe III**).

Cette fiche fournit des informations concernant :

- Informations concernant le patient : nom et prénom, sexe, poids, surface corporelle, pathologie (ou motif de prescription) ;
- Information concernant l'administration du MTX : posologie, le rythme et la voie d'administration, date de début de la perfusion, heure de début et la fin de la perfusion, les médicaments associés (noms des spécialités, posologies) ;
- Information concernant le sauvetage folinique et la diurèse alcaline : posologie de l'acide folinique, date de début et de fin de sauvetage ;
- Les données clinique et biologiques du patient : la tolérance vis-à-vis du traitement, bilan biologique (FNS, urée, créatinine, pH urinaire, ASAT, ALAT...)

- Les modalités du prélèvement : date et heure du prélèvement.

Une mention importante figure à la fin de la fiche, qui rappelle au personnel soignant la procédure de prélèvement et conservation :

Prélèvement sur tube hépariné: centrifuger rapidement et mettre le plasma à l'abri de lumière entre 2° et 8°C, cette température est à respecter durant le transport du prélèvement vers le laboratoire. En cas d'analyse différée congeler le sérum à – 20° C.

## **5 Matériel**

### **5.1 Echantillonnage**

#### **5.1.1 Moment des prélèvements**

Le suivi thérapeutique repose sur des mesures de concentration réalisées à des intervalles périodiques, le temps (en heures) étant compté à partir du début de la perfusion. Les modalités précises du suivi, en particulier les horaires des contrôles, sont généralement décrites par le protocole clinique dans lequel le patient est inclus [44].

Ces temps de mesure sont le plus souvent fixés parmi les horaires suivants : H24, H48, H72. Des prélèvements supplémentaires sont proposés si le seuil de non toxicité n'est pas atteint à h72. Dans ce cas, un contrôle est répété toutes les 24 heures jusqu'à atteinte d'un seuil considéré comme non toxique. Les protocoles prévoient également des abaques d'interprétation des concentrations mesurées et de conduite à tenir en fonction des résultats [118].

#### **5.1.2 Précautions à prendre pour le prélèvement**

Les prélèvements sanguins sont effectués sur un tube hépariné qui porte l'identité du patient, et acheminés immédiatement vers le laboratoire de toxicologie du CHU de Tizi Ouzou. Une fois reçu, accompagné de la fiche de renseignements, le prélèvement sanguin est aussitôt centrifugé à 3000 tours/minute durant 5 minutes. Le plasma récupéré sera ensuite analysé. L'échantillon est protégé de la lumière depuis son prélèvement jusqu'à l'analyse.

## **5.2 Appareillage**

L'analyse a été réalisée par méthode immunoenzymatique automatisée (système EMIT®) sur automate VIVA –E (siemens)



**Figure 10:** Automate Viva E® SIEMENS.

### 5.3 Consommable et petit matériel

-Tube sec et embouts.

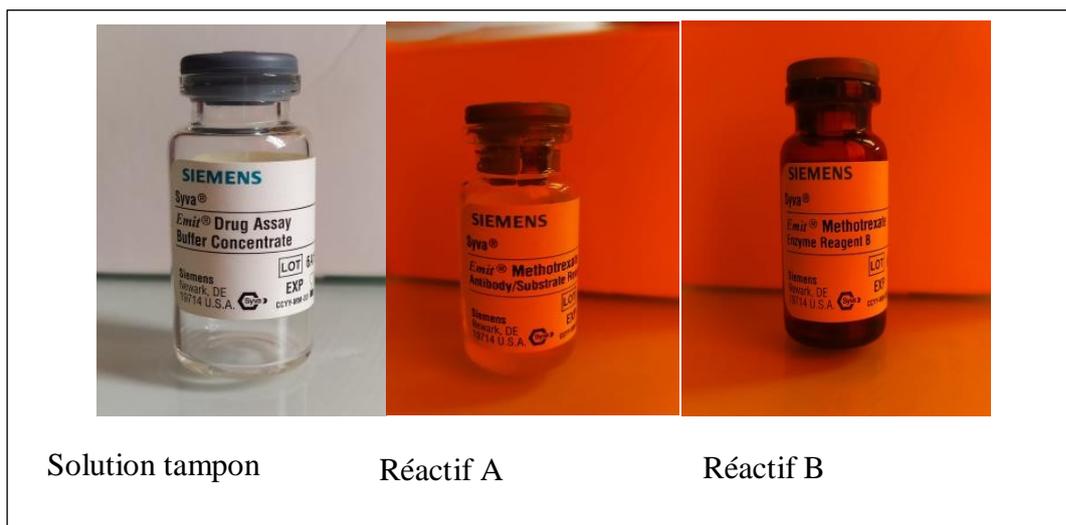
-Centrifugeuse.

### 5.4 Réactifs

Les réactifs joints avec le coffret de MTX sont indiqués dans le tableau

**Tableau 11:** Les différents constituants du kit de dosage du Méthotrexate

Produits	Volume
<p><b>Réactif A anticorps/substrat :</b></p> <p>Anticorps de mouton positifs au méthotrexate (88<math>\mu</math>g/ml), glucose-6-phosphate (66mM), nicotinamide adénine dinucléotide (40mM), tampon TRIS, agents volumiques, stabilisateurs et conservateurs (azide de sodium).</p>	03 ml
<p><b>Réactif B enzymatique :</b></p> <p>Méthotrexate marqué au glucose-6-phosphatedéshydrogénase bactérien (0.22U/ml), tampon TRIS, agents volumiques, stabilisateurs et conservateurs.</p> <p>Sous forme lyophilisée reconstituée par 3ml H<sub>2</sub>O.</p>	03 ml
<p><b>Tampon concentré pour le dosage de la substance Emit® :</b></p> <p>Lorsqu'il est dilué, contient du tampon TRIS, un agent de surface et un conservateur.</p>	13.3 ml
<p><b>Calibrateurs du méthotrexate Emit® 0, 0.2, 0.5, 1, 1.5, 2.</b></p> <p>Méthotrexate, sérum, humain, conservateurs (azide de sodium).</p>	Six flacons de 06 ml



**Figure 11:** Flacons de la solution tampon et des réactifs A et B



**Figure 12:** Flacons des calibrants du méthotrexate Emit® 0, 0.2, 0.5, 1, 1.5, 2.

## 6 Méthode d'analyse

### 6.1 Pré traitement

#### A. Centrifugation

Une fois reçu, accompagné de la fiche de renseignements, le prélèvement sanguin est aussitôt centrifugé à 3000 tours /min durant 5 minutes. Le plasma récupéré sera ensuite analysé.

#### B. Dilution

En ce qui concerne les prélèvements pour lesquels nous nous attendons à des taux plasmatiques dépassant la plage de mesure de notre analyseur ( $>2\mu\text{mol/l}$ ), des pré-dilutions à l'aide d'une solution tampon TRIS phosphate (fournie avec le kit Méthotrexate assay Emit) sont procédés selon les taux attendus en fonction de la cure de chimiothérapie instaurée, les

antécédents de toxicité, la présence ou non d'un troisième secteur, les bilans biologiques ainsi que des horaires de prélèvement.

### ➤ Protocole de dilution

La dilution du plasma se fait par le tampon TRIS préparé, elle doit se faire rapidement à fin d'éviter la photo-décomposition du cytotoxique. La quantité requise du tampon est pipetée et déposée dans un tube ependorf, puis la quantité de plasma est déposée, et l'embout de la pipette est rincé plusieurs fois par le surnageant.

## 6.2 Technique analytique

### ✓ Principe du dosage

C'est une technique d'immunodosage enzymatique en phase homogène utilisée pour l'analyse des composés spécifiques dans les fluides biologiques. Le dosage est basé sur la compétition entre la substance présente dans l'échantillon et la substance marquée à l'enzyme glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PDH) pour les sites de liaison des anticorps.

L'activité enzymatique diminue lors de la liaison à un anticorps ; par conséquent, la concentration de la substance dans l'échantillon peut être mesurée en termes d'activité enzymatique. L'enzyme active convertit le nicotinamide adénine nucléotide (NAD) oxydé en NADH, ce qui entraîne une modification de l'absorbance mesurable par spectrophotométrie.

### ✓ Spécificité

Le dosage de méthotrexate EMIT mesure la concentration totale (avec et sans liaison aux protéines) de méthotrexate dans le sérum ou le plasma. Les composés dont la structure chimique ou l'utilisation thérapeutique concomitante suggèrent une réactivité croisée éventuelle ont été testés.

✚ **L'aminoptérine** (un agent antinéoplasique, antagoniste de l'acide folique, qui n'est pas administré en même temps que le méthotrexate) et l'acide 4-amino-4-désoxy-N10-méthylptéroïque, un métabolite mineur du méthotrexate produisent une réaction croisée importante avec ce dosage.

Les composés suivants n'interfèrent pas avec le dosage du méthotrexate EMIT à des concentrations pharmacologiques ou physiologiques maximales lorsqu'ils sont testés en présence de 1µg/ml de méthotrexate :

**✚ Composés non liés structurellement**

- Cyclophosphamide ;
- Doxorubicine ;
- 5-fluorouracile ;
- Vinblastine ;
- Vincristine.

**✚ Composés liés structurellement**

- Acide dihydrofolique ;
- Acide folique ;
- 7-hydroxyméthotrexate ;
- Leucovorine ;
- Méthoptérine ;
- Trimétoprime.

**✚ Substances endogènes**

Aucune interférence cliniquement significative n'a été constatée dans les échantillons auxquels 800mg/dl d'hémoglobine, 1000mg/dl de triglycérides ou 30mg/dl de bilirubine ont été ajoutés pour simuler des échantillons hémolytiques, lipémiques ou ictériques (**voir Annexe IV**)

**6.3 Mode opératoire****A. Préparation des réactifs (voir AnnexeIV)****• Calibrants**

Ajouter 1ml d'H<sub>2</sub>O à chacun des six flacons de calibrateurs (lyophilisat), agiter par rotation entre les mains, et laisser reposer durant 1 heure.

**• Solution tampon**

Verser la totalité du tampon concentré fourni dans le coffret du test Méthotrexate Emit® soit 13.3ml dans une éprouvette graduée en verre, y ajouter de l'eau distillée en évitant la formation de mousse par versement au contact des parois de l'éprouvette jusqu'à un volume final de 200ml, mélanger la solution par retournement après fermeture de l'éprouvette à l'aide de parafilm, laisser reposer à l'abri de la lumière durant 60 minutes.

**• Réactifs**

Ajouter 3ml d'H<sub>2</sub>O à chacun des réactifs A et B, mélanger délicatement par retournement.

- Préparation du réactif 1 : mélanger des 3ml du réactif A + 24ml de tampon TRIS ;
- Préparation du réactif 2 : mélanger de 1.5ml du réactif B + 12ml de tampon TRIS. Après la préparation, laisser les solutions de travail s'équilibrer à la température de l'analyseur pendant une heure avec retournement.

Les réactifs en cours d'utilisation peuvent être conservés dans l'analyseur pendant 28 jours maximum ou tant que les résultats du contrôle qualité restent dans les limites acceptables.

Lorsqu'ils sont conservés fermés entre 2 et 8 °C, les solutions de travail peuvent être utilisées pendant 12 semaines.

- **Contrôle qualité interne**

On utilise le contrôle Lyphochek Therapeutic Drug Monitoring Control (TDM) BIO-RAD (les niveaux 1, 2 et 3) pour valider la courbe de calibration. Ce contrôle est passé avant chaque échantillon plasmatique.

**Tableau 12:** Cibles et plages d'acceptabilité des contrôles qualité internes BIO-RAD®.

	Valeur cible ( $\mu\text{mol/l}$ )	Fourchette tolérée ( $\mu\text{mol/l}$ )
<b>BIO-RAD TDM 01</b>	0.373	<0.300 – 0.468
<b>BIO-RAD TDM 02</b>	1.18	0.841 – 1.52
<b>BIO-RAD TDM 03</b>	9.31	5.51-13.1



**Figure 13:** Les contrôles Lyphochek Therapeutic Drug Monitoring Control (TDM) BIO-RAD®.

**B. Domaine d'analyse :**

La présente procédure s'applique au dosage du méthotrexate à haute dose et à faible dose dans le sang.

**6.4 Procédure de dosage du méthotrexate par Siemens VIVA E**

- **Calibration**

- ✓ **Calibration méthotrexate hautes doses**

Calibrants Méthotrexate EMIT® : 0, 0.2, 0.5, 1, 1.5, 2 : 6 flacons de 1ml

- ✓ **Calibration méthotrexate basses doses**

Calibrants Méthotrexate EMIT® : 0, 0.02, 0.05, 0.2, 0.5, 1.

Faire des dilutions des calibrateurs 0.2 et 0.5 fournis par le fournisseur au 1/10<sup>ème</sup> avec le tampon tris ou avec le calibrateur 0 pour avoir les deux points 0.02 et 0.05 respectivement.

Etalonner à chaque fois qu'un nouveau lot de réactifs est utilisé ou selon les résultats des contrôles.

## **CHAPITRE II : RESULTATS**

### 1 Présentation de la population d'étude

Durant la période de notre étude, 11 patients adultes et 04 enfants ont bénéficié d'un suivi thérapeutique pharmacologique du méthotrexate administré à hautes doses.

Il s'agit des patients adultes et enfants hospitalisés respectivement au niveau du service hématologie et hémato pédiatrie du CHU de Tizi Ouzou.

#### 1.1 Données principales des patients

**Tableau 13:** Données principales des patients

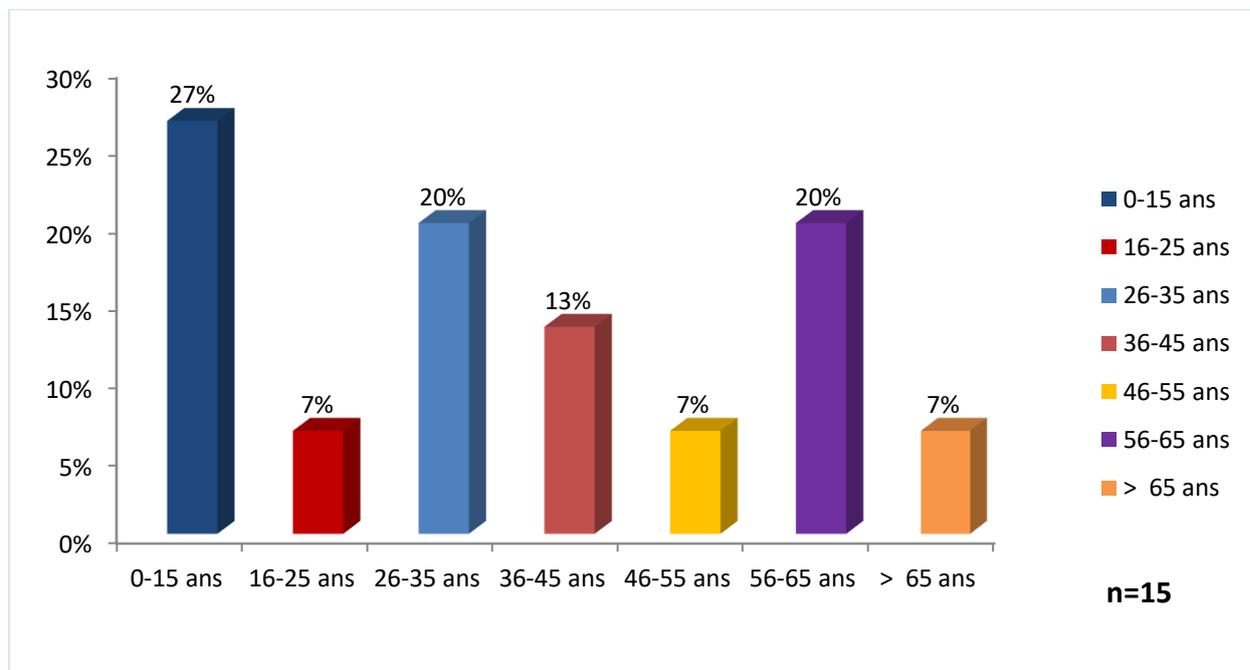
N°	Sexe	Initial es du patient	Age	Pathologie	Protocole de chimiothérapie	Motif de dosage	Toxicité imputée au MTX	Nombre de dosages réalisés
1	M	K.L	37	Leucémie aigüe lymphoïde LAL 3	R-MTX	Suspicion de toxicité	Toxicité cutanée	05
					RCOPADEM	Contrôle	Pas de toxicité	03
2	F	B.L	58	Lymphome non Hodgkinien cérébral primitif	R-MTX-Aracytine	Contrôle	Pas de toxicité	01
					R-MTX-Aracytine	Contrôle	Toxicité digestive	03
					MTX	Contrôle	Pas de toxicité	02
3	M	A.M	55	Lymphome non hodgkinien LNH	R-CALGB	Contrôle	Pas de toxicité	03

4	F	B.F	32	Leucémie aigüe myéloïde  LAM	MTX	Contrôle	Pas de toxicité	03
5	M	B.M	36	Lymphome non hodgkinien à cellules B  LNH B	R-MTX	Contrôle	Pas de toxicité	03
6	M	H.A	34	Lymphome non hodgkinien à cellules T  LNH T	MOGAD	Contrôle	Pas de toxicité	03
7	F	H.T	62	Lymphome non hodgkinien cérébral	MTX	Contrôle	Pas de toxicité	03
8	F	H.Z	33	Lymphome non hodgkinien médiastinal	RACVBP Consolidatio n	Contrôle	Pas de toxicité	02
					MTX	Contrôle	Pas de toxicité	02
9	F	H.Z	62	Lymphome non hodgkinien de type Burkitt	R-MTX	Contrôle	Pas de toxicité	03

10	H	B.L	22	Lymphome non Hodgkinien LNH	MTX	Contrôle	Pas de toxicité	02
11	F	B.F	66	Leucémie lymphoïde chronique	R-MTX	Contrôle	Pas de toxicité	02
12	M	K.A	9	Leucémie aigüe lymphoïde pré T	-	suspicion de toxicité	Réaction allergique cutanée	01
13	M	H.R	14	Leucémie aigüe lymphoïde pré T	-	Contrôle et suspicion de toxicité	Toxicité cutanéomuq ueuse	10
14	F	R.R	06	Leucémie aigüe lymphoïde IIb	-	Contrôle	Pas de toxicité	01
15	F	A.L	02	Leucémie aigüe lymphoïde 3 pré T	-	Contrôle	Pas de toxicité	01

## 1.2 Profil de la population étudiée

### 1.2.1 Répartition selon l'âge



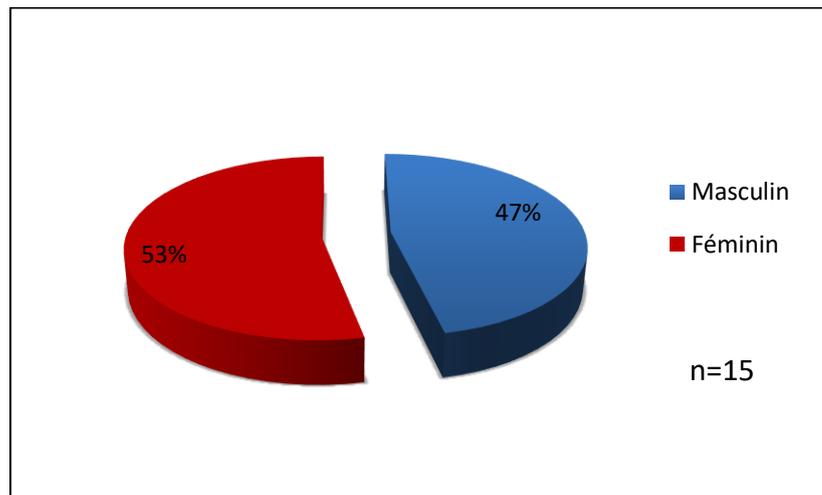
**Figure 14:** Répartition des patients selon les tranches d'âge

L'âge moyen de notre population est de  $35 \pm 21$  ans avec des extrêmes de 02 et 66 ans.

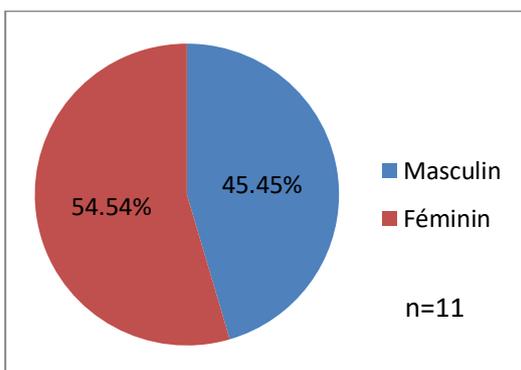
73 % des patients sont des adultes dont l'âge est compris entre 16 et 66 ans avec un âge moyen est de  $45 \pm 15$  ans, ils sont majoritairement atteints de lymphome.

La population pédiatrique est estimée à 27 %, leur âge est compris entre 2 et 15 ans avec une moyenne de  $8 \pm 5$  ans, sont tous atteints de LAL.

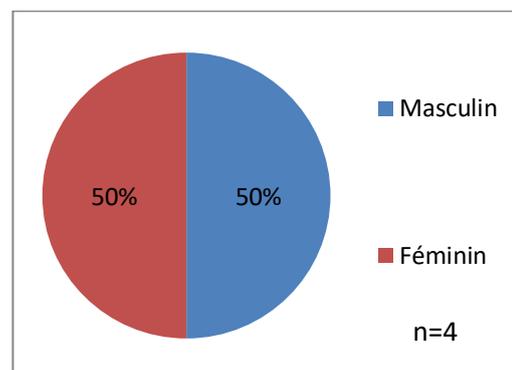
### 1.2.2 Répartition des patients selon le sexe



**Figure 15:** Répartition des patients selon le sexe



**Figure 17:** Répartition des patients du service hématologie selon le sexe

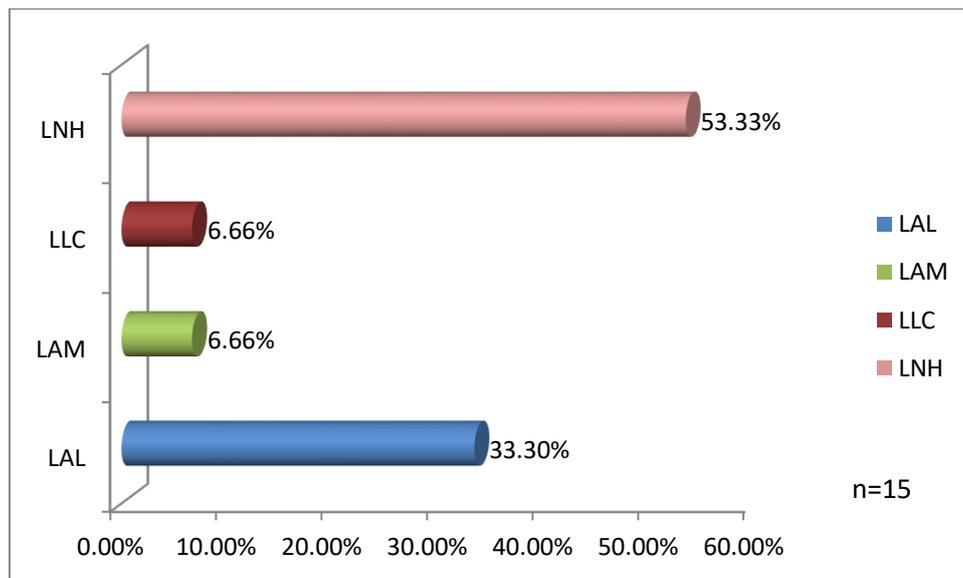


**Figure 16:** Répartition des patients du service hématologie pédiatrie selon le sexe

Un sexe ratio (Homme/Femme) de 7/8 caractérise notre population, et qui révèle une majorité féminine.

Pour la population pédiatrique le sexe ratio (Homme/Femme) est égal à 1, quant aux adultes on a une prédominance féminine avec un sexe ratio (H/F) de 5/6.

### 1.2.3 Répartition selon la pathologie

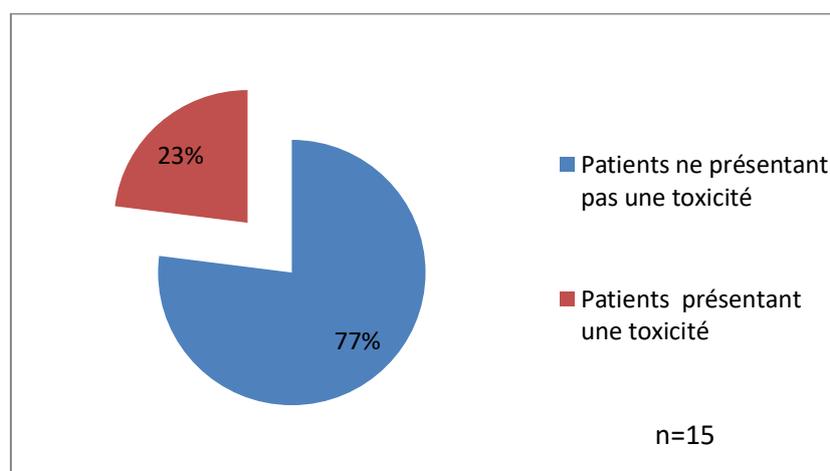


**Figure 18:** Répartition des patients selon la pathologie

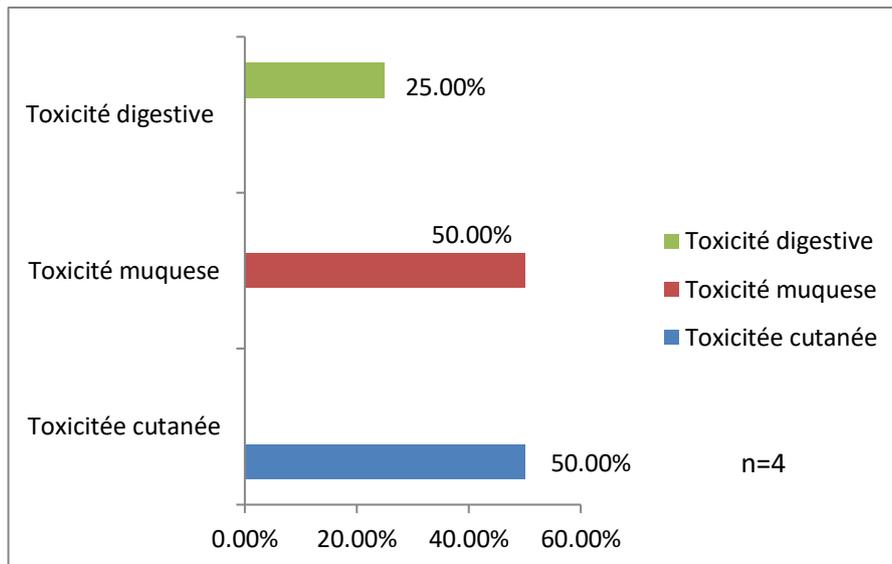
Plus de la moitié des patients de notre population d'étude (53,3%) sont atteints de lymphomes, tous de type non Hodgkinien.

Plus d'un tiers (33%) sont atteints de leucémie aigüe lymphoïde contre 6,6% de leucémie aigüe myéloïde. Le reste (6,6%) présente une leucémie lymphoïde chronique.

### 1.2.4 Répartition des patients selon les signes de toxicité présentés



**Figure 19:** Répartition des patients selon l'apparition de la toxicité

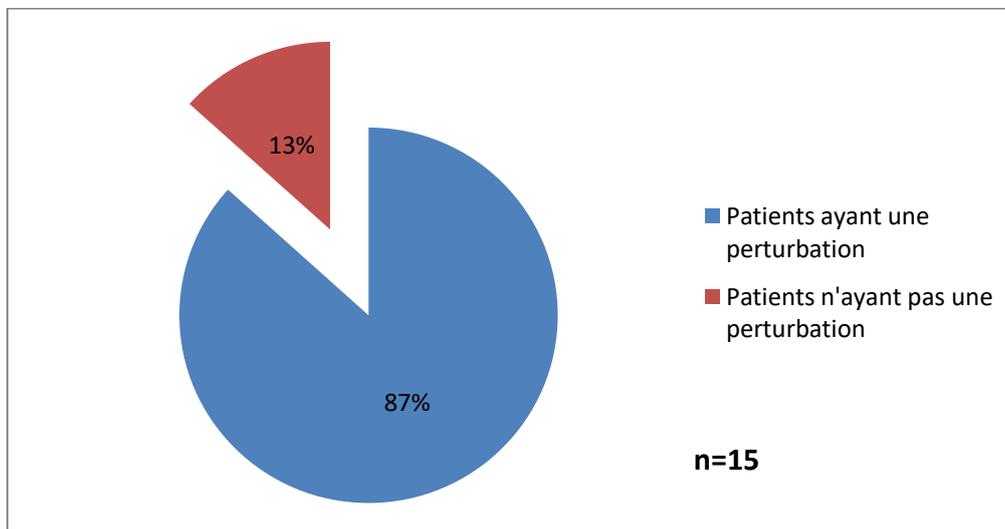


**Figure 20:** Répartition des patients selon les signes de toxicité

La majorité de la population d'étude (77%) ne présente pas de signes de toxicité.

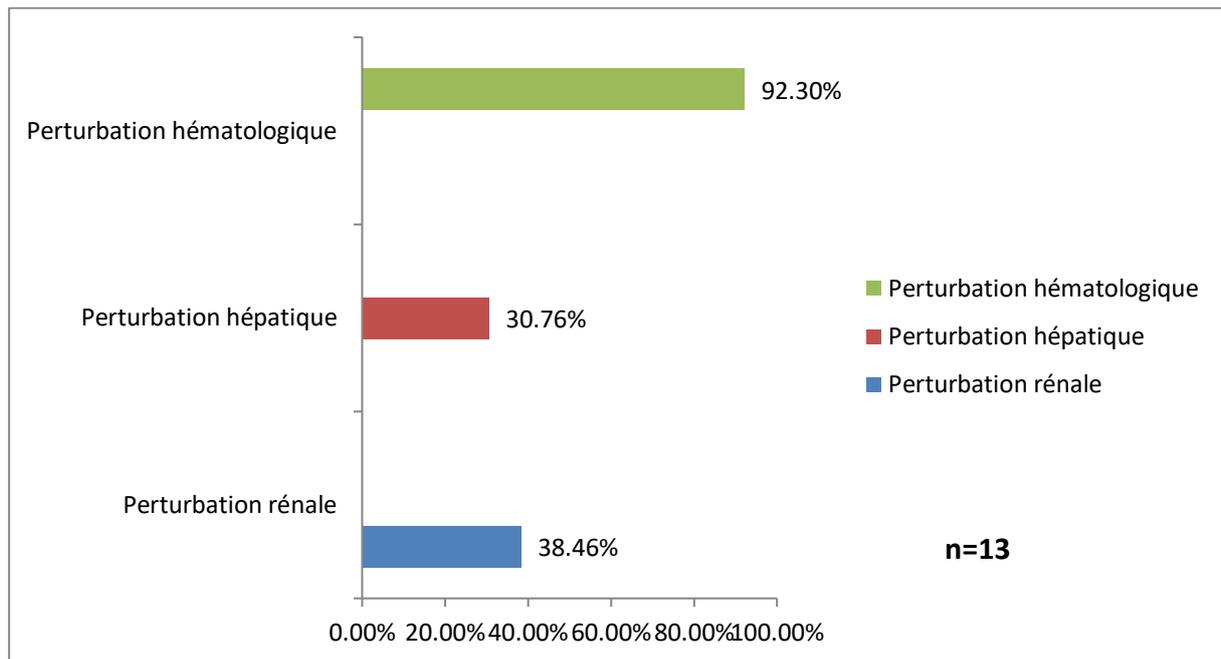
Parmi les 27% de patients qui présentent une toxicité, 25% présentent une toxicité digestive. Les toxicités cutanée et muqueuse sont présentes à un taux égal qui est de 50%.

### 1.2.5 Répartition selon la variation des bilans biologiques



**Figure 21:** Répartition des patients selon les perturbations du bilan biologique

La majorité de notre population (87%) a présenté une perturbation du bilan biologique (FNS, bilan rénal et /ou bilan hépatique).



**Figure 22:** Répartition des patients selon le type de perturbation biologique

Presque la totalité de nos patients ayant présenté une perturbation biologique ont présenté une perturbation du bilan hématologique (92,30%).

Moins de la moitié (30,76%) ont présenté une perturbation du bilan hépatique et 38,46% ont présenté une perturbation du bilan rénal.

## 2 Suivi thérapeutique pharmacologique du MTX

Nous avons effectué au total 53 dosages du méthotrexate, dans le cadre du suivi thérapeutique pharmacologique des patients de notre population.

### 2.1 Démarche analytique

Pour chaque demande de dosage du MTX, on procède soit par une analyse directe de l'échantillon soit par une dilution du plasma par le tampon TRIS, cela en tenant compte des données cliniques du patient, la posologie du méthotrexate administré, la durée de la perfusion, le moment du prélèvement ainsi que le taux attendu.

## 2.2 Résultats de méthotrexatémie et interprétation des résultats

Le **tableau 14** les résultats de méthotrexatémie des patients à différents moments de prélèvement pour chaque cure et l'adaptation de la posologie de l'acide folinique.

Tableau 14: Résultats des méthotrexatémie des patients.

N°	SC (m <sup>2</sup> )	Numéro de la cure	Posologie	Durée de la perfusion (heure)	Délai post perfusion (heure)	Méthotrexatémie	Toxicité imputée au MTX	Adaptation de l'acide folinique (mg/6h)
1	1,79	Cure n°01	5370 mg (3g/m <sup>2</sup> )	4	H192	0,16	Toxicité cutanée	45
					H216	0,121		45
					H240	0,07		45
					H312	0,0295		50
					H360	<0.02		50
	1,82	Cure n°02	5460 mg (3 g/m <sup>2</sup> )	4	H24	1,77	Pas de toxicité	50
					H72	0,1496		50
					H96	Non conforme		50
					H120	Non conforme		50
					H192	0,048		50
2	1,75	Cure n°02	5250 mg (3 g/m <sup>2</sup> )	4	H24	Non conforme	Pas de toxicité	44
					H48	Non conforme		44

					H72	0,08		44	
	1,73	Cure n°03 (3 g/m <sup>2</sup> )	5190 mg	4	H24	6,45	Toxicité digestive	43	
					H48	2,10			43
					H72	0,039			43
	1,67	Cure n°04 (3 g/m <sup>2</sup> )	5010 mg	4	H24	8,75		41	
					H48	0,78	41		
3	1,77	Cure n°01 (1.5g/m <sup>2</sup> )	2655 mg	4	H24	1,72	Pas de toxicité	50	
					H48	0,1148			50
					H72	<0,02			50
4	1,83	Cure n°01 (3 g/m <sup>2</sup> )	5490 mg	4	H24	0,53	Pas de toxicité	46	
					H48	0,0178			46
					H72	<0.02			46
5	1,72	Cure n°02 (3 g/m <sup>2</sup> )	5100 mg	4	H24	0,5403	Pas de toxicité	43	
					H48	0,06			43

					H72	0,0348		43
6	1,70	Cure n°01	5100 mg (3 g/m <sup>2</sup> )	4	H24	1,41	Pas de toxicité	43
					H48	0,032		43
					H72	0,022		43
7	1,79	Cure n°01	5370 mg (3 g/m <sup>2</sup> )	4	H24	0,94	Pas de toxicité	44
					H48	0,1840		44
					H72	0,0948		44
8	1,51	Cure n°01	4530 mg (3 g/m <sup>2</sup> )	4	H24	0,93	Pas de toxicité	38
					H48	0,0971		38
					H72	Non conforme		38
		Cure n°02	4530 mg (3 g/m <sup>2</sup> )	4	H24	0,93	Pas de toxicité	38
			H72	0,067	38			
9	2	Cure n°01	6000 mg (3 g/m <sup>2</sup> )	4	H24	3,51		50
					H48	0,217		50

## Partie pratique

## Chapitre II

## Résultats

					H72	0,09		50
10	1,63	Cure n°01	4900 mg (3 g/m <sup>2</sup> )	4	H24	1,2	Pas de toxicité	41
					H48	0,13		41
11	1,75	Cure n°01	5250 mg (3 g/m <sup>2</sup> )	4	H24	3,1	Pas de toxicité	45
					H48	0,11		45
12	1,2	Cure n°03	6000 mg (5g/m <sup>2</sup> )	24	H48	0,54	Réaction allergique cutanée	14,7
13	1,6	Cure n°05	8000 mg (5g/m <sup>2</sup> )	24	H48	1,95	Toxicité cutanéomuqueuse	19,2
					H72	0,77		19,2
					H96	Non conforme		19,2
					H120	0,297		
					H144	0,12		19,2
					H168	Non conforme	19,2	

## Partie pratique

## Chapitre II

## Résultats

					H192	0,0596		19,2
					H268	0,0374		19,2
					H292	0,0506		19,2
					H320	0,348		19,2
								19,2
14	1,29	Cure n°01	6450 mg (5 g/m <sup>2</sup> )	24	H48	Non conforme	Pas de toxicité	-
					H72	0,16		
15	0,55	Cure n°01	2750 mg (5g/m <sup>2</sup> )	24	H48	0.54	Pas de toxicité	6,6

Pour l'interprétation de nos résultats et l'adaptation de la posologie de l'acide folinique, nous nous sommes référés aux seuils de toxicité décrits dans le RCP de la FDA (**voir Chapitre III**)

Les seuils de sécurité :

- A 24H: Méthotrexatémie < 10  $\mu\text{mol/l}$
- A 48H: Méthotrexatémie < 1  $\mu\text{mol/l}$
- A 72H: Méthotrexatémie < 0,2  $\mu\text{mol/l}$

Les patients n°1 (deuxième cure), 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 et 11 ont reçu du méthotrexate à haute dose (>1g/m<sup>2</sup>) et ont bénéficié des dosages de MTX dans un cadre de suivi thérapeutique.

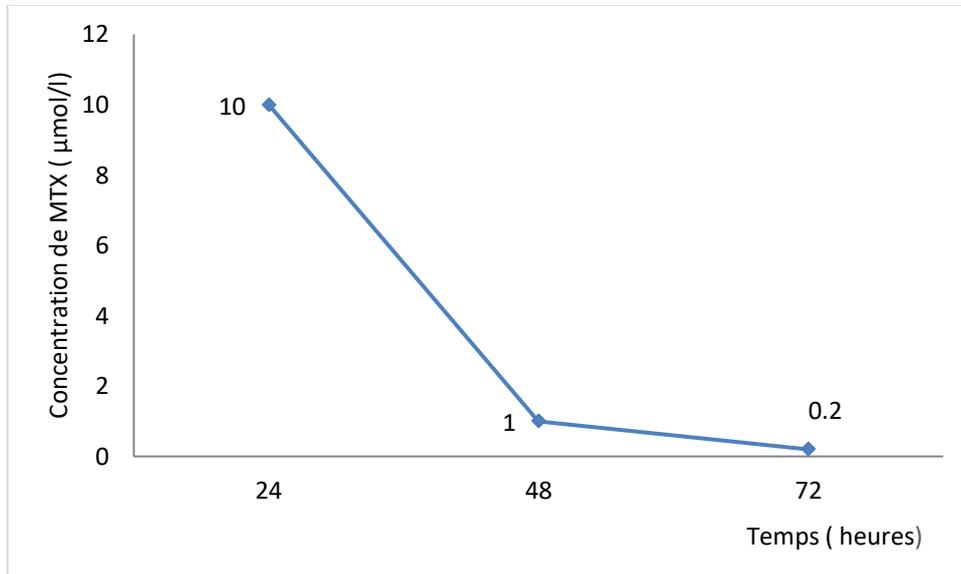
Tandis que les dosages réalisés pour les patients n°1 pour sa première cure et le patient n° 12 ont été effectués suite à une suspicion de toxicité.

Pour le patient n°13, les dosages effectués à 48h et 72h du début de la perfusion ont été fait dans le cadre d'un contrôle. Alors que le reste des dosages ont été réalisés suite à une élimination tardive du MTX.

Le dosage du MTX chez ces patients a permis d'une part, de connaître les concentrations présentes dans le compartiment sanguin et d'apprécier la cinétique d'élimination du MTX et d'autre part d'adapter la posologie de l'acide folinique à administrer et la poursuite de l'hyperhydratation alcaline jusqu'à atteindre une concentration plasmatique normale au moment du prélèvement.

### 3 Etude de la cinétique d'élimination

#### 2.3 Cinétique d'élimination normale du méthotrexate (RCP de la FDA)



**Figure 23:** Cinétique d'élimination normale du méthotrexate

#### ✚ Calcul du taux de variation

Pour calculer le taux de variation on calcule les pentes de la courbe.

$$\text{Pentes 01} = -0,375$$

$$\text{Pente 02} = -0,033$$

On remarque que les taux de variations ( ou pentes) sont très différents.

La pente 01, nous indique une élimination rapide.

La pente 2 tend vers zéro, ce qui indique une élimination très faible

Les pentes sont négatives, indiquant une courbe décroissante

Le taux de variation sert à déceler les variations cinétiques de MTX qui a une cinétique d'élimination biphasique.

## 2.4 Cinétique d'élimination du méthotrexate chez les patients du service hématologie

## + Patient 1

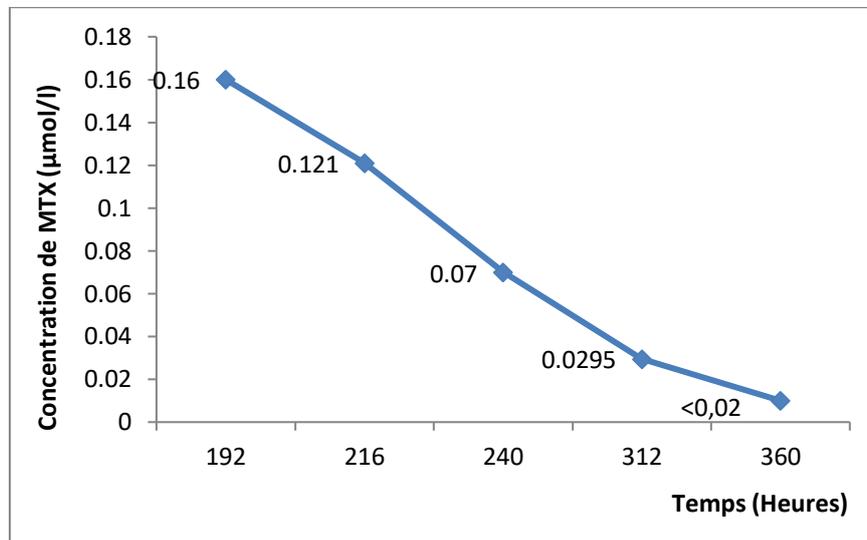


Figure 24: La cinétique d'élimination du méthotrexate du patient n°1 après la première cure.

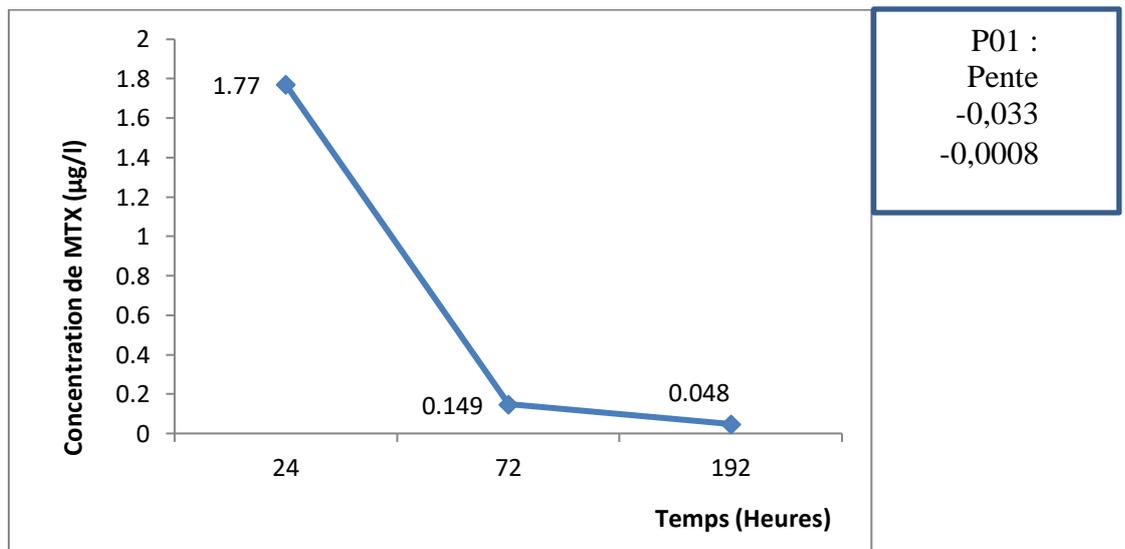
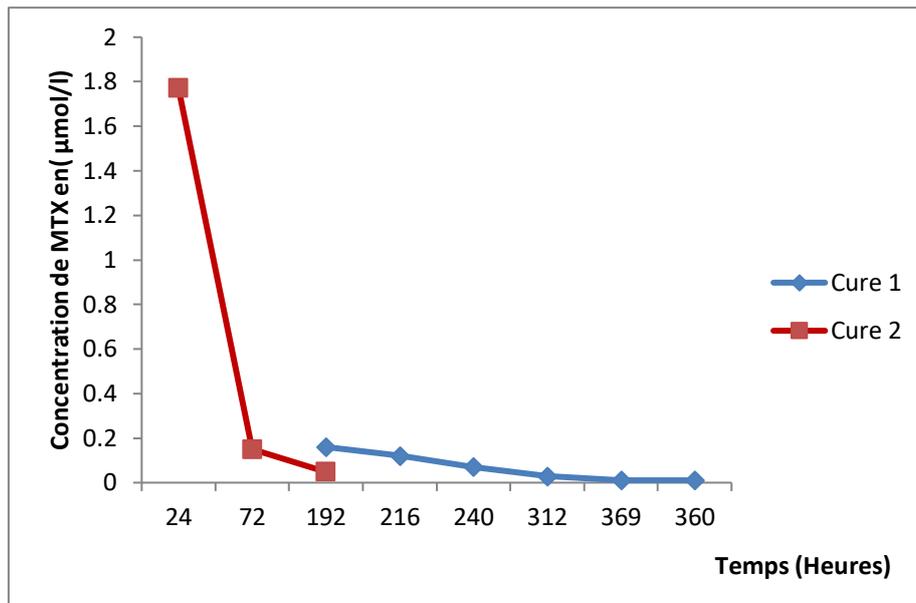
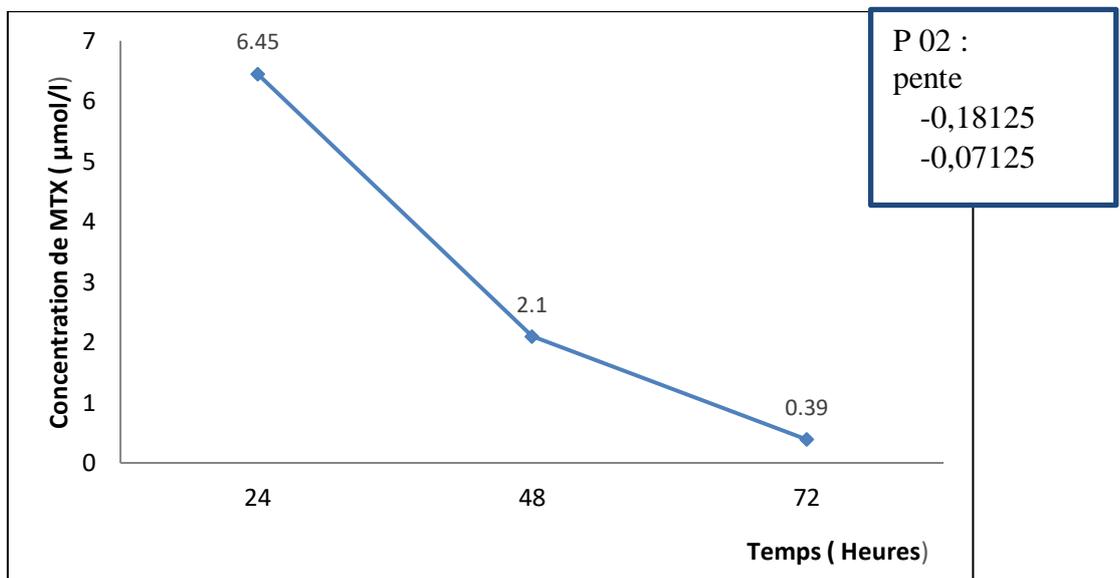


Figure 25: La cinétique d'élimination du méthotrexate du patient n°1 après la deuxième cure.



**Figure 26:** Comparaison entre les cinétiques d'élimination du méthotrexate de la 1<sup>ère</sup> et 2<sup>ème</sup> cure du patient n° 1.

#### ✚ Patient 2



**Figure 27:** La cinétique d'élimination du méthotrexate du patient n°2 après la deuxième cure.

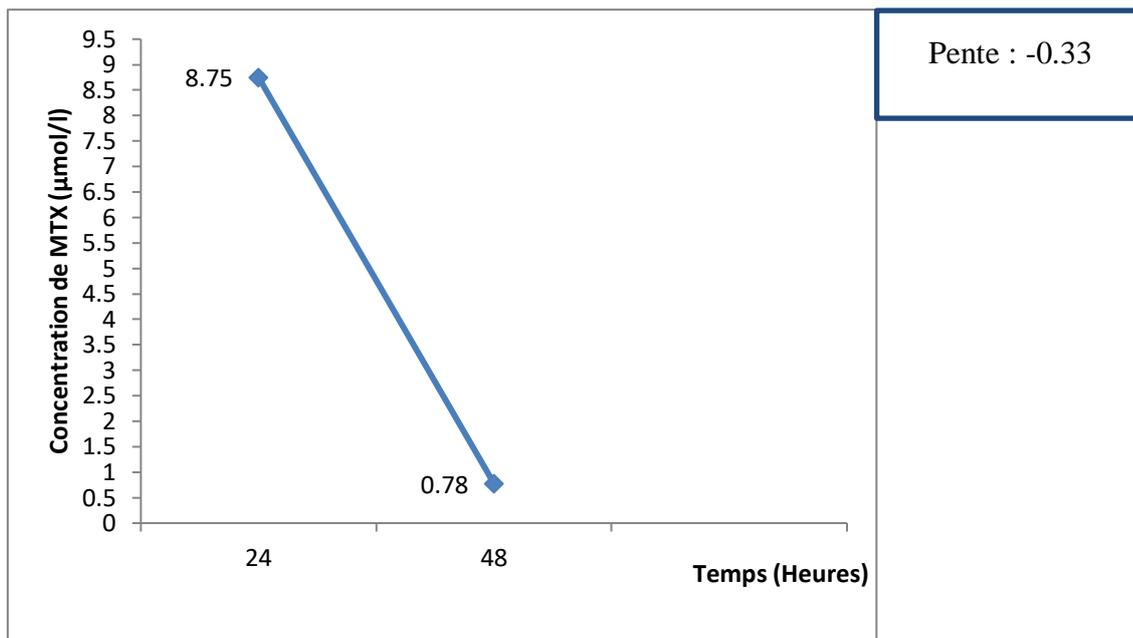


Figure 28: La cinétique d'élimination du méthotrexate du patient n°2 après la troisième cure.

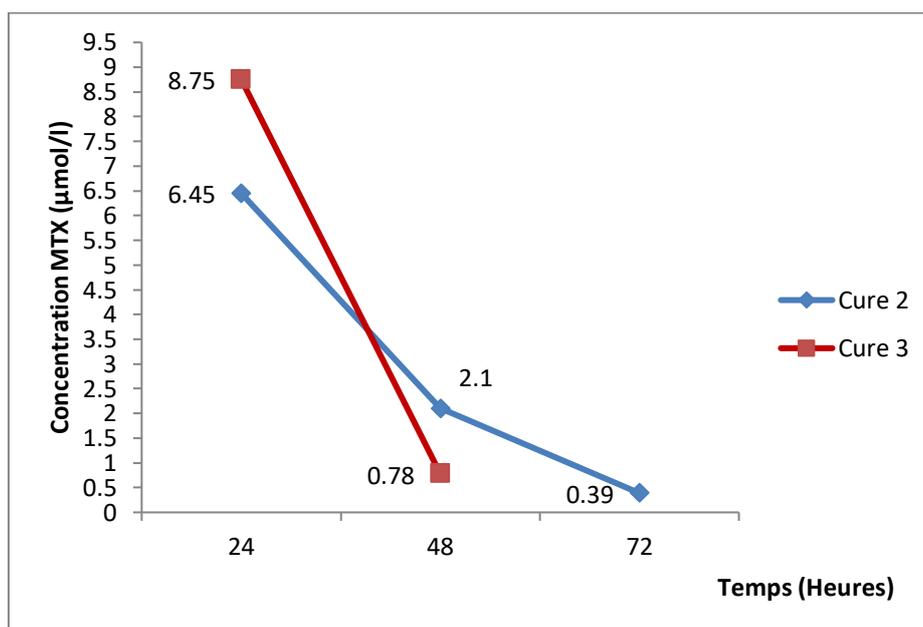


Figure 29: Comparaison entre les cinétiques d'élimination du méthotrexate de la 2<sup>ème</sup> et la 3<sup>ème</sup> cure du patient n° 2.

## Patient 3

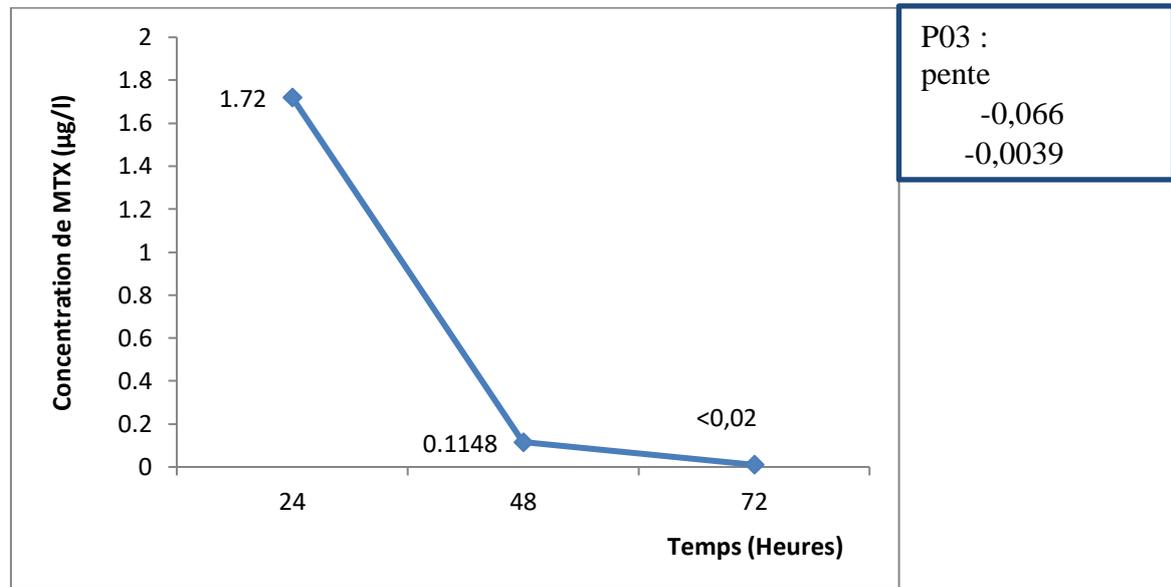


Figure 30: La cinétique d'élimination du méthotrexate du patient n°3.

## Patient 4

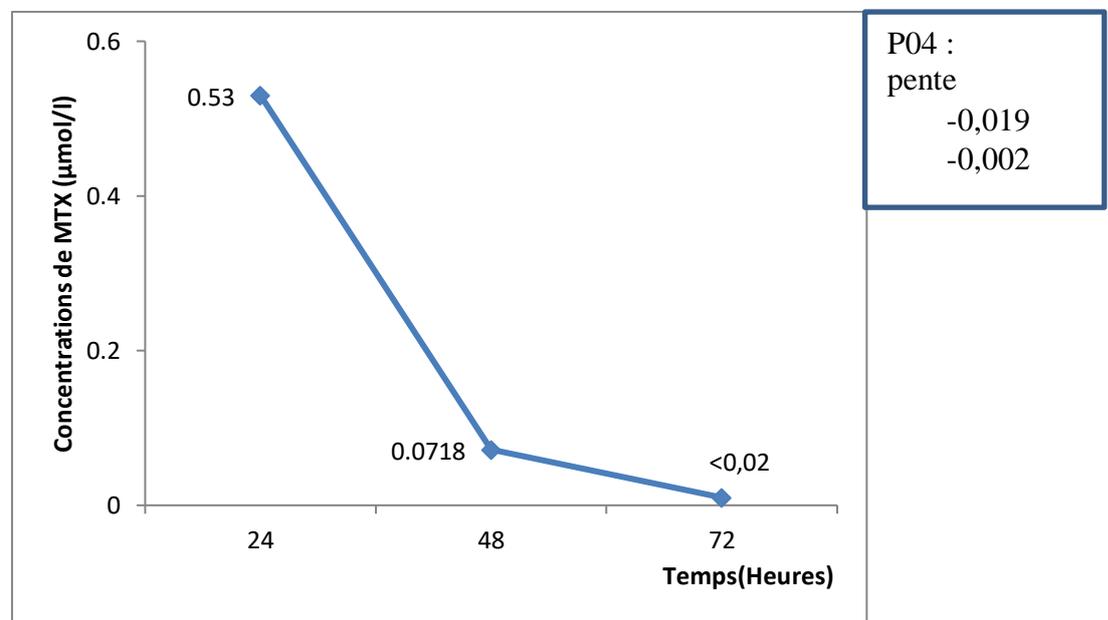


Figure 31: La cinétique d'élimination du méthotrexate du patient n°4 après la première cure.

## Patient 5

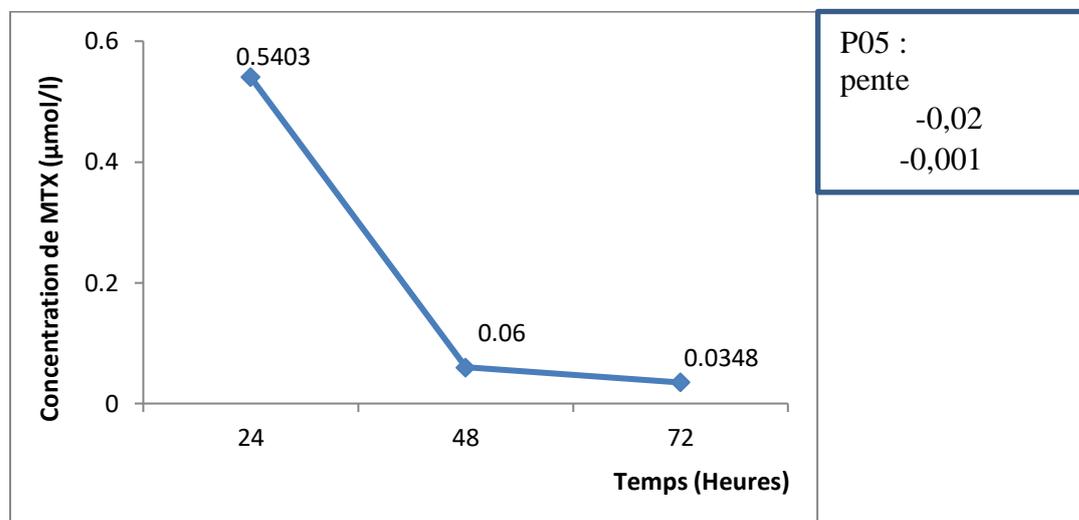


Figure 32: La cinétique d'élimination du méthotrexate du patient n°5.

## Patient 6

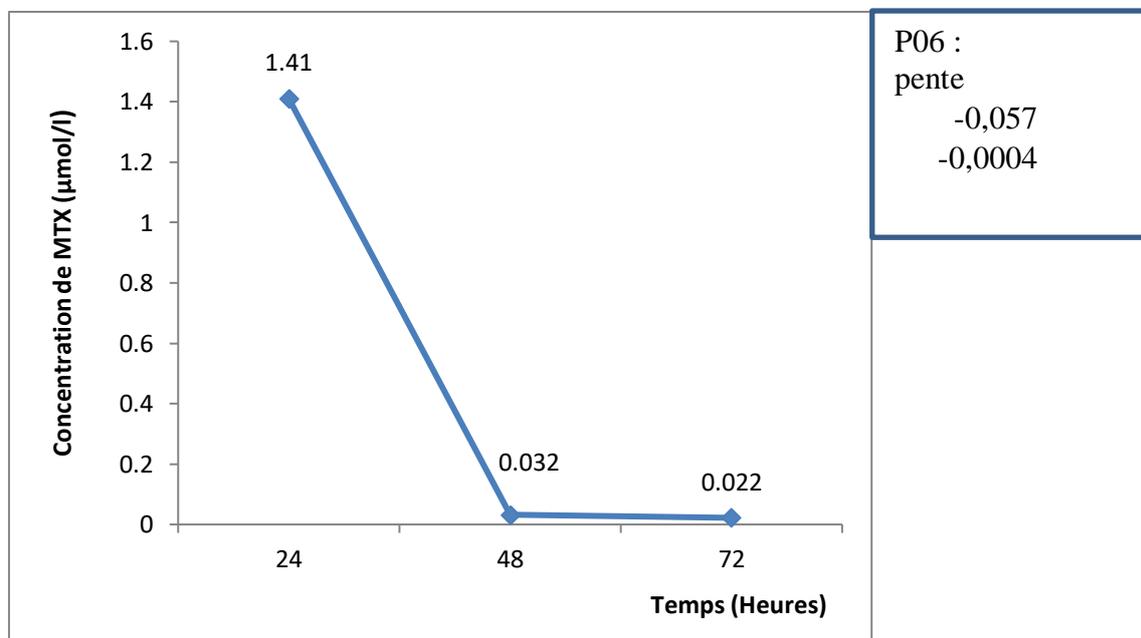


Figure 33: La cinétique d'élimination du méthotrexate du patient n°6.

## ✚ Patient 7

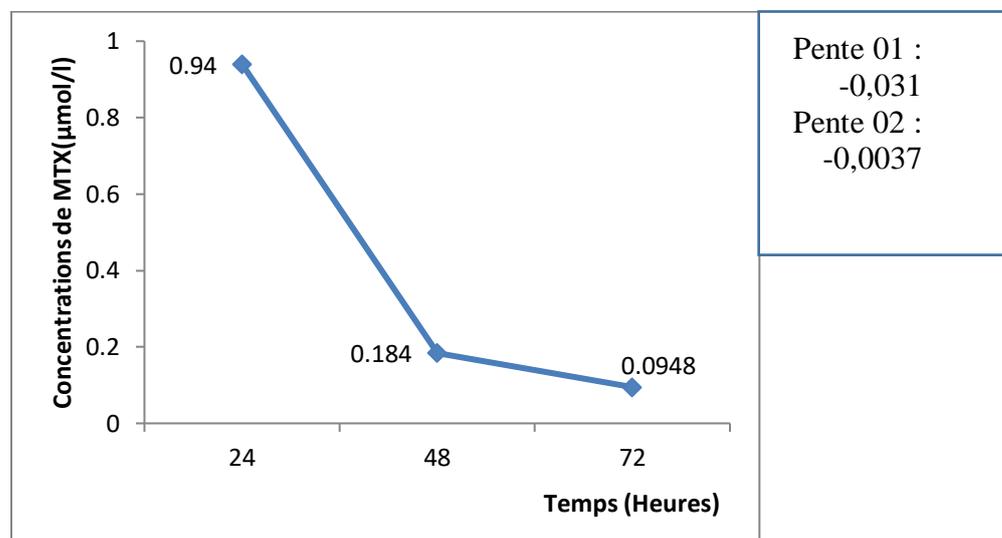


Figure 34: La cinétique d'élimination du méthotrexate du patient n°7.

## ✚ Patient 8

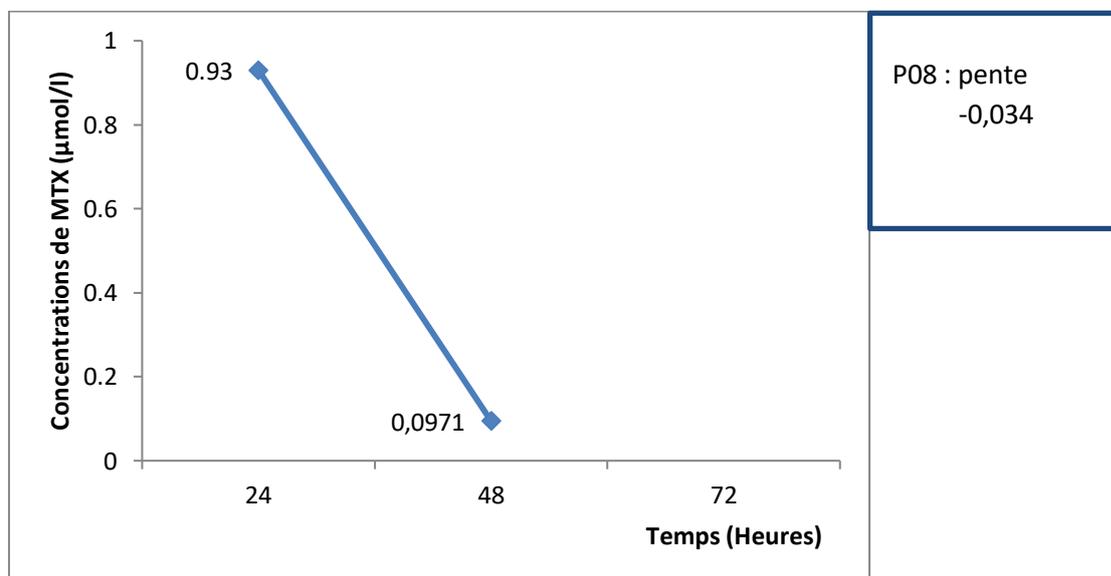
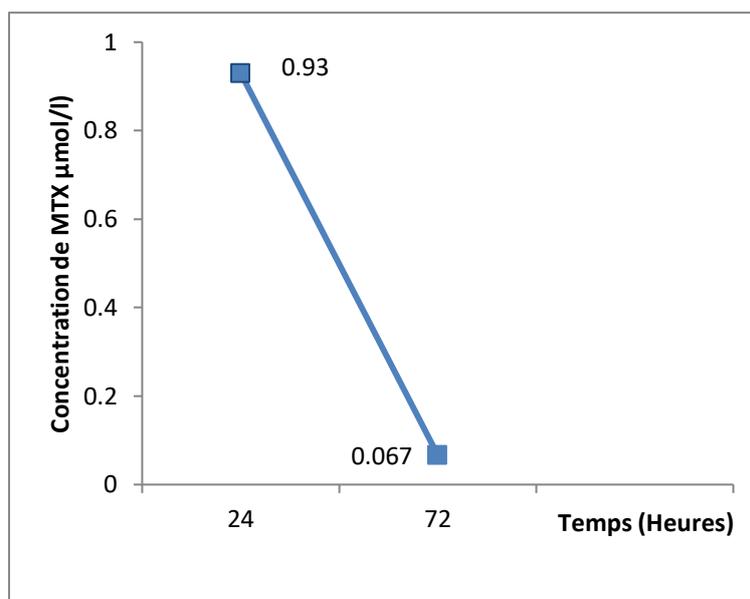


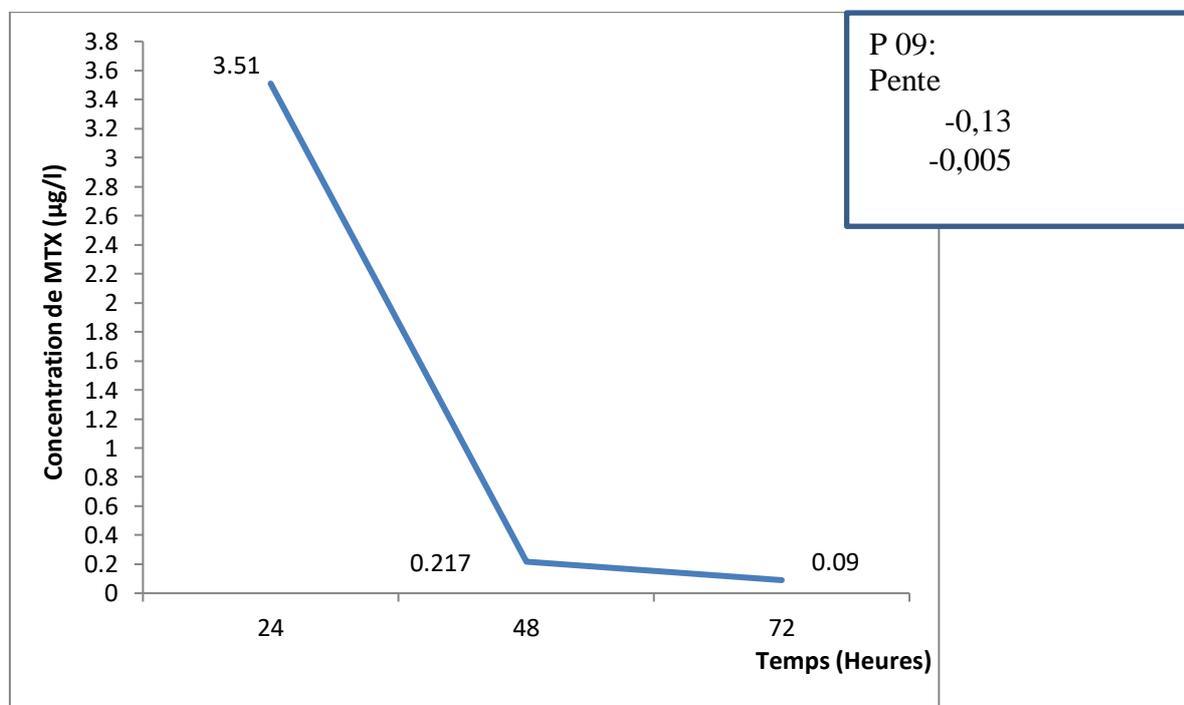
Figure 35: La cinétique d'élimination du méthotrexate du patient n°8 après la première cure.



**Figure 36:** La cinétique d'élimination du méthotrexate du patient n°8 après la deuxième cure.

Le dosage à H48 n'est pas réalisé, de ce fait, la courbe biphasique ne peut pas être mise en évidence dans ce cas.

#### ✚ Patient 9



**Figure 37:** La cinétique d'élimination du méthotrexate du patient n°9 après la première cure

## ✚ Patient 10

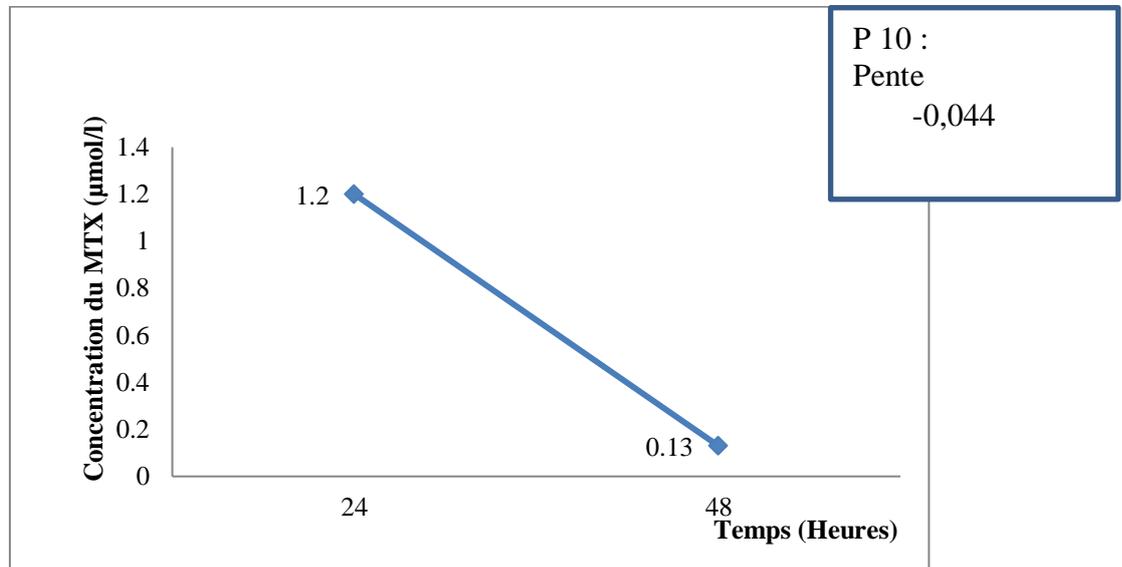


Figure 38: La cinétique d'élimination du méthotrexate chez le patient n°10.

## ✚ Patient 11

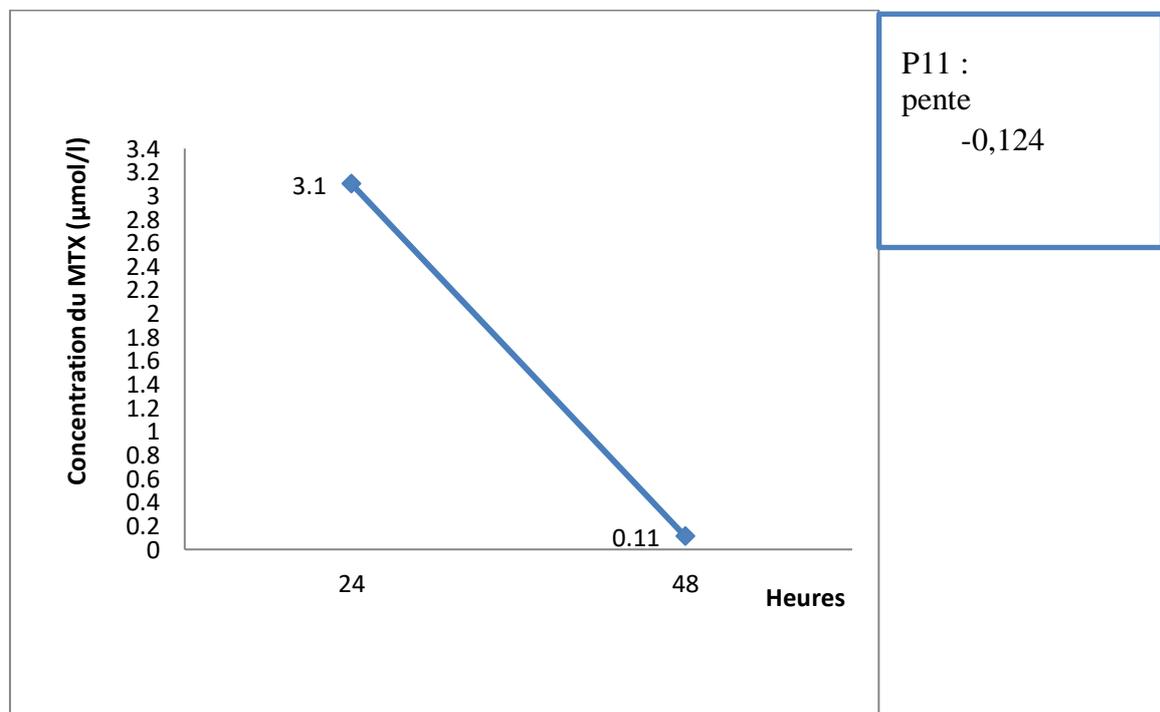
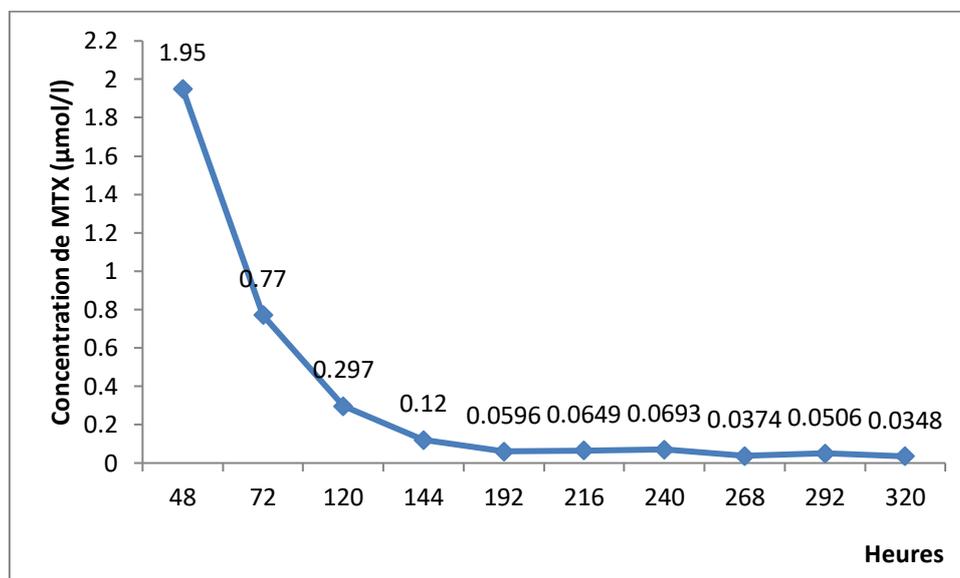


Figure 39: La cinétique d'élimination du méthotrexate chez le patient n°11.

## 2.5 Cinétique d'élimination du MTX chez les patients du service hématologie pédiatrie

### ✚ Patient 13



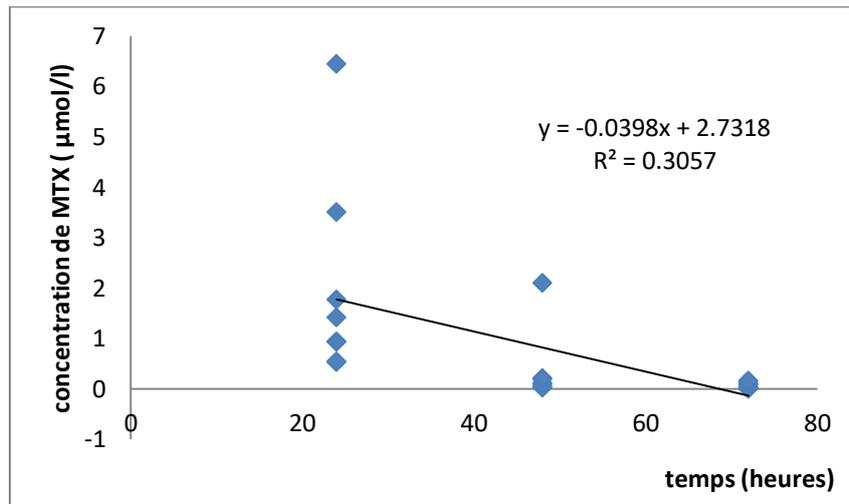
**Figure 40:** La cinétique d'élimination du méthotrexate du patient n°13.

## 3 Etude des variabilités

### 3.1 Etude de la variabilité interindividuelle

L'étude des variations interindividuelles consiste à évaluer les fluctuations des concentrations sanguines du MTX entre les patients à la même heure du prélèvement et sous la même posologie et même durée de perfusion.

### 3.1.1 Population adulte

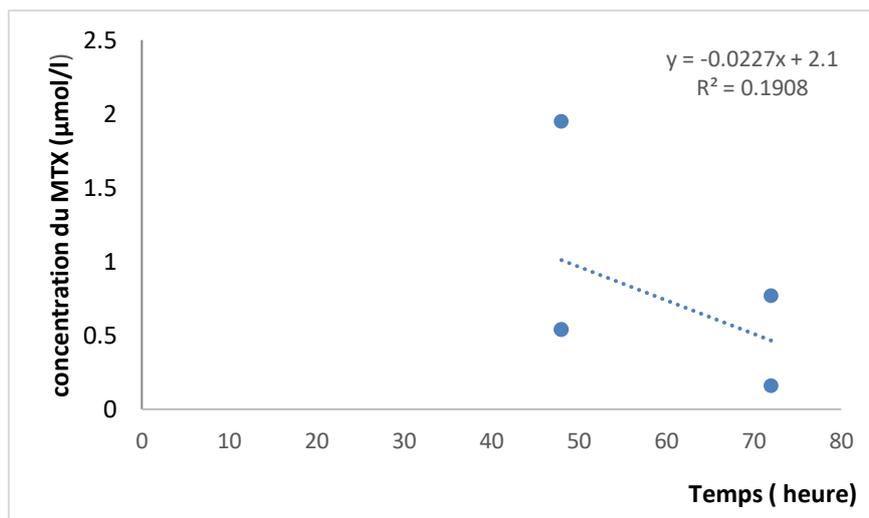


**Figure 41:** Variabilité interindividuelle de la concentration du méthotrexate chez la population adulte

La courbe montre les variations des concentrations du MTX chez les adultes à la même posologie ( $3 \text{ g/m}^2$ ) à H24, H48, H72 avec la même durée de la perfusion qui est de 4 H

Le coefficient de corrélation  $R^2$  est très faible ( $\ll 1$ ), ce qui indique que la relation entre la dose administrée et la méthotrexatémie est faible.

### 3.1.2 Population pédiatrique



**Figure 42:** Variabilité interindividuelle de la concentration de méthotrexate chez la population pédiatrique

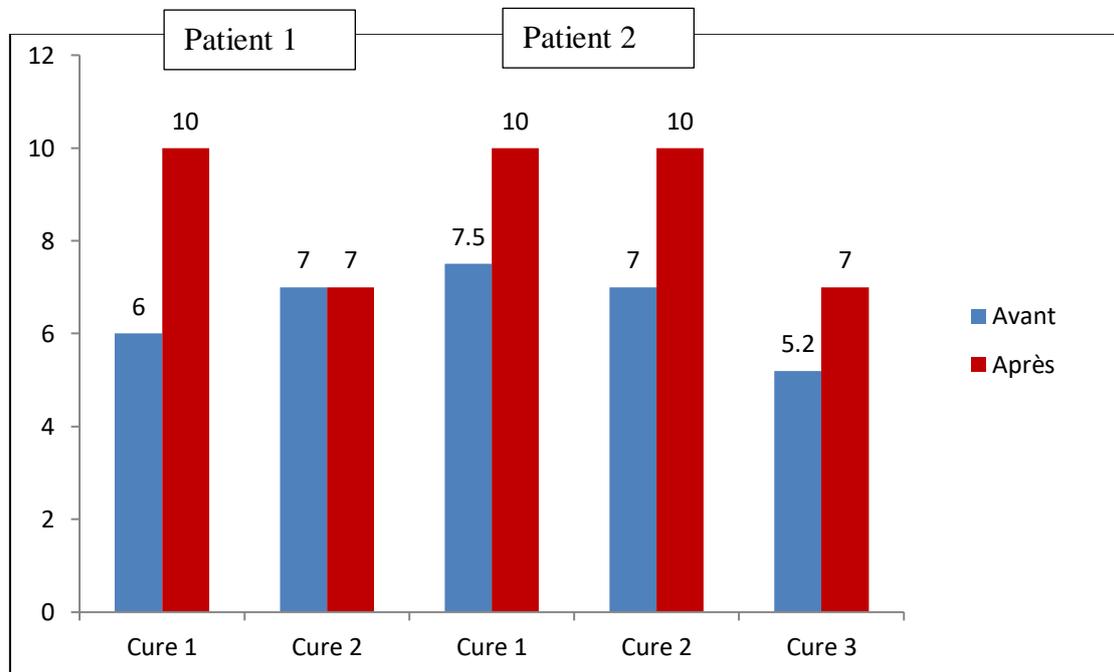
La courbe montre les variations des concentrations du MTX chez la population pédiatrique à la même posologie (5 g/m<sup>2</sup>) à H48, H72 avec la même durée de la perfusion qui est de 24 H

Le coefficient de corrélation R<sup>2</sup> est très faible (<<1), ce qui indique que la relation entre la dose administrée et la méthotrexatémie est faible.

### 3.2 Etude des variations biologiques

#### 3.2.1 Fonction rénale

##### A. Evolution de la créatininémie chez les patients qui ont deux cures.

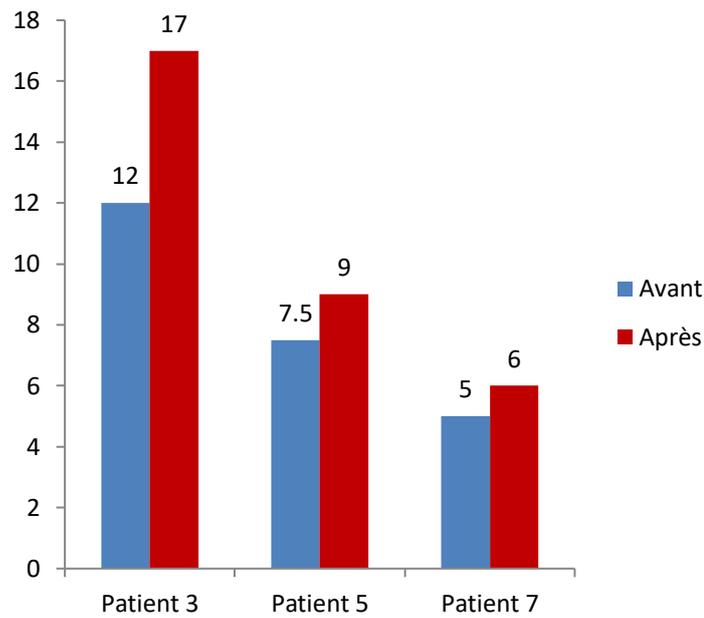


**Figure 43:** Créatininémies des patients n°1 et 2 avant et après les cures

Le patient n°1 présente une augmentation de la créatininémie après la première cure, cela à cause de l'effet du méthotrexate sur la fonction rénale. Cependant aucune modification n'a été signalée après la 2<sup>ème</sup> cure.

Tandis que chez la patiente n°2, l'augmentation de la créatininémie a été observée après les trois cures.

Néanmoins, l'augmentation de la créatinine chez ces deux patients ne semble pas dépasser la limite supérieure de l'intervalle de la normale.

**B. Evolution de la créatininémie chez les patients qui ont une cure**

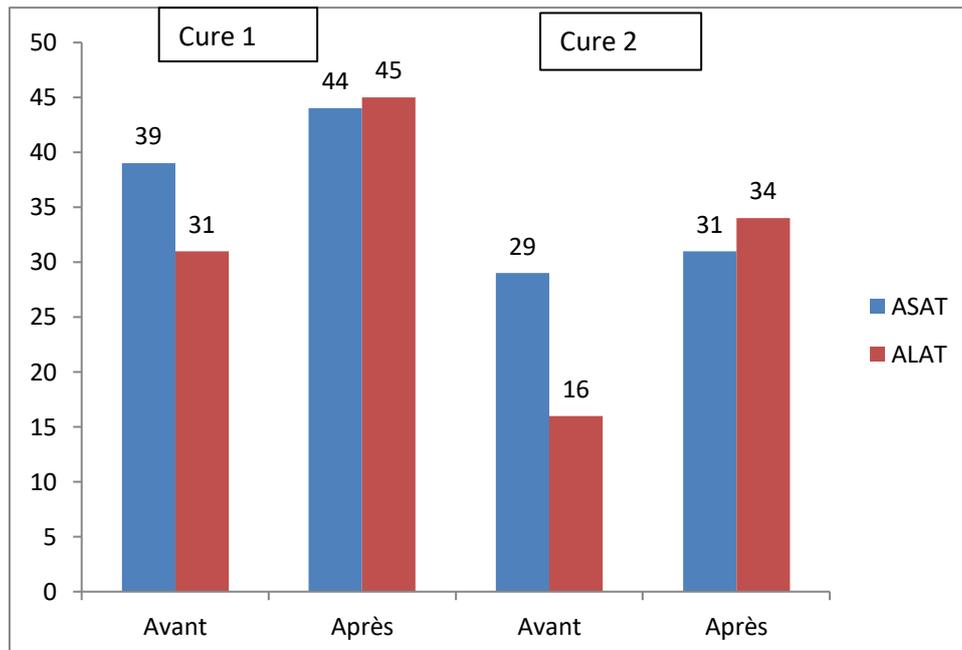
**Figure 44:** Créatininémies des patients 3,5 et 7 avant et après la cure

Le patient 3 présente une augmentation significative de la créatinine après la cure de MTX-HD.

Pour les patients 5 et 7, la variation est très faible et reste toujours dans les normes.

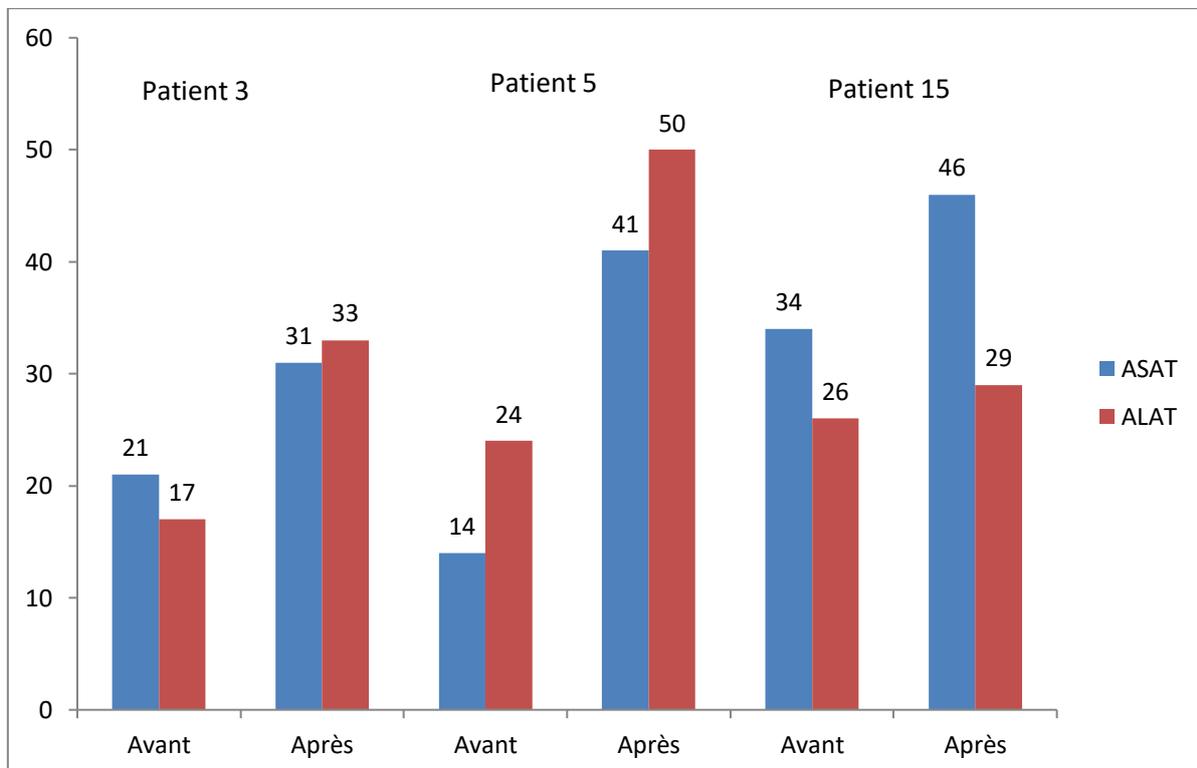
**3.2.2 Fonction hépatique**

Les patients ayant présenté une perturbation du bilan hépatique représentent 30,76% dont les patients n° 3, 5, 8 et 15.



**Figure 45:** Variation du bilan hépatique avant et après les deux cures du patient n° 8

Le patient 8 présente une élévation des enzymes hépatiques, mais qui reste toujours autour de la normale.

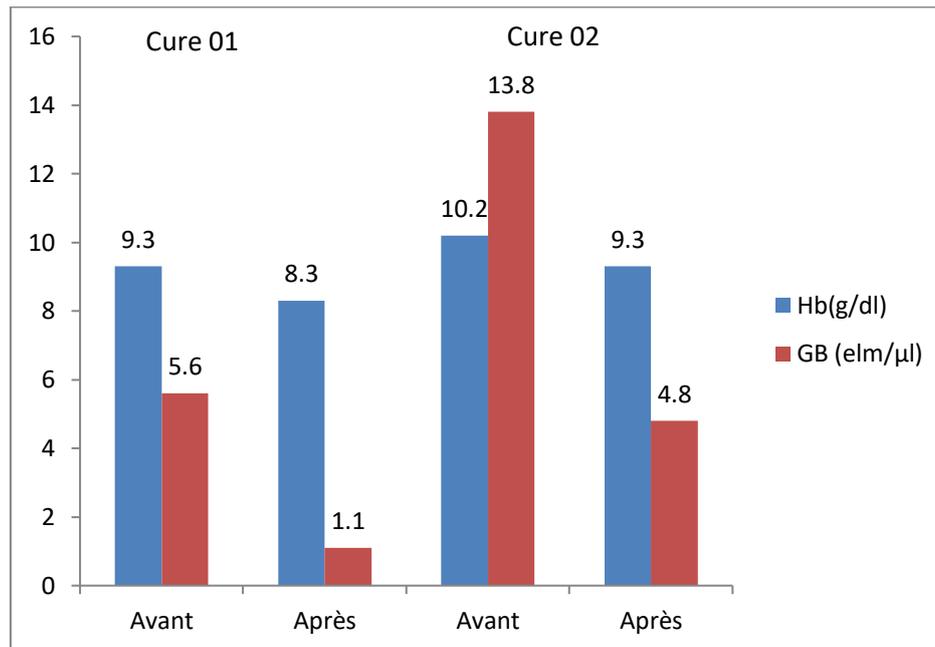


**Figure 46:** Variation du bilan hépatique avant et après la cure des patients n°3, 5 et 15

Les patients n° 3, 5 et 15 présentent une légère élévation mais reste toujours autour de la norme

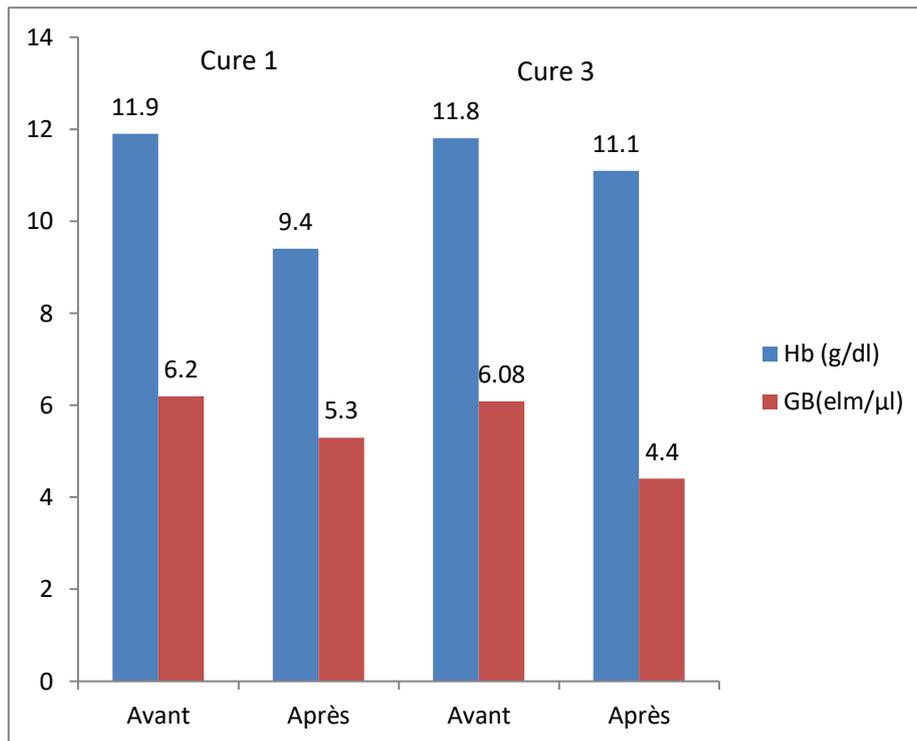
### 3.2.3 Bilan hématologique

Presque la totalité de nos patients (92,30%) ont présenté une variation du bilan hématologique (Hémoglobine, globules blancs, et plaquettes) dont les patients n°1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12 et 14.



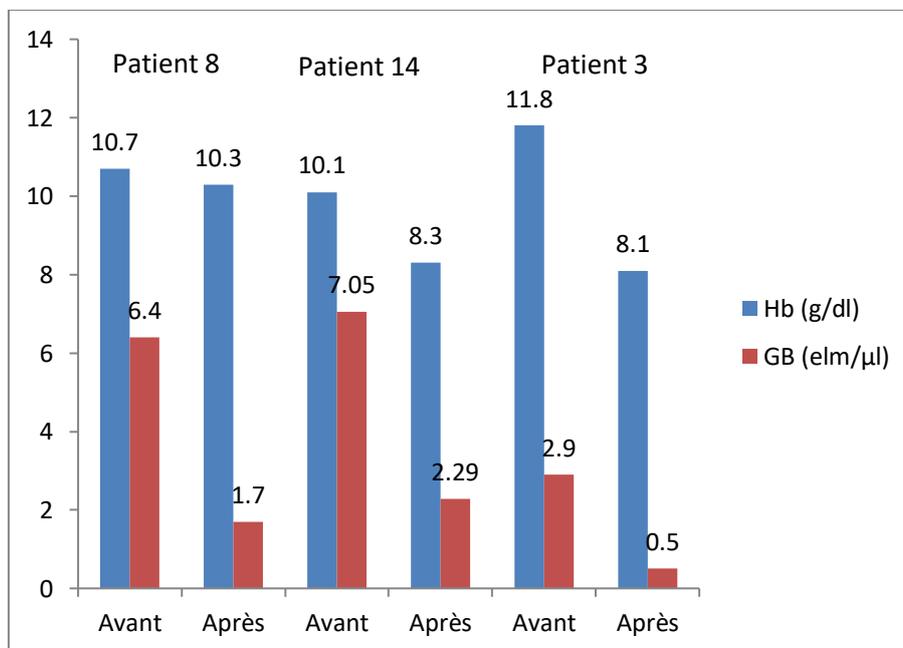
**Figure 47:** Variation du taux de l'hémoglobine et des globules blancs avant et après les deux cures du patient n° 1

Légère diminution de l'hémoglobine, avec une baisse importante des globules blancs avant et après la cure pour les deux cures.



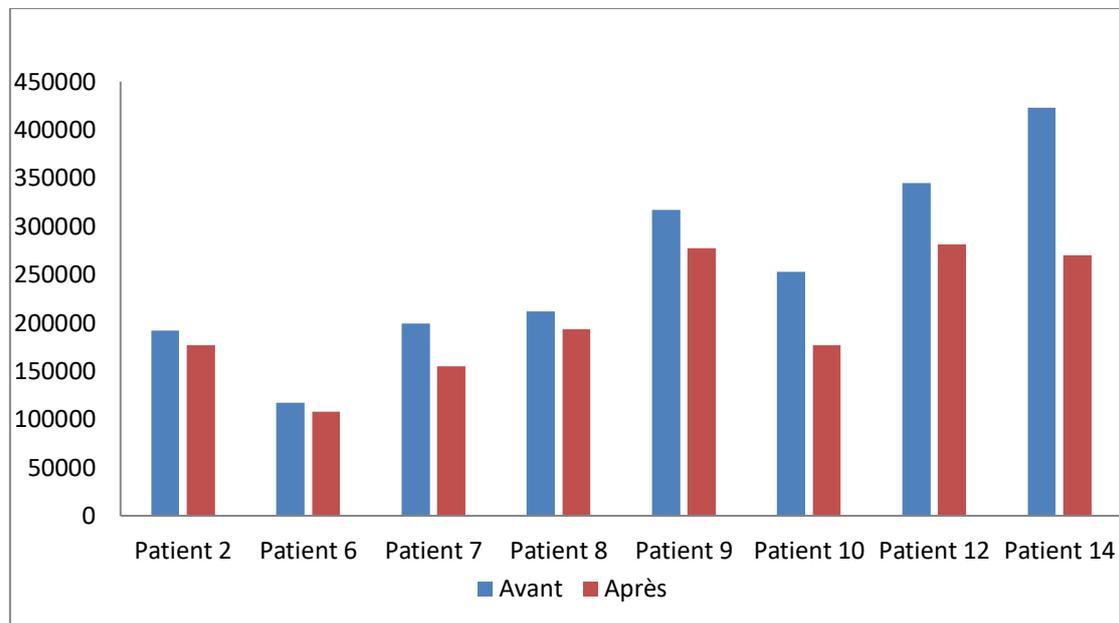
**Figure 48:** Variation du taux de l'hémoglobine et des globules blancs avant et après la première et la troisième cure du patient n° 2

Diminution de l'hémoglobine juste avec la première cure, et légère diminution des globules blancs.

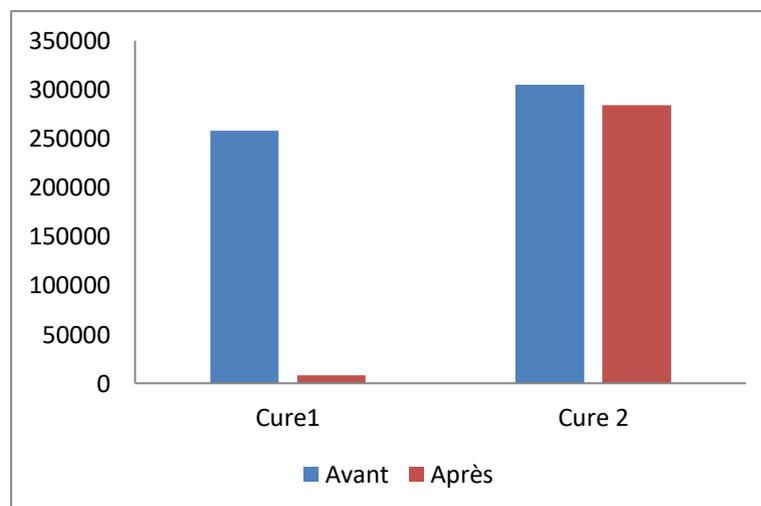


**Figure 49:** Variation du taux de l'hémoglobine et des globules blancs avant et après la cure des patients n° 3, 8 et 14

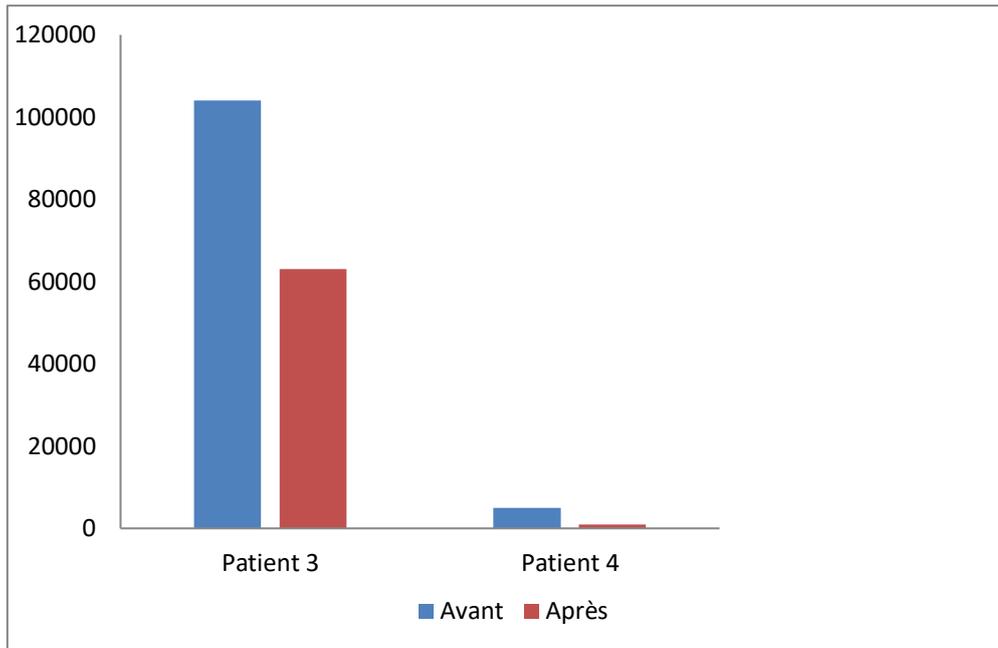
On remarque une nette diminution des globules blancs



**Figure 50:** Variation du taux de plaquettes avant et après la cure des patients 6, 7, 8, 9, 10, 12 et 14



**Figure 51:** Variation du taux de plaquettes avant et après les deux cures du patient n °1



**Figure 52:** Variation du taux de plaquettes avant et après la cure des patients 3 et 4

#### 4 Etude de cas

##### Observation numéro 1

Initiales du patient : K.L

Numéro d'enregistrement (tableau) :01

Age : 37 ans

Sexe : Masculin

Surface corporelle : 1,79 m<sup>2</sup>

Il s'agit du patient K.L âgé de 37 ans, atteint d'une leucémie aigüe lymphoïde 3 LAL3. Il a bénéficié d'un suivi thérapeutique pharmacologique pour deux cures de MTX-HD.

##### La cure numéro 1 : le 10/03/2021

Le patient est sous chimiothérapie selon le protocole R-MTX : Rituximab, Méthotrexate.

Il a reçu une dose de 3 g/m<sup>2</sup> soit 5370 mg par voie intra veineuse, la durée de la perfusion était de 4h.

L'hyper hydratation alcaline a été administrée avant le début de la perfusion, sa posologie n'a pas été mentionnée.

L'administration du sauvetage folinique a débuté à la 6<sup>ème</sup> heure du début de la perfusion, à raison de 44 mg en IV toutes les 6 heures pendant 4 jours.

Le patient a bénéficié d'un bilan biologique avant et après l'administration du MTX

**Tableau 15:** Les bilans biologiques avant et après la première cure du patient n°1.

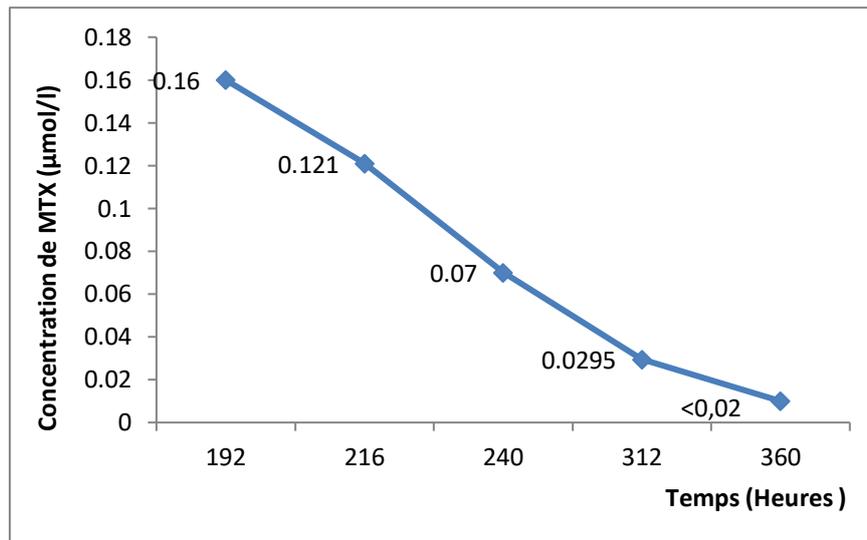
	Avant la cure	24h après la cure	48h après la cure	72h après la cure
Hb (g/dl)	9,3	9,2	-	8,3
Plaquettes/mm <sup>3</sup>	258000	351000	-	396000
GB/mm <sup>3</sup>	5600	4600	-	3100
Créatinine (mg/l)	6	8	7	10
Urée (g/l)	0,14	0,2	0,16	0,16
ASAT/ALAT (UI/l)	17/11	25/10	-	-

Le patient a présenté une augmentation de la créatinine sans dépasser l'intervalle physiologique ainsi qu'une diminution du taux de globules blancs L'hémoglobine diminue au 3<sup>ème</sup> jour qui suit la perfusion (72h). On observe également une perturbation des enzymes hépatiques ASAT et ALAT.

Les dosages du MTX à la 24<sup>ème</sup>, 48<sup>ème</sup> et 72<sup>ème</sup> n'ont pas été faits à cause de l'absence de réactif.

Le patient a commencé à présenter des signes de toxicité de type cutané (syndrome de Lyell) après 7 jours de l'administration du MTX.

Des méthotrexatémies ont été effectuées pour les jours suivant l'apparition de la toxicité.



**Figure 23 :** La cinétique d'élimination du méthotrexate du patient n°1 après la première cure

- La méthotrexatémie à la 192<sup>ème</sup> heure (jour 8) était de 0,16 µmol/l ce qui indique un retard d'élimination tardif qui nécessite l'instauration du sauvetage folinique de nouveau à une posologie de 45 mg chaque 6h ;
- La méthotrexatémie à la 216<sup>ème</sup> heure (jour 9) était de 0,121 µmol/l ce qui explique la poursuite du sauvetage folinique à la même posologie ;
- La méthotrexatémie à la 240<sup>ème</sup> heure (jour 10) était de 0,07 µmol/l. Ce dosage montre une élimination du MTX qui n'est pas totale d'où la continuité du sauvetage folinique ;
- La méthotrexatémie à la 312<sup>ème</sup> heure (jour 13) était de 0,0295 µmol/l. Elle montre que le MTX n'est toujours pas éliminé, cela suscite une augmentation de la dose de l'acide folinique à 50 mg/6h pour lutter contre les effets toxiques ;
- La méthotrexatémie à la 360<sup>ème</sup> heure (jour 15) <0,02 µmol/l ce qui explique la poursuite du sauvetage folinique pour ce dernier jour au même rythme qui est 50mg/6h.

Des bilans biologiques ont été effectués en même temps que le dosage de MTX

**Tableau 16:** Les bilans biologiques pour les jours suivant l'apparition de toxicité après la première cure du patient n°1.

	Jour 8	Jour 9	Jour 10	Jour 13	Jour 15
Hb (g/dl)	8,7	8	7,5	8,5	8,9
Plaquettes/mm <sup>3</sup>	291000	114000	102000	14000	8000
GB/mm <sup>3</sup>	2100	1100	900	1400	1100
Créatinine (mg/l)	6	-	6,4	-	6
Urée (g/l)	0,23	-	0,18	-	0,13
ASAT/ALAT (UI/l)	30/90	-	-	15/45	11/21

On observe une diminution du taux d'hémoglobine dans les trois jours qui suivent les manifestations toxiques pour augmenter à nouveau sans se normaliser. De même pour les globules blancs. Ainsi qu'une thrombopénie sévère.

Il n'y a cependant pas de modification du bilan rénal.

#### La cure numéro 2 le 21/04/2021:

Le patient a reçu une dose de 3g/m<sup>2</sup> soit 5460 mg pour une durée de perfusion de 4h dans le cadre du protocole R-COPADEM : Rituximab, Vincristine, Méthotrexate, Cyclophosphamide, Doxorubicine, Prednisone.

Pour cette cure la dose en mg a été légèrement augmentée de 5370 à 5460 mg. Ceci à cause de la surface corporelle qui est passée de 1,79 m<sup>2</sup> pour la première cure à 1,82 m<sup>2</sup> lors de la deuxième cure.

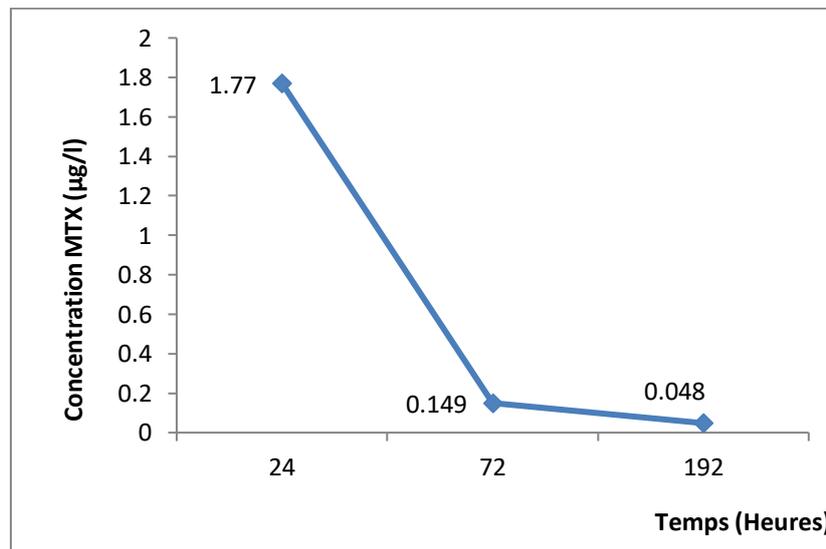
L'hyper hydratation alcaline a été administrée avant le début de la perfusion, sa posologie n'a pas été mentionnée.

L'administration de l'acide folinique a débuté à la 6<sup>ème</sup> heure du début de la perfusion, à raison de 50 mg en IV toutes les 6 heures pendant 4 jours.

**Tableau 17:** Les bilans biologiques avant et après la deuxième cure du patient n°1

	Avant la cure	24h après la cure	72h après la cure
Hb (g/dl)	10,2	10,1	9,3
Plaquettes/mm <sup>3</sup>	305000	337000	284000
GB/mm <sup>3</sup>	13800	6100	4800
Créatinine (mg/l)	7	7	6,2
Urée (g/l)	0,1	0,17	0,13
ASAT/ALAT (UI/l)	25/23	22/16	-

Lors de la 2<sup>ème</sup> cure, on observe également une diminution du taux de globules blancs et de l'hémoglobine qui diminue au bout de 3<sup>ème</sup> jour après la perfusion sans perturbation du bilan rénal et hépatique.



**Figure 24:** La cinétique d'élimination du méthotrexate du patient n°1 après la deuxième cure

Pour cette cure, le patient a bénéficié d'un contrôle de la méthotrexatémie à 24h et 72h.

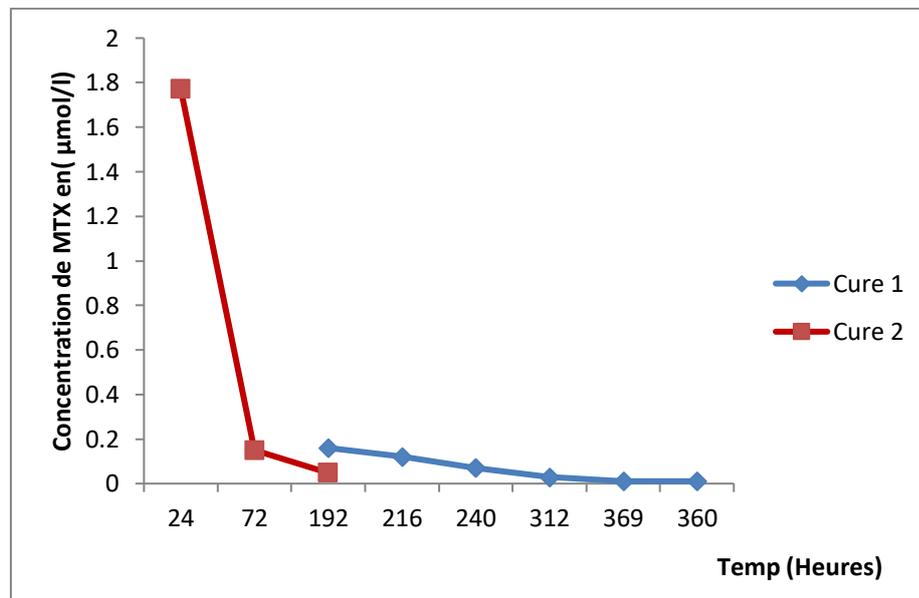
- La méthotrexatémie à la 24<sup>ème</sup> heure était de 1,77 µmol/l (<10 µmol/l) ;

- La méthotrexatémie à la 72<sup>ème</sup> heure était de 0,149  $\mu\text{mol/l}$  ( $<0,2 \mu\text{mol/l}$ )

Le sauvetage folinique n'a pas été arrêté jusqu'au 4<sup>ème</sup> jour suivant l'administration du MTX à une posologie de 50mg/6h.

Le patient n'a pas présenté de signes de toxicité mais d'autres dosages ont été demandés à 96h, 120h et 192h pour détecter un éventuel retard d'élimination tardif en vue des antécédents de toxicité tardive chez ce patient.

- Les prélèvements effectués à H96 et H120 n'ont pas été dosés car il s'agit de prélèvements non conformes ;
- La méthotrexatémie à la 192<sup>ème</sup> heure était de 0,048  $\mu\text{mol/l}$  ce qui indique un retard d'élimination.



**Figure 25:** Comparaison entre les cinétiques d'élimination du méthotrexate de la 1<sup>ère</sup> et 2<sup>ème</sup> cure du patient n° 1

**Observation numéro 2**

Initiales du patient : B.L

Numéro d'enregistrement (tableau) :02

Age : 58ans

Sexe : Féminin

Surface corporelle : 1,75 m<sup>2</sup>

Il s'agit de la patiente B.L âgée de 58 ans, atteinte d'un lymphome non Hodgkinien cérébral primitif, elle est sous chimiothérapie selon le protocole R-MTX-Aracytine : Rituximab, Méthotrexate, Aracytine

Elle a bénéficié d'un suivi thérapeutique pharmacologique pour trois cures de traitement MTX-HD, et d'un bilan biologique avant et après les cures.

**Cure numéro 1 : le 11/03/2021**

La patiente a reçu une dose de 3g/m<sup>2</sup> soit 5250 mg pour une durée de perfusion de 4 heures. L'hyperhydratation alcaline a été administrée par voie veineuse avant le début de perfusion, dont la posologie n'a pas été mentionnée.

L'administration du sauvetage folinique a débuté 6 heures après la perfusion à raison de 44mg toutes les six heures pendant 4 jours

- La méthotrexatémie des 72 heures était de 0.08 µmol/l.

**Tableau 18:** Les bilans biologiques avant et après la première cure du patient n°2

	Avant la cure	24h après la cure	48h après la cure	72h après la cure
Hb (g/dl)	11,9	10,8	-	9,4
Plaquettes/mm <sup>3</sup>	192000	177000	-	177000
GB/mm <sup>3</sup>	6240	-	-	5300
Créatinine (mg/l)	7,5	6,9	10	7
Urée (g/l)	0,21	0,16	0,19	0,18
ASAT/ALAT (UI/l)	21/21	-	-	24/20

Les bilans montrent une diminution de l'hémoglobine et des globules blancs.

Le patient n'a rien présenté comme signe clinique de toxicité.

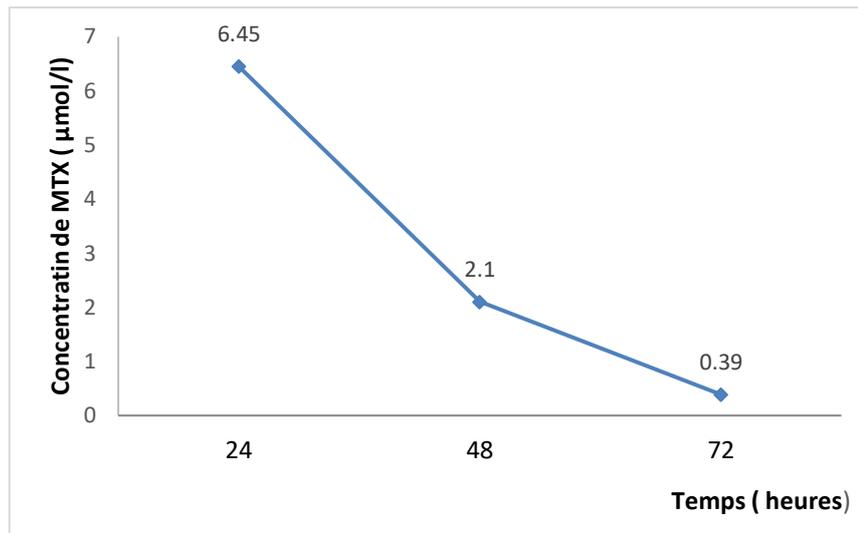
#### Cure numéro 2 : le 04/04/2021

La patiente est sous chimiothérapie à base de MTX selon le même protocole que la première cure : R-MTX-Aracytine. Elle a reçu une posologie de 3 g/m<sup>2</sup> (5190 mg) par voie intraveineuse, la durée de la perfusion était de 4h. La diminution de la dose de MTX est due à la diminution de la surface corporelle qui est passée de 1,75 m<sup>2</sup> à 1,73 m<sup>2</sup>.

L'hyperhydratation alcaline a été administrée avant le début de la perfusion, sa posologie n'a pas été mentionnée.

L'administration du sauvetage folinique a débuté à la 6<sup>ème</sup> heure du début de la perfusion, à raison de 43 mg en IV toutes les 6 heures pendant 4 jours.

Un dosage du MTX a été effectué dans le cadre d'un contrôle.



**Figure 26 :** La cinétique d'élimination du méthotrexate du patient n°2 après la deuxième cure

- La méthotrexatémie à la 24<sup>ème</sup> heure était de 6,45 µmol/L (< 10 mol/l)
- La méthotrexatémie à 48<sup>ème</sup> heure était de 2,10 µmol/L (< 1 µmol/l).
- La méthotrexatémie à 72<sup>ème</sup> heure était de 0.39 µmol/l (< 0,2 µmol/l)

**Tableau 19:** Les bilans biologiques avant et après la deuxième cure de la patiente n°2

	Avant la cure	24h après la cure	48h après la cure	72h après la cure
Hb (g/dl)	11,6	-	11,4	11,6
Plaquettes/mm <sup>3</sup>	176000	-	177000	202000
GB/mm <sup>3</sup>	7690	-	10100	9250
Créatinine (mg/l)	7	6	10	11
Urée (g/l)	0,24	0,22	0,22	0,41
ALAT/ASAT (UI/l)	13/14	14/16	22/16	21/17

Cliniquement, la patiente a présenté des vomissements après l'administration de MTX

On observe une légère augmentation des enzymes hépatiques ainsi que de la créatinine.

**La cure numéro 3 le 17/06/2021:**

La patiente est encore une fois sous chimiothérapie à base de MTX. Elle a reçu la même posologie avec le même rythme d'administration soit 3 g/m<sup>2</sup> (5000 mg) par voie intra veineuse, la durée de la perfusion était de 4h.

L'hyper hydratation alcaline a été administrée avant le début de la perfusion, sa posologie n'a pas été mentionnée.

L'administration du sauvetage folinique a débuté à la 6<sup>ème</sup> heure du début de la perfusion, à raison de 41 mg en IV toutes les 6 heures pendant 4 jours.

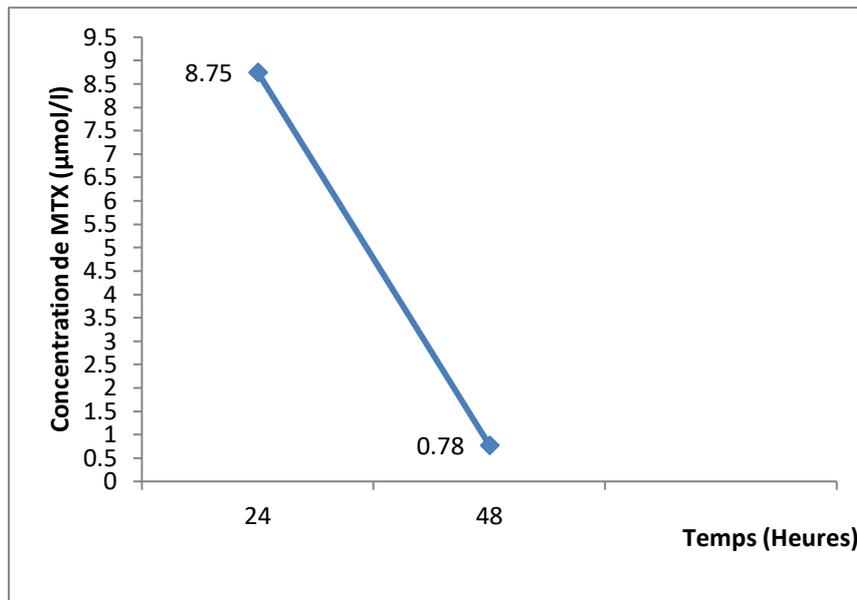
**Tableau 20:** Les bilans biologiques avant et après la troisième cure du patient n°2

	Avant la cure	24h après la cure	72h après la cure
Hb (g/dl)	11,8	-	11,1
Plaquettes/mm <sup>3</sup>	32700	-	204000
GB/mm <sup>3</sup>	6080	-	4400
Créatinine (mg/l)	5,2	4	7
Urée (g/l)	0,12	0,08	0,10
ASAT/ALAT (UI/l)	12/10		31/45

Les globules blancs diminuent.

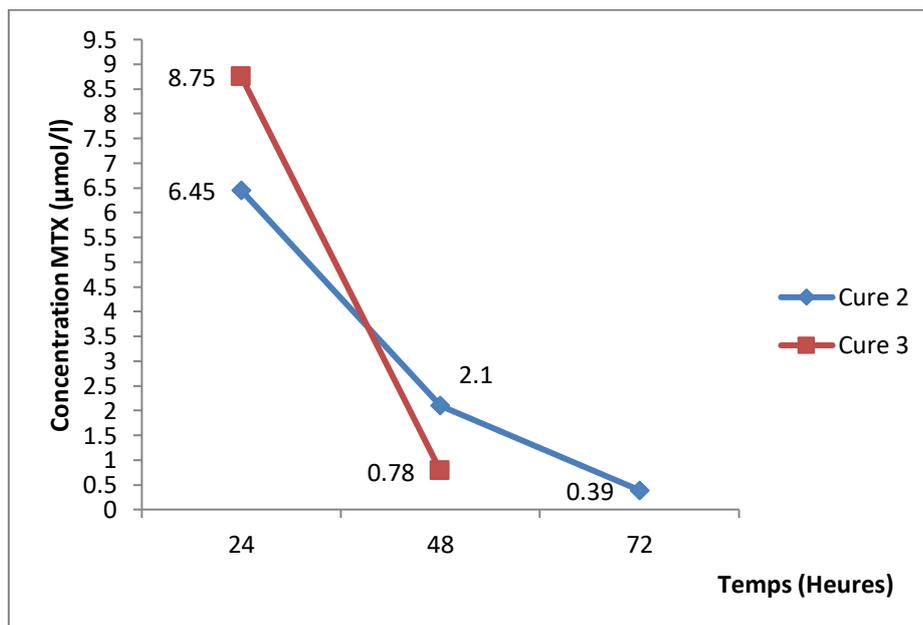
La créatinine et les enzymes hépatiques ASAT et ALAT augmentent.

Deux dosages du MTX ont été fait.



**Figure 27:** La cinétique d'élimination du méthotrexate du patient n°2 après la troisième cure

- La méthotrexatémie à la 24<sup>ème</sup> heure était de 8,75 µmol/l (<10 µmol/l) ;
- La méthotrexatémie à la 48<sup>ème</sup> heure 0,78 µmol/l (<1 µmol/l).



**Figure 28 :** Comparaison entre les cinétiques d'élimination du méthotrexate de la 2<sup>ème</sup> et la 3<sup>ème</sup> cure du patient n° 2

**Observation numéro 3**

Initiales du patient : A.M
Numéro d'enregistrement (tableau) :03
Age : 55 ans
Sexe : Masculin
Surface corporelle : 1,77 m <sup>2</sup>

Il s'agit du patient A.M âgée de 55 ans, atteint d'un lymphome non Hodgkinien, il est sous chimiothérapie selon le protocole R-CALGB qui comprend : Rituximab, Endoxan, Adriamycine, Vincristine, Méthotrexate et Dexaméthasone. Il est atteint également d'une hépatite B.

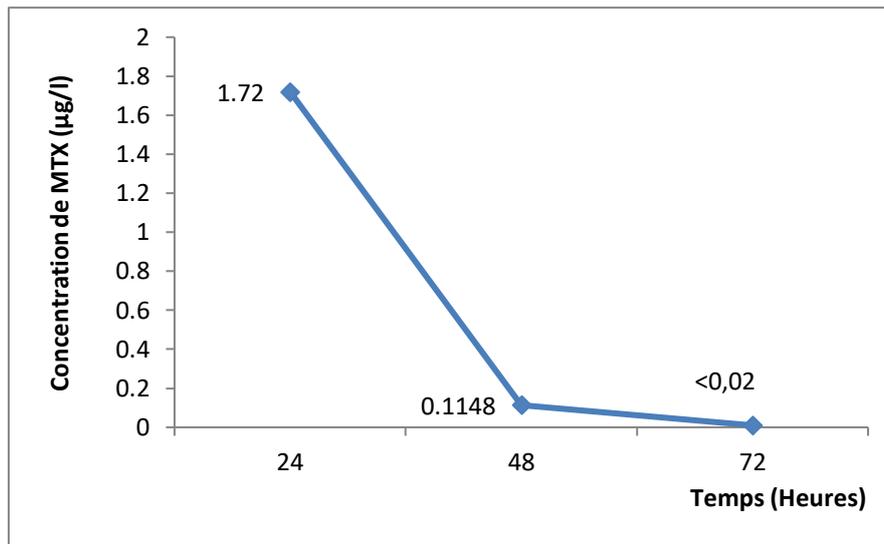
Il a bénéficié d'un suivi thérapeutique pharmacologique pour une cure de traitement MTX-HD, et d'un bilan biologique avant et après la cure.

Le patient a reçu une dose de 1.5 g/m<sup>2</sup> soit 2655 mg, dose diminué par rapport à son atteinte hépatique par voie intra veineuse pour une durée de perfusion de 4 heures.

L'hydratation alcaline a été administrée par voie veineuse avant le début de perfusion, sa posologie n'a pas été mentionnée.

L'administration du sauvetage folinique a débuté 6 heures après la perfusion à raison de 50 mg toutes les six heures pendant 4 jours.

Un dosage du MTX a été effectué dans le cadre d'un contrôle



**Figure 29 :** la cinétique d'élimination du méthotrexate du patient n°3

- La méthotrexatémie à la 24eme heure était de 1.72 µmol/l (< 10 µmol/l) ;
- La méthotrexatémie à 48eme heure était de 0.1148 µmol/l (< 1 µmol/l) ;
- La méthotrexatémie à 72eme heure était inférieure à 0.02 µmol/l (<0,2 µmol/l).

Le patient présente une cinétique d'élimination biphasique, aucun signe de toxicité détecté.

**Tableau 21:** Les bilans biologiques avant et après la cure du patient 3

	Avant la cure	24h après la cure	48h après la cure	72h après la cure
Hb (g/dl)	11.8	12.1	-	11.1
Plaquettes/mm <sup>3</sup>	104000	119000	-	91000
GB/mm <sup>3</sup>	2900	3200	-	1900
Créatininémie (mg/l)	12	17	14.9	13
Urée (g/l)	0.46	0.44	0.49	0.55
ASAT/ALAT (UI/l)	21/17	35/22	-	31/33

Le patient présente une augmentation de la créatininémie et une légère augmentation de l'urémie, avec une augmentation marquée des enzymes hépatiques ASAT/ALAT.

**Observation numéro 4 :**

Initiales du patient : H.Z  
Numéro d'enregistrement (tableau) :08  
Age : 33 ans  
Sexe : Féminin  
Poids : 52 Kg  
Surface corporelle : 1,51m<sup>2</sup>

Il s'agit de la patiente H.Z âgée de 33 ans, atteinte d'un lymphome non Hodgkinien à cellules B médiastinal. Elle a bénéficié d'un suivi thérapeutique pharmacologique pour deux cures de MTX-HD.

**La cure numéro 1 : le 22/04/2021**

La patiente est sous chimiothérapie selon le protocole R-ACVBP : Rituximab, Cyclophosphamide, Doxorubicine, Vindésine, Blémoycine, Prednisone, Méthotrexate.

Elle a reçu une dose de 3 g/m<sup>2</sup> soit 4530 mg par voie intra veineuse, la durée de la perfusion était de 4h.

L'hyper hydratation alcaline a été administrée avant le début de la perfusion, sa posologie n'a pas été mentionnée.

L'administration du sauvetage folinique a débuté à la 6<sup>ème</sup> heure du début de la perfusion, à raison de 38 mg en IV toutes les 6 heures pendant 4 jours.

Des bilans biologiques ont été effectués avant et après la cure de MTX.

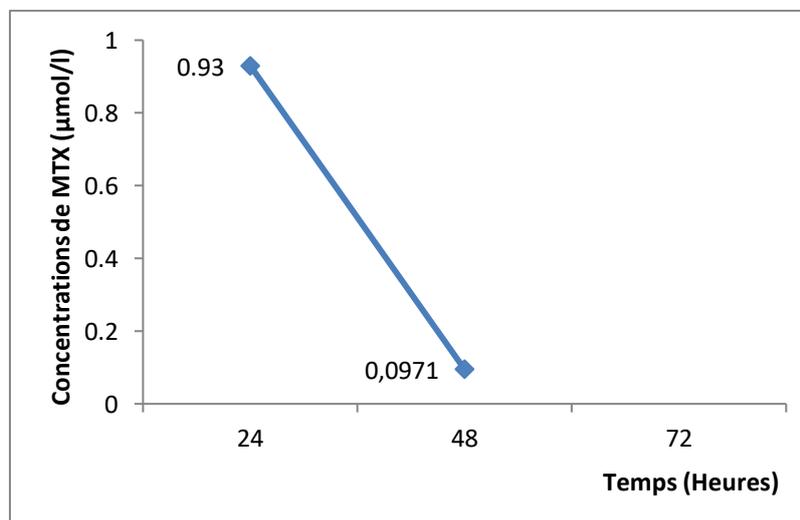
**Tableau 22:** Les bilans biologiques avant et après la première cure du patient n°8

	Avant la cure	24h après la cure	48h après la cure	72h après la cure
Hb (g/dl)	10,5	-	10,2	10
Plaquettes/mm <sup>3</sup>	194000	-	186000	199000
GB/mm <sup>3</sup>	3400	-	3900	3900
Créatinine (mg/l)	7	6	5,4	6
Urée (g/l)	0,16	0,16	0,12	0,12
ASAT/ALAT (UI/l)	39/31	-	-	44/45

La patiente présente une augmentation d'ASAT et ALAT.

Aucun signe de toxicité clinique n'a été présenté.

Le dosage de MTX été fait systématiquement dans le cadre du contrôle des concentrations plasmatiques.

**Figure 34 :** La cinétique d'élimination du méthotrexate du patient n°8 après la première cure

- La méthotrexatémie à la 24<sup>ème</sup> heure était de 0,93 µmol/l (<10 µmol/l) ;
- La méthotrexatémie à la 48<sup>ème</sup> heure était de 0,0971 µmol/l (< 1 µmol/l) ;
- La méthotrexatémie à la 72<sup>ème</sup> heure n'a pas été faite car le résultat de la 48<sup>ème</sup> heure était dans les normes.

L'administration de l'acide folinique est poursuivie à la même posologie jusqu'au 4<sup>ème</sup> jour de l'administration du MTX.

**La cure numéro 2 le 18/04/2021:**

La patiente est sous chimiothérapie à base de MTX. Elle a reçu la même posologie avec le même rythme d'administration soit 3 g/m<sup>2</sup> (4530 mg) par voie intra veineuse, la durée de la perfusion était de 4h.

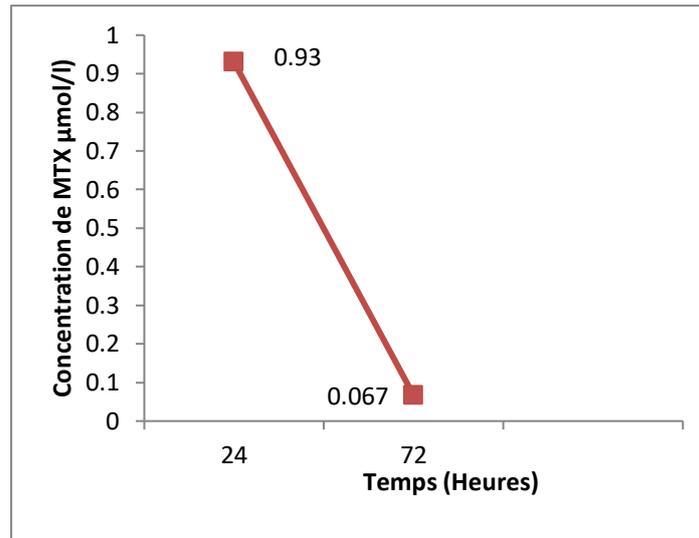
L'hyper hydratation alcaline a été administrée avant le début de la perfusion, sa posologie n'a pas été mentionnée.

L'administration du sauvetage folinique a débuté à la 6<sup>ème</sup> heure du début de la perfusion, à raison de 38 mg en IV toutes les 6 heures pendant 4 jours.

**Tableau 23:** Les bilans biologiques avant et après la deuxième cure du patient n°8

	Avant la cure	48h après la cure
Hb (g/dl)	10,7	10,3
Plaquettes/mm <sup>3</sup>	212000	193000
GB/mm <sup>3</sup>	6400	1700
Créatinine (mg/l)	6	5
Urée (g/l)	0,17	0,08
ASAT/ALAT (UI/l)	29/16	31/34
Albumine (g/l)	41	38

- La méthotrexatémie à la 24<sup>ème</sup> heure était de 0,93 µmol/l (<10 µmol/l) ;
- La méthotrexatémie à la 72<sup>ème</sup> heure 0,067 µmol/l (<0,2 µmol/l)



**Figure 35:** La cinétique d'élimination du méthotrexate du patient n°8 après la deuxième cure

Le dosage à H48 n'a pas été réalisé, de ce fait, la courbe biphasique ne peut pas être mise en évidence dans ce cas.

**Observation numéro 5 :**

Initiales du patient : B.L  
Numéro d'enregistrement (tableau) :10  
Age : 22 ans  
Sexe : Masculin  
Surface corporelle : 1,63 m<sup>2</sup>

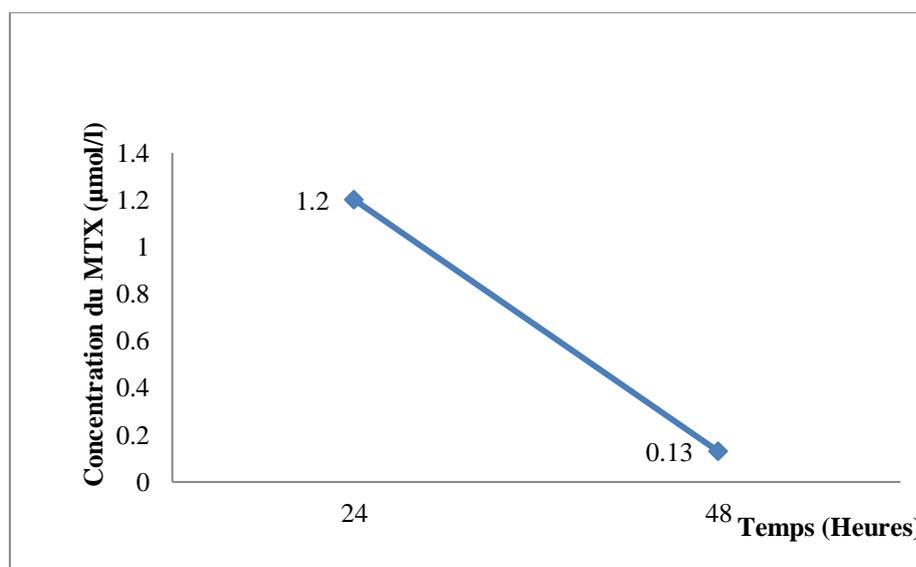
Il s'agit de la patiente B.L âgé de 22 ans, atteint d'un lymphome non hodgkinien, il est sous chimiothérapie à base de MTX : Méthotrexate.

Il a bénéficié d'un suivi thérapeutique pharmacologique pour une cure de traitement MTX-HD.

Le patient a reçu une dose de 3g/m<sup>2</sup> soit 4900 mg pour une durée de perfusion de 4 heures. L'hyperhydratation alcaline a été administrée par voie veineuse avant le début de perfusion, dont la posologie n'a pas été mentionnée.

L'administration du sauvetage folinique a débuté 6 heures après la perfusion à raison de 41 mg toutes les six heures pendant 4 jours.

Un dosage du MTX a été effectué dans le cadre d'un contrôle



**Figure 37:** La cinétique d'élimination du méthotrexate du patient n°10 après la cure.

- La méthotrexatémie à la 24<sup>ème</sup> heure était de 1,2  $\mu\text{mol/l}$  ( $<1 \mu\text{mol/l}$ )
- La méthotrexatémie à la 48<sup>ème</sup> heure était 0,13  $\mu\text{mol/l}$  ( $<0,02 \mu\text{mol/l}$ )

La cinétique d'élimination de MTX est linéaire, aucun signe de toxicité n'a été remarqué.

Le patient a bénéficié d'un bilan biologique avant et après la cure.

**Tableau 24:** Les bilans biologiques avant et après la première cure du patient n°10

	Avant la cure	24h après la cure	48h après la cure	72h après la cure
Hb (g/dl)	14,1	14,8	-	-
Plaquettes/mm <sup>3</sup>	227000	269000	-	-
GB/mm <sup>3</sup>	4090	4900	-	-
Créatinine (mg/l)	7,9	6,8	-	7
Urée (g/l)	0,3	0,19	-	0,15
ASAT/ALAT (UI/l)	13/7	14/15	-	17/17

## Observation n° 6

Initiales du patient : K.A  
 Numéro d'enregistrement (tableau) :12  
 Age : 9 ans  
 Sexe : H  
 Surface corporelle : 1,2 m<sup>2</sup>

Il s'agit du patient K.A âgé de 9 ans, atteint d'une leucémie aigüe lymphoïde pré T classé VHR (EORTC). Le protocole de chimiothérapie n'a pas été mentionné. Il a bénéficié d'un suivi thérapeutique pharmacologique pour une cure de MTX-HD et des bilans biologiques avant et après la cure.

Le patient a reçu une dose de 5g/m<sup>2</sup> soit 6000 mg pour une durée de perfusion de 24 heures, répartie en 500mg/m<sup>2</sup> durant la première heure de perfusion et le reste (4500mg/m<sup>2</sup>) pendant 23 heures. L'hyperhydratation alcaline a été administrée par voie veineuse 24h avant le début de perfusion, sa la posologie n'a pas été mentionnée.

L'administration du sauvetage folinique a débuté après la perfusion à raison de 14,4mg toutes les six heures pendant 4 jours. L'heure d'administration n'a pas été mentionnée

**Tableau 25:** Les bilans biologiques avant et après la première cure du patient n°12

	Avant la cure	48h après la cure
Hb (g/dl)	11,5	10
Plaquettes/mm <sup>3</sup>	345000	281000
GB/mm <sup>3</sup>	2400	3700
PNN/mm <sup>3</sup>	1300	2770
Créatinine (mg/l)	-	5
Urée (g/l)	-	0,12
ASAT/ALAT (UI/l)	-	41/63

Le bilan montre une diminution de l'hémoglobine et plaquettes.

Dès le 4<sup>ème</sup> jour après la cure, le patient a présenté des signes allergiques marquées par l'apparition d'une éruption maculo-papuleuse au niveau du tronc, dos, cuisses et des mains prurigineuses avec des mucites de grade 2.

Un dosage de MTX a été fait dans le cadre d'une suspicion d'une toxicité :

- La méthotrexatémie à la 48<sup>ème</sup> heure était de 0,88  $\mu\text{mol/l}$  ( $< 1\mu\text{mol/l}$ ).

## Observation n°7

Initiales du patient : H.R.

Numéro d'enregistrement (tableau) : 13

Age : 14 ans.

Sexe : Masculin

Poids : 60 Kg

Surface corporelle : 1.6 m<sup>2</sup>

Il s'agit du patient H.R. âgé de 14 ans, atteint d'une leucémie aiguë lymphoïde pré T classé VHR (EORTC) en intervalle thérapeutique.

Il a bénéficié d'un suivi thérapeutique pharmacologique pour la cinquième cure de traitement méthotrexate haute dose.

**Date de la cure : 02/04/2021**

Le patient a reçu une dose de 5g/m<sup>2</sup> soit 8 g de méthotrexate, la durée de perfusion était de 24h.

Le sauvetage folinique de 76.8 mg par jour à raison de 19.2mg chaque 6h a été entamé à la 36<sup>ème</sup> heure du début de la cure.

L'hyperhydratation a été effectuée par voie veineuse à raison de 3L/m<sup>2</sup> soit 4.8L divisé entre sérum glucosé à 5%, sérum salé isotonique et une solution de CaCl<sub>2</sub>.

Le patient a bénéficié d'un bilan biologique comprenant : une formule numération sanguine avant et après la cure ainsi qu'un bilan hépatique après la cure.

**Tableau 26:** Les bilans biologiques avant et après la cure du patient n° 13

Bilan	GB/mm <sup>3</sup>	HB (g/dl)	Plaquettes/ mm <sup>3</sup>	PNN/ mm <sup>3</sup>	ASAT UI/l	ALAT UI/l	GGT UI/l	PAL UI/l
Avant la cure	3800	9.5	177000	2200	-	-	-	-
Après la cure	9540	9.7	256000	8520	39	40	20	184

Le patient a présenté une augmentation des GB ainsi que les PNN.

Le total de 10 prélèvements ont été envoyés au laboratoire de toxicologie dont 8 ont été effectués alors que 2 prélèvements n'étaient pas conforme (H96 et H168).

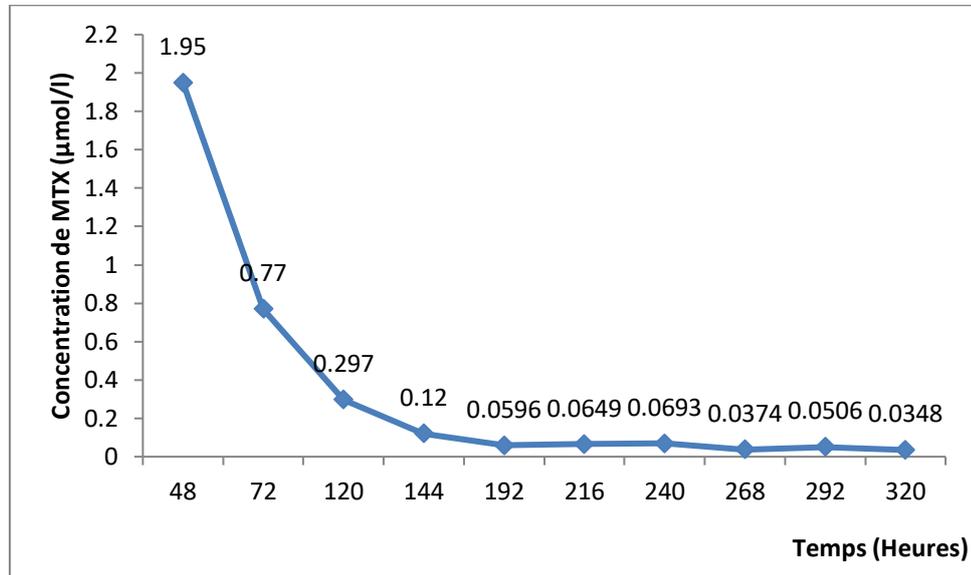
- La méthotrexatémie à 48 heures était de 1.95  $\mu\text{mol/l}$  ( $>1 \mu\text{mol/l}$  à H48) ce qui indique une adaptation du sauvetage folinique de 19.2mg chaque 6 heures ;
- La méthotrexatémie à 72 heures était de 0.77  $\mu\text{mol/l}$  ( $>0.2 \mu\text{mol/L}$  à H72) ce qui indique une adaptation du sauvetage folinique de 19.2mg chaque 6 heures.

Le patient présente un retard d'élimination raison pour laquelle plusieurs dosages supplémentaires ont été effectués.

- La méthotrexatémie à 120 heures était de 0.297  $\mu\text{mol/l}$  ce qui indique une adaptation du sauvetage folinique de 19.2mg chaque 6 heures ;
- La méthotrexatémie à 144 heures était de 0.12  $\mu\text{mol/l}$  ce qui indique une adaptation du sauvetage folinique de 19.2mg chaque 6 heures ;
- La méthotrexatémie à 192 heures était de 0.0596  $\mu\text{mol/l}$  ce qui indique une adaptation du sauvetage folinique de 19.2mg chaque 6 heures ;
- La méthotrexatémie à 216 heures était de 0.0649  $\mu\text{mol/l}$  ce qui indique une adaptation du sauvetage folinique de 19.2mg chaque 6 heures ;
- La méthotrexatémie à 240 heures était de 0.0693  $\mu\text{mol/l}$  ce qui indique une adaptation du sauvetage folinique de 19.2mg chaque 6 heures ;
- La méthotrexatémie à 268 heures était de 0.0374  $\mu\text{mol/l}$  ce qui indique une adaptation du sauvetage folinique de 19.2mg chaque 6 heures ;
- La méthotrexatémie à 292 heures était de 0.0506  $\mu\text{mol/l}$  ce qui indique une adaptation du sauvetage folinique de 19.2mg chaque 6 heures ;

- La méthotrexatémie à 320 heures était de 0.0348  $\mu\text{mol/l}$  ce qui indique une adaptation du sauvetage folinique de 19.2mg chaque 6 heures.

L'administration de l'acide folinique a été toujours maintenue à la même posologie, même si un retard d'élimination existe.



**Figure 39:** cinétique d'élimination du méthotrexate du patient n °13

Le patient a présenté une toxicité cutanéomuqueuse type mucite grade 1 après 6 jours de l'administration de la cure.

## Observation n°8

Initiales du patient : R.R.  
Numéro d'enregistrement (tableau) : 14  
Age : 06 ans.  
Sexe : Féminin  
Poids : 20 Kg  
Surface corporelle : 1.29 m<sup>2</sup>

Il s'agit du patient R.R. âgé de 06 ans, atteint leucémie aigüe lymphoïde biphénotypée. Le protocole de chimiothérapie n'a pas été mentionné. Elle a bénéficié d'un suivi thérapeutique pharmacologique pour la deuxième cure de traitement méthotrexate haute dose.

**Date de la cure : 25/03/2021**

La patiente a reçu une dose de 5g/m<sup>2</sup> soit 6450 mg de méthotrexate, la durée de perfusion était de 24h.

Le sauvetage folinique n'était pas mentionné par le clinicien.

L'hyperhydratation a été effectuée par voie veineuse à raison de 3L/m<sup>2</sup> soit 4.8L divisé entre sérum glucosé à 5%, sérum salé isotonique et une solution de CaCl<sub>2</sub>.

Le patient a bénéficié d'un bilan biologique comprenant : une formule numération sanguine avant et après la cure ainsi qu'un bilan hépatique et un bilan rénal après la cure.

**Tableau 27:** Les bilans biologiques avant et après la cure du patient numéro 14

	Avant la cure	24H après la cure	72H après la cure
GB / mm <sup>3</sup>	7050	2750	2290
HB (g/dl)	10.1	8.3	9.1
PNN/ mm <sup>3</sup>	4250	1420	1420
Plaquettes/mm <sup>3</sup>	423000	285000	270000
Creatinine(mg/l)	-	3.3	4
ASAT/ALAT (UI/L)	-	-/106	355(8*N)/281(5*N)
PAL/GGT (UI/L)	-	23.01/246.85	-
BT/BD (μmol/L)	-	4.1/1.2	6/3

La patiente a présenté une diminution du nombre des GB, des PNN ainsi que des plaquettes.

Une perturbation du bilan hépatique est à signaler à savoir le taux d'ALAT atteignant 8 fois la normale, le taux d'ASAT 5 fois la normale et une augmentation de la GGT.

Dans le cadre d'un contrôle systématique la patiente a bénéficié de 3 dosages dont 2 n'ont pas été fait la H24 et la H48 car les prélèvements n'étaient pas conformes.

- La méthotrexatémie à la 72<sup>ème</sup> heure était de 0,16 μmol/l.

La patiente n'a présenté aucun signe de toxicité.

## **Chapitre III: Discussion**

Le suivi thérapeutique et pharmacologique du méthotrexate est indiqué chez les patients atteints d'hémopathies malignes qui sont sous chimiothérapie dont le protocole indique une posologie de MTX  $>1\text{g/m}^2$ . Il consiste à effectuer des dosages plasmatiques à différents délais post perfusion afin d'évaluer son élimination.

A cet effet, nous avons mené une étude prospective descriptive portant sur 15 patients atteints d'hémopathies malignes, 11 adultes et 4 enfants hospitalisés respectivement au service d'hématologie et hématopédiatrie au CHU de Tizi Ouzou et traités par méthotrexate à haute doses. Cette étude a été réalisée sur une période de quatre mois allant de Mars 2021 jusqu'à Juin 2021. Son objectif est de montrer l'intérêt du suivi thérapeutique pharmacologique du méthotrexate qui fait partie intégrante du suivi des patients.

Nous avons effectué au niveau du laboratoire de toxicologie du CHU de Tizi Ouzou les dosages plasmatiques du méthotrexate en utilisant une méthode de dosage immunoenzymatique (EMIT) validée (gamme basse) qui offre une analyse simple et rapide de ce médicament à des concentrations plasmatiques à partir de  $0,02\ \mu\text{mol/l}$ . la communication de ces résultats au médecin contribue à la prise en charge rapide et efficace concernant l'adaptation de la posologie de l'acide folinique .

Concernant les dosages des paramètres biochimiques, ces derniers ont été effectués au niveau du laboratoire de biochimie du CHU de Tizi Ouzou à la demande du médecin traitant pour pouvoir évaluer toute éventuelle perturbation après la cure.

La moyenne d'âge de notre population est de  $35 \pm 21$  ans avec des extrêmes de 02 et 66 ans. La population de notre étude est hétérogène avec 73 % d'adultes âgés entre 16 et 66 ans contre 27% d'enfants âgés entre 2 et 16 ans.

La population est à majorité féminine avec un sexe ratio (Homme/Femme) de 0,87. La majorité féminine est retrouvée chez les adultes avec un sexe ratio (Homme/Femme) de 0,83 alors que chez la population pédiatrique il n'y a pas de prédominance.

La prédominance masculine des hémopathies malignes retrouvée par la plupart des auteurs [3,119,120] n'a pas été constatée dans notre étude car elle concerne uniquement les patients atteints d'hémopathies malignes traités par des protocoles incluant le MTX-HD.

Plus de la moitié de la population (53,33%) sont atteints de lymphome de type non Hodgkinien ceci concorde avec une étude épidémiologique faite au CHU de Marrakeche qui

révèle que les lymphomes sont majoritaires [121] . La population pédiatrique est exclusivement atteinte de leucémie aigüe lymphoïde comme l'indique une étude menée par Bellec et al en France qui a montré une prédominance des LAL chez la population pédiatrique [122] .

Près de 27% de notre population a présenté différents signes de toxicité qui peuvent être dû au méthotrexate. Parmi ces patients, 25% ont présenté une toxicité digestive, il s'agit de la patiente n°2 qui a eu des vomissements après sa troisième cure, ces atteintes gastro-intestinales sont peu fréquentes selon les données du RCP français. 50% ont présenté une toxicité cutanée, cas du patient n°12 qui a présenté des signes allergiques cutanés généralisés, ainsi que le patient n°1 qui a présenté un syndrome de Lyell qui est un effet indésirable peu fréquent selon le dictionnaire Vidal 2019. De même, 50% ont présenté une toxicité muqueuse de type mucite, et ce, chez les patients n°12 et 13, ce type d'effets secondaires est confirmé par les travaux de Del Pozo et al [122].

Notre population a bénéficié de bilans biologiques de base (avant la cure) et de contrôle (après la cure) incluant la FNS, bilan rénal et bilan hépatique.

Il est impératif de réaliser ces bilans vu les perturbations biologiques que la chimiothérapie peut engendrer comme recommandé par le RCP français.

La perturbation des bilans biologique est présente chez la majorité des patients (87%), elle est de type hématologique, hépatique et rénal. Elle est la conséquence de l'effet cytotoxique du méthotrexate [75].

Les patients qui ont présenté des manifestations toxiques ont une méthotrexatémie supérieure au seuil de toxicité sauf le patient n°12 qui a présenté une toxicité cutanéomuqueuse alors que la concentration du MTX est dans les normes. Ceci s'applique également aux bilans biologiques. C'est le cas des patients n° 5 et 15 qui présentent une augmentation des enzymes hépatiques (ASAT et ALAT) sans perturbation de la méthotrexatémie. L'atteinte hépatique est confirmée par la littérature, l'augmentation des transaminases est observée dans 20% des cas de façon réversible [68] . De même pour les patients n° 3, 8 et 14 qui montrent une nette diminution des globules blancs. L'apparition de ces toxicités est confirmé par la littérature, notamment les travaux de Isacoff et al [123] . Concernant le bilan rénal, on observe une augmentation de la créatinine sans dépasser l'intervalle normal chez les patients n°2, 3, 5 et 7. Cependant, chez le patient n°1, la perturbation du bilan rénal est observée en parallèle au retard d'élimination du MTX. L'atteinte rénale survient dans 2 à 4% des cas comme le

montrent les travaux de [118]. Celle-ci est redoutable et peut entraîner jusqu'à 6 % de décès si l'on ne prend pas de précautions particulières [124].

Le STP du méthotrexate a permis d'observer une variabilité d'élimination interindividuelle pour la même dose administrée du MTX chez les deux populations comme démontré par Le Guellec et al [44].

Il est à noter que pour un même patient, la cinétique d'élimination peut varier, c'est le cas du patient n°2 qui a présenté une différence dans la cinétique d'élimination du MTX pour deux différentes cures. Dans ce cas on a pu comparer uniquement la première phase d'élimination vu l'absence du dosage à H72 pour la deuxième cure. Ceci confirme que le suivi thérapeutique pharmacologique du méthotrexate est important après chaque cure chez le même patient. De plus, afin d'estimer la cinétique d'élimination du MTX, un seul dosage n'est pas suffisant, il faut donc plusieurs dosages à différents délais post-perfusion [44].

Le STP a permis également de détecter les retards d'élimination, c'est le cas du patient n°1 chez qui la méthotrexatémie était supérieure au seuil de sécurité à 8 jours post perfusion ce qui confirme que les signes de toxicité cutanée sont dus au méthotrexate et justifie la demande de dosages supplémentaires permettant ainsi de suivre l'élimination totale de la dose administrée. Selon une étude rétrospective, une toxicité significative a été observée chez les patients ayant présenté une élimination retardée du MTX, avec néanmoins une récupération totale pour tous les patients [90].

Egalement, le patient n°13 a présenté un retard d'élimination avec une méthotrexatémie à H48  $> 2 \mu\text{mol/l}$  ce qui a suscité le contrôle des concentrations plasmatiques jusqu'à élimination totale. De ce fait, le sauvetage folinique ainsi que l'hyperhydratation ont été maintenus. Ces mesures représentent une étape nécessaire de la prise en charge d'un surdosage au MTX et permettent de conserver et d'optimiser la fonction rénale du patient tout en limitant les effets cytotoxiques du MTX [21,88].

Le STP du MTX permet l'adaptation du sauvetage folinique dans le but de minimiser les effets secondaires. C'est le cas du patient n°1 chez qui l'acide folinique a été instauré de nouveau suite à l'apparition d'une toxicité due à un retard d'élimination tardif. Sa posologie a été augmentée. Concernant les autres patients présentant une toxicité aucune adaptation posologique de l'acide folinique n'a été faite, juste un prolongement d'administration.

Certains patients lors de certaines cures ont présenté une diminution des plaquettes et de façon moins prononcée de l'hémoglobine après la cure ce qui peut être expliqué par l'effet hématotoxique du MTX ainsi que des autres molécules utilisées en chimiothérapie.

#### **Les difficultés rencontrées :**

Nous avons été confrontés durant notre étude à certaines limites décrites comme suit :

- La taille réduite de la population, qui nous a privés d'établir une étude statistique à large spectre ;
- Recueil des informations à partir des dossiers médicaux, en conséquence, les données qui concernent l'état physiopathologique des patients et les effets indésirables peuvent être manquant ce qui rend difficile l'analyse du profil de chaque patient ;
- L'indisponibilité de certains bilans biologiques ce qui a limité l'interprétation de certains dosages et l'explication de quelques effets toxiques ;
- La difficulté d'accès aux données d'hyperhydratation alcaline ;
- Manque de réactif ce qui a empêché la réalisation des dosages systématiques chez les patients qui ont eu des cures supplémentaires, ou même un suivi rigoureux de la cinétique d'élimination, ce qui a empêché d'établir les études de variabilité intra-individuelle ;
- La non-conformité de certains prélèvements qui n'ont pas été conservé convenablement.

## **Conclusion**

Le méthotrexate est un cytotoxique de la famille des anti-métabolites qui fait partie intégrale de l'arsenal thérapeutique des hémopathies malignes ou il est administré à de fortes doses ( $>1\text{g}/\text{m}^2$ ). Sa toxicité est de fréquence variable d'un patient à un autre et qui peut induire une morbidité importante.

Le suivi thérapeutique pharmacologique représente une des approches les plus intéressantes susceptible de maîtriser le risque toxique et fait l'objet d'un consensus général car il permet d'adapter les mesures correctives mises en œuvre d'un patient à un autre ou même d'une cure à une autre chez un même patient dès qu'une surexposition est objectivée.

A travers notre étude, nous avons évalué le profil de tolérance clinique et biologique des patients de notre population en notant tout signe de toxicité survenu après administration du MTX, nous avons également apprécié la cinétique d'élimination du médicament pour tous les patients par le dosage plasmatique du MTX à différents délais post-perfusion jusqu'à obtention des taux considérés comme non-toxiques.

Pour notre part, nous avons dosé le méthotrexate par une méthode immuno-enzymatique (EMIT) fiable et rapide qui nous a permis de rendre le résultat et le discuter au clinicien à temps.

Les résultats de notre travail montrent l'importance du suivi thérapeutique pharmacologique du MTX-HD dans la prise en charge des pathologies onco hématologiques en détectant les patients les plus vulnérables à développer une toxicité. Il permet également une meilleure adaptation du sauvetage folinique et des mesures d'hydratation alcaline en améliorant ainsi leur pronostic vital, sans entraîner une inefficacité thérapeutique.

Pour conclure, nous rappellerons que le nombre réduit de patients suivis, la courte durée du suivi ainsi que le manque de réactif nous ont retenus de faire un travail plus enrichi, plus approfondi et plus étalé dans le temps. Néanmoins, notre étude confirme l'importance du STP du méthotrexate qui est une pratique indissociable du protocole de chimiothérapie, alors nous recommandons une collaboration étroite entre médecins cliniciens et toxicologues analystes dans le but d'éviter les toxicités imputables à ce médicament et d'une meilleure adaptation du sauvetage folinique qui doit être faite en fonction des méthotrexatémie afin de gérer les toxicités et de maximiser l'efficacité du traitement.

## Références bibliographiques

1. Chan AJ, Rajakumar I. High-dose methotrexate in adult oncology patients : A case-control study assessing the risk association between drug interactions and methotrexate toxicity. 2014;
2. Mufuta J-P. EKGNKMKJMK. LES HEMOPATHIES MALIGNES LYMPHOIDES A KINSHASA. 2011;2(January):119–23.
3. Comoe ND, Kg K, Ayemou R, C ND, Alla D, Kouakou B, et al. PREVALENCE ET INCIDENCE DES HEMOPATHIES MALIGNES AU CHU DE YOPOUGON . PREVALENCE AND INCIDENCE OF HEMATOLOGICAL MALIGNANCIES : Teaching Hospital OF YOPOUGON INTRODUCTION : 2012;205–8.
4. Juliusson G, Hough R. Leukemia. Prog Tumor Res. 2016;43:87–100.
5. Jmili NB, Abdelaziz A Ben, Nagara M, Mahjoub T, Ghannem H, Kortas M. Aspects cytologiques des leucémies aiguës: À propos de 193 cas colligés dans la région centrale de la Tunisie. East Mediterr Heal J. 2004;10(4–5):640–7.
6. Richard A. Larson Devine SM. Devine, S. M., & Larson, R. A. (1994). Acute leukemia in adults recent developments in diagnosis and treatment. CA Cancer J Clin. 1994;
7. Doumbia M, Uwingabiye J, Bissan A, Rachid R, Benkirane S, Masrar A. Aspects épidémiologiques, cliniques, cytologiques et immunophénotypiques des leucémies aiguës chez les enfants: Expérience du laboratoire d'hématologie du centre hospitalier universitaire IBN sina. Pan Afr Med J. 2016;23:1–8.
8. Torpy JM, Lynn C. Acute lymphoblastic leukemia. JAMA - J Am Med Assoc. 2009;301(4):452.
9. Duployez N, Preudhomme C. Place de la biologie moléculaire pour le diagnostic et le suivi des leucémies aiguës. Rev Francoph des Lab [Internet]. 2015;2015(471):51–64. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S1773-035X\(15\)30074-5](http://dx.doi.org/10.1016/S1773-035X(15)30074-5)
10. J. Burger JF. Précis d'hématologie et d'oncologie. Vol. 148. 148–162 p.
11. Rousselot P. Leucémies aiguës lymphoblastiques à chromosome de Philadelphie ( LAL Ph + ) et leucémies aiguës lymphoblastiques B dites. 2015;05:213–5.
12. Roy-Tourangeau M. Stratégie de détection des anomalies chromosomiques dans les leucémies aiguës pédiatriques. Fac Med del'université Montr. 2013;
13. BOB LÖWENBERG, M.D. and al. ACUTE MYELOID LEUKEMIA. 1999;345–64.

14. Abbott BL. L eukemias Chronic Lymphocytic Leukemia : Recent Advances in Diagnosis and Treatment. 2006;21–30.
15. Bruno Varet. le livre de l'interne en hématologie.
16. Toulouse A, Montpellier A. Référentiel Régional Lymphomes de l' adulte. 2020;
17. Drouet F, Cahu X, Pointreau Y, Denis F, Mahé MA. Lymphomes malins non hodgkiniens. Cancer/Radiothérapie. 2010;14(SUPPL. 1):S210–29.
18. Gallot-lavallée J, Jean PG. Recherche de facteurs de risque de toxicité du méthotrexate haute dose chez les patients adultes traités pour une hémopathie lymphoïde To cite this version : HAL Id : dumas-02103420 DIPLÔ ME D ' ÉTAT de DOCTEUR EN PHARMACIE Présentée et soutenue publiquem. 2019;
19. Institut national du cancer. Comprendre les lymphomes non hodgkiniens. 2019.
20. Soussain C, Houillier C, Choquet S, Hoang-Xuan K. Actualités des lymphomes cérébraux primitifs (LCP). Bull Cancer. 2014;101(3):314–24.
21. Grommes C, Rubenstein JL, DeAngelis LM, Ferreri AJM, Batchelor TT. Comprehensive approach to diagnosis and treatment of newly diagnosed primary CNS lymphoma. Neuro Oncol. 2019;21(3):296–305.
22. Guyader-peyrou S Le, Cornet E, Cowppli-bony A, Monnereau A. Estimation s nationale s de l' incidence et de la mortalité par c ancer en France métropolitaine. 2019;
23. Cohen IJ. Challenging the clinical relevance of folinic acid over rescue after high dose methotrexate ( HDMTX ) q. Med Hypotheses. 2013;81(5):942–7.
24. Lévy J., Varet B, Clauvel J-P, Lefrère F, Bezeaud A, Guillin M. Abrégé Hématologie et transfusion. 2ème. 2001.
25. Magrath I. Epidemiology : clues to the pathogenesis of Burkitt lymphoma. 2012;744–56.
26. Kelly G., Rickinson AB. Pediatric Hematologic Malignancies : Non-Hodgkin Lymphoma Burkitt Lymphoma : Revisiting the Pathogenesis of a Virus-Associated Malignancy. Am Soc oh Hematol. 2007;277–84.
27. Blum KA, Lozanski G, Byrd JC. Review article Adult Burkitt leukemia and lymphoma. Blood. 2004;104(10):3009–21.
28. Brady G, Macarthur GJ, Farrell PJ. Epstein – Barr virus and Burkitt lymphoma. J Clin Pathol. 2007;1397–402.
29. Danilov A V., Pilichowska M, Danilova O V., Sprague KA. AIDS-related Burkitt lymphoma—A heterogeneous dis- ease? Leuk Res. 2008;32:1939–41.

30. BECKOUEY OG et F. Organisation du génome par le complexe cohésine chez la levure *Saccharomyces cerevisiae*. 2019;
31. Volpato JP, Yachnin BJ, Blanchet J, Guerrero V, Poulin L, Fossati E, et al. Multiple Conformers in Active Site of Human Dihydrofolate Reductase F31R / Q35E Double Mutant Suggest Structural Basis for Methotrexate Resistance \* □. *J Biol Chem* [Internet]. 2009;284(30):20079–89. Available from: <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M109.018010>
32. Pharmaopée européenne 7<sup>ème</sup> édition. Vol. 5. 2009.
33. Résumé des caractéristiques du produit - METHOTREXATE BIODIM 25 mg/1mL, solution injectable - Base de données publique des médicaments.
34. Shen DD, Azarnoff DL. Clinical Pharmacokinetics of Methotrexate. *Clin Pharmacokinet*. 1978;3(1):1–13.
35. Levêque D, Santucci R, Gourieux B, Herbrecht R. Pharmacokinetic drug-drug interactions with methotrexate in oncology. *Expert Rev Clin Pharmacol*. 2011;4(6):743–50.
36. Marquet P, Carpentier N, Milano G, Thyss A, Favre R. Suivi thérapeutique pharmacologique du méthotrexate. 2006;1(06):8–11.
37. Pharmacokinetics of MTX - Holland-Frei Cancer Medicine - NCBI Bookshelf [Internet]. [cited 2021 Apr 11]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK13233/>
38. Reiss SN, Buie LW, Adel N, Goldman DA, Devlin SM, Douer D. Hypoalbuminemia is significantly associated with increased clearance time of high dose methotrexate in patients being treated for lymphoma or leukemia. *Ann Hematol* [Internet]. 2016;95(12):2009–15. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s00277-016-2795-7>
39. Universitfit J. Pharmacokinetic study of methotrexate , folinic acid and their serum metabolites in children treated with high-dose methotrexate and leucovorin rescue. 1990;377–83.
40. Klapkova E, Kukacka J, Kotaska K, Suchanska I, Urinovska R, Prusa R. The influence of 7-OH methotrexate metabolite on clinical relevance of methotrexate determination. *Clin Lab*. 2011;57(7–8):599–606.
41. Lagarce L, Zenut M, Lainé-cessac P. Pharmacologie du méthotrexate Methotrexate pharmacology. *J Gynecol Obstet Biol la Reprod*. 2015;44(3):203–11.
42. Takeda M, Khamdang S, Narikawa S, Kimura H, Hosoyamada M, Cha SHO, et al. Characterization of Methotrexate Transport and Its Drug Interactions with Human

- Organic Anion Transporters. 2002;302(2):666–71.
43. Chen ZS, Lee K, Walther S, Raftogianis RB, Zeng H, Kruh GD, et al. Analysis of methotrexate and folate transport by multidrug resistance protein 4 (ABCC4): MRP4 is a component of the methotrexate efflux system. *Cancer Res.* 2002;62(11):3144–50.
  44. Guellec C Le, Blasco H, Benz I, Thérapeutique S. Niveau de preuve du suivi thérapeutique pharmacologique du méthotrexate au décours de son administration à haute-dose. *Thérapie* [Internet]. 2010;65(3):163–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.2515/therapie/2010016>
  45. Lee JS, Oh JS, Kim Y, Lee C, Yoo B, Hong S. and renal dysfunction. *Rheumatol Int* [Internet]. 2020; Available from: <https://doi.org/10.1007/s00296-020-04547-y>
  46. Villard E, Maguy A, Mir L, Tostivint I, William-faltaos D, Fernandez C, et al. A mutation in the drug transporter gene ABCC2 associated with impaired methotrexate elimination *Ste.* 2005;277–85.
  47. Suzuki K, Doki K, Homma M, Tamaki H, Hori S, Ohtani H, et al. Co-administration of proton pump inhibitors delays elimination of plasma methotrexate in high-dose methotrexate therapy. 2008;
  48. Schneider M. CLINICAL AND PHARMACOKINETIC EVIDENCE. :256–8.
  49. Furst DE, Herman RA, Koehnke R, Ericksen N, Hash L, Riggs CE, et al. Effect of aspirin and sulindac on methotrexate clearance. *J Pharm Sci.* 1990;79(9):782–6.
  50. Camara D. Etude de la voie de biosynthèse du folate : caractérisation biochimique et recherche d ' inhibiteurs de la formation de l ' acide para-aminobenzoïque To cite this version : HAL Id : tel-00656126 Etude de la voie de biosynthèse du folate : caractérisation . 2012;
  51. Delchier N. Devenir des folates au cours de la transformation des végétaux verts : identification des points clés et des mécanismes To cite this version : Devenir des folates au cours de la transformation des végétaux verts : identification des points clés et des méc. 2013;
  52. Hanson AD, Huang ZH, Gage DA. Evidence that the putative compatible solute 5-dimethylsulfoniopentanoate is an extraction artifact. *Plant Physiol.* 1993;101(4):1391–3.
  53. Peyrin-biroulet L, Barraud H, Ancel D, Petit-laurent F, Bigard M, Adn SDEL. Métabolisme des folates et cancérogenèse colorectale. 2004;582–92.
  54. Hanson AD, Huang Z, Gage DA. Evidence That the Putative Compatible Solute 5-Dimethylsulfoniopentanoate I s an Extraction Artifact'. 1993;70:1391–3.

55. Tefferri A, Rjiv KP. The Biochemical Basis of Cobalamin Deficiency. *Mayo Clin Proc.* 1994;69(2):181–6.
56. Bailey LB, Gregory JF. Science Folate Metabolism and. *Recent Adv Nutr.* 2018;(March):779–82.
57. Chango A. ' NE ' RALE Carences en folates ( vitamine B 9 ) : vers une politique ' publique en Afrique de sante Folate metabolism ( vitamin B 9 ) : towards a public health policy in Africa. 2008;5–12.
58. Koźmiński P, Halik PK, Chesori R, Gniazdowska E. Overview of Dual-Acting Drug Methotrexate in Different Neurological Diseases , Autoimmune Pathologies and Cancers. *Intentionql J Mol Sci.* 2020;21.
59. Bedoui Y, Guillot X, Jimmy S, Guiraud P, Giry C, Christine M, et al. Methotrexate an Old Drug with New Tricks. *Int J Mol Sci.* 2019;
60. Pavlovic VMZ, Vukmirovic PS, Mooranian JCA, Salami H Al. Molecular mechanism of action and pharmacokinetic properties of methotrexate. *Mol Biol Rep.* 2020;
61. Johnston A, Gudjonsson JE, Sigmundsdottir H, Valdimarsson H. The anti-inflammatory action of methotrexate is not mediated by lymphocyte apoptosis , but by the suppression of activation and adhesion molecules. *Clin Immunol.* 2005;114:154–63.
62. Genestier L, Paillot R, Quemeneur L, Izeradjene K, Bernard C, Uni Õ. Mechanisms of action of methotrexate. *Immunopharmacology.* 2000;47:247–57.
63. Scripture CD, Figg WD. Drug interactions in cancer therapy. *Nat Rev Cancer.* 2006;6(7):546–58.
64. Nozaki Y, Kusuhara H, Endou H, Sugiyama Y. Quantitative Evaluation of the Drug-Drug Interactions between Methotrexate and Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs in the Renal Uptake Process Based on the Contribution of Organic Anion Transporters and Reduced Folate Carrier. *J Pharmacol exerimental Ther.* 2004;309(1):226–34.
65. Soyer J. Méthotrexate haute dose en hématologie : Impact du pharmacien sur la prévention de la toxicité. 2018.
66. Dalle JH, Auvrignon A, Vassal G, Leverger G. Interaction between methotrexate and ciprofloxacin. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2002;24(4):321–2.
67. Ronchera CL, Hernández T, Peris JE, Torres F, Granero L, Jiménez N V., et al. Pharmacokinetic interaction between high-dose methotrexate and amoxycillin. Vol. 15, *Therapeutic Drug Monitoring.* 1993. p. 375–9.
68. Evrard J, Farnier E, Carcel C, Lachenal F, Vial T. Inhibiteurs de pompe à proton et

- méthotrexate haute dose : à propos de deux cas. *Thérapie*. 2015;70(6):527–35.
69. Buclin T, Ivanyuk A. *Renal Drug Transporters and Drug Interactions*. 2017;
  70. Résumé des Caractéristiques du Produit ENDOXAN 1000mg, poudre pour solution injectable.
  71. Résumé des Caractéristiques du Produit UROMITEXAN 600mg, comprimé pelliculé.
  72. DAVID PAITRAUD. MABTHERA (rituximab) : risques de réactions cutanées sévères. 2013.
  73. Résumé des caractéristiques du produit - DOXORUBICINE ARROW 2 mg/ml, solution pour perfusion - Base de données publique des médicaments.
  74. Reutenauer S, Chauveau D, Récher C. Surdosage au méthotrexate : complications, prise en charge et prévention. *Reanimation*. 2009;18(7):654–8.
  75. Gro'nroos M. Methotrexate Induces Cell Swelling and Necrosis in Renal Tubular Cells. 2006;(April 2005):624–9.
  76. Garcia H, Leblond V, Goldwasser F, Bouscary D, Raffoux E, Boissel N, et al. Renal toxicity of high-dose methotrexate. *Nephrol Ther*. 2018;14:S103–13.
  77. Schmiegelow K, Al-Modhwahi I, Andersen MK, Behrendtz M, Forestier E, Hasle H, et al. Methotrexate/6-mercaptopurine maintenance therapy influences the risk of a second malignant neoplasm after childhood acute lymphoblastic leukemia: Results from the NOPHO ALL-92 study. *Blood*. 2009;113(24):6077–84.
  78. Gariballa S. Homocysteine and stroke. *Curr Top Nutraceutical Res*. 2008;6(4):211–8.
  79. Crews KR, Liu T, Rodriguez-Galindo C, Tan M, Meyer WH, Panetta JC, et al. High-Dose Methotrexate Pharmacokinetics and Outcome of Children and Young Adults with Osteosarcoma. *Cancer*. 2004;100(8):1724–33.
  80. Piérard-franchimont C, Lesuisse M, Humbert P, Delvenne P, Piérard GE. Toxic Epidermal Necrolysis and Antifolate Drugs in Cancer Chemotherapy. 2012;357–60.
  81. Ren X, Wang Z, Yun Y, Meng G, Zhang X, Ding H, et al. Simultaneous Quantification of Methotrexate and Its Metabolite 7-Hydroxy-Methotrexate in Human Plasma for Therapeutic Drug Monitoring. 2019;
  82. Wang W, Zhou H, Liu L. side effects of merhotrexate therapy for rheumatoid arthritis: a systematic review. *Eur J Med Chem*. 2018;
  83. Fabbri A, Motta E, Ferrari S, Longhi C, Marchi E, Bacci G, et al. High-dose methotrexate treatment and liver function in patients with osteosarcoma. 1994;209–14.
  84. Laharie D, Terrebonne E, Vergniol J, Chanteloup E, Chabrun E, Couzigou P, et al. Foie et méthotrexate The liver and methotrexate. 2008;134–42.

85. Olsen EA. The pharmacology of methotrexate. *J Am Acad Dermatol*. 1991;25(2):306–18.
86. Widemann BC, Adamson PC. Pediatric Oncology Understanding and Managing Methotrexate Nephrotoxicity. 2006;694–703.
87. Howard SC, McCormick J, Pui C, Buddington RK, Harvey RD. Preventing and Managing Toxicities of High-Dose Methotrexate. *Oncologist*. 2016;21(12):1471–82.
88. Fox RM. Methotrexate nephrotoxicity. *Clin Exp Pharmacol Physiol Suppl*. 1979;5:43–435.
89. Gaies E, Jebabli N, Trabelsi S, Salouage I, Charfi R, Lakhali M, et al. Methotrexate Side Effects : Review Article *Drug Metabolism & Toxicology Methotrexate Side Effects : Review Article*. 2012;(April).
90. Balloy T, Moussay C, Merkadal L, Fernandez C, Farinotti R. Modalités de prise en charge des intoxications aiguës par le méthotrexate haute dose. 2007;26(4):253–60.
91. Cronstein BN, Aune TM. Methotrexate and its mechanisms of action in inflammatory arthritis. *Nat Rev Rheumatol*.
92. Saland JM, Leavey PJ, Bash RO, Hansch E, Arbus GS, Quigley R. Effective removal of methotrexate by high-flux hemodialysis. *Pediatr Nephrol*. 2002;17(10):825–9.
93. Widemann BC, Balis FM, Murphy RF, Sorensen JM, Montello MJ, O'Brien M, et al. Carboxypeptidase-G2, thymidine, and leucovorin rescue in cancer patients with methotrexate-induced renal dysfunction. *J Clin Oncol*. 1997;15(5):2125–34.
94. Chabner BA, Bethesda MD. Presence of 2,4-diamino-N<sup>10</sup>-methylpteroic acid after high-dose methotrexate. 1979;63–72.
95. Adamson PC, Balis FM, McCully CL, Godwin KS, Popleck DG. Methotrexate pharmacokinetics following administration of recombinant carboxypeptidase-G2 in rhesus monkeys. *J Clin Oncol*. 1992;10(8):1359–64.
96. Jolivet J, Cowan KH, Curt GA, Clendeninn NJ, Chabanier BA. The pharmacology and clinical use of methotrexate. *New Engl J Med*. 1983;1094–104.
97. Green MR, Chowdhary S, Lombardi KM, Chalmers LM. Clinical utility and pharmacology of high-dose methotrexate in the treatment of primary CNS lymphoma. 2006;635–52.
98. Mosteller RD (Akron CH. Simplified calculation of body-surface area. *N Engl J Med*. 1987;2012.
99. Haycock GB, Schwartz GJ, Wisotsky DH. Geometric method for measuring body surface area: A height-weight formula validated in infants, children, and adults. *J*

- Pediatr. 1978;93(1):62–6.
100. Gehan EA, George SL. Estimation of human body surface area from height and weight. *Cancer Chemother Rep.* 1970;54(4):225–35.
  101. EDITH BOYD R 16. SAADL. The Determination of Surface Area of Living Children. 1930;445–9.
  102. Furqan M, Haque A. Surface area in children: A simple formula. *Indian Pediatr.* 2009;46(12):1085–7.
  103. Nwobodo N. Therapeutic drug monitoring in a developing nation: a clinical guide. *JRSM Open.* 2014;5(8):205427041453112.
  104. Badrane N, Centre P, Daoud NA, Centre P, Bencheikh RS. Suivi thérapeutique pharmacologique Concepts, intérêt et modalités pratiques. 2018;(avril).
  105. Labarde S. Enjeux du suivi thérapeutique pharmacologique. *Actual Pharm.* 2015;54(549):39–41.
  106. Ramsey LB, Balis FM, O'Brien MM, Schmiegelow K, Pauley JL, Bleyer A, et al. Consensus Guideline for Use of Glucarpidase in Patients with High-Dose Methotrexate Induced Acute Kidney Injury and Delayed Methotrexate Clearance. *Oncologist.* 2018;23(1):52–61.
  107. Lawsonf GJ, Dixon P. Rapid and simple method for the measure ment of mefhotrexate and 7-hydrozgmethotrexate in sennn by high-performance liquid cbromatngraphy. 1981;223(2981):225–31.
  108. Duffaudi F, Guilletl P, Pignon T, Catalin J, Durand A, Favrel R. Adaptation individuelle de posologie du mkthotrexate & haute dose ( MTX-HD ) en pratique clinique courante. 1995;689–98.
  109. Mantadakis E, Cole PD, Kamen BA, Ph D. High-Dose Methotrexate in Acute Lymphoblastic Leukemia : Where Is the Evidence for Its Continued Use ? *Pharmacotherapy.* 2005;25:748–55.
  110. Gross AS. Best practice in therapeutic drug monitoring. *J Clin Pharmacol.* 2001;5–10.
  111. Joerger M, Huitema ADR, Illerhaus G, Ferreri AJM. Rational administration schedule for high-dose methotrexate in patients. 2012;53(October):1867–75.
  112. Bailey DN, Coffee JJ, Briggs JR. Stability of drug concentrations in plasma stored on serum separator blood collection tubes. *Ther Drug Monit.* 1998;10:352–4.
  113. Nagulu M, Kiran VU, Reddy YN, Krishna DR. Development and Validation of Rapid and Sensitive HPLC Method for the Determination of Methotrexate in Human Serum. *Stamford J Pharm Sci.* 2010;2(1):8–13.

114. Borgman MP, Hiemer MF, Molinelli AR, Ritchie JC, Jortani SA. Improved sensitivity for methotrexate analysis using enzyme multiplied immunoassay technique on the siemens Viva-E instrument. *Ther Drug Monit.* 2012;34(2):193–7.
115. Rubenstein KE, Schneider RS, Ullman EF. “Homogeneous” enzyme immunoassay. A new immunochemical technique. *Biochem Biophys Res Commun.* 1972;47(4):846–51.
116. Applications B. *Journal of Chromatography*, 331 (1985) 81-90 *Biomedical Applications.* 1985;331:81–90.
117. Widemann BC, Adamson PC. Understanding and Managing Methotrexate Nephrotoxicity. *Oncologist.* 2006 Jun;11(6):694–703.
118. Keïta K, KAYA SA, D S, D T, K C, IA D, et al. Place des hémopathies malignes en médecine interne au CHU du POINT G. *Revue africaine malgache pour la Rech Sci.* 2019;2(00223):57–61.
119. Diallo D, Galambrun C, Bert Y. [ The malignant hemopathies in children : epidemiologic aspects in the Haematology and Medical Oncology Ward of Po ... 1999;
120. Rhafel A, Mahmal L, Mohammed CHU, Marrakech VI De. Bilan d ’ activité du service d ’ hématologie du CHU Mohammed VI ( 2009-2013 ). 2014;1–5.
121. Goubin A, Rudant J, Ripert M, He D, Bellec S, Baccaı B. Childhood leukaemia and population movements in France ., 2008;225–31.
122. Del Pozo J, Martínez W, García-Silva J, Almargo M, Peña-Penabad c, Fonseca E. Cutaneous ulceration as a sign of methotrexate toxicity - PubMed. *Eur J dermatology.* 2011;450–2.
123. Isacoff WH, Townsend CM, Forster T. HIGH DOSE METHOTREXATE THERAPY OF SOLID TUMORS : Observations Relating to Clinical Toxicity. 1976;325:319–25.
124. Bacci G, Briccoli A, Rocca M, Ferrari S, Donati D, Longhi A, et al. Original article Neoadjuvant chemotherapy for osteosarcoma of the extremities with metastases at presentation : recent experience at the Rizzoli Institute in 57 patients treated with cisplatin , doxorubicin , and a high dose of methotrexate and ifosfamide. 2003;(July 1995):1126–34.
125. Goldschmidt N, Horowitz NA, Hefetz V, Darawshy F, Mashiach T, Shaulov A, et al. Addition of high-dose methotrexate to standard treatment for patients with high-risk diffuse large B-cell lymphoma contributes to improved freedom from progression and survival but does not prevent central nervous system relapse. *Leuk Lymphoma* [Internet]. 2019;0(0):1–9. Available from: <https://doi.org/10.1080/10428194.2018.1564823>



# Annexes

## Annexe I

### Indications et posologie du méthotrexate dans le traitement des hémopathies malignes selon le référentiel régional onco-occitanie 2020

#### 1 Lymphomes non hodgkinien

##### 4.1 Lymphomes Primitifs du Système Nerveux Central

Le méthotrexate a permis d'améliorer significativement le pronostic des lymphomes primitifs du Système Nerveux Central : la survie globale médiane, de 1,5 mois sans traitement, passe à 25-55 mois avec une monothérapie à base de méthotrexate à une dose supérieure à 3 g/m<sup>2</sup>. L'association avec d'autres molécules anticancéreuses permet d'améliorer l'efficacité du traitement.

La base du traitement d'induction de 1<sup>ère</sup> ligne des Lymphomes Primitifs du Système Nerveux Central est l'association du MTX à une dose comprise entre 3 et 4 g/m<sup>2</sup> pour au moins 4 cycles avec un intervalle de 2 à 3 semaines à un agent alkylant et le rituximab.

(111)

Les schémas thérapeutiques suivants sont proposés pour la phase d'induction selon le référentiel des lymphomes du réseau ONCO-OCCITANIE de l'année 2020 (référentiel des lymphomes 2020)

- Âge < 60 ans en première ligne : 2 COPADEM ou R-MBVP + 2 R-CYM, avec rajout possible de cycles de méthotrexate en cas de réponse partielle.
- Entre 60 et 70 ans en 1<sup>ère</sup> ligne : 3 (R-MPV + VP16) puis 2 R-Ifosfamide-Cytarabine, ou 3 R-MPV puis 3 R-Cytarabine.
- Âge > 70 ans en 1<sup>ère</sup> ligne : 3 R-MPV sans VP16 puis 2 R-Cytarabine ou Méthotrexate-Témzolomide chez les patients les plus fragiles.
- Rechute : le méthotrexate est indiqué seulement si la rechute a lieu plus d'un an après le traitement de 1<sup>ère</sup> ligne et si le Sujets est non éligible pour une autogreffe

Les protocoles impliquant l'administration du MTX-HD sont :

- **R-MPV +/- VP 16 (J1 = J28)**
  - RITUXIMAB 375 mg/m<sup>2</sup> IV J1 et J15
  - VINCRISTINE 1,4 mg/m<sup>2</sup> IV J2 et J16 (max. 2 mg ou 1 mg si > 70 ans)
  - METHOTREXATE 3500 mg/m<sup>2</sup> IV en 2 heures J2 et J16

- PROCARBAZINE 100 mg/m<sup>2</sup> *per os* (PO) J1 à J7
- VP16 (ETOPOSIDE) 100 mg/m<sup>2</sup> IV J3
- Si patients > 70 ans : pas de VP 16 à J3 ni de Rituximab Méthotrexate-Vincristine à J15 et J16
  
- **R-MBVP (J1 = J28)**
  - RITUXIMAB 375 mg/m<sup>2</sup> IV J1
  - METHOTREXATE 3000 mg/m<sup>2</sup> en 3 heures IV J1 et J15
  - BCNU (CARMUSTINE) 100 mg/m<sup>2</sup> IV J3
  - VP16 100 mg/m<sup>2</sup> IV J2
  - PREDNISONNE 60 mg/m<sup>2</sup> PO J1 à J5
  
- **R-COPADEM (J1 = J21)**
  - RITUXIMAB 375 mg/m<sup>2</sup> IV J1 et J7
  - VINCRIStINE 1,4 mg/m<sup>2</sup> IV J2 (max. 2 mg)
  - METHOTREXATE 3000 mg/m<sup>2</sup> IV en 3 heures J2
  - CYCLOPHOSPHAMIDE 250 mg/m<sup>2</sup> x 2/J IV J3-J4-J5
  - DOXORUBICINE 60 mg/m<sup>2</sup> IV J3
  - PREDNISONNE 60 mg/m<sup>2</sup> PO de J2 à J7
  
- **R-CYM (J1 = J21)**
  - RITUXIMAB 375 mg/m<sup>2</sup> IV J1
  - METHOTREXATE 3000 mg/m<sup>2</sup> IV en 4 heures J1
  - CYTARABINE 100 mg/m<sup>2</sup> IVSE de 24h de J2 à J5
  -
- **M-Témozolomide (J1 = J30)**
  - METHOTREXATE 3500 mg/m<sup>2</sup> en 2 heures IV J1 et J15
  - TEMOZOLOMIDE 150 mg/m<sup>2</sup> PO J1 à J5

#### 4.2 Lymphomes B Diffus à Grandes Cellules

Le méthotrexate est indiqué en 1<sup>ère</sup> ligne en prophylaxie de la diffusion méningée, chez les patients à risque ou dont le lymphome siège au niveau d'une localisation à risque (rein, surrénale, testicule, sein, espace épidural, sinus), Il est associé au traitement conventionnel qui est le R-CHOP ou R-ACVBP, pour 2 à 4 cycles à la dose de 3 g/m<sup>2</sup>.

L'addition de MTX-HD chez les patients traités pour un Lymphome B Diffus à Grandes Cellules ne prévenait pas les rechutes au niveau du système nerveux central, mais augmentait significativement la survie.(125)

Les protocoles sont les suivants :

- **R-ACVBP (J1 = J14)**
  - RITUXIMAB 375 mg/m<sup>2</sup> IV J1

- CYCLOPHOSPHAMIDE 1200 mg/m<sup>2</sup> IV J1
  - DOXORUBICINE 75 mg/m<sup>2</sup> IV J1
  - VINDESINE 2 mg/m<sup>2</sup> IV J1 et J5
  - BLEOMYCINE 10 mg IV J1 et J5
  - PREDNISONNE 60 mg/m<sup>2</sup> per os J1 à J5
  - METHOTREXATE 15 mg IT J1
- **R-CHOP (J1 = J21)**
    - RITUXIMAB 375 mg/m<sup>2</sup> IV J1
    - CYCLOPHOSPHAMIDE 750 mg/m<sup>2</sup> IV J1
    - DOXORUBICINE 50 mg/m<sup>2</sup> IV J1
    - VINCRISTINE 1,4 mg/m<sup>2</sup> IV J1 (max. 2 mg ou 1 mg si > 70 ans)
    - PREDNISONNE 40 mg/m<sup>2</sup> PO J1 à J5
- **METHOTREXATE HAUTE DOSE (J1 = J15)**
    - METHOTREXATE 3000 mg/m<sup>2</sup> IV en 3 heures J1

### 4.3 Lymphomes de Burkitt

Selon le référentiel du traitement des lymphomes Edition 2020 ONCO-OCCITANIE, les schémas thérapeutiques suivants sont recommandés :

- Âge < 60 ans : traitement selon l'essai LMBA02
- Entre 60 et 70 ans : traitement selon l'essai LMBA02 ou 4 cycles R-CHOP-METHO puis 4 cycles R-CHOP
- Entre 70 et 80 ans : 4 cycles R-CHOP-METHO puis 4 cycles R-CHOP
- Âge > 80 ans : 6 cycles de R-miniCHOP avec 4 méthotrexates à dose adaptée

Les protocoles sont comme suit :

- **R-CHOP-METHO (J1 = J21)**
  - METHOTREXATE 1500 mg/m<sup>2</sup> IV J1
  - RITUXIMAB 375 mg/m<sup>2</sup> IV J2
  - CYCLOPHOSPHAMIDE 750 mg/m<sup>2</sup> IV J2
  - DOXORUBICINE 50 mg/m<sup>2</sup> IV J2
  - VINCRISTINE 1,4 mg/m<sup>2</sup> IV J2 (max. 2 mg ou 1 mg si > 70 ans)
  - PREDNISONNE 40 mg/m<sup>2</sup> PO J1 à J5
- **R-miniCHOP (J1 = J21)**
  - RITUXIMAB 375 mg/m<sup>2</sup> IV J1
  - CYCLOPHOSPHAMIDE 400 mg/m<sup>2</sup> IV J1
  - DOXORUBICINE 25 mg/m<sup>2</sup> IV J1

- o VINCRISTINE 1 mg IV J1
- o PREDNISONNE 40 mg/m<sup>2</sup> PO J1 à J5

Traitement selon l'essai LMBA02: les patients sont classés en groupes de risque selon la classification de Murphy, l'âge et l'atteinte neuroméningée ou du Système Nerveux Central (SNC)

- ✓ Groupe B : Pas d'atteinte neuroméningée, Murphy 1 à 3 : R-COPADEM1 + R-COPADEM2 + 2 CYM + Cycle de fin de traitement.
- ✓ Groupe C : Envahissement médullaire. Stratification en 6 groupes selon l'âge (< 40 ans, entre 40 et 60 ans, plus de 60 ans) et l'envahissement du SNC.

Chez les patients de moins de 40 ans avec atteinte du SNC, la dose de MTX est portée à 8 g/m<sup>2</sup>. Chez les patients de plus de 60 ans, la dose de MTX est limitée à 2 g/m<sup>2</sup> lorsqu'il n'y a pas d'atteinte du SNC, et est de 3 g/m<sup>2</sup> lorsqu'il est atteint.

Les protocoles sont les suivants :

▪ **R-COPADEM 1 (J1 = J18)**

- o RITUXIMAB 375 mg/m<sup>2</sup> IV J0 et J6
- o PREDNISOLONE 60 mg/m<sup>2</sup> PO ou IV J1 à J5
- o VINCRISTINE 1,4 mg/m<sup>2</sup> IV J1 (max. 2 mg)
- o METHOTREXATE 3000 mg/m<sup>2</sup> IV en 3 heures J1
- o CYCLOPHOSPHAMIDE 500 mg/m<sup>2</sup> IV J2, J3, J4
- o DOXORUBICINE 60 mg/m<sup>2</sup> IV J2
- o METHOTREXATE ET HYDROCORTISONE 15 mg IT J2 et J6

▪ **R-COPADEM 2 (J1 = J21)**

- o RITUXIMAB 375 mg/m<sup>2</sup> IV J0 et J6
- o PREDNISOLONE 60 mg/m<sup>2</sup> PO ou IV J1 à J5
- o VINCRISTINE 1,4 mg/m<sup>2</sup> IV (max. 2 mg) J1 et J6
- o METHOTREXATE 3000 mg/m<sup>2</sup> IV en 3 heures J1
- o CYCLOPHOSPHAMIDE 1000 mg/m<sup>2</sup> IV J2, J3, J4
- o DOXORUBICINE 60 mg/m<sup>2</sup> IV J2
- o METHOTREXATE ET HYDROCORTISONE 15 mg IT J2 et J6

▪ **CYM (J1 = J21)**

- o METHOTREXATE 3000 mg/m<sup>2</sup> IV en 4 heures J1
- o CYTARABINE 100 mg/m<sup>2</sup> IVSE J2 à J6
- o METHOTREXATE ET HYDROCORTISONE 15 mg IT J2
- o CYTARABINE ET HYDROCORTISONE 40 mg IT J7
- o

▪ **FIN DE TRAITEMENT**

- o PREDNISOLONE 60 mg/m<sup>2</sup> PO ou IV J1 à J5
- o VINCRISTINE 2 mg IV J1

- METHOTREXATE 3000 mg/m<sup>2</sup> IV en 3 heures J1
- CYCLOPHOSPHAMIDE 500 mg/m<sup>2</sup> IV J1 et J2
- DOXORUBICINE 60 mg/m<sup>2</sup> IV J2
- METHOTREXATE ET HYDROCORTISONE 15 mg IT J2
  
- **CYVE (J1 = J28)**
  - CYTARABINE 50 mg/m<sup>2</sup>/12h en perfusion IV continue J1 à J5
  - CYTARABINE 3000 mg/m<sup>2</sup> IV J2 à J5
  - ETOPOSIDE 200 mg/m<sup>2</sup> IV J2 à J5
  
- **ENTRETIEN A (J1 = J28)**
  - PREDNISOLONE 60 mg/m<sup>2</sup> PO J1 à J5
  - METHOTREXATE 3000 mg/m<sup>2</sup> IV en 3 heures J1
  - CYCLOPHOSPHAMIDE 500 mg/m<sup>2</sup> IV J2 et J3
  - DOXORUBICINE 60 mg/m<sup>2</sup> IV J3
  - VINCRISTINE 2 mg IV J1
  
- **ENTRETIEN B (J1 = J28)**
  - CYTARABINE 50 mg/m<sup>2</sup>/12h SC J1 à J5
  - ETOPOSIDE 150 mg/m<sup>2</sup> IV J1 à J3

## 5 Leucémie aigue lymphoblastique

Le MTX-HD est primordialement utilisé dans le traitement des LAL.

- ⇒ Protocole GRAALL 2014 : Le méthotrexate est utilisé en phase de consolidation à la dose de 5 g/m<sup>2</sup> (3 g/m<sup>2</sup> pour les patients de plus de 45 ans) en perfusion de 24 heures avec un bolus initial de 500 mg/m<sup>2</sup> en 30 minutes. Il est également administré à la dose de 1,5 g/m<sup>2</sup> en perfusion 24 heures durant les éventuels blocs d'attente pré-allogreffe de cellules souches hématopoïétiques, pour les patients de 15 à 59 avec une LAL sans chromosome Philadelphie.
- ⇒ Protocole GRAAPH 2014 le méthotrexate est administré à la dose de 1 g/m<sup>2</sup> en 24 heures durant la phase initiale de traitement, pour les patients de 15 à 59 ans avec LAL à chromosome Philadelphie positif.
- ⇒ EWALL: le méthotrexate est administré à la dose de 1 g/m<sup>2</sup> en 24 heures (500 mg/m<sup>2</sup> pour les patients de plus de 70 ans) durant la phase de consolidation, pour les patients de 55 ans et plus.

Les molécules associées sont les suivantes :

Prednisone, Vincristine, Daunorubicine, Cyclophosphamide, L-Asparaginase, cytarabine, Etoposide, Granocyte.

**Annexe II:****Normes biologiques usuelles**

<b>Analyse</b>	<b>Sexe</b>	<b>Valeurs de référence</b>	<b>Unité</b>
Créatinine	Homme	7- 14	mg/l
	Femme	6- 11	
Urée		0,15- 0,45	g/l
ASAT		13- 39	UI/l
ALAT	Homme	10- 39	UI/l
	Femme	8- 31	
Hémoglobine	Homme	13- 17	g/dl
	Femme	12-16	
Plaquettes		150000- 450000	/mm <sup>3</sup>
Globules blancs		4000- 10000	/mm <sup>3</sup>

### Annexe III

#### Fiche de renseignement : dosage du méthotrexate

#### CENTRE HOSPITALO-UNIVERSITAIRE DE TIZI-OUZOU

Service de Toxicologie

Chef de service : Pr L.R. Mekacher

Tel : 026.19.75.08

Adresse mail : toxicologiechuto@gmail.com

#### DOSAGE DU METHOTREXATE

(Fiche de renseignement clinique à remplir obligatoirement par le médecin prescripteur et doit être jointe à chaque prélèvement)

Les pages 1 et 2 doivent être remplies lors du premier prélèvement ; pour les prélèvements à suivre, seule la page 2 sera remplie.

#### *Identification :*

<b><i>Identification du Patient :</i></b>			
Nom :	Prénoms :		
Date de naissance : / /	Sexe : Masculin <input type="checkbox"/>	Féminin <input type="checkbox"/>	
Poids :                      Age :	Taille :	Surface corporelle :	
N° de téléphone :	Hôpital :	Service :	
Adresse :			
Hospitalisé <input type="checkbox"/> depuis le : / /		Non hospitalisé : <input type="checkbox"/>	
<b><i>Identification du Médecin Traitant</i></b>			
Docteur :		Spécialiste en :	
N° de téléphone :		Service :	
Adresse email :			
<b>Rendez-vous prochain le :</b>			

#### *Indication :*

Motif de prescription (pathologie) :		
Pathologies associées :		
Signes associés : 3 <sup>ème</sup> secteur : <input type="checkbox"/>	fièvre : <input type="checkbox"/>	
Protocole utilisé :		
Antécédents de toxicité au MTX	OUI <input type="checkbox"/>	NON <input type="checkbox"/>
Si oui, lesquels :		

#### *Méthotrexate :*

Nom commercial:	Voie d'administration :
Posologie :	Rythme d'administration :
Date de la 1 <sup>ère</sup> cure de méthotrexate :    /    /	
Cure N° :	
Date du début de perfusion :    /    /	Heure du début de perfusion :    H
Date de la fin de perfusion :    /    /	Heure de la fin de perfusion :    H

**Médicament(s) associé(s)**

Nom commercial/ nom de spécialité	Posologie et voie d'administration

**Nom et prénom du patient :** .....

**Sauvetage folinique et diurèse alcaline :**

Posologie de l'acide folinique :	Rythme d'administration
Date du début de sauvetage :    /    /	Heure du début de sauvetage
Date de la fin de sauvetage :    /    /	Heure de la fin de sauvetage
Hyperhydratation alcaline : IV <input type="checkbox"/>	Per os <input type="checkbox"/>
Date du début de l'hyperhydratation :    /    /	Posologie du bicarbonate :

**Tolérance :**

- |   |  |  |
|---|--|--|
| <input type="checkbox"/> Pas d'effet indésirables | <input type="checkbox"/> Toxicité digestive  | <input type="checkbox"/> Toxicité cutané –muqueuse |
| <input type="checkbox"/> Toxicité hépatique       | <input type="checkbox"/> Toxicité pulmonaire | <input type="checkbox"/> Toxicité rénale           |
| <input type="checkbox"/> Toxicité hématologique   | <input type="checkbox"/> Neurotoxicité       | <input type="checkbox"/> Autre toxicités.....      |

**Bilan biologique :**

GB :	Urée	ASAT :	Alb :
GR :	Créatinine :	ALAT :	
Plaquettes :	pH urinaire	PAL :	
Hb :	Clairance à la créat :	Bili T :    D :	

**Prélèvement :**

Date de prélèvement : / /	Heure de prélèvement	Prélèvement à la ..... H du début de perfusion
------------------------------	----------------------	--

Date : / /

Signature du médecin traitant

**Espace réservé au laboratoire :**

Résultat (x le facteur de dilution): **méthotrexatémie** à .....H = .....  $\mu\text{mol/l}$

Facteur de dilution :

Les normes :

***Important***

- Prélèvement sur tube hépariné : centrifuger rapidement et mettre le plasma à ***l'abri de lumière*** entre 2° et 8°C cette température est à respecter durant le transport du prélèvement vers le laboratoire. En cas d'analyse différée congeler le sérum à - 20°C.
- En cas de perfusion courte : le prélèvement sera fait à la 24 H après le début de la perfusion, puis des contrôles à H48, H72 si nécessaire.
- Pour les perfusions de 24 H : le premier prélèvement sera fait à 36 H après le début de la perfusion (ou 12 H après la fin de la perfusion), puis des contrôles à 24 H d'intervalle

# Annexe IV : Fiche technique du réactif EMIT<sup>®</sup> Methotrexate Assay

# SIEMENS

Syva<sup>®</sup>

## Emit<sup>®</sup> Methotrexate Assay

Voir les sections ombrées.  
Informations mises à jour à partir de  
l'édition de 2010-01.



6L184UL.11DS\_D



### Dosage du méthotrexate

#### 1 Utilisation

Le dosage du méthotrexate Emit<sup>®</sup> est un immunodosage enzymatique en phase homogène destiné à l'analyse quantitative du méthotrexate dans le sérum ou le plasma humain.

#### 2 Résumé et explication du test

L'utilisation du « sauvetage » par la leucovorine permet d'administrer de manière relativement sûre des doses très élevées de méthotrexate pour obtenir une activité antinéoplasique optimale. Le degré de cytotoxicité du méthotrexate étant lié à la concentration de la substance et à la durée d'exposition, les dosages de sauvetage par la leucovorine doivent être suffisamment élevés et durer suffisamment longtemps pour neutraliser la toxicité du méthotrexate. Le contrôle des concentrations de méthotrexate et la vitesse de diminution dans le sérum pendant le traitement à forte dose sont essentiels pour déterminer les dosages adéquats du sauvetage par la leucovorine pour plusieurs raisons :<sup>1</sup>

- Des concentrations extracellulaires élevées de méthotrexate peuvent inhiber par compétition le transport intracellulaire de la leucovorine et ainsi réduire son efficacité en tant qu'agent de sauvetage.
- Lorsque l'élimination du méthotrexate est retardée par une maladie rénale, une ascite, un épanchement pleural, une obstruction gastro-intestinale, un pH urinaire inadéquat ou la prise d'autres substances, les concentrations toxiques peuvent persister au-delà de l'action habituelle du sauvetage par la leucovorine. Dans ces situations, le dosage de leucovorine peut être modifié mais il est nécessaire d'agir rapidement car la toxicité du méthotrexate est difficile à neutraliser si le sauvetage adéquat n'est administré qu'après 42-48 heures.
- Chez les patients qui éliminent correctement le méthotrexate, le dosage de leucovorine ne doit pas être trop élevé pour ne pas réduire l'efficacité de la substance contre les tumeurs.

Les méthodes conventionnelles de contrôle des concentrations de méthotrexate dans le sérum sont le radioimmunos dosage (RIA), le dosage de liaison de la réductase par compétition ou dosage radio-enzymatique (REA), le dosage d'inhibition enzymatique (DHFR) et la chromatographie liquide haute performance (CLHP) avec détection par rayonnement ultraviolet ou fluorescence.<sup>1</sup>

#### 3 Principe

Le dosage Emit<sup>®</sup> est une technique d'immunodosage enzymatique en phase homogène utilisée pour l'analyse de composés spécifiques dans les fluides biologiques.<sup>2</sup> Le dosage est basé sur la compétition entre la substance présente dans l'échantillon et la substance marquée à l'enzyme glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PDH) pour les sites de liaison des anticorps. L'activité enzymatique diminue lors de la liaison à un anticorps ; par conséquent, la concentration de la substance dans l'échantillon peut être mesurée en termes d'activité enzymatique. L'enzyme active convertit le nicotinamide adénine dinucléotide (NAD) oxydé en NADH, ce qui entraîne une modification de l'absorbance mesurable par spectrophotométrie. La G6PDH sérique endogène ne produit pas d'interférence puisque le coenzyme fonctionne uniquement avec l'enzyme bactérien (*Leuconastoc mésetéroïdes*) utilisé dans le dosage.

#### 4 Réactifs

REF	Description du produit	Quantité/Volume
6L119UL	<b>Dosage du méthotrexate Emit<sup>®</sup></b> <b>Réactif A anticorps/substrat</b> Anticorps de mouton positifs au méthotrexate (88 µg/ml), glucose-6-phosphate (66 mM), nicotinamide adénine dinucléotide (40 mM), tampon Tris, agents volumiques, stabilisateurs et conservateurs	3 ml*
	<b>Réactif B enzymatique</b> Méthotrexate marqué au glucose-6-phosphate déshydrogénase bactérien (0,22 U/ml), tampon Tris, agents volumiques, stabilisateurs et conservateurs	3 ml*
	<b>Tampon concentré pour le dosage de la substance Emit<sup>®</sup></b> Lorsqu'il est dilué, contient du tampon Tris, un agent de surface et des conservateurs	13,3 ml
	<b>Calibrateurs du méthotrexate Emit<sup>®</sup></b> <b>0, 0,2, 0,5, 1, 1,5, 2</b> Méthotrexate, sérum humain et conservateurs (voir les concentrations ci-dessous)	six flacons de 1 ml*

\*Les réactifs A et B et les calibrateurs sont fournis sous forme lyophilisée. Le volume indiqué est celui requis pour la reconstitution.

<sup>1</sup>Le titre d'anticorps et l'activité du conjugué d'enzyme peuvent varier d'un lot à l'autre.

Remarque : Les réactifs A et B et les calibrateurs sont fournis dans un même coffret. Ils ne doivent pas être échangés avec des composants de coffrets ayant des numéros de lot différents.

Lorsqu'ils sont reconstitués, les calibrateurs du méthotrexate Emit<sup>®</sup> contiennent les concentrations de méthotrexate indiquées ci-dessous :

Calibrateurs	0	0,2	0,5	1	1,5	2
Méthotrexate (µmol/l)	0	0,2	0,5	1	1,5	2
Méthotrexate (mol/l)	0	2 x 10 <sup>-7</sup>	5 x 10 <sup>-7</sup>	1 x 10 <sup>-6</sup>	1,5 x 10 <sup>-6</sup>	2 x 10 <sup>-6</sup>

Pour un usage diagnostic *in vitro*.

#### Précautions

- L'échantillon source de sang humain utilisé pour préparer ce produit a été testé avec des réactifs sous licence et déterminé négatif aux virus de l'immunodéficience humaine de types 1 et 2 (VIH-1 et VIH-2), à l'antigène de surface du virus de l'hépatite B (AgHBs) et aux anticorps du virus de l'hépatite C (anti-VCH). Aucune méthode de test connue ne permettant de garantir totalement que les produits dérivés du sang humain ne contiennent pas d'agents pathogènes, manipuler tous les prélèvements d'origine humaine comme s'ils étaient potentiellement infectieux. Si l'utilisateur est exposé à des solutions contenant des prélèvements d'origine humaine, il doit suivre les recommandations de l'OSHA (Occupational Safety and Health Administration) américaine.<sup>3,4</sup>
- Contient de l'azide de sodium comme conservateur. L'azide de sodium peut réagir avec les tuyaux d'évacuation en cuivre ou en plomb et former des composés explosifs. L'évacuer conformément aux réglementations locales.

#### Préparation et conservation des composants du dosage

**Pour reconstituer le réactif A ou B ou les calibrateurs,** retirer la capsule métallique et marquer le bouchon en caoutchouc pour l'associer à son flacon d'origine. Retirer le bouchon et ajouter la quantité d'eau distillée ou désionisée indiquée dans le tableau 1. Remettre le bouchon et remuer délicatement le flacon pour dissoudre le contenu. **Après la reconstitution, laisser les réactifs et les calibrateurs s'équilibrer à une température ambiante de 20 à 25°C pendant la durée indiquée dans le tableau 1.** Sinon, reconstituer les réactifs et les calibrateurs la veille de leur utilisation et les placer au réfrigérateur durant la nuit entre 2 et 8°C. Après la période d'équilibration, toujours conserver les réactifs au réfrigérateur entre 2 et 8°C lorsqu'ils ne sont pas utilisés et les laisser revenir à température ambiante avant de les utiliser. Ils doivent être conservés en position verticale après la reconstitution. Ne pas les congeler ni les exposer à des températures supérieures à 32°C.

**Pour préparer la solution tampon,** transférer la totalité du contenu du flacon de tampon concentré dans un récipient gradué propre (en plastique ou en verre). Rincer le flacon de solution concentrée plusieurs fois à l'eau distillée ou désionisée pour s'assurer d'un transfert complet du produit. Diluer précisément jusqu'à 200 ml avec de l'eau distillée ou désionisée. Retourner plusieurs fois pour mélanger soigneusement.

Tableau 1 — Préparation, conservation et stabilité des composants du dosage

Composant	Temp. de stockage	Volume reconstr.	Délai de recon. minimum entre 20 et 25°C	Stabilité*	
				Fermé	Préparé
Réactifs A et B	2 à 8°C	3 ml	1 h	Date de péremption	12 sem.
Calibrateurs	2 à 8°C	1 ml	1 h	Date de péremption	12 sem.
Tampon	Fermé : 2 à 8°C Dilué : 20 à 25°C	Diluer jusqu'à 250 ml	Aucun	Date de péremption	12 sem.

\*La stabilité dépend du respect des consignes de manipulation des composants du dosage.

## 5 Prélèvement et préparation des échantillons

- Chaque dosage nécessite du sérum ou du plasma. Le sang total ne peut pas être utilisé. Les anticoagulants acceptables sont l'héparine, l'EDTA et l'oxalate.
- Le volume d'échantillon dépend de l'instrument. Consulter le protocole d'application de l'instrument pour connaître les volumes spécifiques.
- Des facteurs pharmacocinétiques influencent le moment du prélèvement de l'échantillon après la dernière dose de la substance. Ces facteurs incluent la forme posologique, le mode d'administration, les pharmacothérapies concomitantes et les variations biologiques qui affectent la disposition de la substance.
- Conserver le sérum ou le plasma au réfrigérateur entre 2 et 8°C et à l'abri de la lumière (le méthotrexate en solution est photosensible). Pendant le transport, maintenir l'échantillon à une température comprise entre 2 et 8°C.

## 6 Procédure

### Matériel fourni

Une fois préparé, le kit de dosage du méthotrexate Emit<sup>®</sup> contient :  
 Réactif A anticorps/substrat  
 Réactif B enzymatique  
 Tampon concentré pour le dosage de la substance Emit<sup>®</sup>  
 Calibrateurs du méthotrexate Emit<sup>®</sup>

### Matériel requis, mais non fourni

Contrôles  
 Pipettes volumétriques de catégorie A  
 Eau distillée ou déionisée

### Instruments

Siemens Healthcare Diagnostics fournit des instructions pour utiliser ce dosage sur plusieurs analyseurs chimiques. Contacter le Centre d'assistance technique aux États-Unis ou le représentant local de Siemens pour obtenir les protocoles d'application.

Les analyseurs doivent être en mesure de maintenir une température de réaction constante, de prélever les échantillons et les réactifs à l'aide d'une pipette, de mesurer les taux enzymatiques avec précision, de chronométrer la réaction de manière exacte et de mélanger soigneusement les réactifs.

La procédure de réalisation manuelle du dosage du méthotrexate Emit<sup>®</sup> sur le système Syva<sup>®</sup> Lab est décrite ci-dessous.

### Procédure

Le dosage du méthotrexate Emit<sup>®</sup> peut être utilisé pour analyser les échantillons contenant entre 0,3 et 2600 µmol/l de méthotrexate ; la quantification des concentrations inférieures à 0,3 µmol/l n'est pas recommandée. Les échantillons de patients et les calibrateurs contenant entre 0,3 et 2 µmol/l de méthotrexate sont dosés conformément au protocole principal. Il est possible de faire concorder les échantillons contenant plus de 2 µmol/l de méthotrexate avec la plage de la courbe standard en utilisant une pipette calibrée pour les diluer en série au 1:6 avec la solution tampon (voir le protocole complémentaire).

Le tableau 2 montre les configurations de tubes et les facteurs de dilution requis pour que les échantillons à concentration élevée soient compris dans la plage du dosage.

Tableau 2 — Configurations de tubes et facteurs de dilution

	Plage d'échantillons initiale (µmol/l)				
	0,3-2	1,8-12	10,8-72	65-430	390-2600
<b>Protocole</b> (intégration de l'échantillon dans la plage de quantification)	Protocole principal	Une dilution supplémentaire	Deux dilutions supplémentaires	Trois dilutions supplémentaires	Quatre dilutions supplémentaires
<b>Échantillon</b>	Tube principal (tube A)	Tube A	Tube B	Tube C	Tube D
<b>Vol. échantillon</b>	50 µl	50 µl	50 µl	50 µl	50 µl
<b>Tampon</b>	Aucun	250 µl	250 µl	250 µl	250 µl
<b>Étiquette du tube final</b>	A	B	C	D	E
<b>Facteur de correction*</b>	Non requis	6	36	216	1296

**Remarque :** Ce tableau montre la disposition des tubes dans le support de travail du dosage correspondant à chaque étape de dilution. Les tubes peuvent être disposés pour faciliter le contrôle du nombre de dilutions effectuées. Par exemple, si un échantillon requiert trois dilutions supplémentaires pour être compris dans la plage de quantification, la configuration résultante des tubes permet de se rappeler d'utiliser un facteur de correction de 216 pour le calcul des résultats. Les tubes sont étiquetés par ordre alphabétique pour faciliter l'explication détaillée du protocole.

\*Si des dilutions supplémentaires sont employées, utiliser le facteur de correction pour calculer la concentration réelle de méthotrexate dans l'échantillon. Si trois dilutions supplémentaires sont requises pour qu'un échantillon soit compris dans la plage de quantification, la concentration quantifiée à partir de la courbe standard est multipliée par 6<sup>3</sup> ou 216 pour prendre en compte les trois dilutions supplémentaires au 1:6.

### Configuration

- Préparer les échantillons et les réactifs. Préparer tous les réactifs conformément aux instructions de la section 4. Laisser tous les réactifs, échantillons et produits atteindre une température ambiante de 20 à 25°C. Agiter tous les récipients pour mélanger soigneusement les réactifs juste avant leur utilisation.
- Préparer les instruments. Configurer l'instrument conformément au manuel d'utilisation.

Pour empêcher toute contamination croisée des échantillons et contrôles, doser chaque échantillon individuellement et effectuer toutes les étapes de dilution et de dosage nécessaires avant de passer à l'échantillon suivant.

- Configurer les tubes. Configurer quatre tubes jetables de 2 ml dans le support de travail correspondant aux positions B, C, D et E comme indiqué dans le tableau 2. Avec une pipette calibrée, ajouter 250 µl de tampon dans chaque tube.
- Diluer l'échantillon. Avec la pipette calibrée, aspirer 50 µl de calibrateur, de contrôle ou d'échantillon et les ajouter dans le tube B (qui contient 250 µl de tampon).
- Reboucher le tube ou avec un parafilm et mélanger délicatement en le retournant.
- Diluer à nouveau l'échantillon. Avec la pipette calibrée, aspirer 50 µl d'échantillon dilué (tube B) et les ajouter dans le tube C (qui contient 250 µl de tampon).
- Reboucher le tube ou avec un parafilm et mélanger délicatement en le retournant.
- Diluer à nouveau l'échantillon. Avec la pipette calibrée, aspirer 50 µl d'échantillon dilué (tube C) et les ajouter dans le tube D (qui contient 250 µl de tampon).
- Reboucher le tube ou avec un parafilm et mélanger délicatement en le retournant.
- Diluer à nouveau l'échantillon. Avec la pipette calibrée, aspirer 50 µl d'échantillon dilué (tube D) et les ajouter dans le tube E (qui contient 250 µl de tampon).
- Reboucher le tube ou avec un parafilm et mélanger délicatement en le retournant.
- Transférer les échantillons des tubes A à E dans le godet à échantillons approprié de l'instrument. Doser tous les échantillons conformément au protocole de l'instrument.
- Lorsqu'une valeur d'échantillon sur l'analyseur est comprise entre 0,3 et 2 µmol/l, multiplier la valeur observée par le facteur de correction correspondant au tube répertorié dans le tableau 2.

### Étalonnage

Préparer une nouvelle courbe standard chaque fois qu'un nouveau groupe de réactifs est utilisé et réétalonner comme indiqué par les résultats des contrôles (voir Contrôle de la qualité ci-dessous). La séquence d'étalonnage est 0, 1, 2, 3, 4, 5. Si un nouveau flacon de tampon est utilisé, valider le système en dosant les contrôles.

### Contrôle de qualité

- Valider la courbe de calibration en passant un contrôle de qualité multi-niveaux. Vérifier que les résultats du contrôle de qualité sont dans les limites acceptables définies par votre laboratoire. Une fois la courbe de calibration validée, lancer les échantillons de patients.
- Suivez les exigences d'accréditation ou les réglementations gouvernementales en termes de fréquence du contrôle de qualité. Analysez au moins une fois par jour d'utilisation, deux niveaux d'un matériel de contrôle de qualité, aux concentrations connues de méthotrexate. Suivez les procédures de contrôle de qualité internes du laboratoire si les résultats obtenus ne sont pas compris dans les limites acceptables.
- Se reporter au manuel de l'utilisateur pour les opérations de contrôle à effectuer sur l'instrument.

### Maintenance quotidienne

Pour obtenir les instructions de maintenance, consulter les manuels d'utilisation de l'instrument.

## 7 Résultats

- Les résultats sont calculés automatiquement par les analyseurs. Aucune manipulation supplémentaire des données n'est requise.
- Ce dosage utilise le n° de modèle math 2.
- Les résultats de ce test doivent toujours être interprétés en rapport avec les antécédents médicaux du patient, les signes cliniques et autres constatations.
- Siemens a validé l'utilisation de ces réactifs sur plusieurs analyseurs afin d'optimiser les performances du produit et de répondre à ses spécifications. Les modifications apportées par l'utilisateur ne sont pas sous la responsabilité de Siemens dans la mesure où elles peuvent affecter les performances du système et les résultats des dosages. L'utilisateur est tenu de valider toutes les modifications apportées à ces instructions ou à l'utilisation des réactifs sur des analyseurs autres que ceux mentionnés dans les protocoles d'application Siemens ou dans la présente notice d'utilisation.
- La concentration de méthotrexate dans le sérum ou le plasma dépend de l'heure de la dernière dose de la substance, du mode d'administration, des pharmacothérapies concomitantes, de l'état de l'échantillon, de l'heure de prélèvement de l'échantillon et des variations d'absorption, de distribution, de biotransformation et d'élimination de chaque individu. Ces paramètres doivent être pris en compte lors de l'interprétation des résultats.<sup>1</sup>

## 8 Limitations

- La quantification des échantillons avec des concentrations de méthotrexate inférieures à 0,3 µmol/l ( $3 \times 10^{-7}$  mol/l) n'est pas recommandée (voir la section 6, Procédure).
- L'aminoptérine, un agent antinéoplasique qui n'est généralement pas administré en même temps que le méthotrexate, et l'acide 4-amino-4-désoxy-N<sup>10</sup>-méthylptéroïque (APA), un métabolite mineur du méthotrexate, produisent une réaction croisée importante avec ce dosage.

## 9 Valeurs attendues

Le dosage du méthotrexate Emit<sup>®</sup> quantifie avec précision les concentrations de méthotrexate dans le sérum ou le plasma humain qui contient entre 0,3 et 2600 µmol/l ( $3 \times 10^{-7}$  –  $2,6 \times 10^{-3}$  mol/l) de méthotrexate. Une concentration de méthotrexate dans le sérum supérieure à 5 µmol/l ( $5 \times 10^{-6}$  mol/l) 24 heures après l'administration du traitement à forte dose indique généralement un risque de toxicité.<sup>1</sup> Ce niveau maximum est fourni uniquement pour référence et les résultats de chaque patient doivent être interprétés en tenant compte des autres signes et symptômes cliniques.

## 10 Caractéristiques spécifiques de performance

Les caractéristiques de performances du dosage du méthotrexate Emit<sup>®</sup> sont affectées par tous les paramètres de la mesure. Les informations suivantes représentent les performances totales du système et ne doivent pas être interprétées comme spécifiques des réactifs.

### Spécificité

Le dosage du méthotrexate Emit<sup>®</sup> mesure la concentration totale (avec et sans liaison aux protéines) de méthotrexate dans le sérum ou le plasma. Les composés dont la structure chimique ou l'utilisation thérapeutique concomitante suggèrent une réactivité croisée éventuelle ont été testés.

L'aminoptérine, un agent antinéoplasique qui n'est généralement pas administré en même temps que le méthotrexate, et l'acide 4-amino-4-désoxy-N<sup>10</sup>-méthylptéroïque (APA), un métabolite mineur du méthotrexate, produisent une réaction croisée importante avec ce dosage.

Les composés répertoriés dans le tableau 3 n'interfèrent pas avec le dosage du méthotrexate Emit<sup>®</sup> à des concentrations pharmacologiques ou physiologiques maximales lorsqu'ils sont testés en présence de 1 µmol/l de méthotrexate.

Tableau 3 — Composés non interférents

### Composés non liés structurellement

Cyclophosphamide  
Doxorubicine (adriamycine)  
5-fluoro-uracile  
Vinblastine  
Vincristine

### Composés liés structurellement

Acide dihydrofolique  
Acide folique  
7-hydroxyméthotrexate  
Leucovorine (facteur citrovorum)  
Méthoptérine  
Triméthoprime

Pour plus d'informations, contacter le Centre d'assistance technique.

### Substances endogènes

Aucune interférence cliniquement significative n'a été constatée dans les échantillons auxquels 800 mg/dl d'hémoglobine, 1000 mg/dl de triglycérides ou 30 mg/dl de bilirubine ont été ajoutés pour simuler des échantillons hémolytiques, lipémiques ou icteriques.

### Précision

Les valeurs de précision et d'exactitude indiquées ci-dessous ont été obtenues à partir d'une procédure de test classique. Elles n'ont pas pour objectif de représenter les performances dans tous les laboratoires.

Dans le cadre d'évaluations cliniques, la répétabilité est déterminée par 20 passages du calibrateur 1 µmol/l et la reproductibilité par le passage du contrôle méthotrexate. Les résultats sont présentés ci-dessous.

Tableau 4 — Précision

Laboratoire	Nombre de répliqués	Moyenne (µmol/l)	Coefficient de variation (%)
<b>Intra-séries</b>			
1	20	1	5,3
2	20	1	3,2
3	20	1	6,8
<b>Inter-séries</b>			
2	49	1,63	5,6

### Exactitude

Les échantillons de patients recevant du méthotrexate ont été analysés avec le dosage du méthotrexate Emit<sup>®</sup> et au moins une des deux méthodes de référence, le radioimmunos dosage (RIA) ou une technique enzymatique basée sur l'inhibition de la dihydrofolate réductase. Les résultats ont fait l'objet d'une comparaison.

Tableau 5 — Analyse comparative

	Lab 1 (RIA)	Lab 2 (RIA)	Lab 3 (enzymatique)
Pente	0,96	0,98	0,97
Ordonnée à l'origine (µmol/l)	-0,04	-0,07	-0,21
Moyenne (µmol/l)			
Emit <sup>®</sup>	3	5,6	4,5
Méthode de comparaison	3,3	6,8	4,5
Coefficient de corrélation	0,991	0,996	0,997
Nombre d'échantillons	104	98	100

## 11 Risque et sécurité



Toxique. Contient de l'azide de sodium ; 2-méthyl-2H-isothiazol-3-one.

R25 : Toxique en cas d'ingestion.

R36/38 : Irritant pour les yeux et la peau.

R43 : Peut entraîner une sensibilisation par contact avec la peau.

R52/53 : Nocif pour les organismes aquatiques, peut entraîner des effets néfastes à long terme pour l'environnement aquatique.

S24 : Éviter le contact avec la peau.

S37 : Porter des gants appropriés.

S45 : En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin (si possible lui montrer l'étiquette).

Les fiches de sécurité sont disponibles sur [www.siemens.com/diagnostics](http://www.siemens.com/diagnostics).

## 12 Bibliographie

1. Crom WR, Taylor RH, Pratt CB: Methotrexate: Therapeutic use and serum concentration monitoring, in Taylor WJ and Finn AL (eds): *Individualizing Drug Therapy: Practical Applications of Drug Monitoring*. New York, Gross, Townsend, Frank, Inc, 1981, Vol. 1, pp 149-173.
2. Oellerich M: Enzyme immunoassays in clinical chemistry: Present status and trends. *J Clin Chem Clin Biochem* 1980;18:197-208.
3. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, JY Richmond, RW McKinney (eds). Atlanta, GA, U.S. Dept of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention; Bethesda, MD, National Institutes of Health, 1993.
4. Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; Final Rule. Federal Register. Part II, Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration (OSHA); 29 CFR Part 1910.1030; Friday, December 6, 1991.

## 13 Explication des symboles

	Do not reuse / Nicht zur Wiederverwendung / Ne pas réutiliser / Non riutilizzare / No reutilizar
	Use By / Verwendbar bis / Utiliser jusque / Utilizzare entro / Fecha de caducidad
	Batch Code / Chargenbezeichnung / Code du lot / Codice del lotto / Código de lote
	Catalogue Number / Bestellnummer / Référence du catalogue / Numero di catalogo / Número de catálogo
	Caution, consult accompanying documents / Achtung, Begleitdokumente beachten / Attention voir notice d'instructions / Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso / Atención, ver instrucciones de uso
	Manufacturer / Hersteller / Fabricant / Fabbicante / Fabricante
	Authorized Representative in the European Community / Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft / Mandataire dans la Communauté européenne / Mandatario nella Comunità Europea / Representante autorizado en la Comunidad Europea
	Contains sufficient for <n> tests / Inhalt ausreichend für <n> Tests / Contenu suffisant pour "n" tests / Contenido suficiente per "n" saggi / Contenido suficiente para <n> ensayos
	In Vitro Diagnostic Medical Device / In-Vitro-Diagnostikum / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Dispositivo medico-diagnostico in vitro / Producto sanitario para diagnóstico in vitro
	Temperature Limitation / Temperaturbegrenzung / Limites de température / Limiti di temperatura / Limite de temperatura
	Consult Instructions for Use / Gebrauchsanweisung beachten / Consulter les instructions d'utilisation / Consultare le istruzioni per l'uso / Consulte las instrucciones de uso
	Non-sterile / Nicht sterili / Non stérile / Non sterile / No estéril
	CE Mark / CE Zeichen / Marquage CE / Marchio CE / Marca CE
	Contents / Inhalt / Contenu / Contenuto / Contenido
	Reconstitution Volume / Rekonstitutionsvolumen / Volume de reconstitution / Volume di ricostituzione / Volumen de reconstitución
	Level / Konzentration / Niveau / Livello / Nivel

2009-06\_EFIGS

En cas de problème technique, contacter Siemens Healthcare Diagnostics :  
1-800-227-8994 aux États-Unis  
1-800-264-0083 au Canada

En dehors des États-Unis et du Canada, contacter le représentant local de Siemens.

Syva® et Emit® sont des marques commerciales de Siemens Healthcare Diagnostics.

© 2011 Siemens Healthcare Diagnostics  
Tous droits réservés.

Siemens Healthcare Diagnostics Ltd.  
Sir William Siemens Sq.  
Frimley, Camberley, UK GU16 8QD

Siemens Healthcare Diagnostics Inc.  
Newark, DE 19714 U.S.A.  
[www.siemens.com/diagnostics](http://www.siemens.com/diagnostics)

CE

Printed in USA  
2011-09  
6L184UL.11DS\_FR\_D

## Annexe V :

### Le profil médical du reste des patients

#### Observation numéro 9

Initiales du patient : B.F
Numéro d'enregistrement (tableau) :04
Age : 32 ans
Sexe : Féminin
Surface corporelle : 1,83 m <sup>2</sup>

Il s'agit de la patiente B.F âgée de 32 ans, atteinte d'une leucémie aigüe myéloïde. Elle a bénéficié d'un suivi thérapeutique pharmacologique pour une cure de MTX-HD

**Date de la cure 21/03/2021**

La patiente est sous chimiothérapie sous Méthotrexate seul.

Elle a reçu une dose de 3 g/m<sup>2</sup> soit 55490 mg par voie intra veineuse, la durée de la perfusion était de 4h.

L'hyper hydratation alcaline a été administrée avant le début de la perfusion, sa posologie n'a pas été mentionnée.

L'administration du sauvetage folinique a débuté à la 6<sup>ème</sup> heure du début de la perfusion, à raison de 46 mg en IV toutes les 6 heures pendant 4 jours.

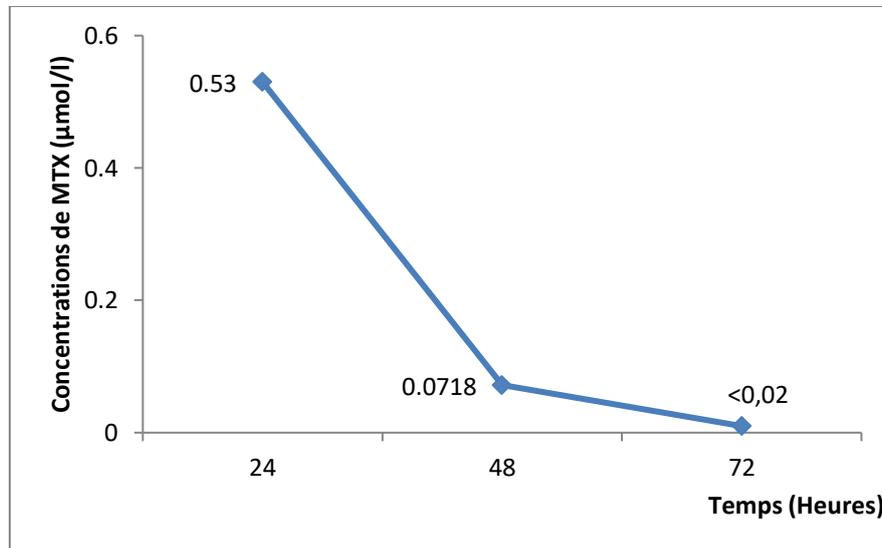
Des bilans biologiques ont été effectués avant et après la cure de MTX

	Avant la cure	24h après la cure	48h après la cure	72h après la cure
Hb (g/dl)	10,1	7,1	6,8	8,2
Plaquettes/mm <sup>3</sup>	5000	1000	-	3000
GB/mm <sup>3</sup>	36900	23100	4500	3800
Créatinine (mg/l)	5	5	-	5
Urée (g/l)	0,3	0,2	-	0,16
Albumine (g/l)	41	32	-	38

La patiente présente une diminution de l'hémoglobine pendant les deux jours qui suivent l'administration du MTX, puis elle augmente légèrement au troisième jour.

On observe également une diminution des plaquettes et des globules blancs ainsi que l'albumine.

Le dosage du méthotrexate a été fait dans le cadre du contrôle des concentrations plasmatiques



Cinétique d'élimination du méthotrexate chez le patient n°4

- La méthotrexatémie à la 24<sup>ème</sup> heure était de 0,53 µmol/l (< 10 µmol/l) ;
- La méthotrexatémie à 48<sup>ème</sup> heure était de 0,0718 µmol/l (< 1 µmol/l) ;
- La méthotrexatémie à 72<sup>ème</sup> heure était inférieure à 0,02 µmol/l (<0,2 µmol/l).

La patiente n'a présenté aucun signe de toxicité.

## Observation numéro 10

Initiales du patient : B.M
Numéro d'enregistrement (tableau) :05
Age : 36 ans
Sexe : Masculin
Surface corporelle : 1,7 m <sup>2</sup>

Il s'agit du patient B.M âgé de 36 ans, atteint d'un lymphome B diffus à grandes cellules. Il a bénéficié d'un suivi thérapeutique pharmacologique pour une cure de MTX-HD.

**Date de la cure : le 12/04/2021**

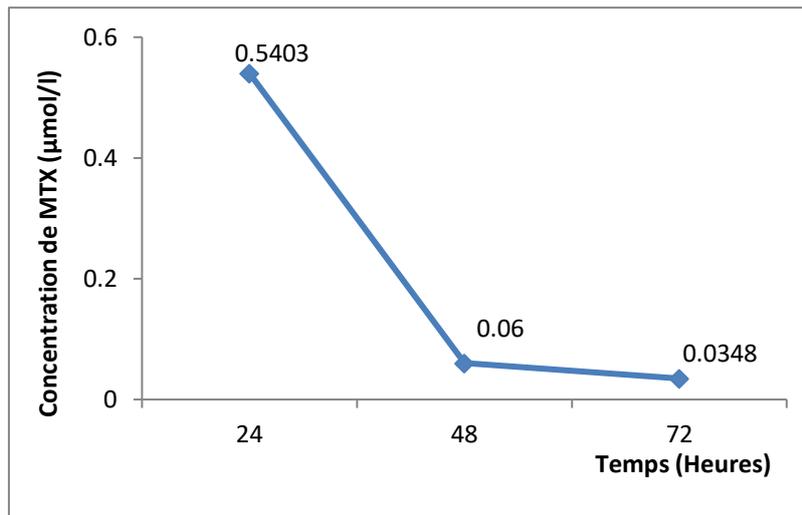
Le patient est sous chimiothérapie selon le protocole R-MTX : Rituximab, Méthotrexate.

Il a reçu une dose de 3 g/m<sup>2</sup> soit 5100 mg par voie intra veineuse, la durée de la perfusion était de 4h.

L'hyper hydratation alcaline a été administrée avant le début de la perfusion, sa posologie n'a pas été mentionnée.

L'administration du sauvetage folinique a débuté à la 6<sup>ème</sup> heure du début de la perfusion, à raison de 43 mg en IV toutes les 6 heures pendant 4 jours.

Le patient a bénéficié d'un dosage du MTX pendant trois jours après la cure et d'un bilan biologique avant et après l'administration du MTX.



#### Cinétique d'élimination du méthotrexate du patient n°5

- La méthotrexatémie à la 24<sup>ème</sup> heure était de 0,54 µmol/l (<10 µmol/l) ;
- La méthotrexatémie à la 48<sup>ème</sup> heure était de 0,06 µmol/L (< 1 µmol/l) ;
- La méthotrexatémie à la 72<sup>ème</sup> heure était de 0,0348 µmol/l (<0,2 µmol/l).

#### Les bilans biologiques avant et après la première cure du patient n°5

	Avant la cure	24h après la cure	48h après la cure	72h après la cure
Hb (g/dl)	12,5	12,4	12,7	11,8
Plaquettes/mm <sup>3</sup>	177000	197000	220000	221000
GB/mm <sup>3</sup>	3700	4700	3600	3400
Créatinine (mg/l)	7	9	7	9
Urée (g/l)	0,21	0,18	0,14	0,5
ASAT/ALAT (UI/l)	14/24	20/27	41/50	29/36

On observe une diminution de l'hémoglobine au 3eme jour (72h), une augmentation de l'urée, ainsi qu'une élévation des enzymes hépatiques dans les 24 et 48h qui suivent l'administration du méthotrexate.

Aucune manifestation clinique de toxicité n'est à signaler.

## Observation numéro 11

Initiales du patient : H.A  
Numéro d'enregistrement (tableau) :06  
Age : 34 ans  
Sexe : Masculin  
Surface corporelle : 1,70 m<sup>2</sup>

Il s'agit du patient H.A âgé de 34 ans, atteint d'un lymphome non Hodgkinien a cellules T. Il a bénéficié d'un suivi thérapeutique pharmacologique pour une cure de MTX-HD.

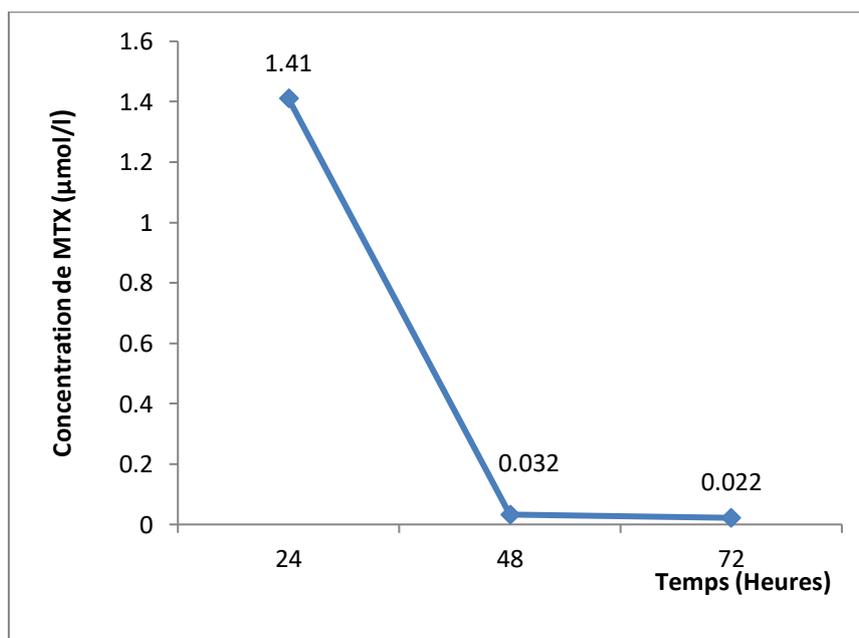
**Date de la cure : 05/04/2021**

Le patient est sous chimiothérapie selon le protocole MOGAD : Méthotrexate, Oxaliplatine, Gemcitabine, Asparaginase, Dexametasone.

Le patient a reçu une dose de 3 g/m<sup>2</sup> soit 5100 mg, la durée de la perfusion était de 4h.

L'administration du sauvetage folinique a débuté à la 6eme heure de début de la perfusion, à raison de 43 mg toutes les 6 heures pendant 4 jours.

Des méthotrexatémie ont été effectuées à H24, H48 et H72.



Cinétique d'élimination du méthotrexate du patient n°6 après la cure

- La méthotrexatémie a la 24<sup>ème</sup> heure était de 1,41  $\mu\text{mol/l}$  ( $<10 \mu\text{mol/l}$ ) ce qui indique la poursuite du sauvetage folinique avec une administration de 43 mg chaque 6h ;
- La méthotrexatémie a la 48<sup>ème</sup> heure était de 0,032  $\mu\text{mol/l}$  ( $<1 \mu\text{mol/l}$ ) ;
- La méthotrexatémie a la 72<sup>ème</sup> heure était de 0,022  $\mu\text{mol/l}$  ( $<0,2 \mu\text{mol/l}$ ).

Les dosages ont été faits dans le cadre du contrôle d'élimination. Le patient n'a présenté aucun signe de toxicité.

Il a également bénéficié d'un bilan biologique avant et après la cure

Tableau : Les bilans biologiques avant et après la première cure du patient n°6

	Avant la cure	48h après la cure	72h après la cure
Hb (g/dl)	11,9	11,4	10,7
Plaquettes/mm <sup>3</sup>	117000	116000	108000
GB/mm <sup>3</sup>	3900	10200	9000
Créatinine (mg/l)	8	-	7
Urée (g/l)	0,14	-	0,26

Le patient présente une diminution de l'hémoglobine, et une augmentation de l'urée

## Observation numéro 12

Initiales du patient : H.T  
Numéro d'enregistrement (tableau) :07  
Age : 62 ans  
Sexe : Féminin  
Surface corporelle : 1,79 m<sup>2</sup>

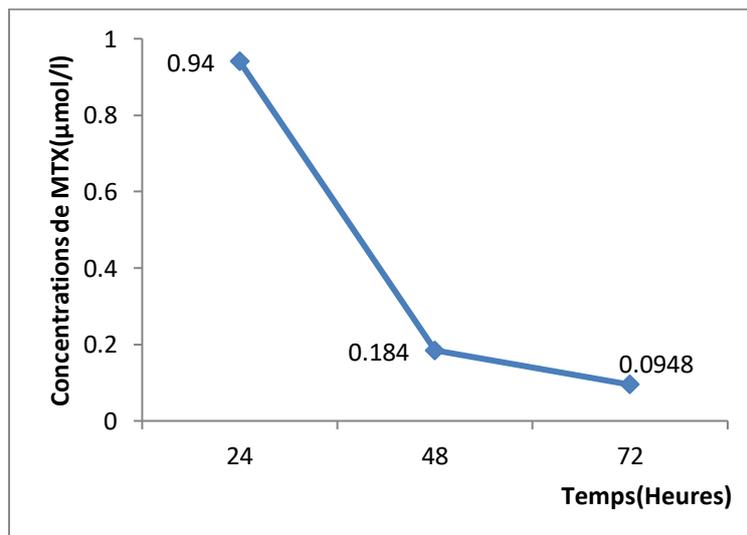
Il s'agit de la patiente H.T âgée de 62 ans, atteinte d'un lymphome non Hodgkinien cérébral. Elle a bénéficié d'un suivi thérapeutique pharmacologique pour une cure de MTX-HD.

**Date de la cure : 11/04/2021**

La patiente est sous chimiothérapie à base de méthotrexate seul. Elle a reçu une dose de 3 g/m<sup>2</sup> soit 5370 mg, la durée de la perfusion était de 4h.

L'administration du sauvetage folinique a débuté à la 6ème heure de début de la perfusion, à raison de 44 mg toutes les 6 heures pendant 4 jours.

Trois dosages du méthotrexate ont été fait dans le cadre du contrôle d'élimination.



Cinétique d'élimination du méthotrexate du patient n°7 après la cure

- La méthotrexatémie a la 24<sup>ème</sup> heure était de 0,94 µmol/l (<10 µmol/l) ce qui indique la poursuite du sauvetage folinique avec une administration de 44 mg chaque 6h ;

- La méthotrexatémie a la 48<sup>ème</sup> heure était de 0,1840  $\mu\text{mol/l}$  ( $<1 \mu\text{mol/l}$ ) ;
- La méthotrexatémie a la 72<sup>ème</sup> heure était de 0,0948  $\mu\text{mol/l}$  ( $<0,2 \mu\text{mol/l}$ ).

Des bilans biologiques avant et après la cure ont également été effectués

Tableau : Les bilans biologiques avant et après la première cure du patient n°6

	Avant la cure	24h après la cure	48h après la cure	72h après la cure
Hb (g/dl)	12	12,2	12,1	11,6
Plaquettes/mm <sup>3</sup>	199000	181000	159000	162000
GB/mm <sup>3</sup>	5700	6300	5500	5100
Créatinine (mg/l)	5	-	6	-
Urée (g/l)	0,2	-	0,29	-
ASAT/ALAT (UI/l)	27/91			

### Observation numéro 13

Initiales du patient : H.Z  
Numéro d'enregistrement (tableau) :09  
Age : 62 ans  
Sexe : F  
Surface corporelle : 2 m<sup>2</sup>

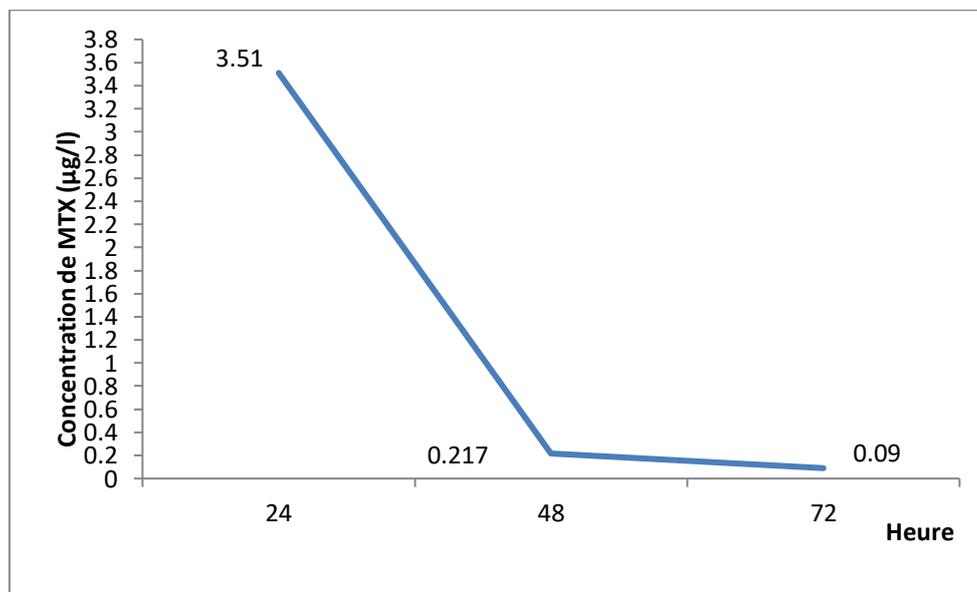
Il s'agit de la patiente H.Z âgée de 62 ans, atteinte d'un lymphome non Hodgkinien de type Burkitt. Elle a bénéficié d'un suivi thérapeutique pharmacologique pour une cure de MTX-HD.

**Date de la cure : 15/04/2021**

La patiente est sous chimiothérapie selon le protocole R-MTX. Elle a reçu une dose de 3 g/m<sup>2</sup> soit 6000 mg, la durée de la perfusion était de 4h.

L'administration du sauvetage folinique a débuté à la 6eme heure de début de la perfusion, à raison de 50 mg toutes les 6 heures pendant 4 jours.

Trois dosages du méthotrexate ont été fait dans le cadre du contrôle d'élimination.



Cinétique d'élimination du méthotrexate du patient n°9 après la première cure

- La méthotrexatémie a la 24<sup>ème</sup> heure était de 3,51 µmol/l (<10 µmol/l) ce qui indique la poursuite du sauvetage folinique avec une administration de 50 mg chaque 6h ;
- La méthotrexatémie a la 48<sup>ème</sup> heure était de 0,217 µmol/l (<1 µmol/l) ;
- La méthotrexatémie a la 72<sup>ème</sup> heure était de 0,09 µmol/l (<0,2 µmol/l).

Les dosages ont été faits dans le cadre du contrôle d'élimination.

Des bilans biologiques ont été effectués avant et après la cure

	Avant la cure	24h après la cure	48h après la cure	72h après la cure
Hb (g/dl)	10,1	-	10,3	10,6
Plaquettes/mm <sup>3</sup>	317000	281000	278000	277000
GB/mm <sup>3</sup>	9500	-	5900	5200
Créatinine (mg/l)	6	5,7	5	7
Urée (g/l)	0,18	0,16	0,13	0,14
ASAT/ALAT	23/22	-	28/18	16/26

La patiente présente ne diminution des plaquettes et des globules blancs, ainsi qu'une augmentation des enzymes hépatiques (ASAT et ALAT) a la 48<sup>ème</sup> heure. Cependant aucun signe de toxicité n'a été cliniquement manifesté.

## Observation numéro 14

Initiales du patient : B.F
Numéro d'enregistrement (tableau) :11
Age : 66 ans
Sexe : Féminin
Surface corporelle : 1,75 m <sup>2</sup>

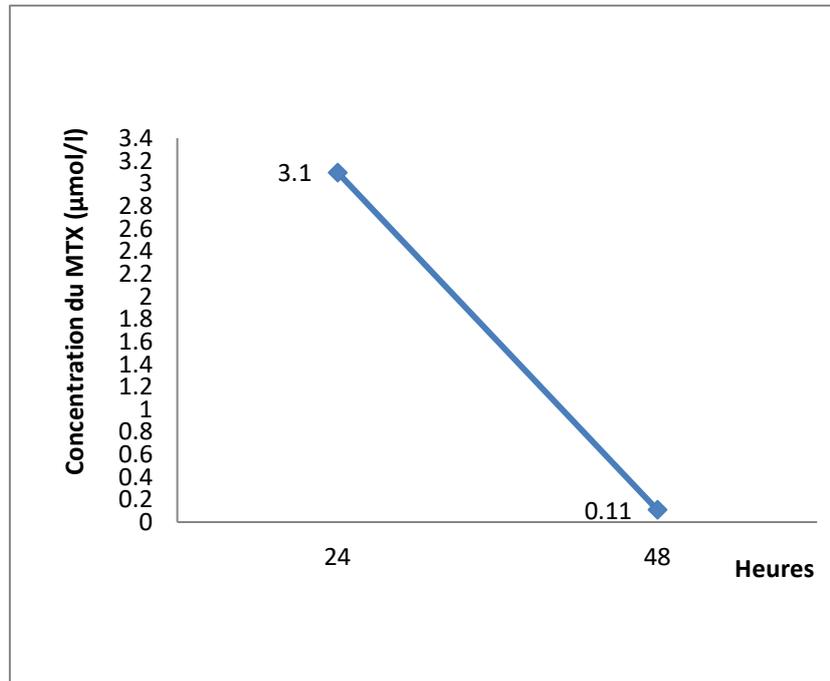
Il s'agit de la patiente B.F âgée de 66 ans, atteinte d'une leucémie lymphoïde chronique, elle est sous chimiothérapie selon le protocole R-MTX : Rituximab, Méthotrexate.

Elle a bénéficié d'un suivi thérapeutique pharmacologique pour une cure de traitement MTX-HD.

La patiente a reçu une dose de 3g/m<sup>2</sup> soit 5250 mg pour une durée de perfusion de 4 heures. L'hyperhydratation alcaline a été administrée par voie veineuse avant le début de perfusion, dont la posologie n'a pas été mentionnée.

L'administration du sauvetage folinique a débuté 6 heures après la perfusion à raison de 45mg toutes les six heures pendant 4 jours.

Un dosage du MTX a été effectué dans le cadre d'un contrôle



Cinétique d'élimination du méthotrexate du patient n°11 après la cure.

- La méthotrexatémie à la 24<sup>ème</sup> heure était de 3,1µmol/l (<10µmol/l) ;
- La méthotrexatémie à la 48<sup>ème</sup> heure était 0,11 µmol/l (<0,02 µmol/l).

Le patient a bénéficié d'un bilan biologique avant et après la cure.

Tableau : Les bilans biologiques avant et après la première cure du patient n°11

	Avant la cure	24h après la cure
Hb (g/dl)	9,3	-
Plaquettes/mm <sup>3</sup>	183000	-
GB/mm <sup>3</sup>	7700	
Créatinine (mg/l)	7	7
Urée (g/l)	0,17	0,10

## Observation numéro 15

Initiales du patient : A.L  
Numéro d'enregistrement (tableau) :15  
Age : 2ans  
Sexe : F  
Surface corporelle : 0,55 m<sup>2</sup>

Il s'agit de la patiente A.L âgée de 2 ans, atteinte d'une leucémie aigüe lymphoïde.

Elle a bénéficié d'un suivi thérapeutique pharmacologique pour une cure de traitement MTX-HD.

La patiente a reçu une dose de 5g/m<sup>2</sup> soit 2750 mg pour une durée de perfusion de 24 heures. L'hyperhydratation alcaline a été administrée par voie veineuse avant le début de perfusion, dont la posologie n'a pas été mentionnée.

L'administration du sauvetage folinique a débuté 6 heures après la perfusion à raison de 6,6mg toutes les six heures pendant 4 jours.

Un dosage du MTX a été effectué dans le cadre d'un contrôle :

- La méthotrexatémie à la 48<sup>ème</sup> heure était de 0,54µmol/l (<1 µmol/l).

Le patient a bénéficié d'un bilan biologique avant et après la cure.

Tableau : Les bilans biologiques avant et après la première cure du patient n°15

	Avant la cure	24h après la cure	48h après la cure
Hb (g/dl)	8,1	15,1	-
Plaquettes/mm <sup>3</sup>	138000	151000	-
GB/mm <sup>3</sup>	2730	5950	-
Créatinine (mg/l)	4	-	3
Urée (g/l)	0,16	-	0,05
ASAT/ALAT	34/26	-	46/29

## Résumé

Le suivi thérapeutique du méthotrexate est un outil essentiel dans la prise en charge des patients après chimiothérapie des hémopathies malignes. L'objectif de cette étude est de mettre en avant l'intérêt du STP du MTX-HD dans l'adaptation posologique de l'acide folinique dans différentes situations cliniques de toxicité chez 15 patients suivis au sein du service d'hématologie et d'hémo pédiatrie au CHU Nedir Mohamed de Tizi Ouzou par le biais d'une étude prospective descriptive réalisée durant une période de 4 mois. Ce suivi a permis d'étudier les variations des concentrations sanguines du MTX en fonction de la dose et en fonction des patients notamment la variabilité interindividuelle et intra-individuelle. L'étude est basée sur le dosage du MTX par une technique immunoenzymatique EMIT, secondairement sur l'évaluation des bilans biologiques. Les résultats montrent que la cinétique d'élimination est biphasique pour des dosages réalisés en H24, H48 et H 72. Une grande variabilité intra et interindividuelle a été démontrée. Pour le suivi biologique, les concentrations sanguines des différents paramètres étaient comprises dans les normes et n'ont pas présenté de grandes altérations à l'exception de quelques variations de la fonction rénale et hématologique chez quelques patients et pour qui elles étaient probablement dépendantes de l'effet cytotoxique du MTX. Notre suivi a donc clairement prouvé la nécessité de sa réalisation dans le but d'améliorer la prise en charge thérapeutique des patients sous MTX-HD.

Mots clés : Méthotrexate haute dose, Hémopathies malignes, Suivi thérapeutique, Cytotoxicité, Sauvetage folinique.

## Abstract

The therapeutic drug monitoring of methotrexate is an essential tool in the management of patients after chemotherapy of hematological malignancies. The objective of this study is to put forward the interest of therapeutic drug monitoring of HD-MTX in the dose adjustment of folic acid in different clinical situations of toxicity for 15 patients followed within the department of hematology and hemato pediatrics at CHU Nedir Mohamed of Tizi Ouzou through a prospective descriptive study carried out during a period of 4 months. This monitoring allowed the study of variations of MTX blood levels according to the dose and patients, in particular the inter-individual and intra-individual variability. The study is based on the determination of MTX blood levels by an Enzyme Multiplied Immunoassay Technic (EMIT), secondarily on the evaluation of biological profiles. The results show that the elimination kinetics is biphasic for assays performed in H24, H48 and H72. A large intra and inter-individual variability was demonstrated. For the biological monitoring, the blood concentrations of the different parameters were within the norms and did not show great alterations except for some variations of the renal and hematological function in some patients and for which they were probably dependent on the cytotoxic effect of MTX. Our TDM has thus clearly proved the necessity of its realization in order to improve the therapeutic management of patients under HD-MTX.

Keywords: High dose methotrexate, Hematological malignancies, Therapeutic drug monitoring, Cytotoxicity, Folinic rescue.