



Thèse

2025

Open Access

This version of the publication is provided by the author(s) and made available in accordance with the copyright holder(s).

Comparaison de deux méthodes de prélèvement sanguin pour le contrôle des niveaux d'antibiotiques chez les individus avec ou sans parodontite

Lazaridi, Ioanna

How to cite

LAZARIDI, Ioanna. Comparaison de deux méthodes de prélèvement sanguin pour le contrôle des niveaux d'antibiotiques chez les individus avec ou sans parodontite. Doctoral Thesis, 2025. doi: 10.13097/archive-ouverte/unige:185968

This publication URL: <https://archive-ouverte.unige.ch/unige:185968>

Publication DOI: [10.13097/archive-ouverte/unige:185968](https://doi.org/10.13097/archive-ouverte/unige:185968)



**UNIVERSITÉ
DE GENÈVE**



**UNIVERSITÉ
DE GENÈVE**

FACULTÉ DE MÉDECINE
Clinique universitaire
de médecine dentaire - CUMD

Division de médecine dentaire régénérative
et de parodontologie

Thèse préparée sous la direction de la Professeure Catherine Giannopoulou

" Comparaison de deux méthodes de prélèvement sanguin pour le contrôle des niveaux d'antibiotiques chez les individus avec ou sans parodontite "

Thèse

présentée à la Faculté de Médecine
de l'Université de Genève
pour obtenir le grade de Docteur en médecine
par

Ioanna LAZARIDI

De
Grèce

Thèse n° 821

Genève
2025



**UNIVERSITÉ
DE GENÈVE**
FACULTÉ DE MÉDECINE

DOCTORAT EN MEDECINE DENTAIRE

Thèse de :

Ioanna LAZARIDI

originaire de Grèce

Intitulée :

Comparaison de deux méthodes de prélèvement sanguin pour le contrôle des niveaux d'antibiotiques chez les individus avec ou sans parodontite

La Faculté de médecine, sur le préavis du Comité directeur des thèses, autorise l'impression de la présente thèse, sans prétendre par-là émettre d'opinion sur les propositions qui y sont énoncées.

Genève, le 13 mai 2025

Thèse n° 821

Antoine Geissbühler

Doyen

N.B. - La thèse doit porter la déclaration précédente et remplir les conditions énumérées dans les "Informations relatives à la présentation des thèses de doctorat à l'Université de Genève".

TABLE DES MATIERES

RESUME	3
INTRODUCTION	4
REFERENCES	11
ARTICLE ORIGINAL	14
DISCUSSION	30
REFERENCES	35
REMERCIEMENTS	37

RESUME

Objectifs : Le but de cette étude pilote était de comparer les concentrations d'antibiotiques obtenues à l'aide des dispositifs de micro-échantillonnage absorbant volumétrique (VAMS) avec celles déterminées dans le plasma à partir de sang veineux conventionnel. La quantification simultanée de trois antibiotiques couramment utilisés dans le traitement parodontal (amoxicilline (AMO), métronidazole (MET), azithromycine (AZI)) a été testée pour évaluer la faisabilité du VAMS dans les études pharmacocinétiques.

Matériel et méthodes : Douze volontaires (6 en bonne santé parodontale (PH), 6 atteints de parodontite (PP)) ont reçu 500 mg de chaque antibiotique : amoxicilline, métronidazole et azithromycine. Des échantillons appariés de sang veineux (IV) et capillaire par VAMS ont été prélevés à 2, 6, 10, 24, 48 et 96 heures après administration (T2, T6, T10, T24, T48, T96). Les échantillons ont été analysés par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS). Les analyses statistiques comprenaient le test U de Mann-Whitney et le t-test.

Résultats : Des différences significatives dans les concentrations d'antibiotiques ont été observées entre le VAMS et le IV, à différents moments pour les trois antibiotiques ($p < 0,05$). Les concentrations d'AMO dans le plasma étaient 3,5 fois plus élevées ($p < 0,01$) que dans les échantillons VAMS aux premiers temps (2, 6, 10 heures (h)). Les niveaux de MET dans le plasma étaient 1,5 fois plus élevés que dans les échantillons VAMS à 2h et 6h ($p < 0,01$), mais cette différence disparaissait après 10h. En revanche, bien que les niveaux d'AZI soient similaires dans le IV et les échantillons VAMS 2 heures après l'administration, les concentrations d'AZI dans le IV et les échantillons VAMS ont diminué de manière non parallèle, les niveaux dans le plasma diminuant à environ 60 à 25 % de ceux mesurés dans les échantillons VAMS sur l'intervalle de 96h observé. L'exposition aux antibiotiques n'était pas différente entre les groupes PH et PP.

Conclusion : Bien que la méthode VAMS ait donné des résultats significativement différents de ceux du plasma, elle reflète efficacement l'évolution des concentrations des antibiotiques et pourrait constituer une alternative dans les études pharmacocinétiques et la surveillance thérapeutique.

Pertinence clinique : La méthode VAMS présente un potentiel prometteur pour le suivi thérapeutique des médicaments en recherche parodontale et en pratique clinique. Moins invasive que la ponction veineuse, elle est bien acceptée par les patients et facilite la surveillance sanguine dans les essais cliniques et en dehors des milieux hospitaliers. Son caractère peu invasif et sa logistique simplifiée la rendent adaptée à l'amélioration de la médecine de précision et des approches pharmaceutiques en parodontologie.

INTRODUCTION

La pharmacologie est la science qui étudie les médicaments et leur interaction avec les organismes vivants. Elle englobe de nombreuses disciplines, comme la pharmacocinétique, la pharmacodynamie, la pharmacovigilance, la pharmacodépendance, la pharmacogénétique et plusieurs autres. Parmi ces disciplines, l'analyse pharmacocinétique se réfère au devenir d'un médicament, depuis son entrée jusqu'à sa sortie de l'organisme, à l'évolution en fonction du temps de son absorption, à sa biodisponibilité, à sa distribution, à son métabolisme et à son excrétion.

L'analyse pharmacodynamique décrit les effets qu'un principe actif produit sur l'organisme : c'est l'étude détaillée de l'interaction entre la substance active et sa cible.

En outre, la toxicocinétique étudie la toxicité potentielle des substances entrant dans le corps et de leur dispersion lorsqu'elles sont absorbées par l'organisme.

Les résultats de ces études de pharmacocinétique (PK), pharmacodynamique (PD) et toxicocinétique (TK) sont essentiels pour interpréter la dose, la fréquence et la durée du traitement médicamenteux (Group 1994). Le plasma et le sérum sont couramment utilisés pour la détermination des concentrations d'analytes. Pour obtenir du plasma, le sang est prélevé par une méthode de collecte veineuse conventionnelle (le volume d'échantillon varie de 500 μ l à 5 ml). Bien que considérée comme la référence, la ponction veineuse est invasive et présente des inconvénients. Ce prélèvement nécessite des techniciens qualifiés et formés. De plus, les conditions de stockage spécifiques, l'expédition contrôlée et les grands volumes d'échantillons sont des facteurs qui ont conduit au développement de techniques de prélèvement alternatives (Londhe and Rajadhyaksha 2020).

Les nouvelles techniques de prélèvement avec des volumes d'échantillons réduits (< 50 μ l) sont apparues pour surmonter les inconvénients énumérés ci-dessus (Londhe and Rajadhyaksha 2020). Le microsampling consiste à prélever de très petits volumes d'échantillons (μ l) de matrices biologiques – animales et humaines – afin d'évaluer l'exposition aux médicaments et aux substances chimiques (Welink et al. 2017).

Les avantages sont listés ci-dessous :

- Volume d'échantillon minimisé (<50 μ l par rapport à >200 μ l)
- Réduction du nombre d'animaux dans les études PK et TK (Burnett 2011)
- Moins de stress pour les animaux / humains grâce à des techniques peu invasives (Caron et al. 2015)
- Amélioration de l'inscription des sujets aux études cliniques et meilleure compliance
- Confort du patient et possibilité de prélèvement à distance
- Réduction des coûts de prélèvement, d'expédition et d'analyse

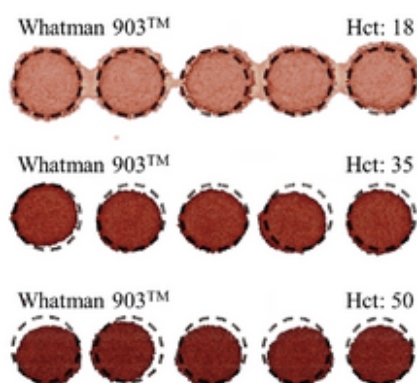
- Simplification de la collecte, du stockage et de l'expédition des échantillons (Chace, De Jesus, and Spitzer 2014)
- Les dispositifs (VAMS) ont été conçus pour faciliter l'application directe à la matrice à prélever, permettant également leur utilisation par du personnel non formé (Protti et al. 2018)

Méthodes de microsampling

Dried Blood Spot (DBS)

La plus ancienne technique de microsampling, encore largement utilisée en clinique pour le dépistage des maladies métaboliques chez les nouveau-nés comme la phénylcétonurie, est appelée "dried blood spot" (DBS) *Image 1* (Thangavelu et al. 2023). Le sang est collecté via une piqûre cutanée (du doigt ou du talon) ou une canule veineuse, puis pipeté sur un substrat, généralement un papier à base de cellulose ou de polymère. L'échantillon est ensuite séché avec un temps de séchage minimum de 2 à 3 heures à 22°C sur une surface non absorbante ouverte (Kok and Fillet 2018). Les préoccupations majeures avec le DBS sont l'effet hématocrite, l'homogénéité et les résultats dépendants du volume sanguin (Denniff and Spooner 2010). L'hématocrite (HCT), qui est le pourcentage volumique du sang total contenant des globules rouges, influence la viscosité du sang et contrôle la mesure dans laquelle un volume donné de sang s'étale sur une carte. Des valeurs d'HCT élevées entraînent des taches plus petites et concentrées sur le papier, ce qui peut entraîner des biais lors de la préparation des échantillons (Londhe and Rajadhyaksha 2020). L'acceptation lente du DBS est due à la manipulation des échantillons, y compris l'extraction et le traitement avant la bioanalyse (Spooner et al. 2015).

Image 1 (Thangavelu et al. 2023) :

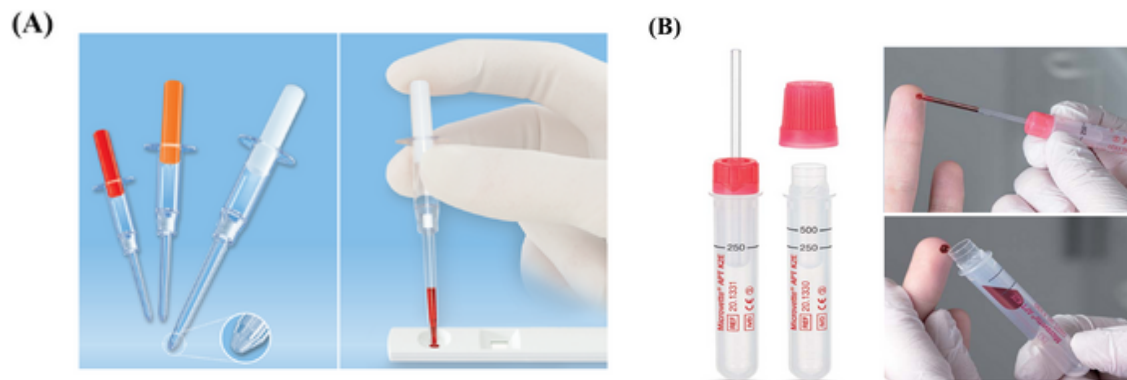


Capillary Microsampling (CMS)

Le microsampling capillaire consiste à utiliser des capillaires en verre de volume exact pour collecter et manipuler de faibles volumes (μl) de biofluides de manière précise et exacte. CMS s'est avéré supérieur aux prélèvements conventionnels en termes de volume d'échantillon réduit, de réduction des étapes de traitement et de stabilisation des métabolites labiles par une dilution ou un rinçage rapide de l'échantillon.

L'échantillon est prélevé dans un capillaire en verre (volume 1 à 35 μl) avec ou sans anticoagulant *Image 2 A et B* (Thangavelu et al. 2023). Le prélèvement se fait par capillarité. L'extrémité du capillaire est scellée avec de la cire et maintenue en position verticale. Le plasma ou le sérum est séparé par centrifugation, puis transféré dans un capillaire bout à bout. Cependant, pour les analytes ayant une forte affinité de liaison au verre, le CMS peut poser un problème (Coleman et al. 2017).

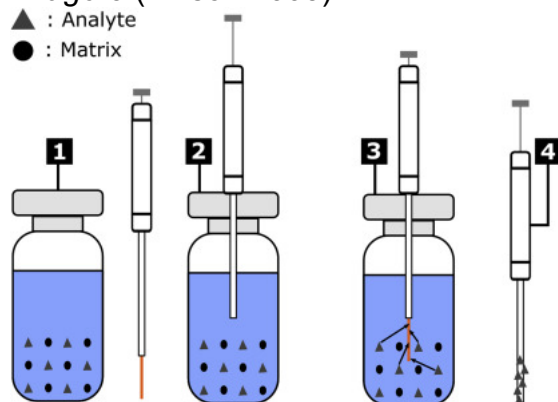
Image 2 (Thangavelu et al. 2023) :



Solid Phase Microextraction (SPME)

La SPME consiste en une fibre de silice fondue recouverte d'une phase stationnaire, généralement un polymère ou un mélange d'un adsorbant lié par un polymère. Le dispositif SPME permet de placer la fibre directement en contact avec des fluides biologiques, comme le sang total, le sérum, le plasma ou l'urine. Lors de l'exposition de la fibre à l'échantillon, les analytes voyagent dans le revêtement de la fibre jusqu'à l'équilibre avec la matrice de l'échantillon. Après un certain temps, la fibre est retirée de l'échantillon et les analytes sont libérés par des étapes d'extraction adaptées *Image 3* (Ian D. Wilson - AstraZeneca 2003). Les fibres SPME nécessitent des volumes d'échantillons minimaux et sont idéales pour les matrices sensibles ou difficiles (Olszowy et al. 2011).

Image 3 (Wilson 2003):



Volumetric Absorptive Microsampling (VAMS)

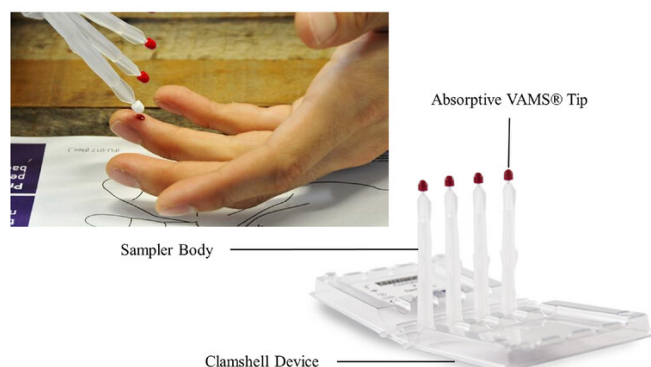
Les techniques de prélèvement plus récentes, comme le microsampling par absorption volumétrique (VAMS), permettent de réduire le volume de millilitres à microlitres (volume d'échantillon ~ 10 µl). Le dispositif VAMS garantit l'homogénéité de l'échantillon par un volume précis absorbé sur l'embout. Ce dispositif facilite le prétraitement de l'échantillon, l'étape de centrifugation de la matrice liquide ainsi que l'étape de sous-poinçonnage du DBS étant supprimées (Protti et al. 2018). L'effet de l'hématocrite (HCT) sur le volume de sang absorbé a été étudié et s'est avéré prometteur sur une large gamme, avec un effet moindre sur les résultats que la méthode DBS.

Cependant, de nombreuses études ont décrit un biais positif à faible valeur HCT, tandis qu'un biais négatif a été observé à une valeur HCT élevée (Kok and Fillet 2018). Le principal avantage du VAMS sur le DBS réside dans le fait que le VAMS permet une collecte précise et exacte des volumes sanguins pour la bioanalyse quantitative (Londhe and Rajadhyaksha 2020).

L'utilisation du VAMS et, en général du microsampling est prédominante dans les études non cliniques, en particulier dans la phase précoce du développement des médicaments. Les applications incluent une gamme de domaines comme la découverte de médicaments, le développement de médicaments, la toxicocinétique, le dépistage néonatal, les études animales, les essais cliniques, la surveillance thérapeutique des médicaments (Soenen et al. 2022), la métabolomique (Volani et al. 2023), la protéomique (Andersen et al. 2018) ainsi que la surveillance des biomarqueurs (Protti et al. 2022). La gamme d'analytes s'étend à diverses catégories comme les antimicrobiens et les antibiotiques (Barco et al. 2017; Takyi-Williams et al. 2024), le paracétamol (Boffel et al. 2022), les agents anticancéreux (Kip et al. 2017), les immunosuppresseurs et les médicaments antirhumatismaux (Bloem et al. 2018) ainsi que les métaux lourds (Koutsimpani-Wagner et al. 2022).

L'application du VAMS en médecine-dentaire, en particulier en parodontologie, montre des perspectives prometteuses en raison de l'association entre la parodontite et certaines maladies systémiques majeures telles que l'athérosclérose, le diabète ou les résultats de grossesse défavorables. Ces associations sont dues à la bactériémie et à l'inflammation systémique, avec des niveaux élevés de marqueurs inflammatoires trouvés chez les patients atteints de parodontite par rapport aux sujets sains (Loos et al. 2000; Slade et al. 2000). L'identification de ces marqueurs dans la circulation systémique est cliniquement et biologiquement pertinente pour comprendre et traiter les relations bidirectionnelles de ces maladies. L'utilisation du VAMS peut faciliter ce type d'approche analytique.

Image 4 (Thangavelu et al. 2023) :



Analyse des échantillons

Différentes méthodes sont décrites pour l'analyse des échantillons après microsampling. Le sang, le plasma ou le sérum sont généralement analysés par chromatographie en phase liquide-spectrométrie de masse (LC–MS/MS) ou immunoessai pour quantifier la concentration d'analytes et de métabolites associés, ainsi que des anticorps anti-médicament (ADAs), en fonction du poids moléculaire de l'analyte.

La LC–MS/MS est la méthode analytique de choix pour la quantification des analytes à partir de matrices biologiques comme le sang, le plasma, le sérum, le liquide céphalo-rachidien (LCR) ou l'urine, principalement en raison de l'amélioration de la spécificité et de la sensibilité (Londhe and Rajadhyaksha 2020).

De nombreuses études démontrent également que la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC–MS) offre une meilleure sélectivité, sensibilité et robustesse (Zakaria et al. 2016). Les avancées technologiques comme la chromatographie ultra haute performance en phase liquide (UHPLC) ont amélioré la résolution de la séparation des pics (Londhe and Rajadhyaksha 2020). La chromatographie bidimensionnelle (2D-C) a encore amélioré l'efficacité de la séparation, la sensibilité analytique, la précision et l'exactitude de la quantification. Certaines méthodes directes, comme l'électrospray ionisation en spectrométrie de masse (ESI-MS), ont été utilisées pour générer des ions à partir de la surface de l'échantillon (Zakaria et al. 2016). Pour quelques analytes, la méthode miniaturisée LC–MS/MS sans fluide a fourni une meilleure sensibilité par rapport à la méthode UHPLC–MS/MS (Nys et al. 2017). Ainsi, la chromatographie par interaction hydrophile (HILIC)–MS/MS a été choisie pour la détermination des acides aminés dans la métabolomique ciblée basée sur la spectrométrie de masse (Kok et al. 2019).

Les analyses PK/PD en parodontologie

Au-delà de l'analyse des métabolites biologiques, les études pharmacocinétiques sont également d'un grand intérêt en parodontologie. Des revues systématiques ont montré que les antibiotiques systémiques combinés à une thérapie parodontale non chirurgicale entraînent des améliorations cliniques significatives, en particulier pour

les poches profondes et les patients atteints de parodontite agressive (Herrera et al. 2002; Sgolastra et al. 2012). Les antibiotiques couramment administrés incluent l'amoxicilline (avec ou sans acide clavulanique), l'azithromycine, la clindamycine, la doxycycline, le métronidazole, la spiramycine, la tétracycline et leurs combinaisons (Slots, Research, and Therapy 2004). Cependant, il n'existe pas de preuves de haute qualité, suffisantes pour recommander des doses et des durées spécifiques de ces agents en fonction de leur distribution dans les tissus et fluides buccaux (Haffajee, Socransky, and Gunsolley 2003). L'obtention de concentrations efficaces est cruciale pour les résultats cliniques. Des études pharmacocinétiques bien structurées pourraient fournir des données essentielles pour optimiser les doses de médicaments utilisées pour traiter les infections comme la parodontite, améliorer les résultats cliniques, limiter la toxicité et réduire la résistance bactérienne. Pour faciliter la recherche dans ce domaine, le VAMS pourrait éventuellement être d'une grande utilité entre les mains des dentistes, remplaçant ainsi les prélèvements sanguins veineux.

Les principales caractéristiques PD-PK des trois principaux antibiotiques utilisés en thérapie parodontale sont listées ci-dessous.

L'amoxicilline est un dérivé semi-synthétique de la pénicilline G, appartenant à la classe des bêta-lactamines. Elle a été créée après l'ajout chimique d'un groupe « amino » supplémentaire sur la molécule de pénicilline afin de faire face à la résistance bactérienne. L'amoxicilline inhibe les protéines de liaison à la pénicilline, entraînant une régulation à la hausse des enzymes autolytiques et une inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire, ce qui lui confère une action bactéricide. L'amoxicilline couvre une large gamme de bactéries à Gram positif, avec une couverture supplémentaire pour certaines bactéries à Gram négatif par rapport à la pénicilline (Bodey 1972).

Les antibiotiques bactéricides, tels que l'amoxicilline, sont souvent qualifiés d'antibiotiques « temps-dépendants » plutôt que « concentration-dépendants ». Cela fait référence au temps pendant lequel les concentrations sériques dépassent la concentration minimale inhibitrice pour le micro-organisme sélectionné. Pour cette raison, ils doivent être administrés plus fréquemment, contrairement aux médicaments concentration-dépendants, qui peuvent être administrés, par exemple, une fois par jour. Un dosage ininterrompu permet d'obtenir des niveaux sériques plus stables.

L'amoxicilline présente une biodisponibilité d'environ 60 %, une demi-vie de 61,3 minutes et une clairance moyenne de 21,3 L/h, principalement par excrétion rénale. Le volume central de distribution de l'amoxicilline est de 27,7 L. Elle est liée aux protéines sériques à hauteur de 17 % (Carlier et al. 2013). Des doses de 125 mg à 1 g d'amoxicilline sont éliminées dans les urines à 70-78 % après 6 heures (Bodey 1972). Les surdoses légères ne sont pas associées à une toxicité significative.

Le métronidazole appartient à la classe des nitroimidazoles et est principalement utilisé pour traiter les infections gastro-intestinales ainsi que les infections parasitaires, telles que la trichomonase, la giardiase et l'amibiase. La caractéristique unique du métronidazole est son action antiparasitaire, qui le distingue des autres antibiotiques. La réduction du groupe « nitro » du métronidazole aboutit à un intermédiaire produit uniquement par les bactéries anaérobies et les protozoaires, qui se lie à l'ADN et aux protéines de transport d'électrons des microbes, bloquant ainsi la synthèse de l'ADN. Les effets cytotoxiques du médicament sont dus à ce mécanisme.

Lorsqu'il est administré sous forme de comprimé par voie orale, le métronidazole est entièrement absorbé, avec une biodisponibilité supérieure à 90 %. Une dose orale unique de 500 mg de métronidazole atteint une concentration sérique maximale (C_{max}) comprise entre 8 et 13 mg/L, et un T_{max} (temps pour atteindre le pic de concentration) de 25 minutes à 4 heures (Dingsdag and Hunter 2018; Lofmark, Edlund, and Nord 2010).

L'azithromycine appartient à la sous-classe des azalides des macrolides. C'est un antibiotique à large spectre, présentant une longue demi-vie et une forte absorption tissulaire. Il a une haute affinité pour l'ARNr 23S de la sous-unité ribosomique bactérienne 50S, se liant à celle-ci et bloquant la synthèse protéique. L'inhibition de l'étape de transpeptidation/translocation de la synthèse des protéines et de l'assemblage de la sous-unité ribosomique 50S confère aux macrolides leurs propriétés antibactériennes à large spectre.

Après administration orale, l'azithromycine est rapidement absorbée (T_{max} = 2-3 heures) et largement distribuée dans l'organisme. Son passage rapide du sang aux tissus entraîne des concentrations tissulaires significativement plus élevées que dans le plasma (jusqu'à 50 fois la concentration maximale observée dans le plasma). La biodisponibilité absolue est d'environ 37 %. Il atteint des concentrations plus élevées dans les organes plutôt que dans le sérum ou le plasma. Les poumons, les amygdales et la prostate présentent les taux de pénétration les plus élevés. Après l'administration d'une dose orale de 500 mg, la C_{max} est de 0,4 mcg/mL et est atteinte 2 à 3 heures après la prise, avec des aires sous la courbe de 2,6 mcg·hr/mL (AUC₀₋₂₄) et 3,7 mcg·hr/mL (AUC₀₋₄₈) et des concentrations résiduelles de 0,05 mcg/mL.

L'azithromycine est principalement métabolisée dans le foie, avec une excrétion biliaire comme principale voie d'élimination. Avec une demi-vie d'environ 68 heures, 6 % de la dose administrée d'azithromycine se retrouve sous forme inchangée dans l'urine une semaine après la dose initiale. La clairance plasmatique apparente moyenne est de 630 mL/min (après une dose orale et intraveineuse unique de 500 mg). Les valeurs élevées du volume de distribution à l'état d'équilibre (31,1 L/kg) et de la clairance plasmatique (630 mL/min) suggèrent que la demi-vie prolongée est due à une absorption importante et à une libération ultérieure du médicament à partir des tissus (Levison and Levison 2009).

Notre enquête émet l'hypothèse que la méthode de microsampling peut fournir des résultats précis dans les études pharmacocinétiques. Notre objectif est donc de comparer deux méthodes de prélèvement sanguin pour la quantification simultanée de trois antibiotiques les plus utilisés dans le traitement parodontal (l'amoxicilline (AMO), le métronidazole (MET) et l'azithromycine (AZI)). Les deux méthodes comparées incluent le plasma obtenu via le VAMS par ponction au doigt et le plasma obtenu par prélèvement intraveineux chez des patients atteints de parodontite (PP) et des patients parodontaux sains (PH).

REFERENCES

- Andersen, I. K. L., C. Rosting, A. Gjelstad, and T. G. Halvorsen. 2018. 'Volumetric absorptive MicroSampling vs. other blood sampling materials in LC-MS-based protein analysis - preliminary investigations', *J Pharm Biomed Anal*, 156: 239-46.
- Barco, S., E. Castagnola, A. Moscatelli, J. Rudge, G. Tripodi, and G. Cangemi. 2017. 'Volumetric adsorptive microsampling-liquid chromatography tandem mass spectrometry assay for the simultaneous quantification of four antibiotics in human blood: Method development, validation and comparison with dried blood spot', *J Pharm Biomed Anal*, 145: 704-10.
- Bloem, K., T. Schaap, R. Boshuizen, E. L. Kneepkens, G. J. Wolbink, A. Vries, and T. Rispen. 2018. 'Capillary blood microsampling to determine serum biopharmaceutical concentration: Mitra((R)) micro sampler vs dried blood spot', *Bioanalysis*, 10: 815-23.
- Bodey. 1972. 'Amoxicillin: In Vitro and Pharmacological Studies', *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1: 358-62.
- Boffel, L., L. Delahaye, L. De Baerdemaeker, and C. P. Stove. 2022. 'Application of a Volumetric Absorptive Microsampling (VAMS)-Based Method for the Determination of Paracetamol and Four of its Metabolites as a Tool for Pharmacokinetic Studies in Obese and Non-Obese Patients', *Clin Pharmacokinet*, 61: 1719-33.
- Burnett, J. E. 2011. 'Dried blood spot sampling: practical considerations and recommendation for use with preclinical studies', *Bioanalysis*, 3: 1099-107.
- Carlier, M., M. Noe, J. J. De Waele, V. Stove, A. G. Verstraete, J. Lipman, and J. A. Roberts. 2013. 'Population pharmacokinetics and dosing simulations of amoxicillin/clavulanic acid in critically ill patients', *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 68: 2600-8.
- Caron, A., C. Lelong, T. Bartels, O. Dorchie, T. Gury, C. Chalier, and V. Benning. 2015. 'Clinical and anatomic pathology effects of serial blood sampling in rat toxicology studies, using conventional or microsampling methods', *Regul Toxicol Pharmacol*, 72: 429-39.
- Chace, D. H., V. R. De Jesus, and A. R. Spitzer. 2014. 'Clinical chemistry and dried blood spots: increasing laboratory utilization by improved understanding of quantitative challenges', *Bioanalysis*, 6: 2791-4.
- Coleman, D., G. Smith, R. Lawrence, D. McManus, S. Diaram, and J. Edwards. 2017. 'Capillary microsampling in nonclinical safety assessment: practical sampling and bioanalysis from a CRO perspective', *Bioanalysis*, 9: 787-98.
- Denniff, P., and N. Spooner. 2010. 'The effect of hematocrit on assay bias when using DBS samples for the quantitative bioanalysis of drugs', *Bioanalysis*, 2: 1385-95.
- Dingsdag, S. A., and N. Hunter. 2018. 'Metronidazole: an update on metabolism, structure-cytotoxicity and resistance mechanisms', *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 73: 265-79.
- Group, ICH Expert Working. 1994. "Note for guidance on toxicokinetics: the assessment of systemic exposure in toxicity studies S3a." In *International conference on harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use*.

- Haffajee, A. D., S. S. Socransky, and J. C. Gunsolley. 2003. 'Systemic anti-infective periodontal therapy. A systematic review', *Ann Periodontol*, 8: 115-81.
- Herrera, D., M. Sanz, S. Jepsen, I. Needleman, and S. Roldan. 2002. 'A systematic review on the effect of systemic antimicrobials as an adjunct to scaling and root planing in periodontitis patients', *J Clin Periodontol*, 29 Suppl 3: 136-59; discussion 60-2.
- Kip, A. E., K. C. Kiers, H. Rosing, J. H. M. Schellens, J. H. Beijnen, and T. P. C. Dorlo. 2017. 'Volumetric absorptive microsampling (VAMS) as an alternative to conventional dried blood spots in the quantification of miltefosine in dried blood samples', *J Pharm Biomed Anal*, 135: 160-66.
- Kok, M. G. M., and M. Fillet. 2018. 'Volumetric absorptive microsampling: Current advances and applications', *J Pharm Biomed Anal*, 147: 288-96.
- Kok, M. G. M., C. Nix, G. Nys, and M. Fillet. 2019. 'Targeted metabolomics of whole blood using volumetric absorptive microsampling', *Talanta*, 197: 49-58.
- Koutsimpani-Wagner, A., C. Quartucci, J. P. K. Rooney, S. Bose-O'Reilly, and S. Rakete. 2022. 'Mercury biomonitoring in German adults using volumetric absorptive microsampling', *Environ Monit Assess*, 194: 315.
- Levison, M. E., and J. H. Levison. 2009. 'Pharmacokinetics and pharmacodynamics of antibacterial agents', *Infect Dis Clin North Am*, 23: 791-815, vii.
- Lofmark, S., C. Edlund, and C. E. Nord. 2010. 'Metronidazole is still the drug of choice for treatment of anaerobic infections', *Clinical Infectious Diseases*, 50 Suppl 1: S16-23.
- Londhe, V., and M. Rajadhyaksha. 2020. 'Opportunities and obstacles for microsampling techniques in bioanalysis: Special focus on DBS and VAMS', *J Pharm Biomed Anal*, 182: 113102.
- Loos, B. G., J. Craandijk, F. J. Hoek, P. M. Wertheim-van Dillen, and U. van der Velden. 2000. 'Elevation of systemic markers related to cardiovascular diseases in the peripheral blood of periodontitis patients', *J Periodontol*, 71: 1528-34.
- Nys, G., A. Gallez, M. G. M. Kok, G. Cobraiville, A. C. Servais, G. Piel, C. Pequeux, and M. Fillet. 2017. 'Whole blood microsampling for the quantitation of estetrol without derivatization by liquid chromatography-tandem mass spectrometry', *J Pharm Biomed Anal*, 140: 258-65.
- Olszowy, P., M. Szultka, J. Nowaczyk, and B. Buszewski. 2011. 'A new way of solid-phase microextraction fibers preparation for selected antibiotic drug determination by HPLC-MS', *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 879: 2542-8.
- Protti, M., M. C. Catapano, B. G. Samolsky Dekel, J. Rudge, G. Gerra, L. Somaini, R. Mandrioli, and L. Mercolini. 2018. 'Determination of oxycodone and its major metabolites in haematic and urinary matrices: Comparison of traditional and miniaturised sampling approaches', *J Pharm Biomed Anal*, 152: 204-14.
- Protti, M., M. Cirrincione, R. Mandrioli, J. Rudge, L. Regazzoni, V. Valsecchi, C. Volpi, and L. Mercolini. 2022. 'Volumetric Absorptive Microsampling (VAMS) for Targeted LC-MS/MS Determination of Tryptophan-Related Biomarkers', *Molecules*, 27.
- Sgolastra, F., A. Petrucci, R. Gatto, and A. Monaco. 2012. 'Effectiveness of systemic amoxicillin/metronidazole as an adjunctive therapy to full-mouth scaling and root planing in the treatment of aggressive periodontitis: a systematic review and meta-analysis', *J Periodontol*, 83: 731-43.

- Slade, G. D., S. Offenbacher, J. D. Beck, G. Heiss, and J. S. Pankow. 2000. 'Acute-phase inflammatory response to periodontal disease in the US population', *J Dent Res*, 79: 49-57.
- Slots, J., Science Research, and Committee Therapy. 2004. 'Systemic antibiotics in periodontics', *J Periodontol*, 75: 1553-65.
- Soenen, R., C. Stove, A. Capobianco, H. De Schutter, M. Dobbelaere, T. Mahjor, M. Follens, J. Lambert, and L. Grine. 2022. 'Promising Tools to Facilitate the Implementation of TDM of Biologics in Clinical Practice', *J Clin Med*, 11.
- Spooner, N., P. Denniff, L. Michielsen, R. De Vries, Q. C. Ji, M. E. Arnold, K. Woods, E. J. Woolf, Y. Xu, V. Boutet, P. Zane, S. Kushon, and J. B. Rudge. 2015. 'A device for dried blood microsampling in quantitative bioanalysis: overcoming the issues associated blood hematocrit', *Bioanalysis*, 7: 653-9.
- Takyi-Williams, J., A. D. Leino, R. Li, K. J. Downes, A. F. Zuppa, A. Bwint, B. Wen, D. Sun, M. H. Scheetz, and M. P. Pai. 2024. 'Bioanalysis of six antibiotics from volumetric microsamples: a new tool for precision dosing in critically ill children', *Bioanalysis*, 16: 19-31.
- Thangavelu, M. U., B. Wouters, A. Kindt, I. K. M. Reiss, and T. Hankemeier. 2023. 'Blood microsampling technologies: Innovations and applications in 2022', *Anal Sci Adv*, 4: 154-80.
- Volani, C., C. Malfertheiner, G. Caprioli, S. Fjelstrup, P.P. Pramstaller, J. Rainer, and G. Paglia. 2023. 'VAMS-Based Blood Capillary Sampling for Mass Spectrometry-Based Human Metabolomics Studies', *Metabolites*, 13.
- Welink, J., E. Yang, N. Hughes, B. Rago, E. Woolf, J. Sydor, L. Coppola, B. Ackermann, W. Li, S. C. Alley, M. Arnold, I. Berger, C. Briscoe, M. Buonarati, M. Bustard, M. Cancilla, S. J. Cho, J. Duggan, D. Fraier, F. Garofolo, R. Green, S. Haidar, L. Hittle, A. Ishii-Watabe, R. Islam, R. Jenkins, B. Jones, J. Kadavil, S. Kassim, O. Kavetska, O. L. Blaye, A. Lee, H. Liu, J. Mehl, G. M. Lima Santos, A. Musuku, R. Ramanathan, Y. Saito, N. Savoie, S. Summerfield, S. Surapaneni, M. Szapacs, N. Tampal, T. Verhaeghe, S. Vinter, and E. Whale. 2017. '2017 White Paper on recent issues in bioanalysis: aren't BMV guidance/guidelines 'Scientific'? (Part 1 - LCMS: small molecules, peptides and small molecule biomarkers)', *Bioanalysis*, 9: 1807-25.
- Wilson, I.D., AstraZeneca, Macclesfield, U.K. 2003. *Handbook of Analytical Separations*.
- Zakaria, R., K. J. Allen, J. J. Koplin, P. Roche, and R. F. Greaves. 2016. 'Advantages and Challenges of Dried Blood Spot Analysis by Mass Spectrometry Across the Total Testing Process', *EJIFCC*, 27: 288-317.

Submitted in Clinical Oral Investigations 07.03.2025

A comparison between venous blood sampling and capillary volumetric absorptive microsampling for antibiotics levels monitoring in individuals with and without periodontal disease

Ioanna Lazaridi¹, Eva Choong², Thomas Mercier², Laurent A. Decosterd², Catherine Giannopoulou¹, Alkisti Zekeridou^{1*}

¹ Division of regenerative dental medicine and periodontology, University clinics of dental medicine, University of Geneva, Geneva, Switzerland

²Laboratory & Service of Clinical Pharmacology, Department of Laboratory Medicine and Pathology, University Hospital of Lausanne and University of Lausanne, Switzerland

Corresponding author: Alkisti Zekeridou, alkisti.zekeridou@unige.ch

Abstract:

Objectives: We aimed to compare the antibiotic concentrations obtained using the volumetric absorptive microsampling (VAMS) devices with those determined in plasma from conventional venous blood collected within the frame of a pharmacokinetic study of amoxicillin (AMO), metronidazole (MET), azithromycin (AZI), commonly used for periodontal treatment. The suitability and overall, acceptability of the VAMS approach was also ascertained by both participants of the pilot study and dentist practitioners.

Materials and Methods: Twelve volunteers (6 subjects without periodontal problems (PH), and 6 individuals affected with periodontitis (PP)) were administered 500 mg each of amoxicillin, metronidazole, and azithromycin. Paired venous blood (VB) and capillary VAMS samples were collected at 2-, 6-, 10-, 24-, 48- and 96-hours post-antibiotics administration. Antibiotic concentrations were determined using multiplex liquid chromatography coupled tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). Statistical analyses included Mann-Whitney U tests and t-tests.

Results: Significant differences in antibiotic concentrations were observed between VAMS and venous blood (VB) collection methods, across different time points for the three antibiotics ($p < 0.05$). AMO concentrations in VB were 3.5-fold higher ($p < 0.01$) than in VAMS at early time points (2, 6, 10 hours (h)). MET levels in VB were 1.5-fold higher than in VAMS at 2h and 6h, ($p < 0.01$), but this difference disappeared after 10h. Alternately, while AZI levels were similar in VB and VAMS 2 h after administration, AZI concentrations in VB and VAMS declined non parallelly, with VB levels decreasing to about 60 to 25% of those measured in VAMS over the observed 96h interval. Antibiotic exposures were not different in the PH and PP groups.

Differences in antibiotics concentrations determined in VB and VAMS samples are a direct consequence of i) the matrices used for analyses (plasma in VB, vs whole blood with VAMS), ii) the subjects' hematocrit, and iii) the distinct cell distribution pattern of antibiotics with AMO characterized by a weak penetration in red blood cells (RBC) while AZI tends to progressively concentrate into RBC. MET was present at higher concentrations in plasma until 6h which thereafter tended to re-equilibrate equally in plasma and RBC.

Conclusion: Though VAMS yielded significantly different results compared to plasma, it effectively reflects the concentration evolution of the antibiotics and could be an alternative in pharmacokinetic studies and therapeutic monitoring.

Clinical Relevance: VAMS holds promise in advancing therapeutic drug monitoring in periodontal research and clinical practice. Being less invasive than venous puncture it is well accepted by subjects and facilitate blood monitoring in clinical trials and non-hospital settings. Its minimal invasiveness and simplified logistics make it suitable for enhancing precision medicine and pharmaceutical approaches in periodontology.

Introduction

The measurement of biochemical markers for health monitoring, disease diagnosis, and inflammatory markers identification, is generally performed with blood samples (~2-5 ml aliquots) collected by venipuncture and sent to centralized laboratories for centrifugation, and serum/plasma collection and storage [1]. However, analytical methods are becoming increasingly sensitive allowing a marked reduction in the required volume sample for analyses, particularly through microsampling approaches. Unlike the traditional venipuncture, which requires the collection of at least 1 mL of blood, microsampling typically requires 10 to 20 μ L of blood and generally much less than 100 μ L. One of the earliest methods, the dried blood spot (DBS) approach, is widely used for newborn screening of metabolic diseases [2].

In recent years, volumetric absorptive microsampling (VAMS) has emerged, offering the advantage of providing a fixed volume of collected blood, which improves analyte quantification regardless of hematocrit [3, 4]. VAMS involves a minimally invasive finger prick and allows for easy blood collection and storage without requiring venous access [5]. Importantly, this technique is well accepted by patients [6]. It is particularly suitable for blood collection outside hospital settings, where trained medical staff may not be available and, it simplifies sampling procedures in large-scale clinical studies.

The standardized 10 μ L volume in VAMS offers significant advantages over DBS, particularly in terms of volume accuracy and hematocrit independence and pre-treatment. By ensuring a precise volume collection, VAMS reduces variability caused by hematocrit effects, leading to more accurate and reliable results [7].

However, a notable disadvantage of VAMS is its limitation in measuring concentration in whole blood, which can be problematic when plasma-based monitoring is required. Since certain analytes exhibit different concentrations in plasma compared to whole blood, direct comparisons or interpretations can be challenging. In such cases, additional steps or correction factors may be necessary to accurately correlate whole blood measurements with plasma concentrations [8].

VAMS has proven to be a valuable alternative tool in therapeutic drug monitoring (TDM) and for clinical pharmacokinetics studies [1]. According to the literature, VAMS has been used to identify inflammatory markers and holds potential in the field of dentistry, particularly periodontology, to study the association between periodontitis and various major systemic diseases such as atherosclerosis, diabetes, and adverse pregnancy outcomes [9]. These conditions are driven by bacteremia and systemic inflammation, with elevated inflammatory markers levels observed in periodontitis patients compared to healthy subjects [10, 11]. Identifying these markers in systemic circulation is both clinically and biologically relevant for investigating and addressing the bidirectional relationships among these diseases. The integration of VAMS could facilitate such analytical approaches.

Moreover, there is a growing interest in periodontology to evaluate the local and systemic distribution of antibiotics in patients undergoing dental treatment. The administration of systemic antibiotics in combination with non-surgical periodontal therapy, has shown significant clinical benefits, particularly for patients with deep periodontal pockets and aggressive periodontitis [12, 13]. Commonly used antibiotics include amoxicillin (with or without clavulanic acid), azithromycin, clindamycin, doxycycline, metronidazole, spiramycin, tetracycline, and their various combinations [14]. However, robust, evidence-based data remain insufficient to recommend a specific dosage regimen and, or optimal treatment duration for these agents. This knowledge gap primarily stems from limited data on antibiotic distribution in deep pockets, oral tissues and crevicular fluid [15], and on the optimal antibiotic concentrations required to improve clinical outcomes. Consequently, well-designed pharmacokinetic studies are necessary to optimize antibiotic selection and dosing regimens ensuring effective treatment of periodontitis, while enhancing clinical outcomes, minimizing toxicity, and reducing bacterial resistance emergence. For such investigations, the VAMS devices would offer a practical solution for dentists eliminating the need for traditional, invasive venous blood sampling.

Considering these clinical and research needs, the aim of our study was to compare two blood sampling methods for the simultaneous quantification of the three most used antibiotics in periodontal treatment: amoxicillin (AMO), metronidazole (MET), and azithromycin (AZI). These sampling approaches were evaluated in individuals with or without periodontitis, involving capillary blood collection by finger prick using VAMS, alongside parallel venous blood collection through the traditional venipuncture.

Materials and Methods

Ethical Approval

This is a pilot single-center, interventional prospective clinical study. The protocol was approved by the Ethical Committee of the University Hospitals of Geneva, Geneva, Switzerland, (N° 2022-00179) and was authorized by the Swiss Agency for Therapeutic Products (Swissmedic, Bern, Switzerland N° 701353). Research was conducted according to the principles outlined in the Declaration of Helsinki on experimentation involving human subjects. Written informed consent was provided by every patient before study inclusion and evaluation of recorded medical data. The study was supported by the Swiss National Science Foundation (Grant 32003B_212578/1) and funded partially by the SSP (Suisse Society of periodontology).

Subjects

Subjects were recruited from the pool of patients seeking treatment in the Division of Regenerative Dental Medicine and Periodontology of the University Clinics of Dental Medicine between June 2022 and December 2022. Six periodontally healthy (PH) and six periodontally compromised volunteers aged between 29 and 56 years old were recruited. For inclusion, periodontitis patients (PP) had to present at least two teeth in the mouth with probing depth (PD) >6mm with bleeding on probing (BOP) and radiographic bone loss [16]. Periodontally healthy participants (PH) presented no teeth with PD>4mm and had a total BOP score < 10%. To be included, participants should have no known contraindications (e.g. known hypersensitivity or allergy) to the study drugs AMO, AZI, MET, nor liver impairment or QT prolongation (extended QT interval on an electrocardiogram (ECG), which represents the time it takes for the heart's ventricles to depolarize and repolarize. This prolongation increases the risk of ventricular arrhythmias, particularly torsades de pointes (TdP)). Exclusion criteria comprise history of systemic diseases, (cancer, HIV infection, bone metabolic diseases, radiation or immunosuppressive therapy), pregnancy or lactation, drug or alcohol abuse, and finally inability to understand and sign the informed consent form because of language problems or psychological disorders. All adverse events were recorded throughout the study.

Sample collection

Blood samples were collected in twelve volunteers (4 women and 8 men, aged 29 - 56 years old), at the Clinical Research Center of the University Hospital of Geneva (HUG). Each participant received *per os* the three antibiotics: 500mg of AMO (Sandoz Pharmaceuticals AG, Switzerland), 500mg of MET (Sanofi-Aventis SA, Switzerland), and 500mg of AZI (Pfizer PFE GmbH, Switzerland). Paired venous whole blood and capillary blood (i.e. VAMS) samples were collected through devices (MITRA, Neoteryx, Torrance, CA, USA). VAMS samples were collected by trained healthcare professionals at the hospital service. Using an IV canula (veflon), venous blood sample (6mL) was collected on EDTA anticoagulant, at 2, 6 and 10, 24, 48, and 96 hours after drug administration (T2, T6, T10, T24, T48, and T96, respectively). Following collection, the venous blood samples were centrifuged at 2000g for 10 min at +4°C. The plasma was then separated and stored at -80°C until analysis.

In parallel, a capillary blood sample was obtained by finger prick, and blood was collected using a VAMS 10 µL-device at the same time points (T2, T6, T10, T24, T48, and T96). The VAMS samples were prepared following the manufacturer's instructions: the distal part of the tip was gently immersed in a drop of capillary blood, ensuring that the device was not fully submerged to prevent overfilling. After sample absorption, the tips were left to dry for two minutes before being placed on a dedicated rack and air-dried for 1 hour at room temperature. The samples were stored at -80°C in a sealed plastic box as per manufacturer recommendations.

AMO, MET, and AZI concentrations were quantified simultaneously in plasma and VAMS extracts using an in-house fully validated multiplex liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) methods. The process employed the respective stable isotopically labeled internal standards and matrix-matched calibration samples. The chromatographic separations were performed using a Waters XSelect HSS T3 2.1 x 75 mm, 3.5 µm column (Waters®, Milford, MA, USA) in gradient mode, with a mobile phase composed of 0.2 % formic acid and acetonitrile. AMO,

MET, and AZI were detected by triple-stage quadrupole mass spectrometer Quantis (Thermo Fischer Scientific, Waltham, MA, USA) equipped with an electrospray ionization (ESI) interface in positive mode. The Spray Voltage was set at 3500V, a Capillary Temperature at 300°C, and a Collision Gas Pressure of 1.5mTorr. The lower limit of quantification was 10 ng/ml for AMO and AZI, and 20 ng/ml for MET in both matrixes.

Statistical analysis

To test for a significant difference in antibiotic concentration between the two methods, Mann-Whitney U tests and t-tests were conducted for each drug at each time point. This was tested for the whole population and within each group (PH vs PP). The statistical software Statistics 26 (IBM SPSS etc) was used for calculations and p values of <0.05 were considered statistically significant and <0.005 were considered highly statistically significant.

Results

A total of twelve subjects participated in and completed the study, with 6 being periodontally healthy and 6 having periodontitis. **Table 1** presents the demographic information of the study participants. Seven subjects were systemically healthy, with no concomitant diseases. Among the PP group, one had type II diabetes managed through diet and exercise, another had hypertension, one had undergone thyroid removal, and another suffered from depression and prostatic hyperplasia. Additionally, 16.7% of the participants were smokers (2 out of 12). The PH group was significantly younger, as younger individuals typically exhibit a lower prevalence of periodontal disease [17]. However, both groups were matched for all other criteria.

Table 1. Demographics of study participants in periodontally healthy (PH) and periodontally diseased individuals (PP).

Variables	PH (N = 6)	PP (N= 6)	Total (N = 12)	P value
Age (years)	33 ± 5	49± 5	41 ± 11	0.024
Height (cm)	175± 9	178± 9	177 ± 13	0.099
Weight (kg)	80± 20	92± 17	86 ± 17	0.350
BMI (kg/m ²)	25.5± 13	28.9± 3	27.2± 3	0.294

Notes: Data are summarized as arithmetic mean ± standard deviation. P values were derived using the Mann-Whitney U test and the independent t-test. Abbreviation: BMI, body mass index, p value: significant p<0.05

The mean blood concentration profiles of AMO, MET, and AZI at different time points, collected via both plasma and VAMS, are illustrated in detail in **Table 2** and **Figure 1**. Significant differences in antibiotic concentrations were observed between volumetric absorptive microsampling (VAMS) and venous blood (VB) collection methods at various time points for the three antibiotics under study ($p < 0.05$). The magnitude and direction of these differences varied depending on the specific antibiotic and the time of measurement, reflecting distinct pharmacokinetic behaviors.

For AMO, concentrations measured in VB were approximately 3.5-fold higher than those in VAMS at early time points (2-, 6-, and 10 hours post-administration; $p = 0.002$ for each). At T2, the mean VB concentration was 8606 ± 5497 ng/mL (CV = 63.9%) compared to 2452 ± 1062 ng/mL (CV = 43.3%) in VAMS. This trend persisted

at T6 and T10 but was longer statistically significant by 24 hours ($p = 0.317$). AMO concentrations became undetectable in both VB and VAMS at T48 and T96. This pattern aligns with AMO's known pharmacokinetic profile and suggests that VAMS can adequately track its clearance over time, even though initial concentrations may be underestimated.

For MET, significant differences in concentrations were observed at T2 and T6, with VB levels approximately 1.5-fold higher at T2 ($p = 0.002$), where VB concentrations were 10.061 ± 6477 ng/mL (CV = 64.3%) versus 6909 ± 2345 ng/mL (CV = 33.9%) in VAMS. At T6, VB levels remained significantly higher (6007 ± 1294 ng/mL, CV = 21.5%) compared to VAMS (4909 ± 1121 ng/mL, CV = 22.8%) with a VB/VAMS ratio of 1.2 ($p = 0.002$). However, at T10, concentrations equalize between the two matrices, and no statistically significant differences are observed at later points ($p = 0.753, 0.463, 0.062$, and 0.655 at 10, 24, 48, and 96 hours, respectively). The observed convergence in concentrations after 6 hours suggests that MET distributes more evenly between plasma and whole blood over time.

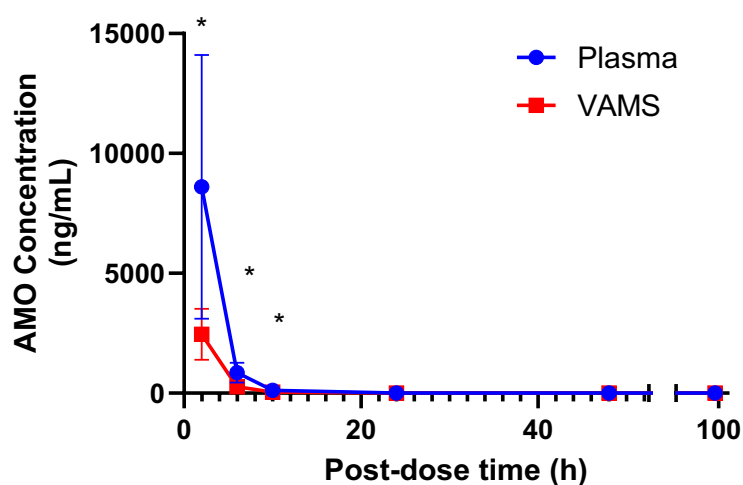
AZI displayed a distinct pattern compared to AMO and MET. While there was no significant difference at T2 ($p = 0.6$), VAMS concentrations remained consistently higher than VB from T6 onwards ($p = 0.002$ at 6, 10, 24, and $p = 0.003$ at 48 and 96 hours), AZI concentrations measured via VAMS were consistently higher than those in VB. At T6, VB concentrations were 113 ± 47 ng/mL (CV = 41.4%) compared to 202 ± 54 ng/mL (CV = 26.7%) in VAMS, with a VB/VAMS ratio of 0.6. This pattern persisted, with VB values declining to approximately 40% to 30% of VAMS values at T48 and T96. For example, at T96, VB concentrations were 6.9 ± 3.2 ng/mL (CV = 46.4%) versus 27.3 ± 10.1 ng/mL (CV = 36.9%) in VAMS ($p = 0.003$, VB/VAMS ratio = 0.3). This pattern is consistent with AZI's known intracellular accumulation and prolonged retention in red blood cells.

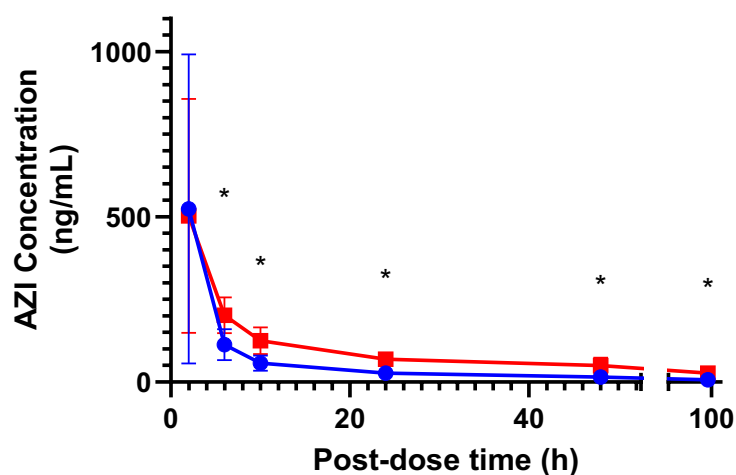
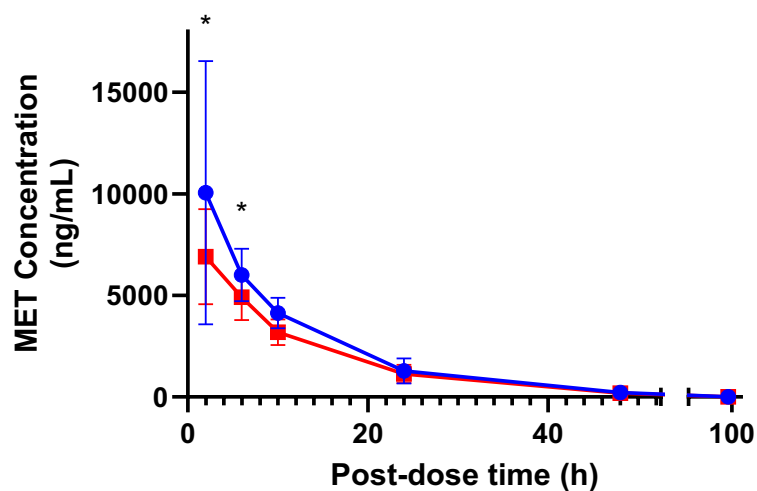
Table 2: Mean (SD) antibiotic concentration (ng/mL) over time (hours) in all subjects (n=12)

Time (h)	AMO Plasma (ng/mL $\pm$ SD / CV%)	AMO VAMS (ng/mL $\pm$ SD / CV%)	p (AMO)	Ratio Plasma/VAMS (AMO)	MET Plasma (ng/mL $\pm$ SD / CV%)	MET VAMS (ng/mL $\pm$ SD / CV%)	p (MET)	Ratio Plasma/VAMS (MET)	AZI Plasma (ng/mL $\pm$ SD / CV%)	AZI VAMS (ng/mL $\pm$ SD / CV%)	p (AZI)	Ratio Plasma/VAMS (AZI)
2	8606 $\pm$ 5497 (64%)	2452 $\pm$ 1062 (43%)	<u>0.002</u>	3.5	10061 $\pm$ 6477 (64%)	6909 $\pm$ 2345 (34%)	<u>0.002</u>	1.5	524 $\pm$ 468 (89%)	503 $\pm$ 354 (70%)	0.6	1
6	853 $\pm$ 419 (49%)	267 $\pm$ 127 (48%)	<u>0.002</u>	3.2	6007 $\pm$ 1294 (22%)	4909 $\pm$ 1121 (23%)	<u>0.002</u>	1.2	113 $\pm$ 47 (41%)	202 $\pm$ 54 (27%)	<u>0.002</u>	0.6
10	123 $\pm$ 84 (68%)	39 $\pm$ 21 (54%)	<u>0.002</u>	3.2	4139 $\pm$ 754 (18%)	3189 $\pm$ 639 (20%)	0.753	1.3	57 $\pm$ 23 (40%)	125 $\pm$ 40 (32%)	<u>0.002</u>	0.5
24	0.6 $\pm$ 2.2 (366%)	0.0	0.317	-	1285 $\pm$ 623 (48%)	1130 $\pm$ 451 (40%)	0.463	1.1	27 $\pm$ 10 (38%)	69 $\pm$ 21 (30%)	<u>0.002</u>	0.4
48	0.0	0.0	1.0	-	219 $\pm$ 196 (89%)	187 $\pm$ 161 (86%)	0.062	1.2	15 $\pm$ 8 (52%)	50 $\pm$ 24 (48%)	<u>0.003</u>	0.3
96	0.0	0.0	1.0	-	8.8 $\pm$ 17.6 (200%)	8.7 $\pm$ 19.8 (227%)	0.655	1	6.9 $\pm$ 3.2 (46%)	27.3 $\pm$ 10.1 (37%)	<u>0.003</u>	0.3

H: hours after antibiotic intake, AMO: amoxicillin, MET: metronidazole, AZI: azithromycin, p value: significant $p < 0.005$

Figure 1: Mean antibiotic concentration (ng/mL) over time (hours) in all subjects (n=12)





*: significant different, AMO: amoxicillin, MET: metronidazole, AZI: azithromycin

Additionally, no significant differences in the pharmacokinetic profiles of any antibiotics were observed between healthy individuals and those with periodontitis. This suggests that periodontitis does not significantly impact the absorption, distribution, or elimination of AMO, MET, or AZI. (**Table 3**).

Table 3: Mean antibiotic concentrations (ng/ml) over time (hours after intake) PH (n=6) vs PP (n=6)

Hours after intake	2	<i>p-value</i>	6	<i>p-value</i>	10	<i>p-value</i>	24	<i>p-value</i>	48	<i>p-value</i>	96	<i>p-value</i>
Amoxicillin PLASMA PH (ng/mL ± SD / CV%)	10592 ± 7269 / 69%	0.1135	843 ± 540 / 64%	0.9244	89 ± 37 / 42%	0.0722	0 ± 0 / 0%	0.2134	0 ± 0 / 0%	N/A	0 ± 0 / 0%	N/A
Amoxicillin PLASMA PP (ng/mL ± SD / CV%)	6620 ± 2046 / 31%		862 ± 306 / 35%		158 ± 107 / 68%		1 ± 3 / 245%		0 ± 0 / 0%		0 ± 0 / 0%	
Amoxicillin VAMS PH (ng/mL ± SD / CV%)	2351 ± 1219 / 52%	0.6892	273 ± 167 / 61%	0.8325	32 ± 13 / 40%	0.1485	0 ± 0 / 0%	N/A	0 ± 0 / 0%	N/A	0 ± 0 / 0%	N/A
Amoxicillin VAMS PP (ng/mL ± SD / CV%)	2553 ± 987 / 39%		260 ± 87 / 34%		46 ± 26 / 57%		0 ± 0 / 0%		0 ± 0 / 0%		0 ± 0 / 0%	
Metronidazole PLASMA PH (ng/mL ± SD / CV%)	12688 ± 8641 / 68%	0.0723	6050 ± 1445 / 24%	0.8888	4027 ± 859 / 21%	0.5284	1302 ± 512 / 39%	0.9083	198 ± 181 / 92%	0.6472	6 ± 15 / 245%	0.532
Metronidazole PLASMA PP (ng/mL ± SD / CV%)	7434 ± 1032 / 14%		5964 ± 1262 / 21%		4251 ± 694 / 16%		1268 ± 769 / 61%		241 ± 224 / 93%		11 ± 21 / 183%	
Metronidazole VAMS PH (ng/mL ± SD / CV%)	6811 ± 2793 / 41%	0.8615	5110 ± 1184 / 23%	0.4463	3275 ± 687 / 21%	0.5695	1126 ± 479 / 43%	0.9684	177 ± 162 / 92%	0.772	10 ± 23 / 245%	0.849
Metronidazole VAMS PP (ng/mL ± SD / CV%)	7006 ± 2067 / 30%		4708 ± 1124 / 24%		3103 ± 639 / 21%		1134 ± 467 / 41%		199 ± 178 / 89%		8 ± 17 / 224%	
Azithromycin PLASMA PH (ng/mL ± SD / CV%)	594 ± 367 / 62%	0.5309	111 ± 56 / 51%	0.805	57 ± 25 / 44%	0.9325	29 ± 11 / 39%	0.4944	15 ± 6 / 41%	0.9479	7 ± 1 / 21%	0.698
Azithromycin PLASMA PP (ng/mL ± SD / CV%)	455 ± 579 / 127%		116 ± 40 / 35%		56 ± 22 / 40%		25 ± 10 / 41%		15 ± 10 / 62%		7 ± 5 / 63%	
Azithromycin VAMS healthy (ng/mL ± SD / CV%)	521 ± 286 / 55%	0.8342	209 ± 67 / 32%	0.584	133 ± 41 / 31%	0.3937	74 ± 23 / 30%	0.3664	52 ± 28 / 53%	0.6912	28 ± 9 / 32%	0.7858
Azithromycin VAMS perio (ng/mL ± SD / CV%)	486 ± 439 / 90%		195 ± 44 / 23%		117 ± 41 / 35%		65 ± 20 / 31%		48 ± 22 / 45%		27 ± 12 / 46%	

PH: participants without periodontal problems, PP: participants affected with periodontitis

Discussion

This study investigated the pharmacokinetics of AMO, MET, and AZI using both venous blood (VB) and volumetric absorptive microsampling (VAMS). VAMS has gained increasing attention in therapeutic drug monitoring (TDM) due to its minimally invasive nature and suitability for remote sampling. Our findings demonstrate that VAMS provides a reliable alternative for antibiotic pharmacokinetic assessments, albeit with some systematic differences compared to plasma-based venous blood sampling. The observed differences between VB and VAMS can be attributed to several factors, including analyte partitioning between plasma and red blood cells, matrix composition, and potential hematocrit effects. AMO, being primarily confined to plasma, exhibited higher concentrations in VB at early time points, whereas AZI, known for its intracellular accumulation, showed significantly higher concentrations in VAMS at later time points. MET displayed an intermediate profile, with early differences that later converged between the two matrices. These findings align with previous reports indicating that VAMS captures whole-blood drug levels, which may differ from plasma concentrations due to cell-associated drug distribution. This highlights the importance of considering the sampling matrix when interpreting pharmacokinetic data and the therapeutic range.

Despite these differences, VAMS accurately reflected the concentration evolution of all three antibiotics, demonstrating its potential as a viable alternative for pharmacokinetic studies, particularly in outpatient and non-hospital settings. The convenience and acceptability of VAMS, especially for patient-centric monitoring, underscore its potential for broader applications in clinical pharmacology and precision medicine.

Various studies have investigated the applicability of VAMS across diverse compounds, demonstrating its potential through proof-of-concept validations [18-24].

The VAMS method is also predominant in preclinical studies, especially in the early phase of drug development. Applications include a range of areas such as drug discovery, drug development, toxicokinetics, newborn screening, animal studies, clinical trials, therapeutic drug monitoring [25], metabolomics [26], proteomics [27], and biomarkers monitoring [28]. The range of analytes is extended to various categories like antimicrobials and antibiotics [29, 30], paracetamol [31], anticancer agents [32], immunosuppressants, and antirheumatic drugs [5] and heavy metals [33].

According to a recent systematic review, there is increasing interest in using microsampling to generate and validate pharmacokinetic data, particularly to optimize antibiotic dosing. Studies typically compare data from conventional plasma samples with microsamples, revealing occasional discrepancies. The authors of the systematic review suggest that standardized validation tests specific to microsampling across biological fluids are essential to enhance confidence in clinical applications of VAMS [1].

In that scope, the present study aimed to compare the VB sampling and VAMS for determining the pharmacokinetic profiles of three antibiotics—AMO, MET and AZI. A total of 12 subjects, comprising 6 periodontally healthy individuals and 6 subjects with periodontitis, were enrolled. The study subjects were evenly matched in demographic

characteristics, showing no notable disparities in height, weight, or BMI between those classified as periodontally healthy and those with periodontal disease. Participants in the PH group were slightly younger, which can be attributed to the higher prevalence of periodontal disease in older individuals. Most subjects were systemically healthy, although some periodontal patients had conditions, which could potentially influence drug metabolism and pharmacokinetics. However, the presence of these conditions did not significantly impact the overall pharmacokinetic profiles of the antibiotics studied, as indicated by the lack of significant differences between the healthy and periodontitis groups.

Our results show distinct pharmacokinetic patterns for each antibiotic depending on the method of blood collection and provide insights into the applicability of VAMS in clinical settings. The choice between whole blood and plasma sampling can significantly influence the pharmacokinetic profiling of antibiotics such as AMO, MET and AZI. Whole blood contains all cellular components, including red blood cells, white blood cells, and platelets, in addition to plasma, while plasma is the acellular fluid obtained by centrifuging whole blood collected with anticoagulants. The distribution of antibiotics between plasma and blood cells can substantially affect the measured drug concentrations. For instance, lipophilic antibiotics like AZI ($\log P \sim 3$) [34] may distribute into red blood cells, leading to higher concentrations in whole blood compared to plasma. In contrast, more hydrophilic antibiotics like AMO ($\log P \sim 0.7$) [34] and even MET ($\log P \sim 1.7$) [34], are more distributed in the aqueous plasma phase, resulting in more consistent concentration measurements between the two matrices [35-37].

More specifically in our study, AMO exhibited higher plasma concentrations at all time points when measured via VB compared to VAMS. This trend aligns with the known distribution of amoxicillin, which is primarily restricted to plasma due to its limited penetration into red blood cells [38].

MET showed comparable concentration profiles between VB and VAMS at most time points. However, significant differences were observed at 2 and 6 hours ($p < 0.005$), with notably higher plasma concentrations measured in VB. This observation may be attributed to differences in the diffusion of MET across red blood cells, as MET is known to partition more evenly between plasma and whole blood over time.

AZI displayed higher concentrations in VAMS samples at later time points compared to VB, suggesting slower elimination or prolonged presence when measured via VAMS. This may be linked to AZI affinity for intracellular compartments, particularly red blood cells [39]. The higher concentrations detected in VAMS may also be related to the whole blood sampling approach of VAMS, which captures intracellular drug content. Similar findings were reported by Denniff *et al.*, who observed higher maximum concentrations (C_{max}) for paracetamol using VAMS in comparison to conventional EDTA-tube collection in rats. Given its $\log P$ of 0.5, this difference is unlikely to be related to its hydrophilic-lipophilic balance [40]. Such evidence supports the ability of VAMS to capture a more holistic view of drug distribution.

The type of sampling matrix could also influence analyte recovery. Similar findings to ours were reported by Takyi-Williams *et al.*, who assessed the simultaneous quantification of six antibiotics using VAMS. Their study demonstrated reproducible analyte recovery, with recovery rates around 45% for vancomycin and over 80% for

other antibiotics, including ampicillin, cefepime, ceftriaxone, meropenem, piperacillin, and tazobactam [29]. This illustrates how VAMS' performance may vary depending on the physicochemical properties of the analyte.

To sum up, it is important to consider the method of blood collection when interpreting pharmacokinetic data for these antibiotics. VAMS proved comparable to venous blood collection, in tracking the concentration decrease for pharmacokinetic studies of antibiotics in periodontal therapy. The application of VAMS in this study is in accordance with findings from various other research efforts that have validated the use of VAMS for different drugs and biological matrices. For instance, Veenhof *et al.* demonstrated that VAMS and dried blood spots (DBS) could reliably monitor tacrolimus levels in kidney transplant patients, although DBS showed slightly better performance [41]. Studies such as those by Breken *et al.* [42], which analyzed clozapine concentrations, and Marasca *et al.* 2020, which investigated antidepressants in saliva, further reinforce the adaptability and accuracy of VAMS for therapeutic drug monitoring in diverse clinical settings [43].

Conclusion

This pilot study highlights the potential of VAMS as a minimally invasive and effective tool for antibiotics pharmacokinetic assessments in periodontal treatment. While significant differences in antibiotic concentrations were observed between VAMS and traditional venous blood sampling, VAMS successfully tracked concentration changes over time. The overall pharmacokinetic trends were comparable, demonstrating the feasibility of VAMS for therapeutic drug monitoring. Given its ease of use, patient acceptability, and suitability for remote sampling, VAMS holds promise for expanding pharmacokinetic research and clinical drug monitoring beyond traditional hospital settings.

Future studies with larger sample sizes and a broader range of antibiotics are needed to further validate these findings and optimize VAMS applications in routine practice and in personalized medicine.

Data availability

The raw data required to reproduce these findings are available upon reasonable request from the corresponding author. The processed data required to reproduce these findings are available upon reasonable request from the corresponding author.

Compliance with Ethical Standards section

Ethical Approval

This is a pilot single-center, interventional prospective clinical study. The protocol was approved by the Ethical Committee of the University Hospitals of Geneva, Geneva, Switzerland, (N° 2022-00179) and was authorized by the Swiss Agency for Therapeutic Products (Swissmedic, Bern, Switzerland N° 701353). Research was conducted according to the principles outlined in the Declaration of Helsinki on experimentation involving human subjects. Written informed consent was provided by every patient before study inclusion and evaluation of recorded medical data.

Acknowledgments and Funding

This work was supported by the Swiss National Science Foundation (Grant 32003B_212578/1) and received funding from the Swiss Society of Periodontology

(SSP). Additionally, this study received no support from the company marketing VAMS devices.

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interest related to this work.

References

1. Guerra Valero, Y.C., et al., *Clinical application of microsampling versus conventional sampling techniques in the quantitative bioanalysis of antibiotics: a systematic review*. Bioanalysis, 2018. **10**(6): p. 407-423.
2. Corso, G., et al., *A powerful couple in the future of clinical biochemistry: in situ analysis of dried blood spots by ambient mass spectrometry*. Bioanalysis, 2010. **2**(11): p. 1883-91.
3. Spooner, N., et al., *A device for dried blood microsampling in quantitative bioanalysis: overcoming the issues associated blood hematocrit*. Bioanalysis, 2015. **7**(6): p. 653-9.
4. Londhe, V. and M. Rajadhyaksha, *Opportunities and obstacles for microsampling techniques in bioanalysis: Special focus on DBS and VAMS*. J Pharm Biomed Anal, 2020. **182**: p. 113102.
5. Bloem, K., et al., *Capillary blood microsampling to determine serum biopharmaceutical concentration: Mitra((R)) micro sampler vs dried blood spot*. Bioanalysis, 2018. **10**(11): p. 815-823.
6. Lingervelder, D., et al., *The societal impact of implementing an at-home blood sampling device for chronic care patients: patient preferences and cost impact*. BMC Health Serv Res, 2022. **22**(1): p. 1529.
7. De Kesel, P.M.M., W.E. Lambert, and C.P. Stove, *Does volumetric absorptive microsampling eliminate the hematocrit bias for caffeine and paraxanthine in dried blood samples? A comparative study*. Analytica Chimica Acta, 2015. **881**: p. 65-73.
8. Jacobs, C.M., et al., *Closing the gap — development of an analytical methodology using volumetric absorptive microsampling of finger prick blood followed by LC-HRMS/MS for adherence monitoring of antihypertensive drugs*. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2023. **415**(1): p. 167-177.
9. McMahon, R., et al., *Stability of inflammation markers in human blood collected using volumetric absorptive microsampling (VAMS) under typical laboratory storage temperatures*. Cytokine, 2023. **171**: p. 156355.
10. Slade, G.D., et al., *Acute-phase inflammatory response to periodontal disease in the US population*. J Dent Res, 2000. **79**(1): p. 49-57.
11. Loos, B.G., et al., *Elevation of systemic markers related to cardiovascular diseases in the peripheral blood of periodontitis patients*. J Periodontol, 2000. **71**(10): p. 1528-34.
12. Herrera, D., et al., *A systematic review on the effect of systemic antimicrobials as an adjunct to scaling and root planing in periodontitis patients*. J Clin Periodontol, 2002. **29 Suppl 3**: p. 136-59; discussion 160-2.
13. Sgolastra, F., et al., *Effectiveness of systemic amoxicillin/metronidazole as an adjunctive therapy to full-mouth scaling and root planing in the treatment of aggressive periodontitis: a systematic review and meta-analysis*. J Periodontol, 2012. **83**(6): p. 731-43.
14. Slots, J., S. Research, and C. Therapy, *Systemic antibiotics in periodontics*. J Periodontol, 2004. **75**(11): p. 1553-65.
15. Haffajee, A.D., S.S. Socransky, and J.C. Gunsolley, *Systemic anti-infective periodontal therapy. A systematic review*. Ann Periodontol, 2003. **8**(1): p. 115-81.

16. Papapanou, P.N., et al., *Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions*. J Clin Periodontol, 2018. **45 Suppl 20**: p. S162-S170.
17. López, R., et al., *Ageing, dental caries and periodontal diseases*. J Clin Periodontol, 2017. **44 Suppl 18**: p. S145-s152.
18. De Kesel, P.M., W.E. Lambert, and C.P. Stove, *Does volumetric absorptive microsampling eliminate the hematocrit bias for caffeine and paraxanthine in dried blood samples? A comparative study*. Anal Chim Acta, 2015. **881**: p. 65-73.
19. Heussner, K., et al., *Adhesive blood microsampling systems for steroid measurement via LC-MS/MS in the rat*. Steroids, 2017. **120**: p. 1-6.
20. John, H., et al., *Procedures for Analysis of Dried Plasma Using Microsampling Devices to Detect Sulfur Mustard-Albumin Adducts for Verification of Poisoning*. Anal Chem, 2016. **88**(17): p. 8787-94.
21. Kopp, M. and M. Rychlik, *Assessing Volumetric Absorptive Microsampling Coupled with Stable Isotope Dilution Assay and Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry as Potential Diagnostic Tool for Whole Blood 5-Methyltetrahydrofolic Acid*. Front Nutr, 2017. **4**: p. 9.
22. Mercolini, L., et al., *LC-MS/MS and volumetric absorptive microsampling for quantitative bioanalysis of cathinone analogues in dried urine, plasma and oral fluid samples*. J Pharm Biomed Anal, 2016. **123**: p. 186-94.
23. Nys, G., et al., *Whole blood microsampling for the quantitation of estetrol without derivatization by liquid chromatography-tandem mass spectrometry*. J Pharm Biomed Anal, 2017. **140**: p. 258-265.
24. Protti, M., et al., *Dried haematic microsamples and LC-MS/MS for the analysis of natural and synthetic cannabinoids*. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2017. **1044-1045**: p. 77-86.
25. Soenen, R., et al., *Promising Tools to Facilitate the Implementation of TDM of Biologics in Clinical Practice*. J Clin Med, 2022. **11**(11).
26. Volani, C., et al., *VAMS-Based Blood Capillary Sampling for Mass Spectrometry-Based Human Metabolomics Studies*. Metabolites, 2023. **13**(2).
27. Andersen, I.K.L., et al., *Volumetric absorptive MicroSampling vs. other blood sampling materials in LC-MS-based protein analysis - preliminary investigations*. J Pharm Biomed Anal, 2018. **156**: p. 239-246.
28. Protti, M., et al., *Volumetric Absorptive Microsampling (VAMS) for Targeted LC-MS/MS Determination of Tryptophan-Related Biomarkers*. Molecules, 2022. **27**(17).
29. Takyi-Williams, J., et al., *Bioanalysis of six antibiotics from volumetric microsamples: a new tool for precision dosing in critically ill children*. Bioanalysis, 2024. **16**(1): p. 19-31.
30. Barco, S., et al., *Volumetric adsorptive microsampling-liquid chromatography tandem mass spectrometry assay for the simultaneous quantification of four antibiotics in human blood: Method development, validation and comparison with dried blood spot*. J Pharm Biomed Anal, 2017. **145**: p. 704-710.
31. Boffel, L., et al., *Application of a Volumetric Absorptive Microsampling (VAMS)-Based Method for the Determination of Paracetamol and Four of its Metabolites as a Tool for Pharmacokinetic Studies in Obese and Non-Obese Patients*. Clin Pharmacokinet, 2022. **61**(12): p. 1719-1733.

32. Kip, A.E., et al., *Volumetric absorptive microsampling (VAMS) as an alternative to conventional dried blood spots in the quantification of miltefosine in dried blood samples*. J Pharm Biomed Anal, 2017. **135**: p. 160-166.
33. Koutsimpani-Wagner, A., et al., *Mercury biomonitoring in German adults using volumetric absorptive microsampling*. Environ Monit Assess, 2022. **194**(4): p. 315.
34. DrugBank. *DrugBank online*. 08.02.2025; Available from: <https://go.drugbank.com>.
35. Biagiotti, S., E. Perla, and M. Magnani, *Drug transport by red blood cells*. Front Physiol, 2023. **14**: p. 1308632.
36. Kornguth, M.L. and C.M. Kunin, *Uptake of antibiotics by human erythrocytes*. J Infect Dis, 1976. **133**(2): p. 175-84.
37. Mandell, G.L., *Uptake, transport, delivery, and intracellular activity of antimicrobial agents*. Pharmacotherapy, 2005. **25**(12 Pt 2): p. 130s-133s.
38. Carlier, M., et al., *Population pharmacokinetics and dosing simulations of amoxicillin/clavulanic acid in critically ill patients*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2013. **68**(11): p. 2600-2608.
39. Matzneller, P., et al., *Blood, tissue, and intracellular concentrations of azithromycin during and after end of therapy*. Antimicrob Agents Chemother, 2013. **57**(4): p. 1736-42.
40. Denniff, P., et al., *Quantitative bioanalysis of paracetamol in rats using volumetric absorptive microsampling (VAMS)*. J Pharm Biomed Anal, 2015. **108**: p. 61-9.
41. Veenhof, H., et al., *Volumetric absorptive microsampling and dried blood spot microsampling vs. conventional venous sampling for tacrolimus trough concentration monitoring*. Clin Chem Lab Med, 2020. **58**(10): p. 1687-1695.
42. Breken, B.D., et al., *Capillary blood sampling for the determination of clozapine concentrations: analytical validation and patient experience*. Int Clin Psychopharmacol, 2024. **39**(1): p. 23-28.
43. Marasca, C., et al., *Whole blood and oral fluid microsampling for the monitoring of patients under treatment with antidepressant drugs*. J Pharm Biomed Anal, 2020. **188**: p. 113384.

DISCUSSION

Dans cette étude, nous avons utilisé à la fois le sang veineux (IV) et la méthode de microsampling par absorption volumétrique (VAMS) pour évaluer la pharmacocinétique de l'AMO, du MET et de l'AZI. Comme le VAMS a une approche peu invasive et offre la possibilité du prélèvement à un milieu non hospitalier, il y a un intérêt croissant dans son utilisation pour le suivi thérapeutique des médicaments (therapeutic drug monitoring – TDM). Notre étude confirme que le VAMS constitue une alternative fiable pour évaluer la pharmacocinétique des antibiotiques, bien qu'il présente certaines variations systématiques par rapport au prélèvement plasmatique du sang veineux. Ces différences entre IV et VAMS peuvent être attribuées à plusieurs facteurs, notamment la répartition des analytes entre le plasma et les globules rouges, la composition de la matrice et les effets potentiels de l'hématocrite. L'AMO, principalement confiné au plasma, a montré des concentrations plus élevées avec la méthode intraveineuse, principalement aux premiers temps de mesure, tandis que l'AZI, connu pour son accumulation intracellulaire, a affiché des concentrations significativement plus élevées dans le VAMS à des stades plus tardifs. Le MET a suivi un schéma intermédiaire, avec des différences entre les deux méthodes aux stades initiaux qui se sont ensuite atténuées. Ces résultats sont cohérents avec des études antérieures suggérant que le VAMS reflète les niveaux de médicaments dans le sang total, qui peuvent différer des concentrations plasmatiques en raison de la distribution des médicaments associés aux cellules. Cela souligne l'importance de considérer la matrice de prélèvement lors de l'interprétation des données pharmacocinétiques et de la détermination des gammes thérapeutiques.

Malgré ces différences, le VAMS a efficacement capturé la dynamique des concentrations des trois antibiotiques, mettant en évidence son adéquation en tant qu'alternative pour les études pharmacocinétiques, en particulier dans les environnements ambulatoires et non hospitaliers. Sa facilité d'utilisation et son caractère adapté aux patients renforcent son potentiel pour des applications plus larges en pharmacologie clinique et en médecine de précision. Plusieurs études ont démontré le potentiel du VAMS à divers composés (De Kesel, Lambert, and Stove 2015; Heussner et al. 2017; John et al. 2016; Kopp and Rychlik 2017; Mercolini et al. 2016; Nys et al. 2017; Protti et al. 2017). Une revue systématique récente a également mis en évidence l'intérêt croissant pour l'utilisation de microsampling afin de générer et de valider des données pharmacocinétiques, notamment pour optimiser le dosage des antibiotiques. Les études comparent généralement les données issues d'échantillons plasmatiques conventionnels avec celles obtenues par microsampling, révélant parfois des écarts. Cette revue suggère que des tests de validation standardisés spécifiques au microsampling dans différents fluides biologiques sont nécessaires pour renforcer la confiance dans les applications cliniques du VAMS (Guerra Valero et al. 2018).

Dans ce contexte, la présente étude visait à comparer les prélèvements IV et VAMS pour évaluer les profils pharmacocinétiques de trois antibiotiques : AMO, MET et AZI. Un total de 12 participants a été recruté, dont six individus en bonne santé parodontale et six atteints de parodontite. Les deux groupes étaient comparables

démographiquement, sans différences significatives en termes de taille, de poids ou d'IMC. Les participants du groupe PH étaient légèrement plus jeunes, probablement en raison de la prévalence plus élevée des maladies parodontales chez les individus plus âgés. Bien que la plupart des participants étaient en bonne santé systémique, certains patients atteints de parodontite présentaient des conditions susceptibles d'affecter le métabolisme et la pharmacocinétique des médicaments. Cependant, ces conditions n'ont pas significativement modifié les profils pharmacocinétiques globaux des antibiotiques, aucune différence significative n'ayant été observée entre les groupes sain et parodontite.

Nos résultats montrent des schémas pharmacocinétiques distincts pour chaque antibiotique en fonction de la méthode de prélèvement sanguin et apportent un éclairage sur l'applicabilité du VAMS en clinique. Le choix entre le prélèvement du sang total et du plasma peut influencer de manière significative le profil pharmacocinétique des antibiotiques tels que l'AMO, le MET et l'AZI. Le sang total contient tous les composants cellulaires, y compris les globules rouges, les globules blancs et les plaquettes, en plus du plasma, tandis que le plasma est le fluide acellulaire obtenu par centrifugation du sang total recueilli avec des anticoagulants. La distribution des antibiotiques entre le plasma et les cellules sanguines peut affecter substantiellement les concentrations mesurées. Par exemple, les antibiotiques lipophiles comme l'AZI ($\log P \sim 3$) peuvent se distribuer dans les globules rouges, entraînant des concentrations plus élevées dans le sang total par rapport au plasma. En revanche, les antibiotiques plus hydrophiles comme l'AMO ($\log P \sim 0,7$) et même le MET ($\log P \sim 1,7$) (DrugBank 08.02.2025) se distribuent davantage dans la phase aqueuse plasmatique, conduisant à des mesures de concentration plus cohérentes entre les deux matrices (Biagiotti, Perla, and Magnani 2023; Kornguth and Kunin 1976; Mandell 2005).

Dans notre étude, plus précisément, l'AMO a montré des concentrations plasmatiques plus élevées à tous les points de mesure lorsqu'il était évalué via IV par rapport au VAMS. Ce schéma est cohérent avec la distribution connue de l'amoxicilline, qui reste largement confinée au plasma en raison de sa faible capacité à pénétrer dans les globules rouges (Carlier et al. 2013).

Le MET a présenté des profils de concentration similaires entre le IV et le VAMS à la plupart des temps de mesure. Cependant, des différences significatives ont été notées à 2 et 6 heures ($p < 0,005$), avec des concentrations plasmatiques nettement plus élevées en IV. Cette divergence pourrait résulter de variations dans la diffusion du MET à travers les globules rouges, car il est connu pour se répartir progressivement de manière plus uniforme entre le plasma et le sang total au fil du temps.

L'AZI a montré des concentrations plus élevées dans les échantillons VAMS à des temps plus tardifs par rapport au IV, indiquant une élimination plus lente ou une présence prolongée lorsqu'il est mesuré via VAMS. Cela pourrait être attribué à l'affinité de l'AZI pour les compartiments intracellulaires, en particulier les globules rouges (Matzneller et al. 2013). Les concentrations plus élevées détectées en VAMS pourraient également être liées à l'approche d'échantillonnage du sang total du VAMS, qui capte le contenu intracellulaire du médicament. Des résultats similaires ont été rapportés par Denniff et al. (2015), qui ont observé des concentrations maximales

(Cmax) plus élevées pour le paracétamol en utilisant le VAMS par rapport à la collecte conventionnelle dans des tubes EDTA chez le rat. Étant donné son log P de 0,5, cette différence est peu susceptible d'être liée à son équilibre hydrophile-lipophile (Denniff et al. 2015). Ces preuves soulignent la capacité du VAMS à fournir une vue plus globale de la distribution des médicaments.

Le type de matrice de prélèvement pourrait également influencer la récupération des analytes. Des résultats similaires aux nôtres ont été rapportés par Takyi-Williams et al., qui ont évalué la quantification simultanée de six antibiotiques en utilisant la technique VAMS. Leur étude a démontré une récupération reproductible des analytes, avec des taux de récupération d'environ 45 % pour la vancomycine et de plus de 80 % pour d'autres antibiotiques, notamment l'ampicilline, la céfépime, la ceftriaxone, le méropénem, la pipéracilline et le tazobactam (Takyi-Williams et al. 2024). Cela illustre comment la performance de la méthode VAMS peut varier en fonction des propriétés physicochimiques de l'analyte.

D'autres antibiotiques ont été testés via VAMS, comme dans l'étude de Barco et al., qui a comparé la quantification simultanée de quatre antibiotiques (pipéracilline-tazobactam, méropénem, linézolide et ceftazidime) dans le sang humain de patients pédiatriques en soins intensifs. Ils ont évalué l'impact de l'hématocrite (HCT) sur la précision, la reproductibilité, la récupération et l'effet de matrice entre la méthode VAMS-LC-MS/MS et la méthode basée sur « dried blood spot » (DBS). Les concentrations des médicaments trouvées dans les échantillons VAMS et DBS ont été comparées à celles obtenues dans le plasma des mêmes sujets, prélevé au même moment. Les résultats (relative standard deviation inter-journées = 12 %) ont confirmé une reproductibilité acceptable. Dans la VAMS, tous les niveaux de calibrage pour toutes les valeurs d'HCT analysées ont montré des valeurs de biais acceptables (< 15 %). En revanche, dans DBS, lorsque les valeurs d'HCT étaient différentes de 45 %, les valeurs recalculées des standards de calibrage présentaient un biais inacceptable. Aux HCT de 30 % et 40 %, tous les niveaux d'étalonnage affichaient un biais négatif (sous-estimation des concentrations des médicaments), tandis qu'aux HCT de 50 % et 60 %, un biais positif était observé (surestimation des concentrations). Dans la majorité des cas, les concentrations mesurées dans les échantillons VAMS et DBS étaient inférieures à celles mesurées dans le plasma. Les résultats différaient de plus de ± 20 % dans 6 des 13 cas pour VAMS et 4 des 13 cas pour DBS (Barco et al. 2017).

L'application de la méthode VAMS dans cette étude est en accord avec les résultats d'autres recherches qui ont validé son utilisation pour différents médicaments et matrices biologiques.

Par exemple, en 2020, Veenhof et al. ont mené une étude sur la validation clinique des VAMS et DBS par rapport au prélèvement veineux conventionnel pour le tacrolimus. Le tacrolimus est un médicament immunosuppresseur qui fait partie des soins de routine des patients transplantés depuis des décennies. Ils ont démontré que VAMS et DBS pouvaient surveiller de manière fiable les niveaux de tacrolimus chez les patients transplantés du rein, bien que DBS ait montré une performance légèrement meilleure (Veenhof et al. 2020).

Dans une autre étude, Marasca et al. (2020) ont analysé dans la salive quatre antidépresseurs (sertraline, fluoxétine, citalopram, vortioxétine) et leurs principaux métabolites. Les résultats de validation de la méthode ont été satisfaisants (rendement d'extraction > 84 %, écart type relatif de précision < 8,9 %, stabilité > 85,0 % après 3 mois) (Marasca et al. 2020).

Ces études renforcent encore l'adaptabilité et la précision de VAMS pour le suivi thérapeutique des médicaments dans divers contextes cliniques.

En outre, Boffel et al. ont quantifié le paracétamol et quatre de ses métabolites (paracétamol-glucuronide, paracétamol-sulfate, paracétamol-mercapturate et paracétamol-cystéine) dans le plasma veineux, le sang veineux ainsi que dans les échantillons VAMS veineux ou capillaires via la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS). Pour le paracétamol, une pente négative de -0,26 (intervalle de confiance [IC] 95 % : -0,31 à -0,21) a été trouvée lors de la comparaison entre le sang et le plasma, indiquant que le biais évolue avec la concentration. Un rapport sang : plasma médian de 1,07 (IC 95 % : 1,06-1,09) a été observé. Lorsque l'on examine ce rapport en fonction du temps d'échantillonnage, la médiane du rapport sang : plasma à t0,25 était significativement inférieure au rapport aux temps de prélèvement plus longs après l'administration du paracétamol (t3,00 à t30,00). Cette évolution temporelle du rapport sang : plasma a également été constatée en traçant ce rapport médian en fonction du temps d'échantillonnage, où une augmentation progressive a été observée jusqu'à atteindre un équilibre après environ 3 heures. De plus, un biais négatif a été observé dans les échantillons avec des concentrations élevées de paracétamol, indiquant que l'équilibre sang/plasma n'était pas encore atteint dans ces cas (Boffel et al. 2022).

Dans une autre étude, Moon et al. ont évalué le suivi de l'acide acétylsalicylique (AAS) et les moyens d'améliorer la stabilité des échantillons. Les échantillons collectés avec VAMS ont été conservés sous différentes conditions de séchage (dessiccateur, pressurisation, gaz azote et scellage sous vide domestique) et comparés aux échantillons-contrôles collectés par prélèvement veineux conventionnel. La récupération de l'AAS était d'environ 31 % de l'échantillon-contrôle (prélèvement veineux) lorsque l'échantillon VAMS était séché à température ambiante, tandis que les échantillons VAMS soumis à des conditions contrôlées en humidité montraient un taux de récupération supérieur à 85 %. Cette étude a mis en évidence l'importance d'un contrôle adéquat de l'humidité pour garantir la stabilité des échantillons d'AAS, un contrôle qui pourrait également être assuré à domicile à l'aide d'un scellage sous vide domestique (Moon et al. 2022).

Kip et al. ont comparé l'échantillonnage VAMS avec DBS pour la récupération de la miltéfosine. La technique VAMS a montré de bonnes performances en termes de linéarité ($R^2 > 0,9955$), d'exactitude (biais dans $\pm 10,8$ %) et de précision ($CV \% \leq 11,9$ %). Le processus de collecte VAMS a également réduit l'effet de l'HCT sur la quantification de la miltéfosine par rapport à DBS, bien qu'un biais inversé ait été introduit avec cette méthode. VAMS a éliminé les variabilités supplémentaires dues au volume et à l'homogénéité des taches de sang, montrant globalement de meilleures performances par rapport au DBS conventionnel. Les échantillons VAMS sont restés stables pendant au moins un mois à température ambiante et à 37 °C (Kip et al. 2017).

La méthode analytique pour l'albendazole, un dérivé benzimidazole utilisé comme anthelminthique chez l'homme, a été développée et validée par Schulz et al. en 2019 à partir d'échantillons VAMS et a été cliniquement validée par comparaison avec des échantillons plasmatiques. Les résultats ont montré une bonne concordance entre les deux matrices (sang VAMS et plasma) (Schulz et al. 2019).

Enfin, Zwart et al. ont développé et validé un test LC-MS/MS capable de quantifier simultanément le tacrolimus, l'évérolimus, le sirolimus, la cyclosporine, l'acide mycophénolique, la créatinine et l'iohexol dans les échantillons DBS et VAMS. L'analyse de Bland-Altman a montré une bonne concordance. Ils ont recommandé que des recherches supplémentaires incluent davantage de sujets pour une validation clinique approfondie du tacrolimus et de l'acide mycophénolique (Zwart et al. 2022).

Les études évaluant le VAMS pour les différents analytes, sont répertoriées dans l'annexe tout à la fin du document complet. (Annexe 1)

En conclusion, cette étude pilote a mis en évidence le potentiel du VAMS en tant qu'outil peu invasif et efficace pour les évaluations pharmacocinétiques des antibiotiques dans le cadre du traitement parodontal. Bien que des différences significatives dans les concentrations d'antibiotiques aient été observées entre le VAMS et le prélèvement traditionnel de sang veineux, le VAMS a permis de suivre avec succès les changements de concentration dans le temps. Les tendances pharmacocinétiques globales étaient comparables entre les deux méthodes, ce qui démontre la faisabilité du VAMS pour le suivi thérapeutique des médicaments.

Compte tenu de sa facilité d'utilisation, de son acceptabilité par les patients et de sa facilité au niveau logistique, le VAMS est prometteur pour l'expansion de la recherche pharmacocinétique et de la surveillance clinique des médicaments au-delà du cadre hospitalier traditionnel.

De futures études portant sur des échantillons plus importants et un plus large éventail d'antibiotiques sont nécessaires pour valider davantage ces résultats et optimiser les applications du VAMS dans la pratique courante et dans la médecine dentaire personnalisée.

REFERENCES

- Barco, S., E. Castagnola, A. Moscatelli, J. Rudge, G. Tripodi, and G. Cangemi. 2017. 'Volumetric adsorptive microsampling-liquid chromatography tandem mass spectrometry assay for the simultaneous quantification of four antibiotics in human blood: Method development, validation and comparison with dried blood spot', *J Pharm Biomed Anal*, 145: 704-10.
- Biagiotti, S., E. Perla, and M. Magnani. 2023. 'Drug transport by red blood cells', *Front Physiol*, 14: 1308632.
- Bloem, K., T. Schaap, R. Boshuizen, E. L. Kneepkens, G. J. Wolbink, A. Vries, and T. Rispens. 2018. 'Capillary blood microsampling to determine serum biopharmaceutical concentration: Mitra((R)) micro sampler vs dried blood spot', *Bioanalysis*, 10: 815-23.
- Boffel, L., L. Delahaye, L. De Baerdemaeker, and C. P. Stove. 2022. 'Application of a Volumetric Absorptive Microsampling (VAMS)-Based Method for the Determination of Paracetamol and Four of its Metabolites as a Tool for Pharmacokinetic Studies in Obese and Non-Obese Patients', *Clin Pharmacokinet*, 61: 1719-33.
- Carlier, Mieke, Michaël Noë, Jan J. De Waele, Veronique Stove, Alain G. Verstraete, Jeffrey Lipman, and Jason A. Roberts. 2013. 'Population pharmacokinetics and dosing simulations of amoxicillin/clavulanic acid in critically ill patients', *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 68: 2600-08.
- De Kesel, P. M., W. E. Lambert, and C. P. Stove. 2015. 'Does volumetric absorptive microsampling eliminate the hematocrit bias for caffeine and paraxanthine in dried blood samples? A comparative study', *Anal Chim Acta*, 881: 65-73.
- Denniff, P., S. Parry, W. Dopson, and N. Spooner. 2015. 'Quantitative bioanalysis of paracetamol in rats using volumetric absorptive microsampling (VAMS)', *J Pharm Biomed Anal*, 108: 61-9.
- DrugBank. 08.02.2025. 'DrugBank online'. <https://go.drugbank.com>.
- Guerra Valero, Y. C., S. C. Wallis, J. Lipman, C. Stove, J. A. Roberts, and S. L. Parker. 2018. 'Clinical application of microsampling versus conventional sampling techniques in the quantitative bioanalysis of antibiotics: a systematic review', *Bioanalysis*, 10: 407-23.
- Heussner, K., M. Rauh, N. Cordasic, C. Menendez-Castro, H. Huebner, M. Ruebner, M. Schmidt, A. Hartner, W. Rascher, and F. B. Fahlbusch. 2017. 'Adhesive blood microsampling systems for steroid measurement via LC-MS/MS in the rat', *Steroids*, 120: 1-6.
- John, H., S. Willoh, P. Hormann, M. Siegert, A. Vondran, and H. Thiermann. 2016. 'Procedures for Analysis of Dried Plasma Using Microsampling Devices to Detect Sulfur Mustard-Albumin Adducts for Verification of Poisoning', *Anal Chem*, 88: 8787-94.
- Kip, A. E., K. C. Kiers, H. Rosing, J. H. M. Schellens, J. H. Beijnen, and T. P. C. Dorlo. 2017. 'Volumetric absorptive microsampling (VAMS) as an alternative to conventional dried blood spots in the quantification of miltefosine in dried blood samples', *J Pharm Biomed Anal*, 135: 160-66.
- Kopp, M., and M. Rychlik. 2017. 'Assessing Volumetric Absorptive Microsampling Coupled with Stable Isotope Dilution Assay and Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry as Potential Diagnostic Tool for Whole Blood 5-Methyltetrahydrofolic Acid', *Front Nutr*, 4: 9.

- Kornguth, M. L., and C. M. Kunin. 1976. 'Uptake of antibiotics by human erythrocytes', *Journal of Infectious Diseases*, 133: 175-84.
- Kovac, J., G. Panic, A. Neodo, I. Meister, J. T. Coulibaly, J. D. Schulz, and J. Keiser. 2018. 'Evaluation of a novel micro-sampling device, Mitra, in comparison to dried blood spots, for analysis of praziquantel in *Schistosoma haematobium*-infected children in rural Cote d'Ivoire', *J Pharm Biomed Anal*, 151: 339-46.
- Mandell, G. L. 2005. 'Uptake, transport, delivery, and intracellular activity of antimicrobial agents', *Pharmacotherapy*, 25: 130s-33s.
- Marasca, C., M. Protti, R. Mandrioli, A. R. Atti, A. Armirotti, A. Cavalli, D. De Ronchi, and L. Mercolini. 2020. 'Whole blood and oral fluid microsampling for the monitoring of patients under treatment with antidepressant drugs', *J Pharm Biomed Anal*, 188: 113384.
- Matzneller, P., S. Krasniqi, M. Kinzig, F. Sörgel, S. Hüttner, E. Lackner, M. Müller, and M. Zeitlinger. 2013. 'Blood, tissue, and intracellular concentrations of azithromycin during and after end of therapy', *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 57: 1736-42.
- Mercolini, L., M. Protti, M. C. Catapano, J. Rudge, and A. E. Sberna. 2016. 'LC-MS/MS and volumetric absorptive microsampling for quantitative bioanalysis of cathinone analogues in dried urine, plasma and oral fluid samples', *J Pharm Biomed Anal*, 123: 186-94.
- Moon, S. J., S. H. Han, Y. G. Kwak, and M. G. Kim. 2022. 'Stability of acetylsalicylic acid in human blood collected using volumetric absorptive microsampling (VAMS) under various drying conditions', *Transl Clin Pharmacol*, 30: 57-69.
- Nys, G., A. Gallez, M. G. M. Kok, G. Cobraiville, A. C. Servais, G. Piel, C. Pequeux, and M. Fillet. 2017. 'Whole blood microsampling for the quantitation of estetrol without derivatization by liquid chromatography-tandem mass spectrometry', *J Pharm Biomed Anal*, 140: 258-65.
- Protti, M., M. C. Catapano, B. G. Samolsky Dekel, J. Rudge, G. Gerra, L. Somaini, R. Mandrioli, and L. Mercolini. 2018. 'Determination of oxycodone and its major metabolites in haematic and urinary matrices: Comparison of traditional and miniaturised sampling approaches', *J Pharm Biomed Anal*, 152: 204-14.
- Protti, M., J. Rudge, A. E. Sberna, G. Gerra, and L. Mercolini. 2017. 'Dried haematic microsamples and LC-MS/MS for the analysis of natural and synthetic cannabinoids', *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 1044-1045: 77-86.
- Schulz, J. D., A. Neodo, J. T. Coulibaly, and J. Keiser. 2019. 'Pharmacokinetics of Albendazole, Albendazole Sulfoxide, and Albendazole Sulfone Determined from Plasma, Blood, Dried-Blood Spots, and Mitra Samples of Hookworm-Infected Adolescents', *Antimicrob Agents Chemother*, 63.
- Takayi-Williams, J., A. D. Leino, R. Li, K. J. Downes, A. F. Zuppa, A. Bwint, B. Wen, D. Sun, M. H. Scheetz, and M. P. Pai. 2024. 'Bioanalysis of six antibiotics from volumetric microsamples: a new tool for precision dosing in critically ill children', *Bioanalysis*, 16: 19-31.
- van den Broek, I., Q. Fu, S. Kushon, M. P. Kowalski, K. Millis, A. Percy, R. J. Holewinski, V. Venkatraman, and J. E. Van Eyk. 2017. 'Application of volumetric absorptive microsampling for robust, high-throughput mass spectrometric quantification of circulating protein biomarkers', *Clin Mass Spectrom*, 4-5: 25-33.
- Veenhof, H., R. A. Koster, L. A. T. Junier, S. P. Berger, S. J. L. Bakker, and D. J. Touw. 2020. 'Volumetric absorptive microsampling and dried blood spot

- microsampling vs. conventional venous sampling for tacrolimus trough concentration monitoring', *Clin Chem Lab Med*, 58: 1687-95.
- Youhnovski, N., L. Mayrand-Provencher, E. R. Berube, J. Plomley, H. Montpetit, M. Furtado, and A. Keyhani. 2017. 'Volumetric absorptive microsampling combined with impact-assisted extraction for hematocrit effect free assays', *Bioanalysis*, 9: 1761-69.
- Zwart, T. C., E. Metscher, P. J. M. van der Boog, J. J. Swen, J. W. de Fijter, H. J. Guchelaar, A. P. J. de Vries, and Djar Moes. 2022. 'Volumetric microsampling for simultaneous remote immunosuppressant and kidney function monitoring in outpatient kidney transplant recipients', *Br J Clin Pharmacol*, 88: 4854-69.

REMERCIEMENTS

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à toutes les personnes qui m'ont soutenue tout au long de la réalisation de ce travail.

Je remercie tout d'abord ma directrice de thèse, Professeure GIANNOPOULOU Catherine pour son encadrement, sa disponibilité et ses précieux conseils qui m'ont guidée tout au long de cette aventure.

La Docteure Alkisti Zekeridou pour son soutien précieux dans le déroulement et la rédaction de ce travail.

Un grand merci à mes collègues du laboratoire de Pharmacologie de l'Hôpital Universitaire de Lausanne pour la collaboration et l'aide inestimable.

Madame Cécile Riedweg et Madame Sylvie de Paris pour l'aide et le soutien.

Et pour finir, je remercie mon frère Monsieur Lazaridis Charalampos et tous mes collègues et mes amis de la Division de Médecine dentaire régénérative et de parodontologie et de la Clinique universitaire de médecine dentaire.

Annexe 1					
Ref.	Analyte (s)	Matrice de prélèvement	Méthode analytique	Comparaisons	Résultats
Barco et al. 2017 (Barco et al. 2017)	Antibiotiques b-lactamines	Sang complet	LC-MS/MS	DBS, plasma	Effet bien plus important de l'HCT pour DBS
Bloem et al. 2018 (Bloem et al. 2018)	Adalimumab, infliximab, ustekinumab, vedolizumab, tocilizumab, natalizumab et rituximab	Sang complet	ELISA	VAMS, DBS	Moins de variation dans les mesures que DBS
Boffel et al. 2022 (Boffel et al. 2022)	Paracétamol et 4 métabolites	Sang complet, plasma	LC-MS/MS	Plasma, DBS, VAMS	Bon accord, différences limitées
Denniff et al. 2015 (Denniff et al. 2015)	Paracétamol	Sang complet	LC-MS/MS	VAMS, DBS	Effet bien plus important de l'HCT pour DBS
Kip et al. 2017 (Kip et al. 2017)	Miltefosine	Sang complet	LC-MS/MS	VAMS, DBS	VAMS plus pratique, moins d'effet HCT
Kovac et al. 2018 (Kovac et al. 2018)	Énantiomères du praziquantel, métabolite	Sang complet	LC-MS/MS	VAMS, DBS	VAMS plus pratique, plus cher
Marasca et al. 2020 (Marasca et al. 2020)	Sertraline, fluoxétine, citalopram, vortioxétine et métabolites	Salive, sang complet	HPLC-UV-FL	VAMS (sec et humide)	Bon accord
Moon et al. 2022 (Moon et al. 2022)	Acide acétylsalicylique	Sang complet	LC-MS/MS	VAMS	Meilleure récupération avec humidité
Protti et al. 2018 (Protti et al. 2018)	Oxycodone, métabolites	Sang, plasma, urine	LC-MS/MS	VAMS, sang, urine, DBS, DPS, DUS	Meilleure faisabilité, stabilité de VAMS
Schulz et al. 2019 (Schulz et al. 2019)	Albendazole, sulfoxyde d'albendazole, sulfone d'albendazole	Sang complet, plasma	LC-MS/MS	Plasma, DBS, VAMS	Bon accord VAMS et plasma

Annexe 1					
Ref.	Analyte (s)	Matrice de prélèvement	Méthode analytique	Comparaisons	Résultats
Takyi-Williams et al. 2024 (Takyi-Williams et al. 2024)	Ampicilline, céfépime, ceftriaxone, méropénème, pipéracilline, tazobactam, vancomycine	Sang complet	LC-MS/MS	VAMS, standards de calibrage	Récupération reproductible, effet HCT uniquement pour la vancomycine
van den Broek et al. 2017 (van den Broek et al. 2017)	Biomarqueurs protéiques	Sang complet	LC-MS/MS	Plasma	Bonne corrélation
Veenhof et al. 2020 (Veenhof et al. 2020)	Tacrolimus	Sang complet	LC-MS/MS	VAMS, DBS, sang total veineux	Bon accord, meilleurs résultats avec DBS
Youhnovski et al. 2017 (Youhnovski et al. 2017)	Naproxène	Sang complet	LC-MS/MS	UAE	Avec les UAE, la récupération diminue lorsque l'HCT augmente
Youhnovski et al. 2017 (Youhnovski et al. 2017)	Ritonavir	Sang complet	LC-MS/MS	UAE	Avec les UAE, la récupération diminue lorsque l'HCT augmente
Zwart et al. 2022 (Zwart et al. 2022)	Tacrolimus, acide mycophénolique (MPA), créatinine, iohexol	Sang complet	LC-MS/MS	DBS, VAMS	Accord de la méthode avec la régression de Passing-Bablok et l'analyse de Bland-Altman

Abbreviations: DBS- dried blood spots, DPS - dried plasma spots, DUS - dried urine spots, ELISA - enzyme-linked immunosorbent assay, HCT - haematocrit, PPT - protein precipitation, UAE - ultrasound-assisted extraction, LC-MS/MS - Liquid Chromatography with tandem mass spectrometry, HPLC-UV-FL - high-performance liquid chromatography ultra-violet spectroscopy with fluorescence detection