



**HAL**  
open science

# L'approche translationnelle de la pharmacocinétique des échinocandines : l'étude du modèle porcin endotoxinique peut-il se substituer à l'étude pharmacocinétique chez le patient en choc septique ?

Nicolas Garbez

## ► To cite this version:

Nicolas Garbez. L'approche translationnelle de la pharmacocinétique des échinocandines : l'étude du modèle porcin endotoxinique peut-il se substituer à l'étude pharmacocinétique chez le patient en choc septique ?. Médecine humaine et pathologie. Université Montpellier, 2021. Français. NNT : 2021MONTT066 . tel-03655128

**HAL Id: tel-03655128**

**<https://theses.hal.science/tel-03655128>**

Submitted on 29 Apr 2022

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

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

# THÈSE POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

En Pharmacocinétique

École doctorale CBS2

Unité de recherche UR UM 103 IMAGINE

## L'approche translationnelle de la pharmacocinétique des échinocandines : l'étude du modèle porcin endotoxinique peut-il se substituer à l'étude pharmacocinétique chez le patient en choc septique ?

Présentée par Nicolas GARBEZ

Le 17 novembre 2021

Sous la direction de Jean-Yves LEFRANT  
et Claire ROGER

Devant le jury composé de

Bernard ALLAOUCHICHE, PUPH, CHU de Lyon  
Claire DAHYOT-FIZELIER, PUPH, CHU de Poitiers  
Jean-Baptiste WOILLARD, PUPH, CHU de Limoges  
Jason ROBERTS, Professor, University of Queensland  
Jean-Yves LEFRANT, PUPH, CHU de Nîmes  
Claire ROGER, PUPH, CHU de Nîmes  
Litaty MBATCHI, MCUPH, Université de Montpellier et CHU de Nîmes

Président du jury  
Rapporteuse  
Rapporteur  
Invité  
Directeur de thèse  
Co-directrice de thèse  
Co-encadrante de thèse



UNIVERSITÉ  
DE MONTPELLIER

## Résumé

Le sepsis joue un rôle fondamental dans l'altération de la pharmacocinétique (PK) des anti-infectieux, responsable d'un risque de sous ou surdosage chez des patients de réanimation pouvant conduire à un échec thérapeutique. La compréhension de la variabilité PK des anti-infectieux est essentielle afin de proposer une posologie adéquate. De plus, développer un modèle animal de sepsis permettrait d'améliorer la compréhension des altérations PK des anti-infectieux induites par le choc septique.

Ce projet de thèse a pour but d'évaluer la capacité du modèle porcin de sepsis à prédire la PK d'anti-infectieux chez l'humain. Pour ce faire, étudier des molécules déjà connues permettrait de confirmer dans un premier temps sa transposition à l'Homme. Les échinocandines, traitement de première intention en cas d'infection fongique, sont au centre de ce projet. Au préalable, des études complémentaires chez des patients de réanimation ont été menées afin d'approfondir nos connaissances sur leur PK dans des situations à risque, comme le recours à des thérapies d'épuration extra-rénale et dans le cadre d'une péritonite secondaire, où la diffusion péritonéale des échinocandines est déterminante pour éradiquer l'infection fongique. Enfin, la PK de la micafungine a été étudiée sur un modèle porcin septique, dont la physiologie est très proche de l'humain, afin de la comparer à celle retrouvée chez les patients septiques. Ces études ont été réalisées à l'aide de modélisation par approche de population.

Ces travaux ont mis en exergue la nécessité d'augmenter la posologie des échinocandines chez les patients de réanimation sous peine d'échec thérapeutique. Les thérapies d'épuration extra-rénale, quant à elles, n'altèrent pas la PK des échinocandines. Leur diffusion au sein de la cavité péritonéale, site infectieux fréquent des espèces *Candida*, est modérée mais serait suffisante afin d'éradiquer l'infection fongique en prenant en compte les CLSI breakpoints. Enfin, la PK de la micafungine chez le modèle porcin septique est similaire à celle retrouvée chez l'humain en considérant une relation allométrique du poids de l'espèce appliquée au volume de distribution central de la micafungine. Ces résultats encourageants tendent à justifier la transposabilité du modèle porcin à l'humain. Si cette hypothèse s'avère exacte, le modèle porcin septique pourrait être utilisé pour l'étude de nouveaux anti-infectieux lors des phases précliniques, afin d'estimer une posologie adéquate chez des patients de réanimation.

**Mots clés :** pharmacocinétique, échinocandines, sepsis, patients de réanimation, modèle porcin, modèle préclinique.

## Abstract

Sepsis plays a fundamental role in the alteration of the pharmacokinetics (PK) of anti-infection agents, responsible in particular for a risk of under or overdose in intensive care patients which can lead to therapeutic failure. Understanding the PK variability of anti-infectives is essential to provide an adequate initial dosing regimen. Furthermore, the development of an animal model of sepsis would improve our understanding of the PK alterations of anti-infection agents induced by septic shock.

The aim of this thesis project is to evaluate the capacity of the porcine model of sepsis to predict the PK of anti-infectives in humans. Thus, the study of already known anti-infection agents would enable to confirm its transposition to humans. Echinocandins, which are the first-line treatment for fungal infections, are at the center of this project. Preliminary studies in intensive care patients were first conducted in order to improve our knowledge of their PK in particular situations, such as the use of renal replacement therapy and in the case of secondary peritonitis, where the peritoneal diffusion of echinocandins is decisive to eradicate fungal infections. Finally, the PK of micafungin was studied in a porcine septic model whose physiology is very close to that of humans, in order to compare it with that found in septic patients. These studies were performed using population-based modeling.

This work has highlighted the need to increase the dosing regimens of echinocandins in intensive care patients under threat of therapeutic failure. Renal replacement therapy, on the other hand, do not alter the PK of echinocandins. Diffusion into the peritoneal cavity, a frequent infectious site of *Candida* species, is moderate for these echinocandins but would be sufficient to eradicate fungal infections given the CLSI breakpoints. Finally, the PK of micafungin is similar between the septic pig model and septic patients considering an allometric relationship of the body weight of these species on the central volume of distribution of micafungin. These encouraging results tend to justify the transposability of the pig model to septic patients. If this hypothesis is correct, the porcine septic model would be used to study new anti-infective agents in the preclinical phases, in order to estimate an adequate initial dosing regimens in intensive care patients.

**Key words:** pharmacokinetics, echinocandins, sepsis, critical ill patients, pig model, preclinical model.

## Remerciements

Je remercie tout d'abord mon directeur de thèse Monsieur le Docteur Jean-Yves LEFRANT, qui a trouvé le financement nécessaire à l'élaboration de ce projet de thèse. Merci à vous d'avoir suivi mes travaux de thèse pendant ces trois années et pour votre soutien.

J'exprime également toute ma gratitude à ma co-directrice de thèse le Docteur Claire ROGER et ma co-encadrante de thèse le Docteur Litaty MBATCHI de m'avoir fait confiance pendant ces trois années de thèse. Merci pour votre encadrement, votre disponibilité en dépit de votre charge de travail importante, votre patience et votre pédagogie tant pour les corrections de mes écrits ou lors des réunions que nous avons pu avoir. Ce fut un réel plaisir de travailler avec vous, et c'est très clairement grâce à votre complémentarité que j'ai pu mener à bien mes travaux de recherche.

Je suis honoré de compter parmi les membres de mon jury le Professeur Claire DAHYOT-FIZELIER, le Docteur Jean-Baptiste WOILLARD et le Professeur Bernard ALLAOUCHICHE. Merci d'avoir accepté d'évaluer mes travaux de thèse en tant que rapporteurs et examinateur et ainsi d'apporter votre regard d'expert.

To Professor Jason ROBERTS, your presence during my thesis defense honors me. Without the collaboration between the University of Queensland and the University Hospital of Nîmes, this thesis project would never have seen the light of day. Thank you again to you and to Professor Jeffrey LIPMAN for your proofreading of articles which were very helpful.

I would also like to thank Doctors Steven WALLIS, Santiago GRAU, Sonia LUQUE, Emilio MASEDA, Laurent MULLER and Guillaume LOUART for participating in the development of my work and for proofreading of articles.

Merci aux membres de mon comité de thèse, le Professeur Alexandre EVRARD et le Docteur Sylvain GOUTELLE, pour leurs suggestions et pour avoir pris le temps de suivre mon travail d'année en année.

Un grand merci également aux membres de l'équipe du laboratoire de Pharmacocinétique, le Professeur Alexandre EVRARD, le Docteur Litaty MBATCHI et le Docteur Fanny LEENHARDT, avec qui j'ai eu la possibilité de dispenser des cours et des TDs à des étudiants en licence et en master. Ce fut très instructif pour moi et un grand plaisir de partager cette expérience avec vous.

Enfin, mes remerciements vont à tous mes amis d'Ile de France que je vois beaucoup moins depuis mon départ. Merci à Alexis, Éric, Julien, et René d'être les meilleurs potes d'enfance qui soient. Merci à mon groupe d'amis du lycée dont Diana the wonderwoman, merci aux amis d'Issy, et merci à Thibaut the businessman, Julien le geek, Nono the climber, Jennifer la PBPKiste et à tous les autres ! Qu'est-ce qu'on ferait sans les copains ? Tant de bons souvenirs ensemble, et malgré la distance, vous avez été une force pour moi tout au long de ce périple.

Merci également à mes amis de Montpellier, qui m'ont permis de découvrir les environs et de me découvrir moi-même. Je pense notamment à Hajar, Quentin, Yousra et Erwan. Merci également à Bruno grâce à qui j'ai pu gravir le « toit de l'Europe » et voler de mes propres ailes en parapente tout en participant à l'organisation de ces projets au sein du SUAPS. Merci à vous tous d'avoir fait partie de cette aventure.

Merci à Benoit. Tu es mon cousin, mon ami, mon binôme sportif de l'extrême. On a fait une bonne équipe jusque-là, et ça continuera. Merci d'être toujours là. Tu es formidable.

Merci à mon père, ma mère et ma sœur. Vous m'avez vu grandir et évoluer, en passant de geek à métalleux ténébreux à la chevelure soigneuse, puis changer drastiquement à tous les points de vue, mon apparence, mes projets d'études et mes centres d'intérêts. Grâce à vous je suis l'homme que je suis aujourd'hui. Merci. Je vous aime.

Enfin, je souhaite te remercier toi, Margotte, pour tout ce que tu m'apportes depuis un peu plus de 5 ans. Tu es une source inépuisable de bonheur et de courage. Toute cette aventure n'aurait pu voir le jour sans toi, sans parler de ta présence, ton soutien et tes encouragements tout au long de ces années qui ont été essentiels pour moi. Je t'aime.

# Table des matières

Résumé.....	i
Abstract.....	ii
Remerciements.....	iii
Table des matières.....	v
Liste des figures.....	viii
Liste des tableaux.....	ix
Listes des abréviations.....	x
<b>Partie I : Contexte scientifique.....</b>	<b>1</b>
<b>1 Introduction.....</b>	<b>1</b>
<b>2 Le sepsis et ses altérations PK/PD.....</b>	<b>3</b>
2.1 Physiopathologie du sepsis.....	3
2.2 Base en pharmacocinétique et altérations PK/PD.....	5
2.2.1 Notions de pharmacocinétique et de relation PK/PD.....	5
2.2.2 Altérations PK/PD.....	7
<b>3 Problématique des infections fongiques dans le sepsis.....</b>	<b>11</b>
3.1 <i>Candida spp.</i> et pathologies associées.....	11
3.2 Epidémiologie.....	12
3.3 Facteurs de risque.....	13
3.4 Diagnostic.....	13
3.5 Distribution des espèces <i>Candida</i> .....	14
<b>4 Traitement des candidoses invasives et problématique de l'adaptation de posologie en cas de sepsis.....</b>	<b>16</b>
4.1 Les antifongiques.....	16
4.1.1 Les échinocandines.....	16
4.1.2 Le fluconazole, chef de file des triazolés.....	19
4.2 Résistance aux antifongiques.....	21
4.3 Recommandations officielles et particularité du contexte de sepsis.....	23
4.3.1 Recommandation dans le traitement des candidoses invasives.....	23
4.3.2 Schéma posologique des antifongiques en cas de sepsis : des adaptations nécessaires ?.....	26

<b>5</b>	<b>Apport de la modélisation PK .....</b>	<b>27</b>
5.1	Les différentes approches d'analyse PK.....	28
5.1.1	Concept de la modélisation PK.....	28
5.1.2	Analyse PK individuelle <i>versus</i> analyse PK de population .....	30
5.1.3	Modélisation PBPK .....	31
5.2	Modélisation PK par analyse de population.....	33
5.2.1	Modèle structural.....	33
5.2.2	Modèle d'erreur .....	34
5.2.3	Choix du modèle et estimation des paramètres .....	34
5.2.4	Validation.....	36
5.2.5	Usage des modèles PK de population .....	37
<b>6</b>	<b>Approche translationnelle.....</b>	<b>38</b>
6.1	Modèle animal de sepsis .....	39
6.1.1	Les différents modèles animaux.....	39
6.1.2	Le modèle porcin .....	40
6.2	Modèles d'induction du sepsis.....	41
6.3	Extrapolation de dose inter-espèce .....	42
	<b>Partie II : Travaux de recherche .....</b>	<b>44</b>
<b>7</b>	<b>Démarche scientifique .....</b>	<b>44</b>
<b>8</b>	<b>Conséquences des techniques d'EER sur la PK des échinocandines chez les patients septiques .....</b>	<b>44</b>
8.1	Article 1 : Analyse PK de population de la micafungine dans une population septique sous hémodiafiltration ou hémofiltration continue .....	45
8.1.1	Résumé.....	45
8.1.2	Article 1.....	46
8.2	Approche non-paramétrique <i>versus</i> approche paramétrique .....	56
8.2.1	Modèle paramétrique .....	56
8.2.2	Interprétation des résultats .....	59
8.3	Impact des thérapies d'EER sur la PK de la micafungine.....	59
8.3.1	Modèle non-paramétrique.....	60
8.3.2	Modèle paramétrique .....	62
8.3.3	Interprétation des résultats .....	65

<b>9</b>	<b>Diffusion péritonéale des échinocandines chez les patients septiques .....</b>	<b>65</b>
9.1	Article 2 : Analyse PK de population de la micafungine dans le plasma et le liquide péritonéal chez des patients atteints de sepsis secondaire à une péritonite .....	66
9.1.1	Résumé .....	66
9.1.2	Article 2.....	66
9.2	Article 3 : Analyse PK de population de la caspofungine dans le plasma et le liquide péritonéal chez des patients atteints de sepsis secondaire à une péritonite .....	80
9.2.1	Résumé .....	80
9.2.2	Article 3.....	80
<b>10</b>	<b>Pharmacocinétique de la micafungine chez le modèle porcin endotoxinique : ce modèle est-il transposable à l'humain ? .....</b>	<b>95</b>
10.1	Article 4 : PK de la micafungine chez un modèle porcin sain et septique : le modèle porcin septique peut-il prédire la PK de la micafungine chez le patient septique ? .....	95
10.1.1	Résumé .....	95
10.1.2	Article 4.....	96
10.2	Vers un modèle PBPK ? .....	106
10.2.1	Présentation du modèle .....	106
10.2.2	Récolte des données .....	108
	<b>Partie III : Conclusion et perspectives.....</b>	<b>111</b>
<b>11</b>	<b>Conclusion .....</b>	<b>111</b>
<b>12</b>	<b>Perspectives.....</b>	<b>112</b>
	Références bibliographiques .....	<b>113</b>
	Annexes.....	<b>126</b>
	Annexe 1 : Matériels supplémentaires de l'article 1.....	126
	Annexe 2 : Matériels supplémentaires de l'article 2.....	130
	Annexe 3 : Matériels supplémentaires de l'article 3.....	135
	Annexe 4 : Matériels supplémentaires de l'article 4.....	142
	Annexe 5 : Code Monolix du modèle PBPK porcin (micafungine) .....	146

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Physiopathologie du sepsis. ....	4
<b>Figure 2</b> : Représentation des Cible PK/PD.. ....	7
<b>Figure 3</b> : Altérations PK dus au sepsis.....	10
<b>Figure 4</b> : Physiopathologie des candidoses invasives. ....	12
<b>Figure 5</b> : Distribution mondiale des espèces <i>Candida</i> au cours du temps (A) et par région (B).....	15
<b>Figure 6</b> : Structures chimiques des échinocandines. ....	16
<b>Figure 7</b> : Structure chimique des triazolés.....	19
<b>Figure 8</b> : Représentation des mécanismes de résistance des antifongiques. ....	22
<b>Figure 9</b> : Recommandations de l'ESCMID 2012. ....	24
<b>Figure 10</b> : Représentation schématique d'un modèle à 2 compartiments avec une administration IV. .....	29
<b>Figure 11</b> : Représentation schématique d'un modèle PBPK constitué de 12 compartiments.....	32
<b>Figure 12</b> : Illustration de graphes diagnostics obtenu sur Pmetrics®.....	36
<b>Figure 13</b> : Illustration de la PTA en fonction de la CMI pour la micafungine.....	38
<b>Figure 14</b> : Graphes diagnostics du modèle final : Concentrations observées versus prédites (A) et VPC (B) de la validation interne (en haut) et externe (en bas). ....	58
<b>Figure 15</b> : Graphes diagnostics du modèle final déterminé sur Pmetrics® : Concentrations observées versus prédites (A) et VPC (B).....	62
<b>Figure 16</b> : Graphes diagnostics du modèle final déterminé sur Monolix® : Concentrations observées versus prédites (A) et VPC (B).....	64
<b>Figure 17</b> : Illustration du modèle PBPK.....	107

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> : Posologies standards, caractéristiques PK et adaptations posologiques des principaux antifongiques prescrits en cas de candidoses invasives.....	25
<b>Tableau 2</b> : Comparaison entre la PK individuelle et la PK de population.....	31
<b>Tableau 3</b> : Paramètres PK du modèle final (A) et comparaison de ce dernier aux modèles intermédiaires (B).....	57
<b>Tableau 4</b> : Descriptif des principales covariables étudiées (n ou médiane (min - max)). .....	60
<b>Tableau 5</b> : Paramètres PK du modèle final déterminé sur Pmetrics® (A) et comparaison de ce dernier aux modèles intermédiaires (B).....	61
<b>Tableau 6</b> : Paramètres PK du modèle final déterminé sur Monolix® (A) et comparaison de ce dernier aux modèles intermédiaires (B).....	63
<b>Tableau 7</b> : Données du modèle PBPK : données anatomo-physiologiques (A) et données physico-chimiques (B).....	109

## Listes des abréviations

AIC : *Akaike information criterion*

ASC : aire sous la courbe

AMM : autorisation de mise sur le marché

BDG : (1-3)- $\beta$ -D-glucan

BIC : *bayesian information criterion*

B:P : ratio sang/plasma

CAGTA : *Candida albicans germ tube antibody*

CBP : *clinical breakpoints*

CLSI : *Clinical & Laboratory Standards Institute*

C<sub>max</sub> : concentration maximale

CMI : concentration minimale inhibitrice

C<sub>min</sub> : concentration minimale

CL<sub>t</sub> : clairance totale

CV : coefficient de variation

CVVH : *continuous veno-venous hemofiltration*

CVVHDF *continuous veno-venous hemodiafiltration*

CYP : cytochrome P450

ECV : *epidemiological cutoff values*

EER : épuration extra-rénale

EMA : *European Medicines Agency*

ESCMID : *European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases*

EUCAST : *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*

F : coefficient de biodisponibilité

FDA : *Food and Drug Administration*

F<sub>u</sub> : fraction libre

FFM : *fat free mass*

FO : fonction objective

IDSA : *Infectious Diseases Society of America*

IV : intraveineuse

ka : constante d'absorption  
Kp : coefficient de partition tissu/plasma  
LogP : coefficient de partage  
LPS : lipopolysaccharide  
NPAG : *non parametric adaptive grid*  
NPDE : *normalized prediction distribution error*  
PBPK : *physiologically based pharmacokinetic*  
PCT : procalcitonine  
PD : pharmacodynamie  
PK : pharmacocinétique  
pKa : constante d'acidité  
PKpop : pharmacocinétique de population  
PTA : *probability of PK/PD target attainment*  
Q : débit sanguin  
RCP : résumé des caractéristiques du produit  
RSD : *relative standard deviation*  
RSE : *relative standard error*  
SAEM : *stochastic approximation expectation maximization*  
SD : *standard deviation*  
SLRF : Société de Réanimation de Langue Française  
t<sub>1/2</sub> : demi-vie d'élimination  
T2MR : *T2 magnetic resonance*  
V : volume (organe)  
Vc : volume de distribution central  
Vd : volume de distribution  
VPC : *visual predictive check*

# Partie I : Contexte scientifique

## 1 Introduction

Le sepsis est une cause fréquente d'admission en réanimation [1]. Les infections fongiques représentent la deuxième cause de sepsis après les infections bactériennes et sont associées à une morbi-mortalité élevée [2]. Toutefois, contrairement aux antibiotiques, très peu de données sont disponibles sur le lien entre pharmacocinétique des antifongiques et risque d'échecs thérapeutiques.

Parmi ces antifongiques, la famille des azolés fut le traitement de référence pendant de longues années, avec pour chef de file le fluconazole. Depuis les années 2000, les échinocandines ont fait leur apparition sur le marché des antifongiques. Ces molécules ont une activité à large spectre, sont très bien tolérées et ne sont généralement pas sujettes à des interactions médicamenteuses nécessitant un ajustement posologique. En raison de l'émergence de la résistance aux azolés, les échinocandines sont devenues le traitement de première intention lors d'une infection fongique chez des patients de réanimation selon les recommandations européennes [3,4].

Dans le cadre d'un sepsis, des altérations importantes de la pharmacocinétique des anti-infectieux ont été observées engendrant des risques de sous ou surdosage [5]. L'étude DALI a par ailleurs démontré que 33 % des patients recevant un traitement antifongique n'atteignaient pas les cibles thérapeutiques recommandées, avec des concentrations plasmatiques insuffisantes pour atteindre les cibles pharmacocinétiques/pharmacodynamiques (PK/PD) [6]. D'autre part, ces altérations physiopathologiques pourraient également être accentuées par le recours à des techniques de suppléances d'organes telle que l'épuration extra-rénale (EER) [7]. Enfin, l'obtention de concentrations thérapeutiques au site de l'infection est l'objectif de toute antibiothérapie mais peut être rendu complexe en l'absence d'ajustement posologique chez le patient de réanimation. Un échec du traitement antibiotique entrepris peut être expliqué par une diffusion altérée de l'agent anti-infectieux dans le tissu infecté, comme par exemple lors d'une péritonite secondaire. Ainsi, l'importance d'améliorer nos connaissances sur la pharmacocinétique des

anti-infectieux est un enjeu majeur afin de proposer une posologie optimale et d'assurer leur efficacité chez les patients de réanimation.

Les changements dus au sepsis ne sont jamais étudiés au cours du développement de nouvelles molécules. Des études complémentaires et coûteuses sont nécessaires afin de déterminer la posologie appropriée et d'éviter le risque de dosage inadéquat aboutissant à un échec thérapeutique. Développer un modèle animal de choc endotoxinique mimant les modifications hémodynamiques et endothéliales du choc septique pourrait améliorer la compréhension des altérations pharmacocinétiques des anti-infectieux induites par la phase précoce du choc septique. En vue de ses grandes similitudes avec l'humain [8], un modèle porcin a ainsi été développé. Si ce modèle est transposable à l'Homme, il permettrait de substituer les essais chez l'Homme et de rechercher en amont de la mise sur le marché les facteurs affectant la PK de nouvelles molécules étudiées afin de proposer des posologies adéquates pour cette population.

Ce projet de thèse a pour but d'évaluer la pertinence du modèle porcin de sepsis dans sa capacité à prédire la PK d'anti-infectieux chez l'Homme. Pour ce faire, étudier des molécules déjà connues permettrait de confirmer dans un premier temps sa transposition à l'Homme. Les échinocandines, traitement de première intention, seront donc au centre de ce projet. Au préalable, des études complémentaires sur des situations à risques chez des patients de réanimation ont été mises en œuvre afin d'approfondir nos connaissances sur leur pharmacocinétique (notamment la micafungine et la caspofungine).

Ainsi, la première partie de ce projet de thèse portera sur le rôle que pourrait jouer les techniques d'EER sur la PK des échinocandines chez les patients de réanimation. La deuxième partie se focalisera sur la diffusion péritonéale de ces antifongiques chez des patients atteints de choc septique secondaire à une péritonite. Enfin, la troisième partie se concentrera sur l'étude de la pharmacocinétique de la micafungine chez le modèle porcin endotoxinique dans l'objectif de définir si ce modèle est transposable au patient septique.

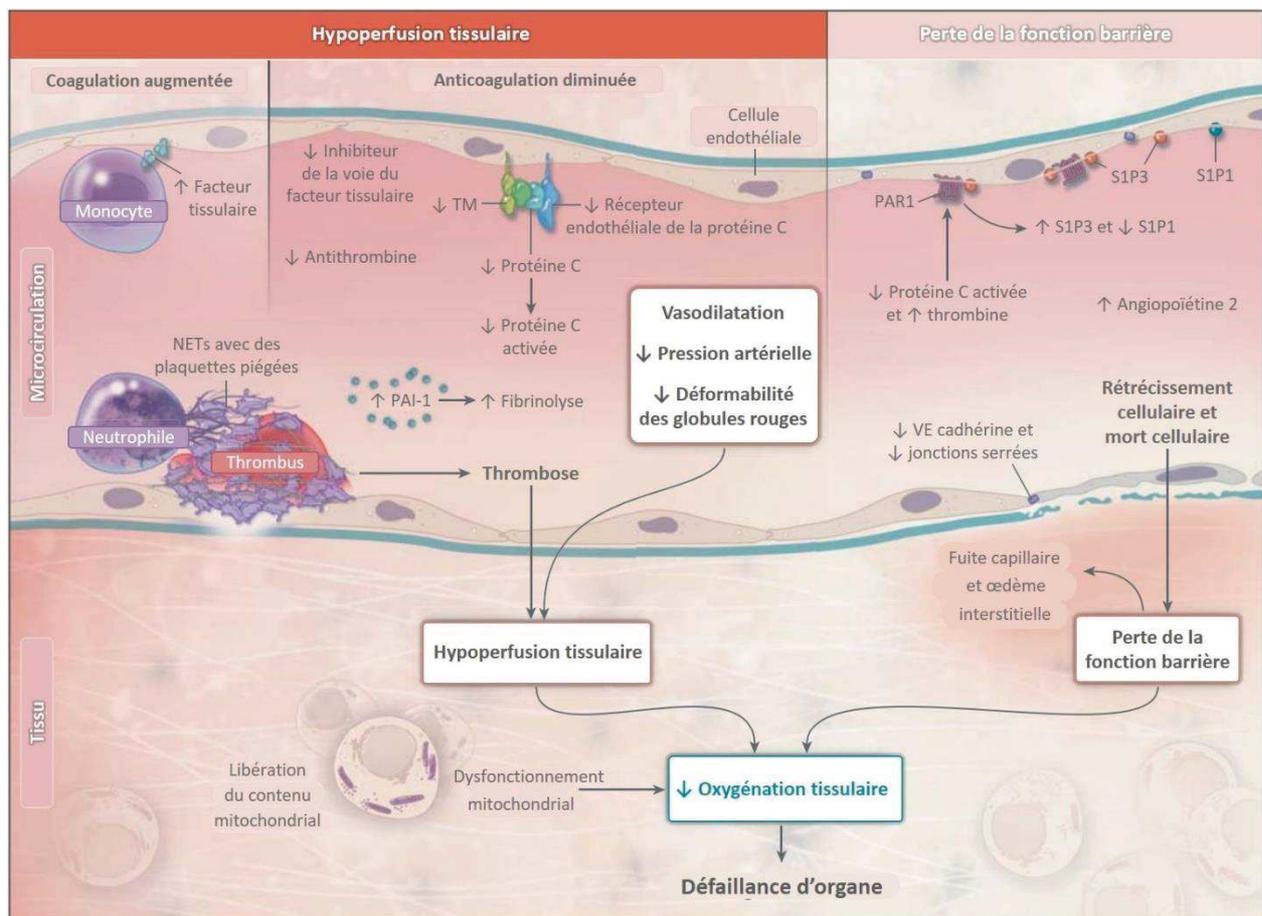
## **2 Le sepsis et ses altérations PK/PD**

Le sepsis est la raison d'admission de 30 % des patients en réanimation [1]. Sa physiopathologie joue un rôle fondamental dans l'altération de la pharmacocinétique des anti-infectieux, responsable notamment d'un risque de sous ou surdosage associé à l'inefficacité thérapeutique ou la toxicité du traitement [5].

### **2.1 Physiopathologie du sepsis**

Le sepsis est la résultante d'une réaction exacerbée du système immunitaire conduisant à une modification de la macrocirculation (artères) et la microcirculation (artérioles, capillaires, veinules) [9]. On observe notamment une augmentation de la perméabilité vasculaire, traduit par la perte de la fonction barrière des cellules endothéliales (mort cellulaire et dégradation des protéines de jonction inter-cellulaire) favorisant une fuite capillaire au niveau des vaisseaux et la formation d'œdèmes. On retrouve également une hypoperfusion des tissus, suite à la formation de microthrombi dans la microcirculation, aggravée par la vasodilatation et l'hypotension induites par réponse pro-inflammatoire. L'augmentation de la perméabilité vasculaire et l'hypoperfusion tissulaire, responsables d'une hypovolémie associée à une baisse de la pression artérielle, jouent un rôle majeur dans la diminution de l'oxygénation tissulaire, menant à une défaillance d'organe. [10] L'ensemble de ces mécanismes sont illustrés dans la figure 1.

D'après les définitions du 3<sup>ième</sup> consensus international sur le sepsis [11], Le sepsis se caractérise par une défaillance d'organe menaçant le pronostic vital et causé par une réponse inappropriée de l'hôte à une infection (bactérienne, fongique ...) comme par exemple une péritonite ou une pneumonie. Le terme de choc septique est associé à la présence d'un sepsis, d'un besoin d'agent vasopresseur suite à une hypotension persistante, ainsi qu'une hyperlactatémie (> 2 mmol/L), synonyme d'une hypoperfusion tissulaire.



**Figure 1 : Physiopathologie du sepsis.** D'après August et Van der Poll, 2013 [10].

NETs : neutrophil extracellular traps. PAI-1 : activator inhibitor type 1. PAR1 : protease activated receptor 1. S1P1 : sphingosine-1 phosphate receptor 1. S1P3 : sphingosine-1 phosphate receptor 3. TM : Thrombomoduline. VE cadhérine : vascular endothelial cadherin.

En cas de sepsis ou de choc septique diagnostiqué, il est recommandé de déterminer l'origine de l'infection (hémoculture) et d'utiliser un traitement (antibiotique, antifongique...) précoce et à large spectre pour couvrir tous les pathogènes suspectés. Une prise en charge hémodynamique est également essentielle afin de lutter contre l'hypotension (cristalloïdes ou des agents vasopresseurs en fonction de la gravité) [12]. Enfin, des suppléances d'organes sont également nécessaires en fonction des différents types d'insuffisances d'organes rencontrées (avec notamment la ventilation mécanique et la thérapie d'EER).

## 2.2 Base en pharmacocinétique et altérations PK/PD

La condition physiopathologique du patient atteint de sepsis peut engendrer des altérations de la pharmacocinétique des médicaments administrés, rendant ces derniers potentiellement inefficaces ou toxiques.

### 2.2.1 Notions de pharmacocinétique et de relation PK/PD

La pharmacocinétique décrit de l'évolution des concentrations d'un médicament en fonction du temps dans un liquide biologique (sang) selon les processus d'absorption, de distribution et d'élimination (métabolisme et excrétion).

#### - Absorption

C'est le passage d'un médicament de son site d'administration vers la circulation générale. On parle ainsi de biodisponibilité, défini comme étant la fraction de la dose de médicament administrée qui atteint la circulation générale sous forme inchangée (coefficient de biodisponibilité  $F$ ) et la vitesse à laquelle elle l'atteint (constante d'absorption  $k_a$ ). La biodisponibilité peut être modulée en fonction de différentes formulations galéniques, de la vidange gastrique ainsi que du débit sanguin intestinal.

#### - Distribution

Cette phase décrit le passage du médicament de la circulation générale vers les autres tissus de l'organisme. Son paramètre PK est le volume de distribution ( $V_d$ ), défini comme étant un volume fictif dans lequel se distribuerait le médicament de manière homogène au sein de l'organisme. Sachant que dans la circulation générale, le médicament existe sous la forme libre (forme pharmacologiquement active et diffusible) ou liée (aux protéines plasmatiques majoritairement, comme l'albumine ou l'acide  $\alpha$  1-glycoprotéine), le volume de distribution peut être modulé en fonction de la liaison aux protéines plasmatiques/tissulaires du médicament (affinité, quantité), du débit sanguin et des passages membranaires des tissus/organes du médicament (perméabilité, solubilité).

- Élimination

Cette phase traduit les mécanismes mis en jeu afin d'épurer l'organisme du médicament par des processus de métabolisation (formation de métabolite(s), majoritairement hépatique) et/ou d'excrétion (sous forme inchangé, majoritairement rénale) lorsque ce dernier est sous forme libre. Son paramètre PK est la clairance totale ( $CL_t$ ) correspondant au volume plasmatique total épuré d'un médicament par unité de temps. La clairance totale peut être modulée en fonction de la liaison du médicament aux protéines, du débit sanguin et de la fonctionnalité des systèmes d'élimination (fonctions hépatiques et rénales ...).

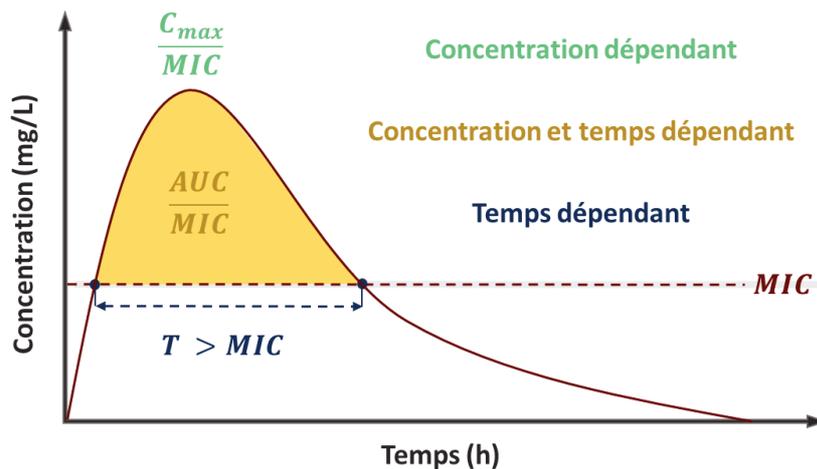
De manière générale, les propriétés physico-chimiques des médicaments (état d'ionisation, masse molécule, lipophilie, hydrosolubilité) jouent un rôle clé dans les différentes phases PK. En simplifiant, on constate deux familles de médicament (en prenant exemple sur des médicaments administrées par voie intraveineuse (IV), dépourvues de phase d'absorption) :

- Les médicaments hydrophiles : Elles ont un  $V_d$  faible, sont majoritairement éliminées par les reins et ont une pénétration tissulaire faible.
- Les médicaments lipophiles : Elles ont un  $V_d$  élevé, sont majoritairement éliminées par le foie et ont une pénétration tissulaire élevée.

En plus des paramètres PK associés à ces phases d'absorption (F), de distribution ( $V_d$ ) et d'élimination ( $CL_t$ ), la demi-vie d'élimination ( $t_{1/2}$ ), est défini comme étant le temps nécessaire à la diminution de 50 % de la concentration plasmatique. La demi-vie est un indicateur de persistance du médicament dans l'organisme, modulable en fonction du  $V_d$  et de la  $CL_t$ . D'autres paramètres sont également essentiels afin de caractériser la PK d'un médicament, à savoir la concentration minimale ( $C_{min}$ ), la concentration maximale ( $C_{max}$ ) ainsi que l'aire sous la courbe (ASC), plus communément appelée l'exposition.

La relation PK/PD, quant à elle, établit le lien entre les concentrations du médicament administré dans l'organisme et l'effet pharmacologique. Dans le cadre des anti-infectieux, l'effet pharmacologique est confronté à la sensibilité du pathogène à la molécule étudiée représentée par la concentration minimale inhibitrice (CMI) [13]. Cette relation PK/PD traduit la capacité à tuer ou inhiber la croissance des microorganismes. Parmi les anti-infectieux, il existe trois classes (Figure 2) :

- Temps dépendant ( $T > CMI$ ) : l'efficacité est associée au maintien des concentrations au-dessus de la CMI pendant une proportion définie de l'intervalle de dose.
- Concentration dépendant ( $C_{max}/CMI$ ) : l'efficacité dépend du ratio de la concentration maximale et de la CMI.
- Concentration dépendant et temps dépendant ( $ASC_{0-24h}/CMI$ ) : l'efficacité dépend de l'exposition antibiotique, l'ASC (calculée entre 0 et 24h après administration).



**Figure 2 : Représentation des Cible PK/PD.** D'après Roberts et al., 2009 [5].

ASC : aire sous la courbe.  $C_{max}$  : concentration maximale.

CMI : concentration minimale inhibitrice. T : temps.

### 2.2.2 Altérations PK/PD

Les modifications des paramètres PK des anti-infectieux chez des patients de réanimation atteint de sepsis sont modulées par des facteurs associés à la molécule et à l'état physiopathologique du patient (Figure 3). Pour des médicaments administrés en IV, on retrouve cinq altérations PK principales :

- Augmentation du volume de distribution  $V_d$

La vasodilatation, l'augmentation de la perméabilité vasculaire ainsi que l'administration d'agents vasopresseurs en réponse à une altération du débit sanguin sont responsables de l'augmentation du  $V_d$  pour les molécules hydrophiles. Des interventions contribuant à ces phénomènes peuvent accentuer l'augmentation du  $V_d$ , à savoir la mise en place de ventilation mécanique, de circuit extracorporelle (assistance cardiaque et respiratoire) et

le drainage post-chirurgical [5]. Contrairement aux molécules hydrophiles, le Vd des molécules lipophiles est naturellement très grand et n'est pas significativement augmentée par ces altérations physiopathologiques. Ainsi, une augmentation du Vd des molécules hydrophiles se traduit par une diminution des concentrations plasmatiques.

- Altération de la liaison aux protéines

Sachant qu'une molécule est pharmacologiquement active et diffusible sous forme libre, l'impact d'une altération de la liaison aux protéines peut s'avérer important si la molécule est fortement liée aux protéines (> 85-90 %). Chez des patients de réanimation, il est classiquement observé une hypoalbuminémie (< 35 g/L) [14]. Cette hypoalbuminémie, résultante des fuites capillaires provoquées par l'augmentation de la perméabilité vasculaire, favorise l'extravasation des fluides et la diminution de la liaison aux protéines des molécules hydrophiles, soit une augmentation de leur forme libre dans la circulation plasmatique. Ainsi, pour les molécules hydrophiles fortement liées à l'albumine, l'hypoalbuminémie induirait une augmentation du Vd et de la  $CL_t$ , conduisant à une diminution des concentrations plasmatiques.

- Augmentation de la clairance rénale

L'hypotension, l'augmentation du débit cardiaque et l'usage d'agents vasopresseurs contribuent à une augmentation du débit sanguin dans de nombreux organes, notamment les reins, aboutissant à une hyperfiltration glomérulaire s'il n'y a pas d'insuffisance rénale. Une excrétion rénale est ainsi accrue pour les molécules majoritairement éliminées par les reins, à savoir les molécules hydrophiles [15]. Ces dernières ont donc une clairance rénale augmentée, favorisant la diminution des concentrations plasmatiques.

- Diminution de la clairance rénale

o Insuffisance rénale aigue

L'insuffisance rénale aigue est une complication fréquente en réanimation, particulièrement dans un contexte de sepsis [16]. Les molécules hydrophiles principalement éliminées par voie rénale sont particulièrement impactées par les modifications de clairance rénale. Ce rôle serait d'autant plus important en fonction de la proportion à laquelle la molécule est éliminée par voie rénale. Des mécanismes adaptatifs sont toutefois mis en jeu en situation d'insuffisance

rénale pouvant modifier les clairances extra-rénales de ces molécules. Le plus fréquemment, lors de l'insuffisance rénale aiguë, la clairance d'une molécule hydrophile fortement éliminée par voie rénale diminue et ses concentrations plasmatiques sont augmentées exposant le patient à un risque de toxicité [17].

- Thérapie d'épuration extra-rénale

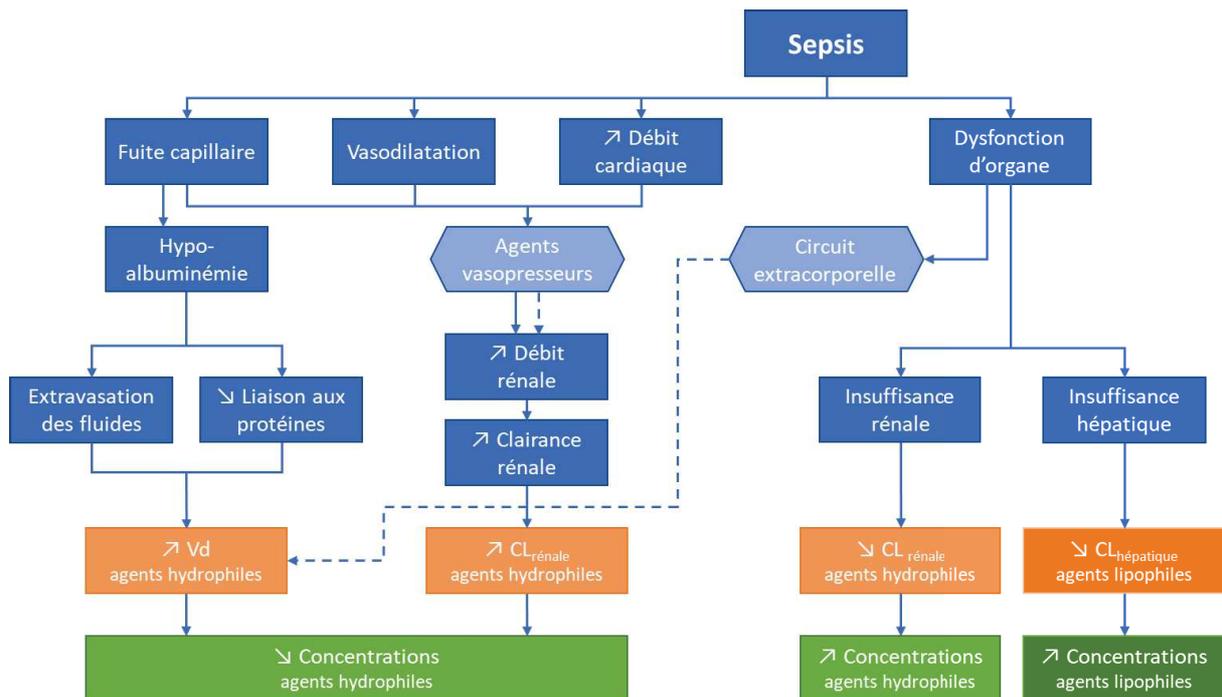
Dans le cas d'une insuffisance rénale aiguë pour des patients en état critique, le recours à une thérapie d'EER est fréquemment requis. Les modes de thérapie les plus utilisés sont l'hémofiltration veno-veineuse continue, l'hémodialyse veno-veineuse continue et l'hémodiafiltration veno-veineuse continue [18]. Plusieurs facteurs associés à ces thérapies d'EER continues ont été identifiés comme des facteurs influençant potentiellement la PK des molécules par extraction *via* les circuits extracorporels ou par adsorption, tels que les modalités des thérapies utilisées (convection et/ou diffusion), l'aire de surface des membranes, le site de d'administration des fluides (pré or post-dilution) ainsi que les débits d'ultrafiltration et/ou de dialyse. Les molécules les plus à même à être extraites ou adsorbées sont hydrophiles, notamment lorsqu'elles ont une faible liaison aux protéines et une forte clairance rénale [19]. Dans le cadre de thérapie d'EER continue, ces molécules auraient une clairance augmentée et des concentrations plasmatiques réduites. Finalement, l'étude SMAART [20] a récemment démontré qu'indépendamment de la thérapie d'EER utilisée, les concentrations plasmatiques observées n'atteignaient pas les concentrations requises ou étaient trop élevées, accentuant le risque de toxicité. Ces résultats rendent plus complexe la prédiction de la pharmacocinétique de ces molécules avec l'usage de ces techniques, où le monitoring des concentrations plasmatiques et l'utilisation de logiciels d'aide à la prescription devient nécessaire [21].

- Diminution de la clairance hépatique

Elle peut être diminuée en cas d'insuffisance hépatique. Cette dernière est associée à des atteintes hépatocellulaires, une ischémie hépatique (suite à l'hypoperfusion) ou est provoquée directement par l'hépatotoxicité d'un agent pharmaceutique. Dans le cadre d'un sepsis, il en résulterait une réduction de l'activité des enzymes du métabolisme (comme par exemple les cytochromes P450) et une altération du débit hépatique. Ces deux phénomènes conduiraient à la diminution de la clairance hépatique, notamment pour les molécules lipophiles qui sont fortement extraites par le foie, engendrant une augmentation des

concentrations plasmatiques [22]. Toutefois, l'évaluation de la fonction métabolique hépatique est mal appréciée dans les services de réanimation, rendant plus complexe l'interprétation de la variabilité PK.

D'autre part, est également associée à cette pathologie une réduction de la production d'albumine, responsable d'une hypoalbuminémie jouant un rôle dans l'altération du Vd, de la  $CL_t$  et la liaison aux protéines des médicaments.



**Figure 3 : Altérations PK dus au sepsis.** D'après Blot et al., 2014 [22].

$CL_{\text{rénal}}$  : clairance rénale. Vd : volume de distribution.

Chacune de ces altérations PK aboutit à une modulation des concentrations plasmatiques de l'anti-infectieux en fonction de ses caractéristiques physico-chimiques (notamment sa lipophilie). Il en résulte une modification plus ou moins importante de l'atteinte de la cible PK/PD en fonction de la molécule (temps dépendant ( $T > CMI$ ), concentration dépendant ( $C_{\text{max}}/CMI$ ), ou les deux ( $ASC_{0-24h}/CMI$ )) avec un risque accru d'inefficacité ou de toxicité de l'anti-infectieux administré. Ainsi, le sepsis est source de variabilité accrue dans le devenir des molécules administrées, aboutissant à des risques de sur ou sous-dosage des anti-infectieux. A titre d'exemple, l'augmentation fréquemment observée du Vd des molécules hydrophiles nécessite généralement une augmentation de la dose de charge afin de pallier au risque de sous dosage de l'anti-infectieux considéré.

### 3 Problématique des infections fongiques dans le sepsis

Les infections fongiques sont la deuxième cause de sepsis après les infections bactériennes. Elles sont notamment à l'origine de 20 % des cas de sepsis, sachant que 17 % sont attribuables aux *Candida spp.* [23,24].

#### 3.1 *Candida spp.* et pathologies associées

Le genre *Candida spp.* comprend plus de 150 espèces, bien qu'une minorité (environ 10 %) soit impliquée en pathologie humaine [25]. Les levures peuvent être classifiées en fonction de leur capacité à produire (comme *C. albicans*) ou non (comme *C. glabrata*) des filaments, identifiable en culture sur gélose par des colonies blanches crémeuses. Les *Candida spp.* sont des agents commensaux saprophytes majoritairement localisés dans les muqueuses digestives, et retrouvées également dans les muqueuses respiratoires, uro-génitales et/ou sur la peau de l'Homme. L'espèce *Candida* la plus fréquemment isolée en pathologie humaine est *Candida albicans*, suivi des espèces dites *non-albicans* à savoir *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* et *C. krusei* [26].

Le plus souvent, l'infection résultante de ces levures est liée à une contamination endogène. En effet, les levures du genre *Candida spp.* sont des pathogènes opportunistes capable de passer, sous l'influence de facteurs favorisants et de modification écologiques, du commensalisme à la pathogénicité. Les levures pourront alors proliférer dans la lumière digestive et devenir invasive par translocation lors d'une altération des muqueuses avec la possibilité de dissémination à distance : on parlera alors de candidoses invasives (Figure 4) [27]. À titre de définition, ces dernières regroupent les candidémies (isolement de *Candida spp.* à partir d'hémoculture) et les candidoses disséminées/profondes (présence de *Candida spp.* au niveau de site normalement stérile). Ces infections peuvent également provenir de contamination exogène, bien que plus rare, comme par exemple par contamination des dispositifs médicaux (cathéters, ...). Les pathologies les plus fréquemment rencontrées chez des patients de réanimation sont les candidémies, suivi des infections fongiques intra-abdominales avec notamment la péritonite secondaire [28–30]. Cette dernière étant définie par une contamination du péritoine secondairement à une agression (inflammation, chirurgie...), majoritairement obtenue par perforation du tube digestif ou de l'arbre biliaire.

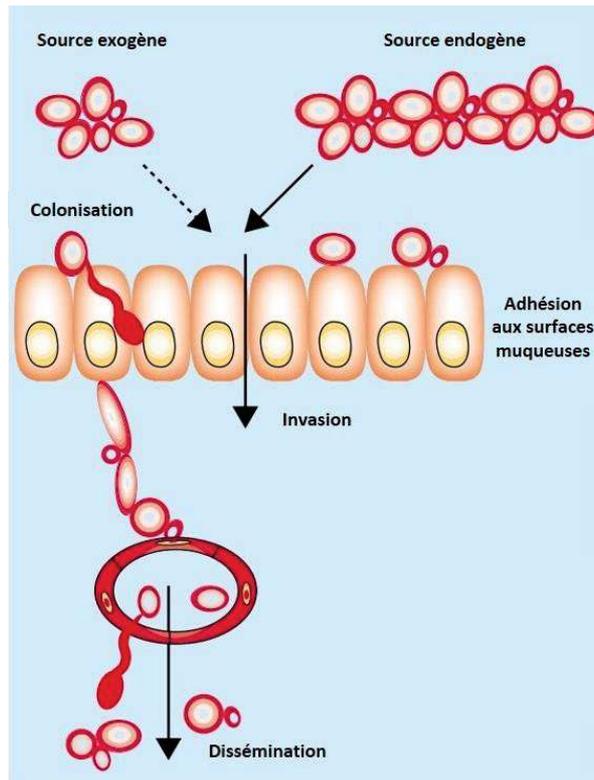


Figure 4 : Physiopathologie des candidoses invasives. D'après Eggimann et al., 2003 [27].

### 3.2 Epidémiologie

A l'échelle mondiale, les candidoses invasives sont les infections fongiques les plus fréquemment observées chez les patients hospitalisés [31]. Entre 250 000 et 750 000 candidoses invasives sont diagnostiquées chaque année [32,33]. L'étude EPIC II a démontré que 17 % des adultes admis dans les unités de soins intensifs suite à une infection fongique étaient attribuables aux levures du genre *Candida spp.* [24]. Ces dernières représentent ainsi le 4<sup>ème</sup> agent responsable de septicémie nosocomiale en réanimation [34,35]. L'espèce *Candida* est également le 1<sup>ère</sup> ou le 2<sup>ème</sup> pathogène les plus fréquemment isolé en cas de péritonite secondaire, notamment *C. albicans* [29].

Le taux de mortalité, supérieur aux septicémies d'origine bactérienne [23,31], atteint jusqu'à 60 % [36–38], notamment en cas d'infection intra-abdominale comme par exemple une péritonite secondaire [28,29,39]. Il a également été démontré que le taux de mortalité des candidoses invasives est plus élevé en cas d'infection à *C. albicans* et *C. tropicalis* contrairement à une infection à *C. parapsilosis*, où le taux de mortalité est le plus faible [25,33,40].

### 3.3 Facteurs de risque

Tout évènement altérant la relation entre l'hôte et les *Candida spp.* est un facteur de risque pour les candidoses invasives pour des patient de réanimation, tel qu'une durée de séjour prolongée, un score de gravité élevé lors du diagnostic, un usage antérieur et/ou un retard dans l'administration d'antifongique, un contrôle de la source inadéquat ainsi qu'une colonisation à des sites multiples des espèces *Candida* [27,36,38,41]. On y retrouve également les procédures invasives, à savoir l'usage de cathéter veineux central ainsi que la nutrition parentérale [40,42,43], la ventilation mécanique, l'hémodialyse, et la chirurgie abdominale. Enfin, le risque de ces infections est plus important chez des patients en insuffisance rénale, diabétique, neutropénique, sous traitement immunosuppresseur ou d'un âge extrême.

### 3.4 Diagnostic

D'après les recommandations de l'ESCMID (*European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases*) [3], l'hémoculture est utilisée afin de confirmer l'hypothèse d'une infection tandis que les biomarqueurs, de l'infirmier.

L'hémoculture demeure le pilier pour diagnostiquer une candidose [44], cependant, sa sensibilité est au maximum de 50 à 75 % [45], et le temps d'attente avant l'obtention des résultats en cas de candidose est de 2 à 5 jours en fonction de l'espèce *Candida* [44].

Les biomarqueurs sont également des outils majeurs afin d'identifier les patients à risque de développer une infection fongique. Parmi ces biomarqueurs, il y a classiquement le (1-3)- $\beta$ -D-glucan (BDG) avec une sensibilité et une spécificité de 77 et 86 % respectivement, dont la valeur prédictive négative est de 97 % [46,47]. Cependant, le BDG n'est pas spécifique des *Candida spp.* et il peut y avoir des faux positifs résultant par exemple d'autres infections, de l'usage d'antibiotique ou encore d'hémodialyse. On retrouve également comme biomarqueur la procalcitonine (PCT), les mannanes (anticorps anti-mannanes et CAGTA (*Candida albicans germ tube antibody*)) [48], ou encore l'ADN des *Candida* détectée par résonance magnétique (T2MR, *T2 magnetic resonance*) [49]. Cette dernière méthode, récemment approuvé par la FDA (*Food and Drug Administration*) et l'EMA (*European Medicines Agency*) a l'avantage d'avoir une durée d'identification inférieure à 5h et une sensibilité et une spécificité de 91,1 et 99,4 % respectivement [50].

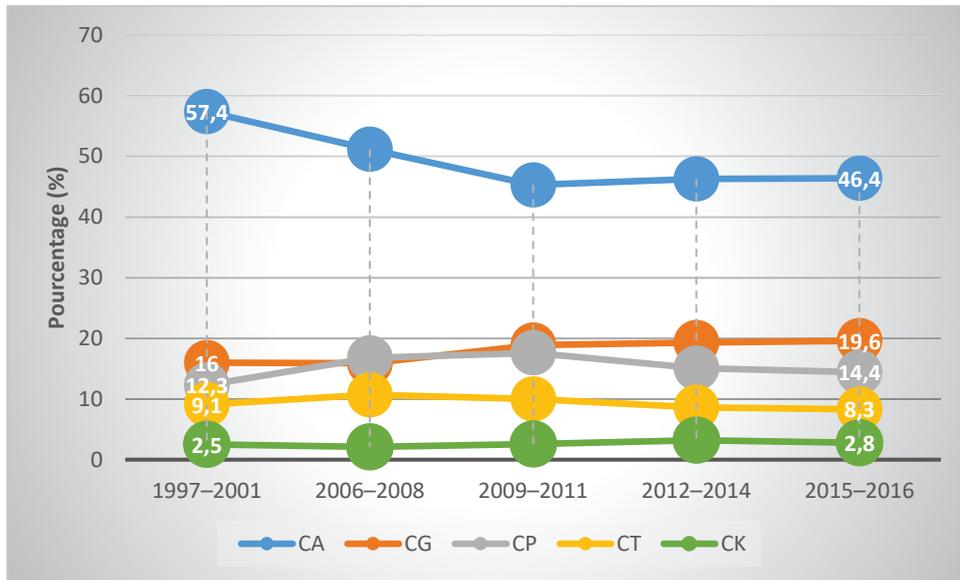
Plus généralement, le diagnostic de ces infections reste difficile et tardif. Il peut en résulter une absence ou un retard de traitement antifongique adéquat qui aurait un impact majeur sur la survie du patient.

### 3.5 Distribution des espèces *Candida*

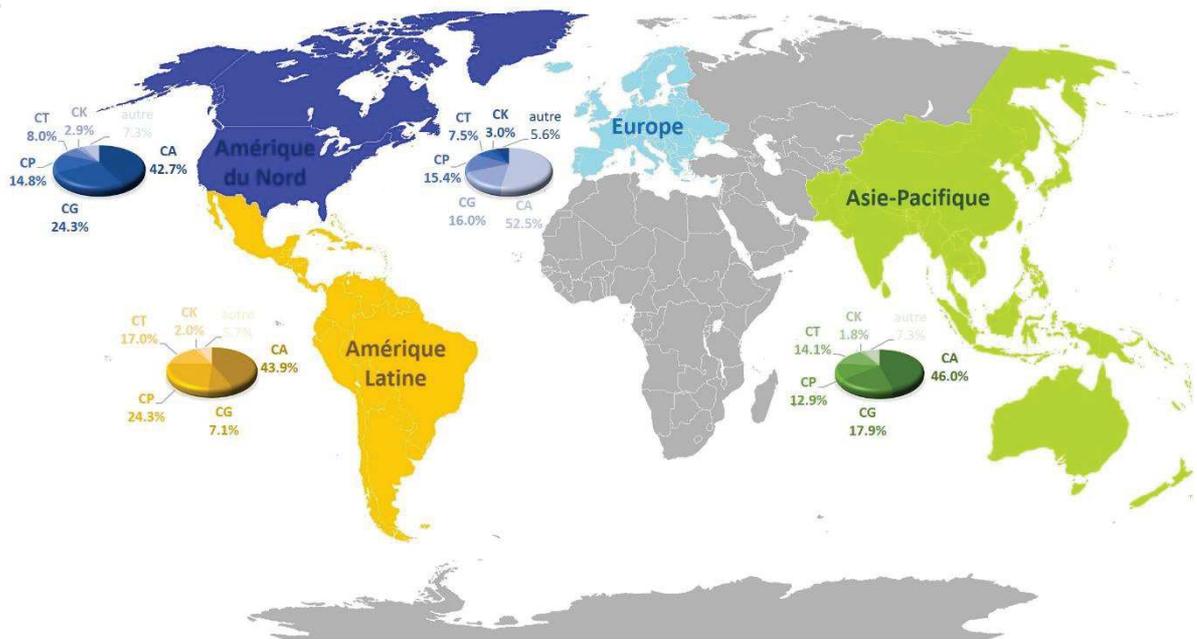
L'étude SENTRY [26], qui a recueilli des données provenant de 135 centres médicaux de 39 pays, a étudié la distribution de ces espèces de 1997 à 2016 (Figure 5). Sur cette période, la tendance globale de distribution de ces espèces place toujours *C. albicans* en première position (46,7 %), suivi de *C. glabrata* (18,7 %), *C. parapsilosis* (15,9 %), *C. tropicalis* (9,3 %) et *C. krusei* (2,8 %). Il a également été constaté une diminution de la proportion de *C. albicans* (57,4 à 46,4 %) associée à une augmentation de la proportion des *Candida non albicans*, notamment *C. glabrata* (16 à 19,6 %) et de *C. parapsilosis* (12,3 % à 14,4 %). Une différence de distribution entre les régions y est également observée. Ainsi, *C. albicans* est majoritairement retrouvé en Europe (52,5 %) par rapport à l'Amérique du Nord (42,7 %), tandis que *C. glabrata* l'est majoritairement en Amérique du Nord (24,3 %) comparé à l'Amérique Latine (7,1 %) où *C. parapsilosis* est y principalement retrouvé (24,3 %).

L'augmentation de la proportion des espèces *non-ablicans* a également été observée dans d'autres études [51–53]. A l'échelle de la France, Sasso et al. [54] a notamment mis en évidence une variabilité dans la distribution des *Candida*, avec une diminution de la proportion de *C. albicans* (64,3 % à 50,7 %) contre une augmentation pour *C. glabrata* et *C. parapsilosis* (10,6 % à 22,8 % et 2,5 % à 8,2 % respectivement) de 2014 à 2016.

A.



B.



**Figure 5 : Distribution mondiale des espèces *Candida* au cours du temps (A) et par région (B).** D'après l'étude SENTRY, Pfaller et al., 2019 [26].

CA : *Candida albicans*. CG : *Candida glabrata*. CP : *Candida parapsilosis*.

CT : *Candida tropicalis*. CK : *Candida krusei*.

## 4 Traitement des candidoses invasives et problématique de l'adaptation de posologie en cas de sepsis

Plusieurs études [2,37,55–59] ont mis en évidence qu'un retard dans l'instauration d'un traitement antifongique adapté est associé à la mortalité des patients en choc septique, notamment lorsque ce retard dépasse les premières 24 heures. La nécessité d'établir une stratégie thérapeutique avec un traitement d'emblée efficace est donc primordiale.

### 4.1 Les antifongiques

Il existe plusieurs familles d'antifongiques, telles que les échinocandines (anidulafungine, caspofungine, micafungine), les polyènes (amphotéricine B et dérivés lipidiques), les pyridines (flucytosine) ainsi que les triazolés (itraconazole, fluconazole, voriconazole). Dans la suite de cette partie, seuls les antifongiques recommandés, les échinocandines et le fluconazole, seront présentés.

#### 4.1.1 Les échinocandines

Les échinocandines sont des lipopeptides semi-synthétiques cycliques de structure apparentée composés de noyaux hexapeptides cycliques identiques mais dont les chaînes latérales diffèrent (Figure 6) [60]. Cette différence structurale va influencer les propriétés pharmacocinétiques et pharmacodynamiques des médicaments.

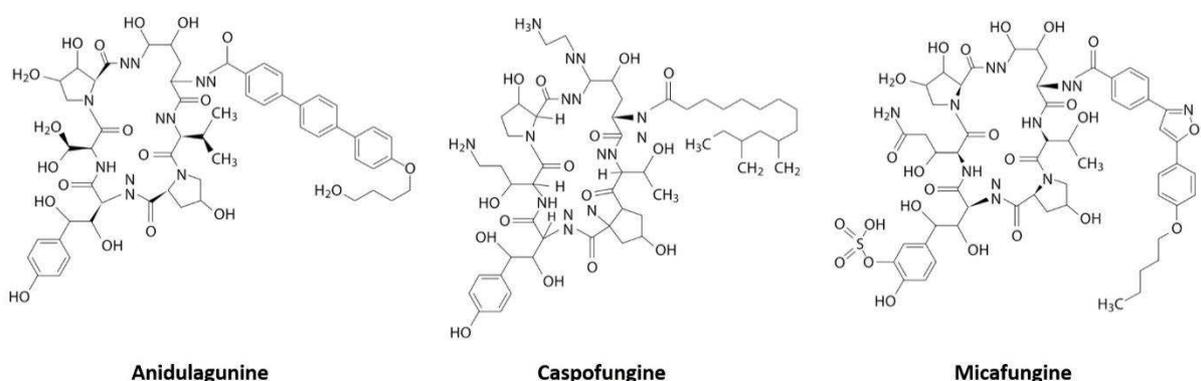


Figure 6 : Structures chimiques des échinocandines. D'après Wagner et al. [61].

Ces antifongiques sont administrés par perfusion intraveineuse, en vue de leur biodisponibilité très limitée (2-7 %) [62]. Le schéma posologique préconisé par le résumé des caractéristiques du produit (RCP) est constitué : pour l'anidulafungine et la caspofungine d'une dose de charge de 200 ou 70 mg respectivement, suivi d'une dose d'entretien de 100 mg par jour pour l'anidulafungine ou de 50 mg par jour pour la caspofungine. Pour les patients avec un poids supérieur à 80 kg la dose d'entretien de 70 mg par jour pour la caspofungine est recommandée. Enfin, la posologie de micafungine préconisée est une dose de 100 mg chaque jour sans dose de charge. [63–65].

#### 4.1.1.1 Pharmacodynamie des échinocandines

Les échinocandines sont des inhibiteurs non compétitif de la synthèse du (1-3)- $\beta$ -D-glucane, un composant essentiel de la paroi fongique [66]. Chez les levures, la déplétion en BDG de la paroi fongique fragilise la paroi et peut mener à la lyse de la cellule fongique. Ce sont des antifongiques à large spectre avec une activité fongicide contre les espèces *Candida*. Leur activité est concentration-dépendante et ils ont un effet post-antifongique démontré [67]. Enfin, leur cible enzymatique n'existe pas chez les mammifères, ce qui contribue à un profil de sécurité favorable.

L'indice PK/PD principal déterminant l'efficacité des échinocandines est le ratio  $ASC_{0-24h}/CMI$ , lequel est associé d'après l'étude d'Andes et al. [68] à une diminution du compte fongique de 1 log<sub>10</sub> à 24h *in vivo* sur un modèle murin. Il varie également selon l'antifongique et selon l'espèce *Candida* considéré. Par exemple, le ratio  $ASC_{0-24h}/CMI$  pour la micafungine est de 285 (*C. parapsilosis*), 3000 (toutes les espèces *Candida*) et 5000 (*C. non parapsilosis*), ou encore pour la caspofungine de 450 (*C. glabrata*), 865 (*C. albicans*) et 1185 (*C. parapsilosis*) [68,69]. De plus, les cibles pharmacodynamiques ou CBP (*clinical breakpoints*) du CLSI (*Clinical & Laboratory Standards Institute*) définissant la sensibilité des *Candida spp.* aux échinocandines sont de l'ordre de 0,06 – 0,25 mg/L pour les *C. non parapsilosis* et de 2 mg/L pour *C. parapsilosis* [70], traduisant une moins bonne sensibilité de ce dernier aux échinocandines. Toutefois, aucun CBP n'est défini pour la caspofungine par l'EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*) et la valeur des CBP divergent de ceux définis par le CLSI pour la micafungine et l'anidulafungine, mettant en évidence un manque d'harmonisation entre le CLSI et l'EUCAST.

#### 4.1.1.2 Pharmacocinétique des échinocandines

Chez des volontaires sains, les concentrations plasmatiques de l'anidulafungine atteignent l'état d'équilibre après la deuxième dose succédant la dose de charge, tandis que les concentrations de la caspofungine et de la micafungine l'atteignent autour du 4<sup>ème</sup> et du 6<sup>ème</sup> jour respectivement, avec des  $C_{max}$  de 7,2, 12,1 et 9,1 mg/L et des ASC de 110,3, 97,6 et 132,6 mg.h/L.

La structure chimique de l'anidulafungine la rend plus lipophile que les autres échinocandines (dû au groupes hydroxyl et méthyl des chaînes latérales), ce qui va la distinguer davantage. Sa demi-vie d'élimination est notamment de 40 à 50 h contre 8 h pour la caspofungine et entre 13 et 20 h pour la micafungine. Quant à son volume de distribution, il est de 0,6 L/kg, contre de 0,3 à 2,0 L/kg et de 0,2 L/kg pour la caspofungine et la micafungine respectivement. La liaison aux protéines plasmatiques reste très élevée dans cette classe d'antifongique, à savoir 99,0 % (anidulafungine), 92,4 % à 96,5 % (caspofungine) et 99,9 % (micafungine). L'anidulafungine ne subit pas de métabolisme hépatique, mais elle est dégradée dans le sang de manière spontanée et excrétée par les fèces *via* la bile. N'étant pas retrouvée dans les urines, sa clairance rénale est négligeable. La caspofungine, elle, est métabolisée par hydrolyse et N-acétylation ou par dégradation spontanée non hépatique. Au bout de 27 jours, 75 % de la dose administrée est retrouvée dans les urines (40 %) ainsi que dans les fèces (35 %), traduisant l'implication d'une clairance hépatique et rénale. Enfin, la micafungine est métabolisée par les enzymes arylsulfatase et catéchol-O-méthyl-transférase mais également par des isoenzymes du cytochrome P450, bien que ces dernières ne soient impliquées que minoritairement. Après 28 jours, 83 % de la dose administrée est excrétée, indiquant une voie d'élimination hépatique majoritaire (71 % retrouvées dans les fèces contre 12 % dans les urines). Ainsi, l'ensemble de ces mécanismes de métabolisation et d'excrétion se traduisent par une clairance totale de 1,05 L/h pour l'anidulafungine, de 0,70 L/h pour la caspofungine et de 0,84 L/h pour la micafungine. [71–77].

Il a toutefois été indiqué en cas d'insuffisance rénale ou de dialyse qu'un ajustement posologique n'est pas nécessaire pour les échinocandines [63–65]. Cependant, pour des

patients avec une insuffisance hépatique modérée, la dose de maintien de la caspofungine devrait être réduite à 35 mg par jour suite à une dose de charge de 70 mg [78].

De plus, la polymédication des patients des unités de soins intensifs est un risque important d'interaction médicamenteuse. Toutefois, les échinocandines ont un profil d'interaction favorable [79], et l'anidulafungine et de la micafungine ne sont pas victimes d'interaction médicamenteuse. Cependant, L'ASC de la caspofungine peut être diminuée en cas d'administration simultanée avec des inducteurs du métabolisme tels qu'efavirenz, névirapine, rifampicine, dexaméthasone, phénytoïne ou carbamazépine [80]. En présence de ces inducteurs, il peut être envisagé d'augmenter la dose d'entretien à 70 mg par jour après la dose de charge [64].

#### 4.1.2 Le fluconazole, chef de file des triazolés

La famille des antifongiques azolés est caractérisée par leur noyau azole. En fonction du nombre d'atome d'azote sur ce dernier, cette famille est divisée en deux classes : les imidazoles (deux atomes) et les triazoles (trois atomes). Cette différence structurale apporte aux triazolés une meilleure spécificité de la liaison des antifongiques à leur cible, notamment avec la présence d'un cycle phényl halogénée. Le fluconazole est un triazolé de première génération. Il comporte deux noyaux triazolés, responsable d'une plus grande hydrosolubilité par rapport aux autres triazolés (Figure 7) [81,82].

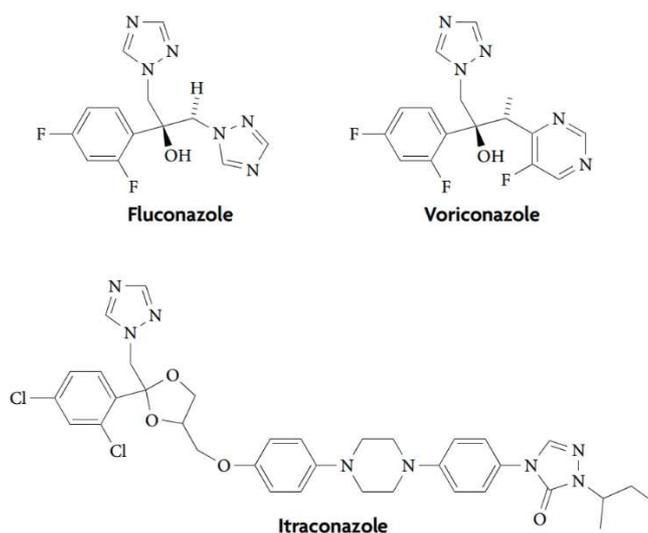


Figure 7 : Structure chimique des triazolés. D'après Ostrosky-Zeichner et al. [82].

Le fluconazole peut être administré en perfusion IV ou par voie orale, en raison de son caractère hydrosoluble comparé aux autres triazolés et de sa biodisponibilité élevée (> 90 %). Par voie IV, le schéma posologique recommandé par le RCP est une dose de charge de 12 mg/kg (800 mg) suivi d'une dose d'entretien de 6 mg/kg (400 mg) par jour [83].

#### 4.1.2.1 Pharmacodynamie du fluconazole

Le fluconazole, comme les autres azolés, est un inhibiteur de la lanostérol 14 $\alpha$ -déméthylase, appelée plus communément Erg11 ou CYP51, enzyme responsable de la formation d'ergostérol qui est indispensable dans la membrane des cellules fongiques. Chez les levures, il en découle une altération de la membrane plasmatique avec une accumulation de composés toxiques. Le fluconazole a une activité concentration dépendante et fongistatique, c'est-à-dire qu'il va inhiber la croissance des levures sans pour autant les éliminer. C'est un antifongique actif sur la plupart des espèces *Candida*, notamment sur *C. albicans*. Cependant, *C. krusei* y est intrinsèquement résistant et *C. glabrata* y est intrinsèquement peu sensible. De plus, Le fluconazole est bien toléré. Toutefois, une inhibition de l'isoenzyme 51 du cytochrome P450 (CYP51) chez l'Homme pourrait jouer un rôle dans le risque d'hépatotoxicité. Enfin, son efficacité est déterminée en fonction du ratio  $ASC_{0-24h}/CMI > 100$  [96,97] sachant que les CMI sont du même ordre de grandeur pour les espèces sensibles, avec des CBP de sensibilité de 2 mg/L pour les espèces sensibles (*C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*) et de 32 mg/L pour l'espèce *C. glabrata* [70].

#### 4.1.2.2 Pharmacocinétique du fluconazole

Chez des volontaires sains, les concentrations du fluconazole à l'état d'équilibre sont atteintes dès le 2<sup>ème</sup> jour grâce à la dose de charge. Avec une dose journalière de 800 mg, l' $ASC_{0-24h}$  est de 608 mg.h/L avec une  $C_{max}$  de 33,6 mg/L à l'état d'équilibre [86].

Contrairement aux échinocandines, le fluconazole a une faible liaison aux protéines (12 %). C'est également une molécule avec le même degré de lipophilie que l'anidunafungine, avec un volume apparent de distribution proche du volume d'eau corporelle totale (0,6 – 0,7 /kg). Proportionnellement à ce dernier, le fluconazole a une demi-vie d'élimination d'environ 30 heures.

Le fluconazole est majoritairement éliminée par voie rénale, à hauteur de 60 à 80 %. Le processus d'élimination rénal consiste en deux phénomènes : une forte filtration glomérulaire attribuée à sa faible liaison aux protéines, ainsi qu'une réabsorption tubulaire importante qui est associée également une longue demi-vie d'élimination. Le fluconazole n'est que faiblement métabolisée, avec 11 % de la dose administrée retrouvée sous forme de métabolites dans les urines. Ainsi, la clairance totale du fluconazole est d'environ 1,17 L/h avec une clairance rénale d'environ 0,88 L/h [83,87].

La clairance totale du fluconazole étant proportionnelle à la clairance de la créatinine. Dans le cadre d'une insuffisance rénale avec une clairance de la créatinine  $\leq 50$  ml/min, une réduction posologique est nécessaire. Un risque de sous-dosage est également possible lorsqu'un patient est sous hémodialyse : une séance de 3 heures permet de diminuer d'environ 50 % des concentrations plasmatiques.

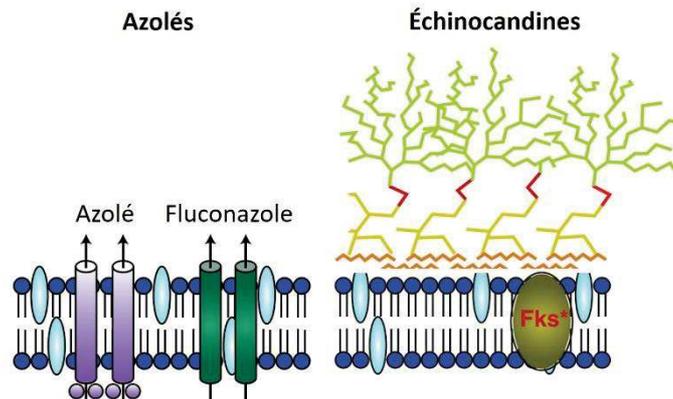
De plus, la co-administration avec la rifampicine (inducteur fort du CYP3A4) réduit l'ASC du fluconazole de 25 % et sa demi-vie de 20 % malgré son faible métabolisme. Une augmentation de la dose du fluconazole devrait être considérée chez les patients recevant la rifampicine [83,88,89].

## 4.2 Résistance aux antifongiques

Les cellules fongiques sont constituées d'une paroi (principalement composés de glucanes, chitine et mannanes), reposant sur une membrane plasmique riche en lipide (majoritairement l'ergostérol) ainsi qu'en protéine impliquée dans la signalisation cellulaire, le transport ou encore dans la synthèse de la paroi fongique (comme la (1-3)- $\beta$ -D-glucane synthase) [90,91]. Les *Candida*, notamment *C. albicans*, sont également capables de former un biofilm afin de coloniser plus facilement certaines surfaces [92,93].

La résistance aux antifongiques est associée à une augmentation de la CMI d'un antifongique pour un organisme donné, indépendamment de sa capacité à survivre à des concentrations supérieures à la CMI [94]. Elles sont médiées par des anomalies génétiques (mutations, ...) affectant la paroi ou la membrane des cellules fongiques [95].

Pour les azolés comme le fluconazole, le principal mécanisme de résistance est une surproduction de protéines de transports, favorisant ainsi la diminution intracellulaire d'antifongique par un mécanisme d'efflux [96]. Pour les échinocandines, cependant, il concerne l'altération de leur enzyme cible, la (1-3)- $\beta$ -D-glucane synthase (notamment au niveau des sous-unités catalytiques FKS1 et/ou FKS2) [97], rendant ainsi la cellule fongique insensible aux échinocandines. La cible de ces antifongiques sont illustrés en figure 8.



**Figure 8 : Représentation des mécanismes de résistance des antifongiques.**

D'après Cowen et al. [95].

De plus, les levures en biofilm possèdent une concentration membranaire plus faible en ergostérol, ce qui expliquerait la moindre activité des antifongiques azolés (dont la cible est l'enzyme 14 $\alpha$ -lanostérol déméthylase qui synthétise l'ergostérol) contrairement aux échinocandines [98,99]. Il a également été montré un effet paradoxal *in vitro* de la caspofungine principalement pour *C. albicans* [100], avec une croissance des levures en présence de concentrations d'antifongiques supérieures à la CMI [101]. Toutefois, ces résultats n'ont pas été formellement démontrés *in vivo*. De plus, l'étude SENTRY [26] souligne une augmentation de la résistance de *C. glabrata* et *C. tropicalis* aux échinocandines et au fluconazole. D'autres études [102–105] ont également mis en évidence que les candidoses abdominales étaient le réservoir de l'émergence de la résistance de *C. glabrata* aux échinocandines, associée aux faibles concentrations d'antifongiques dans les tissus cibles. Le développement de ces résistances ainsi que la formation de biofilm serait associé aux choix des traitements ainsi que leur usage croissant [106–109].

La détection de sensibilité ou de résistance des souches est possible par détermination des CMI. Le CLSI et l'EUCAST ont ainsi défini des CBP ainsi que des seuils épidémiologiques (ECV, *epidemiological cutoff values*) spécifiques d'un couple levure/antifongique donné. Les CBP permettent d'identifier les isolats susceptibles de répondre au traitement, notamment les isolats sensibles, intermédiaires et résistants. Concernant les ECV, ils sont utilisés afin de discriminer les souches « sauvages » des « non sauvages » (ayant développés des mécanismes de résistance), soit de suspecter des mécanismes sans pour autant les confirmer ni les caractériser. CBP et ECV ont été revisités en 2012 dans l'objectif d'augmenter la sensibilité de détection des souches résistantes [110–112]. La comparaison en clinique du CBP à l'EVC est essentielle afin de caractériser la sensibilité des souches et leur probable résistance [70], imposant ou non un changement d'antifongique pour une thérapie optimale.

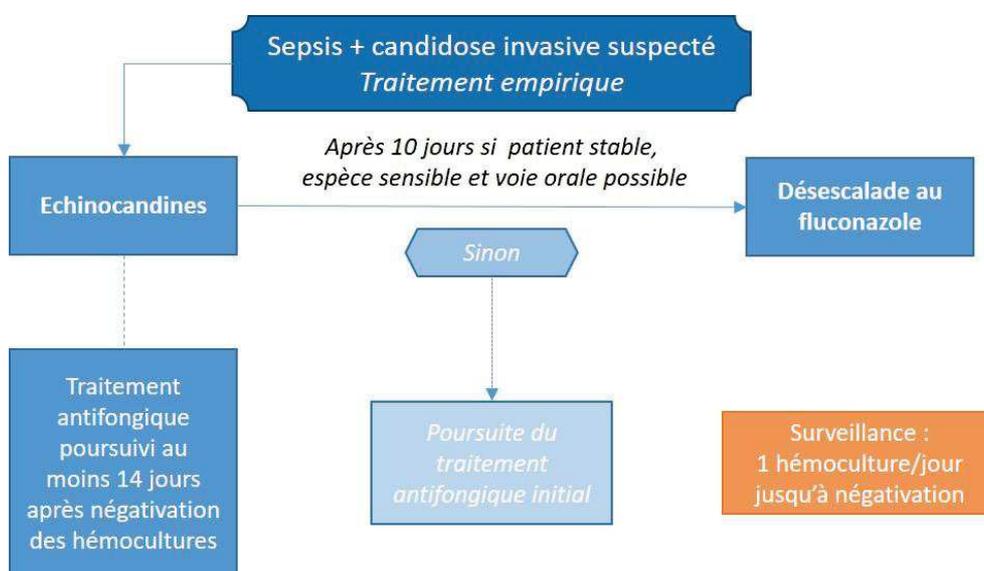
### **4.3 Recommandations officielles et particularité du contexte de sepsis**

Différentes stratégies thérapeutiques peuvent être mises en place dans le contexte d'une candidose invasive, à savoir les traitements prophylactique, pré-emptif, empirique et ciblé. Ces stratégies dépendent de la probabilité de survenue de l'infection fongique chez le patient ainsi que la présence ou non de facteur de risque, de signes cliniques ou de preuve microbiologique. Ainsi, le traitement prophylactique est proposé pour les patients à risque (suite à un acte chirurgical par exemple) ayant une faible probabilité d'infection, dont le but est de prévenir de l'infection. Les traitements pré-emptif et empirique sont quant à eux utilisés chez des patients présentant des facteurs de risques et des signes cliniques ou biologiques associés aux candidoses invasives (fièvre, sepsis, résultat positif au BDG, ...) où l'on suspecte l'infection. Enfin, le traitement ciblé s'adresse aux patients dont l'infection est prouvée (hémoculture).

#### **4.3.1 Recommandation dans le traitement des candidoses invasives**

Depuis plusieurs années, des sociétés savantes comme l'ESCMID, l'IDSA (*Infectious Diseases Society of America*) ou encore la SLRF (Société de Réanimation de Langue Française) [3,4,113,114] ont établi des recommandations pour la prise en charge des candidoses invasives (illustrées en figure 9). En raison d'un profil de toxicité favorable et de leur action à

large spectre, les échinocandines sont recommandés en tant que traitement empirique de première intention chez les patients neutropéniques ou non. Ils sont également recommandés en traitement prophylactique chez les patients non critiques mais avec un faible niveau de preuve. Le fluconazole est également proposé en traitement prophylactique en alternative aux échinocandines pour les patients non critiques n'ayant pas été exposés au préalable à un azolé.



**Figure 9 : Recommandations de l'ESCMID 2012 [3].**

L'administration d'un traitement précoce et adapté est essentielle dans la survie du patient. Toutefois, en vue de l'état physiopathologique et de la prise en charge (hémodynamique, suppléances d'organes) du patient de réanimation, l'efficacité du traitement peut être altérée avec des risques accrus de sous ou surdosage. En fonction des propriétés des traitements, un ajustement posologique serait probablement nécessaire afin de conserver leur efficacité. Un récapitulatif de leurs caractéristiques PK est présenté dans le tableau 1 ci-dessous.

	Anidulafungine	Caspofungine	Micafungine	Fluconazole
<b>Dose de charge</b>	200 mg	70 mg	-	800 mg
<b>Dose d'entretien</b>	100 mg	50 mg 70 mg si > 80 kg	100 mg	400 mg
<b>ASC<sub>0-24h</sub> (mg.h/L)</b>	110,3	97,6	132,6	608*
<b>C<sub>max</sub> (mg/L)</b>	7,2	12,1	9,1	33,6*
<b>Vd (L/kg)</b>	0,6	0,3 – 2,0	0,2	0,6 – 0,7
<b>CL<sub>t</sub> (L/h)</b>	1,05	0,70	0,84	1,17
<b>t<sub>1/2</sub> (h)</b>	40 – 50	8	13 – 20	30
<b>Liaison aux protéines (%)</b>	99,0	92,4 – 96,5	99,9	12
<b>Métabolisme</b>	Dégradation spontanée	Hépatique + Dégradation spontanée	Hépatique (+/- CYP)	Hépatique (+/- CYP)
<b>Élimination</b>	Fèces	Fèces et urine	Fèces	Urine
<b>Insuffisance hépatique</b>	-	Modéré : Dose d'entretien de 35 mg	-	-
<b>Insuffisance rénale et dialyse</b>	-	-	-	Insuffisance : réduction de dose EER : dose doublée
<b>Interaction médicamenteuse</b>	-	Certains inducteurs du métabolisme** : Dose d'entretien de 70 mg	-	Rifampicine : Augmentation de dose

**Tableau 1 : Posologies standards, caractéristiques PK et adaptations posologiques des principaux antifongiques prescrits en cas de candidoses invasives.**

Les profils PK sont obtenus à l'état d'équilibre chez des volontaires sains. Pour le fluconazole

(\*), ASC<sub>0-24h</sub> et C<sub>max</sub> ont été obtenus suite à des doses journalières de 800 mg.

Pour la caspofungine (\*\*), les inducteurs du métabolisme sont les suivants : efavirenz, névirapine, rifampicine, dexaméthasone, phénytoïne et carbamazépine.

### 4.3.2 Schéma posologique des antifongiques en cas de sepsis : des adaptations nécessaires ?

Comme défini jusqu'à présent, le sepsis est un risque majeur dans l'altération PK des antifongiques. Les antifongiques recommandés, les échinocandines et le fluconazole, ont des comportements distincts en fonction de leurs caractéristiques physico-chimiques. De manière générale, échinocandines et fluconazole sont des molécules hydrophiles, c'est-à-dire qu'ils se distribuent majoritairement dans le secteur vasculaire, avec des Vd caractéristiques inférieurs ou égal au volume d'eau corporelle totale (0,6 L/kg). Toutefois, en plus d'avoir des voies d'élimination différentes, la liaison aux protéines plasmatiques du fluconazole est beaucoup plus faible (12 %) que les échinocandines (au moins 95 %).

Dans le cadre d'un sepsis, l'ensemble de ces caractéristiques PK permettent de supposer une augmentation de leur Vd ainsi qu'une augmentation de leur  $CL_t$  en l'absence de défaillance d'organe, ou à l'inverse, une diminution de la  $CL_t$  en présence de défaillance. La modulation de ces paramètres pourrait être accentuée en raison de l'hypoalbuminémie résultante du sepsis, notamment pour les échinocandines.

La mise en place d'une thérapie d'épuration extra-rénale en cas d'insuffisance rénale pourrait également altérer la PK de ces antifongiques. Cela a déjà été démontré pour le fluconazole [115]. Concernant les échinocandines, bien que leur voie principale d'élimination diffère, une altération de leur PK pourrait s'expliquer par une fraction libre plus importante favorisant une excrétion rénale.

Ainsi, chez des patients atteints de sepsis, on s'attendrait à des variations importantes des concentrations plasmatiques, engendrant des risques accrus de sous-dosage ou de surdosage (dans le cadre d'une défaillance d'un organe épurateur) responsable d'échec thérapeutique ou de toxicité.

Différentes études ont démontré une réduction significative des concentrations plasmatiques des échinocandines chez des patients de réanimation [116–118]. L'étude DALI [6] a également mis en exergue une grande variation PK des échinocandines et du fluconazole, où notamment 33 % des patients traités au fluconazole n'atteignait pas la cible PK/PD en utilisant les doses recommandées, soulignant l'importance d'optimiser la posologie chez ces molécules.

Les travaux de Muilwijk et al. [62] concluent par ailleurs à la nécessité d'étudier de façon plus approfondie la PK des antifongiques afin d'optimiser leur utilisation chez les patients de réanimation.

Les thérapies d'épuration extra-rénale, très fréquemment utilisées en réanimation, pourraient également être à l'origine d'une partie de cette variabilité PK. L'étude SMART [20], qui a étudiée la PK d'antibiotiques, a pu le confirmer chez des patients en choc septique bénéficiant d'EER, concluant comme l'étude de Muilwijk [62] le besoin d'approfondir nos connaissances sur la PK de ces molécules. Des études similaires sur les échinocandines permettraient d'évaluer leur PK chez des patients de réanimation sous épuration extra-rénale et de confirmer ou non la nécessité d'ajustement posologique dans cette population.

D'autre part, peu d'informations sont actuellement disponible sur la pénétration des échinocandines dans certains tissus, notamment la cavité péritonéale, site d'infection fréquent des *Candida spp.* dans le cadre d'une péritonite secondaire. Connaître ce degré de pénétration permettrait d'évaluer si la cible PK/PD des antifongiques est atteinte au site de l'infection, et par extension, si le traitement nécessite un ajustement posologique.

## **5 Apport de la modélisation PK**

La variabilité PK constitue une limite importante pouvant conduire à un échec thérapeutique. La modélisation par une approche de population se révèle être un outil indispensable dans la caractérisation de cette variabilité [119,120]. Ainsi, utiliser des modèles de population permettrait de déterminer des posologies adéquates chez des populations à risque [121], notamment chez des patients en choc septique dans ce cas précis. La pharmacocinétique de population est d'ailleurs recommandée par la FDA pour l'obtention de l'autorisation de mise sur le marché d'un médicament (AMM) [122].

## 5.1 Les différentes approches d'analyse PK

Lors du développement préclinique et clinique du médicament, différentes approches permettent de caractériser les phases PK d'une molécule : l'analyse non compartimentale (modèle indépendant) et l'analyse compartimentale (modèle dépendant).

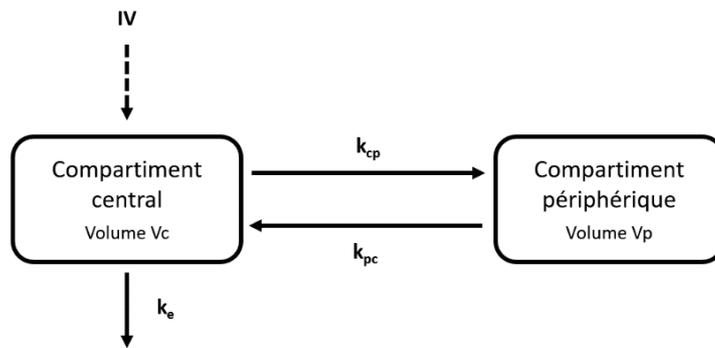
L'analyse non compartimentale est purement descriptive, et permet d'estimer rapidement et simplement les paramètres PK du médicament à partir du calcul de l'ASC par la méthode des trapèzes. Toutefois, le calcul de l'ASC est directement dépendant du nombre de points expérimentaux. L'analyse non compartimentale demeure ainsi sensible à la fréquence et à la durée de prises d'échantillons par le protocole expérimental. De plus, elle ne tient pas compte de la variabilité interindividuelle et ne permet pas de prédire l'évolution des concentrations dans le temps.

L'analyse compartimentale permet quant à elle de décrire et de prédire la PK d'une molécule chez un individu (analyse PK individuelle) ou une population (analyse PK de population, ou PKpop). Des modèles PK plus complexes permettent également de prendre en compte les processus physiologiques de l'individu ou de la population étudiée (PBPK, *physiologically based pharmacokinetic*).

### 5.1.1 Concept de la modélisation PK

Les modèles PK sont construits à partir de compartiment, défini comme étant un espace virtuel dans lequel la molécule est distribuée de manière homogène et instantanée. Un modèle peut être constitué de plusieurs compartiments, reliés entre eux par des constantes de transferts traduisant les vitesses d'échanges entre ces derniers. Le nombre de compartiments et leur enchaînement les uns par rapport aux autres sont choisis de façon à pouvoir décrire le plus possible les données observées. De manière générale, en pharmacocinétique, un modèle est composé de 1 à 3 compartiments, sachant que le compartiment central représente classiquement la circulation générale et les tissus ou organes fortement perfusés (foie, reins), tandis que les compartiments dits périphériques, dont les cinétiques diffèrent, représentent les tissus plus faiblement perfusés (muscles,

peaux...) [123]. Ainsi, la présence de compartiments périphériques indique que l'équilibre entre les concentrations systémiques et périphériques est atteint plus lentement. Ce délai est explicité par des constantes de transferts, illustrant des mécanismes biologiques associés au passage de la molécule de la circulation générale à d'autres tissus ou organes moins perfusés. La figure 10 ci-dessous présente un exemple simple d'un modèle à 2 compartiments.



**Figure 10 : Représentation schématique d'un modèle à 2 compartiments avec une administration IV.**

$k_{cp}$  : constante de transfert du compartiment central vers le compartiment périphérique.

$k_{pc}$  : constante de transfert du compartiment périphérique vers le compartiment central.

$k_e$  : constante d'élimination.

La variation de quantité de principe actif dans chaque compartiment est décrite par une équation différentielle associant les entrées et les sorties de matière. Dans ces modèles, la vitesse de transfert des molécules d'un compartiment à l'autre est classiquement proportionnelle à la quantité du médicament présent dans le compartiment en amont (cinétique d'ordre 1). Le système d'équations différentielles régissant le modèle à 2 compartiments est le suivant :

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dQ_c}{dt} = -k_{cp} \times Q_c + k_{pc} \times Q_p - k_e \times Q_c \\ \frac{dQ_p}{dt} = k_{cp} \times Q_c - k_{pc} \times Q_p \end{array} \right.$$

Avec  $Q_c$  et  $Q_p$ , les quantités de médicament des compartiments central et périphérique respectivement.

Toutefois, les vitesses de transfert des molécules peuvent également représenter des processus physiologiques particuliers tels que la diffusion active à vitesse constante (cinétique d'ordre 0) ou des processus de saturation d'enzymes ou de transporteurs (cinétique de type Michaelis-Menten). Ainsi, une cinétique d'ordre 1 correspond à un état de non saturation des enzymes ou transporteurs prenant en charge le médicament.

### **5.1.2 Analyse PK individuelle *versus* analyse PK de population**

L'analyse PK individuelle est avant tout utilisée lors du développement préclinique et lors de la phase I du développement clinique afin de décrire la PK de la molécule pour une espèce donnée (préclinique) ou chez des volontaires sains (phase I clinique). Elle permet de caractériser la PK d'un petit groupe de sujet selon une approche en deux étapes. La première étape est la détermination par régression non linéaire des paramètres individuels à partir des concentrations individuelles mesurées. La seconde étape est l'étude statistique de ces paramètres individuels, afin d'en déterminer moyenne, variance et covariance de ces paramètres PK de cette population. Il s'agit d'une méthode simple qui permet également de tester l'influence de caractéristiques individuelles. Toutefois, la variance est surestimée par le fait qu'elle contient à la fois la variabilité interindividuelle et résiduelle.

L'analyse PK individuelle est idéale dans le but de décrire la PK d'une molécule, et peut être utilisée pour étudier différentes posologies dans le cas d'une analyse modèle dépendant. Cependant, elle comprend des limites notables. Elle nécessite de disposer de nombreux prélèvements par patient et ne permet pas de caractériser les différentes variabilités interindividuelles et résiduelles.

L'analyse PK de population, présenté pour la première fois par Sheiner et al. [124,125], permet de modéliser la PK d'une molécule en estimant en une seule étape les paramètres PK moyens et la variabilité qui leur est associée. Grâce à cette approche, tous les individus sont analysés simultanément ce qui permet d'inclure des individus avec des données éparées.

La PKpop est donc parfaitement adaptée à l'analyse de données d'essais cliniques où le nombre de prélèvements par individu est souvent limité avec un schéma d'administration et de prélèvement variable d'un individu à l'autre. Elle permet notamment d'étudier la PK d'une molécule dans des populations spécifiques (pédiatrie, gériatrie, etc) pour lesquelles les études

PK classiques ne sont pas possibles, associées à des protocoles stricts et nécessitant un nombre élevé de prélèvement sanguin. La PKpop permet également de mettre en évidence des caractéristiques individuelles capables d'influencer l'efficacité du traitement et d'identifier des sous-populations à risques (sous ou surexposé) pour lesquelles un ajustement posologique serait nécessaire.

Un récapitulatif des différences entre analyse PK individuelle et de population est illustré dans le tableau 2 ci-dessous.

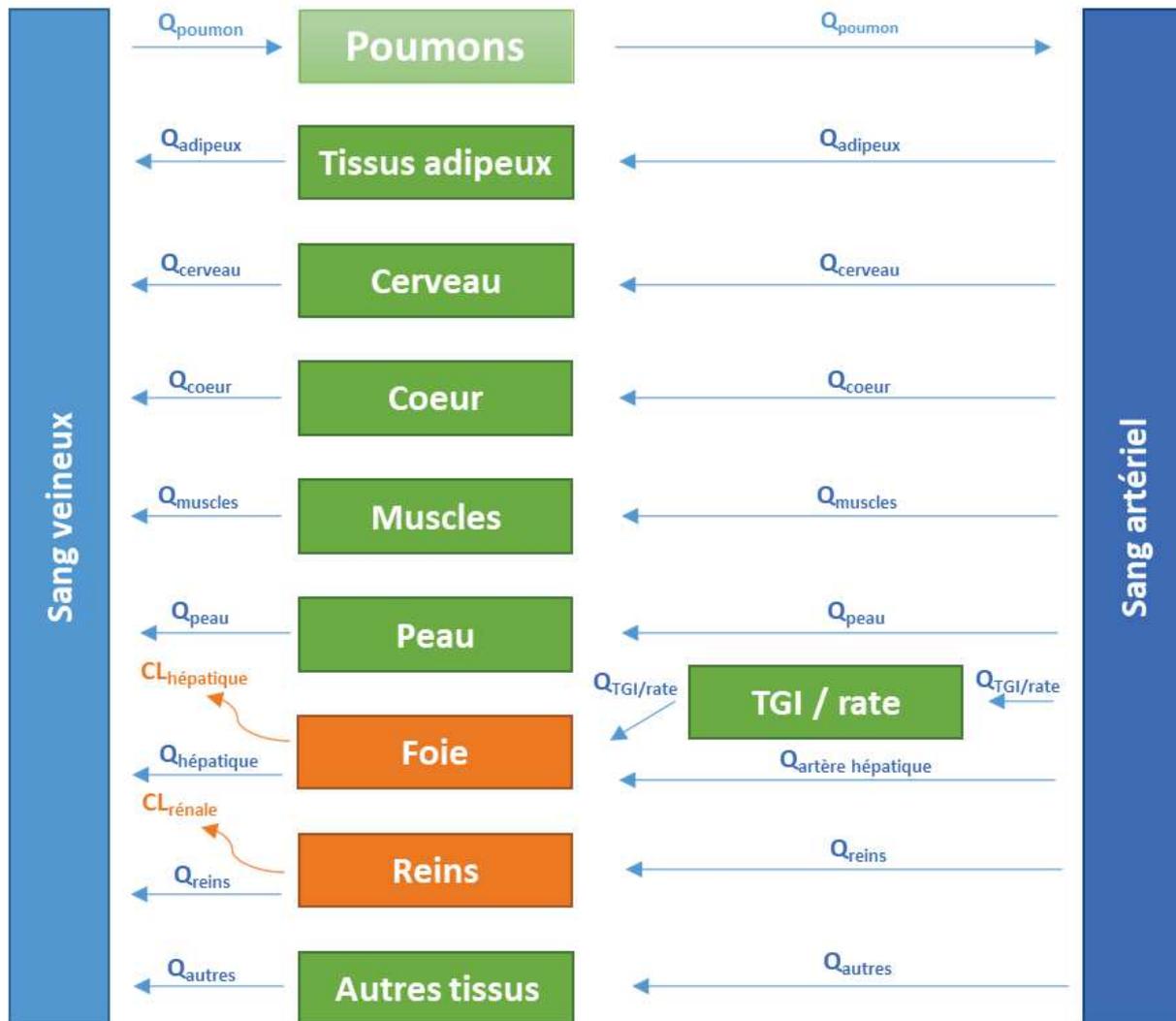
	Analyse PK individuelle	Analyse PK de population
<b>Echantillon</b>	Peu d'individus (ex : n = 6)	Beaucoup d'individus (ex : n = 60)
<b>Population</b>	Homogène	Hétérogène (population cible)
<b>Prélèvement par sujet</b>	Elevé (n = 6-20) (donnes riches)	Variable (n = 1-10) (possibilité de données éparées)
<b>Protocole de recueil</b>	Identique d'un sujet à l'autre	Peut varier d'un sujet à l'autre
<b>Période du développement du médicament</b>	Préclinique ( <i>in vitro</i> , animaux) et Clinique de phase I (volontaires sains)	Clinique de phase II, III et IV (patients)
<b>Objectif</b>	Description, prédiction	Description, prédiction, optimisation posologique

**Tableau 2 : Comparaison entre la PK individuelle et la PK de population.**

### 5.1.3 Modélisation PBPK

Contrairement à l'approche compartimentale individuelle ou de population, chaque compartiment du modèle PBPK représente classiquement un organe (ou un ensemble d'organes dont la perfusion est similaire) et les constantes de transferts représentent des

débits sanguins (Figure 11) [126]. Un modèle PBPK est constitué de deux composantes majeures : une composante biologique associée à l'espèce étudiée (volume et poids de l'organe) et une composante physico-chimique de la molécule étudiée (lipophilie, coefficient de partition tissu/plasma, etc).



**Figure 11 : Représentation schématique d'un modèle PBPK constitué de 12 compartiments.**

CL : clairance. Q : débit sanguin. TGI : tractus gastro-intestinal.

La PBPK présente de nombreux avantages. Elle permet de décrire la distribution des médicaments dans chaque organe ainsi que de tester la validité des processus d'absorption, de distribution et d'élimination du médicament étudié. Elle permet également l'extrapolation de dose inter-espèce en plus de limiter le sacrifice d'animaux au cours des études expérimentales [127]. Une extrapolation inter-espèce est possible si l'on considère que

l'anatomie et la physiologie des deux espèces sont proches. Ainsi, un simple changement des paramètres physiologiques est nécessaire.

Toutefois, l'utilisation de modèle PBPK est avant tout limitée par la quantité d'information requise (données, paramètres, connaissances). Ce type de modèle est toutefois très intéressant lorsque ces données sont disponibles. Il existe d'ailleurs différents logiciels regroupant des données sur différentes espèces (humaine, souris, rat, singe, ou encore le miniporc [128,129]) permettant d'élaborer des modèles PBPK comme Simcyp<sup>®</sup>, GastroPlus<sup>®</sup> et PK-Sim<sup>®</sup>.

## **5.2 Modélisation PK par analyse de population**

En vue des contraintes de l'analyse PK individuelle et des modèles PBPK (protocole strict, nombre de prélèvement élevé, quantité et disponibilité des données nécessaire à l'élaboration d'un modèle PBPK), il a été choisi dans ce sujet de thèse d'étudier la PK des molécules étudiées selon une analyse PK de population.

La PKpop repose sur l'utilisation de modèles pharmaco-statistiques non linéaires à effets mixtes, capables d'estimer des paramètres PK moyens ou paramètres de populations (modèle structurale, effets fixes) identiques pour un groupe d'individu et de caractériser les variabilités interindividuelles et résiduelles (modèle d'erreur, effets aléatoires). La conception d'un modèle de PKpop se divise en plusieurs étapes, à savoir la détermination des meilleurs modèles structuraux et d'erreur, dont les choix seront établis à partir d'arguments graphiques et statistiques, ainsi qu'une étape de validation.

### **5.2.1 Modèle structural**

La première étape de la construction d'un modèle de PKpop est de déterminer la structure pharmacologique du modèle. Il s'agit classiquement de décrire les concentrations d'un médicament en fonction du temps selon une structure compartimentale, dont les principes ont été illustrés dans la partie 5.1.1. Les paramètres de la structure compartimentale sont les effets fixes, comme par exemple le volume de distribution et la clairance du médicament.

## 5.2.2 Modèle d'erreur

La deuxième étape correspond au choix du modèle d'erreur. Il permet de caractériser les variabilités interindividuelle et résiduelle (effets aléatoires).

La variabilité interindividuelle quantifie l'écart entre la valeur du paramètre PK d'un individu à celui de la population. Cette variabilité peut également être expliquée en partie par des caractéristiques individuelles (facteurs démographiques, génétiques, environnementaux, physiopathologiques, etc) appelés covariables des paramètres PK. Si une covariable est retenue dans le modèle final, elle va permettre de réduire la part inexpliquée de la variabilité.

La variabilité résiduelle correspond à la variabilité non expliquée par le modèle telle que les erreurs de mesure, les erreurs du modèle, les erreurs de renseignement (doses, temps d'administration) ou encore la variabilité inter-occasion (si cette dernière ne peut pas être explicitement modélisée). Elle quantifie l'écart entre la valeur prédite par le modèle et la valeur observée pour un individu.

Enfin, la variabilité interindividuelle est généralement décrite par des modèles exponentiels tandis que la variabilité résiduelle est couramment décrite par de modèles additif (constant) et multiplicatif (proportionnel).

Concernant les covariables, plusieurs façons permettent d'évaluer leur influence sur les paramètres PK. Le modèle le plus couramment utilisé est le suivant :

$$\mathbf{Param\grave{e}tre\ PK}_{indiv} = \mathbf{Param\grave{e}tre\ PK}_{pop} \times \left( \frac{\mathbf{covariable}_{indiv}}{\mathbf{covariable}_{m\acute{e}diane}} \right)^{\beta}$$

## 5.2.3 Choix du modèle et estimation des paramètres

Les modèles structural et d'erreur doivent décrire au mieux les données expérimentales en utilisant un minimum de paramètres et de complexité selon le principe de parcimonie.

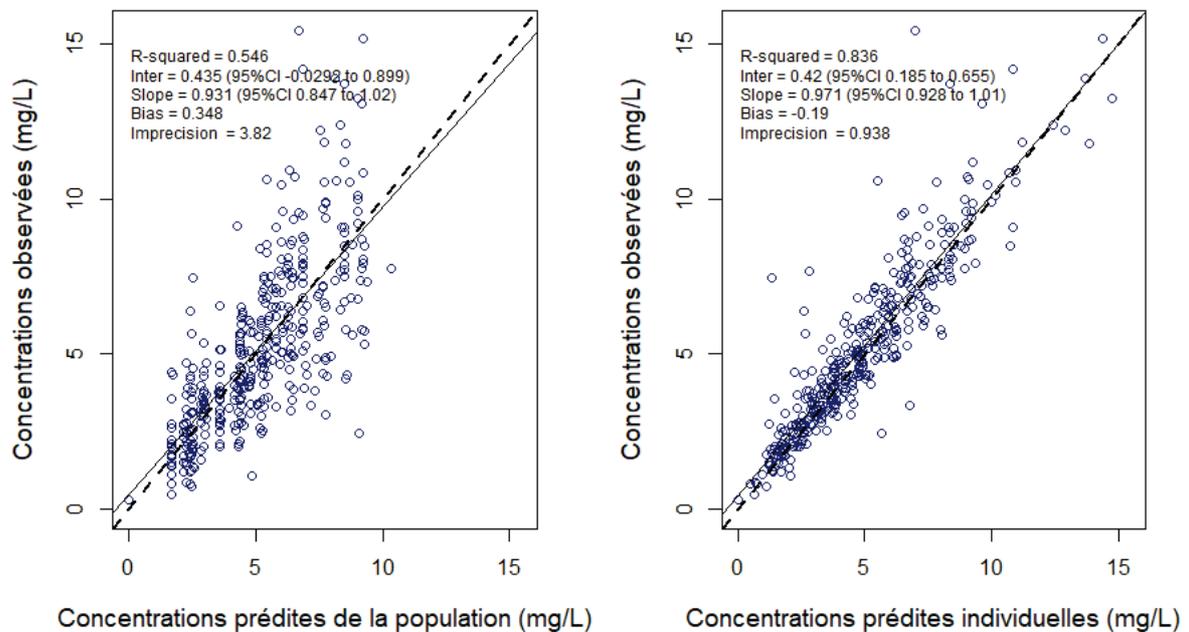
L'estimation des paramètres PK est possible selon deux types d'approches, l'approche paramétrique (supposant une distribution normale des paramètres PK) et non-paramétrique (dispensée de toute hypothèse sur la distribution des paramètres). Chacune de ces approches vise à déterminer par des méthodes du maximum de vraisemblance si les valeurs prédites par le modèle des paramètres PK sont les plus vraisemblables, c'est-à-dire les plus proches possibles des paramètres observés. L'estimation des paramètres en une seule étape se fait de manière itérative et au moyen d'approximations successives. Différentes méthodes d'approximation ont été développées depuis la conception de la PK de population. Il y a par exemple la méthode NPAG (*non parametric adaptive grid*) utilisée par le logiciel Pmetrics® pour l'approche non-paramétrique [130,131], ou encore la méthode SAEM (*stochastic approximation expectation maximization*) utilisée sur le logiciel Monolix® pour l'approche paramétrique [132,133].

Un modèle ayant un maximum de vraisemblance revient à minimiser le  $-2 \times \log \text{likelihood}$ , plus communément appelée fonction objective (FO). Le choix du meilleur modèle structural et d'erreur se fait par comparaison des FO à condition que les modèles soient emboîtés (deux modèles sont dits emboîtés si l'un peut être considéré comme un cas particulier de l'autre). Ainsi, une diminution significative de la FO (test de khi-deux, risque  $\alpha = 5 \%$ , degré de liberté =  $\Delta$  du nombre des paramètres estimés) permet de renseigner sur la qualité de l'ajustement de l'estimation des paramètres. Dans le cas de modèles non emboîtés, d'autres critères calculés à partir de la FO sont comparés, comme par exemple l'AIC (*Akaike information criterion*) ou encore le BIC (*bayesian information criterion*) [134,135].

Dans un contexte où des covariables physiologiquement plausibles sont étudiées, la recherche du meilleur modèle devient plus complexe et une méthode de sélection ascendante et descendante est nécessaire, où la comparaison des FO est évaluée par le test du khi-deux pour des risques  $\alpha = 5 \%$  puis  $1 \%$  respectivement.

En plus de la FO, d'autres éléments permettent d'apprécier l'ajustement des données. Il y a notamment les graphes diagnostics comme par exemple la représentation des concentrations prédites en fonction des concentrations observées. Ces graphes diagnostics, illustrés dans la figure 12, permettent d'évaluer les capacités prédictives du modèle en appréciant l'écart entre la droite d'identité et la droite de régression, le biais (moyenne des écarts entre

concentrations observées et prédites) et la précision du modèle (moyenne des carrés des écarts entre concentrations observées et prédites). Enfin, la prédiction des paramètres PK est évaluée en considérant leur erreur standard relative (RSE, *relative standard error*). Un paramètre PK est bien estimé si le RSE est < 50 %.



**Figure 12 : Illustration de graphes diagnostics obtenu sur Pmetrics®.**

Cercles bleus : concentrations observées. Droite discontinue : droite d'identité.

Droite continue : droite de régression.

## 5.2.4 Validation

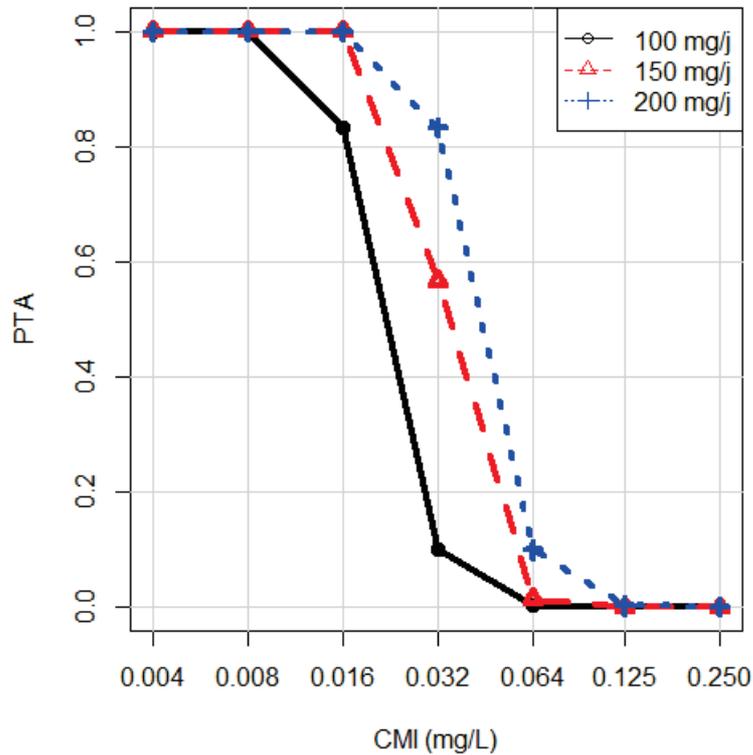
La dernière étape est la validation du modèle PK [136,137]. Le but de cette étape est de confronter les capacités prédictives du modèle à un jeu de données. Ce jeu de données peut être celui utilisé pour concevoir le modèle (validation interne), ou alors un jeu de données non utilisé dans le développement du modèle (validation externe). Cette dernière est la méthode la plus robuste, bien que plus compliquée à utiliser en étude de PKpop à cause des faibles effectifs rencontrés. La validation interne peut être basée sur des ré-échantillonnages du jeu de données (« *bootstrap* ») suivi d'une re-estimation. Plus généralement, les deux procédés de validation (interne et externe) sont classiquement basés sur le diagnostic graphique du modèle. Il y a notamment le VPC (*visuel predictive check*), qui consiste à simuler des données à partir du modèle final et à les comparer aux données observées, ou encore le graphe des

NPDE (*normalized prediction distribution error*), qui permet, avec divers tests statistiques (test de Student, test de Fisher, test de Shapiro-Wilk et correction de Bonferroni), de démontrer la normalité de distributions des résidus [137,138].

### 5.2.5 Usage des modèles PK de population

Les modèles de PKpop sont utilisés pour leur valeur prédictive chez des populations spécifiques. Ils permettent, par l'intermédiaire de simulation de Monte Carlo, d'évaluer différents schémas posologiques d'une molécule en considérant les covariables retenues dans le modèle (poids, clairance de la créatinine, etc). L'intérêt de ces simulations est de déterminer les schémas posologiques permettant d'atteindre ou non les cibles PK/PD prédéfinies. Les cibles PK/PD retenues sont le plus souvent celles qui ont été associées à la guérison clinique ou l'éradication microbiologique. Dans le cas des échinocandines et du fluconazole, la cible PK/PD est le ratio  $ASC_{0-24h}/CMI$ , dont la valeur diffère selon la molécule et l'espèce *Candida* considérée. Ainsi, déterminer l'efficacité d'une molécule revient à déterminer si la probabilité d'atteindre la cible PK/PD (PTA, *probability of PK/PD target attainment*) est au moins de 90 %. Si la PTA est inférieure à 90 %, des simulations à des doses différentes permettraient de déterminer la posologie adéquate.

En prenant l'exemple de la figure 13, une dose journalière de 100 mg de micafungine n'est pas suffisante pour une PTA > 90 % pour les espèces *Candida* avec une CMI  $\leq 0,016$  mg/L (*C. albicans* et *C. glabrata*), contrairement à une dose journalière de 150 mg. D'après cet exemple, il serait recommandé d'utiliser une dose de 150 mg pour les espèces concernées.



**Figure 13 : Illustration de la PTA en fonction de la CMI pour la micafungine.**

La PTA est le ratio  $ASC_{0-24h}/CMI > 3000$  pour l'ensemble des espèces *Candida* [69].

## 6 Approche translationnelle

Au cours du développement du médicament, la population de réanimation ne fait le plus souvent pas partie des groupes de patients étudiés. Après l'obtention de l'autorisation de la mise sur le marché du médicament, des études complémentaires et coûteuses sont donc nécessaires afin de déterminer la posologie adéquate pour cette population. L'utilisation d'un modèle animal de choc septique permettrait de réduire le nombre de ces études chez l'Homme, si et seulement si ce modèle est transposable à l'humain. Afin d'étudier la PK des médicaments dans un cadre plus réaliste, ce modèle devrait comporter un suivi suffisant et intégrer une prise en charge hémodynamique ainsi que des suppléances d'organes (ventilation mécanique, épuration extra-rénale ...) [10,139].

## **6.1 Modèle animal de sepsis**

Aucun modèle animal ne permet de reproduire avec exactitude les caractéristiques des patients de réanimation. Ce sont des hommes et des femmes relativement âgées et présentant fréquemment des comorbidités. A l'inverse, ces modèles animaux sont en général masculins, jeunes et ne présentent pas de comorbidités [139]. Cependant, s'affranchir de l'ensemble de ces variables permet de se concentrer sur l'impact d'un sepsis induit sur la pharmacocinétique des molécules.

### **6.1.1 Les différents modèles animaux**

L'espèce animale la plus fréquemment utilisée en tant que modèle expérimentale est la souris, en raison de son faible coût économique, sa facilité d'élevage, d'un nombre élevé d'animaux par groupe expérimental, de la disposition de souches consanguines de faible variabilité ou encore de la possibilité de développer des modèles transgéniques [139]. Toutefois, en tant que modèle de sepsis, la souris pose des problèmes techniques. Il est difficile de reproduire les mêmes dispositifs (hémodynamiques, suppléance d'organes) retrouvés chez des patients de réanimation. De plus, il existe une grande disparité anatomique et physiologique entre la souris et l'humain, rendant ce modèle difficilement transposable. A titre d'exemple, la fréquence cardiaque est beaucoup plus élevée que chez l'humain sachant en plus que son débit cardiaque est fréquence dépendant, rendant ce modèle moins adapté pour étudier le système cardio-vasculaire. Les souris de laboratoire ont également un système immunitaire différent, moins complexe et ne sont pas sensibles aux mêmes pathogènes que l'humain. D'autre part, un stress métabolique (induit par exemple par le sepsis) provoque rapidement une hypothermie chez la souris, ce qui la distingue davantage du patient atteint de choc septique. Toutefois, la souris est un modèle idéal pour des études de preuves de concept. Le rat est également un modèle intéressant, avec des avantages et inconvénients similaires à la souris. Il a toutefois l'avantage d'avoir plus de ressemblance avec l'Homme, en particulier par rapport à son profil métabolique et cardiovasculaire [140]. Cependant, dans des conditions de sepsis, le rat est particulièrement résistant à l'ischémie reperfusion [139].

Des animaux de plus grande taille tels que les moutons, les cochons ou encore les primates sont des modèles avec une anatomie et une physiologie très semblables à l'Homme [139]. De plus, l'usage de ces modèles permettent de reproduire les mêmes dispositifs retrouvés chez des patients de réanimation ainsi que de prélever un grand nombre d'échantillons sanguins. L'inconvénient de ces modèles est principalement financier et éthique, notamment pour le modèle primate. Ainsi, moutons et cochons sont plus fréquemment utilisés dans cette catégorie de modèle. Le mouton, étant un ruminant, a des différences toutefois notables sur le plan anatomique et physiologique au niveau du tractus gastro-intestinal comparé aux espèces omnivores. Ainsi, le cochon s'avère être le modèle le plus pertinent parmi l'ensemble de ces modèles animaux.

### **6.1.2 Le modèle porcin**

Le cochon possède un génome très semblable à celui de l'Homme contrairement aux modèles murins [141]. Tout comme l'humain, le cochon est omnivore et leurs organes partagent des fonctions communes [8]. Par exemple, le cœur de ces deux espèces est anatomiquement très proche, faisant du cochon un modèle expérimental idéal pour des études du système cardiovasculaire.

Avec un tractus gastro-intestinal et une flore intestinale très semblable, ce modèle est également proposé pour étudier la physiologie nutritionnelle humaine ou encore la biodisponibilité d'une molécule [142–144]. De plus, leurs reins sont physiologiquement très proches, tout comme la vitesse de filtration glomérulaire [8,145,146]. Malgré quelques différences anatomiques de leur foie, la quantité totale des enzymes du cytochrome P450 sont similaires entre les deux espèces, bien que les CYP3A et CYP2C soient moins représentés contrairement aux CYP2A et CYP2D qui le sont davantage [147,148]. Considérant ces ressemblances, le modèle porcin s'avère également intéressant pour étudier l'élimination des médicaments (excrétion, métabolisme).

En plus de la peau et du système nerveux, le modèle porcin possède également un système immunitaire proche de l'humain, dont la plupart des protéines de l'immunité partagent des structures et des fonctions similaires. Son système immunitaire ressemble à plus de 80 % à

celui de l'Homme, tandis que celui des souris l'est à moins de 10 % [149], et toutes les cellules identifiées chez l'Homme ou même la souris sont présentes chez le cochon, avec un pourcentage aussi élevée que chez l'humain de neutrophiles dans le circulation générale [150]. Le modèle porcin montre également une sensibilité aux endotoxines et ainsi qu'une antigénicité tissulaire comparable à l'humain [151].

En somme, le modèle porcin présente de grandes similitudes génétiques, anatomiques, physiologiques et immunitaires par rapport à l'Homme. Grâce à son gabarit, la prise en charge clinique des patients atteints de choc septique peut être reproduite (suivi et prise en charge hémodynamique, suppléances d'organes). En plus de cela, il est possible de prélever un grand nombre d'échantillons sanguins, permettant de réduire le nombre d'animaux nécessaire à l'étude et de respecter la règle des 3 R (réduire, raffiner, remplacer) relative à l'expérimentation animale. L'ensemble de ces caractéristiques en font un modèle de choix pour étudier certaines pathologies comme le sepsis [8,152–157].

## **6.2 Modèles d'induction du sepsis**

Plusieurs méthodes permettent d'induire le sepsis chez un modèle animal. Il y a notamment des modèle sans foyer infectieux (injection d'endotoxine ou de bactéries vivantes dans la circulation) ainsi que des modèles de péritonite (injection de bactéries ou de fèces dans le péritoine ainsi que la méthode de ligature-perforation caecale) [158].

Le modèle endotoxinique est fréquemment utilisé dans les modèles animaux de sepsis. En effet, l'endotoxine permet de mimer une bonne partie des caractéristiques du sepsis [158]. Chez les patients de réanimation, des concentrations élevées d'endotoxines sériques ont été associé au développement du sepsis, à la sévérité de la pathologie et à la mortalité. L'endotoxine, ou lipopolysaccharide (LPS), est le composant principal de la paroi des bactéries à Gram négative. Il provoque la libération de médiateurs de l'inflammation responsable d'initier la physiopathologie du sepsis [159].

L'avantage du modèle endotoxinique est sa simplicité et sa reproductibilité, en plus d'être un modèle hautement contrôlé et standardisé. Toutefois, ce modèle ne reflète pas toute la complexité de la réponse physiologique humaine au sepsis.

Le modèle avec injection de bactéries vivantes a en contrepartie l'avantage de reproduire plus fidèlement les mécanismes de réponse de l'hôte au pathogène rencontré. En effet, le modèle animal est confronté non pas à un composant d'un pathogène mais à des pathogènes entiers. Cependant, il y a une grande variabilité de réponse du modèle animal en fonction de la charge bactérienne, de la voie d'administration et de la souche bactérienne ainsi qu'une très grande létalité. D'autres part, la croissance et la quantification des bactéries est requise avant l'administration.

Les modèles de péritonite permettent de reproduire davantage les caractéristiques du sepsis [158,160,161]. En effet, l'usage de multitude d'agents microbiens favorise la recreation des processus physiopathologiques du sepsis, notamment avec ces phases hémodynamiques, métaboliques et ces phases pro et anti-inflammatoires. Toutefois, ces modèles sont plus invasifs, et la variabilité de la sévérité du sepsis induit dépend des procédures expérimentales.

Il n'existe pas de meilleur modèle de sepsis. Chacun a son avantage, et dans le cadre de l'étude de la pharmacocinétique d'une molécule, la reproductibilité du modèle est importante. Ainsi, dans ce travail de thèse, un modèle porcin endotoxinique a été utilisé.

### **6.3 Extrapolation de dose inter-espèce**

L'extrapolation de dose entre deux espèces est possible si la pharmacocinétique de la molécule étudiée est transposable entre ces deux espèces. Généralement, la transposition inter-espèce est relativement simple lorsque les deux espèces considérées ont des similitudes physiologiques, comme cela a pu être illustré entre cochon et humain dans la partie 6.1.2. De manière générale, le poids des espèces étudiées est utilisé comme un critère d'ajustement selon une relation allométrique [162], décrite par l'équation suivante :

$$Y = Y_0 \times BW^b$$

où  $b$  est le coefficient d'échelle allométrique qui doit être déterminé selon la variable biologique,  $BW$  le poids de l'individu et  $Y_0$  une constante de la variable  $Y$ , soit une valeur de référence, soit une valeur observée dans une autre population.

Cette relation allométrique peut également être utilisée pour les paramètres PK, comme illustré dans l'équation suivante en considérant la clairance CL :

$$CL_{humain} = CL_{cochon} \times \left( \frac{BW_{humain}}{BW_{cochon}} \right)^b$$

Ainsi, intégrer cette relation allométrique basée sur le poids de l'espèce aux modèles de PKpop permettrait de démontrer si le modèle porcin endotoxinique est transposable au patient de réanimation de choc septique.

Dans ce travail de thèse, la modélisation PK va permettre d'évaluer si le modèle porcin endotoxinique est transposable au patient de choc septique. Si ces modèles sont transposables, l'extrapolation de dose inter-espèce sera alors possible pour les molécules étudiées.

## **Partie II : Travaux de recherche**

### **7 Démarche scientifique**

La maîtrise de l'approche PK de population associée à la bonne compréhension des altérations liés au sepsis chez le patient de réanimation a permis d'élaborer un projet de recherche intégrant les différents facteurs pouvant modifier la pharmacocinétique des antifongiques. Les travaux de recherche présentés ci-dessous ont permis d'évaluer dans un premier temps l'impact éventuel de techniques de suppléance telles que l'épuration extra-rénale, puis d'étudier la diffusion tissulaire des échinocandines dans le péritoine dans un modèle de péritonite expérimentale. Une analyse de PKpop à l'aide du logiciel non-paramétrique Pmetrics® a été réalisée et complétée par une analyse simultanée par le logiciel paramétrique Monolix® afin de comparer les performances de ces deux approches. La performance du modèle était également évaluée par validation externe lorsqu'un jeu de données était disponible pour la molécule étudiée. L'ensemble de ces données a ensuite été utilisé afin de construire un modèle expérimental porcin permettant d'évaluer la possibilité de substituer le cochon à l'Homme dans la recherche de posologies optimales d'antifongiques avant validation secondaire de ces posologies dans des études cliniques de phase II/III.

### **8 Conséquences des techniques d'EER sur la PK des échinocandines chez les patients septiques**

Comme cela a été décrit dans la partie 2.2.2, les thérapies d'EER sont susceptibles d'altérer la PK/PD des anti-infectieux en fonction du type d'EER, des caractéristiques physico-chimiques de la molécule étudiée ainsi que de l'état de la sévérité du sepsis. Il en résulte un risque de sous ou surdosage des anti-infectieux chez les patients de réanimation pouvant conduire à un échec thérapeutique. L'étude SMARRT [20] a mis en exergue la nécessité d'approfondir les connaissances sur la PK des anti-infectieux chez les patients de réanimation afin de mieux appréhender ces variabilités et de pouvoir adapter la posologie en conséquence.

Dans le cadre de cette thèse, nous nous intéressons aux échinocandines. Cette famille d'anti-infectieux est fortement liée aux protéines plasmatiques et principalement éliminée par voie hépatique. Les thérapies d'EER n'auraient à priori pas de conséquence sur la PK de ces antifongiques. Toutefois, en considérant l'hypoalbuminémie résultante du sepsis, il serait intéressant de vérifier la validité de cette hypothèse. De plus des phénomènes d'adsorption ont été décrits sur les membranes inertes telles que les membranes d'assistance cardio-respiratoire [163]. Ce phénomène d'adsorption pourrait survenir lors de l'EER.

Une première réponse a été apportée par Roger et al. [164] en étudiant la PK de la casopfungine dans une population septique sous hémofiltration ou hémodiafiltration continue (*continuous veno-venous hemofiltration or hemodiafiltration*: CVVH ou CVVHDF). Au cours de cette étude, aucune modification PK de la casopfungine n'a été mise en évidence entre ces deux techniques d'EER. Dans la continuité de ce travail, l'impact des techniques d'EER a été étudié sur la micafungine.

## **8.1 Article 1 : Analyse PK de population de la micafungine dans une population septique sous hémodiafiltration ou hémofiltration continue**

### **8.1.1 Résumé**

Cette étude a eu pour objectif de décrire la PK de la micafungine chez des patients septiques recevant différentes modalités d'EER (CVVH et CVVHDF) suivant une dose standard de 100 mg par jour.

A partir de 16 profils PK disponibles (8 pour chaque modalité), un modèle de PKpop a été construit sur le logiciel Pmetrics® selon une approche non-paramétrique. Un modèle à deux compartiments fut le plus adéquat pour décrire les concentrations plasmatiques de la micafungine. De plus, la robustesse du modèle a été démontrée par une validation externe grâce aux données récoltées de l'étude de Maseda et al. [165]. Ni les différentes modalités d'EER (CVVH et CVVHDF) ni aucune autre covariable n'a permis d'améliorer le modèle PK, indiquant ainsi que la PK de la micafungine est similaire entre ces deux types d'EER appliqués à doses équivalentes malgré l'hypoalbuminémie de cette population.

D'après le modèle de PKpop, les estimations des paramètres moyens (*standard deviation*, SD) de la micafungine étaient de 0,96 (0,32) L/h pour la clairance totale et de 14,8 (5,3) L pour le volume de distribution central (Vc). Toutefois d'après les simulations de Monte Carlo, la dose standard de 100 mg ne permettrait pas d'atteindre la cible PK/PD des espèces *Candida* ( $ASC_{0-24h}/CMI > 3000$  [69]) au premier jour de traitement. Une dose de charge de 150 mg suivi d'une dose de maintien de 100 mg par jour permettrait d'atteindre la cible PK/PD dès le premier jour de traitement pour les espèces les plus sensibles telles que *C. albicans* et *C. glabrata* ( $CMI < 0,016$  mg/L). Cependant, aucun des schémas posologiques étudiés ne permettrait d'atteindre la cible PK/PD pour les espèces moins sensibles telles que *C. krusei* ou *C. parapsilosis*.

En conclusion, il n'y a pas de différence observée de la PK de la micafungine quel que soit la modalité d'EER, CVVH ou CVVHDF, appliquée à dose équivalente. De plus, cette étude indique des risques de sous dosage importants chez des patients septiques recevant la dose standard de 100 mg par jour, où il est observé une grande variabilité inter-individuelle des concentrations et une augmentation des paramètres PK caractéristiques du sepsis. En vue du profil de toxicité favorable de la micafungine et de son effet post-antifongique, une dose de charge de 150 mg ou plus devrait être considérée afin d'assurer une exposition optimale dès le premier jour de traitement et de lutter contre l'émergence de résistance.

### **8.1.2 Article 1**

Cet article a été publié dans le journal *Therapeutic Drug Monitoring*. Les matériels supplémentaires sont présentés en annexe 1.

# A Loading Micafungin Dose in Critically Ill Patients Undergoing Continuous Venovenous Hemofiltration or Continuous Venovenous Hemodiafiltration: A Population Pharmacokinetic Analysis

Nicolas Garbez, PhD,\*†‡ Litaty C. Mbatchi, PharmD,†§ Emilio Maseda, MD, PhD,¶||  
 Sonia Luque, PharmD, PhD,\*\*†† Santiago Grau, PharmD, PhD,\*\*†† Steven C. Wallis, PhD,‡‡  
 Laurent Muller, MD, PhD,\*‡ Jeffrey Lipman, MD, PhD,‡‡‡§§ Jason A. Roberts, MD, PhD,‡‡‡§§¶||  
 Jean-Yves Lefrant, MD, PhD,\*‡ and Claire Roger, MD, PhD\*‡††

**Background:** In this study, the authors aimed to compare the pharmacokinetics (PK) of micafungin in critically ill patients receiving continuous venovenous hemofiltration (CVVH, 30 mL·kg<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup>) with those of patients receiving equidoses of hemodiafiltration (CVVHDF, 15 mL·kg<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup> + 15 mL·kg<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup>) and determine the optimal dosing regimen using the developed model.

**Methods:** Patients with septic shock undergoing continuous renal replacement therapy and receiving a conventional dose of 100 mg micafungin once daily were eligible for inclusion. Total micafungin plasma concentrations from 8 CVVH sessions and 8 CVVHDF sessions were subjected to a population PK analysis using Pmetrics. Validation of the model performance was reinforced by external

validation. Monte Carlo simulations were performed considering the total ratio of free drug area under the curve (AUC) over 24 hours to the minimum inhibitory concentration (MIC) (AUC<sub>0-24</sub>/MIC) in plasma.

**Results:** The median total body weight (min–max) was 94.8 (66–138) kg. Micafungin concentrations were best described by a 2-compartmental PK model. No covariates, including continuous renal replacement therapy modality (CVVH or CVVHDF), were retained in the final model. The mean parameter estimates (SD) were 0.96 (0.32) L/h for clearance and 14.8 (5.3) L for the central compartment volume. External validation confirmed the performance of the developed PK model. Dosing simulations did not support the use of standard 100 mg daily dosing, except for *Candida albicans* on the second day of therapy. A loading dose of 150 mg followed by 100 mg daily reached the probability of target attainment for all *C. albicans* and *C. glabrata*, but not for *C. krusei* and *C. parapsilosis*.

**Conclusions:** No difference was observed in micafungin PK between equidoses of CVVH and CVVHDF. A loading dose of 150 mg is required to achieve the PK/PD target for less susceptible *Candida* species from the first day of therapy.

**Key Words:** micafungin, pharmacokinetics, Monte Carlo simulations, intensive care unit, continuous renal replacement therapy

(*Ther Drug Monit* 2021;43:747–755)

## INTRODUCTION

In intensive care units (ICUs), one-third of patients are admitted for sepsis.<sup>1,2</sup> Fungal infections have been implicated in 20% of sepsis cases, mostly *Candida* species, and these infections are the third most common cause of infection in the ICU.<sup>3,4</sup> In addition, fungi-related sepsis greatly increases morbidity and mortality in ICU patients.<sup>5–9</sup> Echinocandins are recommended as first-line treatment for invasive candidiasis or candidemia in critically ill patients.<sup>10</sup>

Micafungin, an echinocandin, is a selective inhibitor of 1,3-beta-D-glucan synthesis, inhibiting the production of the fungal cell wall. It exhibits broad-spectrum fungicidal activity against *Candida* species and a prolonged postantifungal effect.<sup>11</sup> Clinically, 5 species of *Candida* are commonly

Received for publication November 19, 2020; accepted January 18, 2021.

From the \*Service des Réanimations, Pôle Anesthésie Réanimation Douleur Urgence, Centre Hospitalier Universitaire (CHU) Nîmes, Nîmes; †Laboratoire de Pharmacocinétique, Faculté de Pharmacie, Univ Montpellier; ‡Equipe d'accueil 2992 Caractéristiques Féminines des Interfaces Vasculaires (IMAGINE), Faculté de médecine, Univ Montpellier, Montpellier; §Laboratoire de Biochimie, CHU Nîmes, Hôpital Carémieu, Nîmes, France; ¶Department of Anesthesia and Surgical Intensive Care, Hospital Universitario La Paz, ; ||Departamento de Cirugía, Universidad Autónoma de Madrid, Madrid; \*\*Pharmacy Department, Hospital del Mar, Parc de Salut Mar, Barcelona, Spain; ††Pharmacy Department, Hospital del Mar, Infectious Pathology and Antimicrobial Research Group (IPAR), Institut Hospital del Mar d'Investigacions Mèdiques (IMIM), Universitat Autònoma de Barcelona (UAB), CEIX-Universitat Pompeu Fabra, Barcelona, Spain; ‡‡UQ Centre for Clinical Research, the University of Queensland; §§Department of Intensive Care Medicine, Royal Brisbane and Women's Hospital; ¶¶Centre for Translational Anti-infective Pharmacodynamics, School of Pharmacy, the University of Queensland; and |||Pharmacy Department, Royal Brisbane and Women's Hospital, Brisbane, Australia.

E. Maseda received consultancy fees and payment for lectures from Astellas Pharma, Pfizer, and Novartis. J. Lipman received honoraria from MSD and Pfizer and received institutional support from MSD. C. Roger received consultancy fees from MSD, Pfizer, and Fresenius Medical Care. The remaining authors declare no conflict of interest.

Supplemental digital content is available for this article. Direct URL citations appear in the printed text and are provided in the HTML and PDF versions of this article on the journal's Web site (www.drug-monitoring.com).

Correspondence: Nicolas Garbez, Service des réanimations, Pôle Anesthésie Réanimation Douleur Urgence, CHU Nîmes, France (e-mail: nicolas.garbez@umontpellier.fr).

Copyright © 2021 Wolters Kluwer Health, Inc. All rights reserved.

identified, including *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, and *C. krusei*.<sup>8,12–14</sup> For these species, the most relevant pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) target is the ratio of 24-hour total drug exposure above the minimum inhibitory concentration ( $AUC_{0-24}/MIC$ ), with specific species- and drug-related targets previously defined.<sup>15</sup> Studies in critically ill patients have reported nontarget attainment of predefined PK/PD targets with standard dosing of echinocandins, which may contribute to the emergence of *Candida* resistance toward echinocandins.<sup>3,10</sup>

In critically ill patients, clearance (CL) and volume of distribution (Vd) of drugs, including antifungal agents, can be altered by several pathophysiological changes, such as hepatic and/or renal dysfunction, extracorporeal organ support, hypoalbuminemia, or increased capillary permeability.<sup>3,16</sup> These pathophysiological changes are known to contribute to the high PK interindividual and intraindividual variabilities of most drugs.<sup>17–19</sup> Furthermore, critically ill patients frequently require continuous renal replacement therapy (CRRT) owing to acute kidney injury (AKI).<sup>2,20,21</sup> Among several modes of CRRT, continuous venovenous hemofiltration (CVVH) and continuous venovenous hemodiafiltration (CVVHDF) are the most widely used techniques.<sup>22</sup> Several factors related to CRRT have been identified as factors influencing PK of drugs by removal or adsorption, including the CRRT modality applied (convection and/or diffusion), membrane surface area, site of replacement fluid administration (predilution or postdilution), and ultrafiltration and/or dialyzate flow rates.<sup>23,24</sup> The CVVHDF technique combining convection and diffusion could lead to a higher clearance of micafungin when compared with an equal dose of CVVH (convection alone), as previously reported for antibiotics.<sup>24</sup> Thus, both sepsis and CRRT can alter PK of antifungal agents and can frequently result in inappropriate drug exposure, particularly when conventional dosing regimens are used.<sup>3,17,18</sup>

Population PK modeling is widely used in the field of clinical pharmacology because it helps to define the sources and correlates of PK variability in target patient populations and their impact on drug disposition.<sup>25</sup> Therefore, the goal of this study was to describe micafungin PK in critically ill patients receiving CVVH or CVVHDF therapy using population PK modeling. Then, the validated population PK model was used to determine the optimal micafungin dosing regimen in this population.

## MATERIALS AND METHODS

### Setting

This was an observational PK substudy within a randomized trial (ClinicalTrials.gov NCT 01403220), comparing the efficacy of equidoses of CVVH (30 mL·kg<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup> ultrafiltrate flow rate) and CVVHDF (15 mL·kg<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup> dialyzate flow rate +15 mL·kg<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup> ultrafiltrate flow rate) in critically ill patients. Ethics approval was obtained from the local Ethics Committee of Nîmes (Comité de Protection des Personnes Sud-Méditerranée III

2012.02.05). Written informed consent was obtained from either the patient or their designated decision maker.<sup>26</sup>

### Study Population

Patient eligibility criteria for the study were as follows: (1) AKI requiring either CVVH or CVVHDF and (2) clinical indication for micafungin. Eight patients were randomized to CVVH (n = 1) or CVVHDF (n = 1) when the need for CRRT was first identified, with some patients receiving both CRRT therapies alternatively (n = 6). Patients were excluded if they presented (1) requirement of CRRT for cardiogenic pulmonary edema, with metabolic acidosis (pH <7.15, HCO<sub>3</sub> <12 mmol/L, or hyperkalemia >6.5 mmol/L), or (2) history of allergy or contraindication to micafungin.

### CRRT Settings

Both techniques were performed using an Aquarius system (Nikiso, Tokyo, Japan) and a polysulfone-type hemofilter with a surface area of 1.9 m<sup>2</sup> (Aquamax HF19; Edwards Lifesciences, St-Prex, Switzerland). The CRRT settings were as follows: (1) a 30 mL·kg<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup> ultrafiltrate rate for CVVH and a 15 mL·kg<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup> ultrafiltrate rate +15 mL·kg<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup> dialyzate flow rate for CVVHDF. In both techniques, fluid replacement was performed postdilution; (2) the net fluid removal rate was set at the physician's discretion between 0 and 200 mL/h; and (3) the target blood flow rate was adjusted to provide a filtration ratio of <20%. The filtration ratio was calculated as follows: (ultrafiltrate flow rate + net fluid removal)/blood flow rate.

### Study Protocol

A dosing regimen of 100 mg micafungin once daily was intravenously administered over 1 hour as part of the antimicrobial therapy. Two concentration–time profiles were determined for each patient (one patient was sampled twice under CVVH, one patient was sampled twice under CVVHDF, and 6 patients were sampled both under CVVH and CVVHDF) between day 1 and day 12 of antifungal therapy, with 9 blood samples obtained in each 24-hour dosing interval. Blood samples were taken from the CRRT circuit before the hemofilter (prefilter samples) to determine the total plasma micafungin concentration at baseline (predose), and then at 1, 1.5, 2, 2.5, 4, 8, 12, and 24 hours after the start of the micafungin infusion.

### Sample Handling and Storage

Blood samples were immediately placed on ice and centrifuged at 3000 rpm (2200 g) for 10 minutes and then stored at –80°C until analysis. Samples were transported (with a temperature log on dry ice) by a commercial courier company to the University of Queensland Centre of Clinical Research, The University of Queensland, Brisbane, Queensland, Australia, for analysis.

### Drug Assay

Total micafungin plasma concentrations were measured using a validated ultrahigh-pressure liquid chromatography–tandem mass spectrometry (UHPLC-MS/MS) method, from 0.1 to 20 mg/L, on a Shimadzu Nexera 2 UHPLC coupled to a

Shimadzu 8030 + triple quadrupole mass spectrometer (Shimadzu, Kyoto, Japan). Clinical samples were assayed alongside calibrators and quality controls and complied with batch acceptance criteria.<sup>27</sup> The lower limit of quantification was 0.1 mg/L.

### Data Collection

For all patients included in this study, the following demographic and clinical data were recorded: age, sex, body weight, height, Simplified Acute Physiology Score II (SAPS II)<sup>28</sup> at ICU admission, modified Sequential Organ Failure Assessment (SOFA)<sup>29</sup> score at ICU admission and on sampling day, medical history, serum albumin concentration, serum creatinine concentration, serum urea concentration, data on the type of infection, and CRRT settings such as blood flow rate, postdilution rate, fluid removal rate, time of filtration, and ultrafiltration rate.

### Population PK Modeling

The concentration–time data were analyzed using a nonparametric adaptive grid algorithm within the freely available Pmetrics software package for R (Los Angeles, CA).<sup>30,31</sup> As interoccasion variability related to CRRT mode could not be adequately assessed, concentration profiles obtained from the same patient under 2 different CRRT modalities (CVVH and CVVHDF) were regarded as independent. PK models with 1, 2, and 3 compartments were tested, including the error models lambda or gamma, which are additive and proportional error models. Total AUC<sub>0-24</sub> corresponding to the area under the concentration–time curve between 0 and 24 hours was estimated from the simulated concentrations using the noncompartmental function in Pmetrics.

### Population PK Covariates

Age, total body weight at admission, size descriptor (body mass index, body surface area, ideal body mass, lean body mass, fat-free mass, and adjusted body mass), SAPS II score at admission, SOFA score at inclusion, serum albumin concentration, CRRT modality (CVVH and CVVHDF), ultrafiltration rate, and time of filtration were evaluated as clinically relevant and physiologically plausible covariates. The selection of these covariates was performed using a stepwise multivariate linear regression analysis to quantify the associations between covariates and PK parameters (CL and Vc). To assess the impact of any covariate on CL and/or Vc, the covariate of interest is entered into the model and the model performance, including the covariate of interest, is evaluated. Two examples assessing the impact of different types of covariates on the PK parameter are as follows: Independent variable, as CRRT, on total clearance (CL):

$$CL = CL_{CVVH} + CL_{CVVHDF}$$

Where  $CL_{CVVH} = CL \times (1 - CRRT_{modality})$ ,  $CL_{CVVHDF} = CL \times CRRT_{modality}$ , and  $CRRT_{modality} = 0$  for CVVH or  $CRRT_{modality} = 1$  for CVVHDF.

Copyright © 2021 Wolters Kluwer Health, Inc. All rights reserved.

Dependent variable, as serum albumin, on the volume of the central compartment (Vc):

$$Vc = TVVc \times \left( \frac{Serumalbumin_{individual}}{Serumalbumin_{median}} \right)^\beta$$

where TVVc is the typical value of total micafungin Vc and  $\beta$ , a PK parameter factor to identify.

### Population PK Model Diagnostics

Model selection was initially based on the objective function value (OFV) computed as  $-2 \log$ -likelihood ( $-2LL$ ) or the Akaike information criterion (AIC), where a decrease in  $-2LL$  and/or AIC of  $\geq 3.84$  was considered significant ( $\chi^2$ , 1 deg of freedom,  $P < 0.05$ ). In addition, the goodness of fit was assessed by linear regression, with observed-predicted plots and coefficients of variation of PK parameters. Evaluation of the predictive performance was based on the mean prediction error (bias) and mean bias-squared prediction error (imprecision) of the population and individual prediction models. Finally, the validation of the PK model was applied to bootstrap resampling methods ( $n = 1000$ ) and visual predictive checks (VPCs) (exact binomial test: observed concentrations belong to the 95% confidence interval of simulated concentrations of the PK model). Furthermore, external validation was performed using the data set from the study by Maseda et al published in 2014,<sup>32</sup> where 10 ICU patients were receiving CVVH and were treated with the standard 100 mg daily dosing of micafungin for invasive candidiasis.

### Monte Carlo Simulation and Probability of Target Attainment

Optimized micafungin dosing was assessed using the probability of PK/PD target attainment (PTA) for the first 48 hours of therapy.<sup>9,14</sup> According to Andes et al,<sup>33</sup> the following threshold has been identified as PK/PD targets for efficacy: a non-species-related target of total AUC<sub>0-24</sub>/MIC  $> 3000$  for all *Candida* species (1–log kill/24 hours). To assess the PTA of micafungin, Monte Carlo simulations ( $n = 1000$ ) were performed using the final PK model for 6 dosing regimens: 100/150/200 mg q24h, a loading dose of 150/200 mg followed by a maintenance dose of 100 mg, and a loading dose of 200 mg followed by a maintenance dose of 150 mg q24h.

### Fractional Target Attainment

Fractional target attainment (FTA) was performed by comparing the PTA against an EUCAST MIC distribution for *C. albicans* [susceptibility (S): 0.004–0.016 mg/L], *C. glabrata* (S: 0.004–0.032 mg/L), *C. tropicalis* (S: 0.004–0.064 mg/L), *C. krusei* (S: 0.032–0.250 mg/L), and *C. parapsilosis* (S: 0.250–2.000 mg/L).<sup>34</sup> FTA is the sum of the following products, the PTA values determined at each MIC and the fraction of isolates identified at that MIC. A dosing regimen was considered optimal if the FTA was  $\geq 90\%$ .

749

## RESULTS

Demographic and clinical data are shown in **Supplemental Digital Content 1** (see **Table 1**, <http://links.lww.com/TDM/A477>) (**Table 1**). The median total body weight (min–max) was 94.8 (66–138) kg, with a median body mass index of 29.0 (23.4–59.7) kg/m<sup>2</sup>. In addition, the overall median SOFA score was 9 (4–12), with a value of 12 (6–12) when considering only the first 3 days of treatment. Among the 8 included patients, 7 presented positive cultures, especially for *C. albicans* (n = 4), *C. glabrata* (n = 1), and *C. tropicalis* (n = 2). Clinical failure was observed in 5 of 8 patients (62.5%), and one patient (12.5%) died by day 28 after inclusion.

### PK Model

The concentration–time data (see **Fig 1**, **Supplemental Digital Content 2**, <http://links.lww.com/TDM/A478>) (**Fig. 1**) were adequately described by a 2-compartment linear PK model with first-order distribution and clearance and a proportional error model, without any covariate. Incorporating the CRRT modality into the PK model did not improve model performance: –2LL was 162.7 versus 163.8 for the model without covariates (**Table 2**). In addition, no other plausible covariate such as total body weight, serum albumin, or age was supported for inclusion in the final model (decrease in –2LL and AIC <3.84). The PK parameter estimates are shown in **Table 1**. The goodness-of-fit plots for the final model and VPCs (**Figs. 1, 2**) confirmed the acceptable performance of the model.

Regarding the internal validation process, 1.85% of observed concentrations were outside the 95% prediction interval (exact binomial test,  $P = 0.181$ ) and the median value was closely estimated (5.11 and 4.91 mg/L for simulated and observed concentrations, respectively). For external validation, 4.13% of observed values were outside the 95% prediction interval (exact binomial test,  $P = 0.835$ ) and the median values were 4.01 and 4.30 mg/L for simulated and observed concentrations, respectively. We observed a

marginal underestimation of concentration–time population data when compared with the study by Maseda et al,<sup>32</sup> but not for individual data (**Figs. 2A, B**).

### Dosing Simulations and Fractional Target Attainment

The simulated PK profiles from 6 different dosing regimens are presented in **Supplemental Digital Content 2** (see **Fig. 2**, <http://links.lww.com/TDM/A478>); the steady-state concentration was attained at the first dose (almost immediately) with a loading dose but was only attained at the third administration (48 hours) with a standard daily dose. **Figure 3** shows PTAs based on the targeted AUC<sub>0–24</sub>/MIC ratio of 3000, with FTA displayed in **Supplemental Digital Content 1** (see **Table 2**, <http://links.lww.com/TDM/A477>). For *C. parapsilosis* and *C. krusei*, no micafungin dosing regimen achieved an FTA > 90% for MICs > 0.016 mg/L. For *C. tropicalis* (MIC: 0.04–0.032 mg/L), a micafungin dosing regimen of 200 mg daily achieved an FTA > 90% on the second day of treatment. For *C. albicans* and *C. glabrata* (MIC < 0.016 mg/L), all dosing regimens, except the standard dose of 100 mg daily, achieved an FTA > 90% during the first 48 hours of therapy.

## DISCUSSION

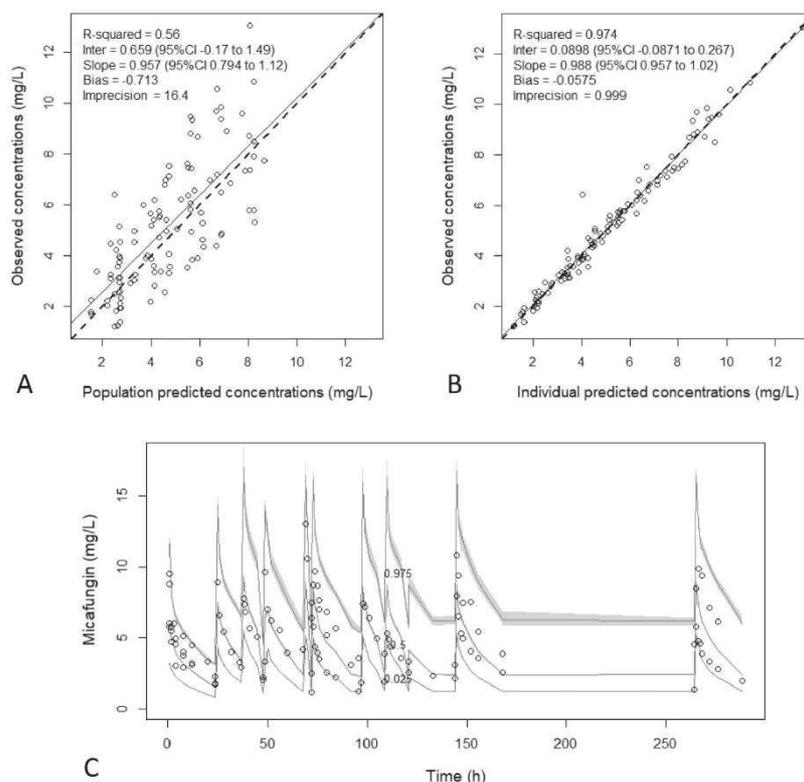
### Study Main Findings

This study describes the PK of micafungin in ICU patients receiving 2 different modes of CRRT (CVVH and CVVHDF) after an intravenous daily dose of 100 mg micafungin. The included patients presented a median total body weight (min–max) of 94.8 (66–138) kg. The PK of micafungin was similar between patients receiving equidoses of CVVH and CVVHDF. The population PK analysis revealed that the standard 100 mg daily dosing regimen of micafungin was sufficient to achieve the PK/PD target for *C. albicans* alone on the second day of therapy. A loading dose of at least 150 mg should be considered to achieve the

**TABLE 1.** Population Pharmacokinetic Parameter Estimates

PK Parameters	CL, L/h	Vc, L	Kcp, 1/h	Kpc, 1/h
Mean	0.96	14.84	0.36	0.53
SD	0.32	5.33	0.33	0.24
CV	32.70	35.88	91.75	40.07
Var	0.10	28.37	0.11	0.06
Median	0.96	15.10	0.30	0.43
Bootstrap analysis				
WtMed (95% CI)	0.96 (0.70–1.11)	15.10 (9.93–18.47)	0.30 (0.16–0.39)	0.43 (0.37–0.69)
MAWD (95% CI)	0.19 (0.06–0.37)	3.64 (0.82–5.91)	0.10 (0.03–0.34)	0.14 (0.02–0.26)
Internal validation				
PopMed (95% CI)	0.96 (0.54–1.62)	15.07 (7.84–25.23)	0.30 (0.02–1.14)	0.52 (0.25–1.02)
External validation				
PostMed (95% CI)	0.96 (0.50–1.72)	15.10 (7.83–27.36)	0.30 (0.01–1.24)	0.48 (0.21–1.11)

CI, confidence interval; CL, total clearance; CV, coefficient of variation; Kcp, rate constant from the central to peripheral compartment; Kpc, rate constant from peripheral to central compartment; MAWD, median absolute weighted deviation; PopMed, population median; PostMed, posterior (individual) median; Var, variance; Vc, volume of distribution of central compartment; Vp, volume of distribution into the peripheral compartments; WtMed, weighted median.



**FIGURE 1.** Internal validation—diagnostic plots for the final model. Observed versus population (A) and individual (B) predicted micafungin concentrations. Visual predictive check (VPC) (C). A and B, Dash line: identity line. Filled lines: regression line. Circles: observed concentrations. C, Filled lines (light gray field): 2.5th, 50th, and 97.5th percentiles of prediction interval (95% confidence intervals). Circles: observed concentrations.

PK/PD targets for *C. albicans* and *C. glabrata* on the first day of therapy. However, none of the dosing regimens investigated in this study reached the PK/PD target for *C. krusei* (MIC >0.032 mg/L) and *C. parapsilosis* (MIC >0.250 mg/L) during the first 48 hours. These results are consistent with those of a previously published study.<sup>35</sup>

**Relationship With Previous Literature**

In this study, micafungin PK was well described by a 2-compartment model. The validity of the model was assessed by both internal and external validation, providing strong support for our results. Indeed, the external data set from the study by Maseda et al<sup>32</sup> afforded us the opportunity to perform the most robust validation process. The built model slightly underestimates population model-based concentrations. This underestimation could be attributed to differences in sampling intensity between day 2 and day 3 (3 individual concentration–time profiles in the original data set versus 13 in the study by Maseda et al for this sampling period). Indeed, a higher SOFA score was observed (12) during the first 3 days of therapy in the original data set when compared with the SOFA score of the validation data set (9), which could result in the prediction of lower peak concentrations by the population-based model. However, the VPC of the external validation revealed that these higher concentrations are adequately predicted by the model. As previously shown,

micafungin PK parameters are altered in healthy volunteers for the same dosing regimen with a high interindividual variability.<sup>11,36</sup> Indeed, because of physiopathological changes, higher clearance and volume of distribution were observed with lower drug exposure in this study (0.96 L/h for CL and 14.84 L for Vc) when compared with healthy subjects weighing 70 kg (0.73 L/h for CL and 14 L for Vd).<sup>11</sup> However, no covariate in this cohort could explain the observed variability in exposure among ICU patients. Micafungin PK models without covariates have been reported in previous studies,<sup>36–38</sup> whereas others have identified body weight or serum albumin concentration as covariates to rationalize the variabilities in clearance or volume of distribution.<sup>32,39–41</sup> Gumbo et al<sup>39</sup> have observed that body weight markedly influences micafungin clearance in patients weighing >66.3 kg. In this study, patients had a higher median body weight [94.8 (66–138) kg]. This is probably the main reason why body weight was not retained as a covariate in our study. Further studies are needed to elucidate the impact of this covariate in a larger cohort of ICU patients. None of the CRRT modality covariates were retained in the final model because these covariates did not improve model performance. Based on the physicochemical properties of micafungin (ie, high protein binding and hepatic metabolism), low CRRT-related micafungin clearance is not unexpected. These results are consistent with previous studies conducted for different CRRT modalities,

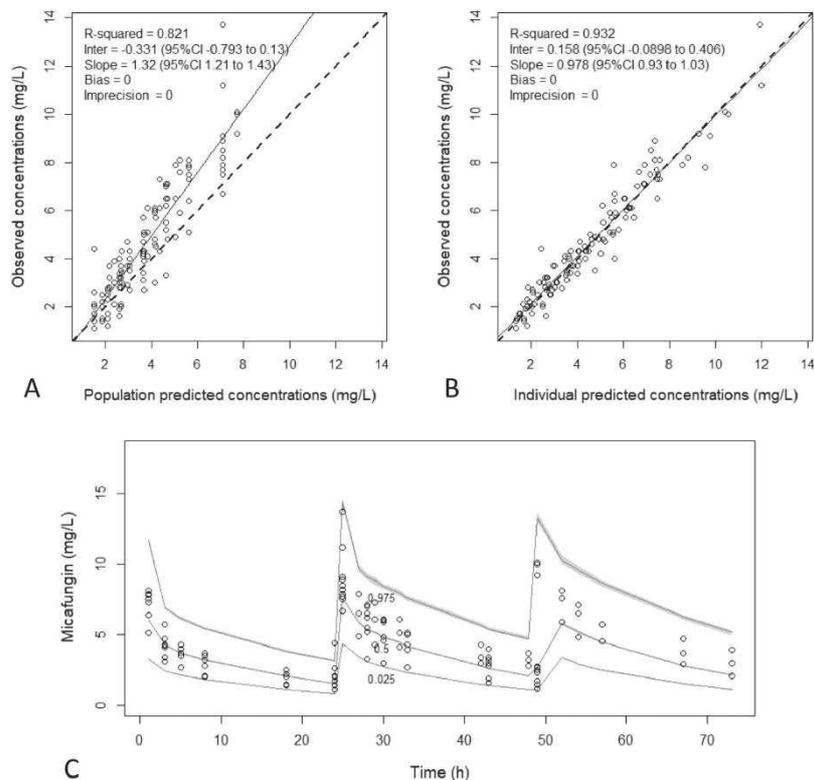
**TABLE 2.** Comparison of Different Models

Model	-2LL	AIC	pBias	pImp	iBias	iImp
Without covariate	163.8	174.4	-0.71	16.41	-0.06	0.99
CRRT on CL	162.7	175.5	0.90	27.22	-0.15	1.11
TBW on CL	162.7	175.6	-0.39	16.57	-0.05	0.98
SOFA score on CL	162.0	174.8	2.65	39.15	-0.03	0.98
SOFA score on Vc	161.0	173.8	-0.59	17.50	-0.05	0.99
Serum albumin on Vc	160.7	173.5	-0.59	16.13	-0.07	0.99
Age on Vc	160.3	173.1	0.57	20.44	-0.16	1.14

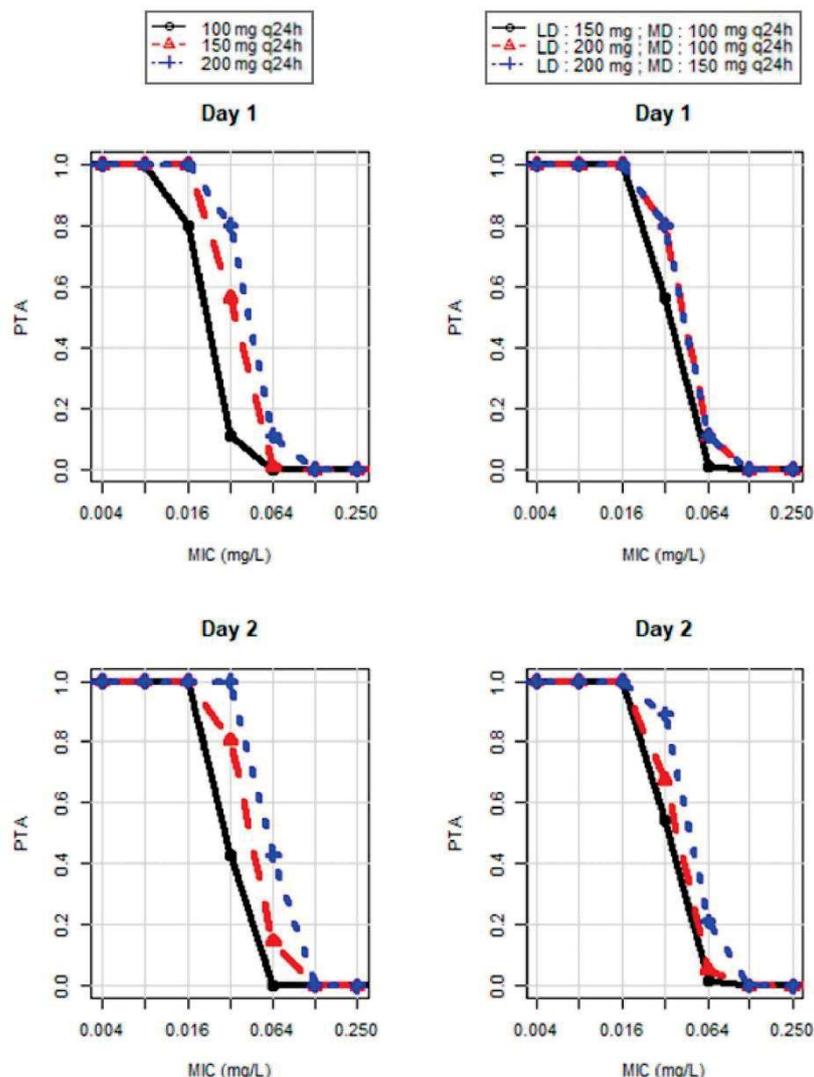
The model is a 2-compartment model ± covariate.  
 2LL, -2 × log-likelihood (objective function); AIC, Akaike information criteria; CL, total clearance; iBias, individual bias; iImp: individual imprecision; pBias, population bias; pImp: population imprecision; SOFA score, Sequential Organ Failure Assessment Score; TBW, total body weight; Vc, volume of distribution of central compartment.

including continuous venovenous hemodialysis and CVVH,<sup>32,42,43</sup> indicating that dose adjustments are not required for micafungin in critically ill patients undergoing any mode of CRRT.

However, dose adjustment is still needed in this population based on PK/PD considerations. On targeting the PK/PD index defined by Andes et al,<sup>33</sup> it is obvious, based on the simulation analysis, that exposure after the standard 100 mg daily dosing was unable to reach 90% of FTA for all *Candida* species, except for *C. albicans* on the second day of therapy (MIC < 0.016 mg/L). Conversely, a dosing regimen of 200 mg daily was insufficient to reach 90% of FTA for *C. krusei*, *C. parapsilosis*, and *C. tropicalis* (first day of therapy) (MIC >0.016 mg/L). Similar results have been reported in previous studies in ICU patients,<sup>37,43,44</sup> indicating that FTAs did not reach 90% for MIC >0.016 mg/L for a dosing regimen of 100 mg daily. Moreover, *C. parapsilosis* represents a species that is less susceptible to the action of echinocandins, exhibiting in vitro susceptibility less than other *Candida* species by 1 to 2 orders of magnitude, despite an observed efficacy rate of 86% in patients not attaining the targeted AUC<sub>0-24</sub>/MIC ratio for *C. parapsilosis*.<sup>15</sup> This finding is probably due to the lowest mortality rate observed with *C. parapsilosis*, but careful attention is required for *C. krusei* and *C. tropicalis* with regard to their higher mortality rate.<sup>13,14,45</sup> Our results suggest dose escalation on day 1 in critically ill patients infected with *Candida* species to achieve the clinical PK/PD target. Based on Monte Carlo simulations,



**FIGURE 2.** External validation—diagnostic plots for the final model. Observed versus population (A) and individual (B) predicted micafungin concentrations. Visual predictive check (VPC) (C). A and B, Dash line: identity line. Filled lines: regression line. Circles: observed concentrations. C, Filled lines (light gray field): 2.5th, 50th, and 97.5th percentiles of prediction interval (95% confidence intervals). Circles: observed concentrations.



**FIGURE 3.** PTA of non-species-related target exposure for different micafungin dosing regimens over the first 48 hours of treatment. PTA of total  $AUC_{0-24}/MIC > 3000$ . Total  $AUC_{0-24}$ , area under the curve (0–24 h); MIC (0.004–0.250 mg/L); LD, loading dose; MD, maintenance dose.

a loading dose of 150 mg or higher is recommended. These dosing regimens enabled steady-state concentrations to be attained earlier than a standard daily dose, thus presenting better efficacy against *Candida* species than with standard daily dosing.

These findings are in line with other previously published studies.<sup>11,32,43,46,47</sup> These “off-label” dosing regimens should be further investigated in clinical trials considering the favorable toxicity profile and postantifungal effect of micafungin to ensure efficacy, as well as prevent the emergence of resistance due to an inadequate initial antifungal dosing regimen.

### Study Limitations

This study has several limitations. First, given the high protein binding of micafungin, measuring unbound micafungin concentrations may be informative. However, even when using extremely sensitive UHPLC-MS/MS, these assays remain highly challenging and were not available for this study. Second, no covariates were available to assess hepatic impairment, including alanine and aspartate aminotransferase (ALAT and ASAT). Indeed, micafungin is mainly eliminated by the hepatic route, and these covariates could have improved the estimation of micafungin clearance. Dosing regimens should be specifically investigated in patients with

hepatic dysfunction. However, reliable markers of hepatic metabolism available in routine care are still needed. Third, the small cohort of patients could have interfered with the determination of correlations between covariates and PK parameters. Hence, further studies are needed to elucidate the impact of these covariates in a larger cohort of ICU patients. Finally, interindividual variability was difficult to quantify using the nonparametric approach in Pmetrics.

### CONCLUSIONS

There was no difference in micafungin PK parameters between equidoses of CVVH and CVVHDF in critically ill patients. However, standard dosing with 100 mg micafungin daily is insufficient to achieve predefined PK/PD targets for most *Candida* species. Thus, a loading dose of 150 mg or higher should be considered to ensure optimal exposure on the first day of therapy.

### ACKNOWLEDGMENTS

*J. Roberts would like to acknowledge funding from the NHMRC Centre of Research Excellence (APP1099452) and a Practitioner Fellowship (APP1117065). Furthermore, the authors have received academic funding from Nimes University Hospital to conduct this work.*

### REFERENCES

- Vincent JL, Sakr Y, Sprung CL, et al. Sepsis in European intensive care units: results of the SOAP study. *Crit Care Med.* 2006;34:344–353.
- Uchino S, Bellomo R, Morimatsu H, et al. Continuous renal replacement therapy: a worldwide practice survey: the beginning and ending supportive therapy for the kidney (B.E.S.T. kidney) investigators. *Intensive Care Med.* 2007;33:1563–1570.
- Sinnolaredy M, Peake SL, Roberts MS, et al. Using pharmacokinetics and pharmacodynamics to optimise dosing of antifungal agents in critically ill patients: a systematic review. *Int J Antimicrob Agents.* 2012;39:1–10.
- Vincent JL. International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. *JAMA.* 2009;302:2323.
- Garey KW, Rege M, Pai MP, et al. Time to initiation of fluconazole therapy impacts mortality in patients with candidemia: a multi-institutional study. *Clin Infect Dis.* 2006;43:25–31.
- Bassetti M, Righi E, Ansaldi F, et al. A multicenter study of septic shock due to candidemia: outcomes and predictors of mortality. *Intensive Care Med.* 2014;40:839–845.
- Tabah A, Kouletis D, Laupland K, et al. Characteristics and determinants of outcome of hospital-acquired bloodstream infections in intensive care units: the EUROBACT international cohort study. *Intensive Care Med.* 2012;38:1930–1945.
- Paiva JA, Pereira JM, Tabah A, et al. Characteristics and risk factors for 28-day mortality of hospital acquired fungemias in ICUs: data from the EUROBACT study. *Crit Care.* 2016;20:53.
- Kollef M, Micek S, Hampton N, et al. Septic shock attributed to *Candida* infection: importance of empiric therapy and source control. *Clin Infect Dis.* 2012;54:1739–1746.
- Pappas PG, Rotstein CM, Betts RF, et al. Micafungin versus caspofungin for treatment of candidemia and other forms of invasive candidiasis. *Clin Infect Dis.* 2007;45:883–893.
- Wasmann RE, Muilwijk EW, Burger DM, et al. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of micafungin. *Clin Pharmacokinet.* 2018;57:267–286.
- Pfaffer MA, Diekema DJ, Ostrosky-Zeichner L, et al. Correlation of MIC with outcome for *Candida* species tested against caspofungin, anidulafungin, and micafungin: analysis and proposal for interpretive MIC breakpoints. *J Clin Microbiol.* 2008;46:2620–2629.
- Horn DL, Neofytos D, Anaissie EJ, et al. Epidemiology and outcomes of *Candidemia* in 2019 patients: data from the prospective antifungal therapy alliance registry. *Clin Infect Dis.* 2009;48:1695–1703.
- Bassetti M, Merelli M, Ansaldi F, et al. Clinical and therapeutic aspects of candidemia: a five year single centre study. *PLoS One.* 2015;10:e0127534.
- Andes D, Ambrose PG, Hammel JP, et al. Use of pharmacokinetic-pharmacodynamic analyses to optimize therapy with the systemic antifungal micafungin for invasive candidiasis or candidemia. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011;55:2113–2121.
- Roberts JA, Lipman J. Pharmacokinetic issues for antibiotics in the critically ill patient. *Crit Care Med.* 2009;37:840–851.
- Roberts DM, Roberts JA, Roberts MS, et al. Variability of antibiotic concentrations in critically ill patients receiving continuous renal replacement therapy: a multicentre pharmacokinetic study. *Crit Care Med.* 2012;40:1523–1528.
- Jamal JA, Roger C, Roberts JA. Understanding the impact of pathophysiological alterations during critical illness on drug pharmacokinetics. *Anaesth Crit Care Pain Med.* 2018;37:515–517.
- Sinnolaredy MG, Roberts JA, Lipman J, et al. Pharmacokinetic variability and exposures of fluconazole, anidulafungin, and caspofungin in intensive care unit patients: data from multinational Defining Antibiotic Levels in Intensive Care Unit (DALI) Patients Study. *Crit Care.* 2015;19:33.
- de Souza Oliveira MA, dos Santos TO, Monte JC, et al. The impact of continuous renal replacement therapy on renal outcomes in dialysis-requiring acute kidney injury may be related to the baseline kidney function. *BMC Nephrol.* 2017;18:150.
- Hanafusa N. Application of continuous renal replacement therapy: what should we consider based on existing evidence? *Blood Purif.* 2015;40:312–319.
- Friedrich JO, Wald R, Bagshaw SM, et al. Hemofiltration compared to hemodialysis for acute kidney injury: systematic review and meta-analysis. *Crit Care.* 2012;16:R146.
- Choi G, Gomersall CD, Tian Q, et al. Principles of antibacterial dosing in continuous renal replacement therapy. *Blood Purif.* 2010;30:195–212.
- Pea F, Viale P, Pavan F, et al. Pharmacokinetic considerations for antimicrobial therapy in patients receiving renal replacement therapy. *Clin Pharmacokinet.* 2007;46:997–1038.
- Kiang TK, Sherwin CM, Spigarelli MG, et al. Fundamentals of population pharmacokinetic modelling: modelling and software. *Clin Pharmacokinet.* 2012;51:515–525.
- Toulouse E, Masseguin C, Lafont B, et al. French legal approach to clinical research. *Anaesth Crit Care Pain Med.* 2018;37:607–614.
- Food, and Drug Administration. *Guidance for Industry: Bioanalytical Method Validation.* Available at: <https://www.fda.gov/files/drugs/published/Bioanalytical-Method-Validation-Guidance-for-Industry.pdf>. Accessed May 10, 2018.
- Le Gall JR, Lemeshow S, Saulnier F. A new Simplified Acute Physiology Score (SAPS II) based on a European/North American multicenter study. *JAMA.* 1993;270:2957–2963.
- Vincent JL, de Mendonça A, Cantraine F, et al. Use of the SOFA score to assess the incidence of organ dysfunction/failure in intensive care units: results of a multicenter, prospective study. Working group on “sepsis-related problems” of the European Society of Intensive Care Medicine. *Crit Care Med.* 1998;26:1793–1800.
- Neely MN, van Guilder MG, Yamada WM, et al. Accurate detection of outliers and subpopulations with Pmetrics, a nonparametric and parametric pharmacometric modeling and simulation package for R. *Ther Drug Monit.* 2012;34:467–476.
- Tatarinova T, Neely M, Bartroff J, et al. Two general methods for population pharmacokinetic modeling: non-parametric adaptive grid and non-parametric Bayesian. *J Pharmacokinetic Pharmacodyn.* 2013;40:189–199.
- Maseda E, Grau S, Villagran MJ, et al. Micafungin pharmacokinetic/pharmacodynamic adequacy for the treatment of invasive candidiasis in critically ill patients on continuous venovenous haemofiltration. *J Antimicrob Chemother.* 2014;69:1624–1632.
- Andes D, Diekema DJ, Pfaffer MA, et al. In vivo comparison of the pharmacodynamic targets for echinocandin drugs against *Candida* species. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54:2497–2506.

34. *Eucast2*. Available at: <https://mic.eucast.org/Eucast2/SearchController/search.jsp?action=performSearch&BeginIndex=0&Micdif=mic&NumberIndex=50&Antib=715&Specium=-1>. Accessed July 15, 2019.
35. Maseda E, Grau S, Luque S, et al. Population pharmacokinetics/pharmacodynamics of micafungin against *Candida* species in obese, critically ill, and morbidly obese critically ill patients. *Crit Care*. 2018;22:10.
36. Lempers VJ, Schouten JA, Hunfeld NG, et al. Altered micafungin pharmacokinetics in intensive care unit patients. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015;59:4403–4409.
37. Martial LC, ter Heine R, Schouten JA, et al. Population pharmacokinetic model and pharmacokinetic target attainment of micafungin in intensive care unit patients. *Clin Pharmacokinet*. 2017;56:1197–1206.
38. García-de-Lorenzo A, Luque S, Grau S, et al. Comparative population plasma and tissue pharmacokinetics of micafungin in critically ill patients with severe burn injuries and patients with complicated intra-abdominal infection. *Antimicrob Agents Chemother*. 2016;60:5914–5921.
39. Gumbo T, Hiemenz J, Ma L, et al. Population pharmacokinetics of micafungin in adult patients. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2008;60:329–331.
40. Grau S, Luque S, Campillo N, et al. Plasma and peritoneal fluid population pharmacokinetics of micafungin in post-surgical patients with severe peritonitis. *J Antimicrob Chemother*. 2015;70:2854–2861.
41. Jullien V, Azoulay E, Schwebel C, et al. Population pharmacokinetics of micafungin in ICU patients with sepsis and mechanical ventilation. *J Antimicrob Chemother*. 2017;72:181–189.
42. Roger C, Wallis SC, Muller L, et al. Caspofungin population pharmacokinetics in critically ill patients undergoing continuous veno-venous haemofiltration or haemodiafiltration. *Clin Pharmacokinet*. 2017;56:1057–1068.
43. Vossen MG, Knaf D, Haidinger M, et al. Micafungin plasma levels are not affected by continuous renal replacement therapy: experience in critically ill patients. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017;61:10.
44. Boonstra JM, van der Elst KC, Veringa A, et al. Pharmacokinetic properties of micafungin in critically ill patients diagnosed with invasive candidiasis. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017;61:e01398–e01417.
45. Delaloye J, Calandra T. Invasive candidiasis as a cause of sepsis in the critically ill patient. *Virulence*. 2014;5:161–169.
46. Agrifoglio A, Cachafeiro L, Herrero E, et al. Are we near to the end of the standard dose of micafungin? *Crit Care*. 2018;22:149.
47. Roger C, Sasso M, Lefrant JY, et al. Antifungal dosing considerations in patients undergoing continuous renal replacement therapy. *Curr Fungal Infect Rep*. 2018;12:1–11.

## 8.2 Approche non-paramétrique *versus* approche paramétrique

Afin de confirmer les résultats de l'article 1, les données ont également été utilisées afin de construire un modèle PK selon une approche paramétrique sur Monolix®. Dans l'optique de bien évaluer la covariable des modalités d'EER, il a été considéré que chaque occasion, associée en générale à différente modalité d'EER, serait tritée comme un patient à part entière.

### 8.2.1 Modèle paramétrique

Les concentrations plasmatiques ont été les mieux décrites à l'aide avec un modèle à deux compartiment associé à un modèle d'erreur proportionnel (erreur = Concentration observée  $\times$  0,084) et en incluant la corrélation entre  $CL_t$  et  $V_c$ , dont le coefficient est 0,83. Malgré des tests de corrélation non concluants entre les paramètres PK et les covariables, il a tout de même été décidé de tester une à une les covariables physiologiquement plausibles en les intégrant dans le modèle (modèle intermédiaire). Il en a résulté que les paramètres  $\beta$  associés à ces covariables sont mal estimés, et que ces modèles n'améliorent pas significativement le modèle de base ( $FO > 6,64$  pour un test de khi-deux avec un risque  $\alpha = 1 \%$  et 1 degré de liberté). En somme, le modèle final retenu n'inclut pas de covariable. Les paramètres PK du modèle final, ainsi que la comparaison des modèles intermédiaires avec ce dernier, sont présentés dans le tableau 3 ci-dessous.

A.

Paramètres (RSE)	Moyenne	RSD
$CL_t$ (L/h)	0,87 (8 %)	0,33 (19 %)
$V_c$ (L)	14,44 (10 %)	0,34 (20 %)
$Q$ (L/h)	3,48 (22 %)	-
$V_p$ (L)	7,70 (10 %)	-

B.

	Poids		Score SOFA		Albuminémie		EER	
	CL <sub>t</sub>	Vc	CL <sub>t</sub>	Vc	CL <sub>t</sub>	Vc	CL <sub>t</sub>	Vc
<b>Δ FO</b>	0	0	1	0	0	0	0	1
<b>β (RSE)</b>	0,05 (592 %)	-0,09 (355 %)	-0,12 (137 %)	-0,12 (154 %)	0,04 (887 %)	0,09 (376 %)	-0,07 (145 %)	0,05 (256 %)

**Tableau 3 : Paramètres PK du modèle final (A)  
et comparaison de ce dernier aux modèles intermédiaires (B).**

β : facteur PK. CL<sub>t</sub> : clairance totale. EER : épuration extra-rénale.

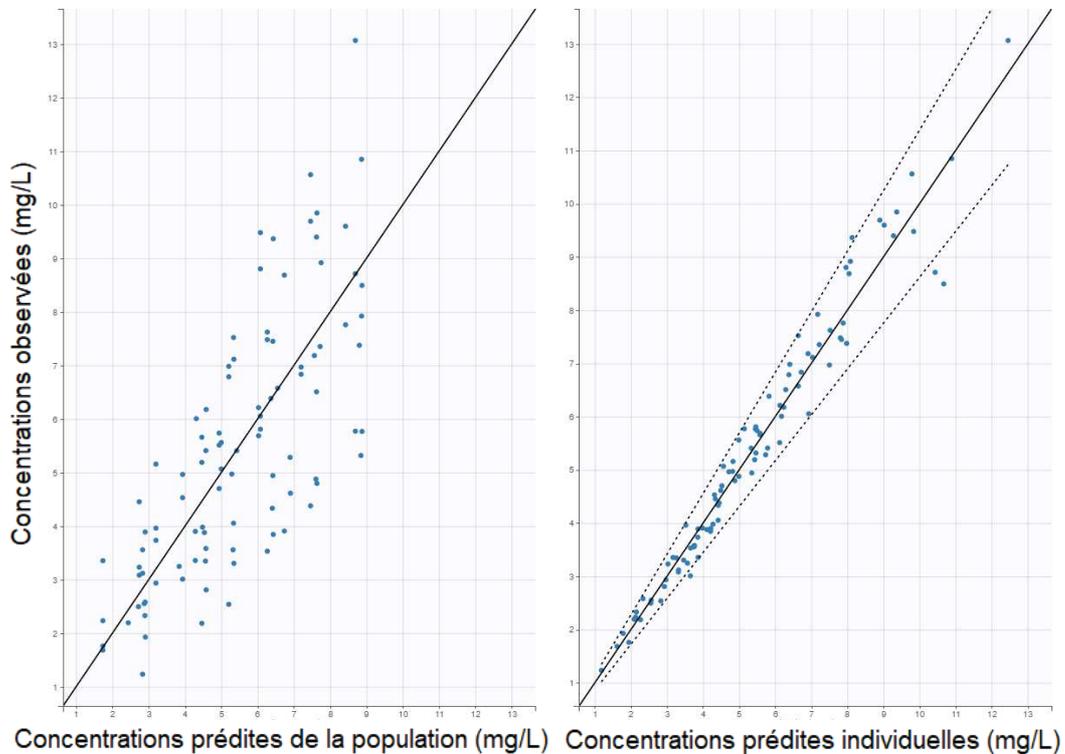
FO : fonction objective. Q : débit intercompartmental. RSD : *relative standard deviation*.

RSE : *residual standard error*. Score SOFA : *score Sepsis-related Organ Failure Assessment*.

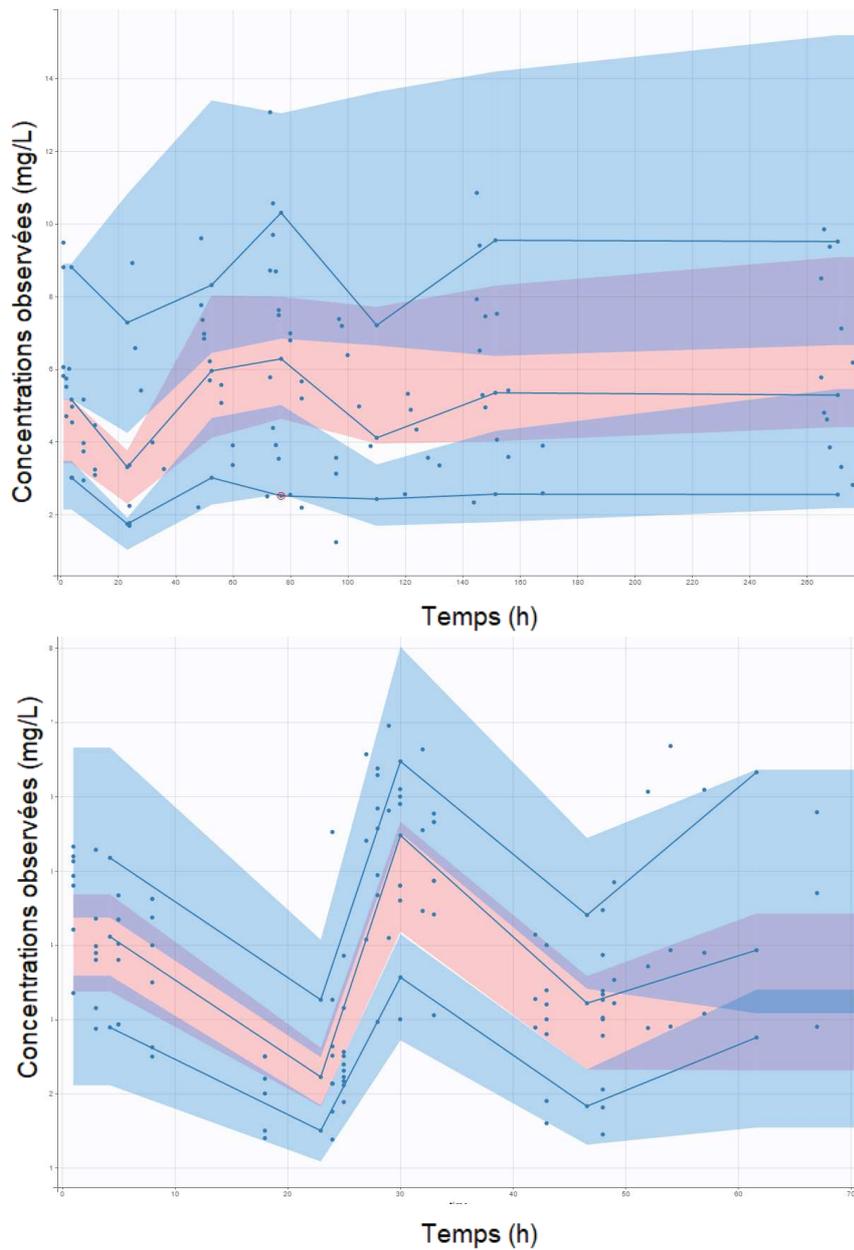
Vc : volume de distribution central. Vp : volume de distribution périphérique.

Enfin, les graphes diagnostics sont présentés dans la figure 14 suivante :

A.



**B.**



**Figure 14 : Graphes diagnostics du modèle final :**

**Concentrations observées *versus* prédites (A)**

**et VPC (B) de la validation interne (en haut) et externe (en bas).**

Cercles bleus : concentrations observées. En A - Droite continue : droite d'identité.  
Droites discontinues : intervalle de prédiction à 90 %. En B - Lignes continues : percentile empirique pour les 10<sup>ième</sup>, 50<sup>ième</sup> et 90<sup>ième</sup> percentiles. Aires: intervalle de prédiction du 50<sup>ième</sup> percentile (rose) et du 10<sup>ième</sup> et 90<sup>ième</sup> (bleu).

## 8.2.2 Interprétation des résultats

La construction des modèles paramétrique et non-paramétrique est similaire, à savoir un modèle à deux compartiments associés à un modèle d'erreur proportionnel. De plus, aucune covariable n'est retenue dans ces modèles. Des validations interne et externe ont également démontrées leurs bonnes capacités de prédictions, bien que l'on retrouve une légère sous prédiction au deuxième jour avec le jeu de données de Maseda et al. [165] comme explicité dans l'article 1. Les paramètres  $CL_t$  et  $V_c$  prédits par le modèle non-paramétrique (0,96 (RSD, *relative standard deviation* : 0,33) L/h et 14,84 (0.36) L respectivement) sont aussi bien prédits que par le modèle paramétrique (0,87 (0,33) L/h et 14,44 (0,34) L respectivement), en prenant en considération les grandes variabilités inter-individuelles et inter-occasion (RSD). Ainsi, malgré la fragilité des modèles en considérant la taille de l'échantillon de population et les prélèvements plasmatiques sur plusieurs jours, la prédiction des paramètres PK par une approche non-paramétrique est aussi robuste que l'approche paramétrique [166]. L'absence de la covariable associée aux modalités d'EER dans les modèles finaux consolide davantage les résultats : quel que soit la modalité d'EER (CVVH et CVVHDF), il n'y a pas de différence dans la PK de la micafungine chez ces patients septiques.

## 8.3 Impact des thérapies d'EER sur la PK de la micafungine

Afin de confirmer l'effet des thérapies d'EER sur la PK de la micafungine, une analyse de PKpop a été réalisée sur une population provenant de trois groupes utilisés pour les articles 1 et 2 (partie 8.1 et 9.1 respectivement). Certaines caractéristiques étudiées en tant que covariables sont illustrées dans le tableau 4 ci-dessous. Un modèle PK a été défini selon l'approche non-paramétrique sur Pmetrics® et selon l'approche paramétrique sur Monolix®.

	Poids	Score SOFA	Albuminémie	EER (oui/non)
<b>Population totale (n = 30)</b>	72 (52 - 138)	8 (1 - 13)	25,25 (18 - 36)	19/11
<b>Population 1 (n = 8)</b> art. 1	94,8 (66 - 138)	10,5 (5 - 12)	23,3 (19,4-32,2)	8/0
<b>Population 2 (n = 10)</b> art. 1 (Maseda et al.)	70 (61 - 80)	9 (3 - 13)	25,5 (18 - 36)	10/0
<b>Population 3 (n = 12)</b> art. 2	64,8 (52 - 110)	6 (1 -11)	25,4 (20,7 – 33,4)	1/11

**Tableau 4 : Descriptif des principales covariables étudiées (n ou médiane (min - max)).**

EER : épuration extra-rénale. Score SOFA : *score Sepsis-related Organ Failure Assessment*.

### 8.3.1 Modèle non-paramétrique

Un modèle à deux compartiments a été retenu comme modèle structural, couplé à un modèle d'erreur proportionnel (erreur =  $SD \times 2$ ). L'intégration une à une des différentes covariables, bien qu'améliorant parfois significativement le modèle, n'est pas pertinent au vu de la mauvaise estimation des  $\beta$  présentés. Ces résultats, ainsi que les paramètres du modèle final, sont présentés dans le tableau 5. Ainsi, aucune covariable n'a été retenue dans le modèle final.

**A.**

Paramètres	Moyenne	RSD	SD	Médiane
<b>CL<sub>t</sub></b> (L/h)	0,98	0,34	0,34	0,92
<b>V<sub>c</sub></b> (L)	12,88	0,30	3,92	12,18
<b>K<sub>cp</sub></b> (1/h)	0,34	0,50	0,17	0,41
<b>K<sub>pc</sub></b> (1/h)	0,63	0,47	0,29	0,62

B.

	Poids		Score SOFA		Albuminémie		EER	
	CL <sub>t</sub>	Vc	CL <sub>t</sub>	Vc	CL <sub>t</sub>	Vc	CL <sub>t</sub>	Vc
<b>Δ FO</b>	12	7	4	7	11	4	1	12
<b>β (CV)</b>	0,37 (114 %)	0,22 (120 %)	0,02 (141 %)	0,05 (169 %)	0,30 (109 %)	0 (160 %)	0,12 (106 %)	0,31 (129 %)

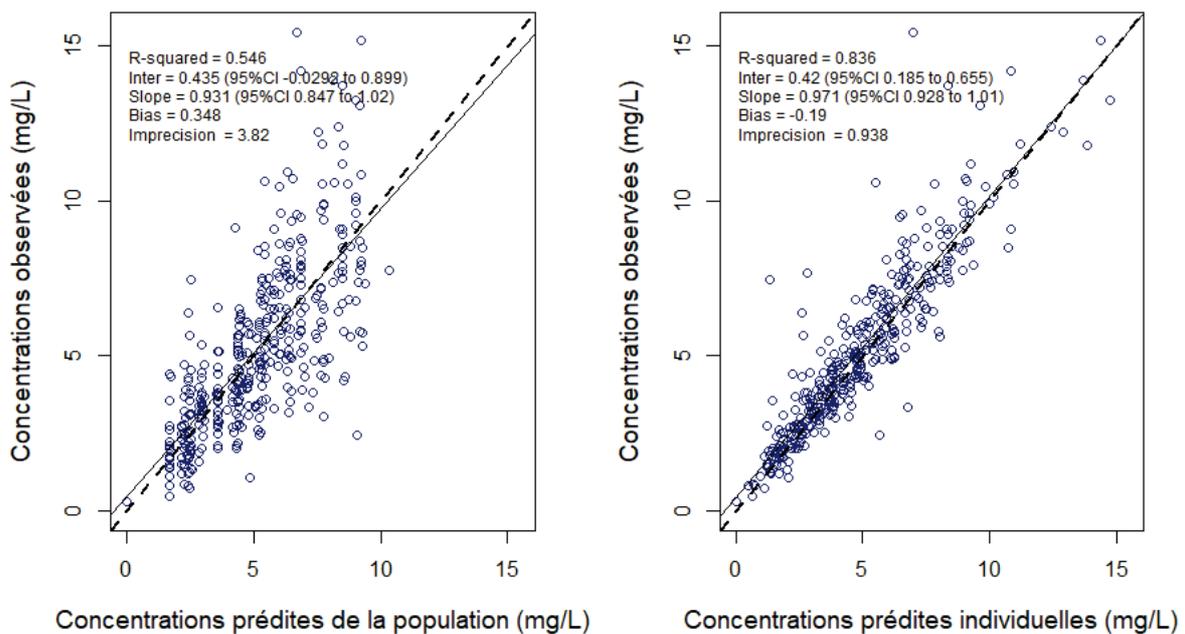
**Tableau 5 : Paramètres PK du modèle final déterminé sur Pmetrics® (A) et comparaison de ce dernier aux modèles intermédiaires (B).**

β : facteur PK. CL<sub>t</sub> : clairance totale. EER : épuration extra-rénale. FO : fonction objective. k<sub>cp</sub> : constante de transfert du compartiment central vers le compartiment périphérique. K<sub>pc</sub> : constante de transfert du compartiment périphérique vers le compartiment central. RSD : *residual standard deviation*. RSE : *residual standard error*. Score SOFA : *score Sepsis-related Organ Failure Assessment*. SD : *standard deviation*.

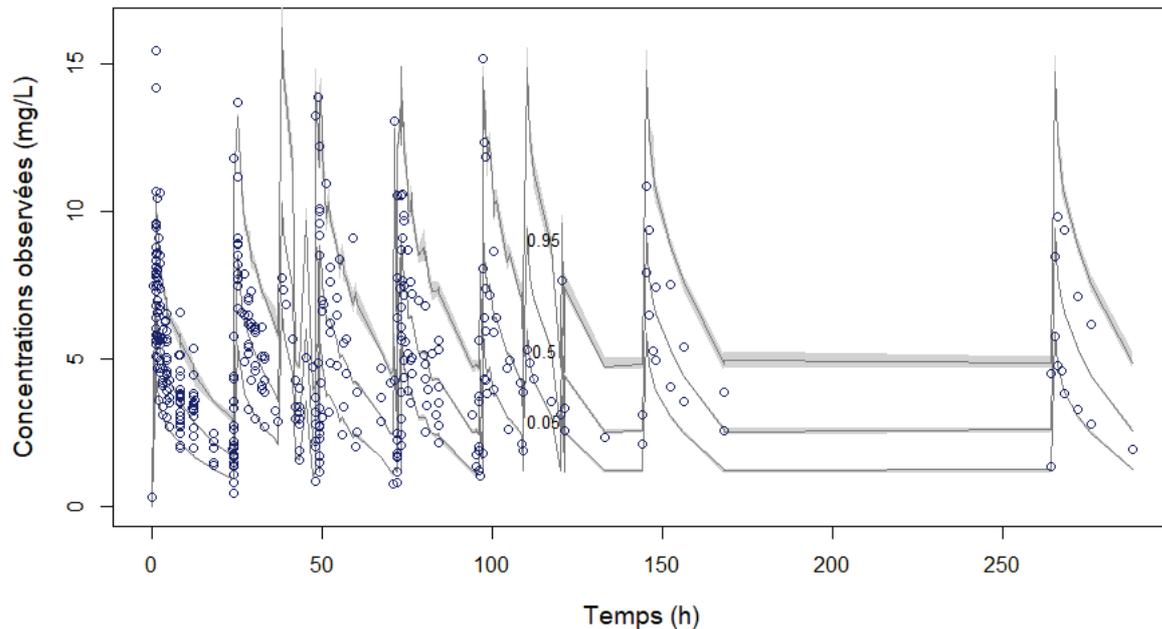
Vc : volume de distribution central. Vp : volume de distribution périphérique.

Les graphes diagnostics du modèle final sont illustrés dans la figure 15 ci-dessous :

A.



**B.**



**Figure 15 : Graphes diagnostics du modèle final déterminé sur Pmetrics® :  
Concentrations observées *versus* prédites (A) et VPC (B).**

Cercles bleus : concentrations observées. En A - Droite discontinue : droite d'identité. Droite continue : droite de régression. En B - Lignes continues : 2,5<sup>ième</sup>, 50<sup>ième</sup> et 97,5<sup>ième</sup> percentiles de l'intervalle de prédiction. Aires gris clair : intervalle de confiance à 95 %.

### 8.3.2 Modèle paramétrique

Un modèle à deux compartiments a également été retenu comme modèle structural, associé à un modèle d'erreur combiné (erreur =  $\sqrt{0,25^2 + 0,094^2 \times (\text{Concentration observée})^2}$ ). L'approche pas à pas dans la sélection de covariable n'a pas démontré d'intérêt particulier à inclure une covariable dans le modèle final. En effet, les paramètres  $\beta$  de chaque covariable sont mal estimés et leur inclusion n'améliore pas significativement le modèle. L'ensemble de ces résultats, en plus des paramètres PK du modèle final, sont présentés dans le tableau 6 ci-dessous :

A.

Paramètres (RSE)	Moyenne	RSD <sub>IIV</sub>	RSD <sub>IOV</sub>
CL <sub>t</sub> (L/h)	0,88 (6 %)	0,23 (27 %)	0,28 (18 %)
Vc (L)	12,13 (6 %)	0,21 (31 %)	0,27 (15 %)
Q (L/h)	3,95 (1 %)	-	-
Vp (L)	7,25 (1 %)	-	-

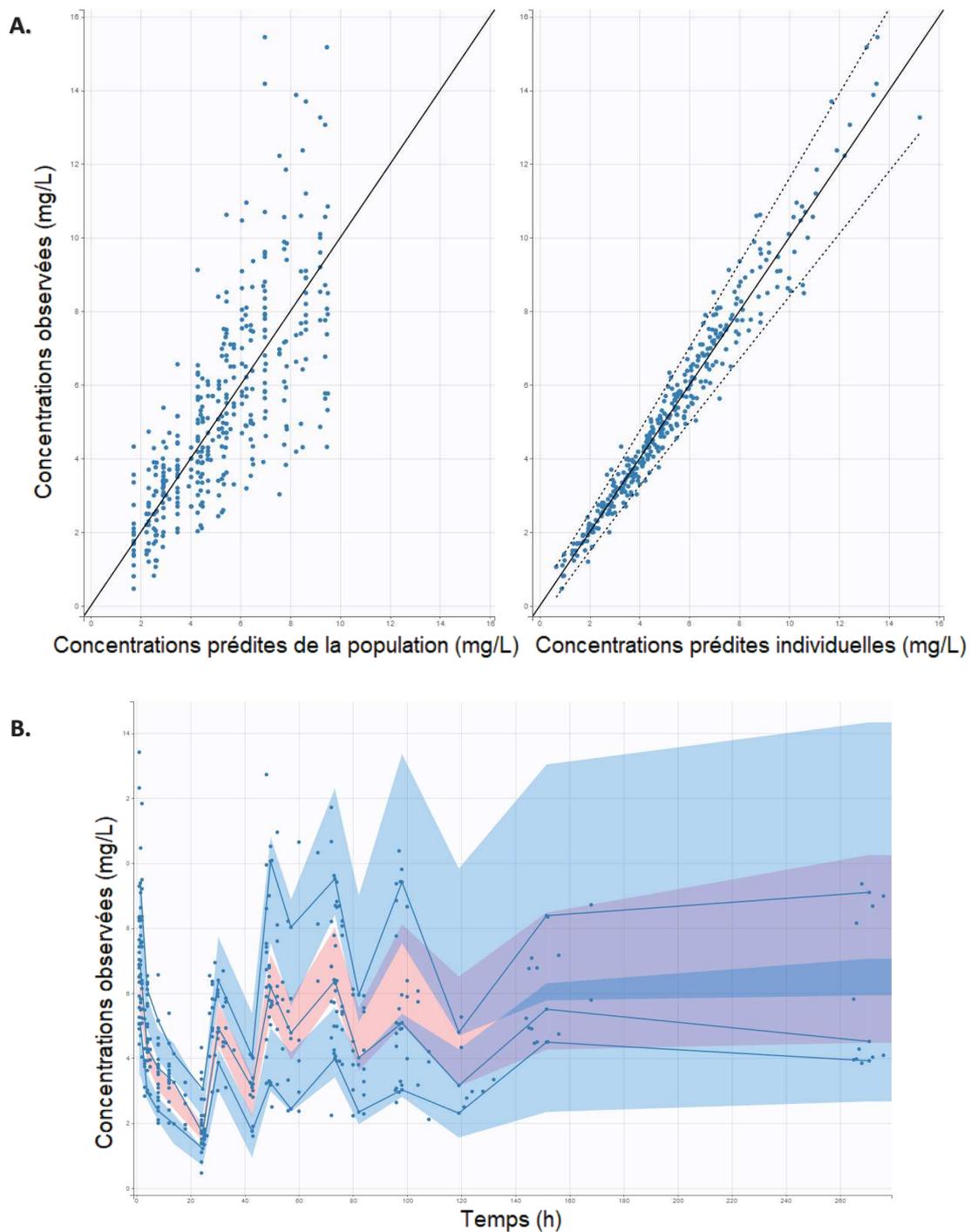
B.

	Poids		Score SOFA		Albuminémie		EER	
	CL <sub>t</sub>	Vc	CL <sub>t</sub>	Vc	CL <sub>t</sub>	Vc	CL <sub>t</sub>	Vc
$\Delta$ FO	1	4	0	0	0	0	0	3
$\beta$ (RSE)	0,34 (81 %)	0,51 (45 %)	0,01 (1110 %)	0,06 (138 %)	0,1 (310 %)	- 0,18 (167 %)	-0,06 (216 %)	0,19 (57 %)

**Tableau 6 : Paramètres PK du modèle final déterminé sur Monolix® (A)  
et comparaison de ce dernier aux modèles intermédiaires (B).**

$\beta$  : facteur PK. CL<sub>t</sub> : clairance totale. EER : épuration extra-rénale. FO : fonction objective.  
IIV : *inter-individual variability*. IOV : *inter-occasion variability*. Q : débit intercompartimental.  
RSD : *residual standard deviation*. RSE : *residual standard error*. Score SOFA : *score Sepsis-related Organ Failure Assessment*. Vc : volume de distribution central. Vp : volume de distribution périphérique.

Les graphes diagnostics sont présentés dans la figure 16 suivante :



**Figure 16 : Graphes diagnostics du modèle final déterminé sur Monolix® :**

**Concentrations observées versus prédites (A) et VPC (B).**

Cercles bleus : concentrations observées. En A - Droite continue : droite d'identité. Droites discontinues : intervalle de prédiction à 90 %. En B - Lignes continues : percentile empirique pour les 10<sup>ième</sup>, 50<sup>ième</sup> et 90<sup>ième</sup> percentiles. Aires: intervalle de prédiction du 50<sup>ième</sup> percentile (rose) et du 10<sup>ième</sup> et 90<sup>ième</sup> (bleu).

### 8.3.3 Interprétation des résultats

Quelle que soit l'approche utilisée, les concentrations observées sont bien prédites par ces modèles, notamment à l'échelle individuelle. Les estimations des paramètres de population  $CL_L$  et  $V_c$  sont très similaires en considérant la grande variabilité inter-individuelle et/ou inter-occasion. En ce qui concerne ces dernières, elles sont estimées par un RSD unique pour le modèle non-paramétrique, et par des RSD distincts pour chacune de ces variabilités pour le modèle paramétrique. La différence d'estimation de ces variabilités peut également être due aux modèles d'erreur associés à chaque approche (proportionnel *versus* combiné).

Enfin, ces deux modèles démontrent encore la robustesse de chacune de ces approches dans l'estimation des paramètres PK [166]. De plus, ils confirment que les thérapies d'EER ne modifient pas la PK de la micafungine. Ainsi, un ajustement posologique lié à l'utilisation de l'EER n'est pas requis pour la micafungine, comme cela a pu être suggéré dans de précédentes études sur les échinocandines [164,165,167–172]. Toutefois, l'utilisation de doses de charge plus élevées est supportée par les données observées dans la population de choc septique.

## 9 Diffusion péritonéale des échinocandines chez les patients septiques

Le sepsis est fréquemment associé à une péritonite secondaire dont le pathogène se révèle être principalement *Candida spp* [29]. Connaître la diffusion des échinocandines au sein du site infectieux, la cavité péritonéale, permettrait d'évaluer si le schéma posologique recommandé est suffisant pour éradiquer l'infection fongique ou si un ajustement est nécessaire et ainsi de lutter contre l'émergence de résistance [102].

Les échinocandines étant fortement liés aux protéines et plutôt hydrophiles, leur diffusion péritonéale ne devrait donc pas être très élevée en situation physiologique. Toutefois, le phénomène de fuite capillaire provoqué par l'augmentation de la perméabilité vasculaire caractéristique du sepsis pourrait augmenter la diffusion des échinocandines au sein de la cavité péritonéale.

## 9.1 Article 2 : Analyse PK de population de la micafungine dans le plasma et le liquide péritonéal chez des patients atteints de sepsis secondaire à une péritonite

### 9.1.1 Résumé

Ce travail de recherche a permis de décrire la PK de la micafungine au niveau plasmatique et péritonéal chez des patients septiques avec une infection intra-abdominale recevant une dose standard de 100 mg par jour.

Dans cette étude, un modèle de PKpop a été construit à partir des 12 profils PK composés des données plasmatiques et/ou péritonéales à partir du logiciel Pmetrics®. Un modèle à trois compartiments incluant la masse maigre (FFM, *fat free mass*) [173] comme covariable de la clairance totale et du volume de distribution central a été le plus approprié pour décrire les concentrations plasmatiques et péritonéales. Les estimations des paramètres moyens (SD) de la micafungine étaient de 1,18 (0,40) L/h pour  $CL_t$  et de 12,85 (4,78) L pour  $V_c$ . Au premier jour de traitement, le ratio moyen des expositions péritonéale/plasma était de 25 % (5 %), contre 40 % (8 %) entre les jours 3 à 5. Enfin, les simulations de Monte Carlo indiquent que la dose standard de 100 mg permet d'atteindre la cible PK/PD des espèces *Candida* les plus sensibles pour un patient avec une FFM < 60 kg (*C. albicans*) ou < 50 kg (*C. glabrata*) au deuxième jour de traitement. Bien qu'il n'y ait pas de cible PK/PD défini au niveau péritonéal, les concentrations péritonéales étaient toujours supérieures aux CLSI breakpoints de *C. glabrata* (0,064 mg/L), et de *C. albicans*, *C. tropicalis* et *C. krusei* (0,25 mg/L) [70].

En conclusion, ces résultats sont en accord avec l'étude de Grau et al. [174] avec une pénétration modérée de la micafungine au sein de la cavité péritonéale (25 à 40 %). De plus, en vue de la grande variabilité PK de la micafungine chez ces patients septiques, une dose de charge d'au moins 150 mg dépendant de la FFM des patients et des espèces *Candida* est suggérée pour que ce traitement soit efficace dès le premier jour de traitement.

### 9.1.2 Article 2

Cet article a été publié dans le journal *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. Les matériels supplémentaires sont présentés en annexe 2.



# Prospective Cohort Study of Micafungin Population Pharmacokinetic Analysis in Plasma and Peritoneal Fluid in Septic Patients with Intra-abdominal Infections

✉ Nicolas Garbez,<sup>a,b,c</sup> Litaty Mbatchi,<sup>b,d</sup> Steven C. Wallis,<sup>e</sup> Laurent Muller,<sup>a,c</sup> Jeffrey Lipman,<sup>c,e,f</sup> ✉ Jason A. Roberts,<sup>c,e,f,g,h</sup> Jean-Yves Lefrant,<sup>a,c</sup> Claire Roger<sup>a,c</sup>

<sup>a</sup>Service des Réanimations, Pôle Anesthésie Réanimation Douleur Urgence, CHU Nîmes, Nîmes, France

<sup>b</sup>Laboratoire de Pharmacocinétique, Faculté de Pharmacie, Université de Montpellier, Montpellier, France

<sup>c</sup>Equipe d'Accueil 2992 Caractéristiques Féminines des Interfaces Vasculaires, Faculté de Médecine, Université de Montpellier, Montpellier, France

<sup>d</sup>Laboratoire de Biochimie, Centre Hospitalier Universitaire (CHU) of Nîmes, Hôpital Carémeau, Nîmes, France

<sup>e</sup>UQ Centre for Clinical Research, The University of Queensland, Brisbane, QLD, Australia

<sup>f</sup>Department of Intensive Care Medicine, Royal Brisbane and Women's Hospital, Brisbane, QLD, Australia

<sup>g</sup>Centre for Translational Anti-infective Pharmacodynamics, School of Pharmacy, The University of Queensland, Brisbane, QLD, Australia

<sup>h</sup>Pharmacy Department, Royal Brisbane and Women's Hospital, Brisbane, QLD, Australia

**ABSTRACT** The objective of this study was to describe the pharmacokinetics (PK) of micafungin in plasma and peritoneal fluid in septic patients with intra-abdominal infections. Twelve patients with secondary peritonitis in septic shock receiving 100 mg micafungin once daily were included. Total micafungin plasma and peritoneal fluid were subjected to a population pharmacokinetic analysis using Pmetrics. Monte Carlo simulations were performed considering the total area under the curve from 0 to 24 h ( $AUC_{0-24}$ )/MIC ratios in plasma. Micafungin concentrations in both plasma and the peritoneal exudate were best described by a three-compartmental PK model with the fat-free mass (FFM) as a covariate of clearance (CL) and the volume of the central compartment ( $V_c$ ). The mean parameter estimates (standard deviations [SD]) were 1.18 (0.40) liters/h for CL and 12.85 (4.78) liters for  $V_c$ . The mean peritoneal exudate/plasma ratios (SD) of micafungin were 25% (5%) on day 1 and 40% (8%) between days 3 and 5. Dosing simulations supported the use of standard 100-mg daily dosing for *Candida albicans* (FFM, <60 kg), *C. glabrata* (FFM, <50 kg), and *C. tropicalis* (FFM, <30 kg) on the second day of therapy. There is a moderate penetration of micafungin into the peritoneal cavity (25 to 40%). For empirical treatment, a dose escalation of at least a loading dose of 150 mg depending on the FFM of patients and the *Candida* species is suggested to be effective from the first day of therapy.

**KEYWORDS** micafungin, pharmacokinetics, Monte Carlo simulations, intensive care unit, septic shock, secondary peritonitis, peritoneal fluid

Septic shock represents up to 30% of intensive care unit (ICU) admissions (1). Fungal infections are incriminated in 20% of these infections, mostly due to *Candida* species (2, 3). Fungal-related septic shock greatly increases morbidity and mortality in ICU patients (4–6). Moreover, *Candida* species, especially *Candida albicans*, are the first or second most frequently isolated pathogens in cases of secondary peritonitis (7). Delayed administration of appropriate antifungal therapy and inadequate source control have been identified as risk factors correlating with poor outcomes under these conditions (5), suggesting that adequate initial anti-infective treatment is essential to improve the prognosis of ICU patients with invasive fungal infections (4, 6).

In critically ill patients with invasive candidiasis, candidemia, or peritonitis,

**Citation** Garbez N, Mbatchi L, Wallis SC, Muller L, Lipman J, Roberts JA, Lefrant J-Y, Roger C. 2021. Prospective cohort study of micafungin population pharmacokinetic analysis in plasma and peritoneal fluid in septic patients with intra-abdominal infections. *Antimicrob Agents Chemother* 65:e02307-20. <https://doi.org/10.1128/AAC.02307-20>.

**Copyright** © 2021 American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Address correspondence to Nicolas Garbez, nicolas.garbez@umontpellier.fr.

**Received** 31 October 2020

**Returned for modification** 17 December 2020

**Accepted** 2 April 2021

**Accepted manuscript posted online** 12 April 2021

**Published** 17 June 2021

echinocandins such as micafungin are recommended as a first-line treatment (8, 9). Micafungin is a selective inhibitor of 1,3-beta-D-glucan synthesis and inhibits the production of the fungal cell wall. It exhibits broad-spectrum fungicidal activity against *Candida* species and a prolonged postantifungal effect (8). Although *Candida albicans* is still the leading cause of intra-abdominal candidiasis, an increase in non-*albicans Candida* species-related infections has been observed in ICUs (10). Five species of *Candida* are commonly identified: *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, and *C. krusei* (5, 11, 12). For these species, the most relevant pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) target is the ratio of the 24-h total drug exposure ( $AUC_{0-24}$  [area under the curve from 0 to 24 h]) above the MIC ( $AUC_{0-24}/MIC$  ratio), with specific species- and drug-related targets defined previously (13).

In critically ill patients, the PK of drugs can be altered by several pathophysiological changes (sepsis, hepatic and/or renal dysfunction, extracorporeal organ support, hypoalbuminemia, altered capillary permeability, and fluid balance) (2, 14), potentially reducing the probability of achieving any PK/PD target. In intra-abdominal infections, impaired tissue penetration and the presence of indwelling surgical drains may further alter micafungin PK. Changes contributing to the high PK variability may significantly alter drug dosing requirements (15, 16). Furthermore, Sinnollareddy et al. (2) reported that non-target attainment with standard dosing of echinocandins may contribute to the emergence of *Candida* resistance to echinocandins. In addition, Shields et al. (17) found that intra-abdominal candidiasis plays a role as a hidden reservoir for the emergence of echinocandin resistance. Together, these results suggest that conventional dosing regimens may result in inappropriate drug exposure (2, 16).

To date, only one study has investigated micafungin PK in plasma and peritoneal fluid in ICU patients with intra-abdominal fungal infections (18). This study reported a low probability of PK/PD target attainment using standard dosing regimens for less susceptible pathogens.

Thus, the goal of our study was to describe the PK of micafungin in both plasma and peritoneal fluid from ICU patients with septic shock and secondary peritonitis. Population PK analyses and Monte Carlo simulations were performed to determine the optimal micafungin dosing regimen in ICU patients with septic shock and secondary peritonitis.

## RESULTS

**Study population.** Twelve patients admitted to the ICU for septic shock and secondary peritonitis were included in the study. For 6 out of 12 (50%) patients, peritoneal cultures were positive for *C. albicans* ( $n=4$ ), *C. glabrata* ( $n=1$ ), *C. kefyr* ( $n=1$ ), and *C. lusitanae* ( $n=1$ ). The demographic, clinical, and biological data are shown in Table 1. One patient (8%) had died by day 28 postinclusion.

**Observed micafungin concentrations.** Figure 1 shows the observed micafungin concentrations in plasma and peritoneal fluid, while observed individual concentration-time profiles are shown in Fig. S1 in the supplemental material. In plasma, the observed mean maximal concentration ( $C_{max}$ ) (standard deviation [SD]) is 8.45 (3.04) mg/liter on the first day, versus 8.07 (3.31) mg/liter on the sampling day between days 3 and 5, and the observed mean total  $AUC_{0-24}$  (SD) is 91.73 (25.69) mg · h/liter on the first day, versus 102.64 (49.60) mg · h/liter on the sampling day between days 3 and 5 (Fig. 1A). In peritoneal fluid, the observed mean  $C_{max}$  (SD) is 1.79 (0.80) mg/liter on the first day, versus 2.36 (1.07) mg/liter on the sampling day between days 3 and 5, and the observed mean total  $AUC_{0-24}$  (SD) is 21.88 (5.56) mg · h/liter on the first day, versus 44.90 (16.26) mg · h/liter on the sampling day between days 3 and 5 (Fig. 1B). Observed  $C_{max}$  values were reached after the first 2 h in plasma and after the 8th hour in peritoneal fluid.

From patients with both peritoneal and plasma concentrations available, the observed  $AUC_{0-24}$  peritoneal fluid/plasma ratio indicated mean (SD) micafungin penetrations into the peritoneal fluid of 25% (5%) on the first day and 40% (8%) on the sampling day between days 3 and 5 (Fig. 1C). All observed micafungin concentrations in

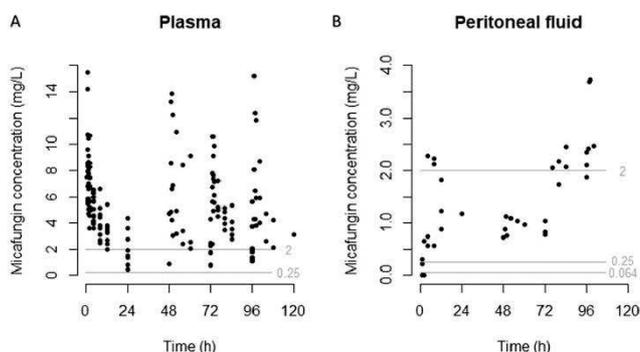
**TABLE 1** Data collected from intensive care unit patients<sup>a</sup>

Parameter	Value [no. or median (min–max)]
<b>Descriptive data</b>	
Sex (male/female patients)	7/5
Age (yrs)	71 (32–85)
Total body wt (kg)	64.8 (52–110)
Ht (cm)	171 (150–184)
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	22.3 (18.6–40.4)
Body surface area (m <sup>2</sup> )	1.8 (1.5–2.1)
Ideal body wt (kg)	64.7 (46.9–78)
Lean body wt (kg)	52.9 (38.6–68.1)
Fat-free mass (kg)	52.5 (34.2–67.1)
Adjusted body wt (kg)	68.2 (49.8–81.7)
<b>Patients with past medical history of:</b>	
Hypertension	3
COPD	3
Type 2 diabetes	2
Others	7
<b>Clinical data</b>	
SAPS II	40.5 (29–67)
SOFA score	
Day 1	5 (1–9)
Days 3–5	1 (0–11)
<b>Biological data</b>	
Albumin (g/liter)	
Day 1	25.4 (20.7–33.4)
Days 3–5	25.7 (23.7–31.2)
ASAT (IU/liter)	
Day 1	41 (13–126)
Days 3–5	51 (17–73)
ALAT (IU/liter)	
Day 1	26 (10–173)
Days 3–5	24 (10–100)
Lactate (mmol/liter)	
Day 1	1.9 (0.7–3.3)
Days 3–5	1.4 (1.1–2.8)
Serum creatinine (μmol/liter)	
Day 1	94.5 (54–194)
Days 3–5	80 (37–601)
crCL (ml/min)	
Day 1	70.3 (15.2–101.3)
Days 3–5	87.2 (20.9–136)

<sup>a</sup>ALAT, alanine transferase; ASAT, aspartate transaminase; COPD, chronic obstructive pulmonary disease; crCL, creatinine clearance using the Cockcroft-Gault equation; SAPS II, simplified acute physiology score II; SOFA score, sequential organ failure assessment score.

plasma and peritoneal fluid are higher than the CLSI breakpoints (19) considering 0.064 mg/liter for *C. glabrata* and 0.25 mg/liter for *C. albicans*, *C. tropicalis*, and *C. krusei*, against 90% of observations in plasma and only 40% in peritoneal fluid considering the CLSI breakpoint of 2 mg/liter for *C. parapsilosis* (Fig. 1A and B).

**PK model.** The time course of plasma and peritoneal fluid concentrations of micafungin (Fig. 1) was best described by a three-compartment linear PK model with first-order distribution and clearance (CL) and a proportional-error model (Fig. S2) compared to a two-compartment model (with a  $-2\text{-log-likelihood}$  [ $-2\text{LL}$ ] decrease of 15.3;  $P < 0.05$ ). Interoccasion variability (IOV) on PK parameters did not improve the model and therefore was not implemented. The only covariate retained in the final model was FFM normalized to the median population value (to the power of  $\beta$ ) on the total micafungin CL and volume of the central compartment ( $V_c$ ). The included covariate was statistically significant at  $>3.84$  ( $P < 0.05$  by a chi-square test), with a  $-2\text{LL}$



**FIG 1** Observed concentrations of micafungin over time. (A) Plasma ( $n = 171$  samples for 12 patients, with  $n = 90$  on day 1 and  $n = 81$  on days 3 to 5). (B) Peritoneal fluid ( $n = 42$  samples for 6 patients, with  $n = 20$  on day 1 and  $n = 22$  on days 3 to 5). Solid gray lines indicate CLSI breakpoints, such as 0.064 mg/liter (*C. glabrata*), 0.25 mg/liter (*C. albicans*, *C. tropicalis*, and *C. krusei*), and 2 mg/liter (*C. parapsilosis*).

decrease of 10.8 (Fig. S4). The final model was described as follows: micafungin CL = typical value of total CL  $\times$  (FFM/52.5)<sup>1.25</sup>, and micafungin  $V_c$  = typical value of  $V_c$   $\times$  (FFM/52.5)<sup>0.66</sup>.

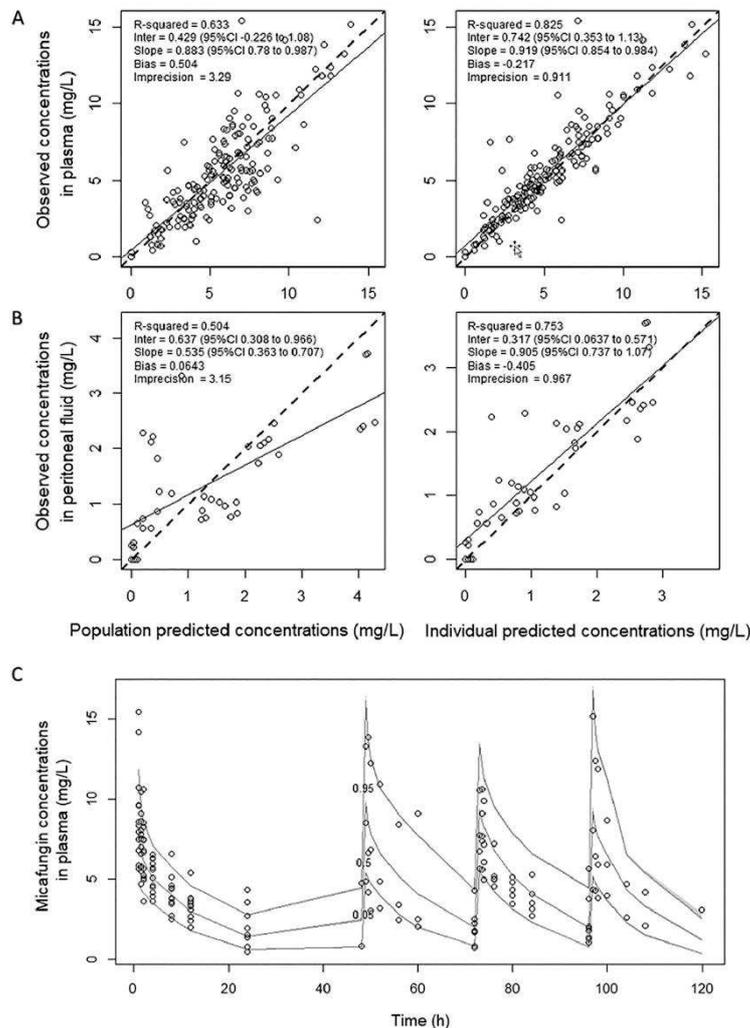
The PK parameter estimates are shown in Table 2, and the support point, covariance matrix, and correlation matrix are shown in Fig. S3. The goodness-of-fit plots for the final model are shown in Fig. 2A and B (plasma and peritoneal fluid data, respectively), and the visual predictive check (VPC) (plasma data) is shown in Fig. 2C. However, the small sample size did not allow us to perform a VPC for peritoneal data. Internal validation shows that 7% of the observed concentrations were outside the 90% prediction interval ( $P = 0.30$  by an exact binomial test), and the median concentration in plasma was closely estimated (4.90 mg/liter and 4.95 mg/liter for predicted and observed concentrations, respectively). Although a VPC for peritoneal data was not feasible, the median concentration in peritoneal fluid (90% confidence interval [CI]) was also closely estimated: 1.06 (0.55 to 3.30) mg/liter versus 1.09 (0.63 to 2.63) mg/liter for predicted and observed concentrations, respectively. All these criteria confirmed the acceptable performance of the model.

According to the model, the predicted mean  $C_{max}$  (SD) in plasma is 7.16 (2.90) mg/liter on the first day, versus 8.34 (3.58) mg/liter on the sampling day between days 3 and 5, and the predicted mean total  $AUC_{0-24}$  (SD) in plasma is 87.57 (21.66) mg  $\cdot$  h/liter on the first day, versus 117.96 (39.67) mg  $\cdot$  h/liter on the sampling day between days 3 and 5.

**TABLE 2** Population pharmacokinetic parameter estimates of the final model<sup>a</sup>

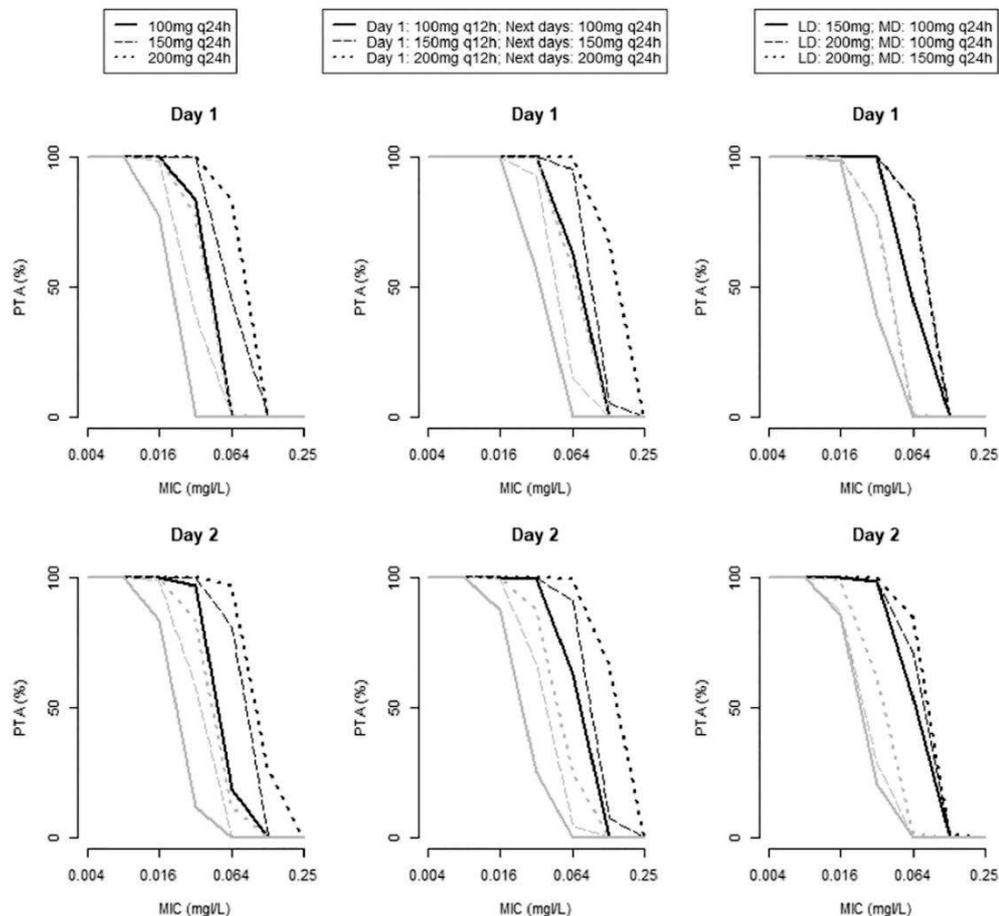
Parameter	Estimate				Bootstrap analysis	
	Mean	SD	CV	Var	WtMed (95% CI)	MAWD (95% CI)
CL (liters/h)	1.18	0.40	33.47	0.16	1.03 (0.80–1.81)	0.13 (0.00–0.44)
$V_c$ (liters)	12.85	4.78	37.16	22.81	11.45 (8.63–20.26)	1.49 (0.00–5.81)
$V_{pe}$ (liters)	4.82	1.53	31.62	2.32	5.11 (3.46–6.45)	0.74 (0.00–1.50)
$V_p$ (liters)	3.86	1.87	48.50	3.51	3.67 (2.00–6.65)	0.83 (0.00–2.12)
$Q_{pe}$ (liters/h)	0.04	0.01	25.54	0.00	0.04 (0.03–0.06)	0.00 (0.00–0.01)
$Q_p$ (liters/h)	5.89	2.61	44.33	6.82	7.63 (2.00–8.00)	0.31 (0.00–2.96)
$\beta$ .CL	1.25	0.59	46.95	0.35	1.51 (0.75–1.65)	0.25 (0.00–0.74)
$\beta$ . $V_c$	0.66	0.57	86.13	0.32	0.81 (0.00–0.89)	0.08 (0.00–0.63)

<sup>a</sup>CI, confidence interval; CL, total clearance; CV, coefficient of variation; MAWD, median absolute weighted deviation;  $Q_{pe}$ , intercompartment clearance between the central and peripheral compartments;  $Q_{per}$ , intercompartment clearance between the central and peritoneal compartments; SD, standard deviation; Var, variance;  $V_c$ , volume of distribution of the central compartment;  $V_{pe}$ , volume of distribution of the peripheral compartment;  $V_{per}$ , volume of distribution of the peritoneal compartment; WtMed, weighted median;  $\beta$ .CL, parameter factor of CL;  $\beta$ . $V_c$ , parameter factor of  $V_c$ .



**FIG 2** Internal validation: diagnostic plots for the final model. (A) Observed versus population and individual predicted micafungin concentrations in plasma. (B) Observed versus population and individual predicted micafungin concentrations in peritoneal fluid. (C) Visual predictive check (VPC) for plasma concentrations. For panels A and B, the dashed line is the identity line, the filled lines is the regression line, and circles are the calculated values. For panel C, solid lines are the 5th, 50th, and 95th percentiles of the prediction interval; the gray area indicates the confidence intervals around the 5th, 50th, and 95th percentiles; and circles are the observed concentrations.

**Dosing simulations and fractional target attainment in plasma.** Figure S5 shows the simulated PK profiles in plasma for the different tested micafungin dosing regimens. Steady-state concentrations are reached earlier using a reduced dosing interval (2nd dose, at 12 h) or with a loading dose (2nd dose, at 24 h) than with the standard daily dose (3rd dose, at 48 h). Probabilities of target attainment (PTAs) based on the targeted total  $AUC_{0-24}/MIC$  ratio of 3,000 are shown in Fig. 3, and fractional target attainment (FTA) values are displayed in Table 3. Optimal dosing regimens based on FFM values and targeted *Candida* species are illustrated in Table 4. For empirical treatment, a micafungin loading dose of 150 mg followed by a maintenance dose of 100 mg is sufficient for patients with an FFM of  $\leq 30$  kg, whereas a loading dose of 200 mg followed by a maintenance dose of 150 mg is sufficient for patients with an



**FIG 3** Probability of PK/PD target attainment (PTA) over the first 48 h of treatment for different dosing regimens and different fat-free masses (FFMs): 30 kg (black) and 70 kg (gray). The PTA was a total  $AUC_{0-24}$  (area under the curve from 0 to 24 h)/MIC ratio of  $>3,000$ . LD, loading dose; MD, maintenance dose. The MIC was 0.004 to 0.250 mg/liter. A micafungin dosing regimen is successful if the FTA is  $>90\%$ . EUCAST MIC distributions for *C. albicans* (susceptibility [S], 0.004 to 0.016 mg/liter), *C. glabrata* (S, 0.004 to 0.032 mg/liter), *C. tropicalis* (S, 0.004 to 0.064 mg/liter), *C. krusei* (S, 0.032 to 0.250 mg/liter), and *C. parapsilosis* (S, 0.250 to 2.000 mg/liter) were used.

FFM of between 30 kg and 50 kg, or 200 mg with a reduced dosing interval (every 12 h [q12h]) on the first day is required for patients with an FFM of  $>50$  kg.

## DISCUSSION

This study describes micafungin PK in plasma and peritoneal fluid in ICU patients with proven or suspected septic shock and secondary peritonitis. High PK variability and moderate penetration (25 to 40%) of micafungin into the peritoneal cavity are observed. Also, the population PK analysis demonstrates that the standard 100-mg dosing regimen of micafungin is sufficient to achieve the PK/PD target on the second day of treatment only for the lowest FFM values (FFM of  $\leq 60$  kg for *C. albicans*, FFM of  $\leq 50$  kg for *C. glabrata*, and FFM of  $\leq 30$  kg for *C. tropicalis*). Still, a dose escalation with a loading dose of 150 mg or higher depending on the FFM of patients and the *Candida* species is suggested to be effective from the first day of therapy. Micafungin dose optimization can be achieved either using a loading dose or by reducing the dosing interval with the same dose.

Altered PK has been commonly reported in ICU patients for many drugs, due to

**TABLE 3** Fractional target attainment for different dosing regimens for each *Candida* species<sup>a</sup>

Dosing regimen(s) and FFM (kg)	Target attainment									
	<i>C. albicans</i>		<i>C. glabrata</i>		<i>C. tropicalis</i>		<i>C. krusei</i>		<i>C. parapsilosis</i>	
	Day 1	Day 2	Day 1	Day 2	Day 1	Day 2	Day 1	Day 2	Day 1	Day 2
<b>100 mg q24h</b>										
30	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-
40	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
50	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-
60	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
70	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>150 mg q24h</b>										
30	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
40	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-
50	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
60	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
70	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-
<b>200 mg q24h</b>										
30	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
40	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
50	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
60	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
70	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
<b>100 mg q12h on day 1 and then 100 mg q24h on day n + 1</b>										
30	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
40	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
50	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
60	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
70	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
<b>150 mg q12h on day 1 and then 150 mg q24h on day n + 1</b>										
30	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
40	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
50	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
60	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
70	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
<b>200 mg q12h on day 1 and then 200 mg q24h on day n + 1</b>										
30	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
40	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
50	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
60	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
70	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
<b>LD of 150 mg and MD of 100 mg q24h</b>										
30	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
40	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
50	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
60	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
70	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(Continued on next page)

TABLE 3 (Continued)

Dosing regimen(s) and FFM (kg)	Target attainment										
	<i>C. albicans</i>		<i>C. glabrata</i>		<i>C. tropicalis</i>		<i>C. krusei</i>		<i>C. parapsilosis</i>		
	Day 1	Day 2	Day 1	Day 2	Day 1	Day 2	Day 1	Day 2	Day 1	Day 2	
LD of 200 mg and MD of 100 mg q24h											
30	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	
40	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	
50	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	
60	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	
70	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	
LD of 200 mg and MD of 150 mg q24h											
30	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	
40	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	
50	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	
60	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	
70	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	

<sup>a</sup>Fractional target attainment (FTA) is the sum of the probability of target attainment (PTA) values determined at each MIC and the fraction of isolates found at that MIC. The target was a total AUC<sub>0-24</sub>/MIC ratio of >3,000. A micafungin dosing regimen is successful if the FTA is >90%. EUCAST MIC distributions for *C. albicans* (susceptibility [S], 0.004 to 0.016 mg/liter), *C. glabrata* (S, 0.004 to 0.032 mg/liter), *C. tropicalis* (S, 0.004 to 0.064 mg/liter), *C. krusei* (S, 0.032 to 0.250 mg/liter), and *C. parapsilosis* (S, 0.250 to 2.000 mg/liter) were used. LD, loading dose; MD, maintenance dose. Shading indicates FTA values of >90%.

pathophysiological changes (2, 16). Similarly, in our study, higher clearance (CL) (1.18 liters/h) and volume of distribution ( $V_d$ ) (12.85 liters) values have been observed with lower drug exposure than in healthy subjects of 70 kg (CL, 0.73 liters/h;  $V_d$ , 14 liters) (8). The micafungin clearance in our cohort was similar to the clearance reported for cohorts of ICU patients on continuous venovenous hemofiltration (0.88 liters/h) or mechanical ventilation (1.34 liters/h) or with an intra-abdominal infection (1.09 and 1.27 liters/h) (18, 20–22).

Conventional dosing regimens used in the present study were associated with moderate (25 to 40%) micafungin penetration into the peritoneum. The magnitude of drug diffusion into the peritoneum mainly depends on drug plasma protein binding and lipophilicity. These physicochemical properties determine the rates and extents of tissue penetration and bioavailability within a tissue, organ, or fluid. Given its high protein binding, micafungin is likely to poorly diffuse into tissues. However, in the context of inflammation and sepsis, increased permeability may be observed. Some amount of drug bound to proteins that usually do not penetrate tissue could diffuse through the peritoneal membrane in patients with peritonitis, adding to the higher penetration ratio in this population. Otherwise, these results are consistent with micafungin peritoneal penetration reported in a previous study by Grau et al. (18). The micafungin peritoneal penetration reported in the present study is also similar to the peritoneal penetration of anidulafungin but slightly higher than that of caspofungin (23). However, PK/PD target (AUC<sub>0-24</sub>/MIC ratio) values have been defined in plasma (13), whereas to our knowledge, no PK/PD target for peritoneal fluid has been determined. Thus, we considered micafungin peritoneal concentrations above the MICs of the most common *Candida* species as the minimal targeted tissue concentrations at the site of infection. In the present study, all observed concentrations were above the CLSI breakpoints (19) of 0.064 mg/liter for *C. glabrata* and 0.25 mg/liter for *C. albicans*, *C. tropicalis*, and *C. krusei* in plasma and peritoneal fluid. However, fewer than half of the concentrations were higher than the CLSI breakpoint of 2 mg/liter for *C. parapsilosis* in peritoneal fluid. The lack of well-defined PK/PD targets together with the moderate penetration of micafungin into peritoneal fluid may contribute to inadequate drug exposure at the site of infection in addition to promoting the emergence of resistance of *Candida* species (2, 17, 24–26). The next-generation echinocandin agent rezafungin (CD101) should

**TABLE 4** Optimal dosing regimens for different fat-free masses and for each *Candida* species<sup>a</sup>

FFM (kg)	30	40	50	60	70
<i>C. albicans</i> [0.004 – 0.016 mg/L]	LD <sub>150</sub> -MD <sub>100</sub> : LD: 150 mg; MD: 100 mg q24h or DI <sub>100</sub> : DI: 100mg q12h; DI <sub>n+1</sub> : 100mg q24h				LD <sub>200</sub> -MD <sub>150</sub> or DI <sub>150</sub>
<i>C. glabrata</i> [0.004 – 0.032 mg/L]	LD <sub>150</sub> -MD <sub>100</sub> or DI <sub>100</sub>			LD <sub>200</sub> -MD <sub>150</sub> or DI <sub>150</sub>	
<i>C. tropicalis</i> [0.004 – 0.064 mg/L]	LD <sub>150</sub> -MD <sub>100</sub> or DI <sub>100</sub>	LD <sub>200</sub> -MD <sub>150</sub> or DI <sub>150</sub>		DI <sub>200</sub>	
<i>C. krusei</i> [0.032 – 0.250 mg/L]					
<i>C. parapsilosis</i> [0.250 – 2.000 mg/L]					
<b>Empirical treatment</b>	LD <sub>150</sub> -MD <sub>100</sub>	LD <sub>200</sub> -MD <sub>150</sub>		DI <sub>200</sub>	

<sup>a</sup>FFM, fat-free mass; *C.spp.*, *Candida* species; DI<sub>x</sub>, dosing interval (day 1, x milligrams q12h; day n + 1, x milligrams q24h); LD<sub>x</sub>-MD<sub>x</sub>, loading dose (×1 mg) and maintenance dose q24h (×2 mg); S, susceptibility.

be investigated in intra-abdominal fungal infections as results from animal models show good penetration of this echinocandin in tissues, including abdominal abscesses, versus micafungin (27).

Previous studies found total body weight as a determinant covariate to explain interindividual micafungin variability (18, 20, 22, 28). Conversely, in the present study, FFM better related size to PK than total body weight. As FFM depends on sex, body mass, and height, it could represent an interesting alternative parameter to adjust drug dosing in critically ill populations (29).

According to our simulation analyses, the standard dose of 100 mg daily reached the FTA of >90% on the second day of treatment for *C. albicans* (FFM, 60 kg), *C. glabrata* (FFM, 50 kg), and *C. tropicalis* (FFM, 30 kg). However, none of the dosing regimens tested reached the FTA of >90% for *C. krusei* and *C. parapsilosis* (MIC distributions of 0.032 to 0.250 mg/liter and 0.250 to 2.000 mg/liter, respectively), as shown in previous studies (30–32). Also, the suggested dosing regimens of micafungin should not reach an FTA of >90% for rare species such as *C. kefyr* and *C. lusitanae* considering their equal or high MIC compared to *C. krusei* (33). It is of note that despite a specific lower AUC/MIC ratio target for *C. parapsilosis*, no species-related differences in treatment outcomes and high success rates, including for intra-abdominal infections caused by *C. parapsilosis*, have been reported with the 100-mg standard dose (34). Still, careful attention is required for *C. krusei* and *C. tropicalis* in regard to their higher mortality rates (11, 12). Hence, a dose escalation is needed to reach PK/PD targets in plasma and

the peritoneal cavity, where higher concentrations would be achieved. Dose adjustments have been established in previous studies (8, 20, 28, 31, 35, 36). The findings of the present study bring new insights into micafungin dose optimization for suspected intra-abdominal fungal infections to ensure adequate concentrations in the abdominal cavity and to prevent the emergence of resistance due to an inadequate initial antifungal regimen (2, 17, 24–26).

There are several limitations to this study. First, the small cohort of patients may have prevented us from finding correlations between covariates (serum albumin level and sequential organ failure assessment [SOFA] score) and PK parameters and adequately investigating interoccasion variability. Hence, further larger multicenter studies focusing on peritoneal concentrations of micafungin in ICU patients are required to adequately investigate correlations between covariates and PK parameters on one hand and peritoneal concentrations and patient outcomes on the other hand. Second, peritoneal samples are more challenging to collect, leading to a smaller sample size than for plasma samples. Nevertheless, population PK analysis enables sparse sampling, and the model adequately handled peritoneal data. Third, given the high protein binding of micafungin, measuring unbound concentrations of micafungin may be informative. However, even when using very sensitive ultrahigh-pressure liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UHPLC-MS/MS), such assays remain highly challenging and were not available for this study. Fourth, as no predefined PK/PD target in the peritoneum has been defined, we chose an arbitrary target of peritoneal concentrations above the CLSI breakpoints of different *Candida* species. Defining infection site-specific PK/PD targets for echinocandins is urgently needed.

In conclusion, there is moderate penetration of micafungin into the peritoneal cavity (25 to 40%). Therapeutic exposure in both plasma and peritoneal fluid is needed to ensure favorable outcomes and prevent the emergence of resistance. Dose escalation (by either increasing the loading dose or reducing the dosing interval) depending on the FFM of patients and the *Candida* species is suggested by dosing simulations in septic patients with intra-abdominal infections.

## MATERIALS AND METHODS

**Setting.** This was a prospective, single-center PK trial (ClinicalTrials.gov identifier NCT02805049). According to French law, ethics approval was obtained from the local ethics committee of Nîmes (Comité de Protection des Personnes Sud-Méditerranée III 2012.02.05) (37). Written informed consent was obtained from either the patient or their designated substitute decision-maker.

**Study population.** Patient eligibility criteria for the study were (i) ICU admission for septic shock with secondary peritonitis and (ii) clinical indication for micafungin therapy. Exclusion criteria were (i) pregnancy, (b) a history of allergy to or contraindication for micafungin, or (iii) known seropositivity for human immunodeficiency viruses (HIVs) or hepatitis C virus or known history of having contracted tuberculosis (for limiting laboratory assay contamination risks).

**Study protocol.** A dosing regimen of 100 mg micafungin once daily was administered intravenously over 1 h as part of empirical antimicrobial therapy for septic shock with proven or suspected intra-abdominal fungal infection. Both blood samples and peritoneal fluid samples collected from surgical drains were drawn on day 1 and between day 3 and day 5 of therapy. Before each peritoneal sample was obtained, the reservoir of the drain was emptied, and fresh peritoneal fluid was drained into it. These samples were used to determine total plasma and peritoneal micafungin concentrations at baseline (predose) and 1, 1.5, 2, 4, 6, 12, and 24 h after the start of micafungin infusion.

**Sample handling and storage.** Blood samples ( $n = 171$  for 12 patients, with  $n = 90$  on day 1 and  $n = 81$  on days 3 to 5) and peritoneal fluid samples ( $n = 42$  for 6 patients, with  $n = 20$  on day 1 and  $n = 22$  on days 3 to 5) were immediately placed on ice, centrifuged at 3,000 rpm for 10 min, and then stored at  $-80^{\circ}\text{C}$ . Samples were transported (with a temperature log on dry ice) by a commercial courier company to The University of Queensland Centre of Clinical Research, The University of Queensland, Brisbane, Queensland, Australia, for analysis.

**Drug assay.** Total micafungin concentrations in plasma and peritoneal fluid were measured by a validated ultrahigh-pressure liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UHPLC-MS/MS) method, from 0.1 to 20 mg/liter, on a Shimadzu Nexera 2 UHPLC device coupled to a Shimadzu 8050 triple-quadrupole mass spectrometer (Shimadzu, Kyoto, Japan). The stationary phase was a  $\text{C}_8$  Kinetex 50- by 2.1-mm, 1.7- $\mu\text{m}$  column (Phenomenex, Torrance, CA, USA) operated at room temperature. Mobile phase A was 0.1% (vol/vol) formic acid in 10 mM ammonium formate, and mobile phase B was 100% acetonitrile with 0.1% (vol/vol) formic acid. The mobile phase was delivered with a gradient from 5% to 60% mobile phase B at a flow rate of 0.4 ml/min for a 3.7-min run time and produced a back pressure of approximately 6,000 lb/in<sup>2</sup>. Calibrators were prepared by diluting micafungin (Toronto Research

Chemicals, Toronto, Canada) in plasma at concentrations of 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 5, 10, and 20  $\mu\text{g/ml}$ . Quality controls (QCs) were prepared by diluting a separate weighing of micafungin in a separate batch of plasma at concentrations of 0.3, 3, and 15  $\mu\text{g/ml}$ . Calibrators and QCs were stored in individual tubes at  $-80^\circ\text{C}$  and discarded after use. Calibrators and QCs in duplicate were included in every batch, and acceptance criteria were applied (38). The overall intra- and interday precisions and accuracies were within 15%. The assay was linear over the concentration range of 0.1 to 20 mg/liter, with 0.1 mg/liter being the lower limit of quantification (LLOQ) of the method. These concentrations, obtained at the beginning of therapy, were considered equal to 0 mg/liter.

**Data collection.** For all patients included, the following demographic and clinical data were recorded: age, sex, total body weight, height, simplified acute physiology score II (SAPS II) (39) at ICU admission, modified sequential organ failure assessment (SOFA) score at ICU admission and on the sampling day, past medical history, biological data (serum albumin concentration, serum lactate concentration, serum alanine and aspartate aminotransferase [ALAT and ASAT, respectively] concentrations, serum creatinine concentration, and timed urinary creatinine clearance [crCL] calculation), and infection-related data.

**PK analyses.** The concentration-time data were analyzed using a nonparametric adaptive grid (NPAG) algorithm within the freely available Pmetrics software package for R (40, 41). PK models with two and three compartments were tested, including additive and proportional-error models. Interoccasion variability (IOV) was tested on  $\text{CL}$ ,  $V_d$ ,  $V_{\text{per}}$  (volume of distribution of the peritoneal compartment), and  $V_p$  (volume of distribution of the peripheral compartment). The total  $\text{AUC}_{0-24}$  was determined from the posterior pharmacokinetic parameter estimates using the noncompartmental function in Pmetrics.

**Sample size.** Based on the findings in similar population PK studies (18), a sample population size of  $\geq 10$  was found to be necessary to provide robust and realistic PK prediction (42) with bias and precision of PK predictions below 25% (predictions were considered acceptable if bias/precision for the mean and variability of PK parameters were  $< 25\%$ ). A sample size of 12 patients was considered appropriate to take into account sample dropout.

**Population PK covariates.** Age, total body weight, SOFA score on sampling days, serum albumin concentration, serum lactate concentration, serum ALAT and ASAT concentrations, and size descriptors (body mass index, body surface area, ideal body weight, lean body weight, fat-free mass [FFM], and adjusted body weight) (43) were evaluated as clinically relevant and physiologically plausible covariates. The selection of these covariates was performed using a stepwise multivariate linear regression analysis, with forward inclusion and backward elimination, to quantify the correlation between covariates and PK parameters.

**Population PK model diagnostics.** Model selection was initially based on the objective function value computed as the  $-2\log$  likelihood ( $-2\text{LL}$ ) or on the Akaike information criterion (AIC), where a decrease in the  $-2\text{LL}$  and/or AIC of  $\geq 3.84$  was considered significant ( $P < 0.05$  by a chi-squared test [1 degree of freedom]). In addition, the goodness of fit was assessed by linear regression, with observed-predicted plots and coefficients of variation of PK parameters. Evaluation of the predictive performance was based on the mean prediction error (bias) and the mean bias-squared prediction error (imprecision) of the population and individual prediction models. Finally, internal validation of the model was performed using bootstrap resampling methods ( $n = 1,000$ ) and visual predictive checks (VPCs) in order to obtain predicted median concentrations and 90% prediction intervals.

**Monte Carlo simulation of plasma concentrations and probability of target attainment.** Micafungin dosing regimens were assessed using the probability of PK/PD target attainment (PTA) for the first 48 h of therapy (6, 12). According to the preclinical model, the following threshold has been identified as the PK/PD target for efficacy: a non-species-related target of a total  $\text{AUC}_{0-24}/\text{MIC}$  ratio of  $> 3,000$  for all *Candida* species (1-log kill/24 h) (13). Monte Carlo simulations of plasma micafungin concentrations ( $n = 1,000$ ) were performed using the final PK model according to several FFM values (30, 40, 50, 60, and 70 kg) and for nine dosing regimens: 100/150/200 mg q24h, 100/150/200 mg q12h on day 1 followed by 100/150/200 mg q24h, a loading dose of 150/200 mg followed by a maintenance dose of 100 mg, or a loading dose of 200 mg followed by a maintenance dose of 150 mg q24h.

**Fractional target attainment.** Fractional target attainment (FTA) was performed by comparing the PTA against the EUCAST MIC distributions for *C. albicans* (susceptibility [S], 0.004 to 0.016 mg/liter), *C. glabrata* (S, 0.004 to 0.032 mg/liter), *C. tropicalis* (S, 0.004 to 0.064 mg/liter), *C. krusei* (S, 0.032 to 0.250 mg/liter), and *C. parapsilosis* (S, 0.250 to 2.000 mg/liter) (<https://mic.eucast.org/>). A dosing regimen was considered optimal if the fractional target attainment was  $\geq 90\%$ .

## SUPPLEMENTAL MATERIAL

Supplemental material is available online only.

**SUPPLEMENTAL FILE 1**, PDF file, 0.7 MB.

## ACKNOWLEDGMENTS

We have received academic funding from the Nîmes University Hospital (LOCAL/2016/CR-01) to conduct this work. Jeffrey Lipman received honoraria from MSD.

## REFERENCES

- Vincent J-L, Sakr Y, Sprung CL, Ranieri VM, Reinhart K, Gerlach H, Moreno R, Carlet J, Le Gall J-R, Payen D, Sepsis Occurrence in Acutely Ill Patients Investigators. 2006. Sepsis in European intensive care units: results of the SOAP study. *Crit Care Med* 34:344–353. <https://doi.org/10.1097/01.ccm.0000194725.48928.3a>.
- Sinnollareddy M, Peake SL, Roberts MS, Lipman J, Roberts JA. 2012. Using pharmacokinetics and pharmacodynamics to optimise dosing of antifungal agents in critically ill patients: a systematic review. *Int J Antimicrob Agents* 39:1–10. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2011.07.013>.
- Vincent J-L, Rello J, Marshall J, Silva E, Anzueto A, Martin CD, Moreno R, Lipman J, Gomersall C, Sakr Y, Reinhart K, EPIC II Group of Investigators. 2009. International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. *JAMA* 302:2323–2329. <https://doi.org/10.1001/jama.2009.1754>.
- Bassetti M, Righi E, Ansaldi F, Merelli M, Trucchi C, Cecilia T, De Pascale G, Diaz-Martin A, Luzzati R, Rosin C, Lagunes L, Treccarichi EM, Sanguinetti M, Posteraro B, Garnacho-Montero J, Sartor A, Rello J, Rocca GD, Antonelli M, Tumbarello M. 2014. A multicenter study of septic shock due to candidemia: outcomes and predictors of mortality. *Intensive Care Med* 40:839–845. <https://doi.org/10.1007/s00134-014-3310-z>.
- Paiva J-A, Pereira JM, Tabah A, Mikstacki A, de Carvalho FB, Koulenti D, Ruckly S, Çakar N, Missel B, Dimopoulos G, Antonelli M, Rello J, Ma X, Tamowicz B, Timsit J-F. 2016. Characteristics and risk factors for 28-day mortality of hospital acquired fungemias in ICUs: data from the EURO-BACT study. *Crit Care* 20:53. <https://doi.org/10.1186/s13054-016-1229-1>.
- Kollef M, Micek S, Hampton N, Doherty JA, Kumar A. 2012. Septic shock attributed to *Candida* infection: importance of empiric therapy and source control. *Clin Infect Dis* 54:1739–1746. <https://doi.org/10.1093/cid/cis305>.
- Blot SI, Vandewoude KH, De Waele JJ. 2007. *Candida* peritonitis. *Curr Opin Crit Care* 13:195–199. <https://doi.org/10.1097/MCC.0b013e328028fd92>.
- Wasmann RE, Mulwijk EW, Burger DM, Verweij PE, Knibbe CA, Brüggemann RJ. 2018. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of micafungin. *Clin Pharmacokinet* 57:267–286. <https://doi.org/10.1007/s40262-017-0578-5>.
- Solomkin JS, Mazuski JE, Bradley JS, Rodvold KA, Goldstein EJC, Baron EJ, O'Neill PJ, Chow AW, Dellinger EP, Eachempati SR, Gorbach S, Hifiker M, May AK, Nathens AB, Sawyer RG, Bartlett JG. 2010. Diagnosis and management of complicated intra-abdominal infection in adults and children: guidelines by the Surgical Infection Society and the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 50:133–164. <https://doi.org/10.1086/649554>.
- Montravers P, Mira J-P, Gangneux J-P, Leroy O, Lortholary O, AmarCand Study Group. 2011. A multicentre study of antifungal strategies and outcome of *Candida* spp. peritonitis in intensive-care units. *Clin Microbiol Infect* 17:1061–1067. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2010.03360.x>.
- Horn DL, Neofytos D, Anaissie EJ, Fishman JA, Steinbach WJ, Olyaei AJ, Marr KA, Pfaller MA, Chang C-H, Webster KM. 2009. Epidemiology and outcomes of candidemia in 2019 patients: data from the Prospective Antifungal Therapy Alliance Registry. *Clin Infect Dis* 48:1695–1703. <https://doi.org/10.1086/599039>.
- Bassetti M, Merelli M, Ansaldi F, de Florentiis D, Sartor A, Scarparo C, Callegari A, Righi E. 2015. Clinical and therapeutic aspects of candidemia: a five year single centre study. *PLoS One* 10:e0127534. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0127534>.
- Andes D, Diekema DJ, Pfaller MA, Bohrmuller J, Marchillo K, Lepak A. 2010. In vivo comparison of the pharmacodynamic targets for echinocandin drugs against *Candida* species. *Antimicrob Agents Chemother* 54:2497–2506. <https://doi.org/10.1128/AAC.01584-09>.
- Roberts JA, Lipman J. 2009. Pharmacokinetic issues for antibiotics in the critically ill patient. *Crit Care Med* 37:840–851. <https://doi.org/10.1097/CCM.0b013e3181961bff>.
- Sinnollareddy MG, Roberts JA, Lipman J, Akova M, Bassetti M, De Waele JJ, Kaukonen K-M, Koulenti D, Martin C, Montravers P, Rello J, Rhodes A, Starr T, Wallis SC, Dimopoulos G, on behalf of the DALI Study Authors. 2015. Pharmacokinetic variability and exposures of fluconazole, anidulafungin, and caspofungin in intensive care unit patients: data from multinational Defining Antibiotic Levels in Intensive Care Unit (DALI) patients study. *Crit Care* 19:33. <https://doi.org/10.1186/s13054-015-0758-3>.
- Jamal J-A, Roger C, Roberts JA. 2018. Understanding the impact of pathophysiological alterations during critical illness on drug pharmacokinetics. *Anaesth Crit Care Pain Med* 37:515–517. <https://doi.org/10.1016/j.accpm.2018.10.006>.
- Shields RK, Nguyen MH, Press EG, Clancy CJ. 2014. Abdominal candidiasis is a hidden reservoir of echinocandin resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 58:7601–7605. <https://doi.org/10.1128/AAC.04134-14>.
- Grau S, Luque S, Campillo N, Samsó E, Rodríguez U, García-Bernedo CA, Salas E, Sharma R, Hope WW, Roberts JA. 2015. Plasma and peritoneal fluid population pharmacokinetics of micafungin in post-surgical patients with severe peritonitis. *J Antimicrob Chemother* 70:2854–2861. <https://doi.org/10.1093/jac/dkv173>.
- Salsé M, Gangneux J-P, Cassaing S, Delhaes L, Fekkar A, Dupont D, Botterel F, Costa D, Bourgeois N, Bouteille B, Houzé S, Dannaoui E, Guegan H, Charpentier E, Persat F, Favennec L, Lachaud L, Sasso M. 2019. Multicentre study to determine the Etest epidemiological cut-off values of antifungal drugs in *Candida* spp. and *Aspergillus fumigatus* species complex. *Clin Microbiol Infect* 25:1546–1552. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2019.04.027>.
- Maseda E, Grau S, Villagran M-J, Hernandez-Gancedo C, Lopez-Tofiño A, Roberts JA, Aguilar L, Luque S, Sevillano D, Gimenez M-J, Gilsanz F. 2014. Micafungin pharmacokinetic/pharmacodynamic adequacy for the treatment of invasive candidiasis in critically ill patients on continuous venovenous haemofiltration. *J Antimicrob Chemother* 69:1624–1632. <https://doi.org/10.1093/jac/dku013>.
- García-de-Lorenzo A, Luque S, Grau S, Agrifoglio A, Cachafeiro L, Herrero E, Asensio MJ, Sánchez SM, Roberts JA. 2016. Comparative population plasma and tissue pharmacokinetics of micafungin in critically ill patients with severe burn injuries and patients with complicated intra-abdominal infection. *Antimicrob Agents Chemother* 60:5914–5921. <https://doi.org/10.1128/AAC.00727-16>.
- Jullien V, Azoulay E, Schwebel C, Le Saux T, Charles PE, Cornet M, Souweine B, Klouche K, Jaber S, Trouillet J-L, Bruneel F, Cour M, Cousson J, Meziani F, Gruson D, Paris A, Darmon M, Garrouste-Orgeas M, Navellou J-C, Focquier A, Allaouchiche B, Das V, Gangneux J-P, Ruckly S, Wolff M, Timsit J-F, EMPIRICUS Trial Study Group. 2017. Population pharmacokinetics of micafungin in ICU patients with sepsis and mechanical ventilation. *J Antimicrob Chemother* 72:181–189. <https://doi.org/10.1093/jac/dkw352>.
- Gioia F, Gomez-Lopez A, Alvarez ME, Gomez-García de la Pedrosa E, Martín-Davila P, Cuenca-Estrella M, Moreno S, Fortun J. 2020. Pharmacokinetics of echinocandins in suspected *Candida* peritonitis: a potential risk for resistance. *Int J Infect Dis* 101:24–28. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.09.019>.
- Bordallo-Cardona MÁ, Escribano P, Marcos-Zambrano LJ, Díaz-García J, de la Pedrosa EG, Cantón R, Bouza E, Guinea J. 2018. Low and constant micafungin concentrations may be sufficient to lead to resistance mutations in FKS2 gene of *Candida glabrata*. *Med Mycol* 56:903–906. <https://doi.org/10.1093/mmy/myx124>.
- Sasso M, Roger C, Lachaud L. 2017. Rapid emergence of FKS mutations in *Candida glabrata* isolates in a peritoneal candidiasis. *Med Mycol Case Rep* 16:28–30. <https://doi.org/10.1016/j.mmc.2017.04.004>.
- Tóth Z, Kardos T, Kovács R, Kardos G, Nagy F, Prépost E, Barta Z, Takacs I, Majoros L. 2018. Comparison of killing activity of micafungin against six *Candida* species isolated from peritoneal and pleural cavities in RPMI-1640, 10 and 30% serum. *Mycopathologia* 183:905–912. <https://doi.org/10.1007/s11046-018-0302-5>.
- Zhao Y, Prideaux B, Nagasaki Y, Lee MH, Chen P-Y, Blanc L, Ho H, Clancy CJ, Nguyen MH, Dartois V, Perlin DS. 2017. Unraveling drug penetration of echinocandin antifungals at the site of infection in an intra-abdominal abscess model. *Antimicrob Agents Chemother* 61:e01009-17. <https://doi.org/10.1128/AAC.01009-17>.
- Maseda E, Grau S, Luque S, Castillo-Mafla M-P, Suárez-de-la-Rica A, Montero-Feijoo A, Salgado P, Gimenez M-J, García-Bernedo CA, Gilsanz F, Roberts JA. 2018. Population pharmacokinetics/pharmacodynamics of micafungin against *Candida* species in obese, critically ill, and morbidly obese critically ill patients. *Crit Care* 22:94. <https://doi.org/10.1186/s13054-018-2019-8>.
- Anderson BJ, Holford NHG. 2008. Mechanism-based concepts of size and maturity in pharmacokinetics. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 48:303–332. <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.48.113006.094708>.
- Martial LC, ter Heine R, Schouten JA, Hunfeld NG, van Leeuwen HJ, Verweij PE, de Lange DW, Pickkers P, Brüggemann RJ. 2017. Population pharmacokinetic model and pharmacokinetic target attainment of micafungin in intensive care unit patients. *Clin Pharmacokinet* 56:1197–1206. <https://doi.org/10.1007/s40262-017-0509-5>.

31. Vossen MG, Knäfl D, Haidinger M, Lemmerer R, Unger M, Pferschy S, Lamm W, Maier-Salamon A, Jäger W, Thalhammer F. 2017. Micafungin plasma levels are not affected by continuous renal replacement therapy: experience in critically ill patients. *Antimicrob Agents Chemother* 61:e02425-16. <https://doi.org/10.1128/AAC.02425-16>.
32. Boonstra JM, van der Elst KC, Veringa A, Jongedijk EM, Brüggemann RJ, Koster RA, Kampinga GA, Kosterink JG, van der Werf TS, Zijlstra JG, Touw DJ, Alffenaar JWC. 2017. Pharmacokinetic properties of micafungin in critically ill patients diagnosed with invasive candidiasis. *Antimicrob Agents Chemother* 61:e01398-17. <https://doi.org/10.1128/AAC.01398-17>.
33. Pfaller MA, Diekema DJ, Turnidge JD, Castanheira M, Jones RN. 2019. Twenty years of the SENTRY Antifungal Surveillance Program: results for *Candida* species from 1997-2016. *Open Forum Infect Dis* 6:S79-S94. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofy358>.
34. Andes D, Ambrose PG, Hammel JP, Van Wart SA, Iyer V, Reynolds DK, Buell DN, Kovanda LL, Bhavnani SM. 2011. Use of pharmacokinetic-pharmacodynamic analyses to optimize therapy with the systemic antifungal micafungin for invasive candidiasis or candidemia. *Antimicrob Agents Chemother* 55:2113-2121. <https://doi.org/10.1128/AAC.01430-10>.
35. Agrifoglio A, Cachafeiro L, Herrero E, Sánchez M, García de Lorenzo A. 2018. Are we near to the end of the standard dose of micafungin? *Crit Care* 22:149. <https://doi.org/10.1186/s13054-018-2068-z>.
36. Roger C, Sasso M, Lefrant JY, Muller L. 2018. Antifungal dosing considerations in patients undergoing continuous renal replacement therapy. *Curr Fungal Infect Rep* 12:1-11. <https://doi.org/10.1007/s12281-018-0305-1>.
37. Toulouse E, Masseguin C, Lafont B, McGurk G, Harbann A, Roberts JA, Granier S, Dupeyron A, Bazin JE. 2018. French legal approach to clinical research. *Anaesth Crit Care Pain Med* 37:607-614. <https://doi.org/10.1016/j.accpm.2018.10.013>.
38. Food and Drug Administration. 2018. Guidance for industry: bioanalytical method validation. US Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research, Center for Veterinary Medicine, Rockville, MD.
39. Le Gall JR, Lemeshow S, Saulnier F. 1993. A new simplified acute physiology score (SAPS II) based on a European/North American multicenter study. *JAMA* 270:2957-2963. <https://doi.org/10.1001/jama.270.24.2957>.
40. Neely MN, van Guilder MG, Yamada WM, Schumitzky A, Jelliffe RW. 2012. Accurate detection of outliers and subpopulations with Pmetrics, a non-parametric and parametric pharmacometric modeling and simulation package for R. *Ther Drug Monit* 34:467-476. <https://doi.org/10.1097/FTD.0b013e31825c4ba6>.
41. Tatarinova T, Neely M, Bartroff J, van Guilder M, Yamada W, Bayard D, Jelliffe R, Leary R, Chubatiuk A, Schumitzky A. 2013. Two general methods for population pharmacokinetic modeling: non-parametric adaptive grid and non-parametric Bayesian. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* 40:189-199. <https://doi.org/10.1007/s10928-013-9302-8>.
42. Tam VH, Kabbara S, Yeh RF, Leary RH. 2006. Impact of sample size on the performance of multiple-model pharmacokinetic simulations. *Antimicrob Agents Chemother* 50:3950-3952. <https://doi.org/10.1128/AAC.00337-06>.
43. Holford NHG, Anderson BJ. 2017. Allometric size: the scientific theory and extension to normal fat mass. *Eur J Pharm Sci* 109:S59-S64. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2017.05.056>.

## **9.2 Article 3 : Analyse PK de population de la caspofungine dans le plasma et le liquide péritonéal chez des patients atteints de sepsis secondaire à une péritonite**

### **9.2.1 Résumé**

Cette étude vise à décrire la PK de la caspofungine dans le plasma et le fluide péritonéal chez des patients septiques avec une infection intra-abdominale recevant le schéma posologique standard de la caspofungine. Cette étude est complémentaire à l'étude de Gioia et al. [175] basée sur une analyse non compartimentale (modèle indépendant), qui a déterminé une pénétration de la caspofungine de l'ordre de 13 % dans la cavité péritonéale.

Un total de 11 profils PK a permis de construire un modèle de PKpop sur le logiciel Pmetrics. La PK de la caspofungine a été le mieux décrit dans le plasma et dans le fluide péritonéal en utilisant un modèle à trois compartiments. Ce dernier inclut la FFM comme covariable sur la clairance totale et le volume de distribution central, dont les paramètres moyens estimés (SD) sont 0,78 (0,17) L/h pour  $CL_t$  et 9,36 (2,61) L pour  $V_c$ . Au premier jour de traitement, le ratio des expositions péritonéale/plasma est de 33 % (8 %). De plus, les simulations de Monte Carlo indiquent que le schéma posologique standard de la caspofungine permet d'atteindre la cible PK/PD des espèces *Candida* les plus sensibles chez les patients ayant une FFM < 50 kg. Enfin, les concentrations péritonéales sont au-dessus des CLSI breakpoints pour *C. glabrata* (0,12 mg/L) et pour *C. albicans*, *C. tropicalis* et *C. krusei* (0,25 mg/L) [70].

En conclusion, ce travail a permis de décrire une pénétration modérée de 33 % de la caspofungine au sein de la cavité péritonéale. Bien que toutefois supérieure à celle retrouvée dans l'étude de Gioia et al., elle est similaire à celle de l'anidulafungine et la micafungine [174,175]. En considérant la grande variabilité PK de la caspofungine, une dose de charge de 100 mg est suggérée pour les patients ayant une FFM > 50 kg afin d'atteindre la cible PK/PD pour les espèces *Candida* les plus sensibles.

### **9.2.2 Article 3**

Cet article a été publié dans le journal *Clinical Pharmacokinetics*. Les matériels supplémentaires sont présentés en annexe 3.



## Caspofungin Population Pharmacokinetic Analysis in Plasma and Peritoneal Fluid in Septic Patients with Intra-Abdominal Infections: A Prospective Cohort Study

Nicolas Garbez<sup>1,2,3</sup> · Litaty C. Mbatchi<sup>2,4</sup> · Steven C. Wallis<sup>5</sup> · Laurent Muller<sup>1,3</sup> · Jeffrey Lipman<sup>3,5,6</sup> · Jason A. Roberts<sup>3,5,6,7,8</sup> · Jean-Yves Lefrant<sup>1,3</sup> · Claire Roger<sup>1,3</sup>

Accepted: 27 July 2021

© The Author(s), under exclusive licence to Springer Nature Switzerland AG 2021

### Abstract

**Objectives** The aim of this study was to report the pharmacokinetics (PK) of caspofungin in plasma and peritoneal fluid and to identify optimal dosing strategies in septic patients with intra-abdominal infections.

**Methods** Eleven patients with secondary peritonitis with septic shock received the standard dosing regimen of caspofungin. Total caspofungin plasma and peritoneal concentrations were subject to a population PK analysis using Pmetrics<sup>®</sup>. Monte Carlo simulations were performed considering the ratio of 24-h total drug exposure above the minimum inhibitory concentration (AUC<sub>24</sub>/MIC) in plasma and comparing simulated concentrations versus MIC in peritoneal fluid.

**Results** Fat-free mass (FFM) was retained in the final model of caspofungin, reporting a total clearance (standard deviation) of 0.78 (0.17) L/h and a central volume of distribution of 9.36 (2.61) L. The peritoneal fluid/plasma ratio of caspofungin was 33% on the first day of therapy (AUC<sub>24</sub> 73.92 (21.93) and 26.03 (9.88) mg<sup>\*</sup>h/L for plasma and peritoneal data, respectively). Dosing simulations supported the use of standard dosing regimens for patients with an FFM < 50 kg for the most susceptible *candida species* (*C. albicans* and *C. glabrata*). For higher FFM, a loading dose of 70 or 100 mg, with a maintenance dose of 70 mg, reached AUC<sub>24</sub>/MIC ratios for these *species*.

**Conclusions** There is moderate penetration of caspofungin into the peritoneal cavity (33%). For empirical treatment, a dose escalation of 100 mg loading dose on the first day is suggested for higher FFM to ensure adequate concentrations into the abdominal cavity for the most susceptible *candida species*.

✉ Nicolas Garbez  
nicolas.garbez@umontpellier.fr

<sup>1</sup> Service des Réanimations, Pôle Anesthésie Réanimation Douleur Urgence, CHU Nîmes, Nîmes, France

<sup>2</sup> Laboratoire de Pharmacocinétique, Faculté de Pharmacie, Université de Montpellier, Montpellier, France

<sup>3</sup> UR-UM 103: IMAGINE (Initial Management And prévention of orGan failures IN critically ill patiEnts), Faculté de médecine, Université de Montpellier, Montpellier, France

<sup>4</sup> Laboratoire de Biochimie, Centre Hospitalier Universitaire (CHU) of Nîmes, Hôpital Carêmeau, Nîmes, France

<sup>5</sup> UQ Centre for Clinical Research, The University of Queensland, Brisbane, QLD, Australia

<sup>6</sup> Department of Intensive Care Medicine, Royal Brisbane and Womens' Hospital, Brisbane, QLD, Australia

<sup>7</sup> Centre for Translational Anti-Infective Pharmacodynamics, School of Pharmacy, The University of Queensland, Brisbane, QLD, Australia

<sup>8</sup> Pharmacy Department, Royal Brisbane and Womens' Hospital, Brisbane, QLD, Australia

**Key Points**

There is moderate penetration of caspofungin into the peritoneal cavity ( $33 \pm 8\%$ ).

The standard dose of caspofungin enables the pharmacokinetic/pharmacodynamic target of the most susceptible species (*C. albicans* and *C. glabrata*) to be reached for patients with fat-free mass < 50 kg. For higher FFM, dose escalation up to a loading dose of 100 mg on the first day is suggested.

**1 Introduction**

Echinocandins are recommended as first-line treatment for invasive candidiasis, including candidemia or fungal peritonitis, in critically ill patients [1, 2]. In this population, fungal-related septic shock greatly increases morbidity and mortality, especially with secondary peritonitis [3–8], where *Candida species* are the most frequently isolated pathogen. Thus, adequate initial antifungal treatment is essential to improve the prognosis of intensive care unit (ICU) patients with invasive fungal infections (IFIs) [4, 7, 9].

Caspofungin, an echinocandin, exhibits a broad spectrum fungicidal activity against *Candida species*, a prolonged post-antifungal effect [10]. According to the package insert, the standard dosing regimen of caspofungin is a loading dose of 70 mg followed by a maintenance dose of 50 mg for patients with a body weight < 80 kg, and 70 mg daily for patients with a body weight > 80 kg. However, in critically ill patients, the pharmacokinetics (PK) of drugs can be altered by several pathophysiological changes (sepsis, hepatic and/or renal dysfunction, extracorporeal organ support, hypoalbuminemia, altered capillary permeability, fluid balance) [11, 12], potentially reducing the probability of achieving PK/pharmacodynamic (PD) targets. In intra-abdominal infections (IAIs), impaired tissue penetration and the presence of indwelling surgical drains may alter caspofungin PK [13]. These changes, contributing to the high PK variability observed in this population, may significantly alter drug dosing requirements [14–17].

Five species of *Candida* are commonly identified: *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* and *C. krusei* [6, 18–20]. Although *C. albicans* is still the leading cause of intra-abdominal candidiasis, an increase in *Candida non-albicans*-related infections has been observed in ICUs [21]. According to in vivo studies from a murine model, the most relevant PK/PD target in plasma associated with

outcome is the ratio of 24-h total drug exposure above the minimum inhibitory concentration ( $AUC_{24}/MIC$ ), with species- and drug-related targets [22]. With high PK variability in ICU patients, target attainment with standard dosing of echinocandins has been difficult to reach, potentially contributing to the emergence of candida resistance to echinocandins [11]. Furthermore, Shields et al. [23] found that intra-abdominal candidiasis plays the role of a hidden reservoir for the emergence of echinocandin resistance. Together, these results suggest that conventional dosing regimens may result in inappropriate drug exposure [11, 15, 24, 25].

To date, only one study has investigated caspofungin PK a non-compartmental analysis in plasma and peritoneal fluid in ICU patients with fungal IAIs [26]. This study reported moderate penetration of caspofungin into the peritoneal fluid in these patients, which could lead to the emergence of resistance in this population.

Thus, the aim of this study was to describe the PK of caspofungin by compartmental analysis in both plasma and peritoneal fluid in ICU patients with septic shock and secondary peritonitis. For this population, population PK analysis and Monte Carlo simulations were performed to determine the optimal caspofungin dosing regimen.

**2 Materials and methods****2.1 Setting**

This was a prospective, monocentric PK trial (ClinicalTrials.gov NCT 02805049). According to French law, ethics approval was obtained from the local Ethics Committee of Nîmes (Comite de Protection des Personnes Sud-Méditerranée III 2012.02.05) [27]. Written informed consent was obtained from either the patients or their designated substitute decision makers.

**2.2 Study Population**

Patient eligibility criteria for the study were (1) ICU admission for septic shock with secondary peritonitis, and (2) clinical indication for caspofungin therapy [28]. Exclusion criteria were (1) pregnant women, (2) patients with a history of allergy or contraindication to caspofungin, or (3) patients with known seropositivity to the human immunodeficiency viruses (HIVs) or hepatitis C, or known to have contracted tuberculosis (for limiting laboratory assay contamination risks).

**2.3 Study Protocol**

A dosing regimen of a caspofungin 70 mg loading dose followed by a 50 mg maintenance dose for patients with a

total body weight (TBW)  $\leq$  80 kg, or a 70 mg maintenance dose for patients with a TBW  $>$  80 kg, was administered intravenously over 1 h as part of the empirical antimicrobial therapy for septic shock with proven or suspected fungal IAI. Blood samples were drawn on day 1 for the first occasion and between days 3 and 4 of therapy for the second occasion, while peritoneal fluid samples collected from surgical drains were drawn on day 1 of therapy. Before each peritoneal sample was obtained, the reservoir of the drain was emptied and fresh peritoneal fluid was collected over the sample period. These samples were used to determine total plasma and peritoneal caspofungin concentrations at baseline (predose) and 1, 1.5, 2, 4, 6, 12, and 24 h after the start of the caspofungin infusion.

## 2.4 Sample Handling and Storage

Blood samples [ $n = 159$  for 11 patients with  $n(\text{day } 1) = 84$  and  $n(\text{day } 3\text{--}4) = 75$ ] and peritoneal fluid samples [ $n = 29$  samples for 5 patients with  $n(\text{day } 1) = 22$  and  $n(\text{day } 3\text{--}4) = 7$ ] were immediately placed on ice and centrifuged at 3000 rpm for 10 min and then stored at  $-80$  °C. Peritoneal fluid samples were difficult to obtain as surgical drains were removed in most patients before day 3 or 4, which resulted in a smaller number of peritoneal samples than blood samples. Samples were transported (with a temperature log on dry ice) by a commercial courier company to the University of Queensland Centre of Clinical Research, The University of Queensland, Brisbane, QLD, Australia, for analysis.

## 2.5 Drug Assay

Total caspofungin concentrations in plasma and peritoneal fluid were measured using a validated ultra-high pressure liquid chromatography–tandem mass spectrometry (UHPLC–MS/MS) method, from 0.1 to 20 mg/L, on a Shimadzu Nexera 2 UHPLC coupled with a Shimadzu 8030+ triple quadrupole mass spectrometer (Shimadzu, Kyoto, Japan). Clinical samples were assayed alongside calibrators and quality controls and met batch acceptance criteria [29]. The overall intra- and interday precision and accuracy were within 15%. The assay was linear over the concentration range of 0.1–20 mg/L, with 0.1 mg/L being the lower limit of quantification (LLOQ) of the method. Concentrations below the LLOQ, obtained at the beginning of the therapy, were set to 0 mg/L.

## 2.6 Data Collection

In all patients included, the following demographic and clinical data were recorded: age, sex, body weight, height, Simplified Acute Physiology Score II (SAPS II) [30] at ICU admission, modified Sequential Organ Failure Assessment

(SOFA) [31] score at ICU admission and on each sampling day, past medical history, biological data (serum albumin concentration, serum lactate concentration, serum alanine aminotransferase (ALAT) and aspartate aminotransferase (ASAT) concentrations and infection-related data.

## 2.7 Pharmacokinetic (PK) Analyses

The concentration-time data were analysed using a non-parametric adaptive grid (NPAG) algorithm within the freely available Pmetrics software package for R (Los Angeles, CA, USA) [32, 33]. PK models with two and three compartments were tested, including additive and proportional error models. Penetration into the peritoneal cavity on day 1 was assessed by observed  $AUC_{24}$  peritoneal fluid/plasma ratio calculated from patients with both peritoneal and plasma concentrations available. On days 3 and 4, insufficient data from the peritoneum were available to calculate this ratio.

## 2.8 Population PK Covariates

Age, body weight, sex, SOFA score on sampling days, serum albumin concentration, serum lactate concentration, serum ALAT and ASAT concentrations, and size descriptors (body mass index, body surface area, ideal body weight, lean body weight, fat-free mass [FFM], adjusted body weight) [34] were evaluated as clinically relevant and physiologically plausible covariates affecting caspofungin PK. Selection of these covariates was performed using a stepwise multivariate linear regression analysis, with forward inclusion and backward elimination, to quantify correlation between covariates and PK parameters.

To note, FFM was calculated from the study of Holford and Anderson [34] using the following equation (Eq. 1):

$$FFM = WHS_{\max} \times HT^2 \times \left[ \frac{TBW}{WHS_{50} \times HT^2 + TBW} \right], \quad (1)$$

where  $WHS_{\max}$  is the maximum FFM for any given height (HT, m) and  $WHS_{50}$  is the TBW value when FFM is half of  $WHS_{\max}$ . For men,  $WHS_{\max}$  is 42.92 kg/m<sup>2</sup> and  $WHS_{50}$  is 30.93 kg/m<sup>2</sup>, and, for women,  $WHS_{\max}$  is 37.99 kg/m<sup>2</sup> and  $WHS_{50}$  is 35.98 kg/m<sup>2</sup>.

## 2.9 Population PK Model Diagnostics

Model selection was initially based on the objective function value computed as  $-2 \log$  likelihood ( $-2LL$ ) or on the Akaike information criterion (AIC), where a decrease in  $-2LL$  and/or AIC of  $\geq 3.84$  was considered significant (Chi-square, 1 degree of freedom,  $p < 0.05$ ). In addition, goodness of fit was assessed using linear regression, with observed–predicted plots and coefficients of variation of PK

parameters. Evaluation of the predictive performance was based on the mean prediction error (bias) and the mean bias-squared prediction error (imprecision) of the population and individual prediction models. Finally, internal validation of the model was performed using bootstrap resampling methods ( $n = 1000$ ) and visual predictive checks (VPCs).

### 2.10 Monte Carlo Simulations and Probability of Target Attainment

Monte Carlo simulations were made from the final PK model, including the FFM covariate. All PK parameters and their variability, as illustrated in Table 3, were used for these simulations in order to predict caspofungin PK in the ICU population. Based on these results, caspofungin dosing regimens were assessed using the probability of PK/PD target attainment (PTA) for the first 48 h of therapy [7, 20]. The 90% confidence interval of the PTA was included to consider the uncertainty of the PK parameters (electronic supplementary material [ESM] S6) [35]. According to *in vivo* studies from a murine model, the following threshold has been identified as the PK/PD target for efficacy: an  $AUC_{24}/MIC$  ratio of 865 for 1-log kill of *C. albicans*, an  $AUC_{24}/MIC$  ratio of 450 for 1-log kill of *C. glabrata*, and an  $AUC_{24}/MIC$  ratio of 1185 for 1-log kill of *C. parapsilosis* [22]. Monte Carlo simulations ( $n = 1000$ ) were performed using the final PK model according to different values of the retained covariate and for nine dosing regimens based on a 1 h intravenous infusion: a loading dose of 50/70/100 mg followed by a maintenance dose of 50 mg, a loading dose of 70/100/150 mg followed by a maintenance dose of 70 mg, and a loading dose of 100/150/200 mg followed by a maintenance dose of 100 mg.

### 2.11 Fractional Target Attainment

Fractional target attainment (FTA) was performed by comparing the PTA against an MIC distribution for *C. albicans* (susceptibility [S]: 0.008–0.125 mg/L), *C. glabrata* (S: 0.016–0.125 mg/L), and *C. parapsilosis* (S: 0.064–0.500 mg/L). A dosing regimen was considered optimal if the FTA was  $\geq 90\%$ . Of note, these MIC distributions were established between 2003 and 2015 in different countries and were published by Pfaller et al. [36, 37].

## 3 Results

### 3.1 Study Population

During the study period, 11 septic patients were included from a mixed ICU (no hematological or transplant patients were included) due to bowel rupture ( $n = 3$ ), perforated ulcer

( $n = 7$ ) or trauma ( $n = 1$ ), and with a proven ( $n = 1$ ) or suspected ( $n = 10$ ) fungal IAI. Two of these patients were undergoing continuous renal replacement therapy. The demographic, clinical, and biological data of the patients are detailed in Table 1.

### 3.2 Caspofungin Observed Concentrations

Observed plasma and peritoneal fluid concentration-time data are displayed in Fig. 1, while individual observed concentration-time profiles are shown in ESM S1. Observed PK parameters on day 1 (time to reach maximum concentration [ $T_{max}$ ], maximum concentration [ $C_{max}$ ],  $AUC_{24}$ ) are displayed in Table 2. Observed mean  $T_{max}$  (standard deviation [SD]) was 1 h (0.5) in plasma versus 12 h (1.5) in peritoneal fluid, while the observed mean caspofungin exposure was 73.93 mg h/L (21.93) in plasma and 26.03 mg h/L (9.88) in peritoneal fluid. From patients with both peritoneal and plasma concentration available, the observed  $AUC_{24}$  peritoneal fluid/plasma ratio indicated a mean (SD) micafungin penetration into peritoneal fluid of 33% (8%) on day 1.

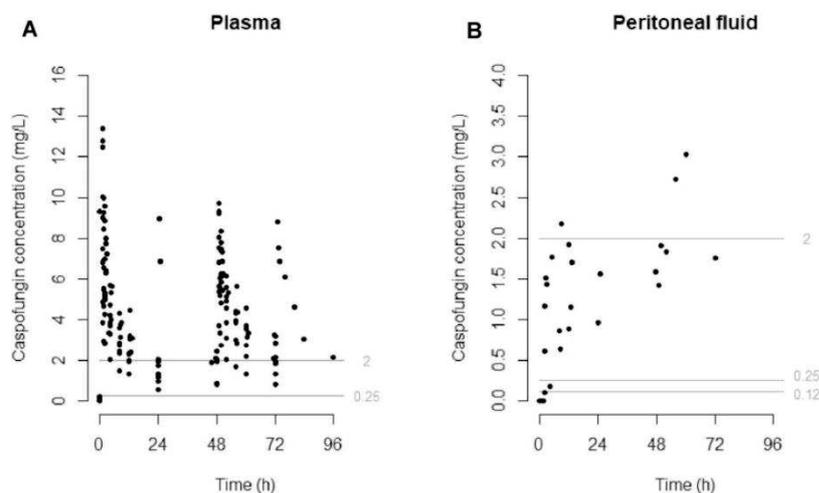
**Table 1** Data collected from intensive care unit patients

<i>Descriptive data</i>	
Sex (male/female)	5/6
Age (years)	67 [33–88]
Total body weight (kg)	87 [45–109]
Height (cm)	172 [150–192]
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	28.4 [19.8–40.3]
Body surface area (m <sup>2</sup> )	2.0 [1.4–2.4]
Ideal body weight (kg)	62.8 [46.9–85.1]
Lean body weight (kg)	50.8 [34.8–78.6]
Fat-free mass (kg)	52.5 [30.5–77.3]
Adjusted body weight (kg)	71.2 [46.2–94.7]
<i>Clinical and biological data</i>	
SAPS II score	38 [24–77]
SOFA score	7 [0–12]
Albumin (g/L)	29 [23.6–34.4]
ASAT (U/L)	41 [13–762]
ALAT (U/L)	48.5 [8–464]
Lactate (mmol/L)	1.5 [0.9–5.9]
<i>Past medical history</i>	
Hypertension	3
COPD	2
Type 2 diabetes	2
Others	7

Data are expressed as  $n$  or median [minimum–maximum]

ALAT alanine transaminase, ASAT aspartate transaminase. SAPS II score Simplified Acute Physiology Score II, SOFA score Sequential Organ Failure Assessment score, COPD chronic obstructive pulmonary disease

**Fig. 1** Observed concentration of caspofungin over time. **a** Plasma [ $n = 159$  samples for 11 patients with  $n(\text{day } 1) = 84$  and  $n(\text{day } 3-4) = 75$ ]. **b** Peritoneal fluid [ $n = 29$  samples for 5 patients with  $n(\text{day } 1) = 22$  and  $n(\text{day } 3-4) = 7$ ]. Solid grey lines represent the CLSI breakpoint, i.e. 0.12 mg/L (*Candida glabrata*), 0.25 mg/L (*C. albicans*, *C. tropicalis*, and *C. krusei*), and 2 mg/L (*C. parapsilosis*). CLSI Clinical and Laboratory Standards Institute



**Table 2** Pharmacokinetic parameters of observed caspofungin concentration on day 1

PK parameter	Plasma [ $n = 11$ ]	Peritoneal fluid [ $n = 4$ ]	PE/PL ratio (%)
$T_{max}$ (h)	$1 \pm 0.5$	$12 \pm 1.5$	$11.25 \pm 1.5$
$C_{max}$ (mg/L)	$9.04 \pm 3.11$	$1.84 \pm 0.85$	$17 \pm 6$
$AUC_{24}$ (mg h /L)	<b><math>73.92 \pm 21.93</math></b>	<b><math>26.03 \pm 9.88</math></b>	<b><math>33 \pm 8</math></b>

Results are expressed as mean  $\pm$  standard deviation. The PE/PL ratio was calculated from patients with both peritoneal and plasma concentrations available

$AUC_{24}$  total area under curve from time zero to 24 h,  $C_{max}$  maximal caspofungin concentration,  $n$  number of patients,  $PL$  plasma,  $PE$  peritoneal fluid,  $PK$  pharmacokinetic,  $T_{max}$  time to reach  $C_{max}$

**Table 3** Population pharmacokinetic parameter estimates of the final model

Parameter estimates	Mean	SD	CV	Var	Bootstrap analysis	
					WtMed (95% CI)	MAWD (95% CI)
CL (L/h)	0.78	0.17	21.13	0.03	0.73 [0.69–1.11]	0.01 [0.00–0.06]
$V_c$ (L)	9.36	2.61	27.87	6.80	9.68 [7.28–12.47]	0.76 [0.00–3.16]
$V_{pe}$ (L)	4.69	1.51	32.18	2.28	3.98 [3.94–6.00]	0.00 [0.00–2.06]
$V_p$ (L)	4.87	1.90	39.04	3.62	4.49 [3.32–7.36]	0.73 [0.00–2.06]
$Q_{pe}$ (L/h) fixed	0.10	–	–	–	–	–
$Q_p$ (L/h)	1.95	0.93	47.54	0.86	1.50 [1.28–3.00]	0.21 [0.00–1.13]
$\beta \cdot CL$	0.98	0.76	77.47	0.58	1.30 [0.00–1.76]	0.05 [0.00–0.71]
$\beta \cdot V_c$	1.08	0.37	34.37	0.14	1.15 [0.79–1.60]	0.05 [0.00–0.47]

CI confidence intervals, CL total clearance, CV coefficient of variation, MAWD median absolute weighted deviation,  $Q_p$  intercompartment clearance between the central and peripheral compartment,  $Q_{pe}$  intercompartment clearance between the central and peritoneal compartment, SD standard deviation, Var variance,  $V_c$  volume of distribution of the central compartment,  $V_p$  volume of distribution of the peripheral compartment,  $V_{pe}$  volume of distribution of the peritoneal compartment, WtMed weighted median,  $\beta \cdot CL$  parameter factor of CL,  $\beta \cdot V_c$  parameter factor of  $V_c$

In peritoneal fluid, all observed concentrations were above the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) breakpoint [38] of 0.12 mg/L (*C. glabrata*), 91% were above the CLSI breakpoint of 0.25 mg/L (*C.*

*albicans*, *C. tropicalis*, and *C. krusei*), and 13 % were above the CLSI breakpoint of 2 mg/L (*C. parapsilosis*).

### 3.3 PK Model

The final model was a three-compartment model with linear elimination from the central compartment and with a proportional error model (ESM S2). The FFM normalized to the median population value (to the power of  $\beta$ ) applied to the total caspofungin clearance (CL) and volume of distribution of the central compartment (Vc) was the only covariate that statistically improved the model (Chi-square,  $p < 0.05$ ), with a  $-2LL$  decrease of 10.8 (ESM S3 and S4), and was therefore included in the final model as described below (Eqs. 2 and 3):

$$\text{Caspofungin CL} = \text{typical value of total CL} \times (\text{FFM}/52.5)^{0.98}, \quad (2)$$

$$\text{Caspofungin Vc} = \text{typical value of Vc} \times (\text{FFM}/52.5)^{1.08}. \quad (3)$$

The PK parameter estimates are shown in Table 3. The diagnostic plots confirmed that the goodness of fit of the model was acceptable, despite a trend to underpredict peritoneal concentrations on the first day. Observed versus population and individual predicted concentrations and VPC of plasma and peritoneal data are shown in Fig. 2. The final model was used for dosing simulations.

### 3.4 Dosing Simulations and Fractional Target Attainment

ESM S5 shows the simulated PK profiles in plasma of the different tested caspofungin dosing regimens. PTAs based on the targeted total  $\text{AUC}_{24}/\text{MIC}$  ratio of 450 (*C. glabrata*), 865 (*C. albicans*), and 1185 (*C. parapsilosis*) are shown in Figs. 3, 4, and 5, while ESM S6 illustrates the uncertainty of PK parameters on the PTA.

FTA is displayed in ESM S7. No dosing regimens reached the PK/PD target for *C. parapsilosis*. For an empirical treatment, patients with  $\text{FFM} \leq 30$  kg should be treated with a 50 mg daily dose of caspofungin; patients with  $30 < \text{FFM} \leq 50$  kg should be treated with a loading dose of 70 mg followed by a maintenance dose of 50 mg; patients with  $50 < \text{FFM} \leq 60$  kg should be treated with a 70 mg loading and maintenance dose; and patients with  $\text{FFM} > 60$  kg should be treated with a loading dose of 100 mg followed by a maintenance dose of 70 mg.

Simulated peritoneal fluid concentrations of these proposed dosing regimens (Fig. 6) were above the CLSI breakpoint [38] of 0.12 mg/L (*C. glabrata*) and 0.25 mg/L (*C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei*) from the first day of therapy, even with an underprediction trend of peritoneal data.

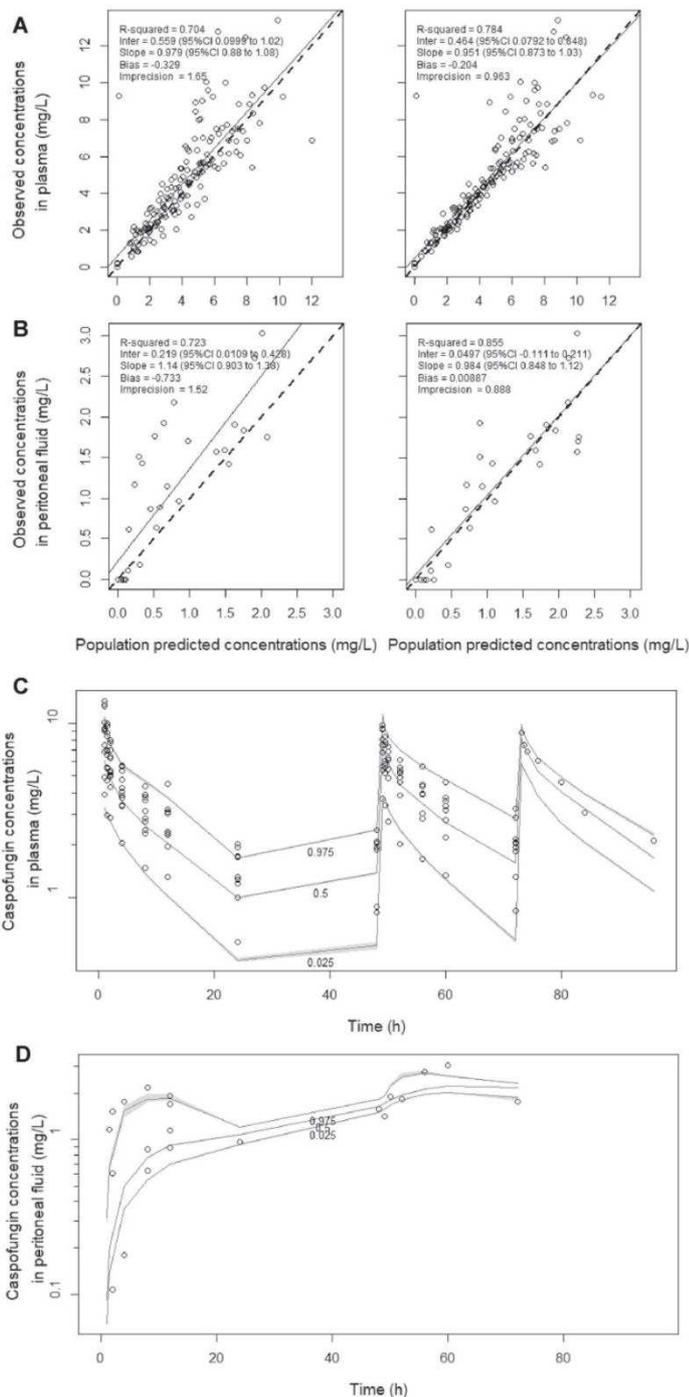
## 4 Discussion

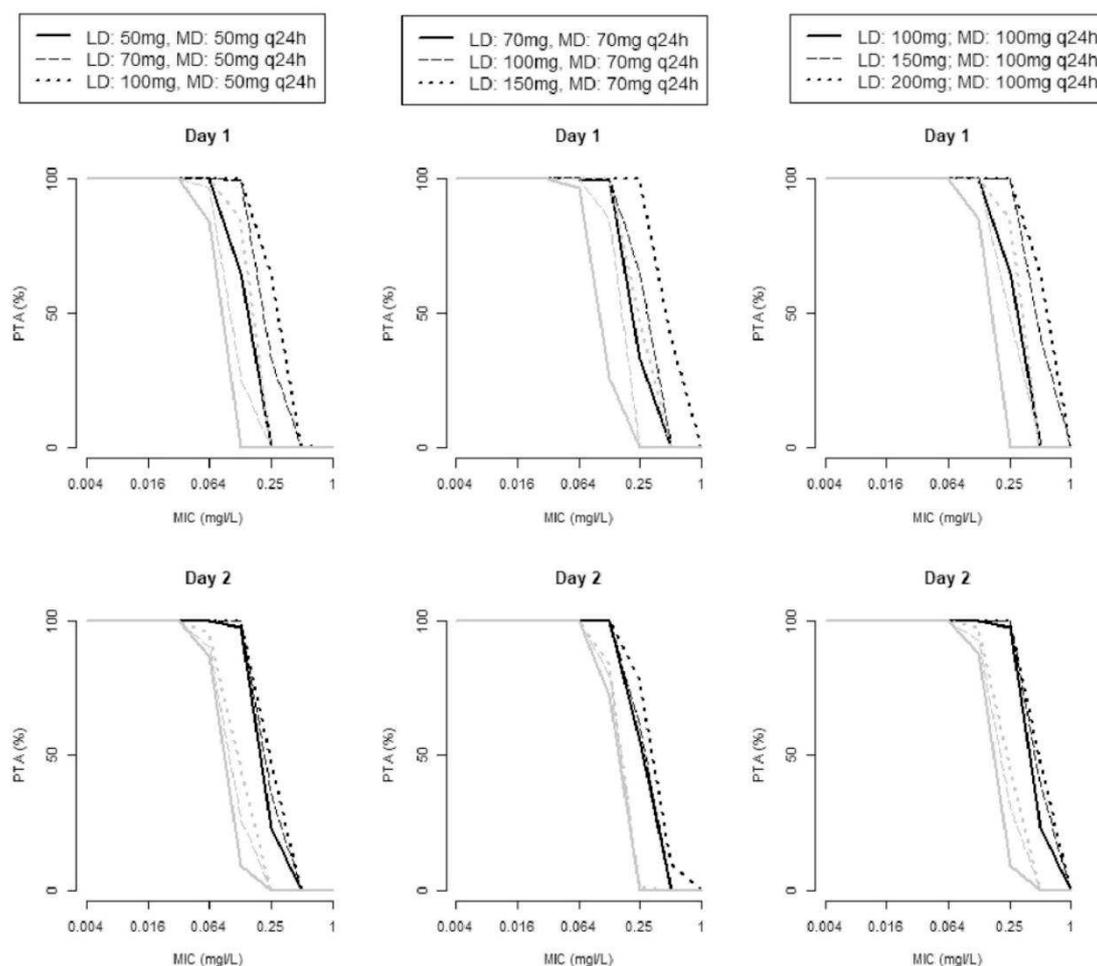
The present study reports a high PK variability and a  $33 \pm 8\%$  penetration into the peritoneal cavity on the first day of caspofungin therapy for ICU patients with proven or suspected septic shock and secondary peritonitis. As a main finding, the standard dose of caspofungin is only effective for most susceptible species (*C. albicans* and *C. glabrata*) in patients with  $\text{FFM} < 50$  kg. An adjusted dosing regimen with an increased loading dose should be considered in patients with high FFM and when less susceptible species are suspected to achieve the PK/PD target.

Among these critically ill ICU patients, a high inter-individual variability in caspofungin plasma concentrations was observed, as previously reported [14, 16, 25, 39]. In particular, caspofungin exposure in plasma (day 1: 73.93 mg h/L) was lower than in healthy volunteers (day 1:  $> 100$  mg h/L) [14, 25, 40–42]. Moderate (33%) penetration of caspofungin into peritoneal fluid reported in the present study is slightly higher compared with caspofungin in previous studies, but similar to peritoneal penetration of anidulafungin and micafungin [26, 43]. This moderate caspofungin penetration needs to be taken into account when determining optimal dosing. However, in regard to the low number of samples available in peritoneal fluid on days 3 and 4 due to drain withdrawal, samples were not considered at steady state. Further study will be needed to verify this point. Additionally, the increasing concentration over day of caspofungin in peritoneal fluid may suggest that steady state is not reached. Another argument could be the very low intercompartment CL between the central and peritoneal compartments (Qpe), indicating a very slow distribution to the peritoneal fluid from the central compartment.

Caspofungin population PK were best described using a three-compartment PK model, using the population median FFM as a covariate on both total CL and Vc. According to this model, CL was 0.73 L/h and Vc was 9.68 L, which is consistent with previous studies [17, 25, 41]. Other authors also found TBW and/or albumin as covariates to influence the PK parameters of caspofungin [17, 41, 44, 45]. FFM is based on sex, body mass and height, and represents between 65 and 90% of body weight. Fat is a structural feature of the body that contributes little to the metabolic rate. Thus, FFM might be expected to do better than TBW when there are wide variations in fat affecting body composition [46]. Hence, although FFM is not frequently used in ICU patients, it could represent an interesting alternative parameter to adjust drug dosing in the critically ill population [34, 47]. Albumin was not retained as a covariate, likely due to the poor variability of albumin concentrations in this cohort (23.6–34.4 g/L).

**Fig. 2** Internal validation—diagnostic plots and VPC for the final model. **a** Observed versus population and individual predicted caspofungin concentration in plasma. **b** Observed versus population and individual predicted caspofungin concentration in peritoneal fluid. **c** VPC for plasma concentrations. **d** VPC for peritoneal concentrations. **a, b** Dashed line represents the identity line; filled lines represent the regression line; and circles represent the calculated values. **c, d** Solid lines represent the 2.5th, 50th, and 97.5th percentiles of the prediction interval; grey-shaded area represents the confidence intervals around the 2.5th, 50th, and 97.5th percentiles; and circles represent the observed concentrations. VPC visual predictive check, CI confidence interval



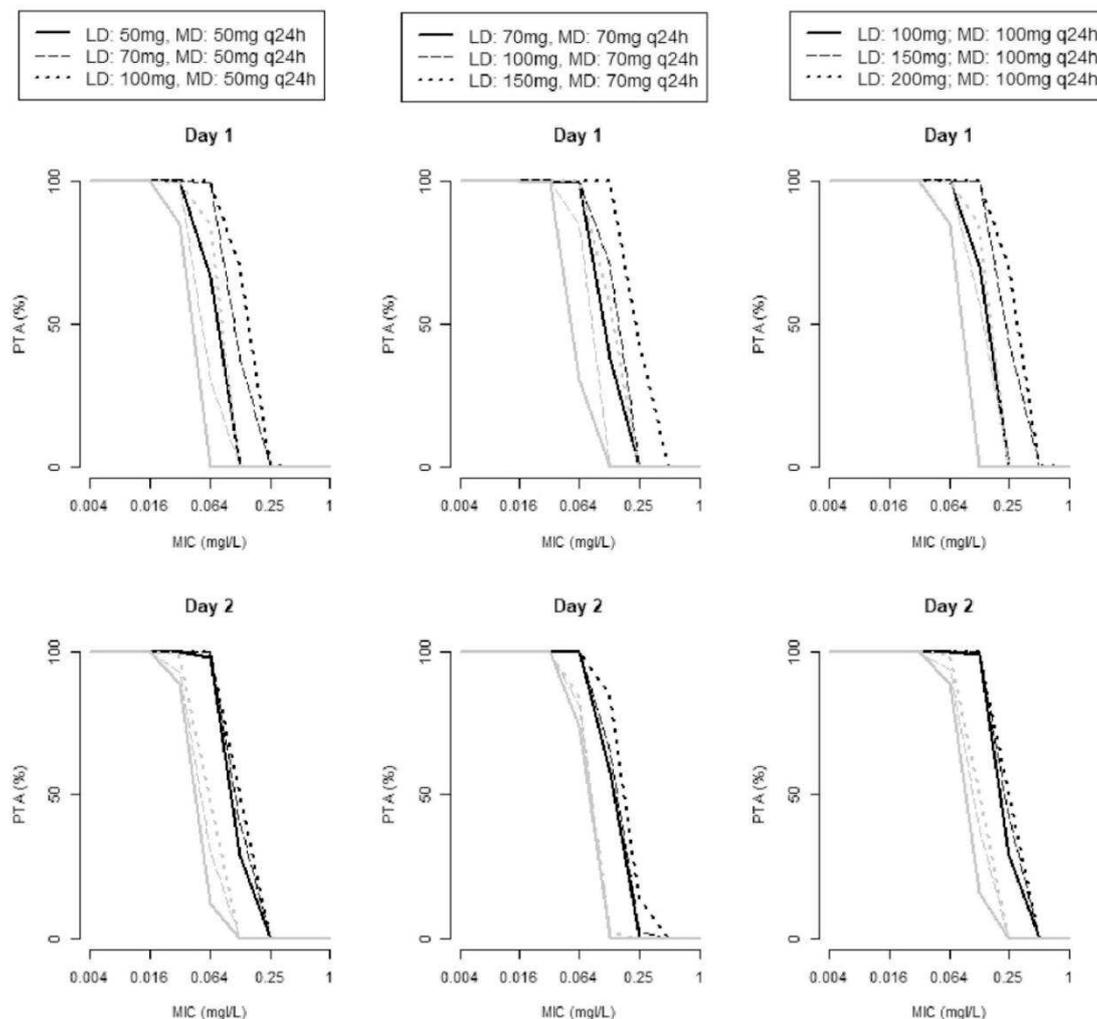


**Fig. 3** PTA for *Candida glabrata* ( $S \leq 0.12$  mg/L). PTA over the first 48 h of treatment for different dosing regimens and different fat-free masses—30 kg (black) and 70 kg (grey). PTA of the total  $AUC_{24}/MIC > 450$ .  $AUC_{24}$  area under curve from time zero to 24 h,  $LD$

loading dose,  $MD$  maintenance dose,  $MIC$  minimum inhibitory concentration (0.004–1.000 mg/L),  $PTA$  probability of pharmacokinetic/pharmacodynamic target attainment,  $S$  susceptibility,  $q24h$  every 24

From Monte Carlo simulations, the standard dose of caspofungin enables the PK/PD target to be reached for more than 90% of most susceptible species (*C. albicans* and *C. glabrata*), considering the uncertainty of PK parameters [35] for patients with FFM < 50 kg. Thus, according to plasma data and different PK/PD targets available (*C. albicans*, *C. glabrata*, and *C. parapsilosis*) [22], an empirical treatment for most susceptible species, considering the FFM of patients, is suggested, from a daily dose of caspofungin 50 mg for patients with FFM < 30 kg, to a loading dose of 100 mg followed by a maintenance dose of 70 mg for patients with FFM > 60 kg. By

analogy, the standard 70 mg maintenance dose indicated for patients with a bodyweight of 80 kg is in agreement with the proposed dosing regimens for patients with FFM > 50 kg if FFM corresponds to 65% of the body weight (FFM = 52 kg). However, FFM can be higher for the same body weight (until 90%: FFM = 72 kg), where a loading dose of 100 mg is suggested in this study. Taken together, dose escalation suggested by the dosing simulations is in line with other studies [17, 25, 42, 45, 48–50], knowing that increased dosing regimens (up to 200 mg) were considered safe in this population. This dose escalation with a higher loading dose will enable the PK/PD target to be



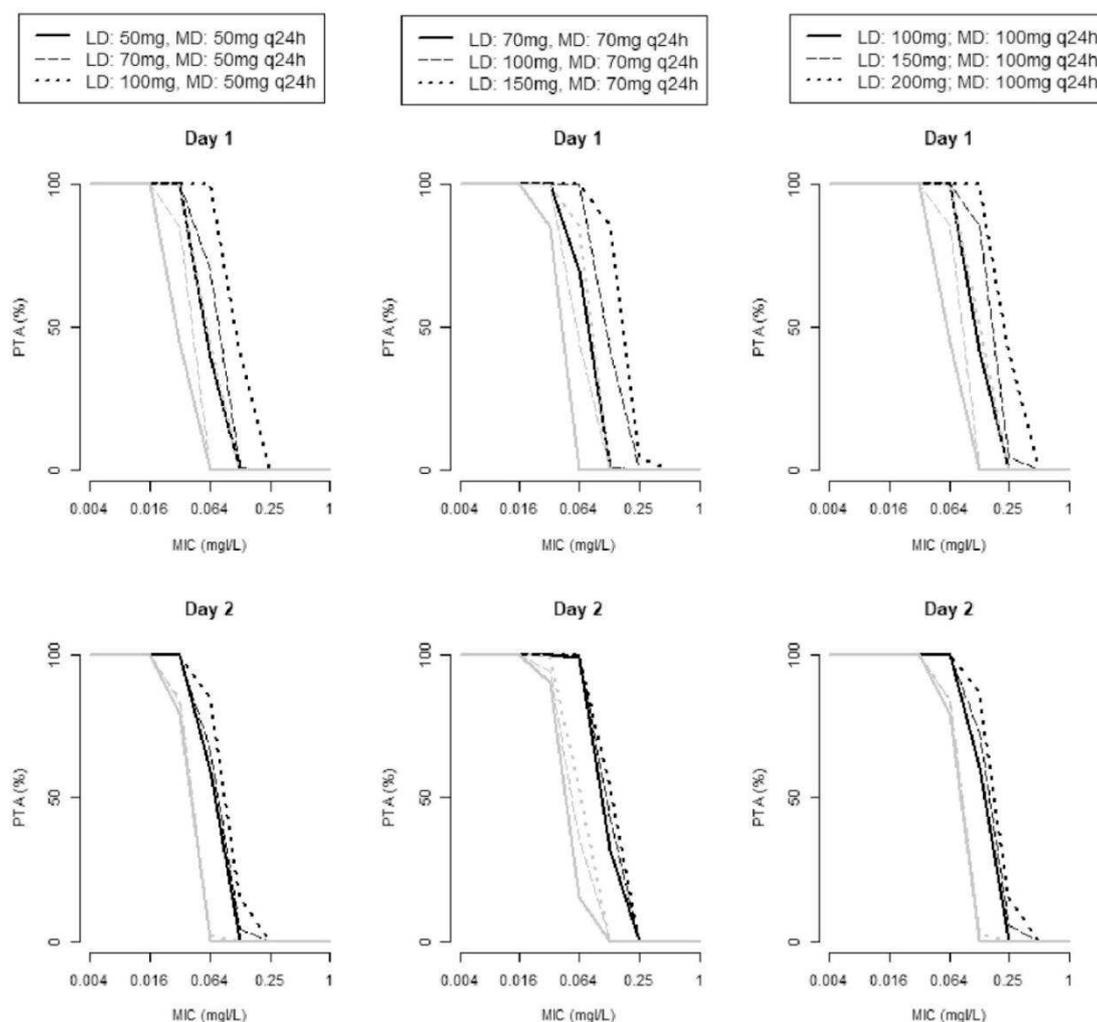
**Fig. 4** PTA for *Candida albicans* ( $S \leq 0.25$  mg/L). PTA over the first 48 h of treatment for different dosing regimens and different fat-free masses—30 kg (black) and 70 kg (grey). PTA of the total  $AUC_{24}/MIC > 865$ .  $AUC_{24}$  area under curve from time zero to 24 h,  $LD$

loading dose,  $MD$  maintenance dose,  $MIC$  minimum inhibitory concentration (0.004–1.000 mg/L),  $PTA$  probability of pharmacokinetic/pharmacodynamic target attainment,  $S$  susceptibility,  $q24h$  every 24 h

reached faster with appropriate plasma and peritoneal concentrations, and might be associated with better outcome.

Although there is no predefined PK/PD target for peritoneal fluid, we considered caspofungin peritoneal concentrations above MICs of the most common *Candida species* as the minimal targeted tissue concentration at the site of infection. Thus, more than 90% of observed and simulated concentrations were above the CLSI breakpoint [38] of 0.12 mg/L (*C. glabrata*) and 0.25 mg/L (*C. albicans*, *C. tropicalis*, and *C. krusei*) on the first day of therapy, which

is consistent with the PK/PD targets ( $AUC_{24}/MIC$  ratios) in plasma for three of these species [22]. Thus, the recommended dosing regimen based on the PK/PD target in plasma, considering the FFM, may be adequate to achieve sufficient peritoneal concentrations (except for *C. parapsilosis*) in ICU patients with peritonitis. Infection site-related PK/PD targets need to be determined to optimize antifungal dosing adjustments in the future, especially for IAIs. Additionally, variations in MIC distribution among *Candida species* over time and countries [36, 37, 51] should



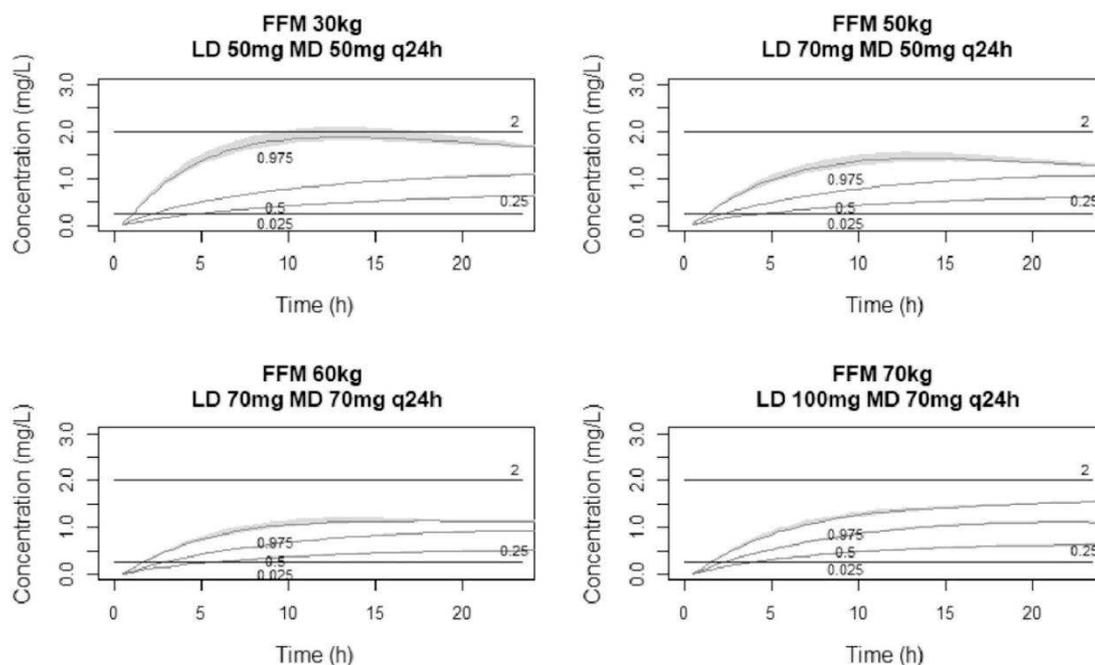
**Fig. 5** PTA for *Candida parapsilosis* ( $S \leq 2.00$  mg/L). PTA over the first 48 h of treatment for different dosing regimens and different fat-free masses—30 kg (black) and 70 kg (grey). PTA of the total  $AUC_{24}/MIC > 1185$ .  $AUC_{24}$  area under curve from time zero to 24 h, LD

loading dose, MD maintenance dose, MIC minimum inhibitory concentration (0.004–1.000 mg/L), PTA probability of pharmacokinetic/pharmacodynamic target attainment, S susceptibility, q24h every 24 h

be considered to define the optimal caspofungin dosing regimen. In a situation regarding empirical treatment where no pathogen has been identified and no MIC is available, the worst case scenario should be considered (i.e. considering the less susceptible *Candida* species) to ensure efficacy and to prevent the emergence of resistance into the intra-abdominal cavity [23, 26] because of an inappropriate dosing regimen.

Correlation between preclinical PK/PD targets from a murine model and patient outcomes need to be further

investigated for echinocandins in clinical trials. For instance, a micafungin PK/PD study [52] reported that despite a specific lower  $AUC_{24}/MIC$  ratio target for *C. parapsilosis*, no species-related differences in treatment outcome and high success rates, including for IAIs caused by *C. parapsilosis*, were observed. Additionally,  $AUC_{24}/MIC$  ratios of caspofungin against *C. tropicalis* and *C. krusei* need to be determined, knowing their higher mortality rate and increasing prevalence [19, 20, 53]. Some authors have also proposed alternative PK/PD targets ( $AUC_{24}/MIC > 250$  and/or  $C_{max}/$



**Fig. 6** Simulation of peritoneal concentration with recommended dosing regimens for a patient with 30, 50, 60, or 70 kg of fat-free mass. Solid black lines represent the CLSI breakpoint, i.e. 0.25 mg/L (*Candida albicans*, *C. tropicalis*, and *C. krusei*) and 2 mg/L (*C. parapsilosis*). The CLSI breakpoint of 0.12 mg/L (*C. glabrata*) is not

represented. Solid grey lines represent the 2.5th, 50th, and 97.5th percentiles of prediction interval. Grey-shaded area represents the confidence intervals around the 2.5th, 50th, and 97.5th percentiles. *FFM* fat-free mass, *LD* loading dose, *MD* maintenance dose, *CLSI* Clinical and Laboratory Standards Institute, *q24h* every 24 h

MIC > 10) that need clinical validation in further trials [42, 54].

There are several limitations to this study. First, the small sample size of this cohort may have prevented correlations being found between some covariates (serum albumin level, SOFA, liver enzymes) and PK parameters. Hence, further larger multicentre studies focusing on peritoneal concentrations of caspofungin in ICU patients are required to adequately investigate correlations between covariates and PK parameters on the one hand and peritoneal concentrations and patient outcome on the other hand. Second, peritoneal samples are more challenging to collect over time due to the early withdrawal of the surgical drains, which makes it difficult to estimate the distribution into the peritoneal compartment. Nevertheless, population PK analysis enables sparse sampling and the model adequately handled peritoneal data despite a slight underprediction of the model on the first day. Furthermore, no specific markers of peritoneal membrane permeability were available. The determination of albumin or other inflammation markers from the peritoneal fluid

could be an attractive possibility to estimate peritoneal permeability for further clinical trials. Third, given the high protein binding of caspofungin, measuring unbound concentrations of caspofungin may be informative. However, even while using very sensitive UHPLC-MS/MS, such assays remain highly challenging and were not available for this study. Fourth, CIs of PTA values could not be built into this study, which could undermine the results of the reported PTA. However, previous studies demonstrated similar estimations of PK parameters and recommended similar dose escalation and the suggested dosing regimens. Fifth, as no predefined PK/PD target in the peritoneum has been defined, we chose an arbitrary target of peritoneal concentration above the CLSI breakpoint of different *C. species*. Defining the infection site-specific PK/PD target for echinocandins is urgently needed; in further studies, peritoneal concentrations should be compared to clinical outcomes to define the best PK/PD target associated with clinical efficacy. Additionally, peritoneal microdialysis samples could help in determining optimal drug dosing in patients with peritonitis.

## 5 Conclusion

There is moderate penetration of caspofungin into the peritoneal cavity (33%). Dose escalation up to a loading dose of 100 mg on the first day is suggested for higher FFM to reach the PK/PD target. This empirical caspofungin dosing regimen for suspected intra-abdominal fungal infections should be further evaluated.

**Supplementary Information** The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1007/s40262-021-01062-6>.

## Declarations

**Funding** This study was supported by academic funding from the Nîmes University Hospital (LOCAL/2016/CR-01).

**Conflicts of interest/Competing interests** Jeffrey Lipman received honoraria from MSD and Pfizer and also received institution support from MSD. Claire Roger received consultancy fees from MSD, Pfizer, and Fresenius Medical Care. Nicolas Garbez, Litaty C. Mbatchi, Steven C. Wallis, Laurent Muller, Jason A. Roberts, and Jean-Yves Lefrant have no conflicts of interest to declare.

**Ethics approval** Ethics approval was obtained from the local ethics committee of Nîmes (Comité de Protection des Personnes Sud-Méditerranée III 2012.02.05).

**Consent to participate** Written informed consent was obtained from either the patient or their designated substitute decision maker.

**Code availability** Pmetrics software package for R (Los Angeles, CA, USA) [32, 33].

**Author contributions** CR, J-YL, and LM conceived and designed the study. CR collected data and SCW performed drug assay. NG, CR, J-YL, and JAR analysed data. NG carried out the pharmacokinetic analysis. NG, CR and LM drafted the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

**Consent for publication** All patients provided consent for publication of their pooled, anonymized data.

**Availability of data and materials** The datasets analysed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

## References

- Pappas PG, Rotstein CMF, Betts RF, Nucci M, Talwar D, Waele JJD, et al. Micafungin versus caspofungin for treatment of candidemia and other forms of invasive candidiasis. *Clin Infect Dis*. 2007;45:883–93.
- Solomkin JS, Mazuski JE, Bradley JS, Rodvold KA, Goldstein EJC, Baron EJ, et al. Diagnosis and management of complicated intra-abdominal infection in adults and children: guidelines by the surgical infection society and the infectious diseases society of America. *Clin Infect Dis*. 2010;50:133–64.
- Garey KW, Rege M, Pai MP, Mingo DE, Suda KJ, Turpin RS, et al. Time to initiation of fluconazole therapy impacts mortality in patients with candidemia: a multi-institutional study. *Clin Infect Dis*. 2006;43:25–31.
- Bassetti M, Righi E, Ansaldi F, Merelli M, Cecilia T, De Pascuale G, et al. A multicenter study of septic shock due to candidemia: outcomes and predictors of mortality. *Intensive Care Med*. 2014;40:839–45.
- Tabah A, Koulenti D, Laupland K, Misset B, Valles J, Bruzzi de Carvalho F, et al. Characteristics and determinants of outcome of hospital-acquired bloodstream infections in intensive care units: the EUROBACT International Cohort Study. *Intensive Care Med*. 2012;38:1930–45.
- Paiva J-A, Pereira JM, Tabah A, Mikstacki A, de Carvalho FB, Koulenti D, et al. Characteristics and risk factors for 28-day mortality of hospital acquired fungemias in ICUs: data from the EUROBACT study. *Crit Care*. 2016;20:53.
- Kollef M, Micek S, Hampton N, Doherty JA, Kumar A. Septic shock attributed to candida infection: importance of empiric therapy and source control. *Clin Infect Dis*. 2012;54:1739–46.
- Blot SL, Vandewoude KH, De Waele JJ. Candida peritonitis. *Curr Opin Crit Care*. 2007;13:195–9.
- Grim SA, Berger K, Teng C, Gupta S, Layden JE, Janda WM, et al. Timing of susceptibility-based antifungal drug administration in patients with Candida bloodstream infection: correlation with outcomes. *J Antimicrob Chemother*. 2012;67:707–14.
- Bellmann R, Smuszkiewicz P. Pharmacokinetics of antifungal drugs: practical implications for optimized treatment of patients. *Infection*. 2017;45:737–79.
- Sinnalareddy M, Peake SL, Roberts MS, Lipman J, Roberts JA. Using pharmacokinetics and pharmacodynamics to optimise dosing of antifungal agents in critically ill patients: a systematic review. *Int J Antimicrob Agents*. 2012;39:1–10.
- Roberts JA, Lipman J. Pharmacokinetic issues for antibiotics in the critically ill patient. *Crit Care Med*. 2009;37:840–51.
- Zhao Y, Prideaux B, Nagasaki Y, Lee MH, Chen P-Y, Blanc L, et al. Unraveling drug penetration of echinocandin antifungals at the site of infection in an intra-abdominal abscess model. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017;61:e01009-17.
- Sinnalareddy MG, Roberts JA, Lipman J, Akova M, Bassetti M, De Waele JJ, et al. Pharmacokinetic variability and exposures of fluconazole, anidulafungin, and caspofungin in intensive care unit patients: data from multinational Defining Antibiotic Levels in Intensive care unit (DALI) patients Study. *Crit Care*. 2015;19:33.
- Jamal J-A, Roger C, Roberts JA. Understanding the impact of pathophysiological alterations during critical illness on drug pharmacokinetics. *Anaesth Crit Care Pain Med*. 2018;37:515–7.
- Muilwijk EW, Schouten JA, van Leeuwen HJ, van Zanten ARH, de Lange DW, Colbers A, et al. Pharmacokinetics of caspofungin in ICU patients. *J Antimicrob Chemother*. 2014;69:3294–9.
- Roger C, Wallis SC, Muller L, Saissi G, Lipman J, Brüggemann RJ, et al. Caspofungin Population Pharmacokinetics in Critically Ill Patients Undergoing Continuous Veno-Venous Haemofiltration or Haemodiafiltration. *Clin Pharmacokinet*. 2017;56:1057–68.
- Pfaller MA, Diekema DJ, Ostrosky-Zeichner L, Rex JH, Alexander BD, Andes D, et al. Correlation of MIC with outcome for candida species tested against caspofungin, anidulafungin, and micafungin: analysis and proposal for interpretive MIC breakpoints. *J Clin Microbiol*. 2008;46:2620–9.
- Horn DL, Neofytos D, Anaissie EJ, Fishman JA, Steinbach WJ, Olyaei AJ, et al. Epidemiology and outcomes of candidemia in 2019 patients: data from the prospective antifungal therapy alliance registry. *Clin Infect Dis*. 2009;48:1695–703.
- Bassetti M, Merelli M, Ansaldi F, de Florentiis D, Sartor A, Scarparo C, et al. Clinical and therapeutic aspects of candidemia: a five year single centre study. *PLoS ONE*. 2015;10:e0127534.

21. Montravers P, Mira J-P, Gangneux J-P, Leroy O, Lortholary O. A multicentre study of antifungal strategies and outcome of *Candida* spp. peritonitis in intensive-care units. *Clin Microbiol Infect.* 2011;17:1061–7.
22. Andes D, Diekema DJ, Pfaller MA, Bohrmuller J, Marchillo K, Lepak A. In vivo comparison of the pharmacodynamic targets for echinocandin drugs against candida species. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54:2497–506.
23. Shields RK, Nguyen MH, Press EG, Clancy CJ. Abdominal candidiasis is a hidden reservoir of echinocandin resistance. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58:7601–5.
24. Roberts DM, Roberts JA, Roberts MS, Liu X, Nair P, Cole L, et al. Variability of antibiotic concentrations in critically ill patients receiving continuous renal replacement therapy: a multicentre pharmacokinetic study. *Crit Care Med.* 2012;40:1523–8.
25. van der Elst KCM, Veringa A, Zijlstra Jan G, Beishuizen A, Klont R, Brummelhuis-Visser P, et al. Low caspofungin exposure in patients in the Intensive Care Unit. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017;61(2):e01582-e1616.
26. Gioia F, Gomez-Lopez A, Alvarez ME, Gomez-García de la Pedrosa E, Martín-Davila P, Cuenca-Estrella M, et al. Pharmacokinetics of echinocandins in suspected candida peritonitis: a potential risk for resistance. *Int J Infect Dis.* 2020;101:24–8.
27. Toulouse E, Lafont B, Granier S, Mcgurk G, Bazin J-E. French legal approach to patient consent in clinical research. *Anaesth Crit Care Pain Med.* 2020;39:883–5.
28. Montravers P, Dupont H, Leone M, Constantin J-M, Mertes P-M, Laterre P-F, et al. Guidelines for management of intra-abdominal infections. *Anaesth Crit Care Pain Med.* 2015;34:117–30.
29. US FDA. Guidance for Industry: Bioanalytical Method Validation. 2018; Rockville, MD: US Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Center for Veterinary Medicine (CVM).
30. Le Gall JR, Lemeshow S, Saulnier F. A new Simplified Acute Physiology Score (SAPS II) based on a European/North American multicenter study. *JAMA.* 1993;270:2957–63.
31. Vincent JL, de Mendonça A, Cantraine F, Moreno R, Takala J, Suter PM, et al. Use of the SOFA score to assess the incidence of organ dysfunction/failure in intensive care units: results of a multicenter, prospective study. Working group on “sepsis-related problems” of the European Society of Intensive Care Medicine. *Crit Care Med.* 1998;26:1793–800.
32. Neely MN, van Guilder MG, Yamada WM, Schumitzky A, Jelliffe RW. Accurate detection of outliers and subpopulations with Pmetrics, a nonparametric and parametric pharmacometric modeling and simulation package for R. *Ther Drug Monit.* 2012;34:467–76.
33. Tatarinova T, Neely M, Bartroff J, van Guilder M, Yamada W, Bayard D, et al. Two general methods for population pharmacokinetic modeling: non-parametric adaptive grid and non-parametric Bayesian. *J Pharmacokinet Pharmacodyn.* 2013;40:189–99.
34. Holford NHG, Anderson BJ. Allometric size: the scientific theory and extension to normal fat mass. *Eur J Pharm Sci.* 2017;109:S59–64.
35. Colin P, Eleveld DJ, Jonckheere S, Van Bocxlaer J, De Waele J, Vermeulen A. What about confidence intervals? A word of caution when interpreting PTA simulations. *J Antimicrob Chemother.* 2016;71:2502–8.
36. Pfaller MA, Messer SA, Woosley LN, Jones RN, Castanheira M. Echinocandin and triazole antifungal susceptibility profiles for clinical opportunistic yeast and mold isolates collected from 2010 to 2011: application of new CLSI clinical breakpoints and epidemiological cutoff values for characterization of geographic and temporal trends of antifungal resistance. *J Clin Microbiol.* 2013;51:2571–81.
37. Pfaller MA, Messer SA, Rhomberg PR, Castanheira M. CD101, a long-acting echinocandin, and comparator antifungal agents tested against a global collection of invasive fungal isolates in the SENTRY 2015 Antifungal Surveillance Program. *Int J Antimicrob Agents.* 2017;50:352–8.
38. Salsé M, Gangneux J-P, Cassaing S, Delhaes L, Fekkar A, Dupont D, et al. Multicentre study to determine the Etest epidemiological cut-off values of antifungal drugs in *Candida* spp. and *Aspergillus fumigatus* species complex. *Clin Microbiol Infect.* 2019;25:1546–52.
39. Adembri C, Villa G, Rosi E, Tofani L, Fallani S, De Gaudio AR, et al. Caspofungin PK in critically ill patients after the first and fourth doses: suggestions for therapeutic drug monitoring? *J Chemother.* 2020;32:124–31.
40. Stone JA, Xu X, Winchell GA, Deutsch PJ, Pearson PG, Migoya EM, et al. Disposition of caspofungin in relation to distribution in determining pharmacokinetics in plasma. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004;48:815–23.
41. Kurland S, Furebring M, Löwdin E, Eliasson E, Nielsen EI, Sjölin J. Pharmacokinetics of caspofungin in critically ill patients in relation to liver dysfunction: differential impact of plasma albumin and bilirubin levels. *Antimicrob Agents Chemother.* 2019;63:11.
42. Bailly S, Gautier-Veyret E, Lê MP, Bouadma L, Andremont O, Neuville M, et al. Impact of loading dose of caspofungin in PK/PD target attainment for severe candidiasis infections in ICU patients—the CASPOLOAD study. *Antimicrob Agents Chemother.* 2020;64(12):e01545-e1620.
43. Grau S, Luque S, Campillo N, Samsó E, Rodríguez U, García-Bernedo CA, et al. Plasma and peritoneal fluid population pharmacokinetics of micafungin in post-surgical patients with severe peritonitis. *J Antimicrob Chemother.* 2015;70:2854–61.
44. Nguyen TH, Hoppe-Tichy T, Geiss HK, Rastall AC, Swoboda S, Schmidt J, et al. Factors influencing caspofungin plasma concentrations in patients of a surgical intensive care unit. *J Antimicrob Chemother.* 2007;60:100–6.
45. Mårtson A-G, van der Elst KCM, Veringa A, Zijlstra JG, Beishuizen A, van der Werf TS, et al. Caspofungin weight-based dosing supported by a population pharmacokinetic model in critically ill patients. *Antimicrob Agents Chemother.* 2020;64:e00905-e920.
46. Anderson BJ, Holford NHG. Mechanism-based concepts of size and maturity in pharmacokinetics. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2008;48:303–32.
47. Alobaid AS, Hites M, Lipman J, Taccone FS, Roberts JA. Effect of obesity on the pharmacokinetics of antimicrobials in critically ill patients: a structured review. *Int J Antimicrob Agents.* 2016;47:259–68.
48. Betts RF, Nucci M, Talwar D, Gareca M, Queiroz-Telles F, Bedimo RJ, et al. A multicenter, double-blind trial of a high-dose caspofungin treatment regimen versus a standard caspofungin treatment regimen for adult patients with invasive candidiasis. *Clin Infect Dis.* 2009;48:1676–84.
49. Cornely OA, Vehreschild JJ, Vehreschild MJGT, Würthwein G, Arenz D, Schwartz S, et al. Phase II dose escalation study of caspofungin for invasive aspergillosis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011;55:5798–803.
50. Würthwein G, Cornely OA, Trame MN, Vehreschild JJ, Vehreschild MJGT, Farowski F, et al. Population pharmacokinetics of escalating doses of caspofungin in a phase II study of patients with invasive aspergillosis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57:1664–71.
51. Sasso M, Roger C, Sasso M, Poujol H, Barbar S, Lefrant J-Y, et al. Changes in the distribution of colonising and infecting *Candida* spp. isolates, antifungal drug consumption and susceptibility in a French intensive care unit: a 10-year study. *Mycoses.* 2017;60:770–80.
52. Andes D, Ambrose PG, Hammel JP, Van Wart SA, Iyer V, Reynolds DK, et al. Use of pharmacokinetic-pharmacodynamic analyses to optimize therapy with the systemic antifungal micafungin

- for invasive candidiasis or candidemia. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011;55:2113–21.
53. Delaloye J, Calandra T. Invasive candidiasis as a cause of sepsis in the critically ill patient. *Virulence.* 2014;5:161–9.
54. Tascini C, Sozio E, Di Paolo A, Tintori G, Leonildi A, Bertolino G, et al. Fungicidal activity and PK/PD of caspofungin as tools to guide antifungal therapy in a fluconazole-resistant *C. parapsilosis* candidemia. *J Chemother.* 2017;29:376–9.

## **10 Pharmacocinétique de la micafungine chez le modèle porcin endotoxinique : ce modèle est-il transposable à l'humain ?**

Le modèle porcin présente de grandes similitudes par rapport à l'Homme et permet de reproduire la prise en charge clinique des patients de réanimation. C'est un modèle de choix pour étudier la PK d'anti-infectieux dans le cadre d'un sepsis [8,152].

Etudier la PK de la micafungine sur ce modèle permettrait de démontrer que le modèle porcin endotoxinique peut prédire la PK de la micafungine chez les patients septiques. Si cette hypothèse se confirme, ce modèle pourrait être utilisé dans la recherche de posologies optimales d'antifongiques en amont de l'obtention de l'AMM.

### **10.1 Article 4 : PK de la micafungine chez un modèle porcin sain et septique : le modèle porcin septique peut-il prédire la PK de la micafungine chez le patient septique ?**

#### **10.1.1 Résumé**

Le but de ce travail a été de décrire l'altération PK de la micafungine due au sepsis induit sur le porcelet et de déterminer si le modèle porcin septique est capable de prédire la PK plasmatique et péritonéale de la micafungine chez le patient septique.

Des analyses de pharmacocinétique de population sur Monolix® ont permis de décrire dans un premier temps la PK de la micafungine dans un groupe de 8 cochons sains et de 16 cochons septiques recevant une dose unique de 37,5 mg (1,25 mg/kg). Dans un second temps, la capacité du modèle porcin septique à prédire les concentrations plasmatiques humaines a été étudiée à partir d'un modèle combinant les profils PK de 16 cochons septiques et de 16 patients septiques. Parmi ces 16 patients septiques, la moitié d'entre eux ont été utilisés afin de caractériser le modèle PK tandis que l'autre moitié a été utilisée afin de réaliser une validation externe. Enfin, la pénétration de la micafungine dans la cavité péritonéale a été évaluée à partir des concentrations plasmatiques et péritonéales entre 8 et 12h après administration, compte tenu du manque de données péritonéales en dehors de ces temps de prélèvements.

Chez le modèle porcin septique, la  $CL_t$  est légèrement réduite par rapport au porcelet sain (0,84 vs 0,74 L/h) tandis que le  $V_d$  augmente légèrement (11,7 vs 12,28 L). Le  $V_p$  est notamment augmenté (5,78 vs 7,88 L) et la clairance intercompartimentale est plus rapide (3,88 vs 5,74 L/h). La diffusion péritonéale augmente également de 61 % à 90 % en se basant sur le rapport d'ASC<sub>8-12h</sub> péritonéale/plasma.

La combinaison des deux populations septiques humaine et porcine a permis d'estimer le coefficient de la relation allométrique basée sur le poids des espèces d'une valeur de 0,72 sur le  $V_c$ . La  $CL_t$  des deux espèces est de 0,73 L/h, avec une clairance intercompartimentale de 5,69 L/h. Le  $V_c$  est de 4,46 L pour le modèle porcin septique et de 8,21 L pour le patient septique avec un  $V_p$  de 7,58 L pour les deux espèces. La diffusion péritonéale, est toutefois doublée chez le modèle porcin septique (90 % contre 40 %).

En conclusion, le sepsis induit sur le modèle porcin altère comme chez l'Homme la PK de la micafungine. De plus, cette dernière est similaire entre ces deux espèces au niveau plasmatique en prenant en considération la relation allométrique du poids de l'espèce sur le volume de distribution central. Le modèle porcin permettrait donc de prédire la PK de la micafungine chez le patient septique au niveau plasmatique. Toutefois, des études complémentaires sur la diffusion péritonéale seraient nécessaires afin de confirmer ces résultats et afin d'identifier les facteurs explicatifs de cette différence inter-espèce.

#### **10.1.2 Article 4**

Cet article a été publié dans le journal *Pharmaceutical Research*. Les matériels supplémentaires sont présentés en annexe 4.



RESEARCH PAPER

## Micafungin Population PK Analysis in Healthy and Septic Pigs: Can the Septic Porcine Model Predict the Micafungin PK in Septic Patients?

Nicolas Garbez<sup>1,2,3</sup> · Litaty C. Mbatchi<sup>2,4</sup> · Guillaume Louart<sup>1,3</sup> · Steven C. Wallis<sup>5</sup> · Laurent Muller<sup>1,3</sup> · Jeffrey Lipman<sup>3,5,6</sup> · Jason A. Roberts<sup>3,5,6,7,8</sup> · Jean-Yves Lefrant<sup>1,3</sup> · Claire Roger<sup>1,3</sup>

Received: 8 September 2021 / Accepted: 5 November 2021 / Published online: 29 November 2021

© The Author(s), under exclusive licence to Springer Science+Business Media, LLC, part of Springer Nature 2021

### ABSTRACT

**Objectives** To describe micafungin pharmacokinetic (PK) alterations of sepsis induced in piglets and to determine whether the porcine septic model is able to predict the PK of micafungin in septic patients at the plasma and peritoneal sites.

**Methods** From healthy (n=8) and septic piglet group (n=16), total micafungin concentrations were subject to a population PK analysis using Monolix®. Data from 16 septic humans patients from others studies was used to compare micafungin PK between septic piglets and septic patients.

**Results** Sepsis induced in piglets slightly alters the total clearance and the volume of distribution, while inter-compartment clearance is increased (from 3.88

to 5.74 L/h) as well as the penetration into peritoneal cavity (from 61 to 90%). In septic human patients, PK parameters are similar except for the Vd, which is corrected by an allometric factor based on the body weight of each species. Micafungin penetration into peritoneal cavity of humans is lower than in septic piglets (40 versus 90%).

**Conclusions** The sepsis induced in the porcine model alters the PK of micafungin comparable to that in humans. In addition, micafungin PK is similar between these two species at the plasma level taking into account the allometric relationship of the body weight of these species on the central volume of distribution. The porcine septic plasma model would be able to predict the micafungin PK in the septic patients. However, further studies on peritoneal penetration are necessary to characterize this inter-species difference.

**KEY WORDS** cross-species extrapolation · echinocandins · pharmacokinetics modelling · piglet model · sepsis

**Supplementary Information** The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1007/s11095-021-03137-2>.

✉ Nicolas Garbez  
nicolas.garbez@umontpellier.fr

<sup>1</sup> Service Des Réanimations, Pôle Anesthésie Réanimation Douleur Urgence, CHU Nîmes, Nîmes, France

<sup>2</sup> Laboratoire de Pharmacocinétique, Faculté de Pharmacie, Université de Montpellier, Montpellier, France

<sup>3</sup> UR-UM 103: IMAGINE (Initial Management And Prévention of orGan Failures IN Critically Ill patiEnts), Faculté de Médecine, Université de Montpellier, Montpellier, France

<sup>4</sup> Laboratoire de Biochimie, Centre Hospitalier

Universitaire (CHU) of Nîmes, Hôpital Carêmeau, Nîmes, France

<sup>5</sup> UQ Centre for Clinical Research, The University of Queensland, Brisbane, QLD, Australia

<sup>6</sup> Jamieson Trauma Institute and Intensive Care Services, Royal Brisbane and Womens' Hospital, Brisbane, QLD, Australia

<sup>7</sup> Centre for Translational Anti-Infective Pharmacodynamics, School of Pharmacy, The University of Queensland, Brisbane, QLD, Australia

<sup>8</sup> Pharmacy Department, Royal Brisbane and Womens' Hospital, Brisbane, QLD, Australia

### Hemodynamic Data

Hemodynamic data were collected from the transpulmonary thermodilution PiCCO™ and the pulse contour PiCCO™ analysis at T0, T6 and T12 (supplemental material S1).

### Sample Handling and Storage

Blood samples ( $n=182$  with  $n(\text{control group})=70$  and  $n(\text{septic group})=112$ ) and peritoneal fluid samples ( $n=48$  with  $n(\text{control group})=22$  and  $n(\text{septic group})=26$ ) were immediately placed on ice and centrifuged at 3000 rpm for 10 min and then stored at  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Samples were transported (with a temperature log on dry ice) by a commercial courier company to the University of Queensland Centre of Clinical Research, The University of Queensland, Brisbane, Queensland, Australia, for analysis.

### Drug Assay

Total micafungin concentrations in plasma and peritoneal fluid were measured by a validated ultra-high pressure liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UHPLC-MS/MS) method, from 0.2 to 20 mg/L, on a Shimadzu Nexera 2 UHPLC coupled to a Shimadzu 8050+ triple quadrupole mass spectrometer (Shimadzu, Kyoto, Japan). Clinical samples were assayed alongside calibrators and quality controls and met batch acceptance criteria (15). The overall intra- and interday precision and accuracy were within 15%. The assay was linear over the concentration range of 0.2–20 mg/L, with 0.2 mg/L being the lower limit of quantification (LLOQ) of the method. Only one peritoneal concentration in healthy pig group at 20 h was below the LLOQ, which was set to 0.15 mg/L considering the rest of concentration profiles.

### PK Analyses

The concentration–time data of each piglet group were analysed using the Stochastic Approximation Expectation–Maximization (SAEM) algorithm implemented in Monolix 2020R1 software (16). PK models with two and three-compartment were tested, including constant, proportional and combined error models and the Between-Subject Variability (BSV) on each PK parameter. Given the greater number of observed concentrations between 8 and 12 h, penetration into peritoneal cavity was assessed by observed  $\text{AUC}_{8-12\text{ h}}$  peritoneal fluid/plasma ratio calculated from patients with both peritoneal and plasma concentrations available. Also,

the data set from Garbez *et al.* (17, 18) were used to compare micafungin PK between septic pig model and septic patients, where a total of 16 septic patients were treated with the standard 100 mg daily dosing of micafungin for invasive candidiasis.

### Population PK Models Evaluation

Model selection was initially based on the objective function value computed as  $-2 \log$  likelihood ( $-2\text{LL}$ ) or on the Akaike information criterion (AIC), where a decrease in  $-2\text{LL}$  and/or AIC of  $\geq 3.84$  was considered significant (Chi-squared  $[\chi^2]$ , 1 degree of freedom,  $p < 0.05$ ). In addition, goodness of fit was assessed with observed-predicted plots and the residual standard error (RSE) of PK parameters. Finally, the validation of the PK models was applied to visual predictive check (VPC). Furthermore, the PK model which compared septic pig model and septic patients used a half of the data set from Garbez *et al.* (17, 18) for internal validation, while the other half was used for external validation.

## RESULTS

### Healthy Versus Sepsis Pig Model

Twenty-four piglets with a median (min–max) of 31 (28–36) kg were included in this study, which were divided to healthy group ( $n=8$ ) and septic group ( $n=16$ ). Hemodynamics data are illustrated in supplemental material S1. In septic group, 14 deaths occurred before the end of the experiment, while none occurred in healthy group. Observed plasma and peritoneal fluid concentrations of micafungin of each group are displayed in Fig. 1. The observed  $\text{AUC}_{8-12\text{ h}}$  peritoneal fluid/plasma ratio indicated a mean (standard deviation, SD) micafungin penetration into peritoneal fluid of 61% (15%) for healthy pigs and 90% (23%) for sepsis pigs (supplemental material S2).

Micafungin plasma data of each group were best described by a two-compartment model with linear elimination and a proportional error model (diagnostic plots are shown in supplemental material S3 and S4). PK parameters of healthy and sepsis pigs are illustrated in Table I.

### Septic Pig Model Versus Septic Patients

The septic pig group ( $n=16$ ) was compared to septic patient group ( $n=16$ ), with the micafungin concentration time course in plasma and peritoneal fluid shown in

## INTRODUCTION

Preclinical models have been widely used with the ultimate goals of improving the underlying mechanisms of the disease and exploring new therapeutic approaches. However, no preclinical animal model is dedicated to evaluate drug pharmacokinetics (PK) in septic patients. Such a model could reduce the number of studies needed in septic patients in addition to propose, after the marketing authorization, adequate initial anti-infective therapy essential to improve the prognosis of intensive care unit (ICU) patients. An animal model of sepsis induced under standardized animal ICU environments (antibiotics, monitoring, organ support technics) will overcome the lacking translation of animal experiments into clinical practice (1, 2).

The porcine model has great genetic, anatomical, physiological and immune similarities compared to humans (3). This is a relevant model to study the cardiovascular system or drug distribution and elimination. Also, the porcine model shows sensitivity to endotoxins and tissue antigenicity comparable to humans (4). Mostly, the size of the pig allows reproduction of ICU environments. Furthermore, this animal model enables repetitive blood sampling, which allows reduction of animal consumption as recommended by the “3R” principles (replace, reduce, refine) (5). All of these characteristics make it a relevant model for the study of drug PK in sepsis (3, 6).

In critically ill patients, PK of drugs can be altered by several pathophysiological changes (sepsis, hepatic and/or renal dysfunction, extracorporeal organ support, hypoalbuminemia, altered capillary permeability, fluid balance) (7, 8) as well as by impaired tissue penetration and presence of indwelling surgical drains. Septic shock represents up to 30% of ICU admissions (9). Fungal infections are incriminated in twenty percent of those infections, mostly due to *Candida species* (7, 10). Echinocandins are recommended as first-line treatment for invasive candidiasis including candidemia or fungal peritonitis in critically ill patients (11, 12). Micafungin, an echinocandin, exhibits broad spectrum fungicidal activity against *Candida species* and a prolonged post-antifungal effect (13). This well-known antifungal is a relevant choice to evaluate the PK translation from septic pig to septic patients.

Thus, the goal of our study was to describe from population PK analyses the micafungin PK alteration of sepsis induced in piglets and to determine whether the porcine septic model is able to predict the PK of micafungin in the septic patient at the plasma and peritoneal level.

## MATERIALS AND METHODS

### Setting

This study was conducted as a prospective experimental trial in a piglet model. The Animal Care and Use Committee Languedoc-Roussillon (CEEA-LR-12013) approved the protocol and all experiments were performed in an authorized animal research laboratory. All facilities and transport comply with current legal requirements.

### Study Protocol

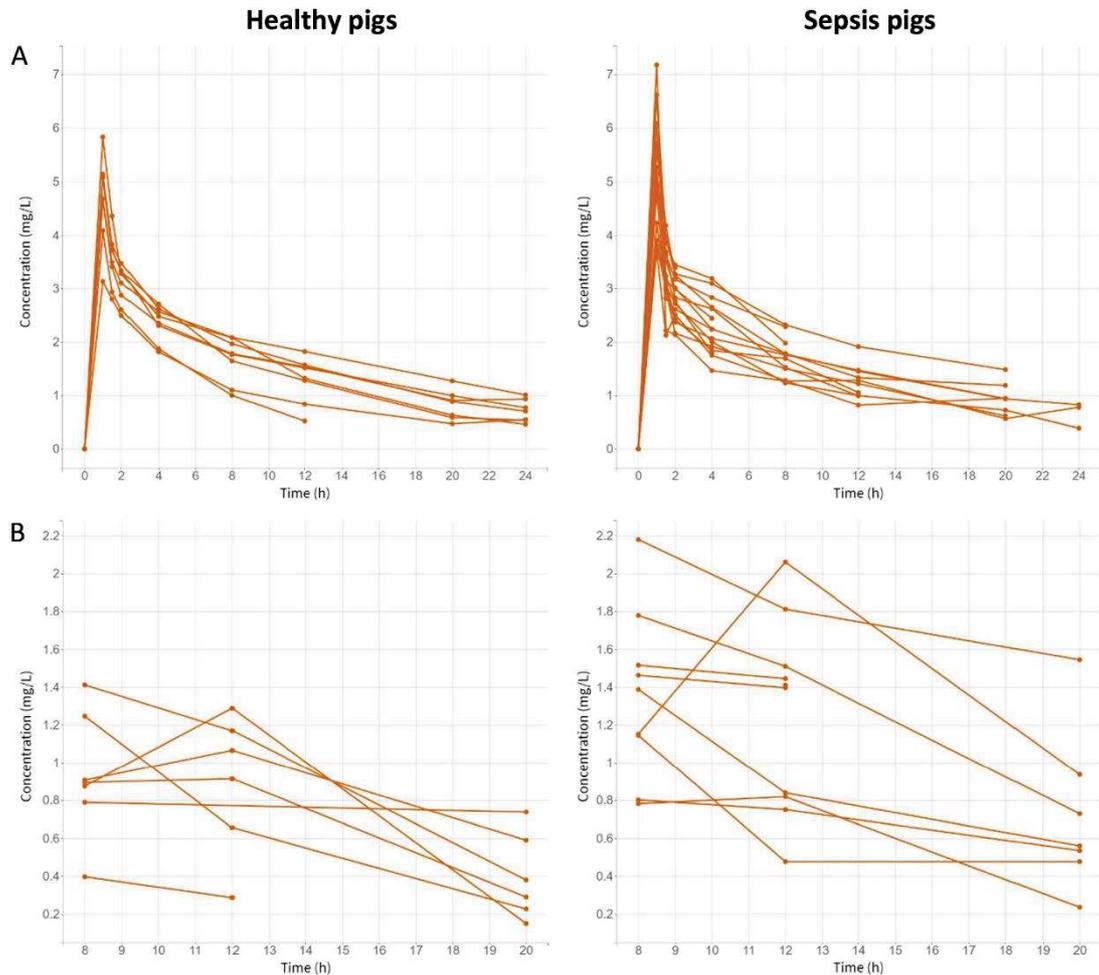
Female piglets were fasted overnight prior to the experiment, with free access to water. After intramuscular premedication (midazolam (1 mg/kg), ketamine (10 mg/kg) and atropine (0.005 mg/kg)), the animals were intravenously anesthetized with propofol (bolus of 4 mg/kg followed by 8 mg/kg/h) and sufentanil (10 µg followed by 10 µg/h) and mechanically ventilated after surgical tracheotomy with an inspired fraction of oxygen of 0.21, a tidal volume of 8 mL/kg, a positive end-expiratory pressure of 5 cm H<sub>2</sub>O delivered by a Dräger™ ventilator. An internal jugular central venous line and a PiCCO™ femoral arterial catheter were inserted under ultrasound guidance. A urinary catheter was surgically placed in the bladder by a mid-line mini-laparotomy. Basal hydration with glucidion G5 at 60 ml/h was infused during the whole experiment.

After surgical preparation, animals were stabilized for 30 min and were then assigned to one of the two groups: the septic group (LPS injection) and a control group (no LPS injection).

At T<sub>2</sub>, an endotoxin shock was induced by infusing an *Escherichia coli* O111:B4 lipopolysaccharide (4%) at a dose of 150 µg/kg over 30 min (14). Then, a dose of 37.5 mg of micafungin (1.25 mg/kg, an equivalent dose to 100 mg in septic patients) was administered intravenously over 1 h (T<sub>0</sub> to T<sub>1</sub>) in each group.

Blood samples and peritoneal fluid samples, collected from surgical drains, were drawn. Before each peritoneal sample was obtained, the reservoir of the drain was emptied and fresh peritoneal fluid was collected over the sample period. These samples were used to determine total plasma concentrations at baseline (pre-dose) and 1, 1.5, 2, 4, 8, 12, 20, 24 h after the start of micafungin infusion and peritoneal concentrations were measured at 8, 12 and 20 h.

Euthanasia was performed at the end of the experiment under general anesthesia with an overdose of thiopental (60 à 80 mg/kg).



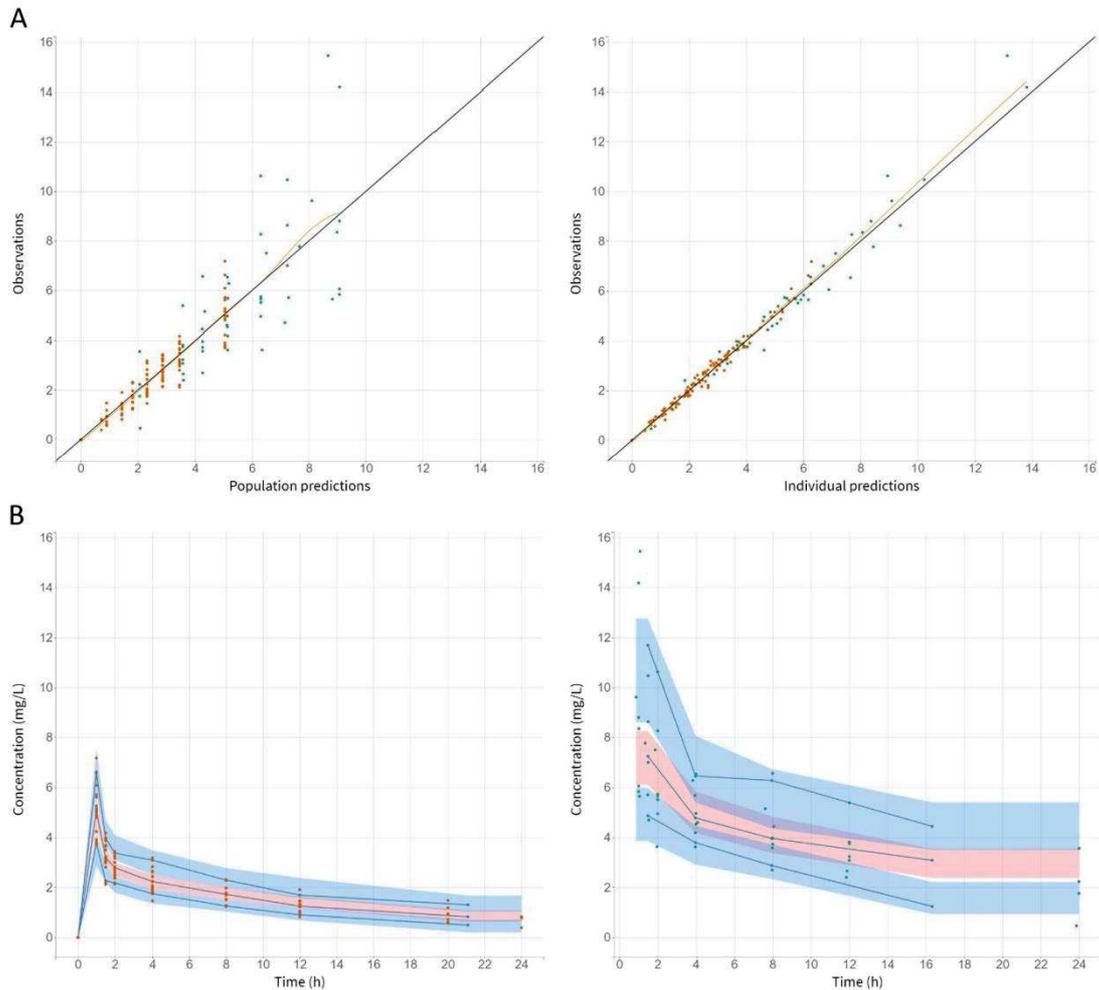
**Fig. 1** Observed concentrations of micafungin over time in healthy and sepsis pigs. **(a)** Plasma. **(b)** Peritoneal fluid. Orange circle: observed concentration in pigs (37.5 mg of micafungin). Filled line: PK profil.

Fig. 2. The observed  $AUC_{8-12\text{ h}}$  peritoneal fluid/plasma ratio indicated a mean (SD) micafungin penetration into peritoneal fluid of 90% (23%) for septic pigs and 40% (15%) for septic patients (supplemental material S2), while mean peritoneal concentration between 8 and 12 h post administration were 1.47 (0.69) mg/L and 1.30 (0.47) mg/L respectively.

From a dataset combining the septic pig group and a half of the septic patient group, a two-compartment model with linear elimination and a proportional error model best described the micafungin plasma concentration. Internal validation with observed *versus* population

and individual predicted concentrations and a visual predicted check (VPC) are displayed in Fig. 3. The other half of septic patient group were used for external validation, as illustrated in Fig. 4.

The micafungin PK model combining these both species included an allometric factor based on the body weight of each species (to the power of  $\beta$ ) (19) applied to the Vc, where the body weight (BW) was supposed to be 70 kg for sepsis patient and 30 kg for sepsis pig model. PK parameters are shown in Table II, while the micafungin Vc including allometric factor was described below:



**Fig. 3** Internal validation—Diagnostic plots and VPC for the final model. **(a)** Observed versus population and individual predicted micafungin concentration in plasma. **(b)** Visual predicted check (VPC) for pig and human. Orange circle: observed concentration in pigs (37.5 mg of micafungin). Turquoise circle: observed concentration in humans (100 mg of micafungin). **(a)** – Filled black line: identity line. Yellow curve: spline. **(b)** – Blue lines: observed percentiles (5<sup>th</sup>, 50<sup>th</sup> and 90<sup>th</sup> percentiles), Blue and pink fields: Confidence intervals around the predicted 5<sup>th</sup>, 50<sup>th</sup> and 90<sup>th</sup> percentiles.

cytochrome P450 in human (13). Micafungin PK is supposed to be equivalent between both species considering all their similarities (3). Thus, A two-compartment model best described micafungin population PK in plasma in the piglet model, similar to that demonstrated for humans (20–23). Sepsis induced in the porcine model slightly reduced  $CL_t$  (from 0.84 to 0.74 L/h) and slightly increased  $V_d$ , especially for  $V_p$  (from

5.78 to 7.88 L). Also,  $Q$  remains the greatest altered PK parameter by sepsis induced (from 3.88 to 5.74 L/h), as suggested by the highest peritoneal concentrations in the septic piglet model compared to healthy piglets, the latter associated with a high (from 61 to 90%) penetration of micafungin into peritoneal fluid. These PK alterations are in line with sepsis pathophysiology, especially that associated with increased capillary permeability (1).

**Table 1** Population Pharmacokinetic Estimates Parameters For Healthy and Sepsis Pigs

Healthy pig			Sepsis pig		
Parameter	Estimate	R.S.E (%)	Parameter	Estimate	R.S.E (%)
CL <sub>t</sub> (L/h)	0.84	12.0	CL <sub>t</sub> (L/h)	0.74	7.96
V <sub>c</sub> (L)	5.92	10.2	V <sub>c</sub> (L)	4.4	12.0
V <sub>p</sub> (L)	5.78	16.3	V <sub>p</sub> (L)	7.88	9.25
Q (L/h)	3.88	10.5	Q (L/h)	5.74	8.62
Between subject variability			Between subject variability		
CL <sub>t</sub>	0.34	25.5	CL <sub>t</sub>	0.23	26.9
V <sub>c</sub>	0.19	31.8	V <sub>c</sub>	0.33	25.8
V <sub>p</sub>	0.22	41.7	V <sub>p</sub>	0.26	24.3
Residual Error			Residual Error		
Proportional	0.079	11.4	Proportional	0.11	9.59

CL<sub>t</sub>: Total clearance. V<sub>c</sub>: Volume of distribution of the central compartment. V<sub>p</sub>: Volume of distribution of the peripheral compartment. Q: Inter-compartment clearance. R.S.E: Residual standard error

$$\text{Micafungin } V_{c, \text{sepsis, species}} = \text{Typical value of } V_c \times \left( \frac{BW_{\text{species}}}{30} \right)^{0.72}$$

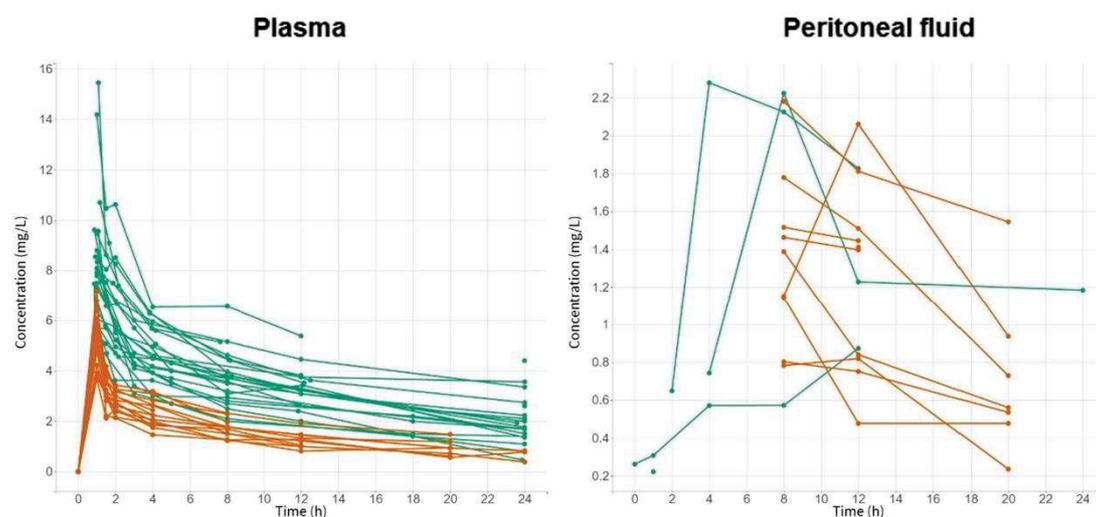
$$\begin{aligned} \text{With : } V_{c, \text{sepsis, pig}} &= \text{Typical value of } V_c; V_{c, \text{sepsis, patient}} \\ &= V_{c, \text{sepsis, pig}} \times \left( \frac{70}{30} \right)^{0.72} \end{aligned}$$

## DISCUSSION

This is the first exploratory study focusing on the alteration of micafungin PK in the septic piglet model and

its ability to predict PK in septic patients at the plasma and peritoneal level. The current study demonstrates a slight alteration of the total clearance (CL<sub>t</sub>) and the volume of distribution (V<sub>d</sub>) with a higher inter-compartmental clearance (Q) and a higher micafungin penetration into peritoneal cavity in piglet model with sepsis. As a main finding, micafungin PK is similar between the septic piglet model and septic patients, except for the volume of distribution of the central compartment (V<sub>c</sub>) which is corrected by an allometric factor based on body weight of these species.

Micafungin is a hydrophobic drug mainly eliminated by hepatic pathway, with minor implication of



**Fig. 2** Observed concentrations of micafungin over time in plasma in sepsis humans and sepsis pigs. Orange circle: observed concentration in pigs (37.5 mg of micafungin). Turquoise circle: observed concentration in humans (100 mg of micafungin). Filled line: PK profil.

**Table II** Population Pharmacokinetic Estimates Parameters for Sepsis Pig and Human

Parameter	Estimate	R.S.E (%)
CL <sub>t</sub> (L/h)	0.73	8.32
V <sub>c</sub> (L)	4.46	12.4
B <sub>Vc</sub>	0.72	30.4
V <sub>p</sub> (L)	7.58	7.59
Q (L/h)	5.69	8.45
Between subject variability		
CL <sub>t</sub>	0.33	18.6
V <sub>c</sub>	0.39	18.6
V <sub>p</sub>	0.27	23.2
Residual Error		
Proportional	0.12	7.61

CL<sub>t</sub>: Total clearance. V<sub>c</sub>: Volume of distribution of the central compartment. B<sub>Vc</sub>: Extrapolation factor of V<sub>c</sub> from pig to human. Q: Inter-compartment clearance. V<sub>p</sub>: Volume of distribution of the peripheral compartment. R.S.E: Residual standard error

The present study also demonstrated linear micafungin PK between each species (37.5 mg for porcine model *versus* 100 mg for human). Notably, the PK parameters are similar except for V<sub>c</sub>, which can be estimated by an allometric factor based on the body weight of each species (to the power of 0.72), and similarly CL<sub>t</sub> given the similarities between piglets and humans (3, 24). Theoretically, if micafungin is metabolized in the piglet by the same hepatic enzymes as in human, it should be present in higher amounts. Alternatively, different liver enzymes such as cytochrome P450 might play a role in micafungin metabolism in piglets compared to humans. Further studies are necessary to better characterize hepatic enzymes implicated in elimination pathways of various drugs in the piglet model.

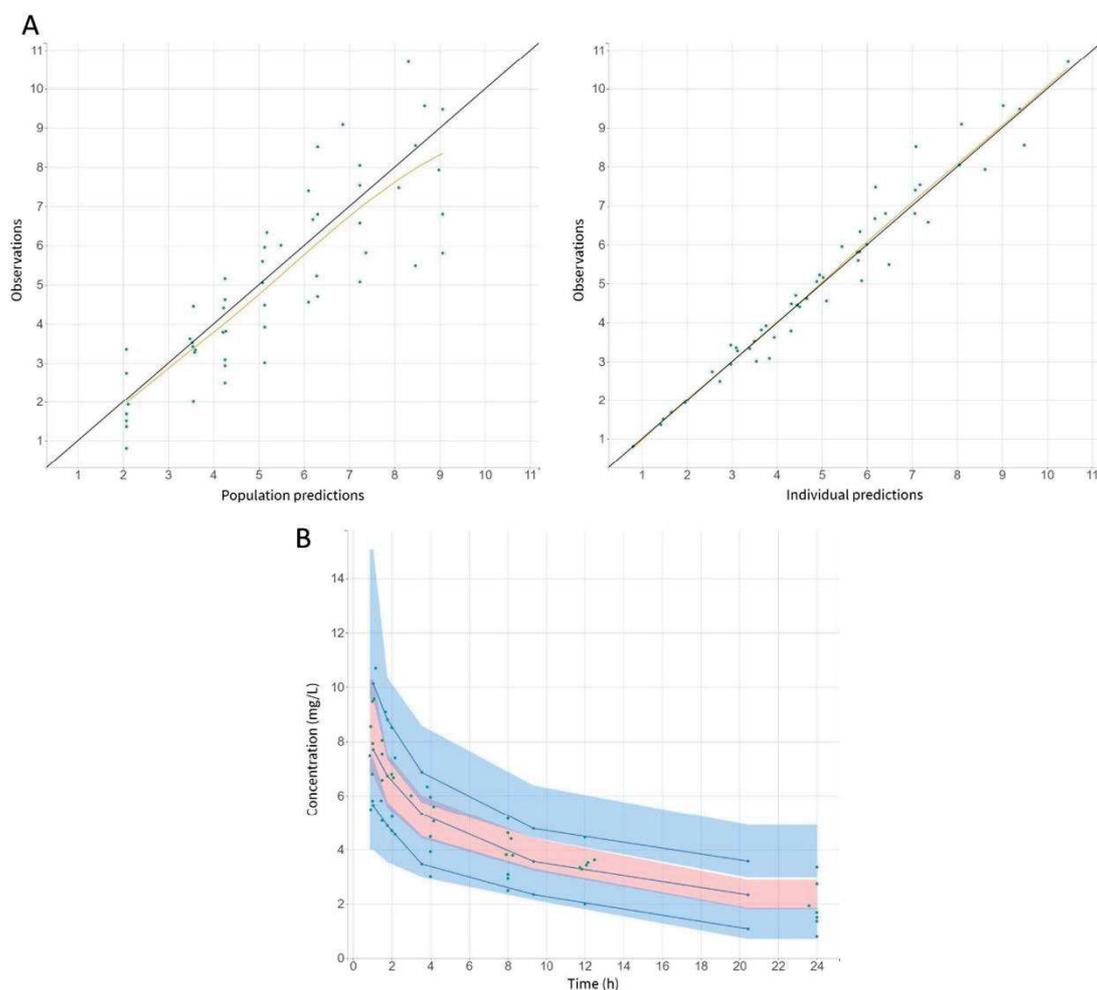
The greatest difference between septic patients and the septic porcine model is the moderate (40%) and high (90%) micafungin penetration into peritoneal fluid respectively, while mean peritoneal concentration is really close between each species (1.47 *vs* 1.30 mg/L). Such a difference could be explained by several non-linear PK processes from plasma to peritoneal cavity such as transport saturation even in sepsis state, which could be less important than in the healthy state (90 *versus* 61% of micafungin penetration in septic piglet model and healthy piglet respectively). The different protein binding of micafungin within different species does not explain the difference in micafungin penetration into peritoneal cavity (90 *versus* 40% of micafungin penetration in septic piglet model and septic patients

respectively). Indeed, a reduced protein binding should be associated with higher CL<sub>t</sub> and V<sub>d</sub>, which are not the current results. Finally, the difference in micafungin penetration into peritoneal fluid between each species could be due to the endotoxin shock procedure, which could induce a different degree of inflammation of the peritoneal cavity compared to sepsis due to fungal infection. All these hypotheses should be confirmed in further studies.

Micafungin PK in plasma is well predicted by the septic piglet model, while further studies are necessary to better understand distribution and elimination PK processes of this animal model. Over the long term, a more mechanistic model such as a PBPK model (Physiology Based Pharmacokinetic) will be attractive to best describe these PK processes of penetration into different organs (25). Such preclinical models of sepsis, which can be under standardized ICU conditions (2), could be used to predict the drug PK in septic patients before the marketing authorization in order to propose adequate initial anti-infective therapy for ICU patients.

There are several limitations to this study. Firstly, relatively few biological data (serum albumin level, serum lactate level, serum creatinine level, liver enzymes) were available which possibly prevented us from finding correlations between the sepsis state and the PK parameters of each species. Hence, further larger studies of micafungin PK in the septic piglet model with reasonable biological collection data are required to adequately investigate these correlations. Secondly, peritoneal samples are more challenging to collect over time due to the early withdrawal of the surgical drains. Nevertheless, more studies are needed to improve our knowledge of the penetration into the peritoneal cavity. Thirdly, given the high protein binding of micafungin, measuring unbound concentrations of micafungin may be informative. However, even while using very sensitive UHPLC-MS/MS, such assays remain highly challenging and were not available for this study.

In conclusion, the septic state induced in the porcine model alters the micafungin PK as in humans. In addition, micafungin PK is similar between these two species at the plasma level taking into account the allometric relationship of the body weight of these species on the central volume of distribution. The porcine septic model is able to predict human plasma concentrations of micafungin. However, further studies on peritoneal diffusion are necessary to confirm these results and characterize the origin of this inter-species difference.



**Fig. 4** External validation—Diagnostic plots and VPC for the final model. **(a)** Observed versus population and individual predicted micafungin concentration in plasma. **(b)** Visual predicted check (VPC) for pig and human. Turquoise circle: observed concentration in humans (100 mg of micafungin). **(a)**— Filled black line: identity line. Yellow curve: spline. **(b)**— Blue lines: observed percentiles (5<sup>th</sup>, 50<sup>th</sup> and 90<sup>th</sup> percentiles). Blue and pink fields: Confidence intervals around the predicted 5<sup>th</sup>, 50<sup>th</sup> and 90<sup>th</sup> percentiles.

**Funding** This study was supported by an academic funding from the Nîmes University Hospital to conduct this work.

#### Declarations

Jeffrey Lipman received honoraria from MSD and Pfizer and received Institution support from MSD. Claire Roger received consultancy fees from MSD, Pfizer, and Fresenius Medical Care. Nicolas Garbez, Litaty Mbachi, Guillaume Louart, Steven C. Wallis, Laurent Muller, Jason A. Roberts, Jean-Yves Lefrant have no conflict of interest to declare.

#### REFERENCES

1. Angus DC, van der Poll T. Severe Sepsis and Septic Shock. *N Engl J Med*. 29 août 2013;369(9):840–51.
2. Guillon A, Preau S, Aboab J, Azabou E, Jung B, Silva S, et al. Preclinical septic shock research: why we need an animal ICU. *Ann Intensive Care* déc. 2019;9(1):66.
3. Swindle MM, Makin A, Herron AJ, Clubb FJ, Frazier KS. Swine as models in biomedical research and toxicology testing. *Vet Pathol* mars. 2012;49(2):344–56.

4. Mair KH, Sedlak C, Käser T, Pasternak A, Levast B, Gerner W, et al. The porcine innate immune system: an update. *Dev Comp Immunol* août. 2014;45(2):321–43.
5. Balls M, Goldberg AM, Fentem JH, Broadhead CL, Burch RL, Festing MFW, et al. The Three Rs: The Way Forward. *ATLA*. 1995;23:838–66.
6. Meurens F, Summerfield A, Nauwynck H, Saif L, Gerdt V. The pig: a model for human infectious diseases. *Trends Microbiol* janv. 2012;20(1):50–7.
7. Sinnollareddy M, Peake SL, Roberts MS, Lipman J, Roberts JA. Using pharmacokinetics and pharmacodynamics to optimise dosing of antifungal agents in critically ill patients: a systematic review. *Int J Antimicrob Agents* janv. 2012;39(1):1–10.
8. Roberts JA, Lipman J. Pharmacokinetic issues for antibiotics in the critically ill patient: *Crit Care Med*. mars 2009;37(3):840–51.
9. Vincent J-L, Sakr Y, Sprung CL, Ranieri VM, Reinhart K, Gerlach H, et al. Sepsis in European intensive care units: Results of the SOAP study\*. *Crit Care Med* févr. 2006;34(2):344–53.
10. Vincent J-L. International Study of the Prevalence and Outcomes of Infection in Intensive Care Units. *JAMA*. 2 déc 2009;302(21):2323.
11. Pappas PG, Rotstein CMF, Betts RF, Nucci M, Talwar D, Waele JJD, et al. Micafungin versus caspofungin for treatment of candidemia and other forms of invasive Candidiasis. *Clin Infect Dis*. 2007;45(7):883–93.
12. Solomkin JS, Mazuski JE, Bradley JS, Rodvold KA, Goldstein EJC, Baron EJ, et al. Diagnosis and management of complicated intra-abdominal infection in adults and children: guidelines by the surgical infection society and the infectious diseases society of America. *Clin Infect Dis*. 15 janv 2010;50(2):133–64.
13. Wasmann RE, Muilwijk EW, Burger DM, Verweij PE, Knibbe CA, Brüggemann RJ. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of micafungin. *Clin Pharmacokinet* mars. 2018;57(3):267–86.
14. Aboab J, Sebille V, Jourdain M, Mangalaboyi J, Gharbi M, Mansart A, et al. Effects of esmolol on systemic and pulmonary hemodynamics and on oxygenation in pigs with hypodynamic endotoxin shock. *Intensive Care Med* août. 2011;37(8):1344–51.
15. Food and Drug Administration. Guidance for industry: bio-analytical method validation. 2018;Rockville: U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Center for Veterinary Medicine (CVM).
16. Chan PLS, Jacqmin P, Lavielle M, McFadyen L, Weatherley B. The use of the SAEM algorithm in MONOLIX software for estimation of population pharmacokinetic-pharmacodynamic-viral dynamics parameters of maraviroc in asymptomatic HIV subjects. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* févr. 2011;38(1):41–61.
17. Garbez N, Mbatchi LC, Maseda E, Luque S, Grau S, Wallis SC, et al. A loading micafungin dose in critically ill patients undergoing continuous veno-venous hemofiltration or continuous veno-venous hemodiafiltration: a population pharmacokinetic analysis. *Ther Drug Monit* [Internet]. 30 juill 2021 [cité 6 août 2021]; Disponible sur: [https://journals.lww.com/drug-monitoring/Abstract/9000/A\\_Loading\\_Micafungin\\_Dose\\_in\\_Critically\\_Ill.98654.aspx](https://journals.lww.com/drug-monitoring/Abstract/9000/A_Loading_Micafungin_Dose_in_Critically_Ill.98654.aspx)
18. Garbez N, Mbatchi L, Wallis SC, Muller L, Lipman J, Roberts JA, et al. Prospective cohort study of micafungin population pharmacokinetic analysis in plasma and peritoneal fluid in septic patients with intra-abdominal infections. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 17 juin 2021 [cité 6 août 2021];65(7). Disponible sur: <https://journals.asm.org/doi/https://doi.org/10.1128/AAC.02307-20>
19. West GB, Brown JH, Enquist BJ. A general model for the origin of allometric scaling laws in biology. *Science*. 4 avr 1997;276(5309):122–6.
20. Gumbo T, Hiemenz J, Ma L, Keirns JJ, N. Buell D, Drusano GL. Population pharmacokinetics of micafungin in adult patients. *Diagn Microbiol Infect Dis*. mars 2008;60(3):329–31.
21. Grau S, Luque S, Campillo N, Samsó E, Rodríguez U, García-Bernedo CA, et al. Plasma and peritoneal fluid population pharmacokinetics of micafungin in post-surgical patients with severe peritonitis. *J Antimicrob Chemother*. 2015;70(10):2854–61.
22. Martial LC, ter Heine R, Schouten JA, Hunfeld NG, van Leeuwen HJ, Verweij PE, et al. Population pharmacokinetic model and pharmacokinetic target attainment of micafungin in intensive care unit patients. *Clin Pharmacokinet*. 2017;56(10):1197–206.
23. Gastine S, Lanckohr C, Blessou M, Horn D, Fobker M, Bause D, et al. Pharmacokinetics of micafungin in critically ill patients. *Sci Rep* déc. 2019;9(1):17741.
24. Schelstraete W, Clerck LD, Govaert E, Millemcam J, Devreese M, Deforce D, et al. Characterization of porcine hepatic and intestinal drug metabolizing CYP450: comparison with human orthologues from a quantitative, activity and selectivity perspective. *Sci Rep* déc. 2019;9(1):9233.
25. Hall C, Lueshen E, Mošat' A, Linninger AA. Interspecies scaling in pharmacokinetics: a novel whole-body physiologically based modeling framework to discover drug biodistribution mechanisms in vivo. *J Pharm Sci*. mars 2012;101(3):1221–41.

**Publisher's Note** Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

## 10.2 Vers un modèle PBPK ?

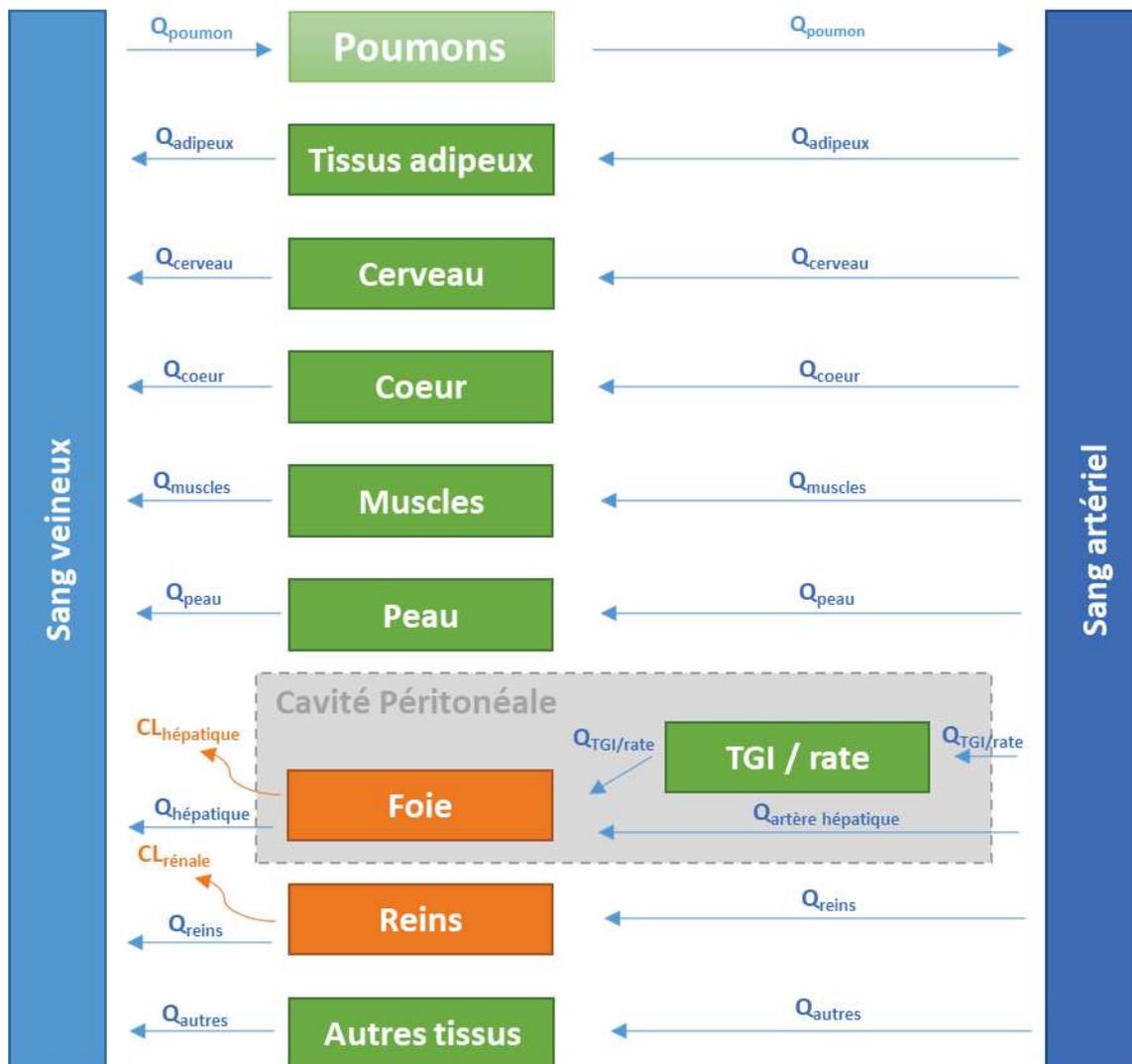
Pour rappel, l'élaboration d'un modèle PBPK requiert un ensemble de données anatomiques et physiologiques de l'espèce étudiée, ainsi que les données physico-chimiques de la molécule d'intérêt. Ces données peuvent être obtenues à l'aide de la littérature et d'expérimentations *in vivo*, *in vitro* et *in silico*.

Des modèles de différentes espèces existent sur certains logiciels PBPK (Simcyp<sup>®</sup>, GastroPlus<sup>®</sup> et PKsim<sup>®</sup>). L'avantage principal de ces modèles est qu'ils regroupent les données anatomiques et physiologiques connues de la littérature. En revanche, aucun de ces logiciels n'a pour le moment développé de modèle porcin, à l'exception de PKsim<sup>®</sup> avec un modèle de minipig. Toutefois, ce modèle ne représente pas tout à fait le modèle porcin développé dans ce projet de thèse, et surtout ne comporte pas de compartiment associé à la cavité péritonéale.

Il a donc été décidé de concevoir un modèle PBPK représentatif du modèle porcin septique sur le logiciel Monolix<sup>®</sup>. Au préalable, la conception et la validation d'un modèle porcin sain est requise. Dans la suite de cette partie sera présenté l'ensemble des données nécessaires à l'établissement de ce modèle PBPK de porcelet sain. En revanche, il n'a pas été possible de finaliser ce modèle au cours de ce travail de thèse. Seule l'approche utilisée est détaillée ici. Rappelons également que la conception d'un modèle PBPK a un triple avantage : il permet de respecter la règle des 3 R (réduire, raffiner, remplacer) relative à l'expérimentation animale, d'estimer la distribution de la molécule étudiée dans l'ensemble des compartiments implémentés et offre la possibilité de faire des extrapolations de dose inter-espèce.

### 10.2.1 Présentation du modèle

L'objectif principal a été de concevoir un modèle PBPK représentant la majorité des organes (Figure 11, partie 5.1.3) en y ajoutant la cavité péritonéale, afin de pouvoir y investiguer la distribution des molécules étudiées et par extension, l'atteinte de la cible PK/PD au site infectieux. La figure 17 illustre cette hypothétique modèle.



**Figure 17 : Illustration du modèle PBPK.**

L'intégration de la cavité péritonéale reste à confirmer en vue de ces connexions avec le reste du corps. CL : clairance. Q : débit sanguin. TGI : tractus gastro-intestinal.

Néanmoins, la validation d'un modèle sans cavité péritonéale est dans un premier temps de rigueur en confrontant ce modèle aux données plasmatiques de la micafungine. De plus, des recherches approfondies sont nécessaires sur l'anatomie et la physiologie de la cavité péritonéale afin de concevoir un compartiment associé. Pour l'heure, aucun modèle PBPK ne fait référence à ce type de compartiment.

Un modèle PBPK est défini par un système d'équations différentielles décrivant la variation de quantité ou de concentration de la molécule d'intérêt dans les compartiments. L'ensemble de ces équations vont dépendre de différents paramètres associés aux organes, tels que leur

volume (V), leur débit sanguin (Q), leur coefficient de partition tissu/plasma (Kp), et également le ratio sang/plasma (B:P) de la molécule étudiée ou encore la CL<sub>t</sub> pour les organes d'élimination comme le foie et les reins. Il est également possible de complexifier le modèle en détaillant les processus d'élimination par des équations de type Michaelis-Menten afin d'explicitier la saturabilité des enzymes ou des transporteurs impliqués dans les processus ADME de la molécule étudiée.

Pour le modèle PBPK sans cavité péritonéale (Figure 11, partie 5.1.3), les équations [176,177] des organes non éliminateurs utilisées sont :

$$V_{poumon} * \frac{dC_{poumon}}{dt} = Q_c * \left[ C_{sang\ veineux} * B:P - C_{poumon} * \frac{B:P}{Kp_{poumon}} \right]$$

$$V_{tissu} * \frac{dC_{tissu}}{dt} = Q_{tissu} * \left[ C_{sang\ artériel} - C_{tissu} * \frac{B:P}{Kp_{tissu}} \right]$$

$$V_{sang\ artériel} * \frac{dC_{sang\ artériel}}{dt} = Q_c * \left[ C_{poumon} * \frac{B:P}{Kp_{poumon}} - C_{sang\ artériel} \right]$$

$$V_{sang\ veineux} * \frac{dC_{sang\ veineux}}{dt} = \frac{\sum \left[ Q_{tissu} * C_{tissu} * \frac{B:P}{Kp_{tissu}} \right] - Q_{cardique} * C_{sang\ veineux}}{B:P}$$

Tandis que les équations des organes éliminateurs utilisées sont :

$$V_{tissu} * \frac{dC_{tissu}}{dt} = Q_{tissu} * \left[ C_{sang\ artériel} - C_{tissu} * \frac{B:P}{Kp_{tissu}} \right] - CL_{tissu} * C_{tissu} * \frac{B:P}{Kp_{tissu}}$$

En annexe 5 est illustré les premières ébauches du code de ce modèle sur Monolix®.

## 10.2.2 Récolte des données

Les précédents paramètres nécessaires à la conception du modèle PBPK ont été obtenus à l'aide de la littérature. L'ensemble de ces données sont illustrés dans le tableau 7 ci-dessous.

A.	Porcelet sain (30 kg, 4,5 L/h/kg)	Volume (L)	Fraction du poids	$Q_{tissu}$ (L/h)	Fraction du $Q_c$	$K_p$ Si $f_{u_p} = 1\%$
	Sang artériel	0,81	0,027	87,75	1	-
	Sang veineux	1,59	0,053	87,75	1	-
	Poumons	0,81	0,027	87,75	1	0,22
	Cerveau	0,102	0,0034	1,755	0,02	0,06
	Cœur	0,186	0,0062	3,24675	0,037	0,17
	Muscles	11,4	0,38	17,55	0,2	0,08
	Peau	2,31	0,077	4,3875	0,05	0,05
	Tissu adipeux	5,4	0,18	14,9175	0,17	0,05
	TGI	1,86	0,062	19,305	0,22	0,17
	Foie	0,81	0,027	23,6925	0,27	0,10
	Reins	0,144	0,0048	11,4075	0,13	0,14
	Reste du corps	4,749	$1 - \sum_{tissus}$	10,995	$1 - \sum_{tissus}$	0,14 (moy. $K_p$ )

B.	Micafungine
Type	Base faible
pKa	9,15
LogP	-0,39
B:P	0,9
Partenaire liais. prot.	Albumine
$F_{u_p}$ (%)	1
$F_{u_t}$ (%)	2

**Tableau 7 : Données du modèle PBPK : données anatomo-physiologiques (A) et données physico-chimiques (B).**

B:P : ratio sang/plasma.  $F_{u_p}$  : fraction libre plasmatique.  $F_{u_t}$  : fraction libre tissulaire.  
 $K_p$  : coefficient de partition tissu/plasma. LogP : logarithme du coefficient de partage.  
pKa : constante d'acidité.  $Q_{(c)}$  : débit (cardiaque). TGI : tractus gastro-intestinal.  
D'après Viel et al. (2018) [178], Poulin et al. (2019) [129] et EMA (2008) [179].

Volume et débit des organes sont proportionnels au poids des espèces. Ainsi, à partir des données récoltées des fractions du poids et des fractions du débit cardiaque ( $Q_c$ ) [178,180], les paramètres sont calculés selon les formules suivantes :

$$V_{tissu} = \textit{fraction du poids}_{organe} \times \textit{poids de l'espèce}$$

$$Q_{tissu} = \textit{fraction du } Q_c \textit{ organe} \times \textit{flux plasmatique total}$$

Avec :

$$\textit{flux plasmatique total} = Q_c \times \textit{poids de l'espèce} \times (1 - \textit{hématocrite}_{espèce})$$

Sachant que la densité de la majorité des tissus est approximativement de 1 g/cm<sup>3</sup> [181], la conversion poids/volume a été ignoré pour le calcul de  $V_{tissu}$ .

De plus, les données physico-chimiques disponibles [179] ont permis de calculer la fraction libre tissulaire, dont la formule [182] est la suivante :

$$f_{u_t} = \frac{1}{1 + \frac{1 - f_{u_p}}{f_{u_p}} \times 0,5}$$

Enfin, le  $K_p$ , qui traduit l'affinité ou le tropisme de la molécule pour l'organe en question, dépend des caractéristiques physico-chimiques de la molécule étudiée. Plus le  $K_p$  est fort, plus la molécule a une affinité forte pour le tissu. Son calcul est complexe et nécessite de nombreuses données physiologiques (interactions entre molécules et phospholipides des membranes tissulaires) [129,183,184] et physico-chimiques (le coefficient de partage - logP, la fraction libre -  $f_u$ , la constante d'acidité - pKa) [179]. Les données physiologiques proviennent idéalement de l'espèce étudiée, mais des données provenant de l'Homme ou du rat sont également utilisées en partant de l'hypothèse qu'il y ait pas de différence d'une espèce de mammifère à l'autre pour un organe ayant une fonction commune. La formule du  $K_p$  utilisée est celle provenant des travaux de Poulin et al. [129].

## Partie III : Conclusion et perspectives

### 11 Conclusion

Le sepsis est responsable d'altérations importantes de la PK des anti-infectieux chez les patients de réanimation. La nécessité d'approfondir nos connaissances sur les échinocandines, traitement de première intention en cas de candidose invasive, est fondamentale pour appréhender leur variabilité PK et proposer des posologies adéquates. Au cours de ces travaux de thèse, il a été mis en évidence qu'une augmentation de la posologie est globalement nécessaire pour la micafungine et la caspofungine par rapport aux doses standards utilisées en considérant les simulations de Monte Carlo obtenues à partir de modèles PK de population. Toutefois, la PK de ces échinocandines n'est pas sensible aux techniques d'épuration extra-rénale continue, et leur diffusion péritonéale est modérée, avec des concentrations au site infectieux à priori suffisantes pour éradiquer l'infection fongique en se basant sur les CLSI breakpoints de susceptibilité. Enfin, la PK de la micafungine a été étudiée chez un modèle porcin septique et comparée au patient de réanimation. D'après ces travaux, la PK de la micafungine est similaire entre ces deux espèces, en considérant une relation allométrique du poids de l'espèce sur le volume de distribution central. Ces résultats encourageants indiquent que le modèle porcin est transposable à l'humain pour cette molécule, et supposent que ce modèle animal pourrait être utilisé afin d'étudier la variabilité PK du sepsis sur d'autres anti-infectieux en phase précliniques avant leur mise sur le marché.

## 12 Perspectives

En regard de ces travaux, diverses études pourraient être envisagées afin de consolider ces résultats.

Par exemple, les études sur la diffusion péritonéale de la micafungine et de la caspofungine chez des patients atteints de sepsis secondaire à une péritonite ne permettent pas d'apprécier pleinement si la concentration au site infectieux est suffisante pour lutter contre l'infection ou si elle favorise le développement de résistance. Des recherches approfondies seraient nécessaires afin d'identifier la cible PK/PD et le seuil de résistance des *Candida spp.* au sein de la cavité péritonéale pour chaque échinocandine. Cela permettrait de mieux considérer si un ajustement posologique est nécessaire tout en prenant en compte le risque d'émergence de résistance. L'utilisation de logiciel d'adaptation posologique prenant en considération les covariables du patient et le site infectieux à traiter pourrait permettre d'individualiser et d'optimiser la prise en charge des patients en choc septique. De telles études restent à mener.

Des études supplémentaires sont nécessaires afin de valider l'hypothèse selon laquelle le modèle porcin septique serait transposable au patient septique aussi bien au niveau plasmatique qu'au niveau péritonéale. Ainsi, étudier la caspofungine sur ce modèle serait complémentaire aux travaux déjà réalisés. L'étude du fluconazole, chef de file des azolés et antifongique classiquement recommandé, mettrait en lumière la capacité du modèle porcin à prédire la PK de différents antifongiques dont les propriétés de distribution et d'éliminations diffèrent. Il serait davantage intéressant de combiner ces études avec des groupes avec et sans EER afin de déterminer si les thérapies d'EER affectent de la même manière la PK de ces molécules que chez le patient septique. Enfin, l'élaboration d'un modèle PBPK de porcelet septique permettrait par la suite de réduire davantage le nombre d'essais sur les animaux, d'apporter des informations capitales sur la diffusion tissulaire des molécules étudiées et de faire des extrapolations de dose inter-espèce du modèle porcin septique au patient septique. Une fois validé, il pourrait être directement utilisé pour étudier de nouveaux anti-infectieux au cours des phases précliniques et d'évaluer les posologies appropriées chez des patients de réanimation.

## Références bibliographiques

1. Vincent J-L, Sakr Y, Sprung CL, Ranieri VM, Reinhart K, Gerlach H, et al. Sepsis in European intensive care units: Results of the SOAP study\*. *Critical Care Medicine*. 2006;34:344–53.
2. Bassetti M, Righi E, Ansaldi F, Merelli M, Cecilia T, De Pascale G, et al. A multicenter study of septic shock due to candidemia: outcomes and predictors of mortality. *Intensive Care Medicine*. 2014;40:839–45.
3. Cornely OA, Bassetti M, Calandra T, Garbino J, Kullberg BJ, Lortholary O, et al. ESCMID\* \*This guideline was presented in part at ECCMID 2011. European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases. guideline for the diagnosis and management of *Candida* diseases 2012: non-neutropenic adult patients. *Clinical Microbiology and Infection*. 2012;18:19–37.
4. Pappas PG, Kauffman CA, Andes DR, Clancy CJ, Marr KA, Ostrosky-Zeichner L, et al. Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases*. 2016;62:e1–50.
5. Roberts JA, Lipman J. Pharmacokinetic issues for antibiotics in the critically ill patient: *Critical Care Medicine*. 2009;37:840–51.
6. Sinnollareddy MG, Roberts JA, Lipman J, Akova M, Bassetti M, De Waele JJ, et al. Pharmacokinetic variability and exposures of fluconazole, anidulafungin, and caspofungin in intensive care unit patients: Data from multinational Defining Antibiotic Levels in Intensive care unit (DALI) patients Study. *Critical Care*. 2015;19:33.
7. Roberts DM, Roberts JA, Roberts MS, Liu X, Nair P, Cole L, et al. Variability of antibiotic concentrations in critically ill patients receiving continuous renal replacement therapy: A multicentre pharmacokinetic study\*. *Critical Care Medicine*. 2012;40:1523–8.
8. Swindle MM, Makin A, Herron AJ, Clubb FJ, Frazier KS. Swine as models in biomedical research and toxicology testing. *Vet Pathol*. 2012;49:344–56.
9. Saugel B, Trepte CJ, Heckel K, Wagner JY, Reuter DA. Hemodynamic Management of Septic Shock: Is It Time for “Individualized Goal-Directed Hemodynamic Therapy” and for Specifically Targeting the Microcirculation? *Shock*. 2015;43:522–9.
10. Angus DC, van der Poll T. Severe Sepsis and Septic Shock. *N Engl J Med*. 2013;369:840–51.
11. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*. 2016;315:801.
12. Gyawali B, Ramakrishna K, Dharamoon AS. Sepsis: The evolution in definition, pathophysiology, and management. *SAGE Open Medicine*. 2019;7:205031211983504.
13. Mouton JW, Dudley MN, Cars O, Derendorf H, Drusano GL. Standardization of pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) terminology for anti-infective drugs: an update. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2005;55:601–7.
14. Ulldemolins M, Roberts JA, Rello J, Paterson DL, Lipman J. The Effects of Hypoalbuminaemia on Optimizing Antibacterial Dosing in Critically Ill Patients: *Clinical Pharmacokinetics*. 2011;50:99–110.

15. Udy AA, Roberts JA, Lipman J. Implications of augmented renal clearance in critically ill patients. *Nat Rev Nephrol*. 2011;7:539–43.
16. Peerapornratana S, Manrique-Caballero CL, Gómez H, Kellum JA. Acute kidney injury from sepsis: current concepts, epidemiology, pathophysiology, prevention and treatment. 2019;33.
17. Fugate JE, Kalimullah EA, Hocker SE, Clark SL, Wijdicks EF, Rabinstein AA. Cefepime neurotoxicity in the intensive care unit: a cause of severe, underappreciated encephalopathy. *Crit Care*. 2013;17:R264.
18. Hanafusa N. Application of Continuous Renal Replacement Therapy: What Should We Consider Based on Existing Evidence? *Blood Purif*. 2015;40:312–9.
19. Pea F, Viale P, Pavan F, Furlanut M. Pharmacokinetic Considerations for Antimicrobial Therapy in Patients Receiving Renal Replacement Therapy. *Clinical Pharmacokinetics*. 2007;46:997–1038.
20. Roberts JA, Joynt G, Lee A, Choi G, Bellomo R, Kanji S, et al. The effect of renal replacement therapy and antibiotic dose on antibiotic concentrations in critically ill patients: Data from the multinational SMARRT Study. *Clinical Infectious Diseases*. 2020;
21. Felton TW, Roberts JA, Lodise TP, Van Guilder M, Boselli E, Neely MN, et al. Individualization of Piperacillin Dosing for Critically Ill Patients: Dosing Software To Optimize Antimicrobial Therapy. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014;58:4094–102.
22. Blot SI, Pea F, Lipman J. The effect of pathophysiology on pharmacokinetics in the critically ill patient - Concepts appraised by the example of antimicrobial agents. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2014;77:3–11.
23. Dolin HH, Papadimos TJ, Chen X, Pan ZK. Characterization of Pathogenic Sepsis Etiologies and Patient Profiles: A Novel Approach to Triage and Treatment. *Microbiol Insights*. 2019;12:117863611882508.
24. Vincent J-L. International Study of the Prevalence and Outcomes of Infection in Intensive Care Units. *JAMA*. 2009;302:2323.
25. Silva S, Negri M, Henriques M, Oliveira R, Williams DW, Azeredo J. *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* and *Candida tropicalis*: biology, epidemiology, pathogenicity and antifungal resistance. *FEMS Microbiol Rev*. 2012;18.
26. Pfaller MA, Diekema DJ, Turnidge JD, Castanheira M, Jones RN. Twenty Years of the SENTRY Antifungal Surveillance Program: Results for *Candida* Species From 1997–2016. *Open Forum Infectious Diseases*. 2019;6:S79–94.
27. Eggimann P, Garbino J, Pittet D. Epidemiology of *Candida* species infections in critically ill non-immunosuppressed patients. *The Lancet Infectious Diseases*. 2003;3:685–702.
28. Bassetti M, Righi E, Ansaldi F, Merelli M, Scarparo C, Antonelli M, et al. A multicenter multinational study of abdominal candidiasis: epidemiology, outcomes and predictors of mortality. *Intensive Care Med*. 2015;41:1601–10.
29. Blot SI, Vandewoude KH, De Waele JJ. *Candida* peritonitis. *Curr Opin Crit Care*. 2007;13:195–9.
30. Sartelli M. A focus on intra-abdominal infections. *World J Emerg Surg*. 2010;5:9.

31. Bassetti M, Vena A, Russo A. Management of patients with septic shock due to Candida infection. *Hospital Practice*. 2018;46:258–65.
32. Brown GD, Denning DW, Gow NAR, Levitz SM, Netea MG, White TC. Hidden Killers: Human Fungal Infections. *Science Translational Medicine*. 2012;4:165rv13-165rv13.
33. Kullberg BJ, Arendrup MC. Invasive Candidiasis. Campion EW, editor. *N Engl J Med*. 2015;373:1445–56.
34. Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. Nosocomial Bloodstream Infections in US Hospitals: Analysis of 24,179 Cases from a Prospective Nationwide Surveillance Study. *Clin Infect Dis*. 2006;39:309–17.
35. Marchetti O, Bille J, Fluckiger U, Eggimann P, Ruef C, Garbino J, et al. Epidemiology of Candidemia in Swiss Tertiary Care Hospitals: Secular Trends, 1991–2000. *CLIN INFECT DIS*. 2004;38:311–20.
36. Guzman JA, Tchokonte R, Sobel JD. Septic Shock Due to Candidemia: Outcomes and Predictors of Shock Development. *J Clin Med Res*. 2011;3:65–71.
37. Kollef M, Micek S, Hampton N, Doherty JA, Kumar A. Septic Shock Attributed to Candida Infection: Importance of Empiric Therapy and Source Control. *Clinical Infectious Diseases*. 2012;54:1739–46.
38. Leroy O, Gangneux J-P, Montravers P, Mira J-P, Reynes J, Rosenheim M, et al. Epidemiology, management, and risk factors for death of invasive Candida infections in critical care: A multicenter, prospective, observational study in France (2005–2006). *Crit Care Med*. 2009;37:7.
39. Doklešić S, Bajec D, Djukić R. Secondary peritonitis -evaluation of 204 cases and literature review. *Journal of Medicine and Life*. 2014;7:132–8.
40. Bassetti M, Merelli M, Ansaldi F. Clinical and Therapeutic Aspects of Candidemia: A Five Year Single Centre Study. *PLOS ONE*. 2015;12.
41. Lagunes L, Rey-Pérez A. What’s new in intraabdominal candidiasis in critically ill patients, a review. *Hospital Practice*. 2019;47:171–6.
42. Luzzati R, Cavinato S, Giangreco M, Granà G, Centonze S, Deiana ML, et al. Peripheral and total parenteral nutrition as the strongest risk factors for nosocomial candidemia in elderly patients: a matched case-control study. *Mycoses*. 2013;56:664–71.
43. Tascini C, Sozio E, Tintori G, Ripoli A, Sbrana F, Rosselli Del Turco E, et al. Peripherally inserted central catheter as a predominant risk factor for candidemia in critically ill patients in Internal Medicine wards in Italy. *Intensive Care Med*. 2015;41:1498–9.
44. Clancy CJ, Nguyen MH. Finding the “Missing 50%” of Invasive Candidiasis: How Nonculture Diagnostics Will Improve Understanding of Disease Spectrum and Transform Patient Care. *Clin Infect Dis*. 2013;56:1284–92.
45. Horvath LL, Hospenthal DR, Murray CK, Dooley DP. Detection of Simulated Candidemia by the BACTEC 9240 System with Plus Aerobic/F and Anaerobic/F Blood Culture Bottles. *Journal of Clinical Microbiology*. 2003;41:4714–7.

46. Odabasi Z, Mattiuzzi G, Estey E, Kantarjian H, Saeki F, Ridge RJ, et al. b-d-Glucan as a Diagnostic Adjunct for Invasive Fungal Infections: Validation, Cutoff Development, and Performance in Patients with Acute Myelogenous Leukemia and Myelodysplastic Syndrome. *Clinical Infectious Diseases*. 2004;37:199–205.
47. Onishi A, Sugiyama D, Kogata Y, Saegusa J, Sugimoto T, Kawano S, et al. Diagnostic Accuracy of Serum 1,3- $\beta$ -d-Glucan for Pneumocystis jiroveci Pneumonia, Invasive Candidiasis, and Invasive Aspergillosis: Systematic Review and Meta-Analysis. *J Clin Microbiol*. 2012;50:7–15.
48. Mikulska M, Calandra T, Sanguinetti M, Poulain D, Viscoli C, the Third European Conference on Infections in Leukemia Group. The use of mannan antigen and anti-mannan antibodies in the diagnosis of invasive candidiasis: recommendations from the Third European Conference on Infections in Leukemia. *Critical Care*. 2010;14:R222.
49. Mylonakis E, Clancy CJ, Ostrosky-Zeichner L, Garey KW, Alangaden GJ, Vazquez JA, et al. T2 Magnetic Resonance Assay for the Rapid Diagnosis of Candidemia in Whole Blood: A Clinical Trial. *Clinical Infectious Diseases*. 2015;60:892–9.
50. Bassetti M, Ansaldi F, Nicolini L, Malfatto E, Molinari MP, Mussap M, et al. Incidence of candidaemia and relationship with fluconazole use in an intensive care unit. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2009;64:625–9.
51. Montravers P, Mira J-P, Gangneux J-P, Leroy O, Lortholary O. A multicentre study of antifungal strategies and outcome of Candida spp. peritonitis in intensive-care units. *Clinical Microbiology and Infection*. 2011;17:1061–7.
52. Montagna MT, Lovero G, Borghi E, Amato G, Andreoni S, Campion L, et al. Candidemia in intensive care unit: a nationwide prospective observational survey (GISIA-3 study) and review of the European literature from 2000 through 2013. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2014;18:661–74.
53. Barchiesi F, Orsetti E, Gesuita R, Skrami E, Manso E. Epidemiology, clinical characteristics, and outcome of candidemia in a tertiary referral center in Italy from 2010 to 2014. *Infection*. 2016;44:205–13.
54. Sasso M, Roger C, Sasso M, Poujol H, Barbar S, Lefrant J-Y, et al. Changes in the distribution of colonising and infecting Candida spp. isolates, antifungal drug consumption and susceptibility in a French intensive care unit: A 10-year study. *Mycoses*. 2017;60:770–80.
55. Morrell M, Fraser VJ, Kollef MH. Delaying the Empiric Treatment of Candida Bloodstream Infection until Positive Blood Culture Results Are Obtained: a Potential Risk Factor for Hospital Mortality. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005;49:6.
56. Garey KW, Rege M, Pai MP, Mingo DE, Suda KJ, Turpin RS, et al. Time to Initiation of Fluconazole Therapy Impacts Mortality in Patients with Candidemia: A Multi-Institutional Study. *Clinical Infectious Diseases*. 2006;43:25–31.
57. Kumar A, Roberts D, Wood KE, Light B, Parrillo JE, Sharma S, et al. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock\*: *Critical Care Medicine*. 2006;34:1589–96.
58. Labelle AJ, Micek ST, Roubinian N, Kollef MH. Treatment-related risk factors for hospital mortality in Candida bloodstream infections\*: *Critical Care Medicine*. 2008;36:2967–72.

59. Garnacho-Montero J, Diaz-Martin A, Garcia-Cabrera E, Ruiz Perez de Pipaon M, Hernandez-Caballero C, Lepe-Jimenez JA. Impact on hospital mortality of catheter removal and adequate antifungal therapy in *Candida* spp. bloodstream infections. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2013;68:206–13.
60. Zambias RA, Hammond ML, Heck JV, Bartizal K, Trainor C, Abruzzo G, et al. Preparation and Structure-Activity Relationships of Simplified Analogues of the Antifungal Agent Cilofungin: A Total Synthesis Approach. *J Med Chem*. 1992;35:2843–55.
61. Wagner C, Graninger W, Presterl E, Joukhadar C. The Echinocandins: Comparison of Their Pharmacokinetics, Pharmacodynamics and Clinical Applications. *Pharmacology*. 2006;78:161–77.
62. Muilwijk EW, Lempers VJ, Burger DM, Warris A, Pickkers P, Aarnoutse RE, et al. Impact of special patient populations on the pharmacokinetics of echinocandins. *Expert Review of Anti-infective Therapy*. 2015;13:799–815.
63. EMA. Ecalta; summary of product characteristics. Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/ecalta>.
64. EMA. Cancidas; summary of product characteristics. Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/cancidas-previously-caspofungin-msd>.
65. EMA. Mycamine; summary of product characteristics. Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/mycamine>.
66. Chen SC-A, Slavin MA, Sorrell TC. Echinocandin Antifungal Drugs in Fungal Infections: A Comparison. *Drugs*. 2011;71:11–41.
67. Pound MW, Townsend ML, Drew RH. Echinocandin pharmacodynamics: review and clinical implications. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2010;65:1108–18.
68. Andes D, Diekema DJ, Pfaller MA, Bohrmuller J, Marchillo K, Lepak A. In Vivo Comparison of the Pharmacodynamic Targets for Echinocandin Drugs against *Candida* Species. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2010;54:2497–506.
69. Andes D, Ambrose PG, Hammel JP, Van Wart SA, Iyer V, Reynolds DK, et al. Use of Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Analyses To Optimize Therapy with the Systemic Antifungal Micafungin for Invasive Candidiasis or Candidemia. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2011;55:2113–21.
70. Salsé M, Gangneux J-P, Cassaing S, Delhaes L, Fekkar A, Dupont D, et al. Multicentre study to determine the Etest epidemiological cut-off values of antifungal drugs in *Candida* spp. and *Aspergillus fumigatus* species complex. *Clinical Microbiology and Infection*. 2019;25:1546–52.
71. Dowell JA, Knebel W, Ludden T, Stogniew M, Krause D, Henkel T. Population Pharmacokinetic Analysis of Anidulafungin, an Echinocandin Antifungal. *The Journal of Clinical Pharmacology*. 2004;44:590–8.
72. Damle BD, Dowell JA, Walsky RL, Weber GL, Stogniew M, Inskeep PB. In Vitro and In Vivo Studies To Characterize the Clearance Mechanism and Potential Cytochrome P450 Interactions of Anidulafungin. *AAC*. 2009;53:1149–56.

73. Stone JA, Xu X, Winchell GA, Deutsch PJ, Pearson PG, Migoya EM, et al. Disposition of Caspofungin: Role of Distribution in Determining Pharmacokinetics in Plasma. *AAC*. 2004;48:815–23.
74. Stone JA, Holland SD, Wickersham PJ, Sterrett A, Schwartz M, Bonfiglio C, et al. Single- and Multiple-Dose Pharmacokinetics of Caspofungin in Healthy Men. *AAC*. 2002;46:739–45.
75. Balani SK, Xu X, Arison BH, Silva MV, Gries A, DeLuna FA, et al. Metabolites of caspofungin acetate, a potent antifungal agent, in human plasma and urine. *Drug Metab Dispos*. 2000;28:1274–8.
76. Hiemenz J, Cagnoni P, Simpson D, Devine S, Chao N, Keirns J, et al. Pharmacokinetic and Maximum Tolerated Dose Study of Micafungin in Combination with Fluconazole versus Fluconazole Alone for Prophylaxis of Fungal Infections in Adult Patients Undergoing a Bone Marrow or Peripheral Stem Cell Transplant. *AAC*. 2005;49:1331–6.
77. Wasmann RE, Muilwijk EW, Burger DM, Verweij PE, Knibbe CA, Brüggemann RJ. Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Micafungin. *Clinical Pharmacokinetics*. 2018;57:267–86.
78. Mistry GC, Migoya E, Deutsch PJ, Winchell G, Hesney M, Li S, et al. Single- and Multiple-Dose Administration of Caspofungin in Patients With Hepatic Insufficiency: Implications for Safety and Dosing Recommendations. *The Journal of Clinical Pharmacology*. 2007;47:951–61.
79. Kim R, Khachikian D, Reboli AC. A comparative evaluation of properties and clinical efficacy of the echinocandins. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*. 2007;8:1479–92.
80. Johnson MD, Perfect JR. Caspofungin: first approved agent in a new class of antifungals. *Expert Opin Pharmacother*. 2003;4:807–23.
81. Corrêa JCR, Salgado HRN. Review of Fluconazole Properties and Analytical Methods for Its Determination. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*. 2011;41:124–32.
82. Ostrosky-Zeichner L, Casadevall A, Galgiani JN, Odds FC, Rex JH. An insight into the antifungal pipeline: selected new molecules and beyond. *Nat Rev Drug Discov*. 2010;9:719–27.
83. EMA. Diflucan; summary of product characteristics. Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/referrals/diflucan>.
84. Andes D, van Ogtrop M. Characterization and Quantitation of the Pharmacodynamics of Fluconazole in a Neutropenic Murine Disseminated Candidiasis Infection Model. *Antimicrob Agents Chemother*. 1999;43:2116–20.
85. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing-Subcommittee on Antifungal Susceptibility Testing (EUCAST-AFST). EUCAST technical note on fluconazole. *Clin Microbiol Infect*. 2008;14:193–5.
86. Sobue S, Tan K, Layton G, Eve M, Sanderson JB. Pharmacokinetics of fosfluconazole and fluconazole following multiple intravenous administration of fosfluconazole in healthy male volunteers. *Br J Clin Pharmacol*. 2004;58:20–5.
87. Debruyne D, Ryckelynck J-P. Clinical Pharmacokinetics of Fluconazole: Clinical Pharmacokinetics. 1993;24:10–27.
88. Apseloff G, Hilligoss DM, Gardner MJ, Henry EB, Inskeep PB, Gerber N, et al. Induction of fluconazole metabolism by rifampin: in vivo study in humans. *J Clin Pharmacol*. 1991;31:358–61.

89. Nicolau DP, Crowe HM, Nightingale CH, Quintiliani R. Rifampin-fluconazole interaction in critically ill patients. *Ann Pharmacother*. 1995;29:994–6.
90. Aïmanianda V, Latgé J-P. Problems and hopes in the development of drugs targeting the fungal cell wall. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2010;8:359–64.
91. Garcia-Rubio R, de Oliveira HC, Rivera J, Trevijano-Contador N. The Fungal Cell Wall: *Candida*, *Cryptococcus*, and *Aspergillus* Species. *Front Microbiol*. 2020;10:2993.
92. Calderone RA, Fonzi WA. Virulence factors of *Candida albicans*. *Trends Microbiol*. 2001;7:327–35.
93. Douglas LJ. *Candida* biofilms and their role in infection. *Trends Microbiol*. 2003;11:30–3.
94. Delarze E, Sanglard D. Defining the frontiers between antifungal resistance, tolerance and the concept of persistence. *Drug Resistance Updates*. 2015;
95. Cowen LE, Sanglard D, Howard SJ, Rogers PD, Perlin DS. Mechanisms of Antifungal Drug Resistance. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2015;5:a019752.
96. Coste A, Selmecki A, Forche A, Diogo D, Bounoux M-E, d'Enfert C, et al. Genotypic Evolution of Azole Resistance Mechanisms in Sequential *Candida albicans* Isolates. *Eukaryotic Cell*. 2007;6:1889–904.
97. Perlin DS. Mechanisms of echinocandin antifungal drug resistance: Mechanism of echinocandin drug resistance. *Ann NY Acad Sci*. 2015;1354:1–11.
98. Kuhn DM, George T, Chandra J, Mukherjee PK, Ghannoum MA. Antifungal Susceptibility of *Candida* Biofilms: Unique Efficacy of Amphotericin B Lipid Formulations and Echinocandins. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002;46:1773–80.
99. Kawai A, Yamagishi Y, Mikamo H. In vitro efficacy of liposomal amphotericin B, micafungin and fluconazole against non-*albicans* *Candida* species biofilms. *J Infect Chemother*. 2015;
100. Stevens DA, White TC, Perlin DS, Selitrennikoff CP. Studies of the paradoxical effect of caspofungin at high drug concentrations. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2005;51:173–8.
101. Shields RK, Nguyen MH, Du C, Press E, Cheng S, Clancy CJ. Paradoxical Effect of Caspofungin against *Candida* Bloodstream Isolates Is Mediated by Multiple Pathways but Eliminated in Human Serum. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011;55:2641–7.
102. Shields RK, Nguyen MH, Press EG, Clancy CJ. Abdominal Candidiasis Is a Hidden Reservoir of Echinocandin Resistance. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014;58:7601–5.
103. Sasso M, Roger C, Lachaud L. Rapid emergence of FKS mutations in *Candida glabrata* isolates in a peritoneal candidiasis. *Medical Mycology Case Reports*. 2017;16:28–30.
104. Rivero-Menendez O, Navarro-Rodriguez P, Bernal-Martinez L, Martin-Cano G, Lopez-Perez L, Sanchez-Romero I, et al. Clinical and Laboratory Development of Echinocandin Resistance in *Candida glabrata*: Molecular Characterization. *Front Microbiol*. 2019;10:1585.
105. Bordallo-Cardona MÁ, Escribano P, Marcos-Zambrano LJ, Díaz-García J, de la Pedrosa EG, Cantón R, et al. Low and constant micafungin concentrations may be sufficient to lead to resistance mutations in FKS2 gene of *Candida glabrata*. *Medical Mycology*. 2018;56:903–6.

106. Lortholary O, Desnos-Ollivier M, Sitbon K, Fontanet A, Bretagne S, Dromer F. Recent Exposure to Caspofungin or Fluconazole Influences the Epidemiology of Candidemia: a Prospective Multicenter Study Involving 2,441 Patients. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011;55:532–8.
107. Brunetti G, Navazio AS, Giuliani A, Giordano A, Proli EM, Antonelli G, et al. Candida blood stream infections observed between 2011 and 2016 in a large Italian University Hospital: A time-based retrospective analysis on epidemiology, biofilm production, antifungal agents consumption and drug-susceptibility. Cortegiani A, editor. *PLoS ONE.* 2019;14:e0224678.
108. Bailly S. Impact of antifungal prescription on relative distribution and susceptibility of *Candida* spp. - Trends over 10 years. *J Infect.* 2015;72:103–11.
109. Fekkar A, Dannaoui E, Meyer I, Imbert S, Brossas JY, Uzunov M, et al. Emergence of echinocandin-resistant *Candida* spp. in a hospital setting: a consequence of 10 years of increasing use of antifungal therapy? *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2014;33:1489–96.
110. Pfaller MA, Diekema DJ, Andes D, Arendrup MC, Brown SD, Lockhart SR, et al. Clinical breakpoints for the echinocandins and *Candida* revisited: Integration of molecular, clinical, and microbiological data to arrive at species-specific interpretive criteria. *Drug Resistance Updates.* 2011;14:164–76.
111. Pfaller MA. Antifungal Drug Resistance: Mechanisms, Epidemiology, and Consequences for Treatment. *The American Journal of Medicine.* 2012;125:11.
112. Pfaller MA, Diekema DJ. Progress in Antifungal Susceptibility Testing of *Candida* spp. by Use of Clinical and Laboratory Standards Institute Broth Microdilution Methods, 2010 to 2012. *Journal of Clinical Microbiology.* 2012;50:2846–56.
113. Ullmann AJ, Akova M, Herbrecht R, Viscoli C, Arendrup MC, Arikan-Akdagli S, et al. ESCMID\* \*This guideline was presented in part at ECCMID 2011. European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases. guideline for the diagnosis and management of *Candida* diseases 2012: adults with haematological malignancies and after haematopoietic stem cell transplantation (HCT). *Clinical Microbiology and Infection.* 2012;18:53–67.
114. Montravers P, Dupont H, Leone M, Constantin J-M, Mertes P-M, Laterre P-F, et al. Guidelines for management of intra-abdominal infections. *Anaesthesia Critical Care & Pain Medicine.* 2015;34:117–30.
115. Pittrow L, Penk A. Dosage adjustment of fluconazole during continuous renal replacement therapy (CAVH, CVVH, CAVHD, CVVHD). *Mycoses.* 1999;42:17–9.
116. Brüggemann RJM, Middel-Baars V, de Lange DW, Colbers A, Girbes ARJ, Pickkers P, et al. Pharmacokinetics of Anidulafungin in Critically Ill Intensive Care Unit Patients with Suspected or Proven Invasive Fungal Infections. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017;61:e01894-16, e01894-16.
117. van der Elst KCM, Veringa A, Zijlstra JanG, Beishuizen A, Klont R, Brummelhuis-Visser P, et al. Low caspofungin exposure in patients in the Intensive Care Unit. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017;AAC.01582-16.
118. Lempers VJ, Schouten JA, Hunfeld NG, Colbers A, van Leeuwen HJ, Burger DM, et al. Altered Micafungin Pharmacokinetics in Intensive Care Unit Patients. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 2015;59:4403–9.

119. Kiang TKL, Sherwin CMT, Spigarelli MG, Ensom MHH. Fundamentals of Population Pharmacokinetic Modelling: Modelling and Software. *Clinical Pharmacokinetics*. 2012;51:515–25.
120. Mould D, Upton R. Basic Concepts in Population Modeling, Simulation, and Model-Based Drug Development. *CPT: Pharmacometrics & Systems Pharmacology*. 2012;1:6.
121. Jamal J-A, Roger C, Roberts JA. Understanding the impact of pathophysiological alterations during critical illness on drug pharmacokinetics. *Anaesthesia Critical Care & Pain Medicine*. 2018;37:515–7.
122. Food and Drug Administration. Guidance for Industry : population pharmacokinetics. 2019; Available from: [https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/population-pharmacokinetics?utm\\_campaign=Google2&utm\\_source=fdaSearch&utm\\_medium=website&utm\\_term=Guidance%20for%20industry%20population%20pharmacokinetics&utm\\_content=1](https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/population-pharmacokinetics?utm_campaign=Google2&utm_source=fdaSearch&utm_medium=website&utm_term=Guidance%20for%20industry%20population%20pharmacokinetics&utm_content=1)
123. Groupe des Enseignants de Pharmacocinétique (GEPK). Pharmacocinétique : les fondamentaux. Edimark-Datebe. 2018.
124. Sheiner LB, Rosenberg B, Melmon KL. Modelling of individual pharmacokinetics for computer-aided drug dosage. *Comput Biomed Res*. 1972;5:411–59.
125. Sheiner LB, Rosenberg B, Marathe VV. Estimation of population characteristics of pharmacokinetic parameters from routine clinical data. *J Pharmacokinet Biopharm*. 1977;5:445–79.
126. Jones H, Rowland-Yeo K. Basic Concepts in Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling in Drug Discovery and Development. *CPT: Pharmacometrics & Systems Pharmacology*. 2013;2:63.
127. Hall C, Lueshen E, Mošat' A, Linninger AA. Interspecies Scaling in Pharmacokinetics: A Novel Whole-Body Physiologically Based Modeling Framework to Discover Drug Biodistribution Mechanisms in vivo. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2012;101:1221–41.
128. Suenderhauf C, Parrott N. A Physiologically Based Pharmacokinetic Model of the Minipig: Data Compilation and Model Implementation. *Pharm Res*. 2013;30:1–15.
129. Poulin P, Collet SH, Atrux-Tallau N, Linget J-M, Hennequin L, Wilson CE. Application of the Tissue Composition–Based Model to Minipig for Predicting the Volume of Distribution at Steady State and Dermis-to-Plasma Partition Coefficients of Drugs Used in the Physiologically Based Pharmacokinetics Model in Dermatology. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2019;108:603–19.
130. Neely MN, van Guilder MG, Yamada WM, Schumitzky A, Jelliffe RW. Accurate Detection of Outliers and Subpopulations With Pmetrics, a Nonparametric and Parametric Pharmacometric Modeling and Simulation Package for R. *Therapeutic Drug Monitoring*. 2012;34:467–76.
131. Tatarinova T, Neely M, Bartroff J, van Guilder M, Yamada W, Bayard D, et al. Two general methods for population pharmacokinetic modeling: non-parametric adaptive grid and non-parametric Bayesian. *Journal of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*. 2013;40:189–99.
132. Delyon B, Lavielle M, Moulines E. Convergence of a stochastic approximation version of EM algorithm. *The Annals of Statistics*. 1999;27:94–128.
133. Chan PLS, Jacqmin P, Lavielle M, McFadyen L, Weatherley B. The use of the SAEM algorithm in MONOLIX software for estimation of population pharmacokinetic-pharmacodynamic-viral dynamics

- parameters of maraviroc in asymptomatic HIV subjects. *J Pharmacokinet Pharmacodyn.* 2011;38:41–61.
134. Akaike H. Akaike. A new look at the statistical model identification. *IEEE Trans Automat Contr.* 1974;19:716–23.
135. Schwarz G. Estimating the Dimension of a Model. *The Annals of Statistics.* Institute of Mathematical Statistics; 1978;6:461–4.
136. Sherwin CMT, Kiang TKL, Spigarelli MG, Ensom MHH. Fundamentals of population pharmacokinetic modelling: validation methods. *Clin Pharmacokinet.* 2012;51:573–90.
137. Nguyen THT, Mouksassi M-S, Holford N, Al-Huniti N, Freedman I, Hooker AC, et al. Model Evaluation of Continuous Data Pharmacometric Models: Metrics and Graphics: Evaluation Graphs for Population PK/PD Models. *CPT: Pharmacometrics & Systems Pharmacology.* 2017;6:87–109.
138. Comets E, Brendel K, Mentré F. Computing normalised prediction distribution errors to evaluate nonlinear mixed-effect models: The npde add-on package for R. *Computer Methods and Programs in Biomedicine.* 2008;90:154–66.
139. Guillon A, Preau S, Aboab J, Azabou E, Jung B, Silva S, et al. Preclinical septic shock research: why we need an animal ICU. *Ann Intensive Care.* 2019;9:66.
140. Zolfaghari PS, Pinto BB, Dyson A, Singer M. The metabolic phenotype of rodent sepsis: cause for concern? *Intensive Care Med Exp.* 2013;1:25.
141. Hart EA, Caccamo M, Harrow JL, Humphray SJ, Gilbert JG, Trevanion S, et al. Lessons learned from the initial sequencing of the pig genome: comparative analysis of an 8 Mb region of pig chromosome 17. *Genome Biol.* 2007;8:R168.
142. Sciascia Q, Daş G, Metges CC. REVIEW: The pig as a model for humans: Effects of nutritional factors on intestinal function and health1. *Journal of Animal Science.* 2016;94:441–52.
143. Roura E, Koopmans S-J, Lallès J-P, Huerou-Luron IL, de Jager N, Schuurman T, et al. Critical review evaluating the pig as a model for human nutritional physiology. *Nutrition Research Reviews.* 2016;31.
144. Henze LJ, Koehl NJ, O’Shea JP, Kostewicz ES, Griffin BT. The pig as a preclinical model for predicting oral bioavailability and in vivo performance of pharmaceutical oral dosage forms: a PEARRL review. *Journal of Pharmacy and Pharmacology.* 2018;22.
145. Lødrup AB, Karstoft K, Dissing TH, Nyengaard JR, Pedersen M. The association between renal function and structural parameters: a pig study. *BMC Nephrology.* 2008;9:18.
146. Cibulskyte D, Pedersen M, Hjelm-Poulsen J, Hansen HE, Madsen M, Mortensen J. The pharmacokinetics and acute renal effects of oral microemulsion ciclosporin A in normal pigs. *Int Immunopharmacol.* 2006;6:627–34.
147. Schelstraete W, Clerck LD, Govaert E, Millegam J, Devreese M, Deforce D, et al. Characterization of Porcine Hepatic and Intestinal Drug Metabolizing CYP450: Comparison with Human Orthologues from A Quantitative, Activity and Selectivity Perspective. *Sci Rep.* 2019;9:9233.

148. Puccinelli E, Giovanni Gervasi P, Longo V. Xenobiotic Metabolizing Cytochrome P450 in Pig, a Promising Animal Model. *CDM*. 2011;12:507–25.
149. Dawson HD. 2011. Comparative assessment of the pig, mouse, and human genomes: A structural and functional analysis of genes involved in immunity. In: McNulty, P.A., Dayan, A., Hastings, K.H., Ganderup, N.-C., editors. *The Minipig in Biomedical Research*. Boca Raton, FL: CRC Press. p. 321-341.
150. Fairbairn L, Kapetanovic R, Sester DP, Hume DA. The mononuclear phagocyte system of the pig as a model for understanding human innate immunity and disease. *J Leukoc Biol*. 2011;89:855–71.
151. Mair KH, Sedlak C, Käser T, Pasternak A, Levast B, Gerner W, et al. The porcine innate immune system: an update. *Dev Comp Immunol*. 2014;45:321–43.
152. Meurens F, Summerfield A, Nauwynck H, Saif L, Gerds V. The pig: a model for human infectious diseases. *Trends in Microbiology*. 2012;20:50–7.
153. Corrêa TD, Jeger V, Pereira AJ, Takala J, Djafarzadeh S, Jakob SM. Angiotensin II in Septic Shock: Effects on Tissue Perfusion, Organ Function, and Mitochondrial Respiration in a Porcine Model of Fecal Peritonitis\*. *Critical Care Medicine*. 2014;42:e550–9.
154. Boërio D, Corrêa TD, Jakob SM, Bostock H, Z'Graggen WJ. Muscle membrane properties in a pig sepsis model: Effect of norepinephrine. *Muscle & Nerve*. 2017;24.
155. Corrêa TD, Vuda M, Blaser AR, Takala J, Djafarzadeh S, Dünser MW, et al. Effect of treatment delay on disease severity and need for resuscitation in porcine fecal peritonitis: *Critical Care Medicine*. 2012;40:2841–9.
156. Starfinger C, Chase JG, Hann CE, Shaw GM, Lambermont B, Ghuysen A, et al. Model-based identification and diagnosis of a porcine model of induced endotoxic shock with hemofiltration. *Mathematical Biosciences*. 2008;216:132–9.
157. Revie JA, Stevenson D, Chase JG, Pretty CJ, Lambermont BC, Ghuysen A, et al. Evaluation of a Model-Based Hemodynamic Monitoring Method in a Porcine Study of Septic Shock. *Computational and Mathematical Methods in Medicine*. 2013;2013:1–17.
158. Poli-de-Figueiredo LF, Garrido AG, Nakagawa N, Sannomiya P. EXPERIMENTAL MODELS OF SEPSIS AND THEIR CLINICAL RELEVANCE. *Shock*. 2008;30:53–9.
159. Annane D, Bellissant E, Cavillon J-M. Septic shock. *The Lancet* [Internet]. 2005; Available from: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(04\)17667-8/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(04)17667-8/fulltext)
160. Goldfarb RD, Dellinger RP, Parrillo JE. PORCINE MODELS OF SEVERE SEPSIS: EMPHASIS ON PORCINE PERITONITIS: *Shock*. 2005;24:75–81.
161. Park I, Lee JH, Jang D-H, Kim D, Chang H, Kwon H, et al. Characterization of Fecal Peritonitis-Induced Sepsis in a Porcine Model. *Journal of Surgical Research*. 2019;244:492–501.
162. West GB, Brown JH, Enquist BJ. A general model for the origin of allometric scaling laws in biology. *Science*. 1997;276:122–6.

163. Shekar K, Roberts JA, McDonald CI, Ghassabian S, Anstey C, Wallis SC, et al. Protein-bound drugs are prone to sequestration in the extracorporeal membrane oxygenation circuit: results from an ex vivo study. *Crit Care*. 2015;19:164.
164. Roger C, Wallis SC, Muller L, Saissi G, Lipman J, Brüggemann RJ, et al. Caspofungin Population Pharmacokinetics in Critically Ill Patients Undergoing Continuous Venovenous Haemofiltration or Haemodiafiltration. *Clinical Pharmacokinetics*. 2017;56:1057–68.
165. Maseda E, Grau S, Villagran M-J, Hernandez-Gancedo C, Lopez-Tofiño A, Roberts JA, et al. Micafungin pharmacokinetic/pharmacodynamic adequacy for the treatment of invasive candidiasis in critically ill patients on continuous venovenous haemofiltration. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2014;69:1624–32.
166. de Velde F, de Winter BCM, Neely MN, Yamada WM, Koch BCP, Harbarth S, et al. Population Pharmacokinetics of Imipenem in Critically Ill Patients: A Parametric and Nonparametric Model Converge on CKD-EPI Estimated Glomerular Filtration Rate as an Impactful Covariate. *Clin Pharmacokinet* [Internet]. 2020 [cited 2020 Feb 28]; Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s40262-020-00859-1>
167. Tenorio-Cañamás T, Grau S, Luque S, Fortún J, Liaño F, Roberts JA. Pharmacokinetics of Micafungin in Critically Ill Patients Receiving Continuous Venovenous Hemodialysis With High Cutoff Membranes: Therapeutic Drug Monitoring. 2019;41:376–82.
168. Gastine S, Lanckohr C, Blessou M, Horn D, Fobker M, Bause D, et al. Pharmacokinetics of Micafungin in Critically Ill Patients. *Sci Rep*. 2019;9:17741.
169. Vossen MG, Knäfl D, Haidinger M, Lemmerer R, Unger M, Pferschy S, et al. Micafungin Plasma Levels Are Not Affected by Continuous Renal Replacement Therapy: Experience in Critically Ill Patients. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2017;61.
170. Weiler S, Seger C, Pfisterer H, Stienecke E, Stippler F, Welte R, et al. Pharmacokinetics of Caspofungin in Critically Ill Patients on Continuous Renal Replacement Therapy. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013;57:4053–7.
171. Aguilar G, Ferriols R, Lozano A, Ezquer C, Carbonell JA, Jurado A, et al. Optimal doses of caspofungin during continuous venovenous hemodiafiltration in critically ill patients. *Crit Care*. 2017;21:17.
172. Aguilar G, Azanza JR, Carbonell JA, Ferrando C, Badenes R, Parra MA, et al. Anidulafungin dosing in critically ill patients with continuous venovenous haemodiafiltration. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2014;69:1620–3.
173. Anderson BJ, Holford NHG. Mechanism-Based Concepts of Size and Maturity in Pharmacokinetics. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. 2008;32.
174. Grau S, Luque S, Campillo N, Samsó E, Rodríguez U, García-Bernedo CA, et al. Plasma and peritoneal fluid population pharmacokinetics of micafungin in post-surgical patients with severe peritonitis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2015;70:2854–61.
175. Gioia F, Gomez-Lopez A, Alvarez ME, Gomez-García de la Pedrosa E, Martín-Davila P, Cuenca-Estrella M, et al. Pharmacokinetics of Echinocandins in Suspected Candida Peritonitis: a Potential Risk for Resistance. *International Journal of Infectious Diseases*. 2020;S1201971220307347.

176. Viel A. Usages de la colistine en médecine humaine et vétérinaire : exploration pharmacocinétique et problématique d'antibiorésistance. 2016;228.
177. Holt KL. Evaluation of different in vitro surrogates to represent nonspecific binding for tissue: plasma water partition coefficient predictions. 2019;
178. Viel A, Henri J, Bouchène S, Laroche J, Rolland J-G, Manceau J, et al. A Population WB-PBPK Model of Colistin and its Prodrug CMS in Pigs: Focus on the Renal Distribution and Excretion. *Pharm Res.* 2018;35:92.
179. EMA. Assessment report for Mycamine. 2008;
180. Upton RN. Organ weights and blood flows of sheep and pig for physiological pharmacokinetic modelling. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods.* 2008;58:198–205.
181. Brown RP, Delp MD, Lindstedt SL, Rhomberg LR, Beliles RP. Physiological Parameter Values for Physiologically Based Pharmacokinetic Models. *Toxicol Ind Health.* 1997;13:407–84.
182. Poulin P, Theil F. Prediction of Pharmacokinetics Prior to In Vivo Studies. 1. Mechanism-Based Prediction of Volume of Distribution. *Journal of Pharmaceutical Sciences.* 2002;91:129–56.
183. Rodgers T, Leahy D, Rowland M. Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling 1: Predicting the Tissue Distribution of Moderate-to-Strong Bases. *Journal of Pharmaceutical Sciences.* 2005;94:1259–76.
184. Rodgers T, Rowland M. Physiologically based pharmacokinetic modelling 2: Predicting the tissue distribution of acids, very weak bases, neutrals and zwitterions. *Journal of Pharmaceutical Sciences.* 2006;95:1238–57.
185. Pfaller MA, Messer SA, Woosley LN, Jones RN, Castanheira M. Echinocandin and Triazole Antifungal Susceptibility Profiles for Clinical Opportunistic Yeast and Mold Isolates Collected from 2010 to 2011: Application of New CLSI Clinical Breakpoints and Epidemiological Cutoff Values for Characterization of Geographic and Temporal Trends of Antifungal Resistance. *Journal of Clinical Microbiology.* 2013;51:2571–81.
186. Pfaller MA, Messer SA, Rhomberg PR, Castanheira M. CD101, a long-acting echinocandin, and comparator antifungal agents tested against a global collection of invasive fungal isolates in the SENTRY 2015 Antifungal Surveillance Program. *International Journal of Antimicrobial Agents.* 2017;50:352–8.

# Annexes

## Annexe 1 : Matériels supplémentaires de l'article 1

### Supplemental Digital Content 1

**Table 1: Study population characteristics on ICU admission**

<b>Descriptive data</b>	
Sex (male/female)	7/1
Age (y)	72.3 [43.9 – 80.8]
Body weight (kg)	94.8 [66 – 138]
Height (cm)	173 [152 – 184]
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	29.0 [23.4 – 59.7]
Body surface area (m <sup>2</sup> )	2.1 [1.7 – 2.2]
Ideal body mass (kg)	66.2 [45.1 – 74.9]
Lean body mass (kg)	64.2 [25.7 – 71.5]
Fat-free mass (kg)	64.1 [52.1 – 70.9]
Adjusted body mass (kg)	78.1 [63.8 – 84.8]
<b>Clinical data</b>	
SAPS II score at admission	57 [44 – 79]
SOFA score at inclusion	9 [4 – 12]
Serum albumin (g/L)	22.5 [19 – 32.3]
Serum creatinine (μmol/L)	144 [84 – 244]
Urea (mmol/L)	10.6 [3.3 – 36.7]
<b>CRRT setting</b>	
Blood flow rate (L/h)	12 [9 – 18]
Post-dilution rate (L/h)	1.6 [0.2 – 3.9]
Fluid removal rate (L/h)	0.1 [0.1 – 0.3]
Filtration age (h)	3.9 [0 – 49.5]
Effluent rate (L/h)	3 [2 – 4.3]

Collected data: n or median [min – max]. CRRT, continuous renal replacement therapy; SAPS II score, Simplified acute physiology score II; SOFA score, Sequential organ failure assessment score.

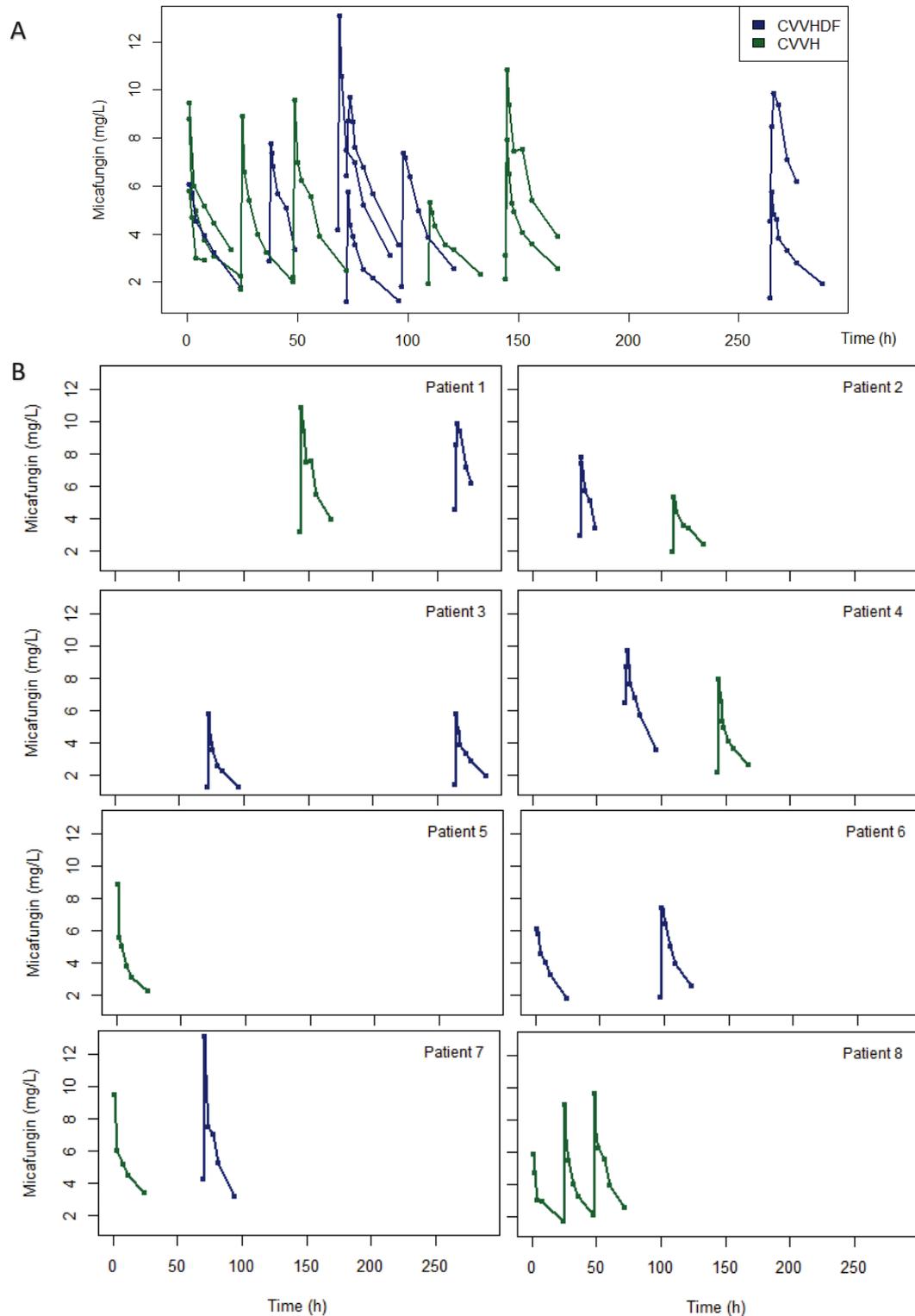
**Table 2: Fractional target attainment (FTA) for different dosing regimens for each *Candida* species.**

Dosing regimens (mg)		<i>C. albicans</i>		<i>C. glabrata</i>		<i>C.tropicalis</i>		<i>C. krusei</i>		<i>C. parapsilosis</i>	
		Day 1	Day 2	Day 1	Day 2	Day 1	Day 2	Day 1	Day 2	Day 1	Day 2
q24h	100	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	150	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	200	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-
LD, MD q24h	150, 100	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	200, 100	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	200, 150	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-

FTA is the sum of the PTA values determined at each MIC and the fraction of isolates found at that MIC. Target: total  $AUC_{0-24}/MIC > 3000$ . A micafungin dosing regimen is successful if  $FTA > 90\%$ . EUCAST MIC distribution: *C. albicans* (susceptibility (S): [0.004 – 0.016 mg/L]), *C. glabrata* (S: 0.004 – 0.032 mg/L), *C. tropicalis* (S: 0.004–0.064 mg/L), *C. krusei* (S: 0.032 – 0.250 mg/L), and *C. parapsilosis* (S: 0.250 – 2.000 mg/L). Total  $AUC_{0-24}$ , Area under the concentration-time curve (0-24 h); LD, loading dose; MD, maintenance dose; MIC, minimum inhibitory concentration. Dark gray boxes:  $FTA > 90\%$ .

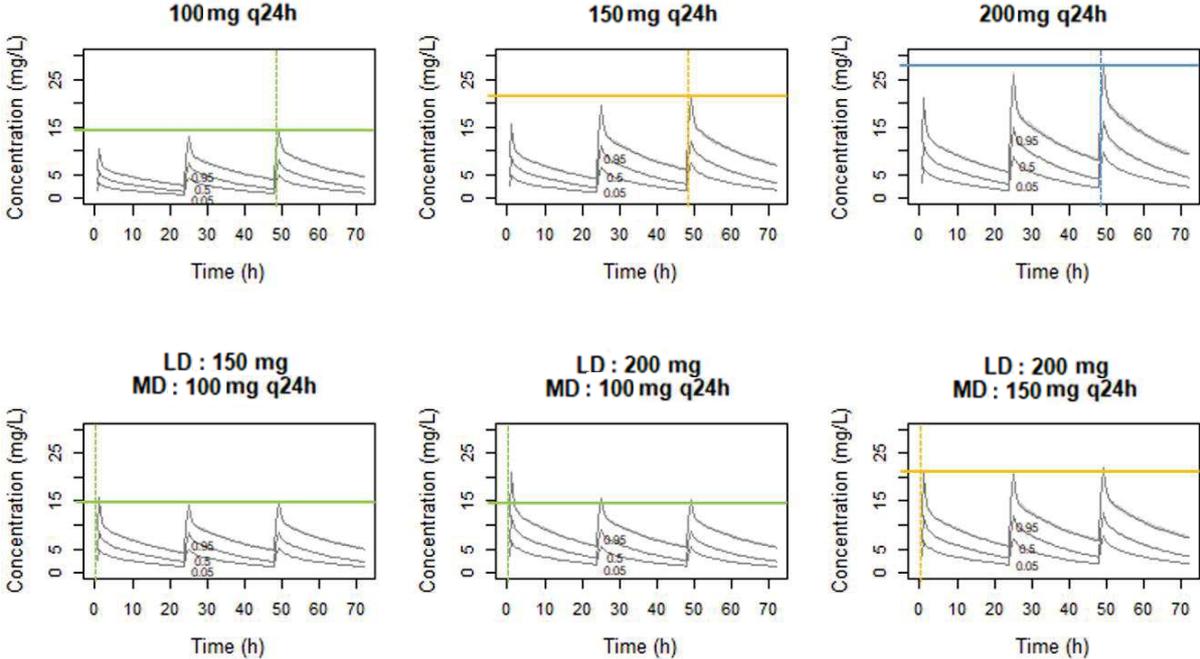
## Supplemental Digital Content 2

Figure 1: Observed concentration-time profiles



A) From the 8 included patients. B) For each patient. CVVH, Continuous venovenous hemofiltration; CVVHDF, continuous venovenous hemodiafiltration. Circles: observed concentrations. Blue lines: CVVHDF sessions ( $n = 8$ ). Green lines: CVVH sessions ( $n = 8$ )

**Figure 2: Simulation of different dosing regimens**

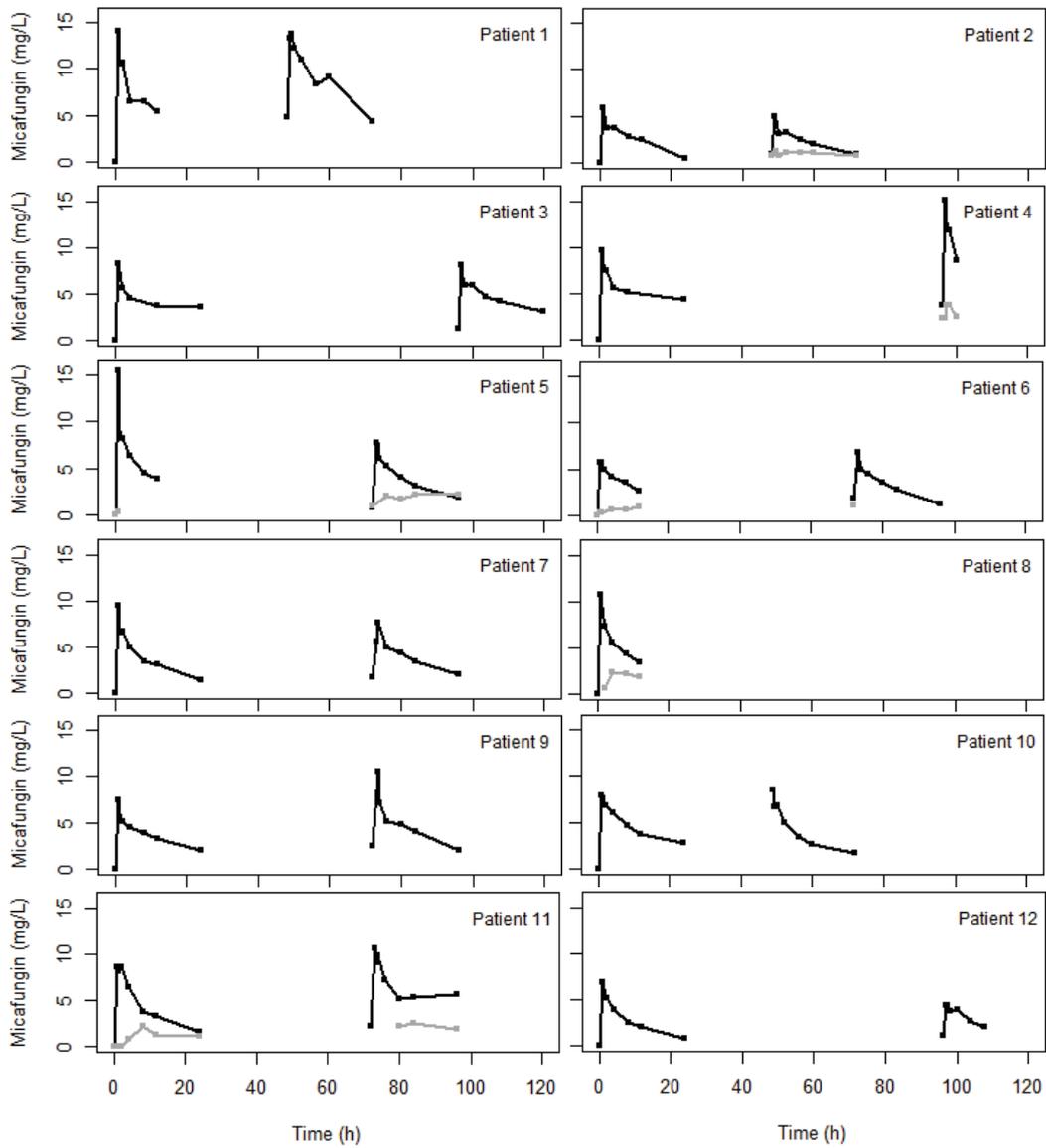


5<sup>th</sup>, 50<sup>th</sup>, and 95<sup>th</sup> percentiles of simulated concentration. Thick line: Maximal concentration at steady-state (95<sup>th</sup> percentile). Dotted line: Time to reach steady state. Green: 100 mg of micafungin. Yellow: 150 mg of micafungin. Blue: 200 mg of micafungin. LD, loading dose; MD, maintenance dose.

## Annexe 2 : Matériels supplémentaires de l'article 2

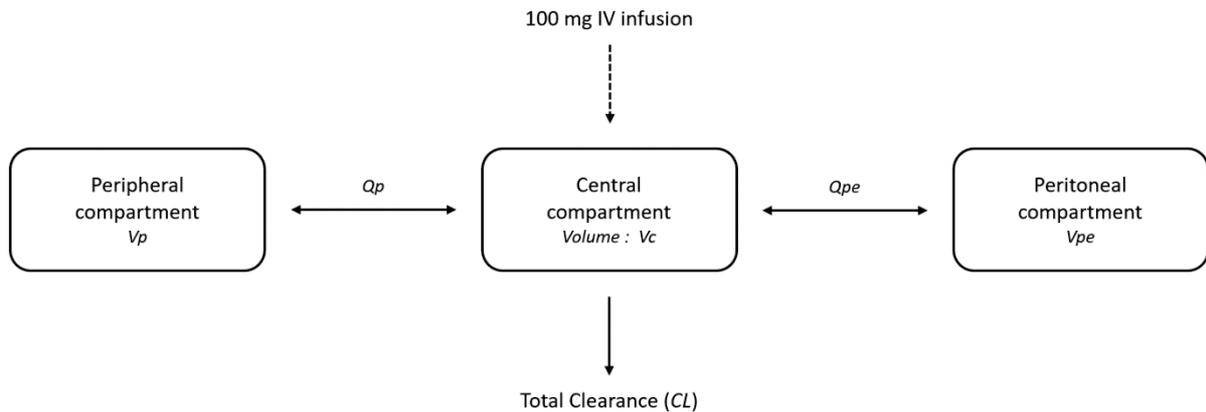
### Supplemental material

#### S1: Observed individual concentrations profiles.



*Black lines: Plasma. Grey lines: Peritoneal fluid.*

## S2: Structural PK model for micafungin.



*Q<sub>p</sub>: Intercompartment clearance between central and peripheral compartment. Q<sub>pe</sub>: Intercompartment clearance between central and peritoneal compartment. V<sub>c</sub>: Volume of distribution of the central compartment. V<sub>p</sub>: Volume of distribution of the peripheral compartment. V<sub>pe</sub>: Volume of distribution of the peritoneal compartment.*

*Differential equations were used to describe this model on Pmetrics:*

$$XP(1) = \text{RATEIV}(1) - (K_e + K_{cpe} + K_{cp}) * X(1) + K_{pec} * X(2) + K_{pc} * X(3)$$

$$XP(2) = K_{cpe} * X(1) - K_{pec} * X(2)$$

$$XP(3) = K_{cp} * X(1) - K_{pc} * X(3)$$

*With K<sub>xy</sub> (constant rate from x to y compartment):*

$$K_e = CL / V_c$$

$$K_{cpe} = Q_{pe} / V_c; K_{pec} = Q_{pe} / V_{pe}$$

$$K_{cp} = Q_p / V_c; K_{pc} = Q_p / V_p$$

*And:*

$$CL = \text{Typical value of total CL} \times (\text{FFM}/52.5)^{\beta_{CL}}$$

$$V_c = \text{Typical value of } V_c \times (\text{FFM}/52.5)^{\beta_{Vc}}$$

*FFM: Fat free mass,  $\beta_{CL}$ : Parameter factor of CL and  $\beta_{Vc}$ : Parameter factor of V<sub>c</sub>.*

**S3: Support point, covariance and correlation matrix of the population parameter values.**

Support point	CL	Vc	Qpe	Qp	Vpe	Vp	$\beta$ .CL	$\beta$ .Vc	Prob
1	1.813	20.255	0.037	8.000	3.479	2.000	1.508	0.001	0.250
2	1.123	11.601	0.046	7.917	6.215	2.006	0.001	0.888	0.139
3	1.335	13.982	0.037	7.890	3.444	4.632	2.000	1.999	0.086
4	0.930	11.299	0.059	2.000	6.453	3.670	1.645	0.882	0.280
5	0.788	5.007	0.060	4.389	2.000	6.249	1.121	0.001	0.085
6	0.802	8.627	0.029	7.378	5.108	7.049	0.911	0.734	0.159
Covariance matrix	CL	Vc	Qpe	Qp	Vpe	Vp	$\beta$ .CL	$\beta$ .Vc	
CL	0.156	1.823	-0.002	0.579	-0.280	-0.527	0.058	-0.086	
Vc	1.823	22.814	-0.021	5.456	-1.874	-6.705	0.910	-0.835	
Qpe	-0.002	-0.021	0.000	-0.026	0.006	-0.003	0.001	0.000	
Qp	0.579	5.456	-0.026	6.816	-1.904	-0.717	-0.580	-0.193	
Vpe	-0.280	-1.874	0.006	-1.904	2.324	-0.344	-0.221	0.370	
Vp	-0.527	-6.705	-0.003	-0.717	-0.344	3.505	0.033	0.229	
$\beta$ .CL	0.058	0.910	0.001	-0.580	-0.221	0.033	0.346	0.033	
$\beta$ .Vc	-0.086	-0.835	0.000	-0.193	0.370	0.229	0.033	0.323	
Correlation matrix	CL	Vc	Qpe	Qp	Vpe	Vp	$\beta$ .CL	$\beta$ .Vc	
CL	1.000	0.966	-0.422	0.561	-0.464	-0.712	0.249	-0.384	
Vc	0.966	1.000	-0.391	0.438	-0.257	-0.750	0.324	-0.308	
Qpe	-0.422	-0.391	1.000	-0.860	0.328	-0.121	0.145	0.044	
Qp	0.561	0.438	-0.860	1.000	-0.478	-0.147	-0.378	-0.130	
Vpe	-0.464	-0.257	0.328	-0.478	1.000	-0.121	-0.247	0.427	
Vp	-0.712	-0.750	-0.121	-0.147	-0.121	1.000	0.030	0.215	
$\beta$ .CL	0.249	0.324	0.145	-0.378	-0.247	0.030	1.000	0.098	
$\beta$ .Vc	-0.384	-0.308	0.044	-0.130	0.427	0.215	0.098	1.000	

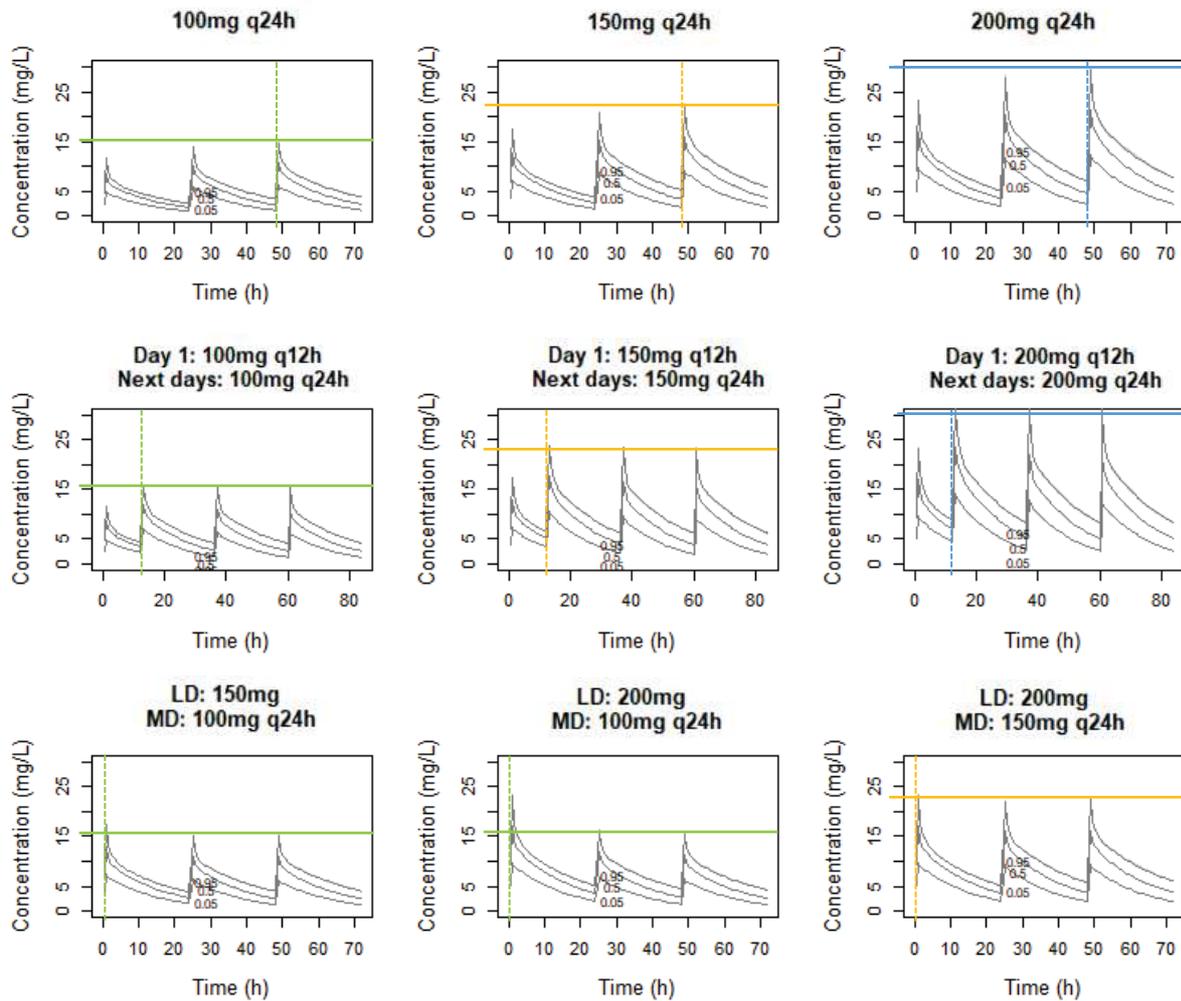
CL: Total clearance. Qp: Intercompartment clearance between central and peripheral compartment. Qpe: Intercompartment clearance between central and peritoneal compartment. Prob: Probability. Vc: Volume of distribution of the central compartment. Vp: Volume of distribution of the peripheral compartment. Vpe: Volume of distribution of the peritoneal compartment.  $\beta$ .CL: Parameter factor of CL.  $\beta$ .Vc: Parameter factor of Vc.

#### S4: Comparison of structural and final model.

Three compartment model	-2LL	AIC	pBias	pImp	iBias	iImp
Without covariate	601.8	616.4	-0.22	2.76	-0.21	0.90
FFM on CL and Vc	591.0	610.0	0.50	3.29	-0.22	0.91

Structural model is the three-compartment model without covariate. Final model is the three-compartment model with FFM normalised to the median population value (to the power of  $\beta$ ) on the total micafungin CL and Vc. 2LL:  $-2 \times \log$ -likelihood (objective function). AIC: Akaike information criteria. CL: Total clearance. FFM: Fat free mass. iBias: Individual bias. iImp: Individual imprecision. pBias: Population bias. pImp: Population imprecision. Vc: Volume of distribution of the central compartment.

**S5: Simulation of different dosing regimens for a patient with 50 kg of fat free mass.**

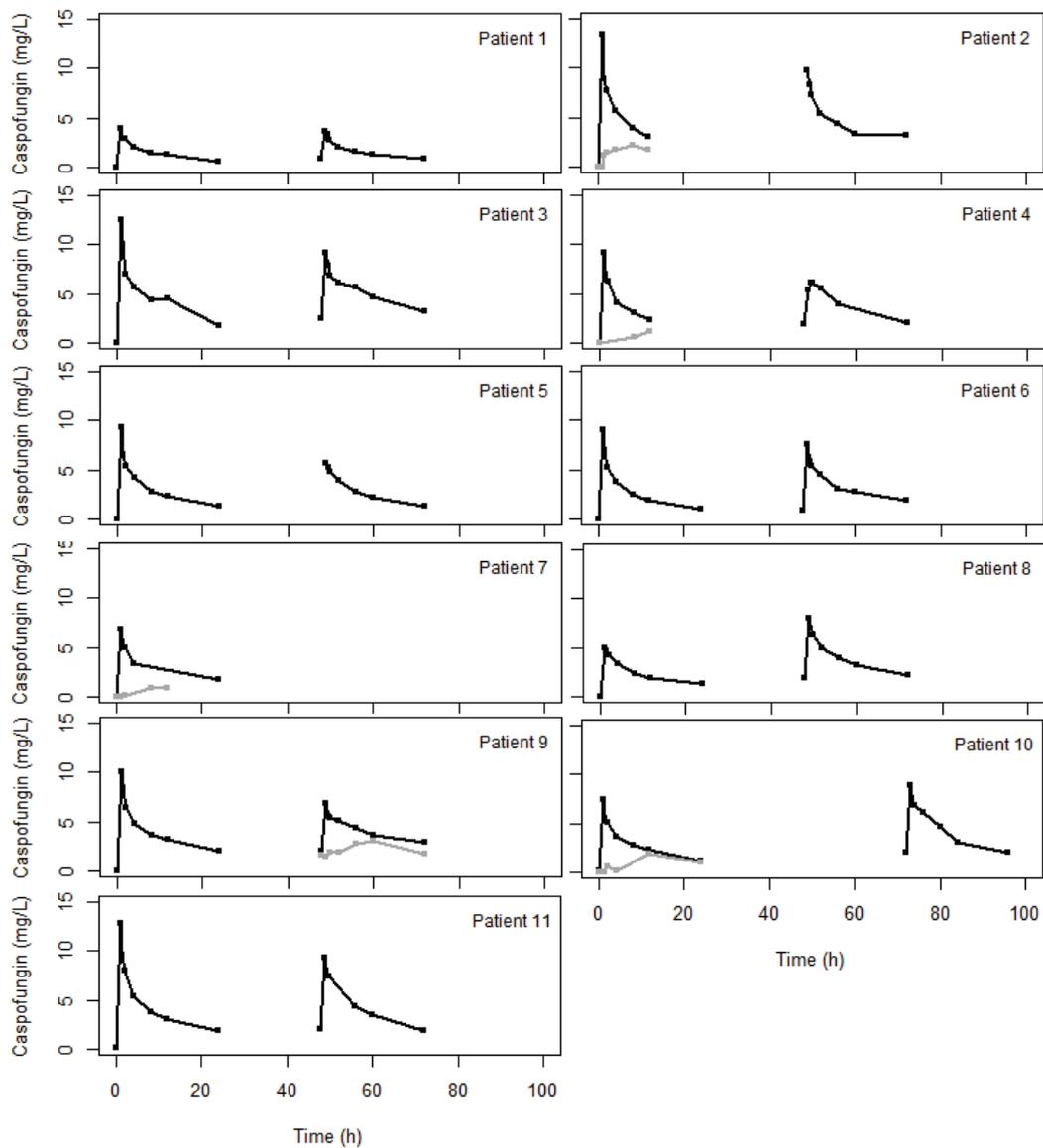


5<sup>th</sup>, 50<sup>th</sup> and 95<sup>th</sup> percentiles of simulated concentration. Thick line: Maximal concentration at steady-state (90<sup>th</sup> percentile). Dotted line: Time to reach steady-state. Green: 100mg micafungin. Yellow: 150mg micafungin. Blue: 200mg micafungin. LD: Loading dose. MD: Maintenance dose.

## Annexe 3 : Matériels supplémentaires de l'article 3

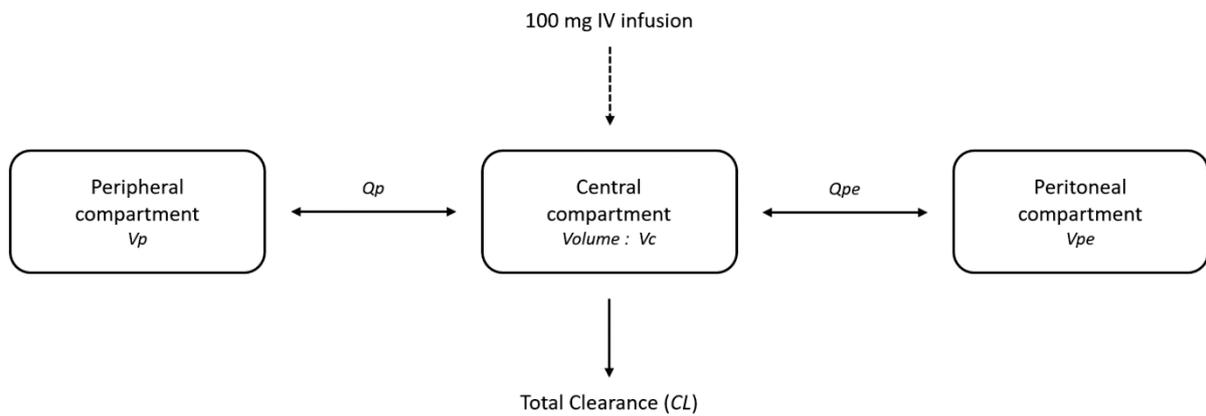
### Supplemental material

#### S1: Observed individual concentrations profiles.



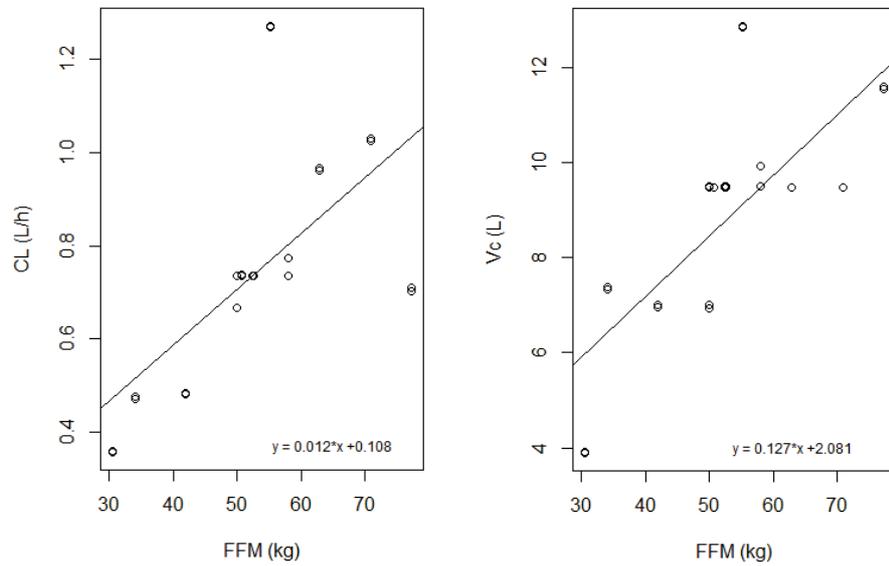
Black lines: plasma. Grey lines: peritoneal fluid.

## S2: Structural PK model for caspofungin.



$Q_p$ : intercompartment clearance between central and peripheral compartment.  $Q_{pe}$ : intercompartment clearance between central and peritoneal compartment.  $V_c$ : volume of distribution of the central compartment.  $V_p$ : volume of distribution of the peripheral compartment.  $V_{pe}$ : volume of distribution of the peritoneal compartment.

### S3: PK parameter individual estimates *against* FFM



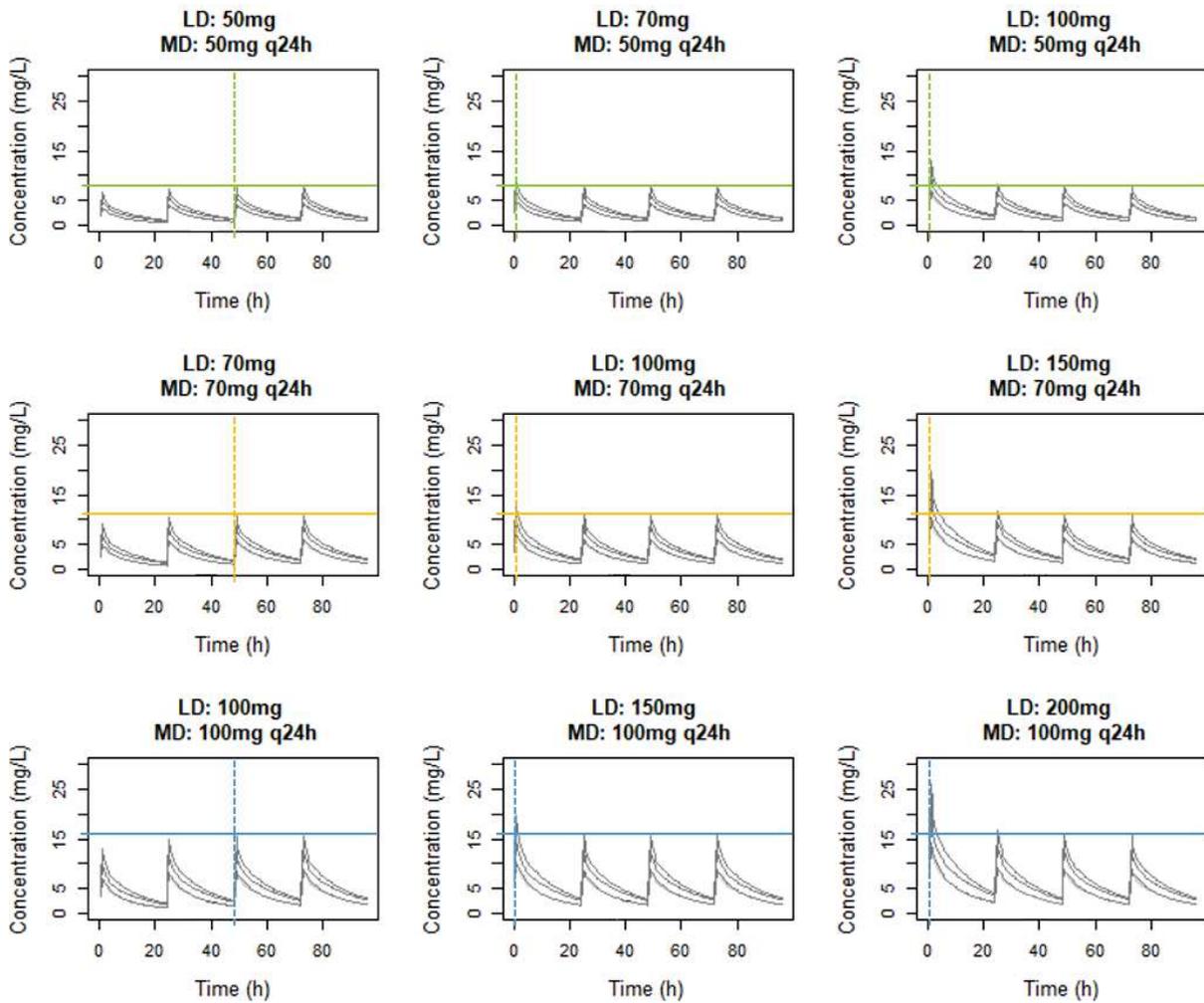
Left table: from PK model without covariate. Right table: from PK model with FFM on CL. Circles: observed concentrations. Filled lines: regression line. CL: clearance. FFM: fat free mass. Vc: volume of distribution of the central compartment.

#### S4: Comparison of structural to final model

Three compartment model	-2LL	AIC	pBias	pImp	iBias	iImp
Without covariate	411.8	424.2	-0.44	2.75	-0.21	0.95
FFM on CL	405.8	420.4	-0.43	1.89	-0.21	0.96
FFM on Vc	411.5	426.1	-0.46	2.79	-0.20	0.96
FFM on CL and Vc	401.0	417.8	-0.33	1.65	-0.20	0.96

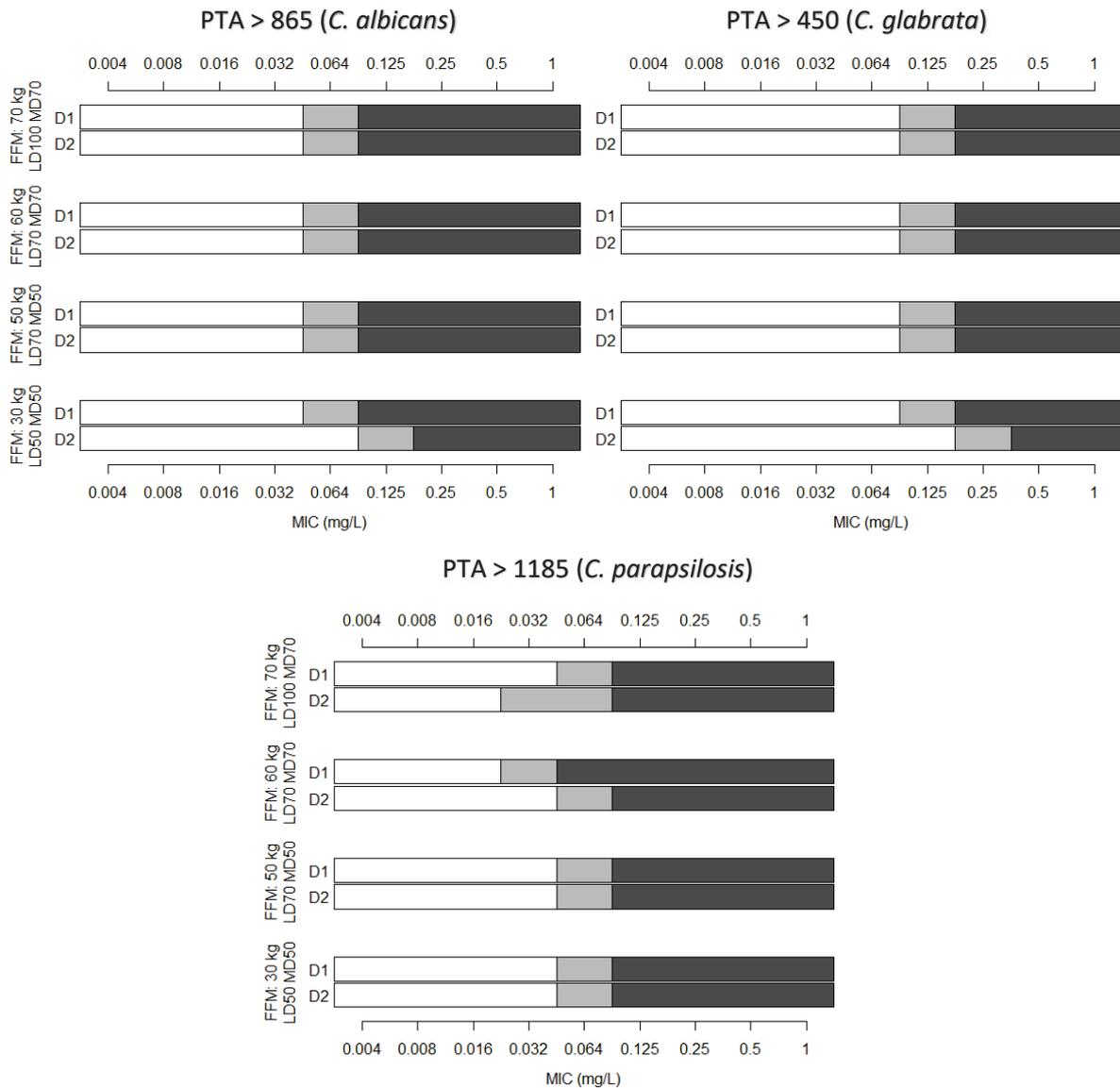
*Structural model is the three-compartment model without covariate. Final model is the three-compartment model with FFM normalised to the median population value (to the power of  $\beta$ ) on the total micafungin CL and Vc. 2LL: -2xlog-likelihood (objective function). AIC: akaike information criteria. CL: total clearance. FFM: fat free mass. iBias: individual bias. iImp: individual imprecision. pBias: population bias. pImp: population imprecision. Vc: volume of distribution of the central compartment.*

**S5: Simulation of plasma concentration with different dosing regimens for a patient with 50 kg of fat free mass.**



*Solid grey lines: 2.5<sup>th</sup>, 50<sup>th</sup> and 97.5<sup>th</sup> percentiles of prediction interval. Thick line: maximal concentration at steady-state (95<sup>th</sup> percentile). Dotted line: time to reach steady-state. Green: MD of 100mg caspofungin. Yellow: MD of 150mg caspofungin. Blue: MD of 200mg caspofungin. LD: loading dose. MD: maintenance dose.*

**S6: PTAs versus MIC considering PK parameters uncertainty.**



PTA over the first 48h of treatment for different dosing regimens and different fat free mass. White bars: PTA is significantly higher than 90% (the lower 90% confidence boundary for the PTA > 90%). Light grey bars: PTA is not significantly higher than 90% (the lower 90% confidence boundary for the PTA < 90%). Dark grey bars: PTA is significantly lower than 90% (the higher 90% confidence boundary for the PTA > 90%). MIC distribution (susceptibility) for *C. albicans*: 0.008 – 0.125 mg/L, for *C. glabrata*: 0.016 – 0.125 mg/L, and for *C. parapsilosis*: 0.064 – 0.500 mg/L [185,186].

**S7: Fractional target attainment (FTA) for different dosing regimens for each *Candida* species.**

Dosing regimens	FFM (kg)	<i>C. albicans</i>		<i>C. glabrata</i>		<i>C. parapsilosis</i>	
		Day 1	Day 2	Day 1	Day 2	Day 1	Day 2
LD: 50mg MD: 50mg q24h	30	+	+	+	+	-	-
	40	-	+	+	+	-	-
	50	-	+	+	+	-	-
	60	-	-	+	+	-	-
	70	-	-	+	+	-	-
LD: 70mg MD: 50mg q24h	30	+	+	+	+	-	-
	40	+	+	+	+	-	-
	50	+	+	+	+	-	-
	60	+	-	+	+	-	-
	70	-	-	+	+	-	-
LD: 100mg MD: 50mg q24h	30	+	+	+	+	-	-
	40	+	+	+	+	-	-
	50	+	+	+	+	-	-
	60	+	+	+	+	-	-
	70	+	-	+	+	-	-
LD: 70mg MD: 70mg q24h	30	+	+	+	+	-	-
	40	+	+	+	+	-	-
	50	+	+	+	+	-	-
	60	+	+	+	+	-	-
	70	-	+	+	+	-	-
LD: 100mg MD: 70mg q24h	30	+	+	+	+	-	-
	40	+	+	+	+	-	-
	50	+	+	+	+	-	-
	60	+	+	+	+	-	-
	70	+	+	+	+	-	-
LD: 150mg MD: 70mg q24h	30	+	+	+	+	-	-
	40	+	+	+	+	-	-
	50	+	+	+	+	-	-
	60	+	+	+	+	-	-
	70	+	+	+	+	-	-
LD: 100mg MD: 100mg q24h	30	+	+	+	+	-	-
	40	+	+	+	+	-	-
	50	+	+	+	+	-	-
	60	+	+	+	+	-	-
	70	+	+	+	+	-	-
LD: 150mg MD: 100mg q24h	30	+	+	+	+	-	-
	40	+	+	+	+	-	-
	50	+	+	+	+	-	-
	60	+	+	+	+	-	-
	70	+	+	+	+	-	-
LD: 200mg MD: 100mg q24h	30	+	+	+	+	-	-
	40	+	+	+	+	-	-
	50	+	+	+	+	-	-
	60	+	+	+	+	-	-
	70	+	+	+	+	-	-

FTA is the sum of PTA values determined at each MIC and the fraction of isolates found at that MIC. Target: total  $AUC_{0-24h}/MIC > 865$  for *C. albicans*, total  $AUC_{0-24h}/MIC > 450$  for *C. glabrata* and total  $AUC_{0-24h}/MIC > 1185$  for *C. parapsilosis*. A caspofungin dosing regimen is successful if  $FTA > 90\%$ . CLSI breakpoints (susceptibility):  $\leq 0.12$  mg/L for *C. glabrata*,  $\leq 0.25$  mg/L for *C. albicans* and even *C. tropicalis* and *C. krusei*,  $\leq 2$  mg/L for *C. parapsilosis*. Dark grey boxes:  $FTA > 90\%$ .  $AUC_{0-24h}$ : area under the concentration-time curve (0-24h). FTA: fractional target attainment. LD: loading dose. MD: maintenance dose. MIC: minimum inhibitory concentration. PTA: probability of target attainment.

## Annexe 4 : Matériels supplémentaires de l'article 4

### S1: Hemodynamic data in piglet model

Parameters	T0		T6		T12	
	Healthy (n=7)	Septic (n=15)	Healthy (n=7)	Septic (n=10)	Healthy (n=7)	Septic (n=7)
<b>MAP</b> (mmHg)	84.6 (16.0)	92.1 (22.8)	92.9 (14.0)	80.6 (16.0)	75.6 (12.5)	75.8 (32.1)
<b>SAP</b> (mmHg)	102.4 (15.8)	107.4 (28.0)	116.9 (16.4)	97.7 (33.0)	97.9 (15.9)	87.4 (30.3)
<b>DAP</b> (mmHg)	73.3 (14.5)	82.5 (34.4)	76.4 (12.5)	68.5 (16.3)	61.1 (15.9)	57.8 (7.8)
<b>HR</b> (bpm)	110.1 (21.9)	111.4 (19.1)	86.6 (32.3)	136.4 (23.6)	95.6 (43.8)	125.1 (38.2)
<b>CVP</b> (mmHg)	11.3 (4.2)	13.1 (2.7)	13.0 (6.0)	15 (6.7)	13.1 (6.6)	13.7 (4.2)
<b>CI</b> (L/min/m <sup>2</sup> .m <sup>2</sup> )	3.3 (0.6)	3.6 (0.8)	2.6 (0.4)	2.4 (0.6)	2.5 (0.6)	2.6 (0.6)
<b>PPV</b> (%)	15.9 (3.3)	17.7 (4.2)	10.9 (4.3)	18.3 (5.3)	11.7 (6.2)	22.8 (6.0)
<b>SVV</b> (%)	13.7 (4.2)	13.1 (3.3)	9.7 (3.0)	17.3 (5.4)	9.8 (4.0)	17.3 (7.7)
<b>SVI</b> (ml/m <sup>2</sup> )	29.9 (9.6)	30.9 (7.3)	30.3 (7.7)	17.9 (5.6)	28.2 (4.3)	20.7 (4.2)
<b>GEDVI</b> (ml/m <sup>2</sup> )	511.4 (58.2)	562.2 (73.3)	554.4 (120.9)	516.2 (107.7)	559.4 (93.8)	516.6 (113.3)
<b>EVLWI</b> (ml/kg)	13.6 (2.4)	15.5 (3.6)	14.1 (2.5)	20.5 (5.5)	18.9 (8.6)	21.0 (9.7)
<b>PVPI</b>	2.9 (0.6)	2.8 (0.6)	2.5 (0.6)	4 (1.2)	3.2 (1.2)	4.0 (1.5)
<b>dP/dt max</b> (mmHg/s)	581.4 (137.7)	573.1 (200.3)	644.9 (210.1)	793.1 (486.5)	575.7 (209.0)	782.1 (279.2)
<b>SRV</b> (dyn.s/cm <sup>5</sup> )	2083.6 (515.2)	2182.3 (760.4)	2935.0 (456.3)	2551.8 (690.9)	2467.2 (415.6)	1840.0 (326.6)
<b>EtCO<sub>2</sub></b> (mmHg)	44.3 (11.4)	35.9 (5.5)	36.7 (6.4)	31.5 (7.3)	34.1 (3.6)	32.3 (5.4)
<b>T</b> (C°)	37.7 (1.8)	36.7 (1.1)	37.2 (1.1)	37.5 (2.4)	36.9 (1.9)	39.2 (2.2)

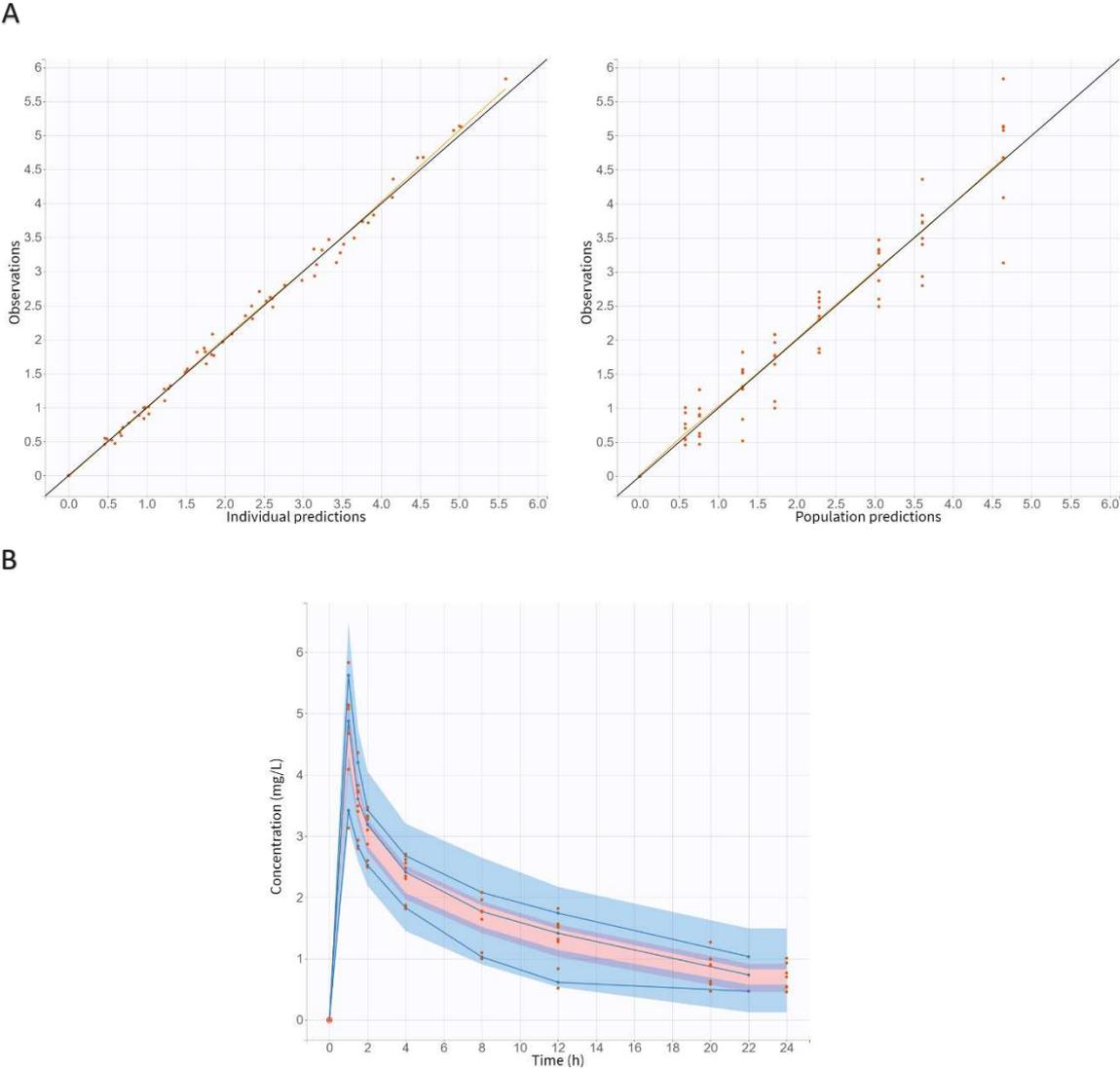
*Hemodynamic data (mean (SD)) were recorded at T0, T6 and T12. MAP: Mean arterial pressure, SBP: Systolic arterial pressure. DBP: Diastolic arterial pressure. HR: Heart rate. CVP: Central venous pressure. CI: Cardiac index. PPV: Pulse pressure variations. SVV: Stroke volume variations. SVI: Stroke volume index. GEDVI: Global end-diastolic volume index. EVLWI: Extravascular lung water index. PVPI: Pulmonary vascular permeability index. dP/dt max: maximal rate of rise of left ventricular pressure. SRV: Systemic vascular resistance. EtCO<sub>2</sub>: "End tidal" CO<sub>2</sub>. T: Temperature.*

## S2: Peritoneal penetration of micafungin

<b>AUC<sub>8-12h</sub> (mg*h /L)</b>	<b>Plasma (PL)</b>	<b>Peritoneal fluid (PE)</b>	<b>Ratio PE/PL (%)</b>
<b>Healthy pig</b>	5.95 ± 1.65	3.70 ± 1.27	<b>61 ± 15</b>
<b>Sepsis pig</b>	5.73 ± 1.24	5.18 ± 1.76	<b>90 ± 23</b>
<b>Sepsis human</b>	14.68 ± 3.71	5.90 ± 2.65	<b>40 ± 15</b>

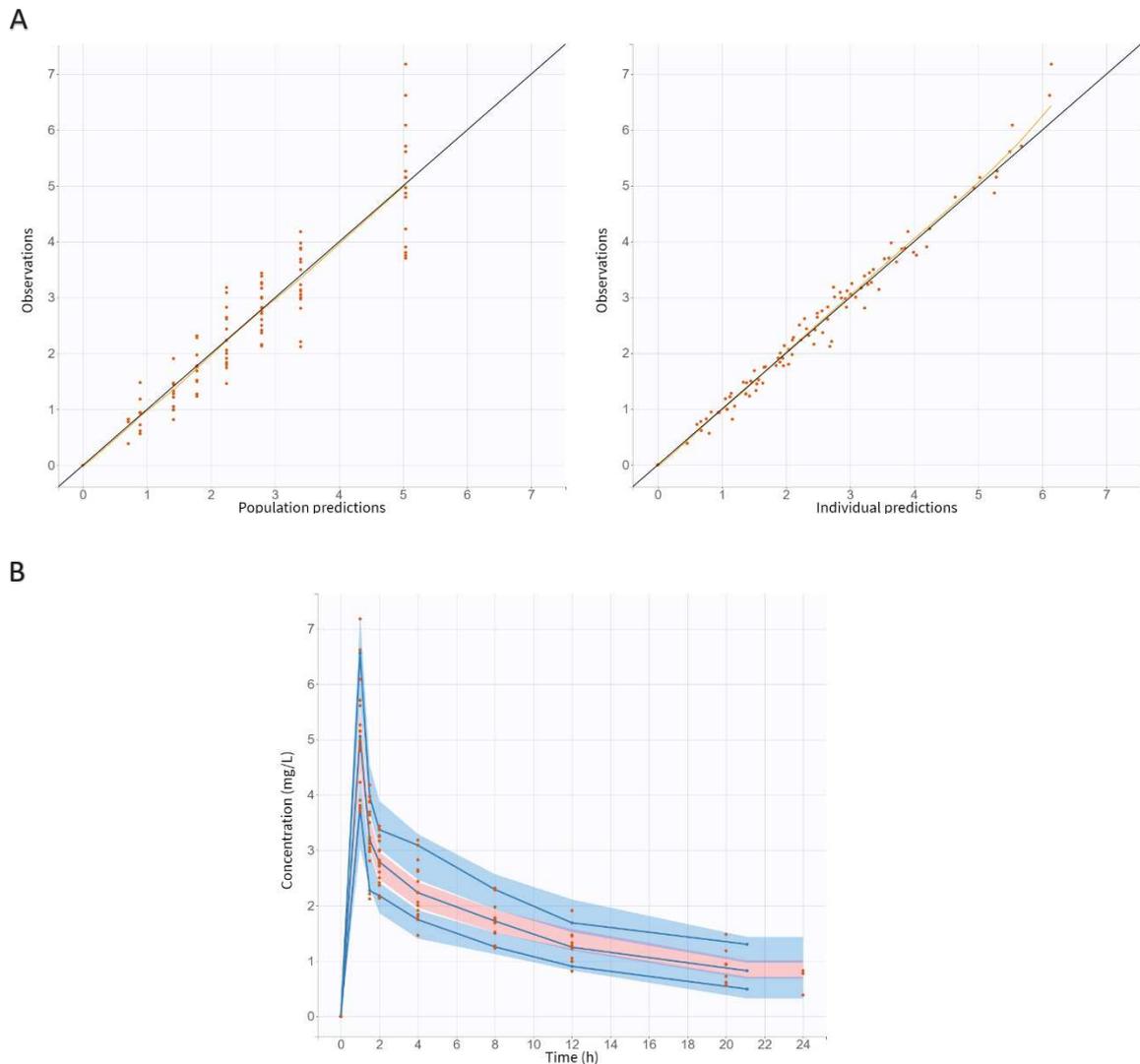
Results are presented as mean ± standard deviation. Ratio PE/PL was calculated from patients with both peritoneal and plasma concentrations available. AUC<sub>8-12h</sub>: total area under curve (8-12h).

**S3: Diagnostic plots and VPC for the final model of healthy pigs**



A) Observed versus population and individual predicted micafungin concentration in plasma. B) Visual predicted check (VPC) for healthy pigs. Orange circle: observed concentration in pigs (37.5 mg of micafungin). A) – Filled black line: identity line. Yellow curve: spline. B) – Blue lines: observed percentiles (5<sup>th</sup>, 50<sup>th</sup> and 90<sup>th</sup> percentiles). Blue and pink fields: Confidence intervals around the predicted 5<sup>th</sup>, 50<sup>th</sup> and 90<sup>th</sup> percentiles.

## S4: Diagnostic plots and VPC for the final model of sepsis pigs



A) Observed versus population and individual predicted micafungin concentration in plasma. B) Visual predicted check (VPC) for sepsis pigs. Orange circle: observed concentration in pigs (37.5 mg of micafungin). A) – Filled black line: identity line. Yellow curve: spline. B) – Blue lines: observed percentiles (5<sup>th</sup>, 50<sup>th</sup> and 90<sup>th</sup> percentiles). Blue and pink fields: Confidence intervals around the predicted 5<sup>th</sup>, 50<sup>th</sup> and 90<sup>th</sup> percentiles.

## Annexe 5 : Code Monolix du modèle PBPK porcin (micafungine)

```
[LONGITUDINAL]
input={CLt,WT,deb}
WT = {use=regressor}
deb = {use=regressor}

PK:
depot(target=Aven)

EQUATION:
odeType=stiff

; ===== Micafungin's properties =====

pKa = 9.15 ; acidity constant
P = -0.39 ; P, n-octanol:buffer ratio
fup = 0.01 ; unbound fraction in plasma
fut = 1 / (1 + (1 - fup)/fup * 0.5)
BP = 0.9 ; blood:plasma ratio

; ===== Pig PBPK model structure =====

; ===== Initial condition =====

t_0 = 0
Aart_0 = 0 ; amount in arterial blood
Aven_0 = 0 ; amount in venous blood
Alun_0 = 0 ; amount in lung
Abra_0 = 0 ; amount in brain
Ahrt_0 = 0 ; amount in heart
Amus_0 = 0 ; amount in muscle
Askin_0 = 0 ; amount in skin
Aadi_0 = 0 ; amount in adipose
Ahep_0 = 0 ; amount in liver
Agit_0 = 0 ; amount in GIT (Gastrointestinal tract)
Akid_0 = 0 ; amount in kidney
Ares_0 = 0 ; amount in rest of body

; ===== Tissue volumes (L) =====

Vart = (2.65/100) * WT ; Arterial volume
Vven = (5.3/100) * WT ; Venous volume
Vlun = (2.7/100) * WT ; Lung volume
Vbra = (0.34/100) * WT ; Brain volume
Vhrt = (0.62/100) * WT ; Heart volume
Vmus = (37.8/100) * WT ; Muscle volume
Vskn = (7.7/100) * WT ; Skin volume
Vadi = (17.7/100) * WT ; Adipose volume
Vhep = (2.7/100) * WT ; Liver volume
Vgit = (6.18/100) * WT ; GIT volume stomach+Small Intestine+colon
Vkid = (0.48/100) * WT ; Kidney volume
Vres = WT - (Vart + Vven + Vlun + Vbra + Vhrt + Vmus + Vskn + Vadi + Vhep + Vgit + Vkid) ; Rest of body volume
Vtot = WT ; Total Volume
```

; ===== Blood flows (L/h) =====

Ht = 0.35 ; Pig hematocrit

CO = deb \* WT \* (1 - Ht) ; Total plasmatic flow (L/h)

Qbra = (2.05/100) \* CO ; Brain plasmatic flow

Qhrt = (3.67/100) \* CO ; Heart plasmatic flow

Qskn = (5/100) \* CO ; Skin plasmatic flow

Qmus = (20/100) \* CO ; Muscle plasmatic flow

Qadi = (16.7/100) \* CO ; Adipose plasmatic flow

Qgit = (21.5/100) \* CO ; GIT plasmatic flow

QhepArt = (5.1/100) \* CO ; Hepatic arterial plasmatic flow

QhepT= QhepArt + Qgit ; Total hepatic plasmatic flow

Qkid = (13.45/100) \* CO ; Kidney plasmatic flow

Qart = CO ; Artery plasmatic flow

Qlun = CO ; Lung plasmatic flow

Qven = CO ; Vein plasmatic flow

SUMQ = Qmus + Qkid + Qhrt + QhepT + Qbra + Qskn + Qadi

Qres = CO - SUMQ ; rest of body plasmatic flow

; ===== Concentrations =====

Clun = Alun/Vlun

Cbra = Abra/Vbra

Chrt = Ahrt/Vhrt

Cskn = Askn/Vskn

Cmus = Amus/Vmus

Cadi = Aadi/Vadi

Cgit = Agit/Vgit

Chep = Ahep/Vhep

Ckid = Akid/Vkid

Cven = Aven/Vven

Cart = Aart/Vart

Cres = Ares/Vres

; ===== Elimination =====

fraHep = 0.99 ; fraction of hepatic elimination

fraKid = 0.01; fraction of renale elimination

CLHep = fraHep \* CLt ; hepatic elimination

CLKid = fraKid \* CLt ; renale elimination

; ===== Partition Coefficients =====

pHp = 7.4 ; pH of plasma

pHiw = 7 ; pH of intracellular water

X = 1 + 10^(pKa - pHiw) ; weak base

Y = 1 + 10^(pKa - pHp) ; weak base

;fiw, fractional content of intracellular water

fiwLun = 0.446

fiwBra = 0.62

fiwHrt = 0.456

fiwSkn = 0.291

fiwMus = 0.63

fiwAdi = 0.017  
fiwGit = 0.475 ; fiw.gut  
fiwHep = 0.573  
fiwKid = 0.483

;few, fractional content of extracellular water

fewLun = 0.336  
fewBra = 0.162  
fewHrt = 0.32  
fewSkn = 0.382  
fewMus = 0.118  
fewAdi = 0.135  
fewGit = 0.282 ; fiw.gut  
fewHep = 0.161  
fewKid = 0.273

;fnl, fractional content of neutral nonpolar lipids equivalent

fnlP = 0.0012  
fnlLun = 0.0138  
fnlBra = 0.0452  
fnlHrt = 0.0127  
fnlSkn = 0.0313  
fnlMus = 0.0250  
fnlAdi = 0.6635  
fnlGit = 0.0274 ; fnl.gut  
fnlHep = 0.0501  
fnlKid = 0.01824

;fnp, fractional content of neutral phospholipids equivalent

fnpP = 0.0033  
fnpLun = 0.00545  
fnpBra = 0.003126  
fnpHrt = 0.00248  
fnpSkn = 0.00118  
fnpMus = 0.002402  
fnpAdi = 0 ; below the limit of quantification (20 ug/ml)  
fnpGit = 0.00089 ; fnl.gut  
fnpHep = 0.00913  
fnpKid = 0.004517

;PR.t/PR.p, tissue-to-plasma concentration ratio of albumin

RalbuLun = 0.212  
RalbuBra = 0.048  
RalbuHrt = 0.157  
RalbuSkn = 0.277  
RalbuMus = 0.064  
RalbuAdi = 0.049  
RalbuGit = 0.158 ; fnl.gut  
RalbuHep = 0.086  
RalbuKid = 0.13

;Kpu, tissue-to-buffer ratio

$$\text{KpuLun} = X * \text{fiwLun}/Y + \text{fewLun} + (\text{P} * \text{fnlLun} + (0.3 * \text{P} + 0.7) * \text{fnpLun})/Y$$
$$+ (1/\text{fup} - 1 - (\text{P} * \text{fnlP} + (0.3 * \text{P} + 0.7) * \text{fnpP})/Y) * \text{RalbuLun}$$
$$\text{KpuBra} = X * \text{fiwBra}/Y + \text{fewBra} + (\text{P} * \text{fnlBra} + (0.3 * \text{P} + 0.7) * \text{fnpBra})/Y$$
$$+ (1/\text{fup} - 1 - (\text{P} * \text{fnlP} + (0.3 * \text{P} + 0.7) * \text{fnpP})/Y) * \text{RalbuBra}$$

$$\begin{aligned} \text{KpuHrt} &= X * \text{fiwHrt}/Y + \text{fewHrt} + (P * \text{fnlHrt} + (0.3 * P + 0.7) * \text{fnpHrt})/Y \\ &\quad + (1/\text{fup} - 1 - (P * \text{fnlP} + (0.3 * P + 0.7) * \text{fnpP})/Y) * \text{RalbuHrt} \\ \text{KpuSkn} &= X * \text{fiwSkn}/Y + \text{fewSkn} + (P * \text{fnlSkn} + (0.3 * P + 0.7) * \text{fnpSkn})/Y \\ &\quad + (1/\text{fup} - 1 - (P * \text{fnlP} + (0.3 * P + 0.7) * \text{fnpP})/Y) * \text{RalbuSkn} \\ \text{KpuMus} &= X * \text{fiwMus}/Y + \text{fewMus} + (P * \text{fnlMus} + (0.3 * P + 0.7) * \text{fnpMus})/Y \\ &\quad + (1/\text{fup} - 1 - (P * \text{fnlP} + (0.3 * P + 0.7) * \text{fnpP})/Y) * \text{RalbuMus} \\ \text{KpuAdi} &= X * \text{fiwAdi}/Y + \text{fewAdi} + (P * \text{fnlAdi} + (0.3 * P + 0.7) * \text{fnpAdi})/Y \\ &\quad + (1/\text{fup} - 1 - (P * \text{fnlP} + (0.3 * P + 0.7) * \text{fnpP})/Y) * \text{RalbuAdi} \\ \text{KpuGit} &= X * \text{fiwGit}/Y + \text{fewGit} + (P * \text{fnlGit} + (0.3 * P + 0.7) * \text{fnpGit})/Y \\ &\quad + (1/\text{fup} - 1 - (P * \text{fnlP} + (0.3 * P + 0.7) * \text{fnpP})/Y) * \text{RalbuGit} ; \text{Kp.gut} \\ \text{KpuHep} &= X * \text{fiwHep}/Y + \text{fewHep} + (P * \text{fnlHep} + (0.3 * P + 0.7) * \text{fnpHep})/Y \\ &\quad + (1/\text{fup} - 1 - (P * \text{fnlP} + (0.3 * P + 0.7) * \text{fnpP})/Y) * \text{RalbuHep} \\ \text{KpuKid} &= X * \text{fiwKid}/Y + \text{fewKid} + (P * \text{fnlKid} + (0.3 * P + 0.7) * \text{fnpKid})/Y \\ &\quad + (1/\text{fup} - 1 - (P * \text{fnlP} + (0.3 * P + 0.7) * \text{fnpP})/Y) * \text{RalbuKid} \end{aligned}$$

;Kp, partition coefficient

KpLun = KpuLun \* fup

KpBra = KpuBra \* fup

KpHrt = KpuHrt \* fup

KpSkn = KpuSkn \* fup

KpMus = KpuMus \* fup

KpAdi = KpuAdi \* fup

KpGit = KpuGit \* fup ; Kp.gut

KpHep = KpuHep \* fup

KpKid = KpuKid \* fup

KpRes = 0.14 ; mean of calculated Kp

; ===== Differential equations =====

ddt\_Alun = Qlun \* (Cven \* BP - Clun \* BP/KpLun) ; Lung

ddt\_Abra = Qbra \* (Cart - Cbra \* BP/KpBra) ; Brain

ddt\_Ahrt = Qhrt \* (Cart - Chrt \* BP/KpHrt) ; Heart

ddt\_Askn = Qskn \* (Cart - Cskn \* BP/KpSkn) ; Skin

ddt\_Amus = Qmus \* (Cart - Cmus \* BP/KpMus) ; Muscle

ddt\_Aadi = Qadi \* (Cart - Cadi \* BP/KpAdi) ; Adipose

ddt\_Agit = Qgit \* (Cart - Cgit \* BP/KpGit) ; GIT

ddt\_Ares = Qres \* (Cart - Cres \* BP/KpRes) ; Rest of body

ddt\_Ahep = (QhepArt \* Cart) + (Qgit \* Cgit \* BP/KpGit) - (QhepT \* Chep \* BP/KpHep) - (Chep\*BP/KpHep \* CLHep) ; Liver

ddt\_Akid = Qkid \* (Cart - Ckid \* BP/KpKid) - (Ckid\*BP/KpHep \* CLKid) ; Kidney

ddt\_Aart = Qart \* (Clun \* BP/KpLun - Cart) ; Arterial blood

ddt\_Aven = ; Venous blood

$$\begin{aligned} & ( Qbra * Cbra * BP/KpBra \\ & + Qhrt * Chrt * BP/KpHrt \\ & + Qskn * Cskn * BP/KpSkn \\ & + Qmus * Cmus * BP/KpMus \\ & + Qadi * Cadi * BP/KpAdi \\ & + QhepT * Chep * BP/KpHep \\ & + Qkid * Ckid * BP/KpKid \\ & + Qres * Cres * BP/KpRes \\ & - Qlun * Cven)/BP \end{aligned}$$

OUTPUT:

output = {Cven, Cart, Clun, Cbra, Chrt, Cskn, Cmus, Cadi, Cgit, Chep, Ckid, Cres}

table = {Cven}