



HAL
open science

Évaluation de la fraction libre du Voriconazole et corrélations clinico-biologiques

Aurélie Florent

► **To cite this version:**

Aurélie Florent. Évaluation de la fraction libre du Voriconazole et corrélations clinico-biologiques. Sciences pharmaceutiques. 2014. dumas-01107359

HAL Id: dumas-01107359

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01107359>

Submitted on 20 Jan 2015

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.

UNIVERSITE BORDEAUX II VICTOR SEGALEN
U.F.R DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Année 2014

Thèse n° 93

THESE pour l'obtention du
DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE
après soutenance
du MEMOIRE du DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES
de

Présentée et soutenue publiquement
Le 29 septembre 2014 à Toulouse

Par Aurélie FLORENT

Née le 08 décembre 1986 à Suresnes

**Evaluation de la fraction libre du Voriconazole et
corrélations clinico-biologiques.**

Directeur de thèse :

Docteur Peggy GANDIA

Jury :

Docteur Jean GRELLET, MCU-PH	Président
Docteur Peggy GANDIA, MCU-PH	Membre
Docteur Etienne CHATELUT, PU-PH	Membre
Docteur Michel LAVIT, PH	Membre
Monsieur Patrick SERAISSOL, Ingénieur	Membre

UNIVERSITE BORDEAUX II VICTOR SEGALEN
U.F.R DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Année 2014

Thèse n° 93

THESE pour l'obtention du
DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE
après soutenance
du MEMOIRE du DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES
de

Présentée et soutenue publiquement
Le 29 septembre 2014 à Toulouse

Par Aurélie FLORENT

Née le 08 décembre 1986 à Suresnes

**Evaluation de la fraction libre du Voriconazole et
corrélations clinico-biologiques.**

Directeur de thèse :

Docteur Peggy GANDIA

Jury :

Docteur Jean GRELLET, MCU-PH	Président
Docteur Peggy GANDIA, MCU-PH	Membre
Docteur Etienne CHATELUT, PU-PH	Membre
Docteur Michel LAVIT, PH	Membre
Monsieur Patrick SERAISSOL , Ingénieur	Membre

Remerciements

Professeur Georges HOUIN,

Pour m'avoir donné la possibilité de réaliser cette thèse au sein du laboratoire, je vous remercie. Soyez assuré de tout mon respect.

Professeur Jean GRELLET,

Pour me faire faire l'honneur de présider mon jury, je vous remercie. Soyez assuré de tout mon respect.

Professeur Etienne CHATELUT,

Pour avoir accepté de juger ce travail et pour votre aide, je vous remercie. Soyez assuré de toute mon estime.

Docteur Peggy GANDIA,

Je te remercie pour ta disponibilité, ton aide, ton humour et ton soutien tout au long de mon cursus. Merci d'avoir accepté de diriger cette thèse. Trouve ici le témoignage de ma profonde reconnaissance.

Docteur Michel LAVIT,

Vous me faites l'honneur de juger ce travail, veuillez trouver ici l'expression de mes sincères remerciements et de mon profond respect.

Monsieur Patrick SERAISSOL,

Pour m'avoir conseillé sur le plan analytique mais aussi pour le tour en Kamaro, je te remercie. Merci aussi d'avoir étoffé ma culture de navets cinématographiques !

Je remercie également **le Professeur Didier CONCORDET et John WOODLEY** pour leur aide en statistique et en anglais, respectivement.

Un grand merci à toute l'équipe **des techniciens et cadres** du laboratoire de Toxicologie pour leur bonne humeur et leur aide notamment dans le fastidieux recueil d'échantillons.

A ma famille,

Merci pour vos nombreux soutiens et encouragements même si mes études n'ont pas toujours été très claires pour vous !

A mes amis,

Loin des yeux, toujours près du cœur !

A Fred,

Merci d'avoir relu cette thèse et surtout, merci de partager la charge des sacs à dos lors de nos treks autour du monde !

Et enfin une pensée pour Papy, tata Mimi et Oxbo.

Sommaire

LISTE DES TABLEAUX.....	8
LISTE DES FIGURES	10
LISTE DES ABREVIATIONS	13
INTRODUCTION	15
I. LE VORICONAZOLE	18
A. PRINCIPALES INDICATIONS	18
1. <i>Descriptions des principales pathologies</i>	<i>18</i>
a) Candidose	18
b) Aspergillose	19
2. <i>Epidémiologie</i>	<i>20</i>
3. <i>Etudes cliniques : efficacité et tolérance du Voriconazole</i>	<i>24</i>
a) Etude de Wingard et al. (30) chez les patients ayant bénéficié d'une transplantation de cellules souches hématopoïétiques.....	24
b) Etude Herbrecht et al. (31) chez les patients immunodéprimés ayant une infection fongique confirmée	25
B. PROPRIETES PHARMACODYNAMIQUES	27
1. <i>Mécanisme d'action.....</i>	<i>27</i>
2. <i>Spectre antifongique du Voriconazole : études in vitro</i>	<i>30</i>
3. <i>Sensibilité aux mécanismes de résistance et émergence de résistance</i>	<i>33</i>
4. <i>Effet post-antifongique.....</i>	<i>36</i>
5. <i>Etudes de l'activité du Voriconazole en combinaison avec différents antifongiques</i>	<i>37</i>
C. PROPRIETES PHARMACOCINETIQUES.....	39
1. <i>Chez les sujets sains</i>	<i>40</i>
a) Absorption	40
b) Distribution	43
c) Métabolisme.....	44
d) Excrétion.....	47
2. <i>Chez le patient.....</i>	<i>49</i>
a) Insuffisant rénal	49
b) Insuffisant hépatique.....	50
c) En pédiatrie.....	50
d) Patient obèse	51
D. INTERACTIONS MEDICAMENTEUSES.....	52
1. <i>Effet du Voriconazole sur la pharmacocinétique des médicaments associés.....</i>	<i>52</i>
2. <i>Effet des médicaments associés sur la pharmacocinétique du Voriconazole.....</i>	<i>54</i>
II. SUIVI THERAPEUTIQUE PHARMACOLOGIQUE	55
A. GENERALITES	55

B.	RELATIONS PHARMACOCINETIQUES-PHARMACODYNAMIQUES BASEES SUR LA CONCENTRATION PLASMATIQUE TOTALE DU VORICONAZOLE.....	58
C.	LA FRACTION LIBRE: UN NOUVEAU PARAMETRE PHARMACOCINETIQUE DU STP ?	63
1.	<i>Méthode de détermination de la fraction libre</i>	63
a)	Dialyse à l'équilibre.....	63
b)	Ultrafiltration	64
2.	<i>Calcul de la fraction libre et facteurs de variabilité</i>	66
3.	<i>Hypothèse justifiant la détermination de la fraction libre dans le STP</i>	67
III.	DETERMINATION DE LA CONCENTRATION ET DE LA FRACTION LIBRE DU VORICONAZOLE.....	69
A.	OBJECTIF	69
B.	MATERIEL ET METHODE	69
1.	<i>Données démographiques</i>	69
2.	<i>Ultrafiltration</i>	69
3.	<i>Méthode de dosage plasmatique du Voriconazole</i>	70
a)	UPLC-UV.....	70
b)	Courbes d'étalonnage et contrôles qualité.....	71
c)	Dosage des échantillons.....	72
4.	<i>Etude de l'efficacité et de la tolérance</i>	73
C.	RESULTATS.....	74
1.	<i>Validation analytique de la méthode de dosage de la concentration libre en Voriconazole</i>	74
2.	<i>Etude de la fraction libre</i>	75
a)	In vitro	75
b)	In vivo.....	76
3.	<i>Evaluation de l'efficacité et de la tolérance</i>	79
IV.	DISCUSSION, CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	82
	BIBLIOGRAPHIE	86
	ANNEXES	99
	ANNEXE 1: PUBLICATION.....	99
	ANNEXE 2: RICAI 2013 (COMMUNICATION ORALE)	100
	ANNEXE 3: P2T 2014 (COMMUNICATION AFFICHEE).....	103

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Risques associés à l'apparition d'une infection fongique invasive (27)..	23
Tableau 2 : Nombre d'infections fongiques médicalement prouvées chez les patients traités par Voriconazole <i>versus</i> Fluconazole (30).....	25
Tableau 3 : Energie de liaison non covalente entre les azolés et le site actif du CYP51 (35).....	30
Tableau 4 : Résultats des CMI <i>in vitro</i> du Voriconazole, Itraconazole et Amphotéricine B sur différentes souches de pathogènes filamenteux (42)	31
Tableau 5 : Comparaison des activités <i>in vitro</i> du Posaconazole, Itraconazole, Voriconazole et Amphotéricine B sur des isolats de fungi (43).....	32
Tableau 6 : Temps de survie et charge fongique dans le tissu rénal (53)	38
Tableau 7 : Caractéristiques pharmacocinétiques des antifongiques azolés (56)	39
Tableau 8 : Mesure des concentrations totales en Voriconazole dans les intestins, le cerveau, le foie, la rate, les reins et le myocarde chez 8 patients autopsiés (61)	43
Tableau 9 : Mesure des concentrations totales en Voriconazole dans différents tissus équinés après 7 jours et 14 jours de traitement. Ratio des concentrations totales en Voriconazole de chaque tissu par rapport aux concentrations totales plasmatiques chez des chevaux après 7 et 14 jours de traitement (62)	44
Tableau 10 : Principales interactions entre les azolés et le cytochrome 3A4, 2C8/9 et 2C19 (56).....	45
Tableau 11 : Clairance rénale du Voriconazole et de ses métabolites chez des métaboliseurs lents, rapides et ultra-rapides après une administration par voie orale ou intraveineuse (59).....	48
Tableau 12 : Concentrations totales résiduelles du Voriconazole dans une population de sujets non obèses (IMC entre 18,5 et 24,9 kg/m ²) et obèses (IMC > 35 kg/m ²) après administration de 4mg/kg (75)	52
Tableau 13 : Interactions médicamenteuses communes au Voriconazole, Itraconazole, Fluconazole, Posaconazole (76).....	53
Tableau 14 : Interactions médicamenteuses propres au Voriconazole (76)	53
Tableau 15 : Situations motivant le recours à un dosage sanguin de médicament (80)	55
Tableau 16 : Réponse au traitement chez des patients ayant bénéficié d'un STP du Voriconazole <i>versus</i> patients sans STP du Voriconazole (17)	59

Tableau 17 : Récapitulatif des données issues de la littérature concernant le suivi thérapeutique pharmacologique du Voriconazole basé sur la concentration résiduelle totale.....	60
Tableau 18 : Principaux résultats de la validation de la méthode de dosage de la concentration libre du Voriconazole.....	75
Tableau 19 : Principaux résultats biologiques des patients sous Voriconazole (n= 82 prélèvements).....	77

Liste des Figures

Figure 1 : Image au microscope électronique d'un <i>Candida albicans</i> sur la muqueuse intestinale humaine (24)	18
Figure 2 : <i>Aspergillus flavus</i> vus au microscope après coloration au bleu de méthylène (d'après (25)).....	19
Figure 3: Scanner thoracique montrant une aspergillose invasive (flèche blanche) (26)	20
Figure 4 : Evolution du nombre de cas de sepsis entre 1979 et 2001 aux Etats-Unis (28)	21
Figure 5 : Prévalence des infections fongiques par type des pathogènes au cours de 20 années d'autopsies (29)	22
Figure 6 : Répartition de l'espèce fongique infectante par organe sur 20 années d'autopsies (29)	23
Figure 7 : Courbe de survie des deux populations traitées par Amphotéricine B ou Voriconazole (31)	26
Figure 8 : Structures chimiques des triazolés	27
Figure 9 : Mécanismes d'action des azolés sur le fungi (34)	28
Figure 10 : Insertion tridimensionnelle des azolés dans le site actif de l'enzyme. (A) Fluconazole, (B) Voriconazole, (C) Ravuconazole, (D) Albaconazole, (E) Itraconazole, (F) Posaconazole (35).....	29
Figure 11 : Résistance croisée entre Fluconazole et Voriconazole (37).....	31
Figure 12 : Mécanismes de résistance aux azolés (34).....	34
Figure 13 : Mécanisme de survie à un traitement par triazolés (46)	35
Figure 14 : Effet post-antifongique a) à différentes doses de Voriconazole b) quantifié sur <i>Aspergillus</i> ou <i>Candida</i> (51)	36
Figure 15 : Mesure de la prolifération fongique dans le rein et le cerveau de souris traitées par Amphotéricine B, Micafongine, Caspofongine ou Voriconazole en monothérapie ou en association (54)	37
Figure 16 : Courbe de survie des souris après administration d'Amphotéricine B, Voriconazole ou association Amphotéricine B et Voriconazole (54).....	38
Figure 17 : Corrélation entre la dose de Voriconazole et les concentrations résiduelles (57)	39

Figure 18 : Profil pharmacocinétique du Voriconazole en une prise par voie orale (cercle vide), par voie intraveineuse (cercle plein) (59)	40
Figure 19 : Biodisponibilité orale du Voriconazole chez des métaboliseurs lents, rapides et ultra-rapides (59).....	41
Figure 20 : Evolution de la Biodisponibilité du Voriconazole au cours du temps en post- greffe pulmonaire chez des patients mucoviscidosiques (lignes hachées) ou non (lignes pleines) (60)	42
Figure 21 : Concentrations plasmatiques du Voriconazole administré par voie orale chez des patients à jeun ou après un repas (11).....	42
Figure 22 : Voies métaboliques du Voriconazole (59)	45
Figure 23 : Evolution des concentrations plasmatiques du Voriconazole chez des métaboliseurs lents (PM), rapides (HEM) et ultra-rapides (EM) au cours du temps (65)	46
Figure 24 : Mesure de la clairance et de clairance apparente du Voriconazole après administration intraveineuse ou orale chez des métaboliseurs lents, rapides et ultra-rapides (59)	49
Figure 25 : Accumulation de la cyclodextrine (SBECD) au cours du temps chez des patients ayant une insuffisance rénale (69)	50
Figure 26 : Formation du Voriconazole N-oxyde en fonction de la concentration en Voriconazole chez l'adulte (moyenne de 38 ans allant de 20 à 58 ans), et l'enfant (moyenne de 4ans allant de 2 à 8 ans) (66)	51
Figure 27 : Concentrations plasmatiques totales de Voriconazole avec ou sans association à l'Oméprazole (78)	54
Figure 28 : Exemple d'une demande d'adaptation posologique de Mycophénolate Mofétil sur le site ABIS du CHU de Limoges	57
Figure 29 : Associations entre les concentrations résiduelles en Voriconazole et la mortalité/réponse au traitement selon Miyakis et al. (88)	61
Figure 30 : Proposition d'une fourchette thérapeutique du Voriconazole selon Pascual et al.(13).....	61
Figure 31 : Concentration plasmatique résiduelle en Voriconazole et efficacité/toxicité selon Okuda et al. (89)	62
Figure 32 : Représentation schématique du principe de dialyse à l'équilibre : exemple du Liraglutide, un antidiabétique oral (93).....	64

Figure 33 : Représentation schématique de l'ultrafiltration (gauche) et de la dialyse à l'équilibre (droite) (95).....	65
Figure 34 : Schéma de l'ultrafiltration appliquée aux travaux de cette étude.....	65
Figure 35 : Hypothèse de travail sur la variabilité inter-individuelle des concentrations libres du Voriconazole et la réponse au traitement.....	68
Figure 36 : Chromatogramme d'un contrôle de qualité moyen (0,4 mg/L) de Voriconazole avec l'OH-Itraconazole comme étalon interne	74
Figure 37 : Fraction libre du Voriconazole en fonction de la concentration totale (plasma frais surchargé).....	76
Figure 38 : Corrélation entre les concentrations totales et libres du Voriconazole chez 50 patients (n=82).....	77
Figure 39 : Corrélation entre le taux d'albumine et la fraction libre du Voriconazole chez 50 patients (n=82 prélèvements).....	78
Figure 40 : Corrélation entre les taux d'albumine inférieurs à 25 g/L et la fraction libre du Voriconazole chez 10 patients (n=14 prélèvements).....	78
Figure 41 : Boxplot des concentrations résiduelles libres et totales en fonction de l'antigénémie fongique dans une population traitée par Voriconazole en prophylaxie	79
Figure 42 : Courbe ROC représentant la probabilité d'un traitement efficace et d'une hyperbilirubinémie selon les Cu résiduelles.....	80
Figure 43 : Courbe ROC représentant la probabilité d'un traitement efficace et d'une hyperbilirubinémie selon les Ct résiduelles.....	80
Figure 44 : Boxplot des concentrations résiduelles libres et totales en fonction du résultat de l'examen direct dans une population traitée par Voriconazole en curatif	81

Liste des Abréviations

Ag	Antigène fongique
Alb	Albumine
AMM	Autorisation de Mise sur le Marché
ARNm	Acide Ribonucléique messenger
ASC	Aire Sous la Courbe
B _{max}	Capacité maximale de liaison
Bt	Bilirubine totale
CHU	Centre Hospitalo-Universitaire
Cl _h	Clairance hépatique
Cl _{int}	Clairance intrinsèque
CMI	Concentration Minimum Inhibitrice
CMI ₅₀	Concentration Minimum Inhibitrice de 50 % de la croissance fongique
CMI ₉₀	Concentration Minimum Inhibitrice de 90 % de la croissance fongique
Cr	Concentration résiduelle
C _t	Concentration plasmatique totale
C _u	Concentration plasmatique libre
CYP2C8/9	Cytochrome P 450 2C8/9
CYP2C19	Cytochrome P 450 2C19
CYP3A4	Cytochrome P 450 3A4
CV	Coefficient de Variation
E _h	Coefficient d'Extraction hépatique
ELF	Liquide Epithéliale Alvéolaire
ESC	European Society of Cardiology
FDA	Food and Drug Administration
FNS	Fixation Non Spécifique
fu	Fraction libre
I	Biais
IFI	Infection Fongique Invasive
IMC	Indice de Masse Corporelle
IV	Intra Veineux
K _D	Constante de Dissociation
LABM	Laboratoire d'Analyse de Biologie Médicale

LOD	Limite Of Detection (Limite de Détection)
LOQ	Limite Of Quantification (Limite de Quantification)
MDR1	Multi Drug Resistance 1
P	Imprécision
PK-PD	Pharmacocinétique-Pharmacodynamie
PK-TOX	Pharmacocinétique-Toxicologie
QC	Contrôle Qualité
Q _h	Débit sanguin hépatique
RCP	Résumé des Caractéristiques du Produit
ROC	Receiver Operating Characteristic
SBECD	Sulfobutylether cyclodextrine
SIDA	Syndrome de l'Immunodéficience Acquise
STP	Suivi Thérapeutique Pharmacologique
UPLC-UV	Ultra Performance Liquid Chromatography - Ultra Violet
VIH	Virus de l'Immunodéficience Humaine
VO	Voie Orale

Introduction

Les infections fongiques systémiques sont des affections graves et leurs incidences sont en progression significative ces dix dernières années. A côté de l'apparition de mycoses d'importation dues à la multiplication des voyages, la cause principale de cette croissance réside dans l'augmentation considérable des facteurs de risque et plus particulièrement du nombre croissant de patients immunodéprimés liés au virus du sida, aux avancées en transplantation et en oncologie (1), à l'utilisation de cathéters vasculaires et au recours fréquent à des antibiothérapies à large spectre. Ces infections sont associées à une élévation significative de la morbidité et de la mortalité des patients hospitalisés (1–4).

Le Voriconazole est un antifongique de type triazolé indiqué dans le traitement curatif des infections fongiques invasives (IFI) réfractaires et utilisé dans la prise en charge prophylactique des infections fongiques opportunistes du patient immunodéprimé (maladie du greffon contre l'hôte, neutropénie suite à une chimiothérapie, patients atteints du virus de l'immunodéficience humaine (VIH)) (5). Les triazolés agissent sur des pathogènes tels que les *Candida* et les *Aspergillus* en inhibant la lanostérol 14 α -déméthylase. Cette enzyme est responsable de la synthèse de l'ergostérol indispensable à la formation de la paroi fongique (6).

Une forte variabilité inter-individuelle de la concentration plasmatique totale (Ct) résiduelle (concentration déterminée avant une nouvelle administration) a été démontrée pour le Voriconazole (coefficient de variation (CV) de 51% pour une posologie de 200 mg x 2/jour (7)) et est liée à une multitude de facteurs dont les principaux sont le polymorphisme génétique du cytochrome P 450 2C19 (CYP2C19) (8), la polymédication systématique (9, 10) de ces patients et la prise alimentaire (11). A ce jour, le Voriconazole répond de façon partielle aux critères de mise en place d'un suivi thérapeutique pharmacologique (STP). Bien que cette molécule présente une forte variabilité inter-individuelle, ni la relation pharmacocinétique-pharmacodynamique (PK-PD) ni la marge thérapeutique n'ont été clairement établies. Les différentes études menées jusqu'à présent ont porté sur la concentration plasmatique totale résiduelle à l'état d'équilibre. Le seuil d'efficacité se

situerait entre 0,5 et 2,2 mg/L, tandis que le seuil de toxicité se situerait entre 4 et 6 mg/L (7, 12–18).

Des recommandations claires en terme de concentrations sont vivement attendues par les cliniciens afin d'améliorer la prise en charge des patients traités par triazolés. La question de la pertinence de cette concentration (Ct) par rapport à d'autres paramètres se pose, en particulier la concentration et la fraction plasmatiques libres (fu, rapport concentration libre/concentration totale). En effet, la forme libre (non liée aux protéines plasmatiques) d'un médicament est la forme pharmacologiquement active, capable de diffuser à travers les membranes pour atteindre sa(es) cible(s) (19). De par son caractère lipophile, le Voriconazole se lie à l'albumine à 58% (20). D'autre part, en se basant sur de récents travaux publiés par notre équipe de recherche sur l'Imatinib (anti-cancéreux), la fu apparaît comme un paramètre particulièrement pertinent lorsque cette dernière présente une forte variabilité inter-individuelle. En effet, deux patients peuvent avoir des concentrations totales similaires et toutefois avoir des fu très différentes susceptibles d'expliquer des réponses pharmacologiques elles aussi très différentes (21, 22).

Afin de répondre à cette question, nous avons étudié les relations PK-PD, en se basant sur les concentrations plasmatiques totales (Ct) et libres (Cu) résiduelles déterminées sur 97 prélèvements issus de 54 patients suivis au Centre Hospitalo-Universitaire (CHU) de Purpan (Toulouse). Les données biologiques permettant d'évaluer l'hépatotoxicité (bilirubine totale) et l'efficacité du traitement (examen direct et antigènes fongiques) ont été colligées à partir du dossier médical du patient. La principale protéine plasmatique de liaison des antifongiques est l'albumine (23) et à ce titre, son taux a été analysé afin d'évaluer d'éventuelles corrélations avec la fu.

La détermination de la fraction libre a été réalisée à l'aide d'une méthode d'ultrafiltration, et les Ct et Cu ont été mesurées par chromatographie liquide ultraperformante (Ultra Performance Liquid Chromatography-Ultra Violet, UPLC-UV).

Ainsi notre travail, qui a fait l'objet d'une publication internationale et de différentes communications (Annexe 1, 2 et 3), a permis d'apprécier l'intérêt

d'explorer non seulement les Ct et Cu, mais aussi la fu du Voriconazole dans le but d'adapter au mieux la posologie de chaque patient.

I. Le Voriconazole

La découverte de la première génération d'antifongiques triazolés dans les années 80 et le début des années 90 représente une grande avancée en termes de prise en charge des infections fongiques, en particulier grâce à leur profil de tolérance et leur grande biodisponibilité orale. Toutefois, ces nouvelles molécules sont limitées par leur pouvoir principalement fongistatique et non fongicide, leurs fortes interactions médicamenteuses via les cytochromes P450 ainsi que leurs profils pharmacocinétiques. L'émergence de nouveaux fungi pathogènes a démontré la nécessité de synthétiser une seconde génération de triazolés, le Voriconazole et le Posaconazole.

A. Principales indications

1. Descriptions des principales pathologies

a) *Candidose*

Les candidoses sont les infections fongiques les plus répandues mais dont l'arsenal thérapeutique est le plus large. Ce sont des infections majoritairement superficielles cutanéomuqueuses dues au genre *Candida*. Ces micro-organismes sont des champignons de type levure, formant physiologiquement un commensal toléré par l'homme sain dans la bouche, sur la peau, dans le système digestif et dans la flore vaginale (Figure 1) (24).

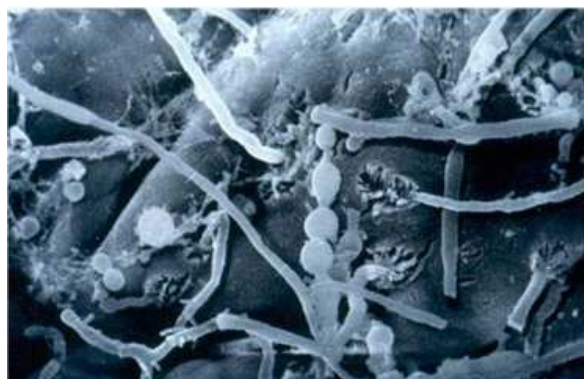


Figure 1 : Image au microscope électronique d'un *Candida albicans* sur la muqueuse intestinale humaine (24)

Les candidoses superficielles sont facilement prises en charge par des traitements antifongiques locaux. Cependant, chez les personnes ayant des facteurs favorisants, le *Candida*, selon son degré de virulence, va pouvoir passer dans les voies de la circulation sanguine et entraîner des septicémies.

b) Aspergillose

Les aspergilloses sont des infections dues aux pathogènes opportunistes du genre *Aspergillus*, champignons de type filamenteux. Les *Aspergillus* sont caractérisés par la présence de conidiophores dressés, terminés par une vésicule supportant, soit une seule rangée de phialides, soit une rangée de phialides et une rangée de cellules sous-jacentes appelées métules (Figure 2).

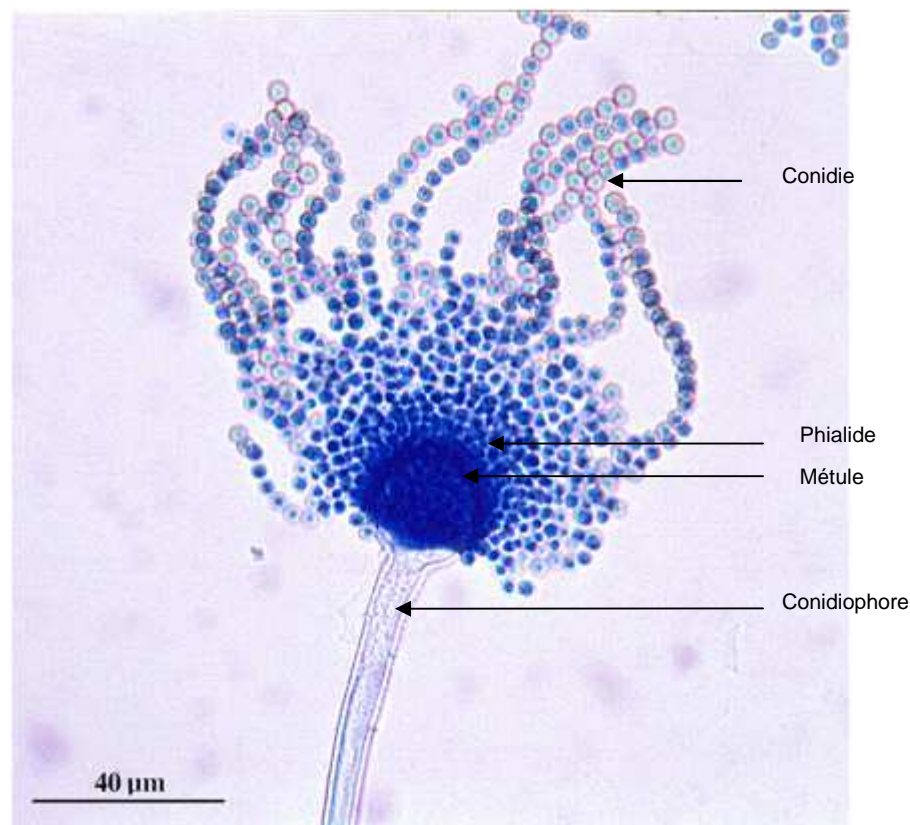


Figure 2 : *Aspergillus flavus* vus au microscope après coloration au bleu de méthylène (d'après (25))

Les *Aspergillus* sont à l'origine d'infections principalement localisées dans l'appareil respiratoire, plus rarement dans l'appareil gastro-intestinal et sur la peau (26, 27). Ces micro-organismes sont ubiquitaires et aisément pris en charge par le système immunitaire d'une personne immunocompétente. Les filaments sont neutralisés par les polynucléaires tandis que les spores sont phagocytés par les macrophages. Chez le patient ayant une immunité altérée, l'agent pathogène va pouvoir coloniser les organes d'entrée et à terme diffuser dans les voies systémiques pour atteindre le cerveau, le cœur, les reins ou la peau. Il s'agit alors d'un syndrome très grave dont l'issue est le plus souvent mortelle. Les patients atteints d'aspergillose invasive ont la plupart du temps de la fièvre et des symptômes pulmonaires (toux, douleurs thoraciques, difficultés à respirer) qui ne disparaissent pas sous traitement antibiotique. Le diagnostic est généralement donné sur une radiographie des poumons ou un scanner thoracique localisant un halo (Figure 3).



Figure 3: Scanner thoracique montrant une aspergillose invasive (flèche blanche) (26)

2. Epidémiologie

Au cours des vingt dernières années, une augmentation globale du nombre de chocs septiques quel que soit l'agent pathogène a été largement recensée (Figure 4) (4, 28). L'immunodépression induite par des thérapies ou une physiopathologie infectieuse adjacente est de plus en plus répandue. Les infections opportunistes

qu'elles soient bactériennes ou fongiques ont donc un réservoir humain d'expansion bien plus important. Entre 1985 et 2001, dans la population des Etats-Unis, le nombre de cas d'infections fongiques non typées a quintuplé en passant de 5000 à 25000 cas (28). La nécessité de développer un arsenal thérapeutique efficace contre les fungi n'est donc pas discutable.

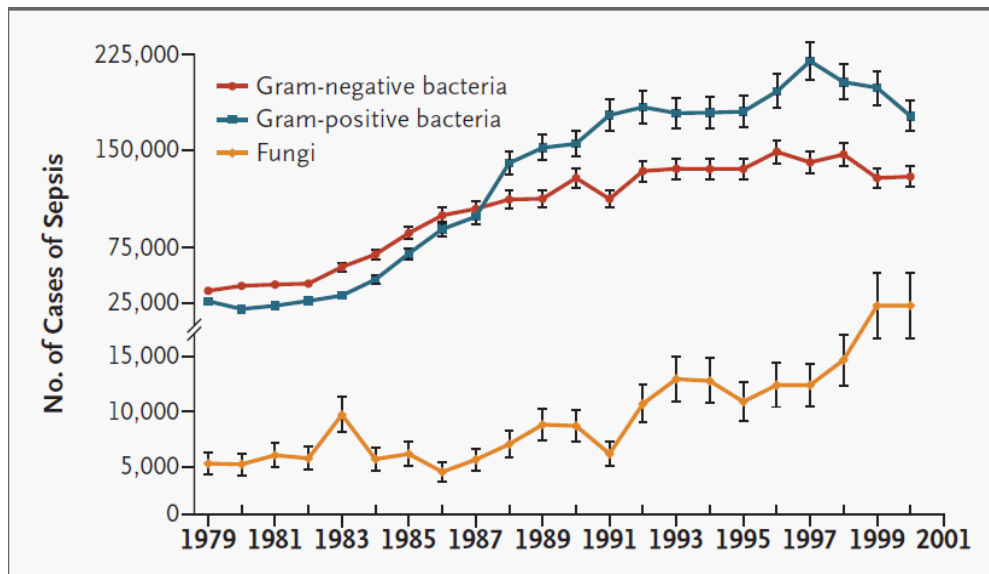


Figure 4 : Evolution du nombre de cas de sepsis entre 1979 et 2001 aux Etats-Unis (28)

A contrario, une étude basée sur 20 ans de résultats d'autopsies de patients ayant eu une hémopathie maligne a montré que, depuis 1989, la prévalence des infections fongiques mortelles a diminué (Figure 5) (29). Ce résultat laisse sous-entendre que dans la population étudiée, malgré un nombre croissant de cas de sepsis et grâce aux premiers antifongiques commercialisés, il y a moins de décès par infections fongiques. L'arsenal thérapeutique à disposition semble permettre de réduire le nombre de cas mortels.

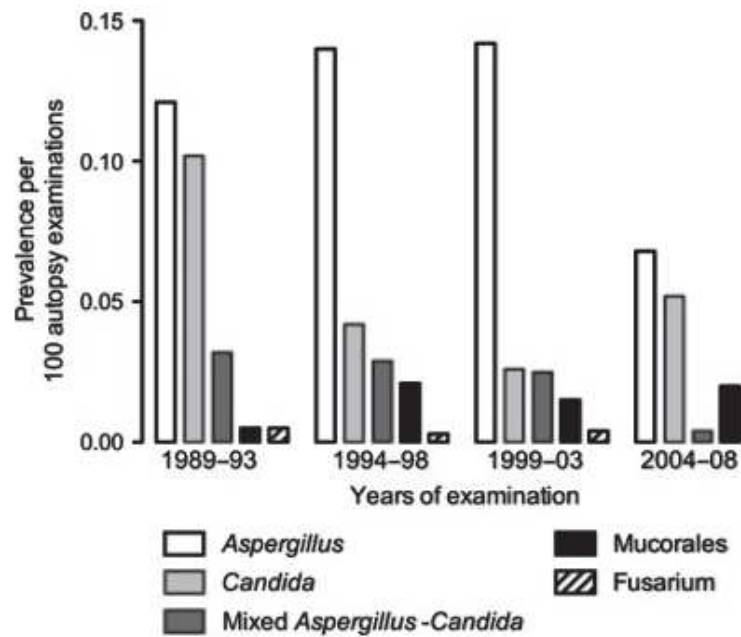


Figure 5 : Prévalence des infections fongiques par type des pathogènes au cours de 20 années d'autopsies (29)

Parallèlement à la chute du nombre d'infections fongiques mortelles, on observe un abaissement de la fréquence des cas d'infections à *Candida* et surtout une émergence des infections à *Aspergillus* (Figure 6), quel que soit l'organe étudié. Cette tendance à l'explosion des aspergilloses est décrite dans un grand nombre d'études épidémiologiques de ces dernières années (2, 27). Il semblerait que les infections à *Candida* soient maîtrisées au bénéfice des aspergilloses. Ces travaux menés sur la répartition des infections fongiques dans des populations de plus en plus grandes ont permis de distinguer des facteurs de risques plus ou moins liés à l'apparition d'un sepsis de nature fongique (1-3).

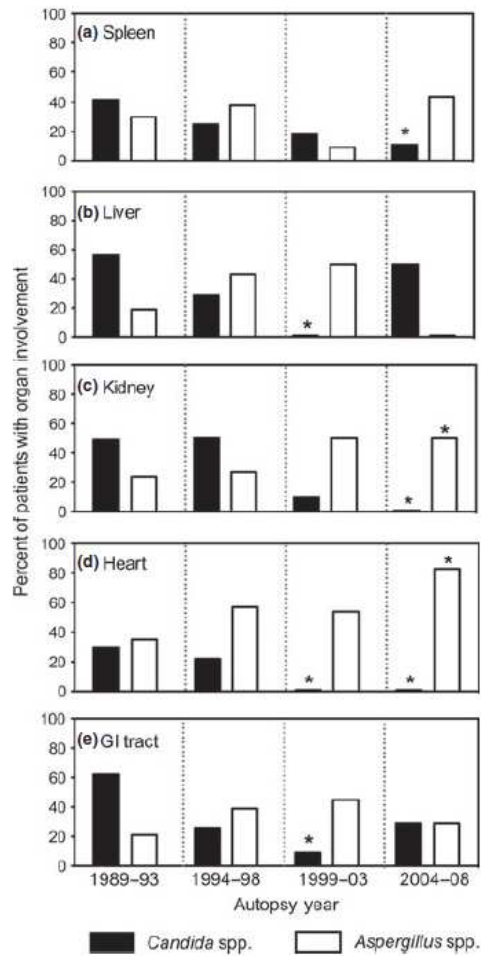


Figure 6 : Répartition de l'espèce fongique infectante par organe sur 20 années d'autopsies (29)

Les principaux facteurs de risque de l'IFI identifiés à ce jour, sont récapitulés dans le Tableau 1. On retrouve parmi les facteurs de haut risque la neutropénie profonde, les hémopathies malignes, les greffes allogéniques ou bien les greffes pulmonaires non associées à un traitement prophylactique (27).

Tableau 1 : Risques associés à l'apparition d'une infection fongique invasive (27)

High risk	Intermediate risk	Low risk
- Neutropenia (< 500 mm ³)	- Prolonged steroid treatment prior to ICU admission	- Severe burns
- Hematological malignancy	- Autologous hematopoietic progenitor cell transplantation	- Solid organ transplantation
- Allogeneic hematopoietic progenitor cell transplantation	- COPD, especially under inhaled steroid treatment	- Treatment with steroids for <7 days
- Lung transplantation without prophylaxis	- Hepatic cirrhosis	- Prolonged ICU stay (>21 days).
	- Solid organ malignancy	- Malnutrition
	- HIV infection	- Cardiac post-surgery
	- Lung transplantation with prophylaxis	- Near drowning
	- Systemic treatment with immunosuppressants	- Multiorgan dysfunction syndrome (situation of immune paralysis)
		- Influenza A (H1N1) infection

3. Etudes cliniques : efficacité et tolérance du Voriconazole

Nous verrons dans cette sous partie, deux études cliniques sur l'efficacité et la tolérance du Voriconazole comparé à deux molécules de référence (Fluconazole et Amphotéricine B) chez des patients ayant soit une infection fongique probable soit une neutropénie prouvée sans infection fongique.

a) Etude de Wingard et al. (30) chez les patients ayant bénéficié d'une transplantation de cellules souches hématopoïétiques

Le Voriconazole n'a reçu que très récemment (juin 2014) l'Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) européenne pour une utilisation en prophylaxie chez des patients transplantés de cellules souches hématopoïétiques à haut risque de développer une infection fongique. Cependant, il était déjà couramment utilisé comme tel dès sa commercialisation. L'étude de Wingard et al. (30) publiée en 2010 dans *Blood* confortait déjà cette utilisation. Cette étude randomisée, multicentrique, en double aveugle, du Voriconazole *versus* Fluconazole dans la prévention des infections fongiques invasives a été réalisée chez 600 receveurs de cellules souches hématopoïétiques. Les patients de plus de 2 ans et ayant subi une transplantation allogénique de cellules souches hématopoïétiques après un traitement de conditionnement d'aplasie étaient éligibles. Le critère de jugement principal d'efficacité était la survie à 180 jours sans avoir développé une infection fongique. Les patients étaient donc suivis par un dosage de l'antigénémie fongique deux fois par semaine. Si le dosage ressortait positif, une confirmation du diagnostic était faite par une radiographie du thorax. Au bout du 180^{ème} jour de traitement et au bout d'une année, 55 et 79 patients avaient développé une IFI, respectivement. L'*Aspergillus* a été le pathogène le plus fréquemment retrouvé (Tableau 2).

Tableau 2 : Nombre d'infections fongiques médicalement prouvées chez les patients traités par Voriconazole versus Fluconazole (30)

IFI category	Days 0-180		Days 0-365	
	FLU	VORI	FLU	VORI
Proven				
<i>Aspergillus</i>	3	0	5	2
<i>Candida</i>	3	3	3	6
Zygomycetes	1	1	2	3
Other*	0	1	1	3
Multiple†	2	0	2	1
Subtotal	9	5	13	15
Probable				
<i>Aspergillus</i>	14	9	16	15
Other‡	1	0	2	0
Subtotal	15	9	18	15
Presumptive	9	8	10	8
Total IFIs (proven/probable/presumptive)§	33	22	41	38

In fine, cette étude ne montre pas de différence significative entre le Fluconazole et le Voriconazole sur la survenue d'IFI dans une population neutropénique traitée sur une année. Les résultats donnent tout de même une tendance avantageuse à l'utilisation du Voriconazole en traitement prophylactique.

b) Etude Herbrecht et al. (31) chez les patients immunodéprimés ayant une infection fongique confirmée

Cette étude de non infériorité randomisée a évalué le taux de survie des 391 patients inclus et traités soit par du Voriconazole soit par de l'Amphotéricine B. Les patients éligibles avaient une infection fongique invasive certaine ou probable, avaient 12 ans ou plus et étaient immunodéprimés en raison de l'un des évènements suivants : transplantation allogénique de cellules souches hématopoïétiques, greffe autologue de cellules souches hématopoïétiques, cancer hématologique, anémie aplasique, syndrome myélodysplasique, ou autres conditions d'immunodépression y compris le syndrome de l'immunodéficience acquise (SIDA), l'administration d'une corticothérapie au long cours et la transplantation d'organe. Le critère de jugement a été une réponse complète ou partielle au traitement antifongique.

Les résultats à la semaine 12 étaient significativement meilleurs pour les patients ayant reçu du Voriconazole, avec un succès chez 76 des 144 patients dans le bras Voriconazole (52,8%), comparé à 42 des 133 patients (31,6%) dans le bras Amphotéricine B. A la semaine 12, le taux de survie était de 70,8% chez les patients traités par Voriconazole, contre 57,9% dans le groupe Amphotéricine B (Hazard Ratio = 0,59; Intervalle de confiance 95% = [0,40 ; 0,88]) (Figure 7).

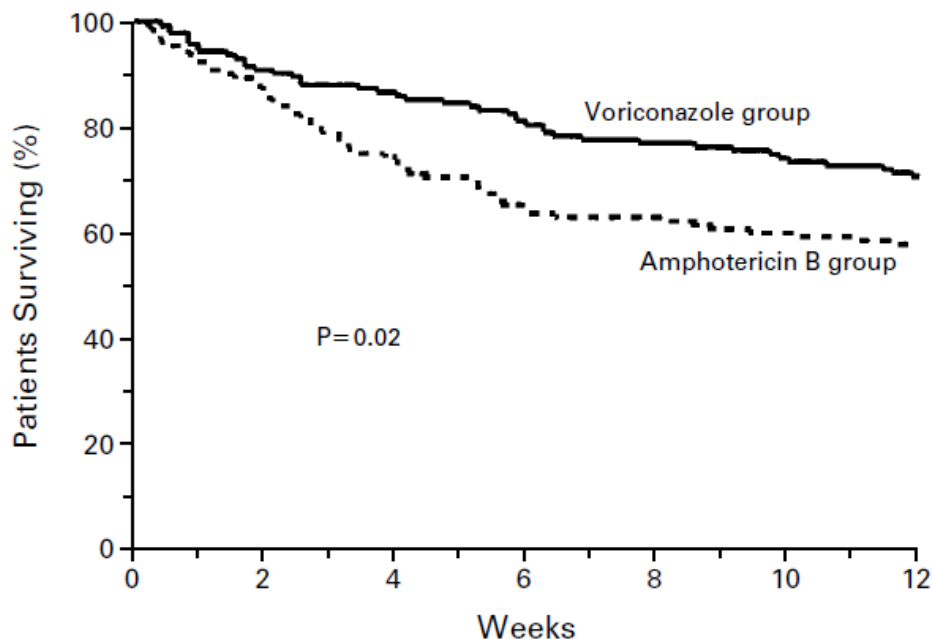


Figure 7 : Courbe de survie des deux populations traitées par Amphotéricine B ou Voriconazole (31)

L'efficacité du Voriconazole dans l'aspergillose invasive montrée dans l'étude de Herbrecht est cohérente avec les résultats récemment publiés comparant le Voriconazole et l'Amphotéricine B liposomale dans le traitement antifongique des patients atteints de neutropénie fébrile persistante (32). Dans cette étude, une analyse secondaire a indiqué que, parmi les 415 patients ayant reçu du Voriconazole, seulement 8 (1,9%) ont développé une mycose spontanée (4 impliquant des *Aspergillus*), par rapport aux 21 (5,0%, 13 impliquant des *Aspergillus*) chez les 422 patients traités par Amphotéricine B liposomale.

Dans l'étude de Herbrecht, le Voriconazole a été globalement mieux toléré que l'Amphotéricine B. Ont été principalement notés des fièvres induites par le médicament, des néphrotoxicités, et des arrêts de traitement liés aux événements

indésirables dans la population traitée par Amphotéricine B. Ces effets n'ont pas été observés dans la population traitée par Voriconazole.

Cette étude a montré la non-infériorité du Voriconazole comparé à l'Amphotéricine B dans la prise en charge initiale d'une infection fongique invasive en termes de taux de réponse, de taux de survie et de tolérance.

B. Propriétés pharmacodynamiques

1. Mécanisme d'action

Le Voriconazole, dérivé du Fluconazole, appartient à la seconde génération d'antifongiques triazolés. Les médicaments de cette classe thérapeutique ont comme singularité de posséder en leur structure chimique un noyau aromatique avec trois atomes d'azote (Figure 8).

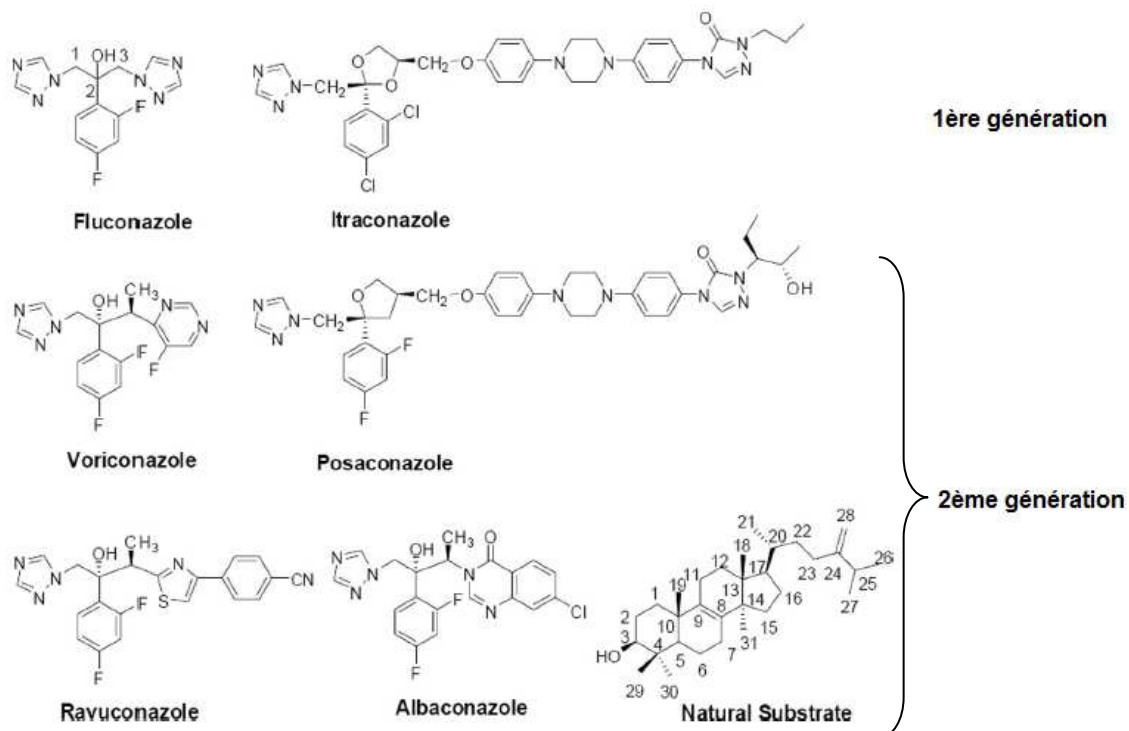


Figure 8 : Structures chimiques des triazolés

Comme tous les antifongiques triazolés, le Voriconazole agit en inhibant de façon compétitive la lanostérol-14- α -déméthylase présente chez le pathogène uniquement (6), ce qui confère une spécificité d'action à ces médicaments. Cette

enzyme, qui fait partie de la super-famille des cytochromes P 450, catalyse la réaction de transformation du lanosterol en ergostérol, indispensable à la stabilisation de la paroi fongique (33). Par conséquent, l'activité fongistatique des azolés réside principalement dans la fragilisation de la structure des fungi. La réplication est donc altérée rendant le pathogène plus sensible aux mécanismes de défense de l'hôte. Le deuxième effet, cette fois-ci fongicide, lié à l'inhibition de cette enzyme, est l'accumulation de précurseurs méthylés de l'ergostérol dans le pathogène qui induit sur certains champignons une lyse cellulaire (Figure 9) (34, 35).

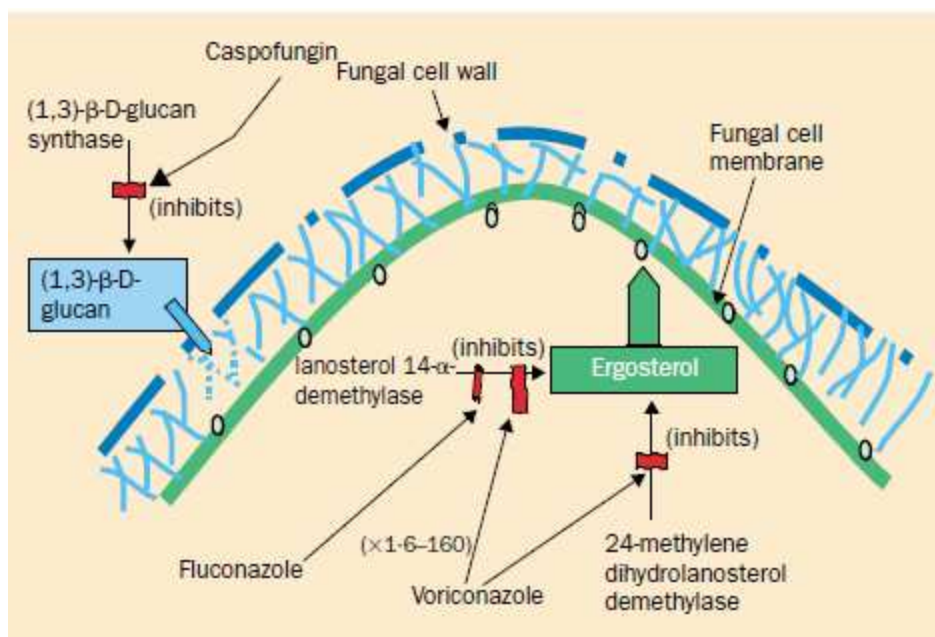


Figure 9 : Mécanismes d'action des azolés sur le fungi (34)

Contrairement au Fluconazole, molécule mère du Voriconazole, ce dernier inhibe aussi la 24-méthylène dihydrolanosterol déméthylase de certaines levures et filamenteux, justifiant l'activité de ce médicament sur des souches résistantes au Fluconazole.

De par leurs structures physico-chimiques (Figure 10), et en particulier leur noyau aromatique triazolé, les azolés se fixent à la structure hémérique du site actif de l'enzyme (35). Cette interaction est stabilisée et renforcée par l'intermédiaire de liaison de faible énergie (liaisons de Van Der Waals et liaisons Hydrogènes) mettant en jeu la chaîne latérale hydrophobe présente dans la structure du Posaconazole et

de l'itraconazole, comme le montre le Tableau 3. Ces différences structurales soulignées entre les molécules de la famille thérapeutique des triazolés confèrent à chaque médicament une affinité plus ou moins forte à l'enzyme (36), et par conséquent des spectres d'action plus ou moins étendus mais aussi des sensibilités divergentes aux mécanismes de résistance.

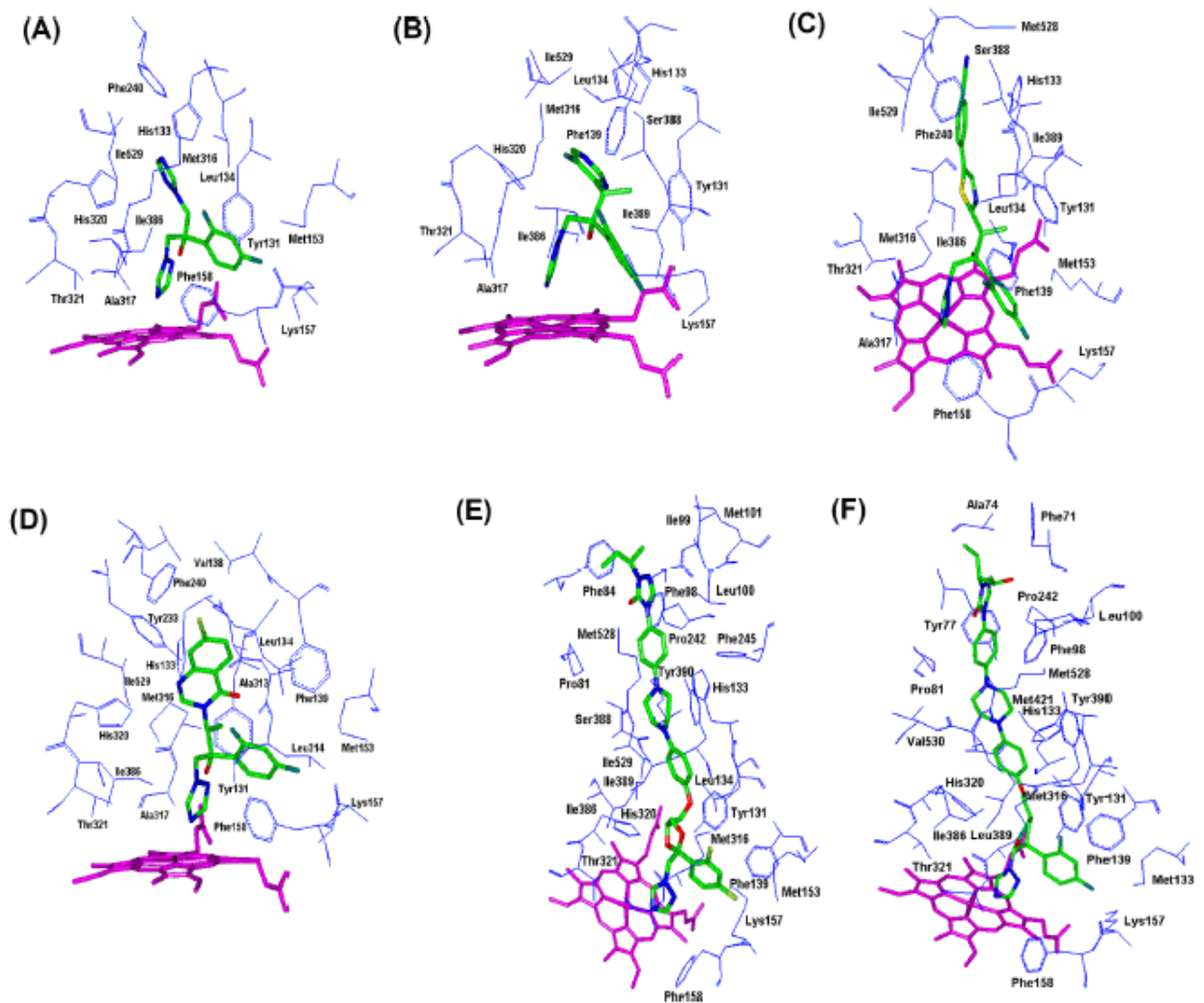


Figure 10 : Insertion tridimensionnelle des azolés dans le site actif de l'enzyme. (A) Fluconazole, (B) Voriconazole, (C) Ravuconazole, (D) Albaconazole, (E) Itraconazole, (F) Posaconazole (35)

Tableau 3 : Energie de liaison non covalente entre les azolés et le site actif du CYP51 (35)

Compound	Calculated energy of interaction (kcal/mol) ^a of the azoles with the active site of CNCYP51		
	E_{vdw}	E_{elect}	E_{total}
Fluconazole	-46.21	-0.95	-47.17
Voriconazole	-57.91	-1.06	-58.97
Ravuconazole	-83.44	-3.57	-87.01
Albaconazole	-67.74	-3.58	-71.32
Itraconazole	-112.85	-7.42	-120.27
Posaconazole	-114.97	-6.58	-121.55

2. Spectre antifongique du Voriconazole : études *in vitro*

Un certain nombre d'études comparant l'activité *in vitro* de différents triazolés sur les souches provenant de patients ont été réalisées (37–41). A l'image des antibiotiques, la sensibilité d'un antifongique est déterminée par la concentration minimale inhibitrice (CMI). Celle-ci est mesurée *in vitro* par des techniques de microdilution et généralement exprimée par la concentration permettant d'inhiber 50% (CMI₅₀) et/ou 90% (CMI₉₀) de la croissance fongique.

Les différentes études de comparaison d'efficacité *in vitro* sur des prélèvements de patients (cathéters, prélèvements oro-pharyngés, ...) ont révélé une activité plus large et plus puissante sur l'espèce *Candida* (CMI₉₀ moyenne = 1.0µg/mL) par rapport aux azolés de 1^{ère} génération et à l'Amphotéricine B (Tableau 4) (42). En outre, l'Itraconazole et le Voriconazole semblent avoir des activités antifongiques proches concernant l'espèce *Candida*. Une grande partie des souches résistantes au Fluconazole présentent également une résistance croisée aux autres azolés, notamment au Voriconazole (37) (Figure 11).

Tableau 4 : Résultats des CMI *in vitro* du Voriconazole, Itraconazole et Amphotéricine B sur différentes souches de pathogènes filamenteux (42)

Fungus (no. tested)	Antifungal agent	MIC range (µg/ml)	G mean (µg/ml)
Opportunistic filamentous fungi			
<i>A. flavus</i> (11)	Voriconazole	0.5–1.0	0.57
	Itraconazole	0.06–0.12	0.1
	Amphotericin B	1.0–2	1.07
<i>A. fumigatus</i> (12)	Voriconazole	0.06–0.5	0.29
	Itraconazole	0.12–>16	0.24
	Amphotericin B	1.0	1.0
<i>Bipolaris</i> spp. ^b (6)	Voriconazole	0.12–1.0	0.33
	Itraconazole	<0.03–0.12	0.06
	Amphotericin B	0.5–1.0	0.65
<i>F. oxysporum</i> (6)	Voriconazole	4	4
	Itraconazole	1.0–>16	8
	Amphotericin B	2	2
<i>F. solani</i> (6)	Voriconazole	8–16	10.5
	Itraconazole	1.0–>16	8
	Amphotericin B	1.0–2	1.31
<i>P. boydii</i> (6)	Voriconazole	0.25–0.5	0.33
	Itraconazole	0.5–1.0	0.76
	Amphotericin B	1.0–4	2.6
<i>R. arrhizus</i> (5)	Voriconazole	8–>16	18.37
	Itraconazole	0.25–1.0	0.43
	Amphotericin B	0.5–1.0	0.57
Dimorphic fungi			
<i>B. dermatitidis</i> (5)	Voriconazole	0.06–0.12	0.1
	Itraconazole	0.06	0.06
	Amphotericin B	0.12–0.25	0.14
<i>H. capsulatum</i> (5)	Voriconazole	0.06	0.06
	Itraconazole	0.06	0.06
	Amphotericin B	0.25–0.5	0.42
<i>S. schenckii</i> (5)	Voriconazole	8–>16	16
	Itraconazole	0.25–1.0	0.5
	Amphotericin B	0.5–2	1.5

^a The MICs of voriconazole and amphotericin B correspond to complete (100%) growth inhibition, and the MICs of itraconazole correspond to prominent growth inhibition (approximately ≤50% of the growth control).

^b Species tested included *Bipolaris hawaiiensis* and *Bipolaris spicifera*.

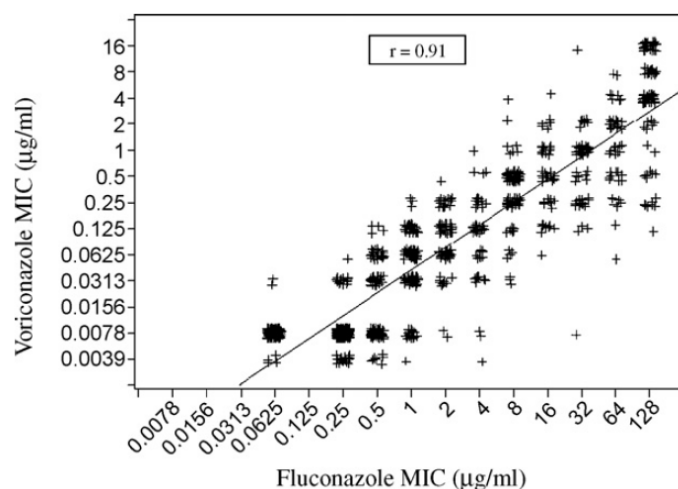


Figure 11 : Résistance croisée entre Fluconazole et Voriconazole (37)

Les données de l'activité du Voriconazole sur les *Aspergillus* montrent que ce médicament semble plus efficace que les médicaments de générations précédentes (Fluconazole, Itraconazole) (Tableau 4 et 5) (37, 42, 43).

Tableau 5 : Comparaison des activités *in vitro* du Posaconazole, Itraconazole, Voriconazole et Amphotéricine B sur des isolats de fungi (43)

Organism	No. of MICs	MIC ($\mu\text{g/ml}$) ^a							
		POS		ITC		VRC		AMB	
		50%	90%	50%	90%	50%	90%	50%	90%
All molds	1,702	0.25	1.0	0.5	2.0	0.25	2.0	0.5	2.0
All hyaline molds ^b	1,636	0.25	1.0	0.5 ^c	2.0 ^c	0.25	1.0	0.5	2.0
All <i>Aspergillus</i> spp.	1,423	0.125	0.5	0.5	2.0	0.25	0.5	0.5	1.0
<i>A. flavus</i>	89	0.25	0.5	0.5	1.0	0.5	1.0	1.0	2.0
<i>A. fumigatus</i>	1,119	0.125	0.5	0.5	1.0	0.25	0.5	0.5	1.0
<i>A. niger</i>	101	0.25	0.5	1.0	2.0	0.5	2.0	0.125	1.0
<i>A. terreus</i>	22	0.25	0.25	0.5	0.5	0.25	0.5	2.0	2.0
Other <i>Aspergillus</i> spp. ^d	92	0.125	1.0	0.5	2.0	0.25	1.0	1.0	2.0
All zygomycetes	86	0.5	4.0	1.0	32.0	16.0	128.0	0.25	2.0
<i>Rhizopus</i> spp.	32	1.0	8.0	4.0	32.0	16.0	128.0	1.0	2.0
<i>Mucor</i> spp.	18	1.0	16.0	2.0	32.0	64.0	128.0	0.25	1.0
<i>Absidia</i> spp.	16	0.125	0.25	0.125	0.5	16.0	128.0	0.25	0.5
<i>Cunninghamella</i> spp.	6	0.031–1.0	0.031–1.0	0.125–2.0	0.125–2.0	8.0–128.0	8.0–128.0	0.125–2.0	0.125–2.0
<i>Apophysomyces</i> spp.	5	0.031–4.0	0.031–4.0	0.031–8.0	0.031–8.0	16.0–128.0	16.0–128.0	0.031–4.0	0.031–4.0
<i>Saksenaia</i> spp.	4	0.016–2.0	0.016–2.0	0.016–0.125	0.016–0.125	0.5–4.0	0.5–4.0	0.063–0.5	0.063–0.5
<i>Rhizomucor</i> spp.	3	0.016–0.25	0.016–0.25	0.016–0.25	0.016–0.25	2.0–16.0	2.0–16.0	0.063–0.125	0.063–0.125
<i>Cokeromyces</i> spp.	2	0.25–4.0	0.25–4.0	0.25–8.0	0.25–8.0	16.0–64.0	16.0–64.0	0.125–0.5	0.125–0.5
All dimorphic fungi	151	0.063	0.25	0.031	0.25	ND	ND	0.25	0.5
<i>Histoplasma</i> spp.	53	0.019	0.25	0.019	0.063	ND	ND	0.25	0.5
<i>Blastomyces</i> spp.	38	0.063	0.125	0.031	2.0	ND	ND	0.125	0.5
<i>Coccidioides</i> spp.	25	0.125	0.25	0.125	0.25	ND	ND	0.5	0.5
<i>Paracoccidioides</i> spp.	13	0.063	0.125	0.016	0.063	ND	ND	0.125	0.25
<i>Penicillium mameffeii</i>	12	0.016	0.016	0.008	0.063	ND	ND	0.5	4.0
<i>Sporothrix</i> spp.	10	0.5	1.0	0.25	0.5	ND	ND	0.5	1.0
All <i>Fusarium</i> spp.	67	16.0	32.0	16.0 ^e	32.0 ^e	16.0	32.0	8.0	32.0
<i>F. solani</i>	39	32.0	32.0	ND	ND	16.0	32.0	16.0	32.0
<i>F. oxysporum</i>	12	2.0	4.0	ND	ND	4.0	32.0	8.0	16.0
<i>F. moniliforme</i>	2	1.0	1.0	ND	ND	1.0	1.0	1.0–4.0	1.0–4.0
Other <i>Fusarium</i> spp. ^f	14	16.0	16.0	ND	ND	4.0	16.0	1.0	2.0
Agents of chromoblastomycosis, mycetoma, and phaeohyphomycosis	241	0.25	16.0	1.0	64.0	ND	ND	2.0	32.0
<i>Scedosporium prolificans</i>	80	16.0	32.0	64.0	64.0	ND	ND	16.0	32.0
<i>Scedosporium apiospermum</i>	26	0.25	1.0	1.0	32.0	ND	ND	2.0	8.0
<i>Pseudallescheria</i> spp.	41	0.25	1.0	0.5	1.0	ND	ND	2.0	4.0
<i>Aspergillus nidulans</i>	20	0.063	0.25	0.25	0.5	ND	ND	1.0	2.0
<i>Exophiala</i> spp.	14	0.25	0.5	0.5	1.0	ND	ND	0.5	1.0
<i>Altemaria</i> spp.	13	0.125	0.25	0.5	1.0	ND	ND	0.5	4.0
<i>Cladosporium</i> spp.	11	0.063	16.0	0.125	16.0	ND	ND	1.0	4.0
<i>Bipolaris</i> spp.	10	0.063	0.125	0.063	0.25	ND	ND	0.25	0.25
Other ^g	26	0.125	0.25	0.25	1.0	ND	ND	0.5	1.0
Other molds ^h	58	0.25	0.5	0.063	1.0	0.25	0.5	0.25	2.0

^a 50% and 90%, MIC₅₀ and MIC₉₀, respectively. When *n* is <10, the MICs shown are ranges. ND, not determined.

^b Includes *Aspergillus* spp. and *Fusarium* spp. (MIC data for which are shown below), and other various species, including strains of *Acremonium*, *Basidiomycetes*, *Bjerkandera*, *Coprinus*, *Paecilomyces*, *Pseudallescheria*, and *Schizophyllum*.

^c Fewer isolates (*n* = 1,501) were tested against ITC; therefore, the values for ITC cannot be compared directly.

^d Includes strains of *A. glaucus*, *A. nidulans*, *A. oryzae*, *Aspergillus* spp., *A. sydowii*, *A. ustus*, and *A. versicolor*.

^e Fewer isolates (*n* = 23) were tested against ITC; therefore, the values for ITC cannot be compared directly.

^f Unspecified *Fusarium*.

^g Includes strains of *Cladophialophora*, *Curvularia*, *Exserohilum*, *Fonsecaea*, *Pithomyces*, *Ramichloridium*, *Ulocladium*, and *Wangiella*.

^h Includes strains of *Acremonium*, *Basidiomycetes*, *Bjerkandera*, *Coprinus*, *Paecilomyces*, *Pseudallescheria*, *Schizophyllum*, and *Trichophyton*.

Les *Zygomycètes* sont à l'origine de moins d'IFI par rapport aux *Aspergillus* et aux *Candida*. Néanmoins, plusieurs études ont montré que la mortalité était bien plus grande chez les patients ayant développé une infection à *Zygomycètes*. Il était donc nécessaire de connaître l'efficacité des traitements antifongiques sur ces nouveaux pathogènes en pleine émergence. Sun et al. (38) ont mesuré l'activité *in vitro* de 4 antifongiques sur 37 prélèvements cliniques de *Zygomycètes*. Les résultats de cette étude ont montré que le Voriconazole ne semble pas être un antifongique suffisamment actif sur les *Zygomycètes* pour être utilisé en première intention. Sa CMI est considérablement plus haute que celle de l'Itraconazole et du Posaconazole.

Pour conclure, les études de comparaison faites à la fois sur des souches de fungi commercialisées ou des souches provenant de patients ont montré globalement une supériorité du Voriconazole sur les azolés des générations précédentes. On note tout de même que :

- L'Itraconazole n'a pas une activité statistiquement différente de celle du Voriconazole. Il est même plus actif sur les *Zygomycètes*.
- Malgré leur différence de structure chimique, il existe un grand nombre de résistance croisée dans la famille des azolés, en particulier les souches résistantes au Fluconazole sont généralement résistantes au Voriconazole.

Malgré ces résultats surprenants, le Voriconazole apparaît lors des essais précliniques comme un antifongique de référence du fait de son spectre élargi mais aussi, et nous le verrons plus loin, par sa pharmacocinétique.

3. Sensibilité aux mécanismes de résistance et émergence de résistance

A ce jour, beaucoup de travaux ont étudié les différents mécanismes impliqués dans la résistance aux azolés chez les fungi. Au niveau moléculaire, divers mécanismes d'acquisition de résistance ont été décrits notamment (i) la diminution de l'accumulation intracellulaire par augmentation de l'efflux, (ii) la modification de la cible par mutation et/ou surexpression du gène *ERG11*, et (iii) une diminution de la perméabilité de la membrane (34) (Figure 12).

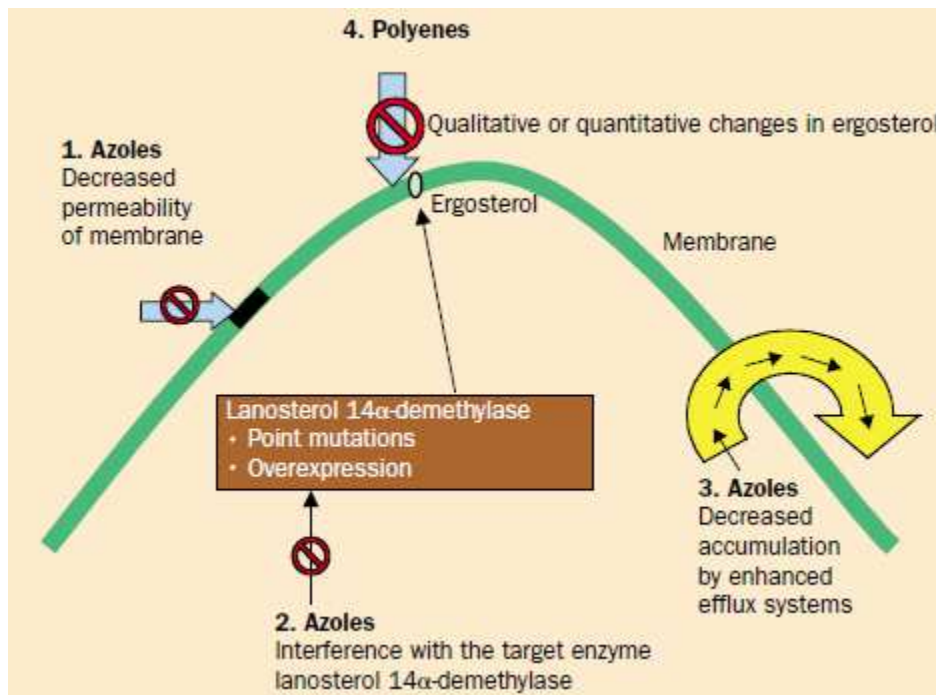


Figure 12 : Mécanismes de résistance aux azolés (34)

Il semblerait que le mécanisme de résistance le plus fréquent soit l'augmentation de l'efflux via la surexpression des gènes codant pour des pompes à efflux (44, 45). Une augmentation du taux d'ARNm (Acide Ribonucléique messenger) des gènes de la famille des Multi Drug Resistance 1 (MDR 1), appartenant à la superfamille des ABC transporteurs, est associée à une résistance aux azolés (46). En effet, il a été montré qu'une surexpression des gènes codant pour MDR augmente la CMI des azolés. Inversement, une délétion de ces gènes induit une hypersensibilité à ces antifongiques (47).

Le deuxième mécanisme évoqué est une modification du transcriptome de la cible des azolés. Une des hypothèses de cette acquisition de résistance serait une duplication du chromosome contenant *ERG11* induisant une augmentation du nombre de copie du gène et après transcription et traduction, une plus grande quantité de protéine cible. Une modification de la cible via une mutation du gène *ERG11* de l'enzyme cible des azolés est également à l'origine de résistance. Actuellement les mutations Y132H, S405F, G464S, G465S, R467K et I471T, découvertes sur des prélèvements cliniques, induiraient une modification du positionnement de l'atome de fer dans le domaine de liaison hémunique à l'origine d'une diminution de l'affinité aux molécules antifongiques (48).

Enfin, le dernier mécanisme mentionné consiste en une diminution de la perméabilité de la membrane. En effet, certaines souches de fungi déficientes en $\Delta^{5,6}$ -desaturase continuent de synthétiser la paroi fongique même en présence d'azolés. L'accumulation du 14 α -methylfecosterol dans la cellule est en fait à l'origine d'une voie alternative de formation de la paroi du champignon et donc d'une résistance au traitement fongistatique (49) (Figure 13). Cette mutation du gène *ERG3* a été observée chez un grand nombre de patients.

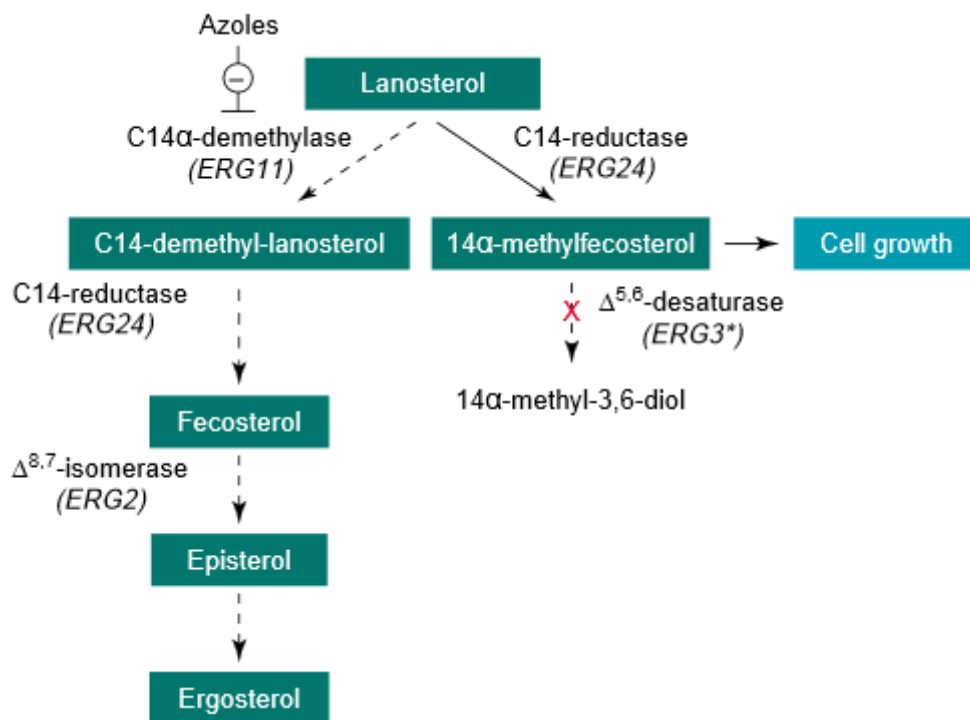
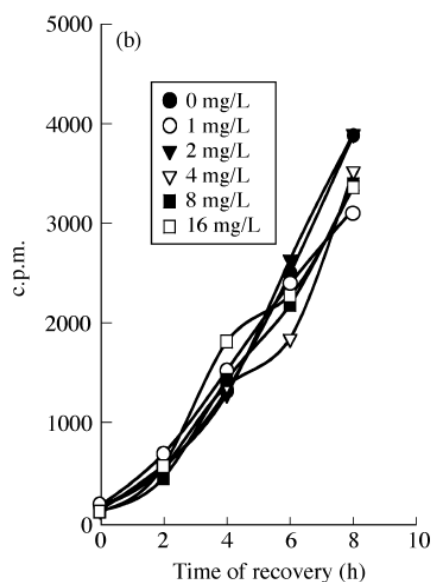


Figure 13 : Mécanisme de survie à un traitement par triazolés (46)

De plus, il a été montré sur des souches de *Candida albicans* à résistance élevée aux azolés, que de multiples mécanismes agiraient de façon concomitante dans 75% des cas de résistance (50): 85% des levures surexprimaient des gènes codant pour les pompes à efflux, 65% avait une mutation du gène *ERG11* codant pour la lanosterol alpha déméthylase et 35% avaient une surexpression de ce même gène.

4. Effet post-antifongique

L'effet post-antifongique est communément défini comme le temps nécessaire à la cellule fongique pour récupérer de lésions produites par une brève exposition à un produit antifongique. Elle est usuellement évaluée en mesurant l'aptitude des cellules fongiques à croître et se multiplier en fonction du temps. La Figure 14a illustre l'effet post-antifongique du Voriconazole sur des souches d'*Aspergillus fumigatus* après une exposition de 2h à 35°C à différentes concentrations de l'azolé. Contrairement à l'Amphotéricine, le Voriconazole ne possède pas d'effet post-antifongique (Figure 14b) (51).



a)

Antifungal drug ^a	PAFE ± S.D. (h)	
	<i>A. fumigatus</i> (n = 5) ^b	<i>C. albicans</i> 90028 ^c
Amphotericin B	7.5 ± 0.70	5.3 ± 1.15
Itraconazole	0.5 ± 0.0	≤ 0.5
Voriconazole	0.5 ± 0.0	≤ 0.5
Posaconazole	0.75 ± 0.35	≤ 0.5
Ravuconazole	0.38 ± 0.17	≤ 0.5
Caspofungin	≤ 0.5	5.6 ± 0.57
Micafungin	≤ 0.5	5.0 ± 1.0

b)

Figure 14 : Effet post-antifongique a) à différentes doses de Voriconazole b) quantifié sur *Aspergillus* ou *Candida* (51)

Cette molécule a un pouvoir essentiellement fongistatique. Par conséquent, à l'arrêt de l'exposition brève de l'agent, les cellules fongiques se remettent à proliférer sans avoir à réparer les lésions intracellulaires. En effet, un temps d'exposition aussi limité que 2h ne permet pas d'aboutir à une déplétion importante en ergostérol dans la cellule.

En définitive, la classe thérapeutique entière des triazolés ne possède pas d'effet post-antifongique et a besoin d'un temps d'exposition suffisamment long pour que l'effet antifongique puisse être mesurable.

5. Etudes de l'activité du Voriconazole en combinaison avec différents antifongiques

Dans les services cliniques, l'administration de bithérapie antifongique hors AMM est une pratique courante. On peut argumenter ce genre d'utilisation par des études faites *in vitro* ou sur l'animal mesurant le bénéfice de différentes bithérapies par rapport aux monothérapies (52–55) (Figure 15).

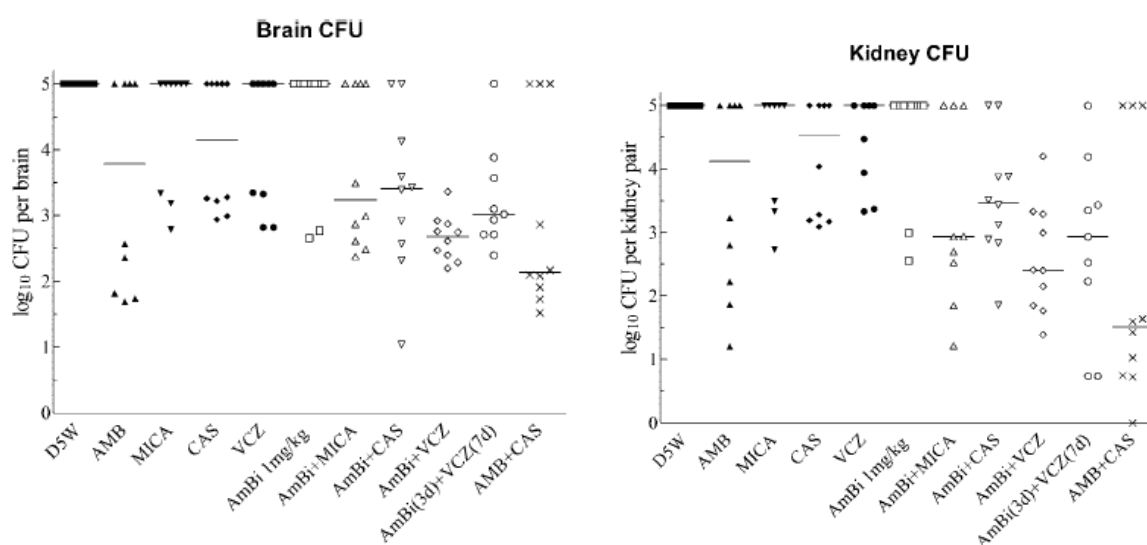


Figure 15 : Mesure de la prolifération fongique dans le rein et le cerveau de souris traitées par Amphotéricine B, Micafongine, Caspofongine ou Voriconazole en monothérapie ou en association (54)

Les études de MacCallum et al. (53) et Clemons et al (54), réalisées respectivement sur des cobayes et souris immunodéprimés puis infectés, présentent la survie des rongeurs sous monothérapie ou bithérapie associant l'Amphotéricine B et/ou Caspofongine ainsi qu'un autre antifongique (Figure 16, Tableau 6). Les bithérapies ont conduit à une diminution significative des charges fongiques tissulaires (cerveau et rein) des rongeurs infectés (53, 54) (Figure 15). L'association Amphotéricine B et Voriconazole a amélioré significativement la médiane de survie des animaux infectés (Figure 16). L'étude a montré également qu'un schéma thérapeutique composé d'une monothérapie de 3 jours d'Amphotéricine suivie par un relais de 7 jours par Voriconazole semble être plus efficace que chaque

monothérapie utilisée de façon continue et indépendante (Figure 16). L'exploration des bithérapies et/ou modification de schéma thérapeutique de prise en charge des infections fongiques nécessitent des travaux complémentaires et une réévaluation des pratiques cliniques. Très récemment, Candoni et al. (55) ont montré l'utilité et la puissance de la bithérapie chez des patients ayant une probable infection fongique invasive.

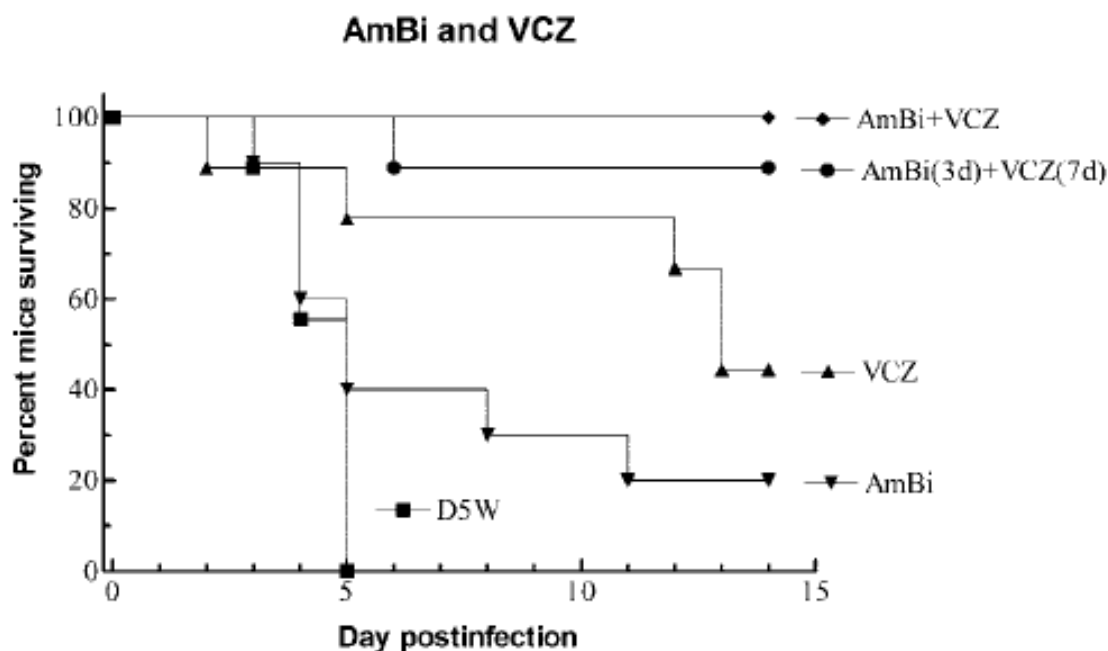


Figure 16 : Courbe de survie des souris après administration d'Amphotéricine B, Voriconazole ou association Amphotéricine B et Voriconazole (54)

Tableau 6 : Temps de survie et charge fongique dans le tissu rénal (53)

Challenge dose (conidia/g)	Treatment	n	Survival time (days)		Kidney burden (mean \pm SD) ^a
			Mean \pm SD	Median	
10 ⁴	Placebo	10	2.8 \pm 0.6	3	6.1 \pm 0.8
	Caspofungin, 1 mg/kg	12	5.6 \pm 4.9	3	4.6 \pm 1.0
	Voriconazole, 1 mg/kg	12	4.3 \pm 3.4	3	5.5 \pm 0.9
	Caspofungin + voriconazole	12	8.8 \pm 6.8	3	4.8 \pm 1.0
10 ³	Placebo	10	3.5 \pm 0.7	3	5.6 \pm 0.4
	Caspofungin, 1 mg/kg	12	6.5 \pm 4.6	5	4.7 \pm 0.4
	Voriconazole, 1 mg/kg	10	8.7 \pm 6.8	4	4.6 \pm 0.6
	Caspofungin + voriconazole	12	12.7 \pm 7.5	6	4.3 \pm 0.3

^a Measured at time of demise and expressed as log₁₀ conidial equivalents per gram of tissue.

C. Propriétés pharmacocinétiques

Nous avons vu précédemment que la synthèse de nouvelles générations d'azolés a été motivée par l'émergence de résistance en particulier vis-à-vis du Fluconazole. L'Itraconazole a prouvé dans plusieurs études son large spectre d'action, néanmoins sa pharmacocinétique peu avantageuse (effet de premier passage hépatique, fortes interactions médicamenteuses via les CYP3A4) n'en font pas un triazolé de choix (Tableau 7). Parmi les nouveaux azolés, le Voriconazole sort son épingle du jeu grâce d'une part à son large spectre et d'autre part à une pharmacocinétique plus adaptée à des populations polymédicamenteuses (Tableau 7).

Tableau 7 : Caractéristiques pharmacocinétiques des antifongiques azolés (56)

	Fluconazole	Itraconazole	Voriconazole	Posaconazole
Métabolisation (%)	10-25	95	95	20-25
Premier passage hépatique	0	+++	+	0
Pourcentage de liaison aux protéines	10-15	99	55-60	99
Pourcentage élimination rénale	70-90	< 5	< 5	15
T _{1/2} (heures)	30-35	34-72	6	25
Délai d'équilibration (jours)	6-10	14-15	1-5	5-7

Toutefois et malgré les avantages évoqués, le Voriconazole est un médicament ayant une forte variabilité inter- et intra-individuelle des concentrations résiduelles et surtout une pharmacocinétique non linéaire. La concentration plasmatique en Voriconazole n'est donc pas proportionnelle à la dose administrée (Figure 17) (57).

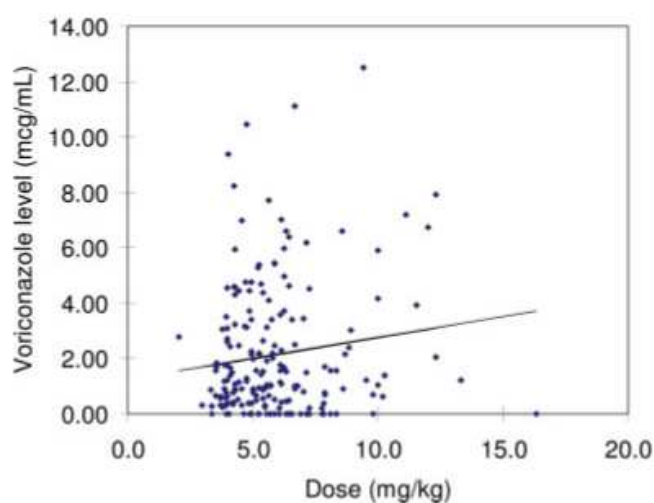


Figure 17 : Corrélation entre la dose de Voriconazole et les concentrations résiduelles (57)

1. Chez les sujets sains

a) Absorption

Le Voriconazole est un médicament ayant une forte biodisponibilité par voie orale (VO) (96%) et ceci est largement lié à la lipophile de la molécule (58) (Figure 18).

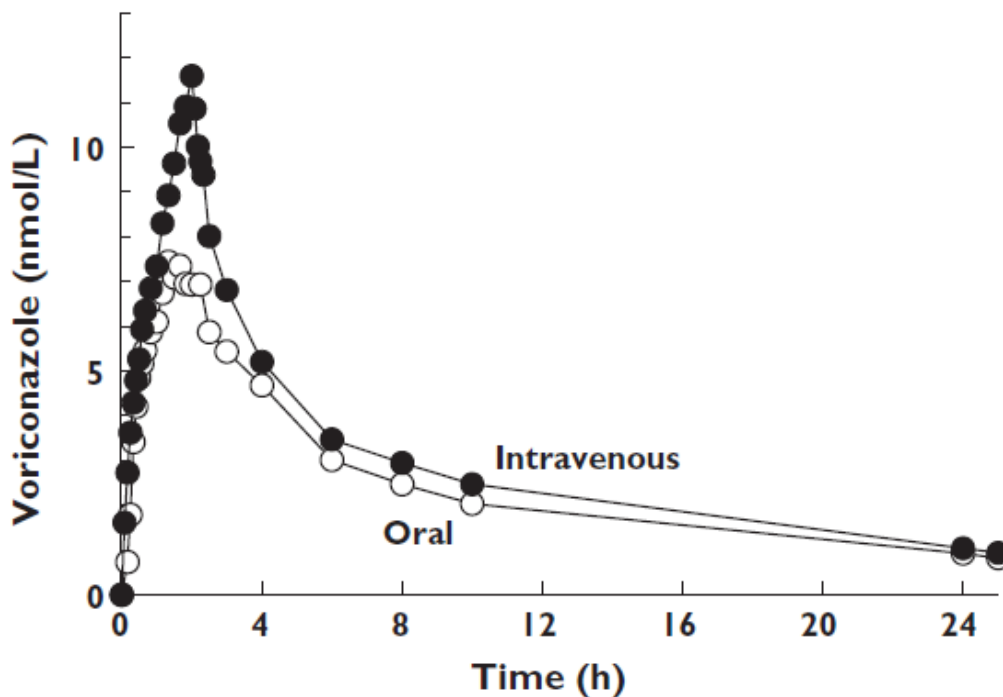


Figure 18 : Profil pharmacocinétique du Voriconazole en une prise par voie orale (cercle vide), par voie intraveineuse (cercle plein) (59)

Le Voriconazole est métabolisé en partie par le CYP2C19 présent dans la paroi intestinale et hépatique. La biotransformation intestinale, également définie comme effet de premier passage intestinal, reste faible mais néanmoins présente. Le cytochrome CYP2C19 présente un polymorphisme génétique avec 3 sous-types de métaboliseurs dans la population générale (lent, rapide, ultra rapide). Toutefois, l'étude de Scholz et al. (59) n'a montré aucune différence significative de la biodisponibilité orale entre les 3 sous-types de métaboliseurs (Figure 19). Une tendance à l'augmentation de l'absorption orale est tout de même observée chez les métaboliseurs lents. Globalement, la biodisponibilité orale varie entre 60 et 100%.

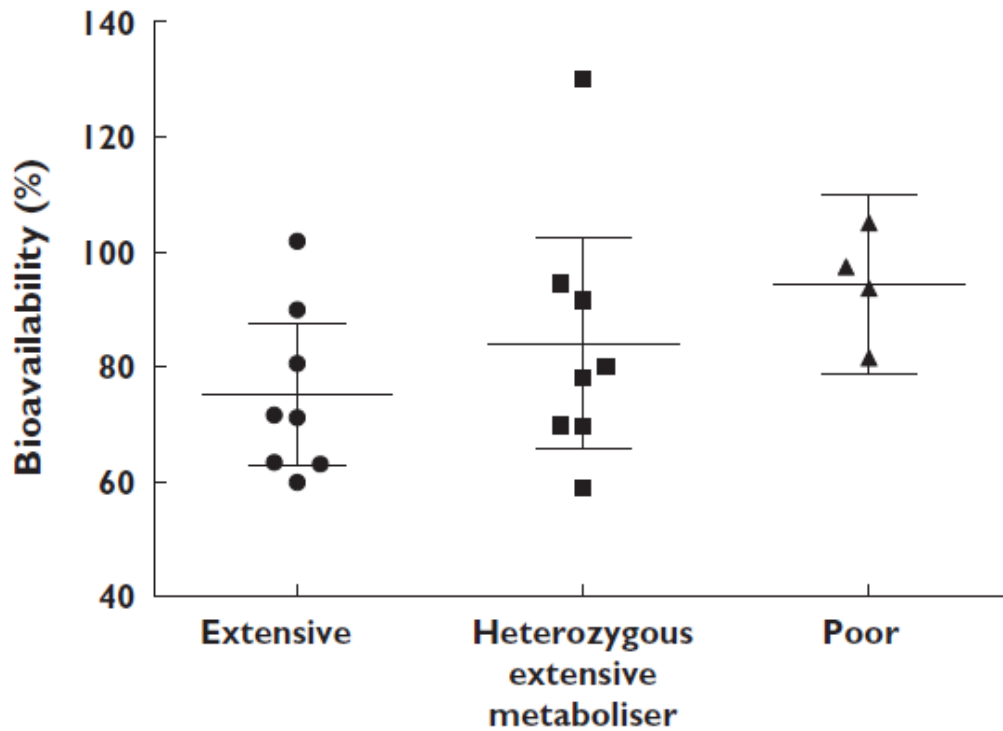


Figure 19 : Biodisponibilité orale du Voriconazole chez des métaboliseurs lents, rapides et ultra-rapides (59)

Han et al. (60) ont étudié le cas particulier de la biodisponibilité orale du Voriconazole dans une population de transplantés pulmonaires ayant ou non la mucoviscidose. Cette pathologie génétique associe un excès de production de mucus dans les voies aériennes mais également une fibrose du pancréas à l'origine d'une malabsorption intestinale. Hal et al ont montré que la biodisponibilité orale du Voriconazole est significativement diminuée chez les patients mucoviscidosiques (Figure 20).

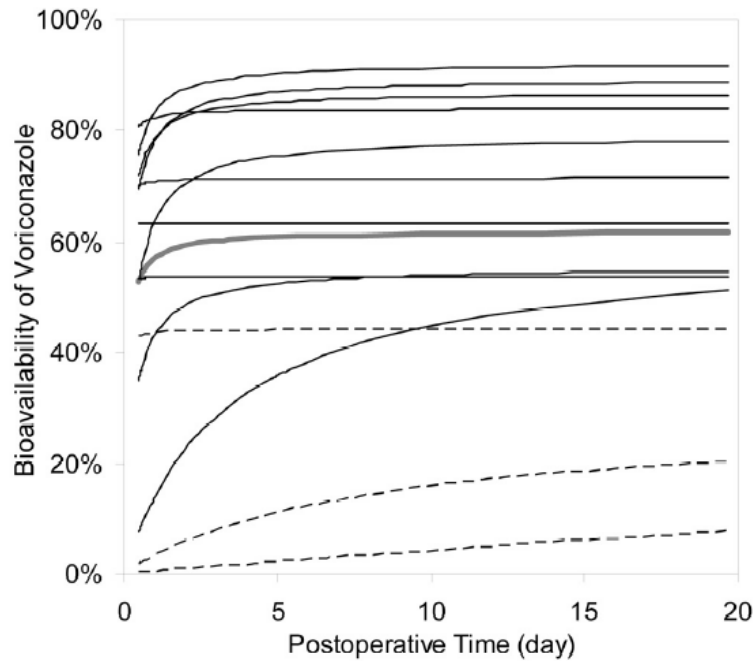


Figure 20 : Evolution de la Biodisponibilité du Voriconazole au cours du temps en post- greffe pulmonaire chez des patients mucoviscidosiques (lignes hachées) ou non (lignes pleines) (60)

La forte biodisponibilité orale de cet antifongique peut être diminuée, parfois de 22%, par la prise concomitante de nourriture (11) (Figure 21). Il est donc recommandé de ne pas donner de repas pendant et immédiatement après l'administration orale du Voriconazole.

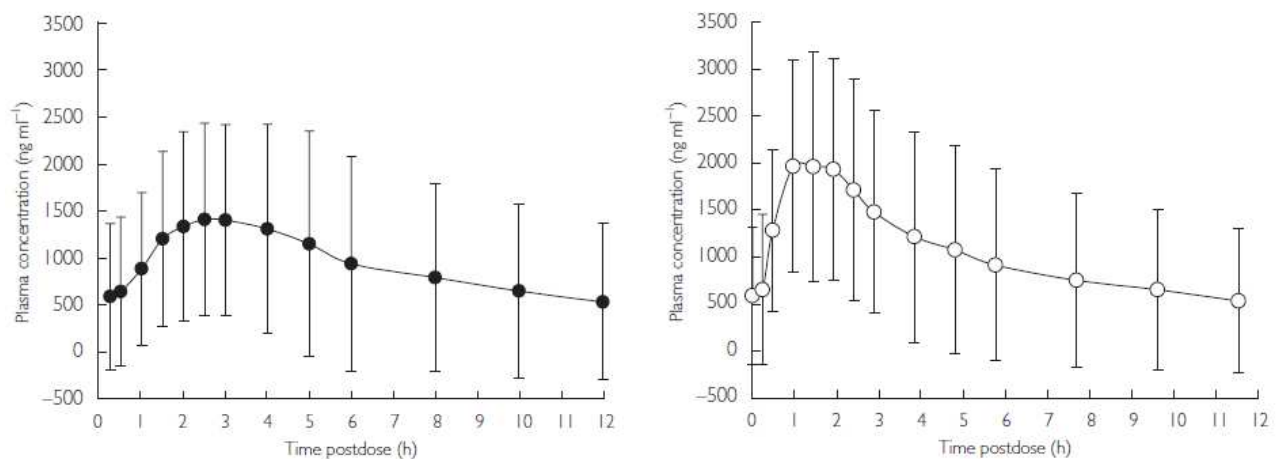


Figure 21 : Concentrations plasmatiques du Voriconazole administré par voie orale chez des patients à jeun ou après un repas (11)

Pour conclure, le Voriconazole possède une bonne biodisponibilité orale avec deux facteurs limitants : un phénomène de premier passage intestinal/hépatique et une modification de son absorption avec la prise alimentaire.

b) Distribution

Le Voriconazole est une molécule plutôt lipophile ce qui en fait un médicament avec un volume de distribution élevé (4,6 L/kg) (20). Ses propriétés physico-chimiques lui confèrent également une capacité à se lier aux protéines plasmatiques (albumine) avec un taux de 58% (20).

De façon générale, il est difficile de connaître la distribution d'un médicament dans le corps humain car, pour cela, il faut avoir accès à des prélèvements effectués dans différents tissus ou organes. Toutefois, une étude effectuée sur des échantillons provenant d'autopsies de huit patients sous Voriconazole a permis d'explorer la distribution du médicament (61) (Tableau 8).

Tableau 8 : Mesure des concentrations totales en Voriconazole dans les intestins, le cerveau, le foie, la rate, les reins et le myocarde chez 8 patients autopsiés (61)

Patient	VRC concn (µg/ml) in ^a :					
	Lung	Brain	Liver	Spleen	Kidney	Myocardium
1 ^b	0.74 (0.72–0.76)	<0.25	2.14 (1.86–2.42)	1.31 (1.29–1.34)	1.97 (1.69–2.26)	<0.25
2	4.44 (3.64–5.20)	1.67 (1.38–2.06)	6.28 (6.22–6.34)	5.93	6.05 (5.99–6.10)	2.04 (1.96–2.13)
3	6.57 (6.12–6.78)	6.54 (5.77–6.95)	19.83 (19.58–20.08)	5.72 (5.60–5.84)	4.88 (4.83–4.92)	7.55 (6.53–8.57)
4	1.98 (1.47–2.04)	3.36 (3.08–3.56)	4.21 (3.67–4.76)	2.95 (2.92–2.99)	6.89 (6.84–6.93)	2.44 (2.27–2.62)
5	5.94 (4.14–7.86)	2.27 (2.25–3.79)	8.69 (7.44–9.95)	2.22 (2.22–2.22)	2.89 (2.76–3.02)	3.17 (3.10–3.23)
6	6.59 (4.74–9.38)	2.72 (2.57–3.35)	2.98 (2.83–3.12)	6.10 (5.46–6.74)	8.89 (8.64–9.13)	13.47 (13.11–13.84)
7	20.26 (19.82–20.87)	27.72 (26.78–34.70)	35.53 (35.04–36.03)	18.73 (17.98–19.47)	13.58 (11.10–16.05)	25.79 (25.54–26.05)
8	13.68 (12.04–15.07)	20.09 (17.43–23.13)	40.04 (37.77–42.31)	14.27 (13.71–14.83)	14.81 (13.55–16.08)	19.85 (19.53–20.18)
Median	6.26	3.41	6.89	5.60	6.47	7.55
Interquartile range	7.87	16.72	24.16	11.49	6.19	16.91

^a Shown are median VRC concentrations (with ranges in parentheses). Multiple sampling was performed from different sites as follows: lung, four samples (upper and lower lobe, left and right); brain, five samples (cortex, hippocampus, nucleus caudatus, medulla oblongata, and cerebellum); liver, two samples from different sites; spleen, two samples from different sites; kidney, two samples (left and right); and myocardium, two samples (ventricular septum and anterior wall).

^b Patient 1 received only a single dose of VRC.

Même s'il existe des divergences inter-espèces dans la pharmacocinétique d'une molécule, l'étude de la distribution d'un médicament chez les espèces animales est pertinente d'autant plus que les anti-infectieux sont également utilisés dans la Médecine Vétérinaire. Nous avons vu précédemment que le Voriconazole semble se distribuer de façon plus ou moins uniforme dans les organes clés humains. Chez le cheval ayant un traitement à l'équilibre, la distribution de l'azolé a montré une forte pénétration dans les alvéoles pulmonaires, un atout considérable dans le traitement des aspergilloses (62) (Tableau 9).

Tableau 9 : Mesure des concentrations totales en Voriconazole dans différents tissus équins après 7 jours et 14 jours de traitement. Ratio des concentrations totales en Voriconazole de chaque tissu par rapport aux concentrations totales plasmatiques chez des chevaux après 7 et 14 jours de traitement (62)

	Day 7		Day 14		Difference between days 7 and 14
	Mean ($\mu\text{g/mL}$)	SD	Mean ($\mu\text{g/mL}$)	SD	P value
Aqueous humor	0.55 (0.79)	0.32	0.68 (0.67)	0.13	0.21
Cerebrospinal fluid	0.62 (0.88)	0.26	0.64 (0.43)	0.21	0.89
Peritoneal fluid	0.61 (NC)	0.22	1.02 (NC)	0.27	0.42
Synovial fluid	0.70 (0.77)	0.2	0.86 (0.73)	0.25	0.09
Urine	1.83 (1.54)	0.44	3.34 (1.57)	2.17	0.15
Plasma	1.47 (2.52)	0.63	1.63 (1.72)	0.37	0.88
→ ELF	79.45 (140.8)	69.4	47.76 (113.1)	45.4	0.63
BAL cell pellet	0.003 (0.015)	0.006	0.002 (0.007)	0.03	0.22

The horse which received oral tablets is shown in parenthesis.

Ratios	Day 7		Day 14		Difference between days 7 and 14
	Mean	SD	Mean	SD	P value
Aqueous humor/plasma	0.38 (0.46)	0.13	0.45 (0.41)	0.07	0.39
Cerebrospinal/Plasma	0.43 (0.51)	0.08	0.42 (0.26)	0.12	0.25
Peritoneal fluid/plasma	0.54 (NC)	0.11	0.64 (NC)	0.13	0.49
Synovial fluid/plasma	0.51 (0.45)	0.07	0.59 (0.45)	0.23	0.33
Urine/plasma	1.33 (0.61)	0.97	1.93 (0.92)	0.87	0.19

The horse which received oral tablets is shown in parenthesis.

ELF: Liquide épithelial alvéolaire

c) Métabolisme

Comme l'illustre le Tableau 10, le Voriconazole est principalement métabolisé par le cytochrome 2C19 et faiblement métabolisé par les CYP3A4 et CYP2C8/9. Ces principaux métabolites sont le Voriconazole-N-oxyde et l'Hydroxy-Voriconazole conduisant lui-même au Dihydroxy-Voriconazole ; ces deux dernières molécules subissant une glucurono-conjugaison par la suite (59) (Figure 22). Il a été évoqué précédemment l'existence d'un polymorphisme génétique du CYP2C19 divisant la population en 3 sous-types de métaboliseurs : les métaboliseurs lents, rapides, et ultra rapides (8). A titre d'exemple, 15 à 20% de la population asiatique et 3 à 5% de la population caucasienne sont des métaboliseurs lents (63).

Tableau 10 : Principales interactions entre les azolés et le cytochrome 3A4, 2C8/9 et 2C19 (56)

	CYP3A4		CYP2C8/9		CYP2C19	
	Inhibiteur	Substrat	Inhibiteur	Substrat	Inhibiteur	Substrat
Fluconazole	++		++		+	+
Itraconazole	+++	+++	+			
Voriconazole	+	+	++	+	++	+++
Posaconazole	++					

+ : faible ; ++ : modéré ; +++ : important.

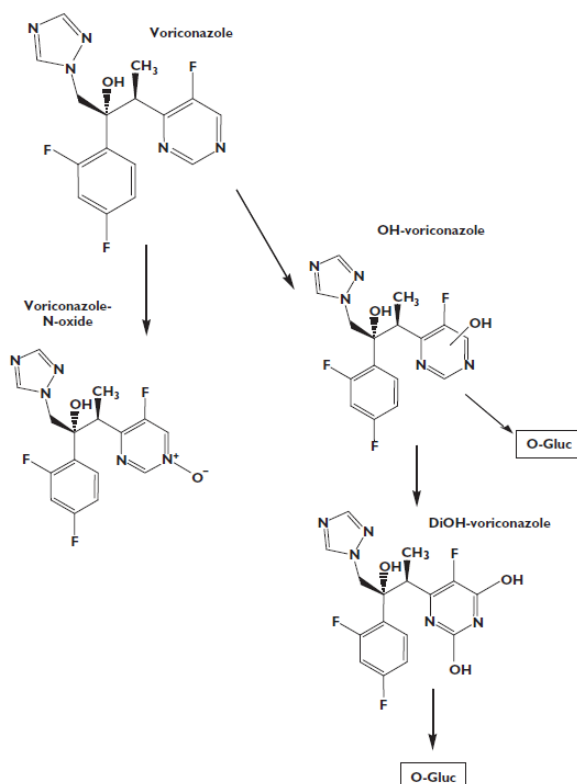


Figure 22 : Voies métaboliques du Voriconazole (59)

Plusieurs études pharmacocinétiques ont rapporté que le polymorphisme génétique du CYP2C19 contribuait largement à la variabilité inter-individuelle des paramètres pharmacocinétiques (8, 64). En effet, en observant les concentrations plasmatiques de Voriconazole chez les trois sous-types de métaboliseurs, il existe une accumulation du médicament dans le compartiment sanguin des métaboliseurs lents (65) (Figure 23). A l'inverse, les métaboliseurs ultra-rapides, à cause de leur système d'élimination très performant, peuvent être sujets à des sous-dosages conduisant à une inefficacité thérapeutique.

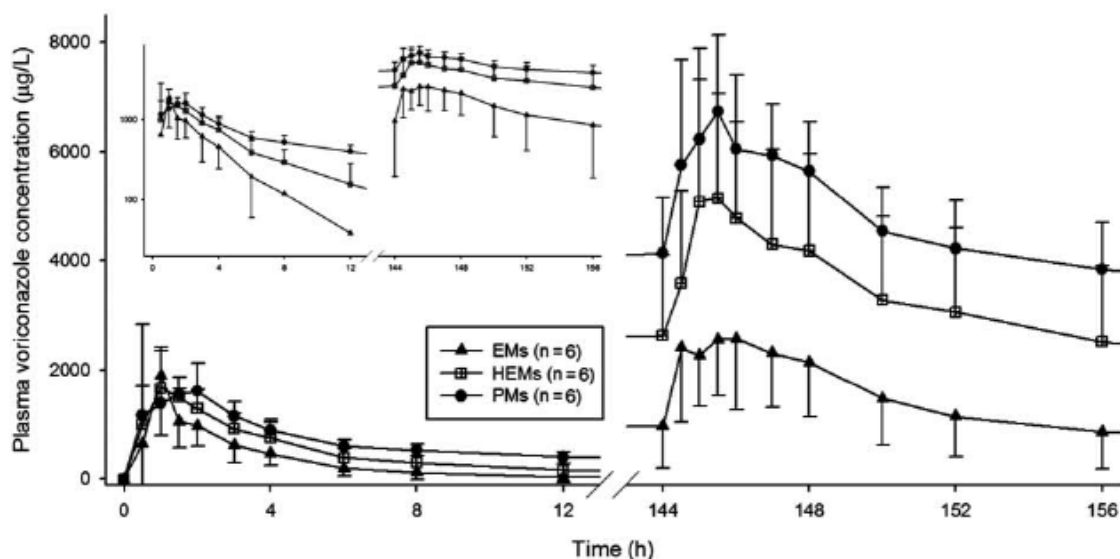


Figure 23 : Evolution des concentrations plasmatiques du Voriconazole chez des métaboliseurs lents (PM), rapides (HEM) et ultra-rapides (EM) au cours du temps (65)

En étudiant *in vitro*, sur microsomes hépatiques, le métabolisme du Voriconazole, Yanni et al. (66) ont mesuré la clairance intrinsèque (Cl_{int} ; 2,9mL/min/kg) puis estimé la clairance hépatique (Cl_h) du Voriconazole chez l'Homme (2,0 mL/min/kg) (66).

En prenant l'exemple d'un patient de 70 kg, le produit des paramètres f_u et Cl_{int} ($0,4 \times 203 \text{ mL/min} = 81.2 \text{ mL/min}$) est très inférieur à la valeur du débit sanguin hépatique (1500 mL/min pour un patient de 70 kg). En négligeant le produit de f_u et Cl_{int} au dénominateur de l'Équation 1 et en simplifiant cette équation, on démontre que la Cl_h dépend de f_u et de Cl_{int} pour le Voriconazole (Équation 2).

Équation 1: Calcul de la clairance hépatique (67)

$$Cl_h = \frac{Q_h * f_u * Cl_{int}}{Q_h + (f_u * Cl_{int})}$$

Cl_h : clairance hépatique (mL/min), Q_h : débit sanguin hépatique (mL/min), f_u : fraction libre, Cl_{int} : clairance intrinsèque (mL/min)

Équation 2 : Simplification du calcul de la clairance hépatique

$$Cl_h = fu * Cl_{int}$$

Cl_h : clairance hépatique (mL/min), fu : fraction libre, Cl_{int} : clairance intrinsèque (mL/min)

En règle générale, lorsque le foie extrait faiblement un médicament ($E_h < 0,3$), l'élimination hépatique dépend de la fraction libre du médicament et de la clairance intrinsèque (Équation 2). Ceci est le cas du Voriconazole pour lequel le coefficient d'extraction hépatique (E_h) est de 0,05 pour un homme de 70 kg (81.2 mL/min / 1500mL/min = 0.05).

Équation 3: Calcul du coefficient d'extraction hépatique (E_h) (67)

$$E_h = \frac{Cl_h}{Q_h}$$

E_h : coefficient d'extraction hépatique, Cl_h : clairance hépatique (mL/min), Q_h : débit sanguin hépatique (mL/min)

d) Excrétion

Le Voriconazole étant éliminé principalement par métabolisme hépatique, moins de 2% de la dose sont excrétés sous forme inchangée dans les urines. Environ 78% de la dose sont excrétés dans les urines les 5 jours suivant l'administration et environ 22% sont éliminés dans les matières fécales. En effet, les hydroxylations et glucurono-conjugaisons aboutissent à la formation de métabolites hydrophiles facilement éliminés par excrétion rénale (Tableau 11).

Le Tableau 11 regroupe les valeurs de clairance rénale du Voriconazole et de ses métabolites chez les trois sous-types de métaboliseurs. La clairance rénale du Voriconazole est faible, toujours inférieure à 4 mL/min, sans différence significative entre les 3 génotypes. Les deux métabolites hydroxylés ont des clairances rénales largement plus élevées que celle du Voriconazole.

Tableau 11 : Clairance rénale du Voriconazole et de ses métabolites chez des métaboliseurs lents, rapides et ultra-rapides après une administration par voie orale ou intraveineuse (59)

	CL _r (ml min ⁻¹) I.v.		CL _r (ml min ⁻¹) Oral	
	Mean	SD	Mean	SD
EM (n = 8)				
Voriconazole	2.3	1.3	1.9	0.8
Voriconazole-N-oxide	6.4	5.0	5.5	2.4
OH-voriconazole	145	54.5	186	75.3
DIOH-voriconazole	392	133	376	183
HEM (n = 8)				
Voriconazole	1.8	0.6	1.4	0.7
Voriconazole-N-oxide	11.4	8.3	12.6 ^a	8.8
OH-voriconazole	265 ^a	96.7	270	126
DIOH-voriconazole	462	165	480	160
PM (n = 4)				
Voriconazole	1.4	0.4	1.3	0.4
Voriconazole-N-oxide	11.4	5.5	10.9	5.1
OH-voriconazole	372 ^b	264	306	70.7
DIOH-voriconazole	435	106	493	123

Après administration par VO et parentérale, le principal métabolite détecté dans les urines est le di-OH-Voriconazole (et son conjugué) s'élevant à 13% de la dose de Voriconazole administrée.

Toutefois, la clairance et la clairance apparente du Voriconazole (incluant les métabolites) déterminées par voies IV et VO respectivement, sont significativement plus élevées chez les métaboliseurs ultra-rapides (Figure 24) du fait d'une formation plus rapide de dérivés hydrophiles.

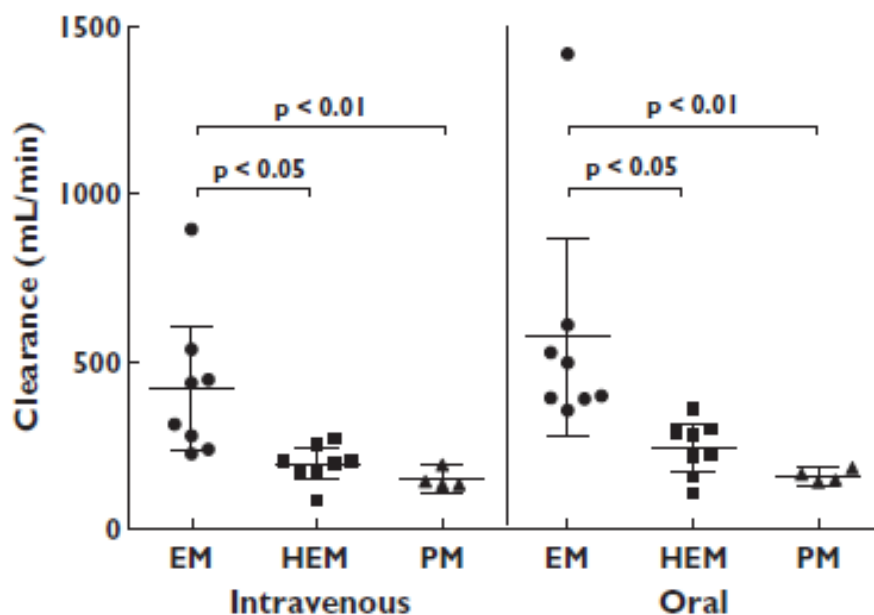


Figure 24 : Mesure de la clairance et de clairance apparente du Voriconazole après administration intraveineuse ou orale chez des métaboliseurs lents, rapides et ultra-rapides (59)

La demi-vie d'élimination du Voriconazole dépend de la dose administrée et est d'environ 6 heures pour une dose de 200 mg (voie orale). Le profil pharmacocinétique étant non linéaire, la demi-vie d'élimination ne permet de prévoir ni l'accumulation, ni l'élimination du Voriconazole.

2. Chez le patient

a) Insuffisant rénal

Selon le résumé des caractéristiques du produit (RCP), l'insuffisance rénale n'a aucun impact sur la pharmacocinétique du Voriconazole et ne nécessite pas de réduction de posologie lorsqu'il est administré par voie orale. Par voie intraveineuse, le Voriconazole est associé à un excipient, la cyclodextrine (sulfobutylether-cyclodextrine), afin d'améliorer sa solubilité (68). Il a été montré que cette molécule s'accumule chez les patients présentant une insuffisance rénale modérée (clairance de la créatinine < 50 mL/min) (Figure 25) (69, 70). Il est donc recommandé d'utiliser de façon préférentielle la voie orale chez les patients ayant une altération de la

fonction rénale bien que la cyclodextrine ne soit pas considérée comme toxique ou irritante (69–72).

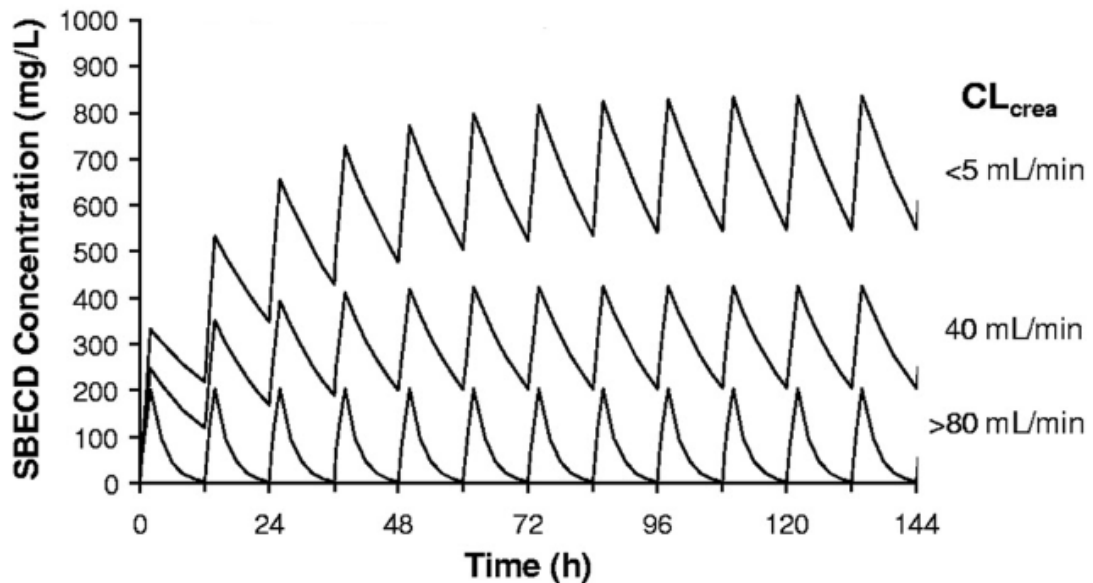


Figure 25 : Accumulation de la cyclodextrine (SBECD) au cours du temps chez des patients ayant une insuffisance rénale (69)

b) Insuffisant hépatique

Peu de données sont disponibles sur la pharmacocinétique du Voriconazole chez des patients ayant des atteintes hépatiques. Compte tenu de l'importance du métabolisme hépatique du Voriconazole, il est recommandé de réduire la posologie chez les patients atteints de maladies chroniques du foie (hépatite chronique, fibrose hépatique, cirrhose hépatique...). Les patients atteints de cirrhose (Child-Pugh classes A et B) doivent recevoir la moitié de la dose d'entretien précédée d'une dose de charge standard (73).

c) En pédiatrie

Le Voriconazole peut être prescrit chez les enfants de plus de 2 ans. Une étude de pharmacocinétique de population du Voriconazole administré par voie intraveineuse (3 mg/kg ou 4 mg/kg ; dose unique ou multiple) a été réalisée chez 35 enfants immunodéprimés (2-11 ans) (74). Le Voriconazole présente une

pharmacocinétique linéaire entre 3 et 4 mg/kg avec une demi-vie d'élimination de 7,5h et une clairance de 6,7 mL/min/kg, contrastant ainsi avec les données obtenues chez l'adulte. Cette pharmacocinétique linéaire du Voriconazole est en partie expliquée par un système de métabolisation hépatique plus performant chez les enfants. Des travaux réalisés *in vitro* portant sur l'activité des enzymes hépatiques ont montré une synthèse plus importante de Voriconazole-N-oxyde chez les jeunes patients (66) (Figure 26). En outre, l'administration d'une dose de 4 mg/kg par voie intraveineuse a révélé une clairance du Voriconazole inférieure chez les adultes en bonne santé par rapport à celle obtenue chez les enfants. Néanmoins, aucune adaptation de la dose IV du Voriconazole n'est préconisée en utilisation pédiatrique et reste identique à celle de l'adulte. Cela suppose que les jeunes patients sont majoritairement sous dosés en Voriconazole.

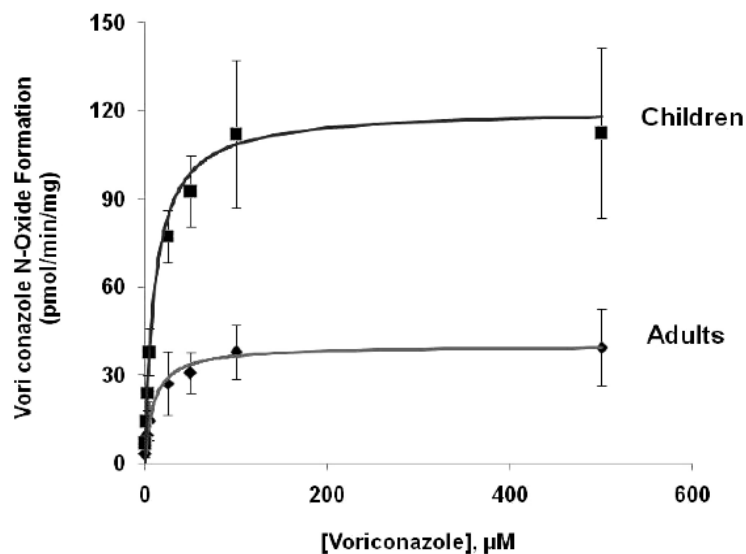


Figure 26 : Formation du Voriconazole N-oxyde en fonction de la concentration en Voriconazole chez l'adulte (moyenne de 38 ans allant de 20 à 58 ans), et l'enfant (moyenne de 4ans allant de 2 à 8 ans) (66)

d) Patient obèse

Nous avons vu précédemment que la Voriconazole est une molécule avec des noyaux aromatiques apolaires caractérisée par une forte lipophilie suggérant une distribution plus importante chez les personnes obèses.

Koselke et al. (75) ont mesuré les concentrations totales à l'état d'équilibre chez des patients ayant un Indice de Masse Corporelle (IMC) normal (18,5 - 24,9kg/m²) ou élevé (>35 kg/m²) après une administration de 4 mg/kg de Voriconazole. Les patients avec un IMC élevé ont eu des concentrations totales plasmatiques résiduelles (6,2 mg/L en moyenne) au-delà du seuil de toxicité fixé dans cette publication (5,5 mg/L) (13). Néanmoins ces patients n'ont pas développé de neurotoxicité ou d'hépatotoxicité.

Tableau 12 : Concentrations totales résiduelles du Voriconazole dans une population de sujets non obèses (IMC entre 18,5 et 24,9 kg/m²) et obèses (IMC > 35 kg/m²) après administration de 4mg/kg (75)

	Normal weight: BMI 18.5-24.9 (n=66)	Obese: BMI ≥35 (n=21) actual body weight	Obese: BMI ≥35 (n=11) ideal body weight	Obese: BMI ≥35 (n=10) adjusted body weight	P value
Concentration (mg/L), mean ± SD, 95% CI	3.5 ± 2.86, 2.8-4.2	6.2 ± 2.09, 5.3-7.2	3.95 ± 2.81, 2.1-5.8	3.3 ± 1.32, 2.4-4.2	0.0009
Subtherapeutic (<2 mg/L), n (%)	22 (33)	1 (5)	3 (27)	2 (20)	0.0613
Therapeutic (2-5.5 mg/L), n (%)	33 (50)	6 (29)	5 (45)	8 (80)	0.0599
Supratherapeutic (>5.5 mg/L), n (%) ^a	11 (17)	14 (67)	3 (27)	0	<0.0001
Neurotoxicity, n (%)	10 (15)	4 (19)	2 (18)	1 (10)	0.9211
Liver toxicity, n (%)	4 (6)	1 (5)	1 (9)	0	0.823

^aP value <0.05 for normal-weight patients versus obese patients receiving voriconazole based on actual body weight.

Toutefois, il semble raisonnable de surveiller de près les patients obèses traités par du Voriconazole en déterminant la concentration résiduelle et en surveillant la survenue de tout évènement indésirable.

D. Interactions médicamenteuses

1. Effet du Voriconazole sur la pharmacocinétique des médicaments associés

La classe des médicaments antifongiques azolés présente un risque élevé d'interactions médicamenteuses impliquant les cytochromes P450 et/ou les transporteurs d'efflux (P-glycoprotéine). En tant qu'inhibiteurs du CYP3A4, les azolés sont à l'origine d'interactions modérées à sévères avec les immunosuppresseurs tels

que les inhibiteurs de la calcineurine (Ciclosporine et Tacrolimus) et du signal de prolifération (Sirolimus et Everolimus), et les anticoagulants oraux (Tableau 13 et 14), induisant des risques non négligeables en termes d'effets indésirables.

Tableau 13 : Interactions médicamenteuses communes au Voriconazole, Itraconazole, Fluconazole, Posaconazole (76)

Interactions communes au voriconazole-itraconazole-fluconazole-posaconazole		
Association	Conséquences	Mesures
+ cisapride + pimozide	Risque torsade de pointes	CI
+ halofantrine + dérivés de l'ergot de seigle (ergotamine, Gynergène [®]), dihydroergotamine (Diergospray [®] , Ikaran [®] , Seglor [®] , Tamik [®])	Risque torsade de pointes risque d'ergotisme	Déconseillée CI
+ ciclosporine, tacrolimus	↑ [c] immunosuppresseurs	PE monitoring de la [c] de l'immunosuppresseur
Itraconazole + tacrolimus :	↑ [c] immunosuppresseurs et ↑ créatinémie	Déconseillée
Phénytoïne :+ voriconazole ou + l'itraconazole le ou + posaconazole	↓ [c] vorico et itraconazole+ ↑ [c] de phénytoïne	Déconseillée
Phénytoïne + fluconazole	↑ [c] de phénytoïne	PE monitoring de la [c] de la phénytoïne

Tableau 14 : Interactions médicamenteuses propres au Voriconazole (76)

Interactions propres au voriconazole		
Association	Conséquence	Mesure
+ quinidine	Torsades de pointe	CI
+ sirolimus	↑ ↑ [c] sirolimus	CI
+ efavirenz ou + névirapine	↓ efficacité voriconazole	Déconseillé
+ Phénobarbital ou + primidone	↓ [c] et efficacité de l'antifongique	CI
+ rifabutine	↓ [c] antifongique	PE adaptation posologie voriconazole
+ rifampicine	↓ [c] voriconazole	CI
+ sulfamides hypoglycémiant	(↑ effet hypoglycémiant)	PE surveillance glycémie et adaptation posologie sulfamide
+ anticoagulants oraux	↑ effet anticoagulant	PE surveillance TP et l'INR
+ carbamazépine	↑ [c] carbamazépine	CI
+ interactions communes voriconazole, fluconazole, itraconazole, posaconazole (Tableau 3)		

Les interactions médicamenteuses entre le Voriconazole et les autres médicaments de l'ordonnance sont un enjeu majeur. En effet, dans un contexte d'utilisation principalement liée à l'immunosuppression, il n'est pas envisageable de modifier le traitement au long cours associés au Voriconazole (antirétroviraux, immunosuppresseurs, chimiothérapies...). Il est donc nécessaire de maîtriser ces interactions. Ceci a conduit à la mise en place de protocoles, tout particulièrement au Québec (77). A titre d'exemple, il est recommandé d'augmenter d'emblée la dose de Maraviroc à 300 mg deux fois par jour lorsqu'il est co-administré au Voriconazole.

2. Effet des médicaments associés sur la pharmacocinétique du Voriconazole

Ces interactions basées sur l'inhibition compétitives des cytochromes ne sont pas toujours néfastes, bien au contraire. Une étude a montré l'intérêt d'administrer le Voriconazole avec l'Oméprazole (substrat du CYP2C19) sur une cohorte de patients. L'Oméprazole appartient à la classe thérapeutique des inhibiteurs de pompe à proton utilisés dans le traitement des atteintes de l'appareil gastro-œsophagien. A long terme, l'aire sous la courbe des concentrations dans le temps (ASC) du Voriconazole chez les patients ayant pris de l'Oméprazole a été significativement plus élevée (78) (Figure 27).

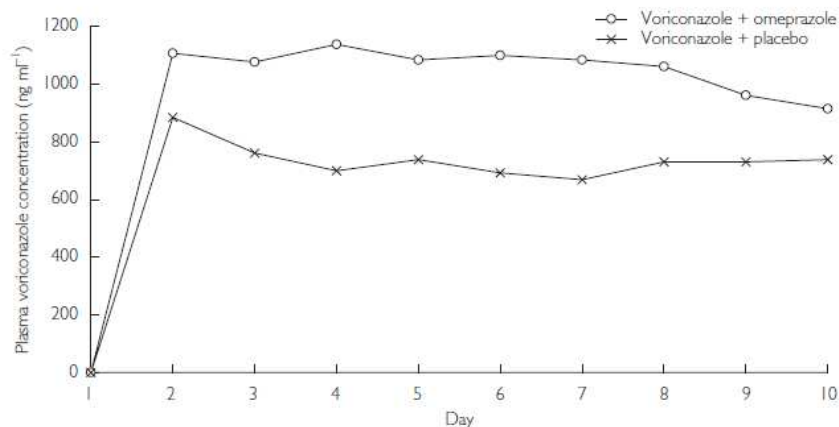


Figure 27 : Concentrations plasmatiques totales de Voriconazole avec ou sans association à l'Oméprazole (78)

Cette compétition au niveau du cytochrome 2C19 a d'ailleurs été publiée dans un case report intitulé « Utilization of Omeprazole To Augment Subtherapeutic Voriconazole Concentrations for Treatment of *Aspergillus* Infections » (79) et a fait l'objet d'un protocole à Dallas (Etats-Unis) dans le but d'augmenter l'exposition au Voriconazole chez un patient ayant des concentrations plasmatiques subthérapeutiques avec la dose maximale.

II. Suivi thérapeutique pharmacologique

A. Généralités

Le suivi thérapeutique pharmacologique (STP) consiste à doser les concentrations le plus souvent sanguines ou plasmatiques/sériques d'un médicament afin d'ajuster la dose administrée à chaque individu. Pour un certain nombre de médicaments, la même dose administrée à deux patients ne conduit pas aux mêmes concentrations circulantes avec pour conséquences des effets thérapeutiques et/ou indésirables différents. Ainsi le STP a pour but de diminuer le taux d'échec thérapeutique lié à une exposition insuffisante et de diminuer la fréquence des effets indésirables et/ou toxiques des médicaments liés à une exposition excessive. Le Tableau 15 récapitule les situations cliniques qui motivent la mise en place d'un STP pour un patient.

Tableau 15 : Situations motivant le recours à un dosage sanguin de médicament (80)

Situation	Objectif	Exemple
Réponse insuffisante au traitement	Distinguer entre résistance pharmacologique (concentration suffisante) appelant un changement de traitement, et défaut d'exposition (concentration insuffisante) appelant une adaptation posologique	Crises convulsives survenant malgré un traitement antiépileptique
Suspicion de toxicité	Confirmer le diagnostic d'intoxication (Involontaire ou volontaire) et au besoin adapter la posologie	Survenue de symptômes gastro-Intestinaux sous digoxine
Manifestations cliniques ambiguës	Distinguer entre réponse insuffisante ou toxicité	Augmentation de créatinine chez un greffé rénal sous ciclosporine
Dysfonction d'organe	Prévenir les conséquences sur l'imprégnation médicamenteuse en adaptant la posologie	Adaptation de la dose de gentamicine en rapport avec la fonction rénale
Interaction médicamenteuse	Prévenir les conséquences en adaptant la posologie	Suivi des antirétroviraux chez un patient VIH recevant de la rifampicine
Vérification de l'adéquation d'une posologie	Viser une concentration cible en l'absence de moyen efficace de détection de dérive dangereuse des concentrations (Inefficacité ou toxicité)	Suivi de la ciclosporine ou du tacrolimus chez les transplantés
Economie de médicament	Limiter à l'indispensable la prescription d'un produit cher ou disponible en faible quantité	Contrôle d'un facteur de coagulation chez l'hémophile substitué
Contrôle de la compliance	Peu adéquat ! Faible sensibilité du TDM pour la non-observance. Taux très bas ou non détectables permettent d'évoquer un problème de prise médicamenteuse. Pratique du TDM favorisant l'adhérence ?	Concentration indétectable d'anti-rétroviraux chez un patient VIH avec une virémie non contrôlée
Recherche clinique	Mesure des taux et détermination des relations dose-concentration-réponse hautement souhaitables dans le développement de nouveaux médicaments	Etude prospective d'un nouvel anti-cancéreux du groupe des inhibiteurs des tyrosine-kinases

Le suivi thérapeutique pharmacologique est un exercice clinique pertinent lorsqu'un médicament répond à cinq critères (80) :

- ✓ Existence d'une corrélation entre la concentration sanguine/plasmatique/sérique du médicament et a) l'inefficacité et/ou b) la toxicité ;
- ✓ Grande variabilité inter-individuelle et faible variabilité intra-individuelle des paramètres pharmacocinétiques ;
- ✓ Faible index thérapeutique ;
- ✓ Efficacité/toxicité du médicament difficile à évaluer cliniquement ;
- ✓ Concentrations sanguines/plasmatiques/sériques du médicament facilement quantifiables par une méthode analytique fiable, facile à mettre en œuvre et peu coûteuse.

Pour une grande majorité de médicaments, la détermination de la concentration résiduelle (et/ou maximale), comparée à l'intervalle thérapeutique, permet d'adapter la posologie si besoin. A titre d'exemple, la concentration de Digoxine, glycoside cardiotonique indiqué dans l'insuffisance cardiaque et les troubles du rythme supraventriculaires, doit se situer entre 0,6 et 1,2 ng/mL selon les recommandations de l'ESC (European Society of Cardiology) (81). Pour d'autres molécules telles que les immunosuppresseurs, de nombreux modèles pharmacocinétiques de population permettent, avec un nombre restreint de prélèvements sanguins, de déterminer l'exposition ASC du patient au médicament, adapter sa posologie selon l'index thérapeutique validé cliniquement et enfin expliquer, par le biais de facteurs appelés co-variables, la variabilité inter-individuelle des paramètres pharmacocinétiques. A titre d'exemple, le temps post-greffe est une co-variable explicative pour l'adaptation des posologies de la Ciclosporine, de l'Acide Mycophénolique et du Tacrolimus (Figure 28) (82).

Suivi thérapeutique pharmacologique du Mycophénolate-mofétil (MMF)

Centre concerné : Nom du centre : <input type="text" value="CHU Limoges"/>		Identifiant : Id-N : <input type="text"/> Id-P : <input type="text"/> Né(e) : <input type="text"/> <input type="button" value="Rechercher un patient existant"/>	
Contexte de la demande Motif de la demande : <input type="text"/> Informations supplémentaires : Suivi systématique Contrôle d'une adaptation de posologie Suspicion de rejet Rejet Effet indésirable : Altération de la fonction rénale Effet indésirable : Troubles digestifs Effet indésirable : Neutropénie Effet indésirable : Autre		Patient diabétique : <input type="text"/> Date de greffe : <input type="text"/> Date du prélèvement : <input type="text"/>	
Données du dosage Dose (mg) : <input type="text"/> Nombre de prises par jour : <input type="text" value="2"/> Avant cinétique le matin : <input type="text"/> Le soir : <input type="text"/>		Type de spécialité : <input type="text" value=""/> Méthode analytique : <input type="text" value="Choix de la méthode"/>	
Temps de prélèvement n° 1 en min : <input type="text"/> <small>T20min (+/- 10 min, soit 10-30 min)</small>		Concentration n° 1 (mg/l) : <input type="text"/>	
Temps de prélèvement n° 2 en min : <input type="text"/> <small>T1h (+/- 15 min, soit 45-75 min)</small>		Concentration n° 2 (mg/l) : <input type="text"/>	
Temps de prélèvement n° 3 en min : <input type="text"/> <small>T3h (+/- 30 min, soit 150-210 min)</small>		Concentration n° 3 (mg/l) : <input type="text"/>	

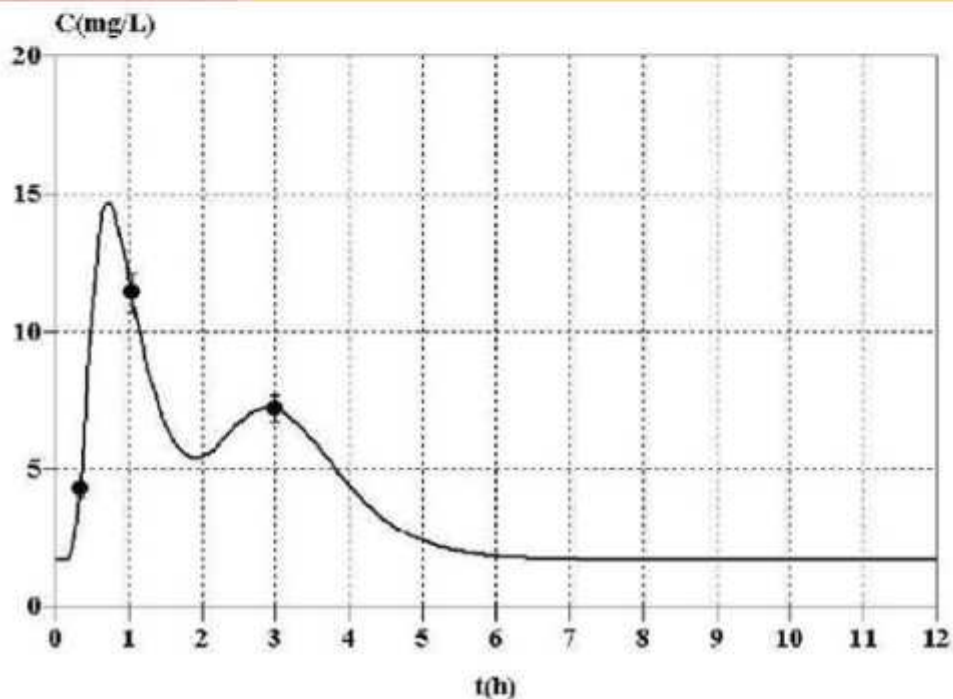


Figure 28 : Exemple d'une demande d'adaptation posologique de Mycophénolate Mofétil sur le site ABIS du CHU de Limoges

Habituellement, le STP basé sur des modèles de pharmacocinétique de population permettent une meilleure adaptation de posologie car ils permettent une estimation de l'ASC qui représente le marqueur d'exposition par excellence contrairement aux concentrations isolées (concentration résiduelle, concentration au pic...) qui restent des marqueurs indirects mais bien évidemment plus pratiques.

A titre d'exemple, Mahalati et al. ont mis en évidence sur 156 patients ayant subi une greffe rénale que les concentrations résiduelles (Cr) en Ciclosporine étaient reliées à la néphrotoxicité de ce médicament mais ne l'étaient pas avec le rejet aigu de greffe (83). Ils ont également mesuré les ASC entre 0 et 4h et entre 0 et 12h, et contrairement à la Cr, les auteurs ont trouvé une corrélation entre ASC de la Ciclosporine et le rejet aigu mais aussi la néphrotoxicité (84).

Bien que pour la plupart des cytotoxiques, l'ASC soit mieux corrélée à la pharmacodynamie que des concentrations isolées, le STP est pourtant rarement réalisé et ce pour des raisons pratiques (exposition courte à l'anticancéreux au cours d'une cure de plusieurs semaines). Toutefois dans certaines cures de chimiothérapie à haute dose, le monitoring de l'ASC apparaît comme étant indispensable afin de proposer aux cliniciens des posologies d'anticancéreux adaptées à chaque patient. C'est dans ce cadre qu'une estimation de l'ASC du Carboplatine et une proposition d'adaptation des posologies à partir de trois temps de prélèvements chez des patients présentant une tumeur des cellules germinales à mauvais pronostic a montré une amélioration de la courbe de survie et une diminution de la toxicité de l'agent anticancéreux (85).

B. Relations pharmacocinétiques-pharmacodynamiques basées sur la concentration plasmatique totale du Voriconazole

Le Voriconazole est un médicament qui ne répond pas complètement aux critères précédemment cités justifiant la mise en place d'un STP. Néanmoins, la forte variabilité inter-individuelle des concentrations résiduelles ainsi que la gravité des

pathologies traitées aboutissent à une nécessité d'un STP (17). Le Voriconazole présente une pharmacocinétique non linéaire (modèle de Michaelis-Menten), ce qui représente un défi pour un ajustement précis de la posologie dans la pratique clinique. Comme nous l'avons indiqué précédemment, sa variabilité inter-individuelle est liée à différents facteurs : co-administrations médicamenteuses, polymorphisme génétique du CYP2C19, prise alimentaire, état physiopathologique du patient. Au cours des cinq dernières années, des études ont permis de démontrer l'importance du STP du Voriconazole afin d'optimiser l'efficacité et de réduire la toxicité (17) (Tableau 16).

Tableau 16 : Réponse au traitement chez des patients ayant bénéficié d'un STP du Voriconazole versus patients sans STP du Voriconazole (17)

	TDM (n = 37)	Non-TDM (n = 34)	P Value
Treatment success	30 (81)	20 (59)	.04
Complete response	21 (57)	13 (38)	.12
Partial response	9 (24)	7 (21)	.71
Stable response	1 (3)	2 (6)	.60
Treatment failure	6 (16)	12 (35)	.07

Abbreviation: TDM, therapeutic drug monitoring.

Il semble raisonnable d'effectuer un STP de façon systématique chez tous les patients recevant du Voriconazole. Dans le cas contraire, il devrait être pratiqué dans les situations particulières telles que :

- Patients ayant une mauvaise réponse au traitement
- Patients ayant des effets secondaires de type visuel
- Patients recevant des médicaments métabolisés par les CYP450
- Patients faisant partie de la population pédiatrique
- Patients ayant des atteintes hépatiques

Le profil pharmacocinétique atypique du Voriconazole a conduit à la réalisation d'un nombre important d'études pharmacocinétiques dans le but d'évaluer l'index thérapeutique. La plupart des travaux sont des études rétrospectives sur des cohortes comportant 23 à 201 patients (Tableau 17) le plus souvent greffés (cellules souches hématopoïétiques, organes).

Les études de Ueda et al. (86) (n = 34) et Trifilio et al. (87) (n = 87) sur des patients ayant reçu une greffe de cellules souches hématopoïétiques ont conclu que des concentrations résiduelles supérieures à 2 mg/L étaient associées à une efficacité clinique (amélioration des images radiologiques, de l'état général du patient ainsi que des prélèvements mycologiques). Smith et al. (15) (n = 28) ont trouvé que des réponses favorables au traitement curatif des IFI étaient observées à des concentrations résiduelles supérieures à 2,05 mg/L. Sur un petit échantillon de patients (n = 25) principalement traités en prophylaxie dans le cadre d'une greffe d'organe solide, Miyakis et al. (88) ont rapporté qu'une réponse au traitement était observée chez les patients avec une concentration résiduelle supérieure à 2,2 mg/L (Figure 29). Pascual et al. (13) (n = 52) ont constaté qu'une absence de réponse au traitement était plus fréquente chez les patients ayant un taux de Voriconazole résiduel inférieur à 1 mg/L par rapport aux patients avec un taux résiduel supérieur à 1 mg/L (Figure 30). Enfin sur 23 patients traités pour une IFI, Okuda et al. (89) ont trouvé une différence significative des concentrations plasmatiques résiduelles moyennes ($p < 0,05$) entre les patients ayant et n'ayant pas répondu au traitement ($8,21 \pm 2,19$ vs $1,01 \pm 0,86$ mg/L) (Figure 31). Ainsi aucun seuil d'efficacité n'a été clairement identifié à ce jour.

Tableau 17 : Récapitulatif des données issues de la littérature concernant le suivi thérapeutique pharmacologique du Voriconazole basé sur la concentration résiduelle totale

	n	Seuil d'efficacité	Seuil de toxicité
Smith et al. (15)	28	2.05 mg/L	ND
Trifilio et al. (87)	87	2 mg/L	ND
Pascual et al. (13)	52	1 mg/L	5,5 mg/L
Okuda et al. (89)	23	8,21 mg/L	7,64 mg/L
Ueda et al. (86)	34	2 mg/L	6 mg/L
Miyakis et al. (88)	25	2,2 mg/L	ND
Dolton et al (18)	201	1,7 mg/L	5 mg/L
Park et al (17)	71	1 mg/L	5,5 mg/L

ND : non déterminé

Voriconazole concentration	Mortality due to or with invasive fungal infection		Microbiological and/or clinical success	
	Death	Survival	Failure	Success
Initial trough concentration ^a				
<0.35 mg/L	3	0	3	0
>0.35 mg/L	2	20	7	15
OR and 95% CI	11 (2.9–41.2) ^b		3.1 (1.7–5.8) ^b	
Median trough concentration ^a				
<2.2 mg/L	5	11	10	6
>2.2 mg/L	0	9	0	9
OR and 95% CI	1.5 (1.1–2.0) ^c		2.7 (1.4–5.0) ^c	

^aInitial and median concentration cut-offs were determined by classification and regression tree analysis.
^bAn initial concentration <0.35 mg/L was significantly associated with IFI-related mortality and microbiological and/or clinical success.
^cA median concentration >2.2 mg/L was significantly associated with IFI-related mortality and microbiological and/or clinical success.

Figure 29 : Associations entre les concentrations résiduelles en Voriconazole et la mortalité/réponse au traitement selon Miyakis et al. (88)

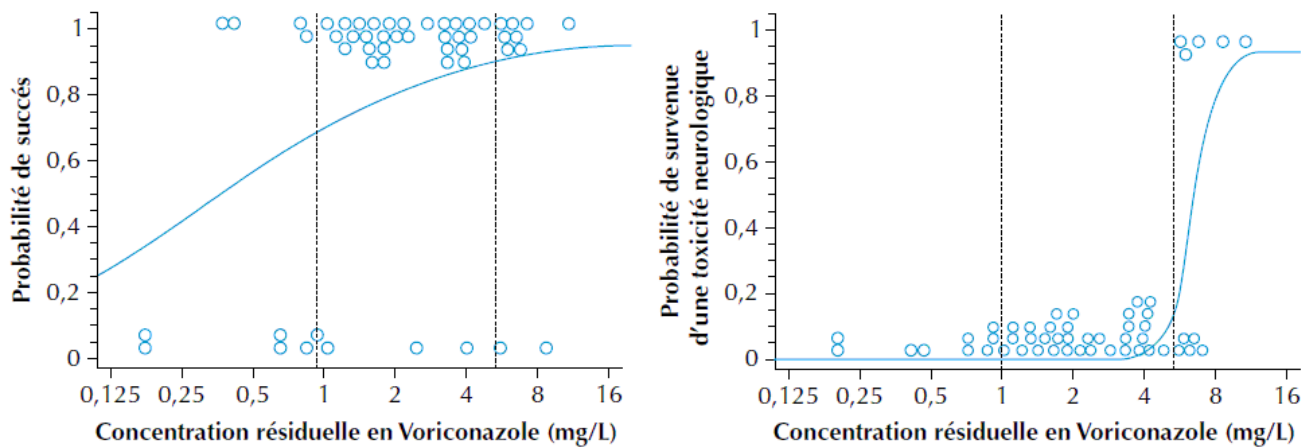


Figure 30 : Proposition d'une fourchette thérapeutique du Voriconazole selon Pascual et al.(13)

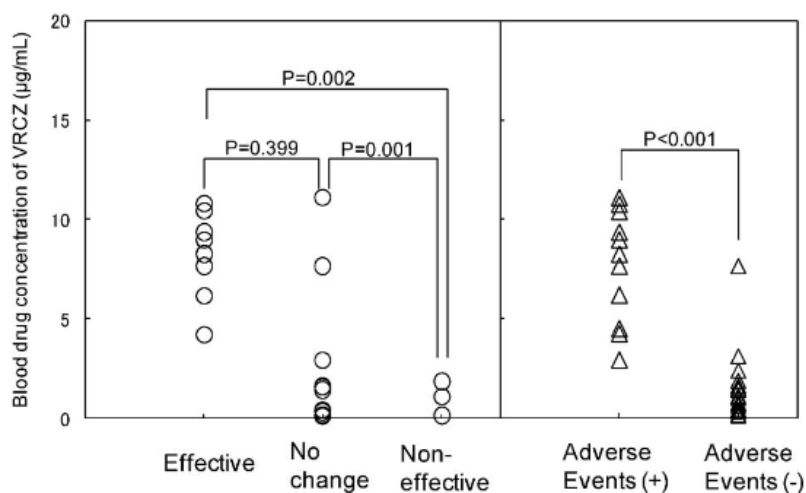


Figure 31 : Concentration plasmatique résiduelle en Voriconazole et efficacité/toxicité selon Okuda et al. (89)

Concernant la toxicité du Voriconazole, elle a principalement été évaluée en mesurant l'élévation des enzymes hépatiques (transaminases, bilirubine) et l'apparition d'une neurotoxicité (céphalées, paresthésies). Ueda et al. (86) (n = 34) ont mentionné que l'élévation des enzymes hépatiques était fréquemment observée lorsque la concentration résiduelle en Voriconazole était supérieure à 6 mg/L. Sur une cohorte de 52 patients, Pascual et al. (13) ont rapporté qu'aucun des patients avec une concentration résiduelle en Voriconazole inférieure ou égale à 5,5 mg/L ne présentait de toxicité neurologique ($p = 0,002$) (Figure 30). Okuda et al. (89) (n = 23) ont découvert une différence significative ($p < 0,05$) des concentrations plasmatiques résiduelles moyennes en Voriconazole entre les patients ayant et n'ayant pas présenté d'événements indésirables ($7,64 \pm 2,84$ mg/L vs $1,49 \pm 1,79$ mg/L) (Figure 31). Hagiwara et al. (90) ont rapporté que la concentration résiduelle moyenne en Voriconazole des patients présentant des effets indésirables neurologiques était de 3,2 mg/L et que celle des patients ayant nécessité un arrêt de traitement en raison de troubles hépatiques était supérieure à 4,0 mg/L (Tableau 17). Lutsar et al. (91) (n = 1053) ont souligné une augmentation de 7 à 17% de la probabilité d'avoir des taux de transaminases ou bilirubine totale anormaux à chaque augmentation de 1mg/L de la concentration en Voriconazole dans le plasma.

Toutes ces études montrent que l'intervalle thérapeutique de référence du Voriconazole n'est toujours pas clairement défini. En effet, selon les auteurs cités, les seuils d'efficacité et de toxicité de la concentration totale résiduelle oscillent respectivement de 0,5 à 2,2 mg/L et de 4 à 6 mg/L (7, 12–18, 86–88, 90).

C. La fraction libre: un nouveau paramètre pharmacocinétique du STP ?

L'un des principes fondamentaux de la pharmacologie est que seule la forme libre d'une molécule est pharmacologiquement active. Elle est donc la seule à pouvoir produire un effet thérapeutique et/ou toxique en se fixant sur sa (ses) cible(s). Dans un premier temps, nous nous intéresserons aux principales méthodes permettant d'isoler la forme libre d'un médicament avant de nous pencher sur la fraction libre en tant que paramètre pharmacocinétique.

1. Méthode de détermination de la fraction libre

La dialyse à l'équilibre et l'ultrafiltration sont les deux méthodes les plus largement utilisées pour déterminer la fraction libre. Ce sont des techniques qui permettent de séparer et d'isoler la forme libre d'une molécule.

a) Dialyse à l'équilibre

La méthode de dialyse à l'équilibre est la méthode de référence. Elle est utilisée principalement en recherche et plus occasionnellement en routine. La cellule de dialyse à l'équilibre est constituée de deux compartiments séparés l'un de l'autre par une membrane semi-perméable permettant aux petites molécules de diffuser librement d'un compartiment à l'autre, et empêchant les plus grosses molécules (telles que les protéines) de le faire. L'échantillon est introduit dans un compartiment

et le tampon dans l'autre, l'ensemble du dispositif incube au moyen d'un agitateur à retournement à 37°C. Le dialysat est ainsi maintenu en contact physique avec la membrane qui retient les protéines de liaison, permettant à la molécule libre qui s'y trouve de se rééquilibrer en fonction des changements de concentration en molécule libre dans l'autre compartiment (Figure 32). Une fois que l'équilibre est atteint (16 à 24h selon les molécules), les concentrations en molécule libre dans les deux compartiments sont égales (92). On peut donc doser le médicament libre dans le dialysat et par-là même connaître la concentration libre.

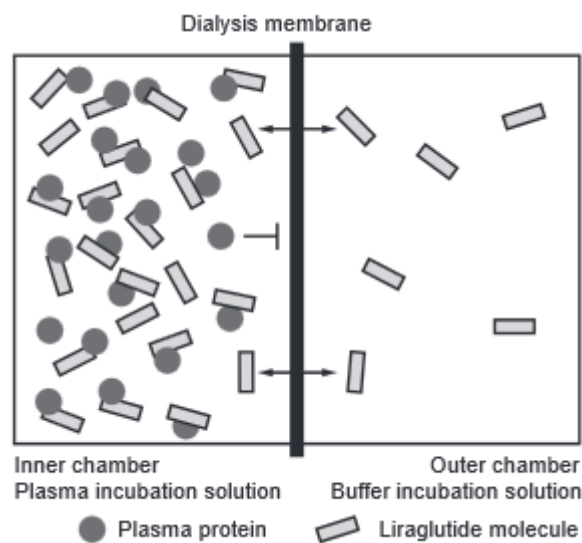


Figure 32 : Représentation schématique du principe de dialyse à l'équilibre : exemple du Liraglutide, un antidiabétique oral (93)

Cette méthode a néanmoins beaucoup d'inconvénients, principalement une forte liaison non spécifique ainsi qu'une certaine difficulté pour contrôler certains paramètres expérimentaux (température, pH, temps de dialyse...). C'est également une technique chronophage, ce qui l'a rend difficilement applicable en routine dans un Laboratoire d'Analyses de Biologie Médicale (LABM) ou un Laboratoire de Pharmacologie (94).

b) Ultrafiltration

L'ultrafiltration a été introduite dans les LABM afin de déterminer la fraction libre en routine dans le cadre de STP de certaines hormones (cortisol, testostérone) et

médicaments (Digoxine, Phénytoïne). Cette technique offre des avantages significatifs, principalement en termes de temps d'analyse.

A la différence de la dialyse à l'équilibre, l'ultrafiltration nécessite uniquement l'introduction de l'échantillon dans la cheminée en plastique du tube. L'isolement de la (des) molécule(s) libre(s) s'effectue cette fois-ci de façon active à travers une membrane, grâce à la force centrifuge (Figure 33) (95). L'ultrafiltrat se retrouve piégé dans le compartiment de recueil. Par conséquent, aucun réajustement entre les concentrations totales et libres n'est possible.

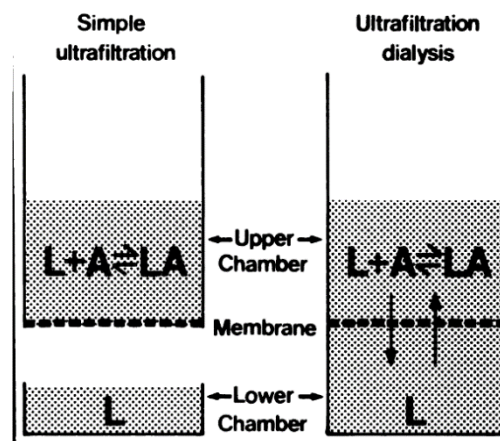


Figure 33 : Représentation schématique de l'ultrafiltration (gauche) et de la dialyse à l'équilibre (droite) (95)

A l'instar de la dialyse à l'équilibre, certains inconvénients sont toutefois rencontrés, principalement la fixation non spécifique (FNS) de la (des) molécule(s) sur les parois en plastique et la membrane de filtration ainsi qu'un déséquilibre de liaison entre la (les) molécule(s) et la (les) protéine(s) plasmatique(s), créé par la force centrifuge (94).

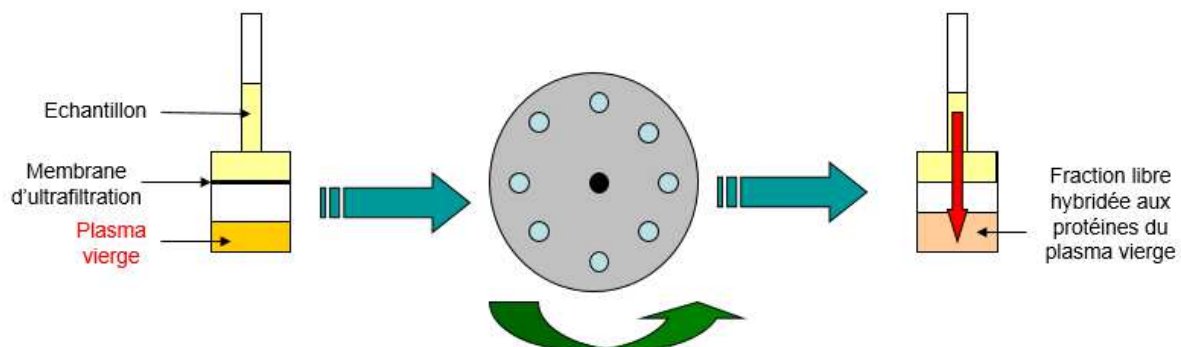


Figure 34 : Schéma de l'ultrafiltration appliquée aux travaux de cette étude

L'originalité apportée à la méthode utilisée dans la cadre de ces travaux est l'ajout d'un plasma humain vierge placé dans la cupule de recueil du tube d'ultrafiltration (Figure 34). Ce plasma permet au Voriconazole (hydrophobe) filtré de se resolubiliser immédiatement et d'éviter à la fois sa précipitation et une liaison non spécifique au dispositif plastique (96). Les cupules étant pesées avant et après ultrafiltration, le volume exact d'ultrafiltrat recueilli est donc connu (densité moyenne de l'ultrafiltrat de 1). Ainsi en mesurant la concentration en Voriconazole de ce plasma « hybride », nous pouvons retrouver la concentration libre dans l'échantillon.

2. Calcul de la fraction libre et facteurs de variabilité

Quelle que soit la méthode utilisée, la fraction libre se calcule en faisant le rapport de la concentration libre sur la concentration totale (Équation 4).

Équation 4 : Calcul de fraction libre (f_u)

$$f_u = \frac{C_u}{C_t}$$

Cu: concentration libre (exple : ng/mL), Ct: concentration totale (expl : ng/mL)

La fraction libre est une variable qui peut s'exprimer selon l'Equation 5:

Équation 5: Calcul de la fraction libre (f_u)

$$f_u = \frac{K_D}{B_{max} + K_D}$$

K_D : constante de dissociation, B_{max} : capacité maximale de liaison

Toutes les situations physiopathologiques qui vont faire varier soit la constante de dissociation (K_D) (co-médication et compétition portant sur la fixation aux protéines plasmatiques), soit la capacité maximale de liaison (B_{max}) (diminution du taux de protéines plasmatiques due à une cirrhose, un syndrome néphrotique, insuffisance rénale, hypothyroïdie, etc) sont susceptibles de modifier f_u (97).

En effet, il a été montré par Takamura et al. qu'en situation pathologique d'accumulation de composés endogènes (hyperurémie par exemple), une compétition au niveau des sites de fixation de la protéine de transport plasmatique (modification du K_D) était à l'origine d'une augmentation de la fraction libre du Furosémide (98). De la même façon, mais en intervenant sur le paramètre B_{max} , des cas d'augmentation de la fu des antiépileptiques, liés à la diminution du nombre de site de fixation protéique chez des patients en hypoalbuminémie, ont été à l'origine d'intoxications graves (99–104). En effet, la diminution du taux de protéines de transport entraîne une augmentation de la Cu et donc de l'effet pharmacologique tandis que la Ct semble dans la norme lors des dosages.

3. Hypothèse justifiant la détermination de la fraction libre dans le STP

Les médicaments existent dans la circulation périphérique sous deux formes : la forme libre ou la forme liée aux protéines qui suivent toutes deux la loi d'action de masse. Seule la forme libre peut traverser la membrane plasmatique et se lier aux récepteurs pour induire une action pharmacologique (105).

Historiquement, les premières études démontrant l'intérêt clinique de la concentration libre dans le STP d'un médicament datent de 1973. Dans une population de 30 patients épileptiques, Booker et al. ont trouvé qu'il existait une meilleure corrélation entre la toxicité des antiépileptiques (ataxie, nystagmus) et la concentration libre en médicament (99).

Actuellement, l'intérêt du monitoring de la concentration libre de la Phénytoïne, Carbamazépine et Acide Valproïque est très documenté et certains laboratoires de biologie médicale proposent son suivi en routine. En effet, un grand nombre de case report publiés montrent que la mesure de la concentration libre en antiépileptiques permet d'éliminer des erreurs d'interprétation du au monitoring traditionnel de la Ct résiduelle, en particulier les intoxications camouflées par une Ct dans la norme (100–103). Plusieurs auteurs recommandent d'instaurer un STP de la

Cu chez les patients ayant une hyperuricémie, une hépatite chronique, une hypoalbuminémie (patient âgé, grand brûlé, grossesse, VIH positif) ou lorsqu'une interaction médicamenteuse est suspectée (22, 104, 106).

Bien que peu utilisée en pratique courante dans le STP des immunosuppresseurs, la Cu a pourtant montré une meilleure corrélation PK-PD que la Ct. En effet, Akhlaghi et al. (107), Zahir et al. (108,109), Atcheson et al. (110), et Jacobson et al. (111) ont montré dans des études comportant chacune une trentaine de patients traités aussi bien avec la Ciclosporine que le Tacrolimus ou l'Acide Mycophénolique, que les Cu étaient plus étroitement liées à des rejets de greffes cardiaques, rénales ou hépatiques que la Ct.

L'hypothèse avancée dans notre étude a donc été celle qui suit. Prenons l'exemple de deux patients A et B qui auraient le même profil pharmacocinétique pour la concentration totale en Voriconazole mais des réponses différentes au traitement. Le patient A aurait un traitement efficace alors que le patient B serait toujours en sepsis. On pourrait imaginer qu'en mesurant la concentration libre chez ces même deux patients, on serait en mesure de distinguer des profils pharmacocinétiques différents de leur concentration libre à l'origine d'une variabilité inter-individuelle de la réponse au traitement. En supposant et en définissant une concentration libre résiduelle cible d'efficacité, on comprend sur la Figure 35 que le patient A aurait un traitement efficace contrairement au patient B.

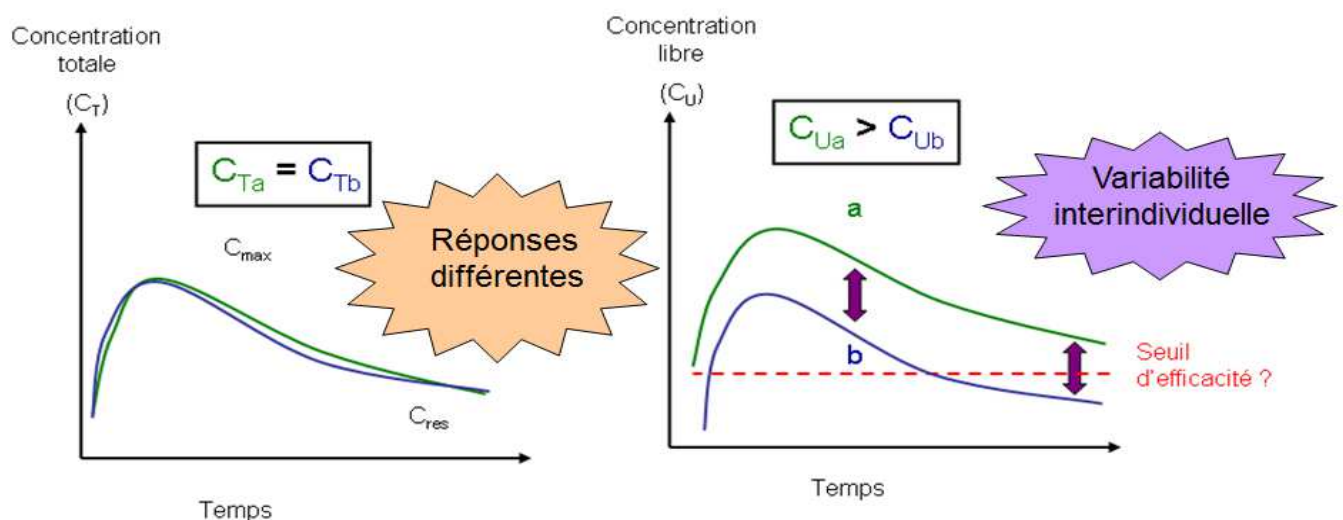


Figure 35 : Hypothèse de travail sur la variabilité inter-individuelle des concentrations libres du Voriconazole et la réponse au traitement.

III. Détermination de la concentration et de la fraction libre du Voriconazole

A. Objectif

L'objectif de cette étude a été de mesurer la concentration et la fraction libres chez des patients traités par du Voriconazole en prophylaxie ou en curatif afin (i) de corréler les mesures des données biologiques (albumine), (ii) d'estimer les relations PK-PD (résultat du laboratoire de Mycologie) et PK-TOX (hyperbilirubinémie) qui pourraient exister et (iii) de proposer des valeurs de fourchettes thérapeutiques à la fois pour la concentration résiduelle totale et libre.

B. Matériel et méthode

1. Données démographiques

Les échantillons de sang (n = 97) ont été obtenus à partir de 54 patients, au cours de leur hospitalisation au CHU de Purpan, entre Août 2012 et Avril 2013. Ces prélèvements ont été faits dans le cadre d'un STP des azolés. Pour chaque échantillon de sang, les concentrations plasmatiques totale et libre en Voriconazole ont été mesurées. La concentration plasmatique totale résiduelle, en tant que marqueur du STP, a été communiquée au personnel de chaque service demandeur afin d'adapter la posologie des patients si nécessaire. L'âge des patients a varié entre 18 et 78 ans avec une médiane de 55 ans. Les patients ont reçu une dose quotidienne moyenne de 400 mg (de 100 mg à 400 mg, deux fois par jour).

2. Ultrafiltration

Afin de pouvoir déterminer la fu du Voriconazole pour l'ensemble des 97 prélèvements sanguins, nous avons décidé d'utiliser la méthode d'ultrafiltration. En effet, celle-ci est adaptée pour analyser un volume important d'échantillons sanguins de par sa rapidité d'exécution et le faible volume plasmatique nécessaire. La

méthode d'ultrafiltration a été mise au point en se basant sur la publication d'Arellano et al. (96). Dans un premier temps et avant ultrafiltration des échantillons, les tubes Centrifree[®] 30K (Millipore) sont reconditionnés par ajout de 500 µL d'H₂O distillée (112) placés dans la cheminée et centrifugés pendant 30 min à 2000 g et 20°C. Cette étape de conditionnement permet d'éliminer la glycine, utilisée comme stabilisateur du filtre, à l'origine d'une interférence lors de la détection analytique.

Afin de déterminer la concentration libre (Cu) en antifongique, 500 µL de plasma (plasma surchargé ou prélèvement de patient) sont déposés dans la cheminée du tube Centrifree[®] 30K. Le Voriconazole étant une molécule hydrophobe, il est nécessaire de déposer 150 µL de plasma vierge dans la cupule de recueil afin de resolubiliser la molécule après ultrafiltration. Les cupules sont pesées avant et après ultrafiltration dans le but de déterminer le volume exact d'ultrafiltrat recueilli (densité moyenne de l'ultrafiltrat de 1). Les tubes sont ensuite centrifugés pendant 30min à 2000 g et 20°C.

3. Méthode de dosage plasmatique du Voriconazole

Les concentrations totale et libre du Voriconazole ont été déterminées selon deux méthodes chromatographiques (UPLC) couplées à une détection UV. En effet, les Cu et les Ct ayant des valeurs situées dans des gammes de concentrations différentes, il a été nécessaire de mettre au point deux méthodes analytiques. La première, utilisée en routine et permettant de détecter des concentrations totales, permet de doser des concentrations allant de 0,20 à 10 mg/L. Pour la deuxième méthode adaptée au dosage de la concentration libre du Voriconazole, l'étape d'extraction a été modifiée de manière à augmenter la sensibilité (diminution de la LOQ) et quantifier des concentrations allant de 0,025 à 2,5 mg/L.

a) UPLC-UV

Le système UPLC-UV est composé d'un injecteur et d'une pompe de type ACCELA (Thermo scientific[®]) ainsi que d'un détecteur UV ACCELA (Thermo

scientifique[®]). L'analyse et l'intégration des chromatogrammes ont été faites via le système d'exploitation Chromquest[®]. La séparation des molécules a été réalisée à 30°C sur une colonne EC 50/2 NUCLEODUR Sphinx RP – 1.8 µm -50 x 2 mm (Macherey-Nagel[®]) munie d'une précolonne EC 4/2 NUCLEODUR Sphinx RP – 1.8µm (Macherey-Nagel[®]). Le débit de la pompe et la longueur d'onde du détecteur à barrettes de photodiodes ont été fixés à 500 µL/min et 260 nm, respectivement.

Afin d'optimiser la sensibilité de la technique de dosage de la concentration libre ainsi que la durée d'acquisition (5 min), une phase mobile a été élaborée. Celle-ci est composée de 30% d'acétonitrile, 40% d'H₂O et 30% de méthanol.

b) Courbes d'étalonnage et contrôles qualité

Une courbe d'étalonnage composée de 6 points, avec un premier point à 0,025 mg/L et un dernier point à 2,50 mg/L, a permis de déterminer les Cu associées aussi bien aux Ct résiduelles qu'aux Ct correspondant au pic d'absorption.

Afin de valider la courbe d'étalonnage, trois niveaux de contrôles de qualité (0,04, 0,4 et 1,2 mg/L) ont été fabriqués à partir de solution mère de stockage (1 g/L) diluées dans du méthanol et ajoutée à du plasma humain vierge. La fidélité (P ; %) (écart à la moyenne des résultats) et le biais (I ; %) (écart à la valeur théorique) ont été calculées comme suit :

Équation 6 : Calcul de la fidélité (P)

$$P = \left(\frac{EcartType}{Moyenne} \right) * 100$$

Équation 7 : Calcul du biais (I)

$$I = 100 - \left(\frac{C_{mesuree} * 100}{C_{theorique}} \right)$$

C_{mesuree}: concentration mesurée (mg/L), C_{theorique}: concentration théorique (mg/L)

Une méthode de dosage est validée lorsque les résultats de répétabilité (5 mesures sur 3 niveaux de QC différents) et reproductibilité (2 mesures par jour pendant 5 jours) ont des fidélités et des biais inférieurs à 15% selon la Food and Drug Administration (FDA) (113).

c) Dosage des échantillons

Les échantillons de plasma de patient ou surchargés en solution méthanolique de Voriconazole (1%) ont été placés dans un incubateur rotatif pendant 1 h afin de les ramener à température ambiante. Après avoir placé l'échantillon dans le réservoir à échantillon et du plasma vierge dans la cupule de recueil, l'ultrafiltration a été effectuée dans les conditions précédemment développées.

La solution (ultrafiltrat mélangé avec du plasma vierge) a été recueillie dans la cupule de recueil du tube et les concentrations plasmatiques ont été analysées comme suit. Après addition de 20 µL d'une solution d'étalon interne dans le mélange ultrafiltrat/plasma vierge, 500 µL d'hydroxyde de sodium à 0,2 mol/L et 4 mL d'hexane/acide isoamylique (V/V, 80/20) sont ajoutés. Le mélange est extrait par agitation vigoureuse pendant 10 min avant une centrifugation de 10 min à 2000 g. Un volume de 3,5 mL de la phase organique supérieure est ensuite récupéré, séché sous azote à 45 °C, repris dans un mélange acétonitrile/H₂O (60/40) et injecté dans le système chromatographique.

La concentration libre est calculée en mesurant la quantité libre de voriconazole dans le mélange ultrafiltrat/plasma vierge et en appliquant la formule suivante:

Équation 8: Calcul de la concentration libre (C_u)

$$C_u = \frac{C_{mes} * V_{UF}}{V_{PE}}$$

C_{mes} : concentration mesurée par l'UPLC-UV (mg/L), V_{UF}: volume exact d'ultrafiltrat (L), V_{PE}: volume d'échantillon placé dans le tube d'ultrafiltration (L).

Les fractions libres en antifongique (fu exprimée en %) ont, par la suite, été calculées en divisant les valeurs de concentrations libres par celles des concentrations totales correspondantes comme le montre l'Équation 4.

4. Etude de l'efficacité et de la tolérance

L'efficacité du Voriconazole a été évaluée dans deux populations différentes : les patients traités en prophylaxie et ceux qui recevaient un traitement curatif. Le Voriconazole en prophylaxie a été considéré comme efficace quand l'antigénémie fongique est restée négative. Dans le cadre du traitement curatif, une absence de réponse au traitement a été définie par une culture de prélèvement direct positive au bout de 14 jours de traitement (13, 114). Les échantillons ont été traités et analysés au Laboratoire de Mycologie du CHU de Purpan (Toulouse, France). Les techniques utilisées permettent de détecter les antigènes des polysaccharides présents dans la paroi des champignons, le galactomannane pour *Aspergillus* (115) et le mannane pour *Candida* (116). Les cultures ont été effectuées à 32 °C sur de la gélose de Sabouraud utilisée spécifiquement pour la croissance fongique.

La toxicité hépatique (cholestase), souvent associée au Voriconazole, a été évaluée en déterminant la bilirubine totale (Bt) au Laboratoire de Biochimie du CHU de Purpan (117–119). Les échantillons utilisés pour quantifier la bilirubine totale ont été recueillis le même jour que ceux qui ont permis de quantifier la concentration plasmatique en Voriconazole. La droite d'étalonnage de la bilirubine totale permet d'analyser des échantillons avec des valeurs allant de 0,68 à 513 $\mu\text{mol/L}$. Les valeurs de référence pour la bilirubine totale sont comprises entre 2 et 21 $\mu\text{mol/L}$.

L'antigénémie fongique, les cultures de prélèvement direct et le taux de bilirubine totale ont été inclus dans la surveillance biologique de routine des patients pendant leur hospitalisation.

Une courbe Receiver Operating Characteristic (ROC) a été construite afin de déterminer les seuils d'efficacité et de tolérance du Voriconazole. A ce jour, il est admis de manière consensuelle que la fenêtre thérapeutique doit conduire à une

probabilité d'au moins 80% de réponse au traitement sans dépasser une probabilité de 20% de développer des effets indésirables (13).

C. Résultats

1. Validation analytique de la méthode de dosage de la concentration libre en Voriconazole

La méthode de dosage a été validée par l'étude de la linéarité, la spécificité, le rendement d'extraction, la limite de détection (LOD) et de quantification (LOQ), ainsi que la répétabilité et la reproductibilité sur 5 jours (Tableau 18). Les courbes d'étalonnage ont été établies par régression linéaire avec pondération ($1/C$) selon la méthode des moindres carrés, entre la concentration et le rapport de la surface du pic chromatographique du produit à doser et celle de l'étalon interne.

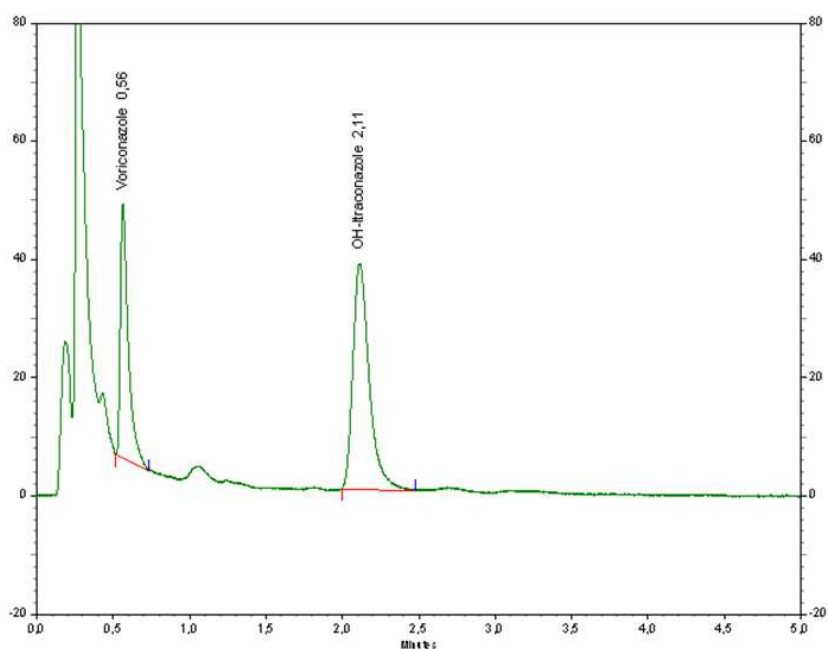


Figure 36 : Chromatogramme d'un contrôle de qualité moyen (0,4 mg/L) de Voriconazole avec l'OH-Itraconazole comme étalon interne

Les courbes d'étalonnage des concentrations plasmatiques ont, dans tous les cas, été linéaires dans la gamme de concentrations allant de 0,025 à 2,5 mg/L. Les coefficients de corrélation ont toujours été supérieurs à 0,995. La courbe

d'étalonnage a été validée par le biais des points de gamme recalculés compris entre -7,24 et 6,86%.

Tableau 18 : Principaux résultats de la validation de la méthode de dosage de la concentration libre du Voriconazole.

LOQ (mg/L)	Temps de rétention (min)	Pente		QC Bas		QC Moyen		QC Haut	
		Moyenne	P (%)	I (%)	P (%)	I (%)	P (%)	I (%)	P (%)
0,025	0,62	1,47	9,62	-4,65	7,65	-4,2	8,39	-7,75	5,07

Chaque contrôle de qualité (QC) présente un biais et une fidélité inférieurs à 15%. La méthode est donc considérée comme valide selon la FDA (Tableau 18).

2. Etude de la fraction libre

a) *In vitro*

Sur des plasmas surchargés en Voriconazole, nous avons déterminé une fu moyenne de $32,3 \pm 5,5\%$, avec un CV de 17,0%. La comparaison des moyennes des fu mesurées *in vitro* sur une plage de concentrations totales allant de 0,375 à 10mg/L n'a montré aucune différence significative, suggérant une absence de saturation de la liaison aux protéines plasmatiques ($p > 0.05$) (Figure 37).

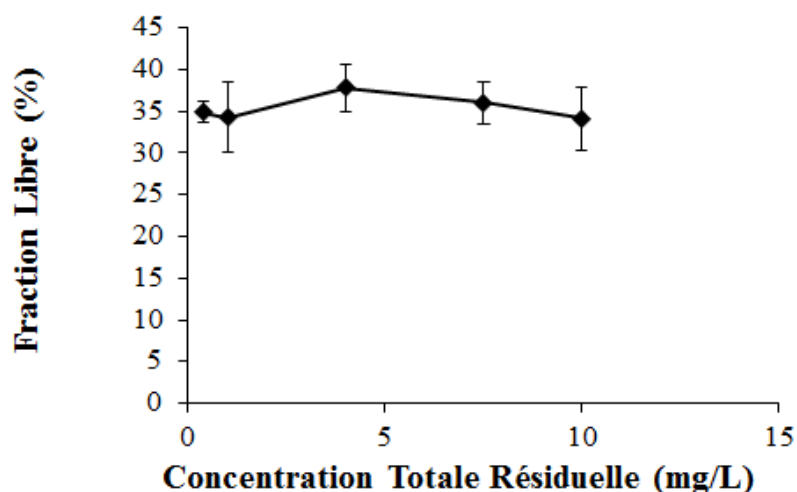


Figure 37 : Fraction libre du Voriconazole en fonction de la concentration totale (plasma frais surchargé)

L'étude de la saturation de la liaison protéique a permis de valider les conditions finales d'ultrafiltration car d'une part les valeurs de fu obtenues au cours de la mise au point sur des plasmas surchargés ont été similaires à celles retrouvées dans la littérature sur des plasmas de souris ou sur des plasmas de rat surchargés (34% (120) et 30% (114)), et d'autre part la variabilité de la fu pour chacune des concentrations testées a été inférieure à l'erreur analytique maximale tolérée (20%).

In vitro, il n'y a pas de modification de la fraction libre du Voriconazole lorsque la concentration totale plasmatique varie entre 0,375 et 10 mg/L.

b) In vivo

A partir des concentrations totale et libre de Voriconazole, nous avons calculé la fu correspondante et nous avons obtenu une fu médiane [Intervalle de Confiance 5%-95%] de 21,95 % [13,25 - 37,25] (Tableau 19). Le volume moyen d'ultrafiltrat recueilli chez les patients traités par Voriconazole a été de $124,28 \pm 35,59$ μ L. Parmi les 97 échantillons de Voriconazole conservés à -20°C, 15 avaient une Cu inférieure à la LOQ. Pour ces 15 prélèvements, la fu n'a pas été déterminée.

Tableau 19 : Principaux résultats biologiques des patients sous Voriconazole (n= 82 prélèvements)

Dose	Ct résiduelle (mg/L)			Cu résiduelle (mg/L)			fu (%)	Alb (g/L)
	100 mg 2x/j	200 mg 2x/j	300 mg 2x/j	100 mg 2x/j	200 mg 2x/j	300 mg 2x/j		
Médiane	1,25	2,03	3,98	0,25	0,41	0,76	21,95	31,00
5 ^{ème} Centile	0,77	0,34	0,47	0,18	0,09	0,09	13,25	20,10
95 ^{ème} Centile	8,93	6,43	19,91	1,97	1,82	9,04	37,25	45,90

Nous avons pu montrer qu'il existe une forte corrélation ($\rho = 0.956$, $p < 0.001$) entre les concentrations totales et libres (Figure 38).

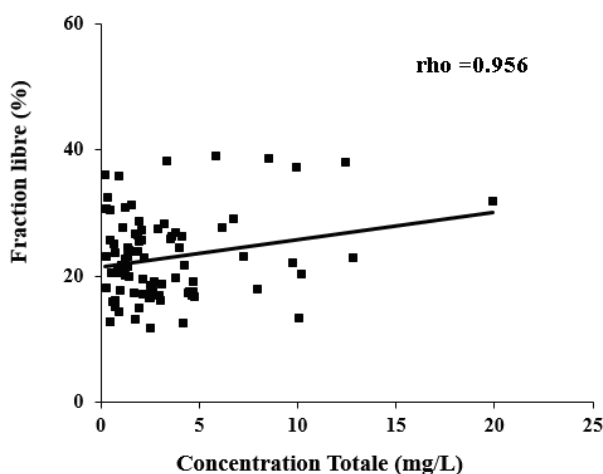


Figure 38 : Corrélation entre les concentrations totales et libres du Voriconazole chez 50 patients (n=82)

Les antifongiques triazolés sont des molécules qui se fixent principalement à l'albumine (23). Nous nous sommes donc intéressés à ce paramètre afin de mettre en évidence une éventuelle corrélation entre le taux d'albumine et la valeur de fu (%). Le taux d'albumine a été déterminé sur des prélèvements réalisés le même jour que ceux réalisés pour le STP du Voriconazole. Les résultats indiquent qu'il n'existe pas de lien significatif ($\rho = -0,216$, $p = 0.05$) entre ces deux paramètres biologiques (Figure 39).

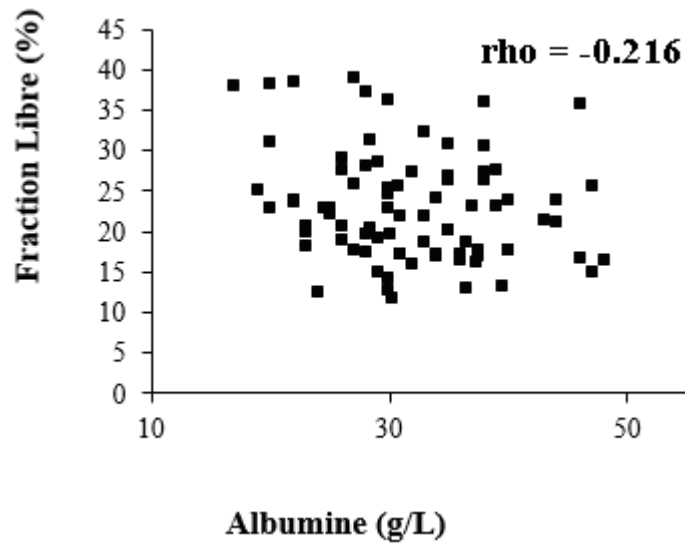


Figure 39 : Corrélation entre le taux d'albumine et la fraction libre du Voriconazole chez 50 patients (n=82 prélèvements).

Nous avons montré *in vitro*, sur des plasmas ayant un taux d'albumine normal (35 - 50 g/L), qu'il n'existe pas de phénomène de saturation de la liaison protéique pour le Voriconazole. En explorant de façon isolée la fu chez des patients ayant des taux d'albumine très bas (<25 g/L), nous avons mis en évidence une tendance ($\rho = -0,661$, $p = 0.01$) entre ces deux variables. En effet, plus le taux d'albumine est faible, plus la fraction libre tend à être élevée (Figure 40).

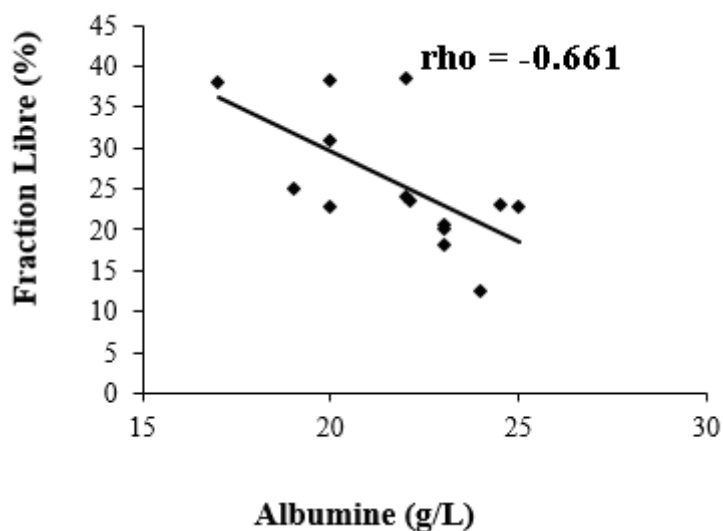


Figure 40 : Corrélation entre les taux d'albumine inférieurs à 25 g/L et la fraction libre du Voriconazole chez 10 patients (n=14 prélèvements)

3. Evaluation de l'efficacité et de la tolérance

L'évaluation de l'efficacité a été réalisée pour chaque groupe de patients: ceux traités à visée curative (n = 8) et ceux traités à titre prophylactique (n = 34). Dix virgule trois pourcents des patients recevant un traitement prophylactique ont développé une antigénémie fongique positive, reflétant une infection fongique. Ces patients avaient une Ct résiduelle médiane (5^{ème} - 95^{ème} centiles) de 0,48 mg/L (0,29 - 0,70 mg/L) et une Cu de 0,083 mg/L (0,063 - 0,161 mg/L), tandis que les patients qui n'ont pas développé une infection avaient une Ct résiduelle médiane (5^{ème} - 95^{ème} centiles) de 1,83 mg/L (0,46 - 7,87 mg/L) et une Cu de 0,40 mg/L (0,08 - 2,03 mg/L) (Figure 41), avec une différence significative entre les deux populations ($p = 0.02$ et $p = 0.03$ pour Ct et Cu, respectivement).

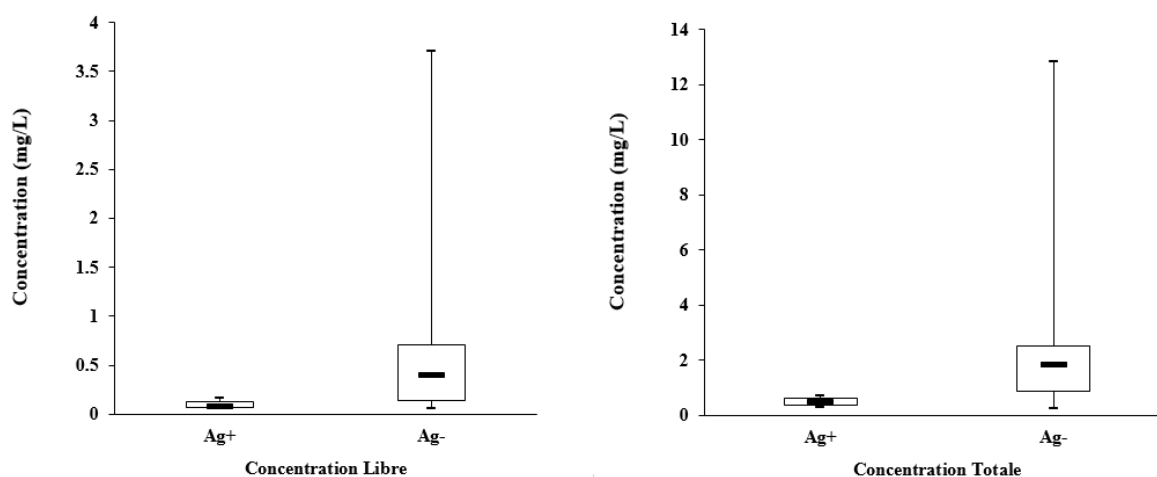


Figure 41 : Boxplot des concentrations résiduelles libres et totales en fonction de l'antigénémie fongique dans une population traitée par Voriconazole en prophylaxie

Les courbes ROC construites avec 28 de concentrations plasmatiques de Voriconazole indiquent que pour des Ct et Cu résiduelles allant de 4,5 à 13,0 mg/L et de 1,5 à 3,7 mg/L respectivement, plus de 80% de la population étudiée avait un traitement prophylactique efficace associé à un faible risque d'hyperbilirubinémie (Figure 42 et 43).

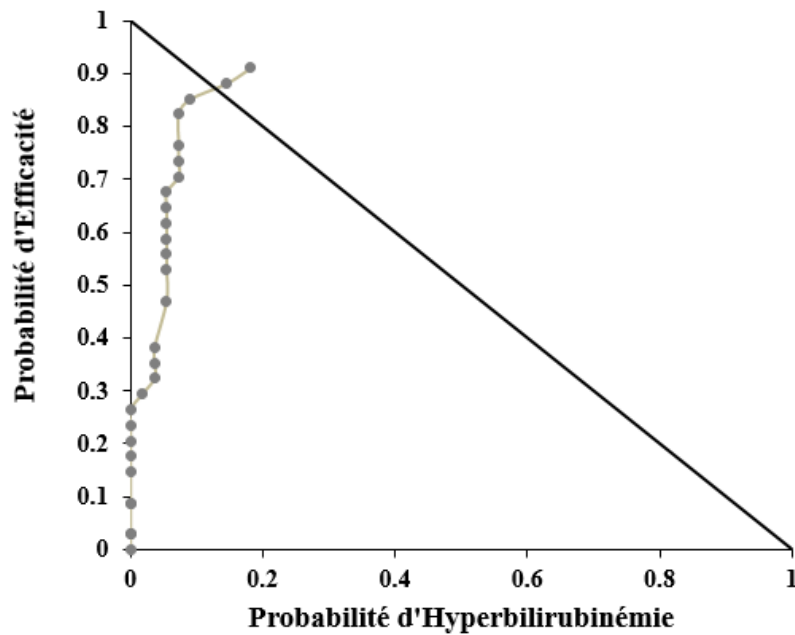


Figure 42 : Courbe ROC représentant la probabilité d'un traitement efficace et d'une hyperbilirubinémie selon les Cu résiduelles

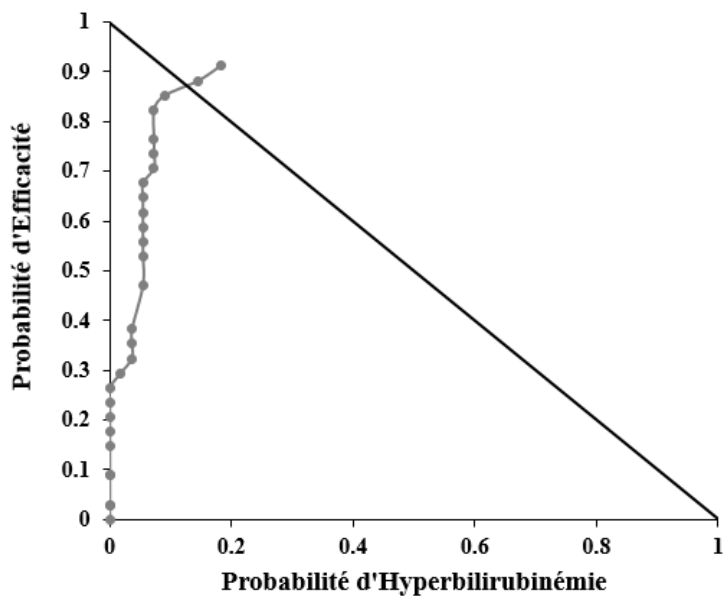


Figure 43 : Courbe ROC représentant la probabilité d'un traitement efficace et d'une hyperbilirubinémie selon les Ct résiduelles

La plupart des patients avec une IFI déclarée étaient traités pour une aspergillose pulmonaire. Lorsque cela a été nécessaire, une biopsie a été pratiquée. Le Voriconazole a été efficace chez 62,5% des patients traités pour une IFI médicalement confirmée. Les patients avec un traitement efficace (E+) avaient une médiane (5^{ème} - 95^{ème} centiles) des Ct et Cu résiduelles de 1,58 mg/L (0,56 -

8,75mg/L) et de 0,38 mg/L (0,12 - 1,89 mg/L) respectivement, tandis que ceux dont le traitement a été jugé inefficace (E-) avaient une médiane (5^{ème} - 95^{ème} centiles) des Ct et Cu résiduelles de 1,36 mg/L (0,55 - 1,38 mg/L) et de 0,30 mg/L (0,15 - 0,31mg/L) respectivement (Figure 44), sans différence significative entre les deux populations ($p = 0,37$ et $p = 0,55$ pour Ct et Cu, respectivement). Malheureusement, il ne nous a pas été possible de construire une courbe ROC étant donné l'échantillonnage trop limité pour le groupe « traitement curatif ».

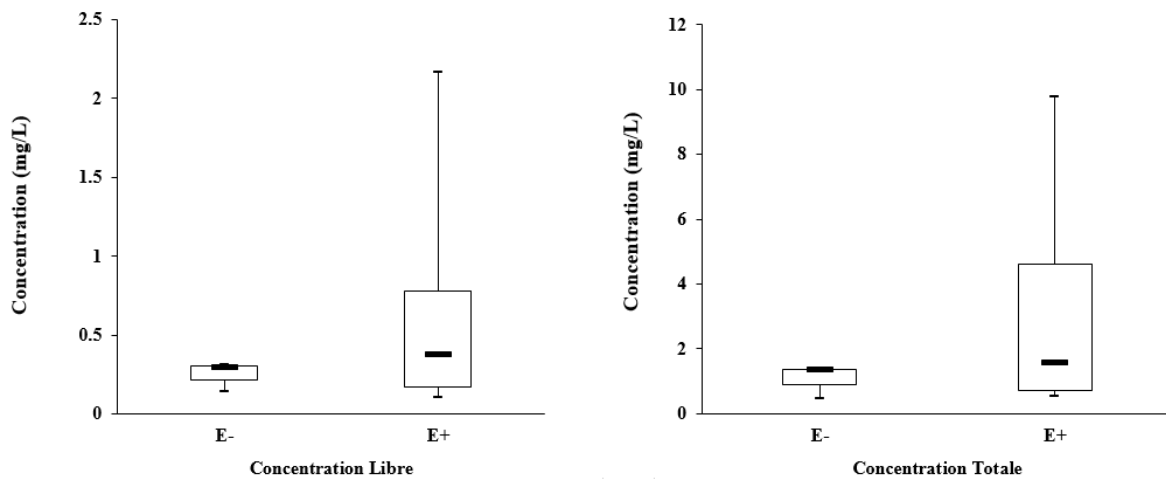


Figure 44 : Boxplot des concentrations résiduelles libres et totales en fonction du résultat de l'examen direct dans une population traitée par Voriconazole en curatif

Parmi les patients ($n = 37$), 6 ont développé une hyperbilirubinémie ($Bt > 21 \mu\text{mol/L}$) lorsqu'ils ont été traités par Voriconazole. La valeur médiane de Bt dans la population cholestatique a été de $61,5 \mu\text{mol/L}$ ($n = 6$), alors que dans la population non cholestatique la valeur médiane a été de $11,0 \mu\text{mol/L}$ ($n = 31$). Pour des valeurs de Ct et Cu supérieures à 6,5 et 2,0 mg/L respectivement, l'hyperbilirubinémie a été retrouvée chez 100% des patients.

IV. Discussion, conclusion et perspectives

En se basant sur les données actuelles portant sur le STP du Voriconazole et suite à la demande de plus en plus pressante des cliniciens concernant des recommandations claires sur la prise en charge thérapeutique du patient sous antifongiques, nous avons exploré la concentration et la fraction libre du Voriconazole dans le plasma de patients, en utilisant l'ultrafiltration.

À ce jour, les deux méthodes les plus couramment utilisées pour déterminer les concentrations libres plasmatiques sont la dialyse à l'équilibre et l'ultrafiltration. L'ultrafiltration présente comme avantage par rapport à la dialyse à l'équilibre d'être un processus rapide et par conséquent plus adapté à un Laboratoire d'Analyses de Biologie Médicale ou un Laboratoire de Pharmacologie.

L'ultrafiltration et la dialyse à l'équilibre ont comme principal inconvénient d'être sensibles à la liaison non spécifique du médicament aux composants (polymères) des membranes de filtration ou des cupules en verre et en plastique. La FNS dans le dispositif Centrifree[®] pourrait être réduite en utilisant des approches différentes de pré- traitement du filtre (112). Toutefois, la liaison non spécifique du Voriconazole n'a pas été évaluée dans notre étude car elle avait déjà été déterminée par Araujo et al. (120) dans des conditions similaires. La valeur retrouvée s'élevait à $5,2 \pm 3,0\%$, valeur considérée comme négligeable.

Dans notre population, la fu médiane (5^{ème} - 95^{ème} centiles) a été de 21,95% (13,25 - 37,25%). Bien qu'aucune donnée humaine de la fu ne soit disponible avec la technique d'ultrafiltration, des valeurs similaires ont été obtenues dans les plasmas de souris (114, 120). De façon surprenante, la fu moyenne déterminée *in vitro* en utilisant du plasma surchargé (fu = 32,3%) a été significativement plus élevée que la valeur déterminée dans les plasmas de patients (fu = 24,1%). Cette différence est probablement due à une altération des protéines plasmatiques par addition de méthanol, 1% dans les plasmas surchargés, bien que cette quantité soit négligeable et consensuellement tolérée.

L'albumine est une protéine circulante qui transporte beaucoup de molécules présentes dans le compartiment sanguin, en particulier les molécules lipophiles (hormones thyroïdiennes, acides gras, bilirubine non conjuguée et de nombreux médicaments antifongiques tels que les triazolés). La fluctuation du taux d'albumine due à certains états pathologiques (maladie hépatique, syndrome néphrotique, malnutrition, œdème pulmonaire, ...) est susceptible de modifier la Cu/fu et d'induire des réponses pharmacologiques inappropriées (intoxication aux antiépileptiques chez les patients en hypoalbuminémie) (22, 121–123). Toutefois, aucune corrélation entre l'albumine et la fu n'a été observée dans cette étude. Ceci peut, au moins partiellement, être expliqué par la dispersion limitée des taux d'albumine chez les patients étudiés ; 33/82 avaient un taux d'albumine dans la fourchette normale (c'est à dire 34-50 g/L). Cependant, pour les taux d'albumine anormalement faible (< 25 g/L), une tendance a été observée suggérant un déséquilibre de liaison du Voriconazole. Comme la fraction non liée dépend de l'affinité du Voriconazole pour l'albumine, mesurée par la constante de dissociation (K_D), et la concentration maximale en sites de liaison (B_{max}) (124), la fu est susceptible de varier lors de modifications des taux d'albumine comme cela est le cas lors d'une hypoalbuminémie sévère.

Afin de définir et de proposer un seuil d'efficacité/sécurité des Ct et Cu résiduelles en Voriconazole, la corrélation entre concentrations et marqueurs d'efficacité (antigènes antifongiques et cultures de prélèvements directs) a été évaluée. Ces deux examens biologiques sont fréquemment réalisés dans les LABM pour évaluer la réponse au traitement prophylactique ou curatif. Il a été constaté que dans l'ensemble et de façon significative, les Ct et Cu résiduelles ont été plus élevées pour les patients avec une antigénémie négative, avec une Ct et Cu résiduelle médiane (5^{ème} - 95^{ème} centiles) de 1,83 mg/L (0,35 - 7,87 mg/L) et de 0,40mg/L (0,08 - 2,31 mg/L), respectivement. De même, chez les patients avec un traitement curatif, les Ct et Cu résiduelles moyennes ont été plus élevées, mais cette fois ci de façon non significative, que celles des patients réfractaires au traitement, avec une Ct et Cu résiduelle médiane (5^{ème} - 95^{ème} centiles) de 1,58 mg/L (0,56 - 8,75 mg/L) et 0,38 mg/L (\pm 0,12 - 1,88 mg/L), respectivement. L'absence de différence significative entre les répondeurs et les non-répondeurs en traitement curatif, est probablement due au nombre limité de patients. Cependant, selon les

courbes ROC, avec un seuil d'efficacité de 4,5 mg/L (Ct) et 1,5 mg/L (Cu), au moins 80% des patients recevant un traitement prophylactique devrait être répondeur. Ce seuil n'a pas pu être calculé pour le traitement curatif en raison du faible nombre de patients étudiés.

La cholestase hépatique induite par le Voriconazole a été évaluée en utilisant le taux de Bt avec une maximale physiologique de 21 μ mol/L. De toute évidence, pour des Ct et Cu allant de 4,5 à 13,0 mg/L et de 1,5 à 3,7 mg/L, une hyperbilirubinémie, devrait être observée chez moins de 20% des patients. Cependant, comme nous avons pu le constater, pour des Ct et Cu résiduelles supérieures à 6,5 et 2,0 mg/L respectivement, tous les patients avaient des hyperbilirubinémies suggérant de ne pas dépasser ces valeurs. L'augmentation de la bilirubine totale est apparue en moyenne deux mois après l'initiation du Voriconazole. Trois patients ont vu leur bilirubine totale se normaliser une semaine après l'arrêt du traitement. Les trois autres patients n'ont pas arrêté le Voriconazole et deux d'entre eux avaient toujours une hyperbilirubinémie. Pour le dernier, une diminution de la bilirubine totale a été observée parallèlement avec la diminution des concentrations résiduelles. Pour la première fois, une Cu résiduelle a été déterminée et associée à l'hyperbilirubinémie. Cependant, nous ne pouvons pas exclure une influence de la pathologie de chaque patient sur son taux de bilirubine totale. Bien qu'une modification des marqueurs de cytolysse hépatique soit décrite sous VFEND[®], nous n'avons pas mis en évidence de corrélation ou tendance entre le Voriconazole et les transaminases, la phosphatase alcaline ou les gamma-GT. Pour ces patients recevant plusieurs médicaments (Emtricitabine, Tacrolimus, Tobramycine, Cytarabine), la cytolysse hépatique peut également être induite par d'autres molécules. La neurotoxicité (maux de tête, confusion) et les troubles visuels sont les effets secondaires les plus communément associés à l'administration de Voriconazole (119, 125). Malheureusement, ces événements n'ont pas pu être explorés dans notre population car il ne nous a pas été possible de colliger les données cliniques.

Nous avons pu établir un index thérapeutique pour le Voriconazole basé à la fois sur des valeurs de Ct et Cu résiduelles. Afin d'obtenir une réponse efficace au traitement sans hépatotoxicité, il semble raisonnable de cibler des Ct et Cu

résiduelles entre 4,5 et 6,5 mg/L et entre 1,5 et 2,0 mg/L, respectivement. Compte tenu de la forte corrélation entre Cu et Ct ($\rho = 0,956$, $p < 0,001$), la Cu résiduelle ne semble pas être un marqueur pharmacocinétique plus pertinent que la Ct résiduelle pour le STP du Voriconazole. Néanmoins, une étude prospective dans une population plus large est nécessaire afin de valider ces résultats. Dans notre étude, la fenêtre thérapeutique finale proposée, sur la base de la Ct résiduelle, est assez similaire aux données précédemment rapportées. Même si la concentration résiduelle est un marqueur clinique plus adapté pour l'ajustement de dose, l'ASC, qui définit l'exposition au médicament, représente le paramètre pharmacocinétique de référence du STP. Sa détermination en utilisant un modèle pharmacocinétique de population, comme cela est couramment effectué pour les médicaments immunosuppresseurs (82) et certains anticancéreux (126), peut certainement améliorer le STP des antifongiques et apporter des réponses aux objectifs initiaux de cette étude.

BIBLIOGRAPHIE

1. Marr KA, Carter RA, Crippa F, Wald A, Corey L. Epidemiology and outcome of mould infections in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 2002;34:909–917.
2. Montagna MT, Caggiano G, Lovero G, De Giglio O, Coretti C, Cuna T, et al. Epidemiology of invasive fungal infections in the intensive care unit: results of a multicenter Italian survey (AURORA Project). *Infection.* 2013;41:645–653.
3. Barreto JN, Beach CL, Wolf RC, Merten JA, Tosh PK, Wilson JW, et al. The incidence of invasive fungal infections in neutropenic patients with acute leukemia and myelodysplastic syndromes receiving primary antifungal prophylaxis with voriconazole. *Am J Hematol.* 2013;88:283–288.
4. Cuenca-Estrella M, Bernal-Martinez L, Buitrago MJ, Castelli MV, Gomez-Lopez A, Zaragoza O, et al. Update on the epidemiology and diagnosis of invasive fungal infection. *Int J Antimicrob Agents.* 2008;32:143–147.
5. Flückiger U, Marchetti O, Bille J, Eggimann P, Zimmerli S, Imhof A, et al. Treatment options of invasive fungal infections in adults. *Swiss Med Wkly.* 2006;136:447–463.
6. Ji H, Zhang W, Zhou Y, Zhang M, Zhu J, Song Y, et al. A three-dimensional model of lanosterol 14 α -demethylase of *Candida albicans* and its interaction with azole antifungals. *J Med Chem.* 2000;43:2493–2505.
7. Goodwin ML, Drew RH. Antifungal serum concentration monitoring: an update. *J Antimicrob Chemother.* 2008;61:17–25.
8. Zhou S-F, Liu J-P, Chowbay B. Polymorphism of human cytochrome P450 enzymes and its clinical impact. *Drug Metab Rev.* 2009;41:89–295.
9. Hafner V, Albermann N, Haefeli WE, Ebinger F. Inhibition of Voriconazole Metabolism by Chloramphenicol in an Adolescent with Central Nervous System Aspergillosis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008;52:4172–4174.
10. Purkins L, Wood N, Ghahramani P, Love ER, Eve MD, Fielding A. Coadministration of voriconazole and phenytoin: pharmacokinetic interaction, safety, and toleration. *Br J Clin Pharmacol.* 2003;56:37–44.
11. Purkins L, Wood N, Kleinermans D, Greenhalgh K, Nichols D. Effect of food on the pharmacokinetics of multiple-dose oral voriconazole. *Br J Clin Pharmacol.*

2003;56:17–23.

12. Hoenigl M, Duettmann W, Raggam RB, Seeber K, Troppan K, Fruhwald S, et al. Potential Factors for Inadequate Voriconazole Plasma Concentrations in Intensive Care Unit Patients and Patients with Hematological Malignancies. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57:3262–3267.
13. Pascual A, Calandra T, Bolay S, Buclin T, Bille J, Marchetti O. Voriconazole therapeutic drug monitoring in patients with invasive mycoses improves efficacy and safety outcomes. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 2008;46:201–211.
14. Pascual A, Csajka C, Buclin T, Bolay S, Bille J, Calandra T, et al. Challenging recommended oral and intravenous voriconazole doses for improved efficacy and safety: population pharmacokinetics-based analysis of adult patients with invasive fungal infections. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 2012;55:381–390.
15. Smith J, Safdar N, Knasinski V, Simmons W, Bhavnani SM, Ambrose PG, et al. Voriconazole therapeutic drug monitoring. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006;50:1570–1572.
16. Chu HY, Jain R, Xie H, Pottinger P, Fredricks DN. Voriconazole therapeutic drug monitoring: retrospective cohort study of the relationship to clinical outcomes and adverse events. *BMC Infect Dis.* 2013;13:105.
17. Park WB, Kim N-H, Kim K-H, Lee SH, Nam W-S, Yoon SH, et al. The effect of therapeutic drug monitoring on safety and efficacy of voriconazole in invasive fungal infections: a randomized controlled trial. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 2012;55:1080–1087.
18. Dolton MJ, Ray JE, Chen SC-A, Ng K, Pont LG, McLachlan AJ. Multicenter study of voriconazole pharmacokinetics and therapeutic drug monitoring. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56:4793–4799.
19. Zhanel GG, Saunders DG, Hoban DJ, Karlowsky JA. Influence of human serum on antifungal pharmacodynamics with *Candida albicans*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001;45:2018–2022.
20. Theuretzbacher U, Ihle F, Derendorf H. Pharmacokinetic/pharmacodynamic profile of voriconazole. *Clin Pharmacokinet.* 2006;45:649–663.
21. Gandia P, Arellano C, Lafont T, Huguet F, Malard L, Chatelut E. Should therapeutic drug monitoring of the unbound fraction of imatinib and its main active metabolite N-desmethyl-imatinib be developed? *Cancer Chemother Pharmacol.* 2013;71:531–536.

22. Burt M, Anderson DC, Kloss J, Apple FS. Evidence-based implementation of free phenytoin therapeutic drug monitoring. *Clin Chem*. 2000;46:1132–1135.
23. Cafini F, Sevillano D, Alou L, Gómez-Aguado F, Corcuera MT, González N, et al. Effect of protein binding on the activity of voriconazole alone or combined with anidulafungin against *Aspergillus* spp. using a time-kill methodology. *Rev Esp Quimioter Publ Of Soc Esp Quimioter*. 2012;25:47–55.
24. Schulze J, Sonnenborn U. Yeasts in the gut: from commensals to infectious agents. *Dtsch Arztebl Int*. 2009;106:837–842.
25. *Aspergillus flavus* [Internet]. Mycology Online. [consulté le 5 juin 2014]. Disponible à : http://www.mycology.adelaide.edu.au/gallery/hyaline_moulds/.
26. Segal BH. Aspergillosis. *N Engl J Med*. 2009;360:1870–1884.
27. Garnacho-Montero J, Olaechea P, Alvarez-Lerma F, Alvarez-Rocha L, Blanquer J, Galván B, et al. Epidemiology, diagnosis and treatment of fungal respiratory infections in the critically ill patient. *Rev Esp Quimioter Publ Of Soc Esp Quimioter*. 2013;26:173–188.
28. Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N Engl J Med*. 2003;348:1546–1554.
29. Lewis RE, Cahyame-Zuniga L, Leventakos K, Chamilos G, Ben-Ami R, Tamboli P, et al. Epidemiology and sites of involvement of invasive fungal infections in patients with haematological malignancies: a 20-year autopsy study. *Mycoses*. 2013;56:638–645.
30. Wingard JR, Carter SL, Walsh TJ, Kurtzberg J, Small TN, Baden LR, et al. Randomized, double-blind trial of fluconazole versus voriconazole for prevention of invasive fungal infection after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Blood*. 2010;116:5111–5118.
31. Herbrecht R, Denning DW, Patterson TF, Bennett JE, Greene RE, Oestmann J-W, et al. Voriconazole versus amphotericin B for primary therapy of invasive aspergillosis. *N Engl J Med*. 2002;347:408–415.
32. Walsh TJ, Pappas P, Winston DJ, Lazarus HM, Petersen F, Raffalli J, et al. Voriconazole compared with liposomal amphotericin B for empirical antifungal therapy in patients with neutropenia and persistent fever. *N Engl J Med*. 2002;346:225–234.
33. Börjesson T, Stöllman U, Schnürer J. Volatile metabolites produced by six fungal species compared with other indicators of fungal growth on cereal grains. *Appl*

Environ Microbiol. 1992;58:2599–2605.

34. Masiá Canuto M, Gutiérrez Rodero F. Antifungal drug resistance to azoles and polyenes. *Lancet Infect Dis.* 2002;2:550–563.
35. Sheng C, Miao Z, Ji H, Yao J, Wang W, Che X, et al. Three-dimensional model of lanosterol 14 alpha-demethylase from *Cryptococcus neoformans*: active-site characterization and insights into azole binding. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53:3487–3495.
36. Warrilow AG, Parker JE, Kelly DE, Kelly SL. Azole affinity of sterol 14 α -demethylase (CYP51) enzymes from *Candida albicans* and *Homo sapiens*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57:1352–1360.
37. Johnson E, Espinel-Ingroff A, Szekely A, Hockey H, Troke P. Activity of voriconazole, itraconazole, fluconazole and amphotericin B in vitro against 1763 yeasts from 472 patients in the voriconazole phase III clinical studies. *Int J Antimicrob Agents.* 2008;32:511–514.
38. Sun QN, Fothergill AW, McCarthy DI, Rinaldi MG, Graybill JR. In vitro activities of posaconazole, itraconazole, voriconazole, amphotericin B, and fluconazole against 37 clinical isolates of zygomycetes. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002;46:1581–1582.
39. Pfaller MA, Messer SA, Boyken L, Hollis RJ, Rice C, Tendolkar S, et al. In vitro activities of voriconazole, posaconazole, and fluconazole against 4,169 clinical isolates of *Candida* spp. and *Cryptococcus neoformans* collected during 2001 and 2002 in the ARTEMIS global antifungal surveillance program. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2004;48:201–205.
40. Guinea J, Peláez T, Recio S, Torres-Narbona M, Bouza E. In vitro antifungal activities of isavuconazole (BAL4815), voriconazole, and fluconazole against 1,007 isolates of zygomycete, *Candida*, *Aspergillus*, *Fusarium*, and *Scedosporium* species. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008;52:1396–1400.
41. Nguyen MH, Yu CY. Voriconazole against fluconazole-susceptible and resistant *Candida* isolates: in-vitro efficacy compared with that of itraconazole and ketoconazole. *J Antimicrob Chemother.* 1998;42:253–256.
42. Espinel-Ingroff A. In vitro activity of the new triazole voriconazole (UK-109,496) against opportunistic filamentous and dimorphic fungi and common and emerging yeast pathogens. *J Clin Microbiol.* 1998;36:198–202.
43. Sabatelli F, Patel R, Mann PA, Mendrick CA, Norris CC, Hare R, et al. In vitro

activities of posaconazole, fluconazole, itraconazole, voriconazole, and amphotericin B against a large collection of clinically important molds and yeasts. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006;50:2009–2015.

44. Natesan SK, Lamichchane AK, Swaminathan S, Wu W. Differential expression of ATP-binding cassette and/or major facilitator superfamily class efflux pumps contributes to voriconazole resistance in *Aspergillus flavus*. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2013;76:458–463.

45. Rajendran R, Mowat E, McCulloch E, Lappin DF, Jones B, Lang S, et al. Azole resistance of *Aspergillus fumigatus* biofilms is partly associated with efflux pump activity. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011;55:2092–2097.

46. Lupetti A, Danesi R, Campa M, Del Tacca M, Kelly S. Molecular basis of resistance to azole antifungals. *Trends Mol Med.* 2002;8:76–81.

47. Sanglard D, Ischer F, Monod M, Bille J. Cloning of *Candida albicans* genes conferring resistance to azole antifungal agents: characterization of CDR2, a new multidrug ABC transporter gene. *Microbiol Read Engl.* 1997;143:405–416.

48. Kakeya H, Miyazaki Y, Miyazaki H, Nyswaner K, Grimberg B, Bennett JE. Genetic analysis of azole resistance in the Darlington strain of *Candida albicans*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000;44:2985–2990.

49. Lopez-Ribot JL, McAtee RK, Lee LN, Kirkpatrick WR, White TC, Sanglard D, et al. Distinct patterns of gene expression associated with development of fluconazole resistance in serial *Candida albicans* isolates from human immunodeficiency virus-infected patients with oropharyngeal candidiasis. *Antimicrob Agents Chemother.* 1998;42:2932–2937.

50. Perea S, López-Ribot JL, Kirkpatrick WR, McAtee RK, Santillán RA, Martínez M, et al. Prevalence of molecular mechanisms of resistance to azole antifungal agents in *Candida albicans* strains displaying high-level fluconazole resistance isolated from human immunodeficiency virus-infected patients. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001;45:2676–2684.

51. Manavathu EK, Ramesh MS, Baskaran I, Ganesan LT, Chandrasekar PH. A comparative study of the post-antifungal effect (PAFE) of amphotericin B, triazoles and echinocandins on *Aspergillus fumigatus* and *Candida albicans*. *J Antimicrob Chemother.* 2004;53:386–389.

52. Rodríguez MM, Calvo E, Serena C, Mariné M, Pastor FJ, Guarro J. Effects of double and triple combinations of antifungal drugs in a murine model of disseminated

- infection by *Scedosporium prolificans*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53:2153–2155.
53. MacCallum DM, Whyte JA, Odds FC. Efficacy of caspofungin and voriconazole combinations in experimental aspergillosis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005;49:3697–3701.
54. Clemons KV, Espiritu M, Parmar R, Stevens DA. Comparative efficacies of conventional amphotericin b, liposomal amphotericin B (AmBisome), caspofungin, micafungin, and voriconazole alone and in combination against experimental murine central nervous system aspergillosis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005;49:4867–4875.
55. Candoni A, Caira M, Cesaro S, Busca A, Giacchino M, Fanci R, et al. Multicentre surveillance study on feasibility, safety and efficacy of antifungal combination therapy for proven or probable invasive fungal diseases in haematological patients: the SEIFEM real-life combo study. *Mycoses.* 2014;57:342–350.
56. Padoin C, Tribut O. Pharmacocinétique (PK)/pharmacodynamie (PD) et place du suivi thérapeutique pharmacologique (STP) des antifongiques. *Médecine thérapeutique.* 2010;329–339.
57. Trifilio S, Pennick G, Pi J, Zook J, Golf M, Kaniecki K, et al. Monitoring plasma voriconazole levels may be necessary to avoid subtherapeutic levels in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Cancer.* 2007;109:1532–1535.
58. Grudzień MK, Pałka K, Pluciński FA, Mazurek AP. Molecular properties impact on bioavailability of second generation triazoles antifungal agents. *Acta Pol Pharm.* 2013;70:869–872.
59. Scholz I, Oberwittler H, Riedel K-D, Burhenne J, Weiss J, Haefeli WE, et al. Pharmacokinetics, metabolism and bioavailability of the triazole antifungal agent voriconazole in relation to CYP2C19 genotype. *Br J Clin Pharmacol.* 2009;68:906–915.
60. Han K, Capitano B, Bies R, Potoski BA, Husain S, Gilbert S, et al. Bioavailability and population pharmacokinetics of voriconazole in lung transplant recipients. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54:4424–4431.
61. Weiler S, Fiegl D, MacFarland R, Stienecke E, Bellmann-Weiler R, Dunzendorfer S, et al. Human tissue distribution of voriconazole. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011;55:925–928.

62. Passler NH, Chan H-M, Stewart AJ, Duran SH, Welles EG, Lin H-C, et al. Distribution of voriconazole in seven body fluids of adult horses after repeated oral dosing. *J Vet Pharmacol Ther.* 2010;33:35–41.
63. Desta Z, Zhao X, Shin J-G, Flockhart DA. Clinical significance of the cytochrome P450 2C19 genetic polymorphism. *Clin Pharmacokinet.* 2002;41:913–958.
64. Weiss J, Ten Hoevel MM, Burhenne J, Walter-Sack I, Hoffmann MM, Rengelshausen J, et al. CYP2C19 genotype is a major factor contributing to the highly variable pharmacokinetics of voriconazole. *J Clin Pharmacol.* 2009;49:196–204.
65. Lee S, Kim B-H, Nam W-S, Yoon SH, Cho J-Y, Shin S-G, et al. Effect of CYP2C19 Polymorphism on the Pharmacokinetics of Voriconazole After Single and Multiple Doses in Healthy Volunteers. *J Clin Pharmacol.* 2011;52:195-203.
66. Yanni SB, Annaert PP, Augustijns P, Ibrahim JG, Benjamin DK Jr, Thakker DR. In vitro hepatic metabolism explains higher clearance of voriconazole in children versus adults: role of CYP2C19 and flavin-containing monooxygenase 3. *Drug Metab Dispos Biol Fate Chem.* 2010;38:25–31.
67. Pang KS, Rowland M, Tozer TN. In vivo evaluation of Michaelis-Menten constants of hepatic drug-eliminating systems. *Drug Metab Dispos Biol Fate Chem.* 1978;6:197–200.
68. Alvarez-Lerma F, Allepuz-Palau A, Garcia MP, Angeles Leon M, Navarro A, Sanchez-Ruiz H, et al. Impact of intravenous administration of voriconazole in critically ill patients with impaired renal function. *J Chemother Florence Italy.* 2008;20:93–100.
69. Hafner V, Czock D, Burhenne J, Riedel K-D, Bommer J, Mikus G, et al. Pharmacokinetics of sulfobutylether-beta-cyclodextrin and voriconazole in patients with end-stage renal failure during treatment with two hemodialysis systems and hemodiafiltration. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54:2596–2602.
70. Von Mach MA, Burhenne J, Weilemann LS. Accumulation of the solvent vehicle sulphobutylether beta cyclodextrin sodium in critically ill patients treated with intravenous voriconazole under renal replacement therapy. *BMC Clin Pharmacol.* 2006;6:6.
71. Abel S, Allan R, Gandelman K, Tomaszewski K, Webb DJ, Wood ND. Pharmacokinetics, safety and tolerance of voriconazole in renally impaired subjects:

two prospective, multicentre, open-label, parallel-group volunteer studies. *Clin Drug Investig.* 2008;28:409–420.

72. Neofytos D, Lombardi LR, Shields RK, Ostrander D, Warren L, Nguyen MH, et al. Administration of voriconazole in patients with renal dysfunction. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 2012;54:913–921.

73. Weiler S, Zoller H, Graziadei I, Vogel W, Bellmann-Weiler R, Joannidis M, et al. Altered pharmacokinetics of voriconazole in a patient with liver cirrhosis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007;51:3459–3460.

74. Walsh TJ, Driscoll T, Milligan PA, Wood ND, Schlamm H, Groll AH, et al. Pharmacokinetics, safety, and tolerability of voriconazole in immunocompromised children. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54:4116–4123.

75. Koselke E, Kraft S, Smith J, Nagel J. Evaluation of the effect of obesity on voriconazole serum concentrations. *J Antimicrob Chemother.* 2012;67:2957–2962.

76. Delaunay P, Fissore C. Systemic antifungal drug interactions. *J de Myc Med.* 2006;152–158.

77. La pharmacométrie clinique des antirétroviraux et l'individualisation de la thérapie antirétrovirale chez les adultes et les enfants vivant avec le VIH : Guide pour les professionnels de la santé du Québec [Internet]. 2013 [consulté le 22 Mai 2014]. Disponible à : <http://publications.msss.gouv.qc.ca/acrobat/f/documentation/2013/13-308-06W.pdf>.

78. Wood N, Tan K, Purkins L, Layton G, Hamlin J, Kleinermans D, et al. Effect of omeprazole on the steady-state pharmacokinetics of voriconazole. *Br J Clin Pharmacol.* 2003;56:56–61.

79. Boyd NK, Zoellner CL, Swancutt MA, Bhavan KP. Utilization of omeprazole to augment subtherapeutic voriconazole concentrations for treatment of *Aspergillus* infections. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56:6001–6002.

80. Widmer N, Csajka C, Werner D, Grouzmann E, Decosterd LA, Eap CB, et al. Principles of therapeutic drug monitoring. *Rev Médicale Suisse.* 2008;4:1644–1648.

81. Dickstein K, Cohen-Solal A, Filippatos G, McMurray JJV, Ponikowski P, Poole-Wilson PA, et al. ESC Guidelines for the Diagnosis And Treatment of Acute And Chronic Heart Failure 2008 The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2008 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association of the ESC (HFA) and endorsed by the European Society of Intensive Care Medicine (ESICM). *Rev Esp Cardiol Engl Ed.*

2008;61:1329.

82. Saint-Marcoux F, Woillard J-B, Jurado C, Marquet P. Lessons from routine dose adjustment of tacrolimus in renal transplant patients based on global exposure. *Ther Drug Monit.* 2013;35:322–327.
83. Mahalati K, Belitsky P, Sketris I, West K, Panek R. Neoral monitoring by simplified sparse sampling area under the concentration-time curve: its relationship to acute rejection and cyclosporine nephrotoxicity early after kidney transplantation. *Transplantation.* 1999;68:55–62.
84. Mahalati K, Belitsky P, West K, Kiberd B, Fraser A, Sketris I, et al. Approaching the therapeutic window for cyclosporine in kidney transplantation: a prospective study. *J Am Soc Nephrol JASN.* 2001;12:828–833.
85. Motzer RJ, Mazumdar M, Sheinfeld J, Bajorin DF, Macapinlac HA, Bains M, et al. Sequential dose-intensive paclitaxel, ifosfamide, carboplatin, and etoposide salvage therapy for germ cell tumor patients. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 2000;18:1173–11780.
86. Ueda K, Nannya Y, Kumano K, Hangaishi A, Takahashi T, Imai Y, et al. Monitoring trough concentration of voriconazole is important to ensure successful antifungal therapy and to avoid hepatic damage in patients with hematological disorders. *Int J Hematol.* 2009;89:592–599.
87. Trifilio S, Singhal S, Williams S, Frankfurt O, Gordon L, Evens A, et al. Breakthrough fungal infections after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients on prophylactic voriconazole. *Bone Marrow Transplant.* 2007;40:451–456.
88. Miyakis S, van Hal SJ, Ray J, Marriott D. Voriconazole concentrations and outcome of invasive fungal infections. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis.* 2010;16:927–933.
89. Okuda T, Okuda A, Watanabe N, Takao M, Takayanagi K. Retrospective serological tests for determining the optimal blood concentration of voriconazole for treating fungal infection. *Yakugaku Zasshi.* 2008;128:1811–1818.
90. Hagiwara E, Shiihara J, Matsushima A, Enomoto T, Tagawa A, Sekine A, et al. Usefulness of monitoring plasma voriconazole concentration in patients with chronic necrotizing pulmonary aspergillosis. *Nihon Kokyūki Gakkai Zasshi J Jpn Respir Soc.* 2009;47:93–97.
91. Lutsar I, Hodges MR, Tomaszewski K, Troke PF, Wood ND. Safety of

voriconazole and dose individualization. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 2003;36:1087–1088.

92. Dolomie-Fagour L, Corcuff J-B. Is free plasmatic cortisol measurement useful in intensive care unit?. *Ann Biol Clin.* 2008;66:31–41.

93. Plum A, Jensen LB, Kristensen JB. In vitro protein binding of liraglutide in human plasma determined by reiterated stepwise equilibrium dialysis. *J Pharm Sci.* 2013;102:2882–2888.

94. Liu Z, Li F, Huang Y. Determination of unbound drug concentration and protein-drug binding fraction in plasma. *Biomed Chromatogr BMC.* 1999;13:262–266.

95. Wolfer GK Jr, Rippon WB. Protocols for use of ultrafiltration in determination of free ligand concentration and of complexity of ligand/protein interactions. *Clin Chem.* 1987;33:115–117.

96. Arellano C, Gandia P, Lafont T, Jongejan R, Chatelut E. Determination of unbound fraction of imatinib and N-desmethyl imatinib, validation of an UPLC-MS/MS assay and ultrafiltration method. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2012;907:94–100.

97. Brodie B. Displacement of one drug by another from carrier or receptor sites. *Proc R Soc Med.* 1965;58:946–955.

98. Takamura N, Maruyama T, Otagiri M. Effects of uremic toxins and fatty acids on serum protein binding of furosemide: possible mechanism of the binding defect in uremia. *Clin Chem.* 1997;43:2274–2280.

99. Chan S, Gerson B. Free drug monitoring. *Clin Lab Med.* 1987;7:279–287.

100. Booker HE, Darcey B. Serum concentrations of free diphenylhydantoin and their relationship to clinical intoxication. *Epilepsia.* 1973;14:177–184.

101. Gidal BE, Collins DM, Beinlich BR. Apparent valproic acid neurotoxicity in a hypoalbuminemic patient. *Ann Pharmacother.* 1993;27:32–35.

102. Haroldson JA, Kramer LE, Wolff DL, Lake KD. Elevated free fractions of valproic acid in a heart transplant patient with hypoalbuminemia. *Ann Pharmacother.* 2000;34:183–187.

103. Chan K, Beran RG. Value of therapeutic drug level monitoring and unbound (free) levels. *Seizure J Br Epilepsy Assoc.* 2008;17:572–575.

104. Jansen AJG, Hunfeld NGM, van Bommel J, Koch BCP, van Gelder T. Therapeutic drug monitoring of free fraction valproic acid in patients with hypoalbuminaemia. *Neth J Med.* 2012;70:329.

105. Lindow J, Wijdicks EF. Phenytoin toxicity associated with hypoalbuminemia in critically ill patients. *Chest*. 1994;105:602–604.
106. Zielmann S, Mielck F, Kahl R, Kazmaier S, Sydow M, Kolk J, et al. A rational basis for the measurement of free phenytoin concentration in critically ill trauma patients. *Ther Drug Monit*. 1994;16:139–144.
107. Akhlaghi F, Trull AK. Distribution of cyclosporin in organ transplant recipients. *Clin Pharmacokinet*. 2002;41:615–637.
108. Zahir H, McCaughan G, Gleeson M, Nand RA, McLachlan AJ. Changes in tacrolimus distribution in blood and plasma protein binding following liver transplantation. *Ther Drug Monit*. 2004;26:506–515.
109. Zahir H, McCaughan G, Gleeson M, Nand RA, McLachlan AJ. Factors affecting variability in distribution of tacrolimus in liver transplant recipients. *Br J Clin Pharmacol*. 2004;57:298–309.
110. Atcheson BA, Taylor PJ, Mudge DW, Johnson DW, Hawley CM, Campbell SB, et al. Mycophenolic acid pharmacokinetics and related outcomes early after renal transplant. *Br J Clin Pharmacol*. 2005;59:271–280.
111. Jacobson P, Long J, Rogosheske J, Brunstein C, Weisdorf D. High unbound mycophenolic acid concentrations in a hematopoietic cell transplantation patient with sepsis and renal and hepatic dysfunction. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant*. 2005;11:977–978.
112. Lee K-J, Mower R, Hollenbeck T, Castelo J, Johnson N, Gordon P, et al. Modulation of nonspecific binding in ultrafiltration protein binding studies. *Pharm Res*. 2003;20:1015–1021.
113. Guidance for Industry Bioanalytical Method Validation. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER) Center for Veterinary Medicine (CVM) May 2001 BP [Internet]. 2001 [consulté le 22 Mai 2014]. Disponible à : <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/Guidances/ucm070107.pdf>.
114. Mavridou E, Bruggemann RJM, Melchers WJG, Verweij PE, Mouton JW. Impact of cyp51A mutations on the pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of voriconazole in a murine model of disseminated aspergillosis. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010;54:4758–4764.
115. Khorvash F, Meidani M, Babaei L, Abbasi S, Ataei B, Yaran M. Galactomannan antigen assay from bronchoalveolar lavage fluid in diagnosis of

invasive pulmonary aspergillosis in intensive care units patients. *Adv Biomed Res.* 2014;3:68.

116. Sendid B, Tabouret M, Poirot JL, Mathieu D, Fruit J, Poulain D. New enzyme immunoassays for sensitive detection of circulating *Candida albicans* mannan and antimannan antibodies: useful combined test for diagnosis of systemic candidiasis. *J Clin Microbiol.* 1999;37:1510–1517.

117. Suzuki Y, Tokimatsu I, Sato Y, Kawasaki K, Sato Y, Goto T, et al. Association of sustained high plasma trough concentration of voriconazole with the incidence of hepatotoxicity. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem.* 2013;424:119–122.

118. Matsumoto K, Ikawa K, Abematsu K, Fukunaga N, Nishida K, Fukamizu T, et al. Correlation between voriconazole trough plasma concentration and hepatotoxicity in patients with different CYP2C19 genotypes. *Int J Antimicrob Agents.* 2009;34:91–94.

119. Eiden C, Peyrière H, Cociglio M, Djeddar S, Hansel S, Blayac J-P, et al. Adverse effects of voriconazole: analysis of the French Pharmacovigilance Database. *Ann Pharmacother.* 2007;41:755–763.

120. De Araujo BV, da Silva CF, Haas SE, Dalla Costa T. Free renal levels of voriconazole determined by microdialysis in healthy and *Candida sp.*-infected Wistar rats. *Int J Antimicrob Agents.* 2009;33:154–159.

121. Andes D, Marchillo K, Stamstad T, Conklin R. In vivo pharmacokinetics and pharmacodynamics of a new triazole, voriconazole, in a murine candidiasis model. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003;47:3165–3169.

122. Benet LZ, Hoener B. Changes in plasma protein binding have little clinical relevance. *Clin Pharmacol Ther.* 2002;71:115–121.

123. Roberts JA, Pea F, Lipman J. The clinical relevance of plasma protein binding changes. *Clin Pharmacokinet.* 2013;52:1–8.

124. Bousquet-Mélou A, Toutain P. Plasma protein binding displacement interactions are no longer what they used to be. *La let du Pharmacol.* 2012;44–60.

125. Imhof A, Schaer DJ, Schanz U, Schwarz U. Neurological adverse events to voriconazole: evidence for therapeutic drug monitoring. *Swiss Med Wkly.* 2006;136:739–742.

126. Schmitt A, Gladieff L, Lansiaux A, Bobin-Dubigeon C, Etienne-Grimaldi M-C, Boisdron-Celle M, et al. A universal formula based on cystatin C to perform individual dosing of carboplatin in normal weight, underweight, and obese patients. *Clin Cancer*

Res Off J Am Assoc Cancer Res. 2009;15:3633–3639.

ANNEXES

Annexe 1: Publication

Therapeutic Drug Monitoring

Determination of plasma unbound fraction of voriconazole in patients treated with a prophylactic or a curative treatment

--Manuscript Draft--

Manuscript Number:	TDM 13-125-OeR4
Full Title:	Determination of plasma unbound fraction of voriconazole in patients treated with a prophylactic or a curative treatment
Article Type:	Original Manuscript
Keywords:	voriconazole; unbound fraction; therapeutic drug monitoring; protein binding
Corresponding Author:	Peggy Gandia, PharmD, PhD EA4553 Laboratory of Pharmacokinetics Toulouse, FRANCE
Corresponding Author Secondary Information:	
Corresponding Author's Institution:	EA4553 Laboratory of Pharmacokinetics
Corresponding Author's Secondary Institution:	
First Author:	Aurelie Florent, Pharm student
First Author Secondary Information:	
Order of Authors:	Aurelie Florent, Pharm student Peggy Gandia, PharmD, PhD Patrick Seraissol, Analytical engineer Etienne Chatelut, PharmD, PhD Georges Houin, PharmD, PhD
Order of Authors Secondary Information:	
Manuscript Region of Origin:	FRANCE
Abstract:	<p>Background: Voriconazole (VOR) is a triazole antifungal used in the curative treatment of invasive fungal infections (IFI) and the prophylactic treatment of opportunistic fungal infections in immunocompromised patients. It is a drug for which therapeutic drug monitoring (TDM) is highly recommended.</p> <p>Methods: In order to determine the best TDM marker, the pharmacologically active form of the drug, represented by the unbound plasma concentration (Cu) and fraction (fu), has been studied using a method based on ultrafiltration and ultra performance liquid chromatography. As albumin is a likely factor inducing fluctuations in fu, the correlation between albumin levels and fu was carried out. Similarly, correlations between trough plasma concentrations (total concentration (Ct) and Cu) and both efficacy and safety markers were determined. Efficacy evaluation was based on monitoring fungal antigens and cultures, while safety was monitored by measuring bilirubin levels.</p> <p>Results: In vitro, using blank human plasma, the mean fu was determined at $32.3 \pm 5.5\%$ while in patients' plasmas treated with VOR, the median (5th-95th percentiles) of the unbound VOR fraction was 22.95 % (14.95 - 38.42 %). A high correlation was found ($\rho=0.956$, $p<0.001$) between Ct and Cu, though there was no correlation between serum albumin levels and fu, except for some patients with severe hypoalbuminemia (< 25 g/L).</p> <p>Conclusions: Based on efficacy/safety correlations, a therapeutic window has been defined ranging from 4.5 to 6.5 mg/L and 1.5 and 2.0 mg/L for trough Ct and Cu, respectively. For the first time, the relevance of new pharmacokinetic parameters such as Cu and fu have been explored and discussed, and our results support the current TDM protocol for VOR.</p>

Annexe 2: RICAI 2013 (communication orale)

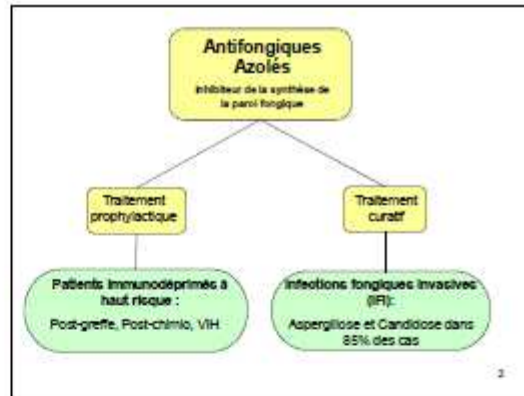



Détermination de la fraction libre plasmatique du Voriconazole chez des patients bénéficiant d'un traitement prophylactique ou curatif

21 novembre 2013

Aurélie Eizen¹, Peggy Gandra², Patrick Beraïssol¹,
 Etienne Chatelus¹, Georges Houlin¹
¹Laboratoire de Pharmacocinétique et Toxicologie Clinique, Centre Hospitalo-Universitaire Purpan – Toulouse; ²EA4553 Laboratoire de Pharmacocinétique, Institut Claudius-Régaud, Toulouse.

4



Arguments d'un Suivi Thérapeutique Pharmacologique (STP) du Voriconazole

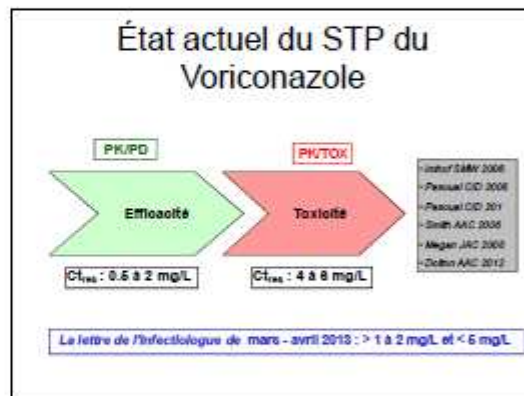
Variabilité interindividuelle

> Coefficient de Variabilité (CV) de la concentration totale résiduelle ($C_{1_{res}}$) de 51% pour une posologie de 200 mg x 2/jour Goodwin JAC 2008

IFI Immunodépression → En pleine émergence Pathologie avec mise en jeu du pronostic vital

Suivi Thérapeutique Pharmacologique **RECOMMANDE**

3



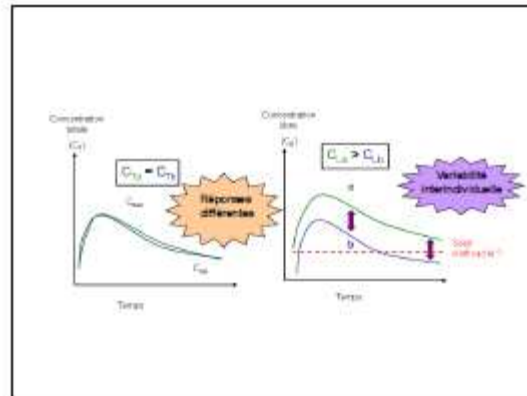
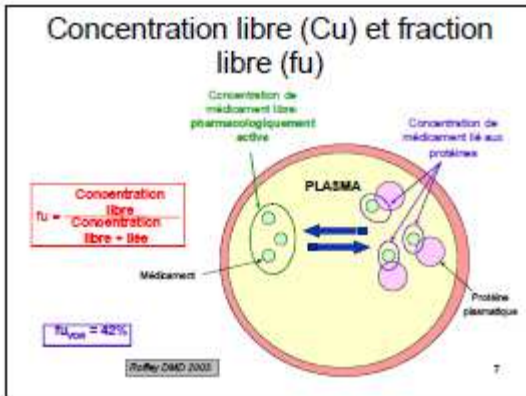
La concentration totale résiduelle ne semble pas être un marqueur pharmacocinétique suffisamment pertinent pour un STP.

7

La concentration totale résiduelle ne semble pas être un marqueur pharmacocinétique suffisamment pertinent pour un STP.

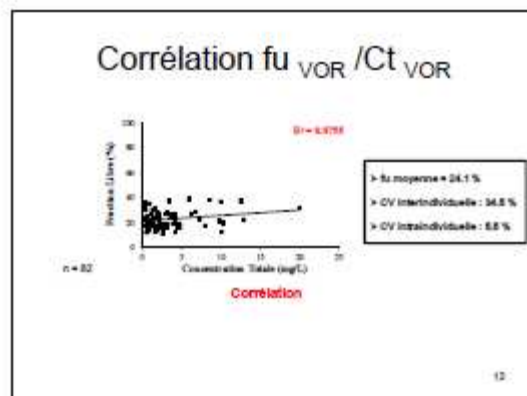
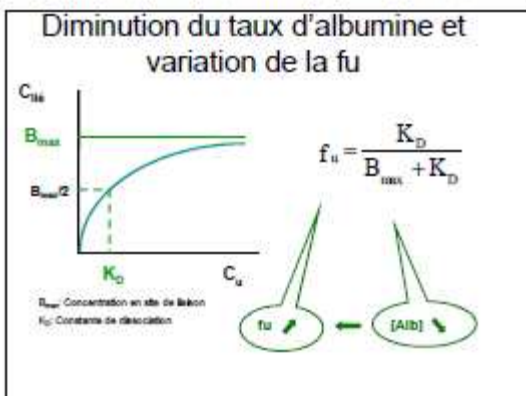
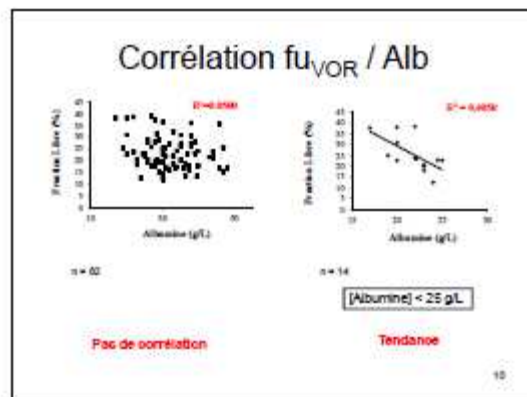
La concentration libre (C_u) et la fraction libre (f_u) sont-ils des marqueurs pharmacocinétiques qui permettraient un STP mieux adapté?

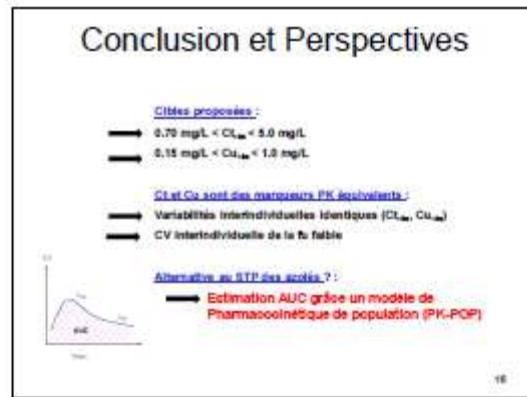
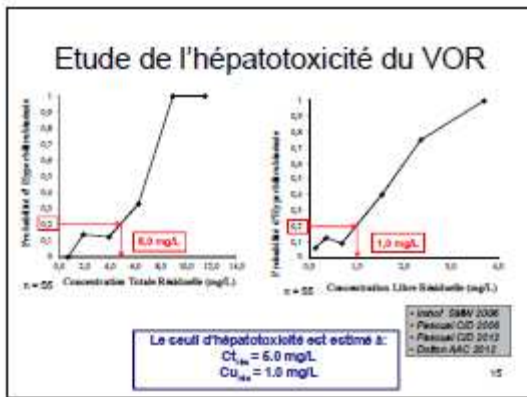
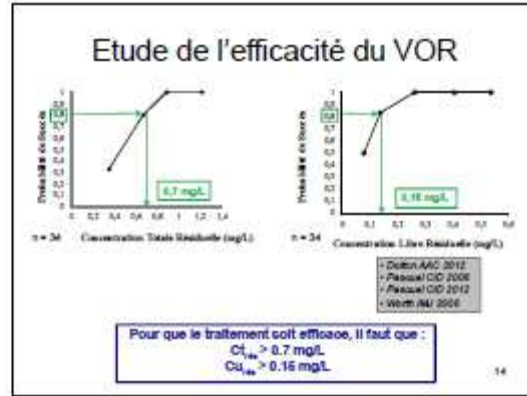
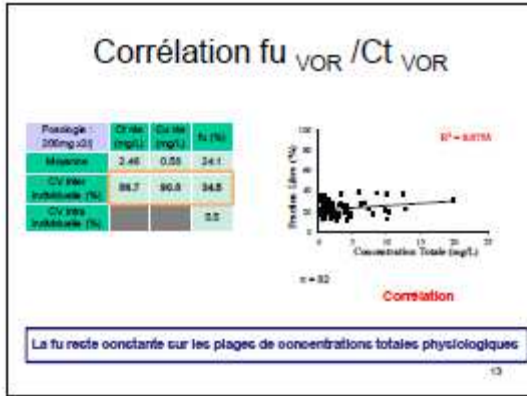
8



Patients et échantillons


- > 87 prélèvements sanguins sur héparinate de lithium
- > 64 patients hospitalisés (Hématologie ++, Néphrologie, Pneumologie, Maladies infectieuses et tropicales...)
- > Indications:
 - > **Propofolol**, **Groffol** ++ (moelle osseuse, pulmonaire, rénales), Chimiothérapies
 - > **Curaol**: infections fongiques à *Aspergillus* ++ (abcès ostéites), aspergillose pulmonaire, culture positive prélèvements per-opératoires)
- > STP du Voriconazole
- > Entre Août 2012 et Avril 2013
- > Age médian: 66 ans (19-78 ans)
- > Posologie: 200 mg x2j (100-400 mg x2j)







Merci de votre attention

Annexe 3: P2T 2014 (communication affichée)







Determination of plasma unbound fraction of voriconazole in patients treated with a prophylactic or a curative treatment

Aurélié FLORENT^a, Peggy GANDIA^b, Patrick SERAISSOL^a, Etienne CHATELUT^b, Georges HOUIN^a

^a Laboratoire de Pharmacocinétique et Toxicologie Clinique, Toulouse - FRANCE, ^b Laboratoire de Pharmacocinétique, Toulouse - FRANCE

BACKGROUND

Voriconazole (VOR) is a triazole antifungal used in the curative treatment of invasive fungal infections (IFI) and the prophylactic treatment of opportunistic fungal infections in immunocompromised patients. It is a drug for which therapeutic drug monitoring (TDM) is highly recommended [1]. In order to determine the best TDM marker, the pharmacological active form of the drug, represented by the unbound plasma concentration (C_u) and fraction (f_u), has been studied. As albumin is a likely factor inducing fluctuations in f_u , the correlation between albumin levels and f_u was carried out [2]. Similarly, correlations between trough plasma concentrations (total concentration (C_t) and C_u) and both efficacy and safety markers were determined.

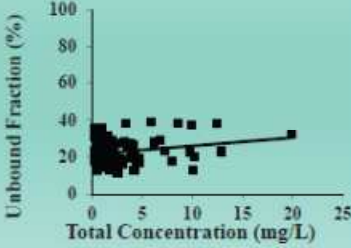
MATERIAL AND METHODS

Unbound concentration has been determined using a method based on ultrafiltration and ultra performance liquid chromatography [3]. Efficacy evaluation was based on monitoring fungal antigens and cultures, while safety was monitored by hyperbilirubinemia (total bilirubin > 21 $\mu\text{mol/L}$).

RESULTS (1)

In vitro, using blank human plasma, the mean f_u was determined at $32.3 \pm 5.5\%$ while in patients' plasmas treated with VOR, the mean f_u was $24.1 \pm 8.3\%$ with an inter- and intra-individual variability (CV) of 34.5% and 5.9%, respectively.

Figure 1: Correlation between C_u and C_t



RESULTS (2)

A high correlation was found ($\rho=0.956$, $p<0.01$), between C_t and C_u , though there was no correlation between serum albumin levels and f_u , except for some patients with severe hypoalbuminemia (< 25 g/L) ($\rho=-0.661$, $p=0.01$) (Figure 1, 2 a/b). Based on efficacy/safety correlations, a therapeutic window has been defined ranging from 4.5 to 13.0 mg/L and 1.5 and 3.7 mg/L for trough C_t and C_u , respectively, which agree with the most recently published data (Figure 3 a/b) [4-6].

CONCLUSION

Our study does not support any benefit in monitoring trough C_u over trough C_t . In order to obtain an effective response to treatment without hepatotoxicity, it seems reasonable to target the trough C_t and C_u between 4.5 and 6.5 mg/L, and 1.5 and 2.0 mg/L, respectively. Even if the trough concentration is clinically a more adapted marker for dose adjustment, the AUC (area under the plasma concentration *versus* time curve), which defines drug exposure, represents the pharmacokinetic gold standard parameter for TDM and could be a clue to improve triazole antifungal monitoring.

Figure 2: Correlation between f_u and alb in a) the whole population, b) in population with hypoalbuminemia

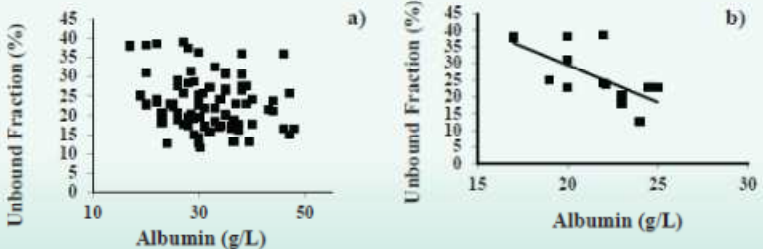
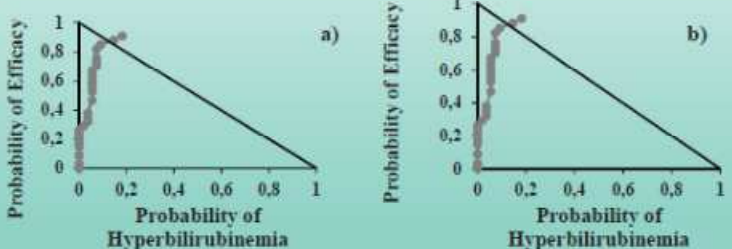


Figure 3: ROC curve based on efficacy vs toxicity a) C_u , b) C_t



References : [1] LeGuellec et al. *LettreDuPharmacologue* (2009)23:29-34, [2] Roberts et al. *Clin Pharmacokinet* (2013)52:1-8, [3] Arellano et al. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl.* (2012)907:94-100, [4] Goodwin et al. *J.Antimicrob.Chemother.* (2008)61:17-25, [5] Imhof et al. *SwissMed Wkly* (2006)136(45-46):739-742, [6] Pascual et al. *Clin.Infect.Dis.* (2012)55:381-390.

Résumé :

Le Voriconazole est un antifongique triazolé utilisé dans le traitement curatif des infections fongiques invasives (IFI) et le traitement prophylactique des infections fongiques opportunistes chez les patients immunodéprimés. C'est un médicament pour lequel le suivi thérapeutique pharmacologique (STP) est fortement recommandé. Afin de déterminer le meilleur marqueur pour le STP, la forme pharmacologiquement active du médicament, représenté par la concentration plasmatique libre (Cu) et la fraction libre (fu), a été étudiée en utilisant une méthode basée sur l'ultrafiltration associée à la chromatographie liquide à ultra haute performance. Etant donné que l'albumine est un facteur susceptible induire des fluctuations de fu, la corrélation entre taux d'albumine et fu a été étudiée. Les corrélations entre les concentrations plasmatiques résiduelles (concentration totale (Ct) et Cu) et des marqueurs à la fois d'efficacité et de tolérance ont été évalués. L'évaluation de l'efficacité a reposé sur le contrôle des antigènes et des cultures de champignons, alors que la tolérance a été suivie par le taux de bilirubine totale. *In vitro*, sur du plasma humain surchargé, le fu moyenne a été déterminée à $32,3 \pm 5,5$ % alors que dans les plasmas de patients traités par Voriconazole, la médiane (5^{ème} - 95^{ème} centiles) de la fraction libre du Voriconazole a été de 22,95% (14,95 - 38,42). Une forte corrélation a été trouvée ($\rho = 0,956$; $p < 0,001$) entre Ct et Cu. Il n'y a pas eu de corrélation entre les taux d'albumine sérique et la fu, sauf pour certains patients atteints d'hypoalbuminémie sévère (< 25 g/L). En se basant sur l'utilisant de courbe ROC, une fenêtre thérapeutique a été définie allant de 4,5 à 6,5 mg/L et de 1,5 à 2,0 mg/L pour les Ct et Cu résiduelles, respectivement. Pour la première fois, la pertinence des nouveaux paramètres pharmacocinétiques tels que Cu et fu ont été explorés et discutés. Nos résultats appuient les recommandations actuelles de STP du Voriconazole.

Summary :

Voriconazole is a triazole antifungal used in the curative treatment of invasive fungal infections (IFI) and the prophylactic treatment of opportunistic fungal infections in immunocompromised patients. It is a drug for which therapeutic drug monitoring (TDM) is highly recommended. In order to determine the best TDM marker, the pharmacological active form of the drug, represented by the unbound plasma concentration (Cu) and fraction (fu), has been studied using a method based on ultrafiltration and ultra performance liquid chromatography. As albumin is a likely factor inducing fluctuations in fu, the correlation between albumin levels and fu was carried out. Similarly, correlations between trough plasma concentrations (total concentration (Ct) and Cu) and both efficacy and safety markers were determined. Efficacy evaluation was based on monitoring fungal antigens and cultures, while safety was monitored by measuring bilirubin levels. *In vitro*, using blank human plasma, the mean fu was determined at $32.3 \pm 5.5\%$ while in patients' plasmas treated with Voriconazole, the median (5th-95th percentiles) of the unbound Voriconazole fraction was 22.95% (14.95 – 38.42). A high correlation was found ($\rho = 0.956$, $p < 0.001$) between Ct and Cu, though there was no correlation between serum albumin levels and fu, except for some patients with severe hypoalbuminemia (< 25 g/L). Based on efficacy/safety correlations, a therapeutic window has been defined ranging from 4.5 to 6.5 mg/L and 1.5 and 2.0 mg/L for trough Ct and Cu, respectively. For the first time, the relevance of new pharmacokinetic parameters such as Cu and fu have been explored and discussed, and our results support the current TDM protocol for Voriconazole.

Discipline :

Pharmacologie

Mots-clés :

Voriconazole, fraction libre, concentration plasmatique libre, suivi thérapeutique pharmacologique.

Laboratoire de Pharmacocinétique et Toxicologie Clinique
CHU Purpan Toulouse
330, avenue de Grande-Bretagne
31059 Toulouse Cedex