



UNIVERSITÉ DE LILLE
UFR3S-MÉDECINE
Année : 2025

THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT
DE DOCTEUR EN MÉDECINE

**Développement et validation d'une méthode de dosage de modulateurs
du canal CFTR (Caftors) par UPLC-MS/MS
Applications cliniques à une cohorte pédiatrique**

Présentée et soutenue publiquement le 29 septembre 2025 à 18h00
Au *Pôle Formation*
Par **Sofiane CHAIB**

JURY

Président :

Madame le Professeur *Claire-Marie DHAENENS*

Assesseurs :

Madame le Docteur *Nathalie WIZLA*

Madame le Docteur *Sixtine GILLIOT*

Directeur de thèse :

Monsieur le Docteur *Benjamin HENNART*

Travail du Service de Toxicologie et Génopathies – CHU de Lille

AVERTISSEMENT

L'université n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses : celles-ci sont propres à leurs auteurs.

ABREVIATIONS

ACBT	Active cycle of breathing technique
ACN	Acétonitrile
ALAT	Alanine aminotransférase
AMM	Autorisation de mise sur le marché
ASAT	Aspartate aminotransférase
ASL	Liquide de surface des voies aériennes
ATP	Adénosine triphosphate
AUC	Aire sous la courbe
CF	Cystic fibrosis
CFF	Cystic fibrosis foundation
CFSPID	Cystic fibrosis screen positive, inconclusive diagnosis
CFTR	Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator
CIQ	Contrôle interne de qualité
COFRAC	Comité français d'accréditation
CPK	Créatine phosphokinase
CRCM	Centres de ressources et de compétences de la mucoviscidose
CRMS	CFTR-related metabolic syndrome
CRP	Protéine C-réactive
CV	Coefficient de variation
DNN	Dépistage néonatal

EEQ	Évaluation externe de qualité
EI	Étalon interne
ELX	Elexacaftor
EMA	European Medicines Agency
ESI	Ionisation par Électronébuliseur (Electrospray ionization)
ETI	Elexacaftor / Tezacaftor / Ivacaftor
FDA	Food and drug administration
GGT	Gamma-glutamyl transférase
ICH	Conseil international d'harmonisation des exigences techniques relatives aux produits pharmaceutiques à usage humain
IPA	Isopropanol
LC-MS/MS	Chromatographie en phase liquide-spectrométrie de masse (Liquid Chromatography-Mass Spectrometry)
LLE	Extraction liquide-liquide
LLOQ	Limite inférieure de quantification (Lower limit of quantitation)
LOD	Limite de détection (Limit of detection)
LOQ	Limite de quantification (Limit of quantification)
LUM	Lumacaftor
MPO	Myéloperoxydase
MRM	Multiple reaction monitoring
SM (MS)	Spectrométrie de masse (Mass spectrometry)
NBD	Domaines de liaison aux nucléotides (Nucleotide binding domain)
NGS	Séquençage de nouvelle génération (Next-generation sequencing)

PAL	Phosphatase alcaline
PAP	Polypeptide d'activation pancréatique
PEP	Pression expiratoire positive
PERT	Thérapie de remplacement enzymatique pancréatique
PK	Pharmacocinétique
PKA	Protéine-kinase A
PopPK	Modèle pharmacocinétique populationnel
PPT	Extraction par précipitation protéique
QPIT	Quantitative pilocarpine iontophoresis test
RF	Tension radiofréquence
RT	Temps de rétention
SPE	Extraction phase-solide
STP	Suivi thérapeutique pharmacologique
TEZ	Tezacaftor
TGF	Facteur de croissance transformant (Transforming growth factors)
TGO	Glutamate-oxaloacetate-transaminase
TGP	Glutamate-pyruvate-transaminase
TIR	Trypsine immuno-réactive
TIR-DNA	Trypsine immuno-réactive-ADN
TMD	Domaines transmembranaires
TOF	Temps de vol
TQ-S	Tandem quad

TS	Test de la sueur
UI/L	Unités internationales par litre
ULOQ	Limite supérieure de quantification (Upper limit of quantitation)
UPLC- MS/MS	Chromatographie en phase liquide à ultra haute performance avec spectrométrie de masse en tandem
VEMS	Volume expiratoire maximal par seconde

TABLE DES MATIERES

<i>Avertissement</i>	2
<i>Abréviations</i>	3
<i>Table des matières</i>	8
<i>Table des figures</i>	11
<i>Table des Tableaux</i>	12
I. Introduction	13
I.1. Repères historiques	13
I.1.1. La mucoviscidose dans l’histoire	13
I.1.2. Des premières descriptions modernes à la découverte du gène <i>CFTR</i>	13
I.2. Le canal CFTR	15
I.2.1. Structure du canal CFTR	15
I.2.2. Transport des ions Cl ⁻ et HCO ₃ ⁻ à travers CFTR.....	18
I.2.3. Couplages avec d’autres canaux/transporteurs (ENaC et SLC26A9)	19
I.2.4. Rôle de CFTR dans l’hydratation du mucus et la clairance mucociliaire	19
I.2.5. Expression tissulaire	20
I.2.6. Physiopathologie, mutations du gène <i>CFTR</i>	21
I.3. Épidémiologie	25
I.3.1. Prévalence / incidence (monde, Europe, France ; données Registre 2023).....	25
I.3.2. Espérance de vie et qualité de vie	25
I.4. Dépistage néonatal	26
I.4.1. Le dépistage en France et en Europe.....	26
I.4.2. Taux de détection et incidence en France et en Europe.....	27
I.5. Diagnostic	29
I.5.1. Test de la sueur.....	29
I.5.2. Limites d’interprétation chez les patients traités par modulateurs CFTR	29
I.5.3. Séquençage <i>CFTR</i>	30
I.6. Prise en charge de la pathologie	31
I.6.1. Évolutions thérapeutiques	31
I.6.2. Traitements symptomatiques.....	32
I.6.3. Genèse et essor des thérapies ciblées (Modulateurs du CFTR)	33
I.6.4. Impact clinique transformateur : efficacité, tolérance et accès	37
I.6.5. Évolution des indications pédiatriques des modulateurs CFTR.....	38
II. Enjeux pharmacocinétiques et suivi thérapeutique pharmacologique	39
II.1. Critères généraux d’éligibilité au STP	39
II.2. Méthodes analytiques disponibles	40
III. Problématiques et objectifs de la thèse	41
III.1. Problématique centrale	41
III.2. Problématique secondaire	41
III.3. Objectifs spécifiques	42
IV. Cadre théorique	43
IV.1. Fondamentaux de la pharmacocinétique appliquée aux modulateurs CFTR	43
IV.1.1. Concentration plasmatique maximale (C _{max}).....	43
IV.1.2. Concentration minimale (C _{min}).....	43
IV.1.3. Aire sous la courbe (Area Under Curve, AUC)	43
IV.1.4. Temps de demi-vie (t _{1/2}), clairance apparente (Cl/F).....	44
IV.1.5. Absorption : biodisponibilité et rôle déterminant du repas gras	44
IV.1.6. Distribution : volume de distribution et fixation protéique.....	44

IV.1.7. Métabolisme : dépendance CYP3A et auto-induction	44
IV.1.8. Excrétion : élimination biliaire prédominante	45
IV.2. Technologies analytiques pour le dosage des modulateurs CFTR : UPLC-MS/MS.....	46
IV.2.1. Principes de la chromatographie liquide.....	46
IV.2.2. Principes de la spectrométrie de masse.....	47
IV.2.3. Procédure de développement de méthode	49
IV.3. Procédure de validation de la méthode	52
IV.3.1. Cadre réglementaire.....	52
IV.3.2. Principes généraux de la validation de méthode.....	52
V. Matériels et méthode.....	58
V.1. Développement de la méthode de dosage UPLC-MS/MS.....	58
V.1.1. Matériel et réactifs	58
V.2. Validation bio-analytique	62
V.3. Application clinique de la méthode	63
V.3.1. Limites des approches PK traditionnelles	63
V.3.2. Design de l'étude	64
V.3.3. Calcul des Aires sous la courbe (AUC).....	66
V.3.4. Analyse statistique des données de notre cohorte	66
VI. Résultats	68
VI.1. Développement de la méthode de dosage UPLC-MS/MS.....	68
VI.1.1. Gradient de phases retenu	68
VI.1.2. Temps de rétention	68
VI.1.3. Transitions MS/MS	69
VI.2. Validation de la méthode de dosage UPLC-MS/MS	70
VI.2.1. Limites de Détection et de Linéarité (LOD, LLOQ & ULOQ).....	70
VI.2.2. Gamme de Calibration et Linéarité	70
VI.2.3. Répétabilité	72
VI.2.4. Fidélité intermédiaire	72
VI.2.5. Spécificité / sélectivité	72
VI.2.6. Contamination.....	73
VI.2.7. Stabilité	73
VI.3. Analyse de la cohorte pédiatrique	75
VI.3.1. Données démographiques	75
VI.3.2. Données analytiques	76
VI.3.3. Analyse statistique.....	80
VII. Discussion.....	87
VII.1. Développement de la méthode.....	87
VII.1.1. Préparation d'échantillon et volumes requis.....	87
VII.1.2. Chromatographie et débit analytique	87
VII.1.3. Détection et transitions MRM.....	88
VII.1.4. Étalon interne et contrôle de l'effet matrice.....	88
VII.2. Validation/performances de la méthode.....	88
VII.2.1. Sensibilité (LLOQ) et domaine de mesure (ULOQ).....	89
VII.2.2. Linéarité et calibration.....	89
VII.2.3. Répétabilité et fidélité intermédiaire.....	89
VII.2.4. Sélectivité et Contamination	90
VII.2.5. Stabilité, sélectivité et portage en routine	90
VII.3. Analyse de la cohorte pédiatrique.....	91
VII.3.1. Design de l'étude et validité externe de la cohorte pédiatrique	91
VII.3.2. Niveaux d'exposition (AUC) observés dans la cohorte pédiatrique	91
VII.3.3. Facteurs de variabilité interindividuelle de l'AUC	92
VII.3.4. Mise en perspective avec la littérature récente	93
VII.3.5. Limites méthodologiques spécifiques à la cohorte pédiatrique	97
VII.3.6. Perspectives de recherche et mise en place du STP en pratique pédiatrique	99

<i>VIII. Conclusion</i>	102
VIII.1. Apports majeurs de la thèse	102
VIII.2. Forces et limites	102
VIII.3. Implications cliniques	102
VIII.4. Perspectives	102
<i>IX. Bibliographie</i>	104
<i>X. Annexes</i>	111

TABLE DES FIGURES

Figure 1 : Représentation 2D de la structure de CFTR d'après Csanády <i>et al.</i> (10).....	16
Figure 2 : Représentation 3D de la structure de CFTR d'après Csanády <i>et al.</i> (10).....	17
Figure 3 : Représentation 2D de la mécanique de CFTR d'après Csanády <i>et al.</i> (10).	17
Figure 4 : Algorithme actuel TIR-DNA en France (41).	28
Figure 5 : Principe de la chromatographie liquide.	47
Figure 6 : Principe de la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (triple quadripôle) selon Thomas <i>et al.</i> (91).	49
Figure 7 : Chromatogramme par molécule.	69
Figure 8 : Courbes d'étalonnages, R ² obtenues par molécule.	71
Figure 9 : Digramme de flux des patients.	76
Figure 10 : Distribution des concentrations plasmatiques de ELX, TEZ et IVA	78
Figure 11 : Distribution des AUC de ELX, TEZ et IVA.	79
Figure 12 : Analyse de corrélation entre l'AUC de Elexacaftor et les variables sélectionnées.	81
Figure 13 : Analyse de corrélation entre l'AUC de Tezacaftor et les variables sélectionnées.	82
Figure 14 : Analyse de corrélation entre l'AUC de Ivacaftor et les variables sélectionnées.	83

TABLE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Classification élargie des mutations CFTR (25).	21
Tableau 2 : Classifications des modulateurs du CFTR, leurs sites d'action et mécanismes moléculaires (56).	35
Tableau 3 : Représentations moléculaires des principaux modulateurs CFTR disponibles sur le marché (56).	35
Tableau 4 : Indications pédiatriques par âges des modulateurs CFTR.	38
Tableau 5 : Appareillage chromatographique et SM utilisés pour la méthode.	58
Tableau 6 : Colonne, les phases mobiles et les solvants utilisés pour la méthode.	58
Tableau 7 : Paramètres d'ionisation utilisés pour la méthode.	58
Tableau 8 : Standards analytiques utilisés pour la méthode.	60
Tableau 9 : Concentrations des solutions de calibration (C1 à C5).	60
Tableau 10 : Concentrations des CIQ utilisés.	60
Tableau 11 : Étalon interne (EI) utilisé pour la méthode.	61
Tableau 12 : Résumé du circuit logistique des prélèvements traités au laboratoire.	65
Tableau 13 : Gradient de phases.	68
Tableau 14 : Temps de rétention par molécule.	68
Tableau 15 : Transitions MRM retenues pour la méthode.	69
Tableau 16 : LOD, LLOQ et ULOQ retenues.	70
Tableau 17 : Résultats des tests de répétabilité pour Elexacaftor (ELX), Tezacaftor (TEZ) et Ivacaftor (IVA).	72
Tableau 18 : Résultats des tests de fidélité intérimaire pour Elexacaftor (ELX), Tezacaftor (TEZ) et Ivacaftor (IVA).	72
Tableau 19 : Démographie de la population incluse.	75
Tableau 20 : Mutations retrouvées dans la population analysée.	75
Tableau 21 : Distribution des paramètres PK de Elexacaftor, Tezacaftor et Ivacaftor.	76
Tableau 22 : Distribution des variables analysées.	77
Tableau 23 : Analyse de la corrélation par régression linéaire univariée et multivariée entre les AUC de Elexacaftor, Tezacaftor, Ivacaftor et les variables sélectionnées.	85

I. INTRODUCTION

I.1. Repères historiques

I.1.1. La mucoviscidose dans l'histoire

Les maladies héréditaires accompagnent l'humanité depuis des siècles. Ainsi, leur interprétation a changé au rythme des progrès scientifiques. Pour la mucoviscidose, un ancien proverbe d'Europe du Nord avertissait déjà : « Malheur à l'enfant dont le front a un goût salé quand on l'embrasse ; il est maudit et mourra bientôt ». Les nourrices goûtaient ainsi la peau des nouveau-nés à la recherche d'un signe de maladie ou de mort précoce ; la saveur salée — perçue comme une malédiction — annonçait souvent une issue fatale, ces enfants décédant avant la petite enfance (1).

En 1595, l'anatomiste néerlandais Pieter Pauw (1564–1617) décrit, à l'autopsie d'une fillette dite « ensorcelée », un pancréas « blanc, dur et tuméfié ». Ces lésions sont aujourd'hui reconnues comme caractéristiques de la fibrose kystique du pancréas (2).

En 1905, le pathologiste autrichien Karl Landsteiner (1868–1943) rapporta la première description d'un iléus méconial néonatal — une occlusion intestinale due à un méconium anormalement visqueux — et l'associa déjà à des atteintes pancréatiques (3). Cette présentation est aujourd'hui hautement évocatrice de mucoviscidose : 80–90 % des nouveau-nés présentant un iléus méconial reçoivent *in fine* ce diagnostic (3,4). Ainsi, l'identification précoce du triptyque « obstruction intestinale + atteinte pancréatique + mortalité néonatale » a constitué l'un des premiers indices d'un trouble unique, plusieurs décennies avant la caractérisation nosologique de la maladie telle qu'elle est connue aujourd'hui.

I.1.2. Des premières descriptions modernes à la découverte du gène *CFTR*

Au début du XX^e siècle, les enfants présentant un retard pondéral imputé à une malabsorption intestinale se voyaient attribuer divers diagnostics : rachitisme, maladie cœliaque, pancréatite chronique. En 1938, Dorothy Hansine Andersen (1901-1963), pathologiste américaine, analyse en détail les rapports de 49 autopsies d'enfants jusqu'alors catalogués « maladie cœliaque ». Elle observe la présence récurrente, (i) de kystes – dilatations mucoïdes des acini et canaux pancréatiques – et (ii) une fibrose cicatricielle envahissante. Pour traduire cette dualité morphologique, le Dr. Andersen forge l'expression anglaise “*cystic fibrosis of the pancreas*” – littéralement « fibrose kystique du pancréas » – et publie son analyse en 1938, distinguant formellement l'entité nouvellement décrite de la maladie cœliaque (5).

En 1944, le pathologiste américain Sydney Farber (1903–1973) met en évidence l'excès de viscosité des sécrétions muqueuses de plusieurs glandes et propose l'appellation « *mucoviscidosis* » pour souligner la portée systémique de l'affection (6). En parallèle, la dénomination « fibrose kystique du pancréas » — *cystic fibrosis* (CF) en anglais — s'impose comme référence internationale, tandis que l'usage français retient « mucoviscidose ».

En 1953, le pédiatre américain Paul di Sant'Agnesse (1914-2005) met en évidence une concentration de chlorure (Cl^-) significativement élevée dans la sueur des patients atteints de « fibrose kystique du pancréas ». Il développe le test à la pilocarpine-iontophorèse afin de standardiser la mesure chez les patients : la technique repose sur une stimulation électrique douce des glandes sudorales, puis un dosage du chlorure dans la sueur recueillie (7) .

Au début des années 1980, le physiologiste américain Paul Quinton démontre un défaut majeur de perméabilité au Cl^- dans l'épithélium sudoral, suggérant l'existence d'un canal ionique dysfonctionnel (8).

En 1989, John R. Riordan et son équipe isolent le gène *CFTR* (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator) et découvrent la mutation majeure ΔF508 : la délétion de trois nucléotides (CTT) qui supprime la phénylalanine en position 508, acide aminé du domaine NBD1 de la protéine CFTR (9).

I.2. Le canal CFTR

Le canal CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator) est un canal ionique épithélial, appartenant à la superfamille des transporteurs ABC (ATP-Binding Cassette) localisée à la membrane apicale des cellules épithéliales. Il est constitué de 1480 acides aminés. Le gène *CFTR*, localisé sur le bras long du chromosome 7 (7q31.2) s'étend sur 189 kb et comporte 27 exons (9).

Le canal CFTR assure principalement le transport des ions chlorure (Cl^-) et bicarbonate (HCO_3^-) à travers la membrane cytoplasmique, jouant un rôle central dans l'hydratation des sécrétions muqueuses et le maintien de l'équilibre ionique des voies respiratoires, du pancréas ainsi que d'autres organes. Sur le plan mécanistique, il fonctionne comme un canal ionique à ouverture contrôlée par la phosphorylation et la liaison d'ATP (10).

Ci-dessous, nous décrivons (i) la structure du canal CFTR, les domaines fonctionnels et les interactions avec des protéines partenaires ; puis (ii) la physiologie du CFTR, incluant le mécanisme de transport des ions $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$, son rôle dans l'hydratation du mucus, les couplages fonctionnels avec d'autres canaux (ENaC, SLC26A9) et son impact sur le pH du liquide de surface des voies aériennes.

I.2.1. Structure du canal CFTR

Le canal CFTR est organisé en cinq domaines fonctionnels majeurs (11) : deux grands domaines transmembranaires (TMD1 et TMD2), deux domaines de liaison aux nucléotides (NBD1 et NBD2), et un domaine régulateur (le domaine R) (cf. **Figure 1**). Les deux TMD, chacun constitué de six hélices α transmembranaires, s'assemblent pour former le pore anionique qui traverse la membrane lipidique. Les segments transmembranaires de CFTR adoptent une topologie de type ABC exporter : chaque TMD contribue à moitié avec l'autre pour former le canal (cf. **Figure 2**) (10). Les boucles intracellulaires reliant ces hélices (ICLs) interagissent avec les NBDs et jouent un rôle dans la transmission des changements conformationnels lors de l'ouverture du canal. Les domaines NBD1 et NBD2 sont situés côté cytosolique et contiennent les motifs de liaison à l'ATP. Le domaine R, quant à lui, est une longue séquence (~200 acides aminés) riche en résidus sérine et thréonine cibles de la protéine-kinase A (PKA). En absence de phosphorylation, le domaine R n'adopte pas de structure stable et exerce une action inhibitrice sur le canal. Il constitue en quelque sorte une clé de régulation unique : sa phosphorylation par la PKA conditionne l'ouverture du pore (10).

L'activation survient en deux temps : la phosphorylation séquentielle du domaine R libère les domaines transmembranaires (TMDs), puis la liaison de deux molécules d'ATP aux interfaces NBDs

resserre ces domaines et ouvre le pore, jusqu'à l'hydrolyse de l'ATP et la fermeture du canal (cf. **Figure 3**) (10).

En résumé, l'architecture linéaire du CFTR s'organise comme suit : TMD1–NBD1–R–TMD2–NBD2, avec les TMD insérés dans la membrane et les NBD dans le cytoplasme. Le C-terminus de CFTR comporte en outre une courte séquence peptidique (TRL) formant un motif de liaison qui permet l'ancrage du canal à des protéines à proximité de la membrane apicale (12). Cette disposition modulaire du CFTR pose les bases structurelles de son mécanisme de fonctionnement : les TMD forment le chemin de conduction ionique, tandis que les NBD et le domaine R agissent comme des commutateurs contrôlant l'ouverture du pore en fonction de signaux intracellulaires (ATP, PKA).

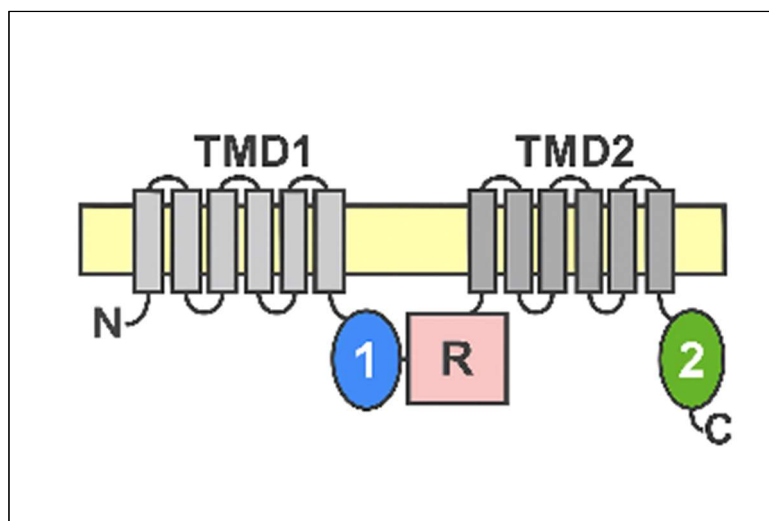


Figure 1: Représentation 2D de la structure de CFTR d'après Csanády *et al.* (10).
[TMD 1 et 2 : domaines transmembranaires (TMD) ; Composant 1 et 2 : domaines de liaison aux nucléotides (NBD) ; R : Domaine régulateur]

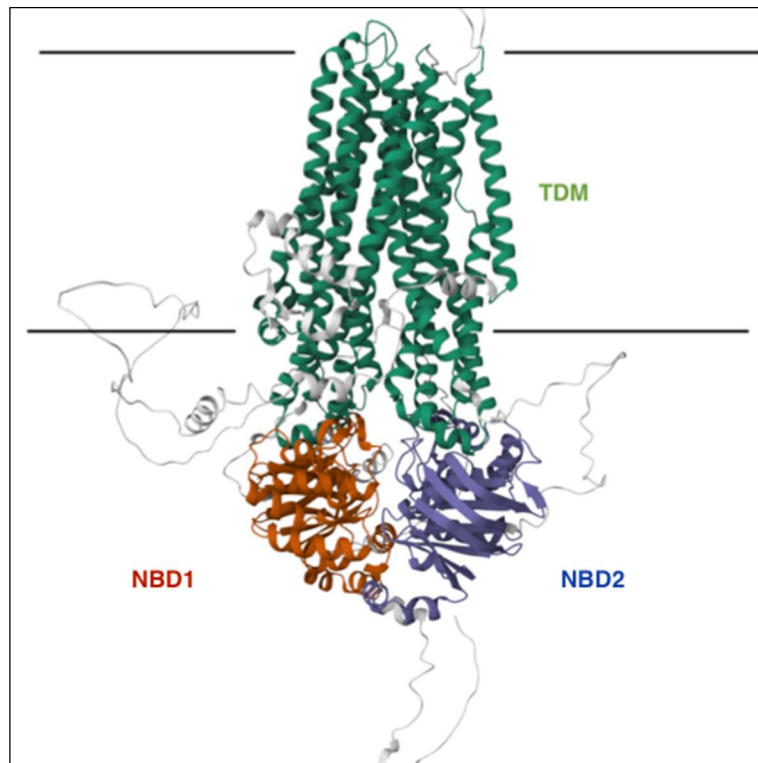


Figure 2 : Représentation 3D de la structure de CFTR d'après Csanády *et al.* (10)
 [TMD : domaines transmembranaires ; NBD 1 et 2 : domaines de liaison aux nucléotides]. <https://alphafold.ebi.ac.uk>

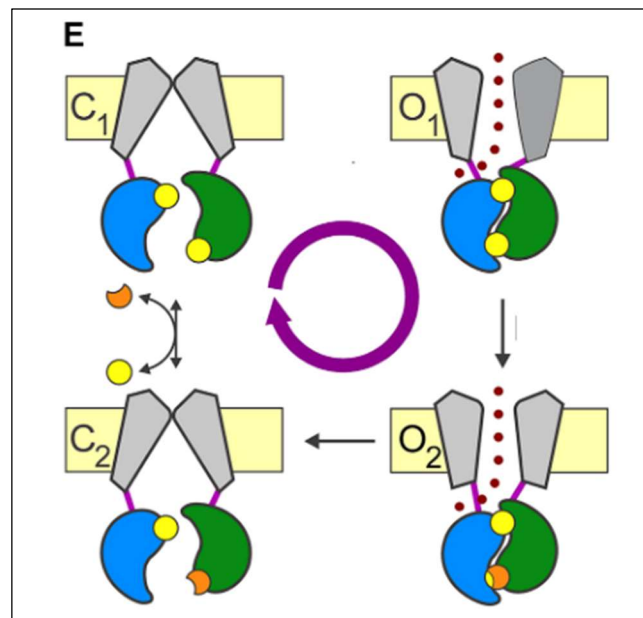


Figure 3 : Représentation 2D de la mécanique de CFTR d'après Csanády *et al.* (10).
 [Composants gris : domaines transmembranaires (TMD) ; Composants bleus et verts : domaines de liaison aux nucléotides (NBD) ; Cercles jaunes : ATP ; Cercles orange : ADP ; Cercles marrons : ions Cl⁻ ; C1 et C2 : canal fermé ; O1 et O2 : canal ouvert]

I.2.2. Transport des ions Cl^- et HCO_3^- à travers CFTR

Le CFTR fonctionne comme un canal anionique à conduction réglable, permettant le passage passif (selon le gradient électrochimique) des ions chlorure Cl^- et, dans une moindre mesure, des ions bicarbonate HCO_3^- à travers la membrane apicale des cellules épithéliales. La sélectivité ionique de CFTR favorise les anions monovalents : la perméabilité suit typiquement l'ordre $\text{Cl}^- > \text{HCO}_3^- > \text{I}^- > \text{F}^-$, bien que les valeurs précises varient légèrement selon les conditions expérimentales (13). Concernant le mécanisme de conduction, CFTR agit comme un pore anionique relativement peu spécifique une fois ouvert. La cavité interne du pore, tapissée de résidus basiques (lysines, arginines) et polaires, attire les anions et les guide vers la sortie. Le passage du Cl^- est rapide car l'ion interagit de manière transitoire avec certains sites de fixation le long du pore sans y rester piégé. Le HCO_3^- , plus gros et possédant une géométrie différente, diffuse un peu plus lentement, expliquant sa conductance moindre. Des études de mutagenèse (ex : mutation des lysines 95 et 335 dans le pore) ont montré qu'on peut inverser l'ordre de sélectivité du CFTR (priviliégiant I^- au lieu de Cl^-), confirmant que les propriétés de conduction dépendent fortement des acides aminés situés dans le chemin poreux (13).

a. Ions chlorure (Cl^-)

Lorsque CFTR s'ouvre, les ions Cl^- quittent la cellule vers la lumière extracellulaire, entraînés par le potentiel de membrane et les gradients locaux. Ce flux de Cl^- vers la lumière crée un gradient électrique qui tend à retenir des cations (Na^+) dans la lumière et à attirer l'eau par osmose, contribuant ainsi à l'hydratation du mucus (8).

b. Ions bicarbonate (HCO_3^-)

CFTR possède également une perméabilité aux bicarbonates. Bien que moins conducteur pour HCO_3^- que pour Cl^- (le rapport de perméabilité $P_{\text{HCO}_3^-}/P_{\text{Cl}^-}$ est estimé entre 0,2 et 0,6 selon les études) (14), CFTR participe activement à l'excrétion d' HCO_3^- dans des organes tels que le pancréas, les glandes salivaires et les voies respiratoires. Deux mécanismes non exclusifs expliquent le rôle de CFTR dans le transport de HCO_3^- : (i) CFTR conduit directement l'ion HCO_3^- à travers son pore ; (ii) CFTR facilite le transport de HCO_3^- en fournissant du Cl^- aux échangeurs $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ apicaux (SLC26A), qui échangent ensuite ce Cl^- luminal contre des HCO_3^- intracellulaires. Dans le pancréas par exemple, CFTR et le co-transporteur SLC26A6 coopèrent pour sécréter un fluide riche en bicarbonate (15). De même dans les bronches, CFTR et SLC26A4 collaborent pour moduler la composition en bicarbonate du liquide de surface des voies aériennes (Airway Surface Liquid, ASL) (16). Le passage d' HCO_3^- via CFTR a des conséquences physiologiques importantes : il permet de tamponner le pH du mucus

et d'influencer les propriétés physico-chimiques des mucines (un pH basique favorise l'expansion des mucines) (17).

En résumé, CFTR assure un courant chlorure indispensable et contribue à un courant bicarbonate significatif, soit directement, soit en conjonction avec des échangeurs. La synergie entre CFTR et les co-transporteurs adjacents lui permet de remplir un rôle complexe de régulation des sécrétions électrolytiques et du pH luminal.

I.2.3. Couplages avec d'autres canaux/transporteurs (ENaC et SLC26A9)

a. ENaC

CFTR interagit avec d'autres canaux ioniques de l'épithélium. Le couplage CFTR–ENaC (Epithelial Na⁺ Channel) dans les voies respiratoires et d'autres épithéliums (intestin, glandes sudoripares) est un exemple classique de régulation croisée. ENaC est un canal sodique responsable de la réabsorption de Na⁺. Il a été montré que l'activation du CFTR inhibe l'activité d'ENaC, et inversement, lorsque CFTR est absent ou non fonctionnel, ENaC tend à être hyperactif (18).

b. SLC26A9

SLC26A9, exprimé dans les voies aériennes, est un canal chlore constitutif dont l'activité de base est relativement modeste, mais qui a la particularité d'être co-régulé avec CFTR. Des études ont montré que SLC26A9 et CFTR peuvent s'associer physiquement (19). Fonctionnellement, CFTR actif peut augmenter le courant Cl⁻ à travers SLC26A9, et réciproquement, la présence de SLC26A9 peut faciliter la fonction CFTR, bien que les mécanismes précis restent à étudier.

En somme, CFTR se comporte non seulement comme un canal Cl⁻ isolé, mais aussi comme un régulateur orchestrant un ensemble de transporteurs. Il inhibe ENaC pour prévenir l'absorption excessive de Na⁺ (aspect crucial dans la physiopathologie de la mucoviscidose), il stimule des échangeurs Cl⁻/HCO₃⁻ (assurant une sécrétion conjointe de bicarbonate), et peut potentialiser d'autres conductances Cl⁻ (SLC26A9) pour renforcer l'efflux d'anions.

I.2.4. Rôle de CFTR dans l'hydratation du mucus et la clairance mucociliaire

Dans les épithéliums des voies respiratoires, CFTR joue un rôle crucial dans le maintien de l'hydratation du mucus et la fonction de clairance mucociliaire. Le mucus bronchique doit en effet conserver une teneur en eau adéquate pour piéger efficacement les particules et les pathogènes, puis être évacué par le battement coordonné des cils. CFTR contribue à ce processus via deux mécanismes principaux : (i) la sécrétion de Cl⁻ et (ii) la régulation négative de l'absorption de Na⁺. Le maintien

d'un pH approprié du liquide de surface des voies aériennes (ASL), via la sécrétion de bicarbonate, est essentiel pour l'activité antimicrobienne du mucus et le fonctionnement des cils. En conditions normales, l'ASL des bronches est légèrement acide par rapport au plasma (20). Ce pH résulte d'un équilibre entre des forces acidifiantes (sécrétion active de protons par les pompes $H^+/K^+ATPase$ et $H^+ATPase$ vacuolaire apicales, réabsorption de HCO_3^-) et des forces alcalinisantes (sécrétion d' HCO_3^- et tamponnage par le liquide périciliaire). CFTR assure la principale voie de sortie des HCO_3^- vers le mucus, soit directement, soit en tandem avec des échangeurs apicaux (type SLC26A) comme vu précédemment (20).

Les connaissances mécanistiques fines accumulées permettent d'expliquer comment les mutations du CFTR conduisent aux multiples facettes de la mucoviscidose, et ouvrent la voie à des approches thérapeutiques ciblant la protéine elle-même ou ses partenaires pour compenser ses défaillances.

I.2.5. Expression tissulaire

Le canal CFTR siège à la membrane apicale de nombreux épithéliums, mais la direction nette des anions dépend du gradient électrochimique local :

a. Voies aériennes, pancréas, épидидyme (mode sécrétoire)

Dans ces tissus, CFTR activé, entraîne un efflux d'anions Cl^- (et HCO_3^-) vers la lumière, à l'origine de la sécrétion de liquide et de l'hydratation du mucus (21). Ce mouvement attire Na^+ et eau, hydratant l'ASL et liquéfiant les sécrétions (22). Dans les épithéliums à fonction sécrétoire (voies aériennes, pancréas, épидидyme, etc.), ce flux sortant est permis par l'accumulation de Cl^- intracellulaire via le co-transporteur baso-latéral $Na^+-K^+-2Cl^-$ (NKCC1) (22).

b. Conduit sudoripare (mode réabsorptif)

À l'inverse, dans la partie excrétrice de la glande sudorale (au niveau du conduit sudoripare), le transport d'anions via CFTR s'effectue en sens opposé : les ions Cl^- (et HCO_3^-) sont réabsorbés depuis la sueur luminale vers la cellule épithéliale (23). Couplée à la réabsorption de Na^+ par le canal épithélial sodique (ENaC), cette entrée de Cl^- via CFTR permet de récupérer le sel de la sueur primaire, conduisant à une sueur finale hypotonique appauvrie en NaCl. En l'absence de CFTR fonctionnel (mucoviscidose), le chlorure n'est plus réabsorbé dans le canal sudoripare : la sueur reste anormalement riche en Na^+ et Cl^- , ce qui constitue le marqueur diagnostique classique de la mucoviscidose (le test de la sueur).

En résumé, CFTR constitue un canal anionique bidirectionnel dont la direction nette dépend du gradient électrochimique local : sécrétion de Cl^-/HCO_3^- dans les voies aériennes, le pancréas et

l'épididyme ; réabsorption de Cl^- dans la glande sudorale. Ce double rôle gouverne l'hydratation, le pH, et *in fine*, la fonction barrière des muqueuses.

I.2.6. Physiopathologie, mutations du gène *CFTR*

La découverte du gène *CFTR* en 1989 a installé le diagnostic de la mucoviscidose sur des bases moléculaires solides (9). Depuis, un peu plus de 2 100 variants distincts sont répertoriés dans les grandes bases publiques (*CFTR1*, *LOVD*, *ClinVar*). Toutefois, la plupart ont un impact clinique qui reste incertain : l'analyse 2024 du consortium *CFTR2* ne reconnaît que 719 variants comme "*CF-causing*" (24). Les mutations du gène *CFTR* se répartissent en six classes fonctionnelles (cf. **Tableau 1**), chacune perturbant un maillon précis du cycle de la protéine (25) :

- Absence de synthèse (classes I et VII) ;
- Repliement ou trafic défectueux (classe II) ;
- Défaut d'ouverture du canal (classe III) ;
- Conductance réduite (classe IV) ;
- Production quantitative insuffisante (classe V) ou instabilité membranaire (classe VI).

Tableau 1: Classification élargie des mutations *CFTR* (25).

Classe	Anomalie moléculaire clé
I	Traduction interrompue : aucune protéine
II	Repliement défectueux : retenue dans le RE, dégradation
III	Gating bloqué : canal présent mais ne s'ouvre pas
IV	Conductance réduite
V	Quantité diminuée : défaut d'épissage ou promoteur
VI	Instabilité membranaire

Quelles que soient leurs classes, toutes ces mutations aboutissent à un défaut du transport d'anions à la surface des épithéliums. La perte de fonction de *CFTR* induit une diminution synergique du flux de Cl^- et, surtout, de HCO_3^- à la surface épithéliale. Il en résulte un déséquilibre ionique majeur responsable de la déshydratation et de l'acidification du liquide de surface couvrant les muqueuses.

Chez les patients, dépourvus de fonction *CFTR*, on observe une tendance à l'acidification de l'ASL. Des études sur porcelet nouveau-né ont montré que le pH du mucus trachéal est d'environ 0,5 unité plus acide que chez le sujet sain, et que cette acidification réduit drastiquement le pouvoir bactéricide du mucus (26). En effet, Pezzulo *et al.* ont démontré qu'à la naissance, les poumons de porcelets atteints de la maladie éliminent moins efficacement les bactéries déposées sur la surface épithéliale,

et que la cause primaire est un pH ASL trop bas (environ 6.5 vs 7.0 chez les sujets sains). En tamponnant le pH à des valeurs normales, on restaure la capacité bactéricide, tandis qu'en acidifiant expérimentalement l'ASL des témoins on abolit leur clairance bactérienne (26). Ce pH anormalement acide inactive certaines défenses antimicrobiennes et s'accompagne d'une exclusion de l'eau de la couche liquidienne de surface (par hyper-absorption de sodium et eau par l'épithélium). La couche de mucus qui tapisse l'épithélium devient alors hyper-visqueuse, épaisse et adhésive. Les mucines sécrétées (notamment MUC5B et MUC5AC dans les voies aériennes) ne se diluent plus correctement : elles forment un gel déshydraté qui adhère à la surface des cellules et obstrue particulièrement les voies exocrines distales (petites bronchioles, canaux pancréatiques, canalicules biliaires, etc.). De plus, l'absence de CFTR laisse intacte la sécrétion de protons via les pompes H⁺, voire l'augmente indirectement (par stimulation inflammatoire chronique).

Notons que la question du pH ASL chez les patients humains a été débattue : des mesures directes chez des enfants atteints n'ont pas toujours trouvé un pH significativement plus bas, en particulier en phase pré-infectieuse (27). Cependant, d'autres études plus récentes ou chez l'adulte confirment souvent une acidification modérée mais existante. Il est possible qu'une compensation partielle (via d'autres voies) ou des différences méthodologiques brouillent les mesures. Néanmoins, le consensus physiopathologique veut que la fonction sécrétion de bicarbonate du CFTR soit cruciale pour le micro-environnement antimicrobien des voies aériennes.

a. Défaut de clairance mucociliaire et infection bactérienne

Dans l'arbre bronchique, la déshydratation de la couche liquidienne périciliaire entrave le battement des cils et abolit la clairance mucociliaire. Le mucus épais s'accumule ainsi dans les voies aériennes. Très précocement (dès la première enfance), une flore bactérienne opportuniste s'installe dans ces mucus stagnants. Classiquement, *Staphylococcus aureus* est l'un des premiers pathogènes isolés chez le jeune enfant atteint, puis il est progressivement supplanté par *Pseudomonas aeruginosa* – vers la fin de l'enfance ou l'adolescence (26). Sous la pression de sélection du milieu bronchique altéré (inflammation, antibiotiques, hypoxie locale...), *Pseudomonas aeruginosa* acquiert un phénotype mucoïde (surproduction d'alginate) qui lui confère une protection physique et marque le passage à l'infection chronique. Ce pathogène forme ainsi des biofilms résistants aux défenses immunitaires et aux antibiotiques, persistant dans les sécrétions bronchiques. Le micro-environnement des bronches encombrées devient de plus en plus hypoxique et riche en nitrates, conditions dans lesquelles *Pseudomonas aeruginosa* prospère. Ces évolutions expliquent la difficulté à éradiquer *Pseudomonas aeruginosa* une fois l'infection chronique installée (28).

b. Dysfonction immunitaire innée

Au-delà des épithéliums, le défaut de CFTR affecte également les cellules immunitaires, en particulier les macrophages alvéolaires chargés de phagocyter les bactéries inhalées. CFTR étant exprimé sur la membrane des phagosomes, son absence perturbe la chimie interne de ces vésicules digestives. Dans des macrophages dépourvus de CFTR, le compartiment phagosomal reste anormalement alcalin : la pompe à protons V-ATPase qui acidifie normalement le phagosome fonctionne mal faute de compensation de charge par les ions chlorure. Les lysosomes fusionnent toujours avec les phagosomes mais leur contenu n'abaisse plus suffisamment le pH pour activer les enzymes bactéricides. En conséquence, les bactéries ingérées peuvent survivre beaucoup plus longtemps à l'intérieur des macrophages (29).

Par ailleurs, la perte de CFTR altère le fonctionnement du complexe NADPH oxydase dans la membrane phagosomale. L'assemblage des sous-unités de la NADPH oxydase est incomplet, ce qui réduit la production de superoxyde et d'espèces réactives de l'oxygène (30). Des expériences *in vitro* confirment que l'absence de CFTR dans les macrophages s'accompagne d'une baisse de l'activité bactéricide : la survie intracellulaire de *Pseudomonas aeruginosa* phagocyté s'est avérée multipliée (jusqu'à 5 fois plus de bactéries viables retrouvées) dans des macrophages atteints comparés à des macrophages isogéniques corrigés (31). Ainsi, le défaut de CFTR compromet à la fois l'acidification phagosomale et la production de radicaux libres, affaiblissant doublement le pouvoir destructeur des macrophages vis-à-vis des pathogènes.

c. Inflammation neutrophilique auto-entretenu

La mucoviscidose est caractérisée par une réponse inflammatoire innée exacerbée, dominée par l'afflux massif de neutrophiles dans les organes atteints – en premier lieu les poumons. Ces neutrophiles, activés en continu du fait de l'infection persistante, libèrent dans les tissus des quantités importantes de protéases et d'enzymes contenues dans leurs granules. L'élastase neutrophile et la myéloperoxydase (MPO), en particulier, induisent des dommages collatéraux considérables : elles dégradent les protéines de la matrice extracellulaire (élastine, collagène, etc.), détruisent les structures de soutien des bronches et inactivent de nombreuses molécules de défense (par exemple, les peptides antimicrobiens et les antiprotéases protectrices présentes dans le mucus) (32). Il s'établit ainsi un cercle vicieux infection-inflammation : plus les neutrophiles affluent et déversent leur contenu enzymatique, plus le tissu pulmonaire subit de lésions, ce qui alimente une inflammation chronique même en l'absence de nouvelle infection. À long terme, ce processus conduit à une destruction du parenchyme et à un remodelage irréversible des voies aériennes. On observe ainsi une dilatation bronchique progressive (bronchectasies kystiques et cylindriques, souvent diffuses) et une fibrose

péri-bronchique cicatricielle, responsables du déclin irréversible de la fonction respiratoire au fil des années. Sans traitement, cette cascade aboutit tôt ou tard à l'insuffisance respiratoire terminale – cause principale de mortalité dans la mucoviscidose (32,33).

d. Modulateurs génétiques et facteurs d'environnement

Le génotype *CFTR* détermine en grande partie la sévérité du défaut ionique de base, mais il n'explique qu'une fraction de l'hétérogénéité clinique observée entre patients. Les études d'association génétique ont montré que l'on ne peut imputer qu'environ 50 % de la variabilité phénotypique aux mutations du gène *CFTR* elles-mêmes (34). Le reste provient de gènes modificateurs et de l'exposome (influences environnementales tout au long de la vie).

Le gène *TGFBI* (allèle T du variant rs509, à l'origine d'une haute production de TGF- β 1) est associée à une dégradation pulmonaire plus rapide – le TGF- β 1 étant un médiateur pro-fibrosant (35).

Dans l'exemple du gène *MBL2* (mannose-binding lectin 2), composant de l'immunité innée, certains variants entraînent un déficit en lectine et présentent un risque plus élevé de colonisation précoce par *P. aeruginosa* (35).

Enfin, des facteurs environnementaux modulent aussi significativement le cours de la maladie. Par exemple, le tabagisme passif dans l'enfance est associé à une détérioration accélérée de la fonction pulmonaire et à un statut nutritionnel plus dégradé chez les patients (36).

De même, des infections virales respiratoires sévères dans la petite enfance (bronchiolites, pneumonies virales) peuvent causer un déclin prolongé du Volume Expiratoire Maximal par Seconde (VEMS) ou favoriser la primo-colonisation bactérienne. L'état nutritionnel joue également : un enfant mucoviscidosique en retard staturo-pondéral ou carencé aura généralement une fonction respiratoire plus altérée (et réciproquement, l'amélioration de l'indice de masse corporelle s'accompagne d'une meilleure performance ventilatoire) (36).

Il apparaît donc crucial, dans la prise en charge, de contrôler au mieux ces facteurs (en évitant l'exposition au tabac, en optimisant la nutrition, en prévenant et traitant précocement les infections virales, etc.) pour infléchir favorablement l'histoire naturelle de la maladie.

I.3. Épidémiologie

I.3.1. Prévalence / incidence (monde, Europe, France ; données Registre 2023)

La mucoviscidose affecte environ 105 000 personnes dans le monde, pour une incidence variant de 1/3000 à 1/6000 naissances vivantes (estimations chez les populations d'ascendance européenne). La prévalence la plus élevée est observée en Europe du Nord et en Amérique du Nord, tandis qu'elle est beaucoup plus faible en Asie et en Afrique (37).

En Europe, le rapport 2023 du Registre européen de la mucoviscidose (ECFS Patient Registry) recense environ 54 500 patients (soit une prévalence moyenne d'environ 1/3200). Plus de la moitié des patients européens sont désormais adultes (environ 54 % avaient plus de 18 ans en 2022, contre moins de 50 % une décennie plus tôt) (38).

En France, le Registre 2023 dénombre 7 801 patients vivants, correspondant à une prévalence d'environ 1/8500 habitants, pour une incidence stable d'environ 1/4500 naissances. Un peu plus de la moitié (52 %) des patients français ont plus de 18 ans (39).

I.3.2. Espérance de vie et qualité de vie

L'espérance de vie médiane des patients atteints de mucoviscidose a fait un bond spectaculaire au cours des dernières décennies : de moins de 5 ans dans les années 1960, elle est passée à environ 15 ans en 1980, puis 32 ans en 2000. Aujourd'hui, grâce aux progrès thérapeutiques, la médiane d'âge de survie dépasse 50 ans en France et atteint 64–65 ans dans plusieurs pays d'Europe ou d'Amérique du Nord (25). Cette progression reflète quatre jalons majeurs dans la prise en charge :

- Antibiothérapies ciblées (dès les années 1960–1980) et création de centres spécialisés, améliorant le traitement des infections respiratoires précoces ;
- Amélioration de la nutrition et de la physiothérapie respiratoire intensive, permettant une meilleure croissance et fonction pulmonaire ;
- Transplantation pulmonaire (introduite à partir de 1985) – avec une survie post-greffe à 5 ans d'environ 60 % pour les patients transplantés (40) ;
- Modulateurs du canal CFTR (depuis 2011) – thérapies ciblant le défaut moléculaire de CFTR, qui transforment le pronostic des formes éligibles.

I.4. Dépistage néonatal

Le dépistage néonatal de la mucoviscidose (DNN) consiste à identifier précocement, dès les premiers jours de vie, les nouveau-nés atteints de mucoviscidose afin d'initier sans délai une prise en charge spécialisée. Institué en France en 2002, le DNN de la mucoviscidose s'est étendu progressivement à travers l'Europe au cours des deux dernières décennies. Son objectif est d'améliorer le pronostic en évitant l'errance diagnostique et en prévenant la dénutrition et les complications précoces de la maladie. Cette section présente les algorithmes actuels de dépistage en France et en Europe, les performances en termes de détection et l'âge au diagnostic observé, ainsi que les bénéfices cliniques démontrés du dépistage néonatal sur l'évolution de la mucoviscidose.

I.4.1. Le dépistage en France et en Europe

En France, le programme de dépistage néonatal de la mucoviscidose couvre l'ensemble des nouveau-nés (couverture ~99%) sur tout le territoire depuis 2002. Le protocole national repose sur un dosage de la trypsine immuno-réactive (TIR) sur goutte de sang prélevée vers J3 de vie, suivie, si la TIR dépasse un seuil prédéfini, d'une analyse moléculaire ciblant les variations pathogènes les plus fréquentes du gène *CFTR*. Depuis 2015, un panel de 29 mutations *CFTR* sont systématiquement recherchées en France. Trois situations peuvent alors se présenter : (i) deux mutations sont détectées, ce qui conduit à convoquer le nouveau-né et sa famille sans délai dans un Centre de Ressources et de Compétences de la Mucoviscidose (CRCM) pour confirmation du diagnostic (test de la sueur positif) et mise en route du traitement ; (ii) une seule mutation est identifiée, auquel cas un test de la sueur est réalisé rapidement : si ce test est positif, le diagnostic de mucoviscidose est confirmé, sinon l'enfant est considéré comme porteur sain hétérozygote et la découverte de cette mutation est expliquée aux parents lors d'une consultation de conseil génétique; (iii) aucune mutation n'est retrouvée parmi le panel mais la TIR initiale était très élevée, ce qui conduit à effectuer un deuxième dosage de TIR sur un prélèvement sanguin à l'âge d'environ 21 jours – la persistance d'un taux de TIR anormalement élevé au second prélèvement entraîne l'orientation vers un centre spécialisé pour un bilan diagnostique. La **Figure 4** résume l'algorithme décisionnel pour le dépistage néonatal.

Le protocole français présente une spécificité élevée (~95%) et une valeur prédictive positive d'environ 30% (41). Par ailleurs, très peu de tests restent « non contributifs » grâce au choix d'un panel de mutations large et à la réalisation systématique du test de la sueur (41).

Une réflexion a été initiée pour introduire un marqueur biochimique complémentaire – le polypeptide d'activation pancréatique (PAP) – comme second marqueur après la TIR afin d'améliorer encore la spécificité et de réduire le taux de faux positifs liés aux nouveau-nés porteurs sains (41).

Au niveau européen, la grande majorité des pays ont désormais adopté un dépistage néonatal de la mucoviscidose, bien qu'avec des algorithmes variables. En 2022, on comptait 30 pays européens pratiquant ce dépistage, dont 26 avec un programme national couvrant l'ensemble des nouveau-nés. Tous les programmes reposent initialement sur le dosage de la TIR sur papier buvard, mais les stratégies de deuxième intention diffèrent. La plupart des pays (notamment en Europe occidentale) utilisent une analyse génétique, généralement limitée à un panel de mutations fréquentes, éventuellement suivie d'un séquençage complet du gène *CFTR* en cas de résultat ambigu ou d'une seule mutation détectée.

I.4.2. Taux de détection et incidence en France et en Europe

Le dépistage néonatal est aujourd'hui la source principale de découverte des nouveaux cas de mucoviscidose dans les pays qui l'ont instauré. En France, plus de 95% des nouveau-nés atteints sont désormais diagnostiqués via le dépistage dans les premières semaines de vie. Les rares « faux-négatifs » (enfants non détectés à la naissance) correspondent le plus souvent à des cas atypiques (formes modérées avec taux de TIR faiblement élevé) ou à des situations particulières (ex : naissance à l'étranger sans dépistage, refus exceptionnel du dépistage génétique par les parents) ; ils sont généralement identifiés ultérieurement par la survenue de symptômes évocateurs et représentent une proportion infime des diagnostics annuels. Ainsi, sur les 188 nouveaux patients enregistrés en 2022 en France, 127 (68%) provenaient du dépistage néonatal hyper-trypsinémique – dont 9 (5%) d'un diagnostic prénatal et 12 (6%) d'un iléus méconial néonatal – et 61 (environ 32%) ont été diagnostiqués hors DNN, et il s'agissait pour la plupart de patients plus âgés (diagnostic tardif à l'âge adulte en moyenne) ou de patients nés à l'étranger.

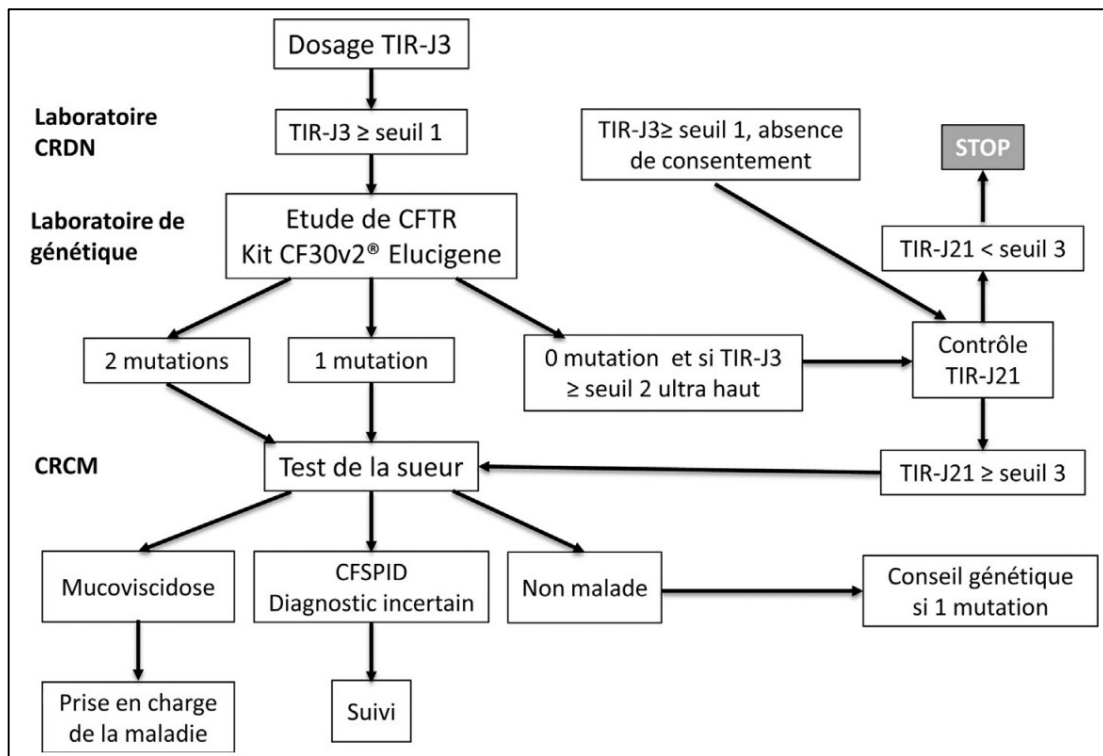


Figure 4 : Algorithme actuel TIR-DNA en France (41). [TIR : dosage de la trypsine immuno-réactive ; TS : test de la sueur ; CFSPID : Cystic Fibrosis Screen Positive, Inconclusive Diagnosis]

I.5. Diagnostic

I.5.1. Test de la sueur

Le test de la sueur par iontophorèse à la pilocarpine est historiquement l'examen clé du diagnostic de la mucoviscidose. Dès 1953, une concentration anormalement élevée de chlorure dans la sueur a été associée à la mucoviscidose, conduisant au développement du test de la sueur en 1959 par Gibson et Cooke (42). Ce test quantitatif (QPIT, *quantitative pilocarpine iontophoresis test*) reste aujourd'hui le gold standard pour confirmer le diagnostic de la mucoviscidose, y compris à l'ère du dépistage néonatal systématique. Il consiste à stimuler localement les glandes sudoripares par la pilocarpine sous courant électrique faible, puis à recueillir la sueur et mesurer sa concentration en chlorure (43). Une mesure élevée reflète le dysfonctionnement de CFTR et la perte de régulation des échanges ioniques ; classiquement, une valeur ≥ 60 mmol/L est en faveur du diagnostic, tandis qu'une valeur < 30 mmol/L rend celui-ci improbable (24,43). Une valeur intermédiaire nécessite de réitérer le test et/ou d'ajouter une exploration génétique.

Le test de la sueur doit être réalisé par un personnel formé, de préférence dans un centre agréé mucoviscidose (43). La stimulation s'effectue classiquement sur l'avant-bras ou la jambe, sur une surface d'environ 5 cm de diamètre, à l'aide de deux électrodes imbibées respectivement de pilocarpine et de sérum physiologique, entre lesquelles circule un courant continu de 1–4 mA pendant 5 minutes. La sueur est ensuite recueillie pendant 20 à 30 minutes sur du papier filtre. Un volume minimal est requis pour une analyse valide (environ 75 mg de sueur avec la méthode Gibson-Cooke classique, ou 15 μ L avec le collecteur Macroduct®) (44). Deux échantillons sont prélevés en parallèle afin de pallier la variabilité du test et d'éviter un résultat faussement négatif en cas de quantité insuffisante. Le chlorure est dosé de manière quantitative, typiquement par titration coulométrique au chloridomètre (méthode de référence) (44). Il convient de respecter strictement les protocoles (température, nettoyage de la peau, absence de crème hydratante, etc.) afin d'assurer la fiabilité du test.

I.5.2. Limites d'interprétation chez les patients traités par modulateurs CFTR

Malgré son importance, le test de la sueur présente plusieurs limites et situations d'interprétation délicate. D'une part, il peut être techniquement difficile à réaliser chez le nouveau-né ou le nourrisson de petit poids. En pratique, il est recommandé de ne tester qu'à partir de 48 heures de vie, et de différer le QPIT chez les nouveau-nés prématurés jusqu'à l'âge gestationnel corrigé de 36 semaines et un poids ≥ 2 kg (44). En deçà de 2 kg, la production sudorale est souvent insuffisante et le taux d'échec élevé. D'autre part, les conditions médicales peuvent affecter la fiabilité du test. Des faux positifs

(chlorure élevé sans mucoviscidose) sont rares mais possibles lors de malnutrition sévère, de dermatite atopique diffuse, d'insuffisance surrénalienne ou hypothyroïdie congénitale traitée tardivement, de diabète insipide néphrogénique, etc (43). De plus, l'une des limites actuelles tient à l'impact des nouveaux traitements modulateurs de CFTR sur la valeur de la concentration en ions chlorures. En effet, les modulateurs de CFTR améliorent la fonction de la protéine CFTR et abaissent considérablement le chlorure sudoral. Sous Ivacaftor ou sous trithérapie (ETI, Kafrio®), on observe en quelques semaines une chute moyenne d'environ 50% du taux de chlorure sudoral. Dans de nombreux cas, le chlorure sudoral descend en dessous du seuil diagnostique de 60 mmol/L, voire se normalise < 30 mmol/L chez des patients pourtant atteints de mucoviscidose confirmée. Il a ainsi été rapporté qu'après 6 mois à 1 an de trithérapie, plus de la moitié des patients traités présentent un test de la sueur redevenu négatif ou intermédiaire (45). Il est donc crucial de prendre en compte le traitement en cours dans l'interprétation : chez un patient sous modulateur CFTR, une valeur de chlorure abaissée ne reflète pas l'absence de maladie mais l'efficacité pharmacologique sur la fonction des canaux chlorures (44). Le test de la sueur conserve néanmoins son intérêt chez ces patients comme biomarqueur de réponse au traitement, avec une corrélation démontrée entre baisse du chlorure sudoral et amélioration clinique (45).

I.5.3. Séquençage *CFTR*

Pour rappel, un peu plus de 2 100 variants distincts du gène *CFTR* sont répertoriés dans les grandes bases de données publiques (CFTR1, LOVD, ClinVar) (46). En complément du panel de DNN (recherchant 29 mutations), le séquençage complet du gène *CFTR* par séquençage à haut débit (NGS), couvrant l'ensemble des exons et jonctions introniques, permet de dévoiler les variants rares ou privés non couverts par les panels commerciaux (47). Le séquençage NGS est indiqué chez les enfants dépistés porteur d'un seul variant délétère hétérozygote avec test de la sueur positif.

I.6. Prise en charge de la pathologie

I.6.1. Évolutions thérapeutiques

Dans les premières décennies d'observation de la mucoviscidose, le pronostic vital des enfants était extrêmement sombre, ce qui a motivé la mise en place des premières stratégies thérapeutiques empiriques. Sur le plan nutritionnel, les cliniciens ont rapidement constaté l'importance d'un apport calorique élevé et de suppléments enzymatiques pancréatiques. Dès 1958, un régime hypercalorique riche en graisses combiné à de fortes doses d'enzymes pancréatiques a été introduit, permettant d'améliorer l'état nutritionnel, la croissance et la survie des patients (48). Parallèlement, la kinésithérapie respiratoire a été instaurée de manière systématique : dès 1957, la technique de drainage postural et des percussions thoraciques a été proposée pour mobiliser les sécrétions bronchiques et prévenir l'obstruction des voies aériennes (48). Un autre pilier fondamental de la prise en charge initiale a été l'utilisation des antibiotiques pour traiter les infections pulmonaires récurrentes. Les premières tentatives datent de l'après-guerre – en 1946, l'administration de pénicilline et de sulfamides a été expérimentée contre les pneumopathies bactériennes des enfants atteints. Si ces essais initiaux ont eu un succès limité, ils ont ouvert la voie à un traitement plus agressif des infections respiratoires dès les années 1950–1960. L'émergence d'antibiotiques anti-staphylococciques, puis la disponibilité de molécules actives sur *Pseudomonas aeruginosa*, ont contribué à réduire la mortalité précoce liée aux pneumonies.

De fait, la combinaison d'une prise en charge nutritionnelle appropriée, d'une physiothérapie respiratoire régulière et d'une antibiothérapie mieux ciblée a eu un impact majeur : dès la fin des années 1960, la survie médiane des patients atteignait l'adolescence, alors qu'elle n'excédait pas quelques années dans les décennies précédentes (48). Ces premières avancées ont jeté les bases d'une approche pluridisciplinaire de la mucoviscidose, en soulignant l'importance d'une prise en charge globale associant soutien nutritionnel, drainage bronchique quotidien et traitement précoce des infections.

La fin des années 1980 a été marquée par une avancée spectaculaire pour les patients au stade terminal de la maladie : la transplantation pulmonaire. En 1985, une avancée majeure a été réalisée par les équipes du Pr. M. Yacoub : une série de transplantations cardiopulmonaires chez des patients atteints de mucoviscidose en stade d'insuffisance respiratoire terminale. Les résultats initiaux ont démontré la faisabilité et l'efficacité de cette approche, avec un taux de survie post-transplantation supérieur à 70 % à deux ans dans la cohorte pionnière (48).

La décennie 2010 inaugure une prise en charge véritablement causale de la mucoviscidose. Pour la première fois, des médicaments — appelés modulateurs CFTR — visent à restaurer, même partiellement, l'activité de la protéine CFTR plutôt qu'à traiter ses répercussions cliniques.

I.6.2. Traitements symptomatiques

Chez les patients atteints de mucoviscidose, les traitements symptomatiques visent avant tout à maintenir la perméabilité bronchique, limiter l'inflammation et le fardeau infectieux, tout en compensant l'insuffisance pancréatique exocrine. Dans cette partie, nous allons détailler les options thérapeutiques évoquées précédemment.

a. Désencombrement bronchique (Airway Clearance Techniques, ACT)

Les ACT regroupent le drainage autogène, l'Active Cycle of Breathing Technique (ACBT) et la ventilation à pression expiratoire positive (PEP). Les revues Cochrane montrent une amélioration modérée de la clairance mucociliaire et une légère augmentation transitoire du VEMS (49).

b. Agents mucolytiques et osmotiques

La Dornase alfa (DNase recombinante), principal agent mucolytique utilisé, scinde l'ADN extracellulaire du mucus, réduisant sa viscosité ; elle a démontré une réduction significative des exacerbations respiratoires et une légère amélioration de la fonction pulmonaire dans un large essai contrôlé randomisé (50). En effet, l'étude multicentrique de Fuchs *et al.* a montré que sur 24 semaines de traitement, la DNase inhalée diminuait d'environ 30 % le risque d'exacerbation pulmonaire nécessitant des antibiotiques par voie intra-veineuse, comparativement au placebo. Ce progrès thérapeutique majeur a conduit à l'adoption rapide de la Dornase alfa (Pulmozyme®) dans la prise en charge standard, améliorant le dégagement mucociliaire et la fonction respiratoire des patients atteints de mucoviscidose (50).

c. Antibiothérapie inhalée chronique

Les cycles de 28 jours de tobramycine ou d'aztréonam réduisent la densité de *Pseudomonas aeruginosa* et la fréquence des exacerbations. Une revue récente détaille les molécules disponibles et celles en développement, insistant sur la nécessité d'une surveillance microbiologique pour limiter l'antibiorésistance (51).

d. Thérapies anti-inflammatoires

L'azithromycine à faible dose (250–500 mg trois fois/semaine) exercerait un effet immunomodulateur ; une méta-analyse récente montre un gain moyen de VEMS de 3 % et une diminution des exacerbations chez l'enfant, indépendamment de la colonisation à *P. aeruginosa*. (52).

Il a également été rapporté que de fortes doses d'ibuprofène (50–100 mg·kg⁻¹·j⁻¹) ralentissaient significativement le déclin annuel du VEMS chez les moins de 18 ans, à condition d'un monitoring hépatique et rénal strict (53).

Les corticoïdes inhalés n'ont pas démontré de bénéfice clinique clair dans la mucoviscidose et restent réservés au traitement d'un asthme associé ; la revue Cochrane la plus récente conclut à une faible qualité de preuve et à l'absence d'effet significatif (54).

e. Thérapie de remplacement enzymatique pancréatique (PERT)

Une revue clinique récente rappelle l'importance de l'adaptation posologique de la thérapie de remplacement enzymatique selon l'âge, l'apport lipidique et l'utilisation d'inhibiteurs de pompe à protons pour optimiser l'absorption (55). La supplémentation en vitamines A, D, E, K, l'apport calorique élevé (120–150 % des recommandations) et, dans certains cas, les probiotiques complètent la prise en charge.

I.6.3. Genèse et essor des thérapies ciblées (Modulateurs du CFTR)

a. Modulateurs actuellement utilisés

Les molécules modulatrices actuellement disponibles peuvent être divisées, selon leur mécanisme d'action, en quatre grands groupes (56). Le **Tableau 2** résume leurs sites d'action et mécanismes moléculaires. Le **Tableau 3** résume les représentations moléculaires des principaux modulateurs CFTR disponibles sur le marché.

Potentiators (2011), Ivacaftor (IVA) & dérivés : Déployés en 2011, ils stabilisent la conformation conductrice du pore. L'essai PIVOTAL de Ramsey a montré, chez les porteurs G551D, un gain moyen de +10,6 % VEMS et une réduction de 55 % des exacerbations à 48 semaines (57).

Correcteurs Lumacaftor (LUM), Tezacaftor (TEZ), Elexacaftor (ELX) : Améliorent le repliement et la migration à la membrane :

- *Correcteurs de 1^{re} génération (2015), Lumacaftor (LUM)* : Déployés à grande échelle en 2015, ils sont principalement utilisés chez les patients homozygotes F508del. LUM/IVA

(Lumacaftor agissant comme correcteur et Ivacaftor comme potentiator) a permis une amélioration modeste mais significative du VEMS (+2,6 à +4 %) et une baisse des exacerbations (-30 %) (58). Pour améliorer la tolérance, la combinaison (TEZ/IVA) a été développée ; elle offre un profil respiratoire plus favorable, tout en conservant un gain fonctionnel similaire (+4 % VEMS) et une réduction significative des exacerbations (59).

- *Combinaisons de 2^e génération (2019) Elexacaftor (ELX)* : Deux essais de phase 3 ont démontré des gains significatifs (VEMS +14 %, variation du chlorure sudoral - 45 mmol/L) et une réduction des exacerbations de 63 % (60).

Amplificateurs : Accroissent la quantité d'ARNm et de protéine CFTR (56).

Stabilisateurs : Prolongent la demi-vie membranaire du canal (56).

b. Modulateurs de nouvelle génération

Le triplet Vanzacaftor/Tezacaftor/D-Ivacaftor (VAN/TEZ/D-IVA) (Alyftrek®) a démontré sa non-infériorité à Kaftrio® avec un schéma 1 prise/jour (61) et a obtenu l'AMM européenne en 2025.

Le virage thérapeutique que constituent les modulateurs du CFTR, repose sur une constellation d'acteurs ainsi qu'une stratégie d'investissement à long terme. Vertex™ Pharmaceuticals demeure l'acteur central ; l'ensemble des modulateurs approuvés à ce jour provient de sa collaboration historique avec la Cystic Fibrosis Foundation (CFF), qui a injecté 40 millions de dollars américains dès 2000 pour constituer la librairie de criblage à haut débit (62). Les licences et droits de commercialisation hors États-Unis et Europe restent majoritairement détenus par Vertex™, renforçant les enjeux d'accès mondial. Plusieurs biotechs spécialisées contribuent à mener la prochaine vague : Arcturus™ vise la restauration de CFTR par ARNm, tandis que 4DMT™ déclare développer une thérapie inhalée à base d'ARN messenger complet encapsulé dans des nanoparticules lipidiques pour franchir les barrières muqueuses et cellulaires des voies respiratoires codant la protéine CFTR (63).

Tableau 2 : Classifications des modulateurs du CFTR, leurs sites d'action et mécanismes moléculaires (56).

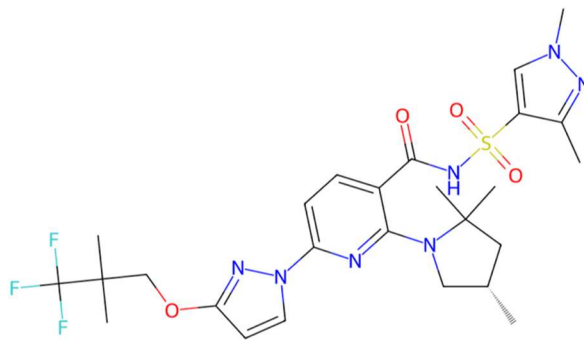
Classe	Exemples	Cible et site d'action	Mécanisme moléculaire
Potentiateurs (Type 1)	Ivacaftor (VX-770)	Domaine de liaison à l'ATP (NBD) du CFTR déjà inséré dans la membrane	Augmentent la probabilité d'ouverture du canal en stabilisant la conformation conductrice du pore
Correcteurs-I (Type 1)	Lumacaftor (VX-809), Tezacaftor (VX-661)	Domaine de membrane 1 (MSD1)	Agissent comme chaperons pharmacologiques : favorisent le repliement précoce et réduisent la dégradation
Correcteurs-III (Type 3)	Elexacaftor (VX-445)	NBD1 et ponts inter-domaines	Stabilisent et améliorent l'assemblage NBD1-MSD2, complétant les correcteurs-I

Tableau 3 : Représentations moléculaires des principaux modulateurs CFTR disponibles sur le marché (56).

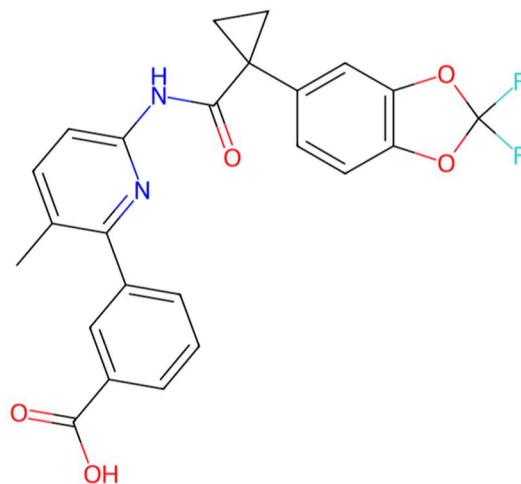
Nom	Structure
<p>Ivacaftor (VX-770) N-(2,4-ditert-butyl-5-hydroxyphenyl)-4-oxo-1H-quinoline-3carboxamide</p>	
<p>Tezacaftor (VX-809) 1-(2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5-yl)-N-[1-[(2R)-2,3-dihydroxypropyl]-6-fluoro-2-(1-hydroxy-2-methylpropan-2-yl)indol-5-yl]cyclopropane-1-carboxamide</p>	

Elxacaftor (VX-445)

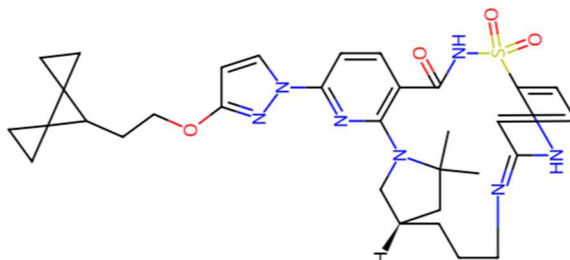
N-(1,3-dimethylpyrazol-4-yl)sulfonyl-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimethylpropoxy)pyrazol-1-yl]-2-[(4S)-2,2,4-trimethylpyrrolidin-1-yl]pyridine-3--2,2,4-trimethyl

**Lumacaftor (VX-809)**

3-[6-[[1-(2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5-yl)cyclopropanecarbonyl]amino]-3-methylpyridin-2-yl]benzoic acid

**Vanzacaftor (VX-121)**

(14S)-8-[3-(2-dispiro[2.0.24.13]heptan-7-(14S)-8-[3-(2-dispiro[2.0.24.13]heptan-7-2lambda6-thia-3,9,11,18,23-pentazatetracyclo[17.3.1.111,14.05,10]tetracos-1(22),5(10),6,8,19(23),20-hexaen-4-one



<https://www.chemspider.com>

I.6.4. Impact clinique transformateur : efficacité, tolérance et accès

Le triple modulateur ELX/TEZ/IVA (Kaftrio®) a révolutionné la prise en charge de la mucoviscidose en induisant des bénéfices marqués. En pédiatrie, il a notamment contribué à corriger le retard de **croissance staturo-pondérale** (64).

L'effet sur le **microbiote respiratoire** serait tout aussi notable : on observe sous trithérapie une diversification du microbiote pulmonaire et une nette régression des pathogènes dominants (*P. aeruginosa*, *S. aureus*), près de la moitié des échantillons de crachats devenant négatifs pour les bactéries opportunistes après un an de traitement (65).

De même, le **microbiote intestinal** tendrait à se normaliser : la diversité bactérienne fécale augmente significativement (+25–30% d'espèces observées) et on note la réapparition de genres bénéfiques, avec parallèlement une baisse de l'inflammation intestinale et de la colonisation de *S. aureus* digestif (66).

Sur le plan de la **fertilité**, l'arrivée des modulateurs a levé en partie l'infertilité féminine liée à la mucoviscidose : en traitant le défaut CFTR épithélial par des modulateurs, on observe une fluidification de la glaire cervicale, d'où une hausse sans précédent des grossesses chez les patientes (le nombre d'accouchements annuels chez les femmes traitées par modulateurs a plus que doublé depuis 2019). À l'inverse, l'azoospermie obstructive des hommes atteints (due à l'agénésie bilatérale des canaux déférents) demeure (67).

Sur le plan de la **sécurité**, le profil d'effets indésirables de ETI (ELX/TEZ/IVA) (Kaftrio®) est globalement favorable et bien toléré, aucun signal de toxicité à long terme n'ayant émergé dans les registres post-AMM à ce jour. Les événements indésirables les plus fréquents sous trithérapie restent d'intensité légère à modérée (symptômes ORL, digestifs ou cutanés transitoires). Néanmoins, trois catégories d'effets requièrent une surveillance particulière: (i) des élévations asymptomatiques des enzymes hépatiques (élévation des transaminases supérieure à 3 fois la normale chez environ 10% des patients traités) (68), justifiant un suivi régulier des fonctions hépatiques; (ii) des atteintes ophtalmologiques, à type d'opacités cristalliniennes non congénitales (cataractes sous-capsulaires ou corticales), ont été signalées chez une faible proportion d'enfants traités – typiquement < 2% dans les études pédiatriques – sans retentissement visuel à ce stade (69). Cet effet indésirable rare, déjà associé à l'ivacaftor seul, conduit à recommander un examen ophtalmologique de référence puis annuel chez les patients pédiatriques sous modulateur. (iii) Enfin, des troubles neuropsychiques ont été décrits sous ETI (ELX/TEZ/IVA) (Kaftrio®), incluant notamment anxiété, insomnie, troubles de l'humeur ou difficultés de concentration. Bien que la causalité reste discutée, environ 7% des patients en vie

réelle rapportent ce type d'effets (généralement réversibles à l'arrêt ou sous ajustement posologique) (70). En dépit de ces risques à surveiller, l'impact clinique net d'ELX/TEZ/IVA demeure extraordinairement positif, transformant l'histoire naturelle de la mucoviscidose (réduction significative des exacerbations pulmonaires aiguës et quasi-arrêt du déclin fonctionnel respiratoire) et ouvrant la perspective d'une espérance de vie notablement prolongée pour la majorité des patients (65).

Il convient enfin de souligner que cette révolution thérapeutique a un **coût économique** considérable : le prix catalogue de ETI (ELX/TEZ/IVA) (Kaftrio®) avoisine 250 000 USD par patient aux USA, générant des inégalités d'accès ; des stratégies de générique sous contrôle pharmacocinétique sont explorées (71). Cette dualité entre le coût élevé et la valeur sanitaire exceptionnelle de ETI (ELX/TEZ/IVA) (Kaftrio®) souligne l'importance d'analyses coût-bénéfice à l'échelle internationale, afin d'assurer un accès équitable et soutenable à ce traitement transformateur.

I.6.5. Évolution des indications pédiatriques des modulateurs CFTR

Les modulateurs CFTR ont vu leur âge d'administration évoluer au rythme de programmes cliniques dédiés et de variations d'AMM successives. Le **Tableau 4** résume les âges minimums indiqués pour les différents types de modulateurs.

Tableau 4 : Indications pédiatriques par âges des modulateurs CFTR.

Modulateur	Âge minimum FDA (année)	Étude pivot pédiatrique (âge étudié)
Ivacaftor (Kalydeco®)	4 mois (2020)	KIWI, Phase 3 (2–5 ans), Davies <i>et al.</i> (72). ARRIVAL, Phase 3 (4-12 mois), Davies <i>et al.</i> (73).
Lumacaftor/Ivacaftor (Orkambi®)	1 an (2022)	Phase 3 (1–2 ans) Rayment <i>et al.</i> (74).
Tezacaftor/Ivacaftor (Symdeko®/Symkevi®)	6 ans (2019)	Phase 3 (6–11 ans), Davies <i>et al.</i> (75).
Élexacaftor/Tezacaftor/Ivacaftor (Trikafta®/Kaftrio®)	2 ans (2023)	Phase 3 (6–11 ans), Zemanick <i>et al.</i> (76). Phase 3 (2–5 ans), Goralski <i>et al.</i> (77).
Vanzacaftor/Tezacaftor/Deutivacaftor (Alyftrek®)	12 ans (2024)	RIDGELINE (en cours) – Phase 3 (6–11 ans)

II. ENJEUX PHARMACOCINETIQUES ET SUIVI THERAPEUTIQUE PHARMACOLOGIQUE

Les modulateurs CFTR ont effectivement transformé le pronostic de la mucoviscidose, notamment chez l'enfant ; toutefois, leur utilisation précoce révèle des inconnues pharmacocinétiques (PK) majeures. Le suivi thérapeutique pharmacologique (STP) répond à la question centrale : comment garantir, à l'échelle individuelle, une exposition suffisante pour l'efficacité sans excès toxique ? La présente section passe en revue les critères qui font des modulateurs CFTR d'excellents candidats au STP, puis décrit les outils analytiques disponibles.

II.1. Critères généraux d'éligibilité au STP

L'implémentation d'un STP se justifie si plusieurs conditions sont réunies. Choong *et al.* ont ainsi proposé sept critères clés pour envisager un STP (78) : (i) la disponibilité d'un dosage fiable du médicament, (ii) une variabilité pharmacocinétique inter-individuelle importante sous traitement standard, (iii) une fenêtre thérapeutique étroite, (iv) l'existence d'une corrélation démontrée entre la concentration et l'effet thérapeutique, (v) une corrélation établie entre la concentration et la toxicité, (vi) l'absence de marqueur clinique accessible pour monitorer la réponse (rendant le dosage plasmatique pertinent), et (vii) la présence de facteurs pouvant modifier l'exposition au médicament (polymorphismes, interactions médicamenteuses, observance, etc.).

À la lumière de ces critères, les modulateurs CFTR apparaissent comme des candidats pertinents pour un STP. D'une part, leur variabilité pharmacocinétique est avérée. Des études récentes mettent en évidence une forte variabilité inter-individuelle des concentrations plasmatiques sous traitement par ETI (ELX/TEZ/IVA) (Kaftrio®), en particulier chez l'enfant. Par exemple, Truong *et al.* ont décrit dans la cohorte pédiatrique MODUL-CF, des écarts marqués d'exposition aux trois molécules malgré un schéma posologique standardisé : les paramètres pharmacocinétiques individuels montrent un coefficient de variation inter-individuel de l'ordre de 30–40 % pour les clairances apparentes d'Elexacaftor, Tezacaftor et Ivacaftor (79). En pratique, à dose égale, certains enfants présentent des concentrations nettement plus élevées ou plus faibles que la moyenne adulte. De plus, des facteurs comme la croissance de l'enfant, les modifications du régime alimentaire (prise de lipides conditionnant l'absorption) ou l'observance peuvent influencer l'exposition d'un individu donné et plaident également en faveur d'un suivi pharmacologique régulier.

Par ailleurs, les relations concentration-effet et concentration-toxicité des modulateurs CFTR commencent à être décrites, satisfaisant ainsi d'autres critères de Choong *et al.* Une étude

pharmacocinétique/pharmacodynamique chez des patients sous Lumacaftor/Ivacaftor a montré qu'une exposition plus élevée à l'Ivacaftor est significativement associée à une amélioration supérieure du VEMS après 48 semaines de traitement (80). Ce lien exposition-effet suggère qu'atteindre une concentration minimale efficace d'Ivacaftor conditionne en partie la réponse clinique. À l'inverse, sur le versant de la sécurité, une exposition excessive aux modulateurs peut accroître le risque d'effets indésirables. En particulier, de fortes concentrations plasmatiques d'Ivacaftor ont été corrélées à une toxicité hépatique, avec élévation des transaminases chez certains patients (78).

Enfin, un argument pratique en faveur du STP des modulateurs CFTR est la définition progressive de plages thérapeutiques cibles. Chez l'adulte, les données cliniques disponibles ont permis de proposer des concentrations de référence pour un traitement optimal (78). En revanche, aucun consensus pédiatrique n'existe à ce jour sur les concentrations cibles chez l'enfant sous modulateurs CFTR. Les posologies pédiatriques actuelles sont déterminées empiriquement par classe de poids et âge, et visent théoriquement à reproduire l'exposition de l'adulte (79). Néanmoins, l'absence de valeurs claires établies spécifiquement pour la population pédiatrique complique l'interprétation des dosages plasmatiques. Cet état de fait souligne l'importance de poursuivre les recherches pour définir des plages thérapeutiques pédiatriques optimales, en s'appuyant sur les données de pharmacocinétique de population et de pharmacologie clinique à disposition (par exemple issues des études MODUL-CF).

En résumé, les modulateurs CFTR remplissent ainsi une grande partie des critères d'éligibilité au STP, particulièrement en pédiatrie où la variabilité PK et l'absence de fenêtres thérapeutiques validées exposent à l'inefficacité comme à la toxicité. Mettre en place un STP rigoureux permettra d'optimiser le bénéfice clinique individuel et d'harmoniser les pratiques.

II.2. Méthodes analytiques disponibles

Concernant les méthodes analytiques disponibles comparables à celles dont dispose notre laboratoire - la chromatographie en phase liquide avec spectrométrie de masse en tandem (Ultra Performance Liquid Chromatography with tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS) - deux sont publiées : celle de Pigliasco *et al.* (81) et celle de Mancini *et al.* (82).

III. PROBLEMATIQUES ET OBJECTIFS DE LA THESE

III.1. Problématique centrale

La mise en place d'un suivi thérapeutique pharmacologique (STP) des modulateurs CFTR en pédiatrie suppose, en amont, le développement d'une méthode de dosage bio-analytique à la fois sensible, spécifique et reproductible. Pour répondre aux exigences réglementaires actuelles, cette méthode devra être validée selon les standards nationaux régis par le Comité Français d'Accréditation (COFRAC). L'enjeu technique majeur tient à la nécessité de quantifier simultanément ELX, TEZ et IVA dans des volumes plasmatiques réduits (< 200 µL) compatibles avec les prélèvements pédiatriques.

Les premières méthodes UPLC-MS/MS multiplex ELX/TEZ/IVA (identifiant et quantifiant simultanément plusieurs molécules) publiées fournissent une preuve de concept après extraction simple par précipitation de protéines, avec une validation complète (81). Néanmoins, l'absence d'une fenêtre thérapeutique pédiatrique validée et la variabilité inter- et intra-individuelle élevée décrites (78) imposent d'intégrer, dès la phase de développement, des plages de concentrations cibles provisoires. En pratique, notre méthode UPLC-MS/MS devra donc :

- Atteindre une sensibilité suffisante pour couvrir les concentrations résiduelles attendues chez le nourrisson et l'enfant ;
- Rester linéaire jusqu'aux pics potentiellement toxiques ;
- Être exploitable par un laboratoire hospitalier ;
- S'articuler avec un protocole de prélèvement normalisé (prise en charge du prélèvement à t + 2 h) afin d'alimenter ultérieurement la modélisation pharmacocinétique de population (Pop-PK) et le STP de routine.

III.2. Problématique secondaire

Chez l'enfant, l'exposition aux modulateurs CFTR est le résultat complexe d'une maturation métabolique rapide entre 6 mois et 3 ans (activité CYP3A et transporteurs membranaires), d'une composition corporelle changeante, d'interactions alimentaires/lipidiques et de co-traitements inducteurs ou inhibiteurs.

III.3. Objectifs spécifiques

La thèse poursuit trois objectifs complémentaires :

Premièrement, développer une méthode UPLC-MS/MS multiplex (ELX, TEZ, IVA) permettant de quantifier, en un seul passage analytique, l'ELX, le TEZ et l'IVA sur des volumes plasmatiques pédiatriques réduits ($\leq 200 \mu\text{L}$). Cette méthode devra être conçue conformément aux exigences du COFRAC.

Deuxièmement, appliquer ce dosage à une cohorte monocentrique d'enfants et d'adolescents (2–18 ans) traités par le triplet ELX/TEZ/IVA (Kaftrio®) et/ou IVA (Kalydeco®) ; un prélèvement au plus proche du temps résiduel sera couplé à un recueil prospectif des données démographiques, génétiques (génotype *CFTR*) et biologiques, de façon à décrire le plus fidèlement possible la situation individuelle de chaque patient à proximité du prélèvement.

Troisièmement, utiliser ces concentrations pour tenter d'identifier les facteurs majeurs de variabilité de l'exposition.

IV. CADRE THEORIQUE

Ce chapitre présentera les bases conceptuelles et techniques qui soutiennent notre démarche : nous rappellerons les fondamentaux de la pharmacocinétique appliqués aux modulateurs du canal CFTR ; nous introduirons ensuite les principes de l'UPLC-MS/MS employés pour le dosage des modulateurs ; puis nous détaillerons le principe du développement de la méthode ; enfin, nous présenterons le cadre de validation (COFRAC) et les critères retenus.

IV.1. Fondamentaux de la pharmacocinétique appliquée aux modulateurs CFTR

Les modulateurs de CFTR ETI (ELX/TEZ/IVA) présentent une exposition à l'état d'équilibre bien caractérisée chez l'adulte, mais marquée par une variabilité interindividuelle liée notamment au poids, à l'âge et au statut pancréatique. Cette section définit les paramètres pharmacocinétiques clés et les relie aux propriétés ADME (absorption, distribution, métabolisme, élimination) spécifiques à ETI qui conditionnent l'interprétation du suivi thérapeutique pharmacologique (STP).

IV.1.1. Concentration plasmatique maximale (C_{max})

C_{max} est la concentration plasmatique maximale observée après une prise ; elle survient au temps T_{max} (ELX \approx 6 h, TEZ \approx 3 h, IVA \approx 4 h à l'état d'équilibre) (83). Sa valeur dépend, entre autres, de l'absorption (effet du repas) et de la distribution initiale (84).

IV.1.2. Concentration minimale (C_{min})

C_{min} est la concentration juste avant la prise suivante ; à l'état d'équilibre, elle s'évalue à 24 h pour ELX/TEZ (administrés en une prise quotidienne) et à 12 h pour IVA (administré deux fois par jour) (83). En pratique, C_{min} est sensible, par exemple, à l'adhésion au traitement, aux inhibiteurs/inducteurs de CYP3A ou au statut hépatique (85).

IV.1.3. Aire sous la courbe (Area Under Curve, AUC)

À l'équilibre, l'exposition de référence s'exprime en aire sous la courbe en 24 heures (AUC_{0-24 h}) pour ELX et TEZ, et en (AUC_{0-12 h}) pour IVA (83). L'AUC intègre absorption, distribution et élimination, et constitue l'indicateur le plus robuste pour comparer l'exposition entre individus versus des plages cibles issues d'études Pop-PK (84).

IV.1.4. Temps de demi-vie ($t_{1/2}$), clairance apparente (Cl/F)

Le temps de demi-vie ($t_{1/2}$) désigne le temps nécessaire pour que la concentration plasmatique d'un médicament diminue de 50 %.

La clairance apparente (Cl/F) correspond au débit d'épuration apparent d'un médicament après administration extravasculaire. Elle agrège les clairances d'organes (hépatique, rénale, etc.) et s'exprime en $L \cdot h^{-1}$ (ou $mL \cdot min^{-1}$). Elle est dite « apparente » car elle incorpore la biodisponibilité (*F - fraction de la dose administrée ou du principe actif libéré par la forme pharmaceutique qui parvient sous forme inchangée dans la circulation sanguine systémique*) lorsqu'on ne l'a pas mesurée séparément (86).

IV.1.5. Absorption : biodisponibilité et rôle déterminant du repas gras

L'administration avec un repas contenant des graisses augmente l'exposition d'ELX d'environ 1,9 à 2,5 fois, et celle d'IVA d'environ 2,5 à 4 fois ; l'effet est non cliniquement significatif pour TEZ (83). La prise à jeun expose donc à une sous-exposition, en particulier pour IVA ; la co-administration avec repas gras est recommandée et fait partie des consignes officielles (83).

IV.1.6. Distribution : volume de distribution et fixation protéique

Le volume de distribution (V_d ou V_d/F) est une constante de proportionnalité qui relie la quantité totale de médicament dans l'organisme à sa concentration plasmatique. C'est un « volume apparent » qui ne correspond pas à un compartiment anatomique et reflète l'extension de la distribution tissulaire et la liaison aux protéines. Les trois molécules sont très fortement liées aux protéines plasmatiques ($\approx 99\%$) ; ELX/TEZ lie surtout l'albumine, IVA lie aussi l' α_1 -glycoprotéine acide et les γ -globulines (83). En conséquence, les variations d'albumine peuvent moduler les concentrations libres.

IV.1.7. Métabolisme : dépendance CYP3A et auto-induction

ELX, TEZ et IVA sont métabolisés principalement par les CYP3A4 / CYP3A5 (regroupés sous la dénomination de CYP3A). Les inhibiteurs modérés/forts des CYP3A augmentent l'exposition et imposent une réduction de dose d'ETI ; à l'inverse, les inducteurs forts (ex : rifampicine, millepertuis) diminuent l'exposition et sont déconseillés (83). Les données de référence ne rapportent pas d'auto-induction cliniquement pertinente pour ETI, à la différence de schémas contenant le Lumacaftor (LUM). En effet, LUM est un inducteur des CYP3A et conduit à une diminution de 20 à 30 % de l'AUC d'IVA (Orkambi®) (83,87).

IV.1.8. Excrétion : élimination biliaire prédominante

Le suivi de doses radiomarquées d'ETI, montre que l'élimination se fait majoritairement par les fèces (87 % pour ELX ; 72 % pour TEZ ; 88 % pour IVA), avec une faible part urinaire (≤ 7 %). Une cholestase ou une atteinte hépatique peuvent ainsi entraîner une surexposition (83).

IV.2. Technologies analytiques pour le dosage des modulateurs CFTR : UPLC-MS/MS

IV.2.1. Principes de la chromatographie liquide

En bio analyse, les échantillons biologiques contiennent des milliers de composés endogènes et exogènes, appelées analytes. La chromatographie liquide (CL) sert à les séparer avant la détection et la quantification. La CL s'appuie sur deux milieux :

Phase stationnaire : C'est un tube de longueur variable, appelé « colonne », dont la face interne est tapissée par un revêtement composé de micro-particules de silice sphériques, hautement poreuses, offrant une vaste surface d'interaction. D'un point de vue chimique, ces particules peuvent être, selon le type de colonne et l'usage voulu, des chaînes alcanes de 18 carbones greffés sur la silice (interaction hydrophobe), des groupements hydrophiles (liaisons hydrogène) ou des fonctions acides ou basiques (attraction électrostatique).

Phase mobile : C'est un liquide sous pression qui traverse la colonne. Elle emporte les analytes, et conditionne les interactions avec la phase stationnaire. Elle se compose d'un mélange d'eau (ou tampon aqueux) et d'un solvant organique miscible, le plus souvent acétonitrile ou méthanol qui vient « décoller » les composants qui se seraient liés à la phase stationnaire (de manière non covalente). Les interactions des analytes avec la phase stationnaire se font sur la base de leur affinité physicochimique avec elle. Les molécules sont séparées parce qu'elles passent des temps différents à interagir avec la phase stationnaire ; cette différence de « temps passé » constitue le principe fondamental de la technique. En effet, au moment de traverser la colonne, chaque analyte alterne entre adsorption (arrêt sur la surface interne de la colonne) et désorption (décollement et remise en solution dans la phase mobile), et ce, en fonction de son affinité pour la colonne — qui est influencée par ses propriétés physicochimiques propres, la composition de la colonne, et la composition de la phase mobile. Ce cycle adsorption/désorption se répète jusqu'à la sortie de la colonne. Ainsi, plus un analyte aura d'affinité pour la phase stationnaire dans des conditions définies, plus il faudra de cycles adsorption/désorption pour quitter la colonne, et plus son temps de rétention sera long. Selon cet équilibre, il « avance » vite ou lentement ; c'est la base de la séparation (**Figure 5**). À la sortie de la colonne, les analytes arrivent dans un détecteur, dans notre cas : un spectromètre de masse.

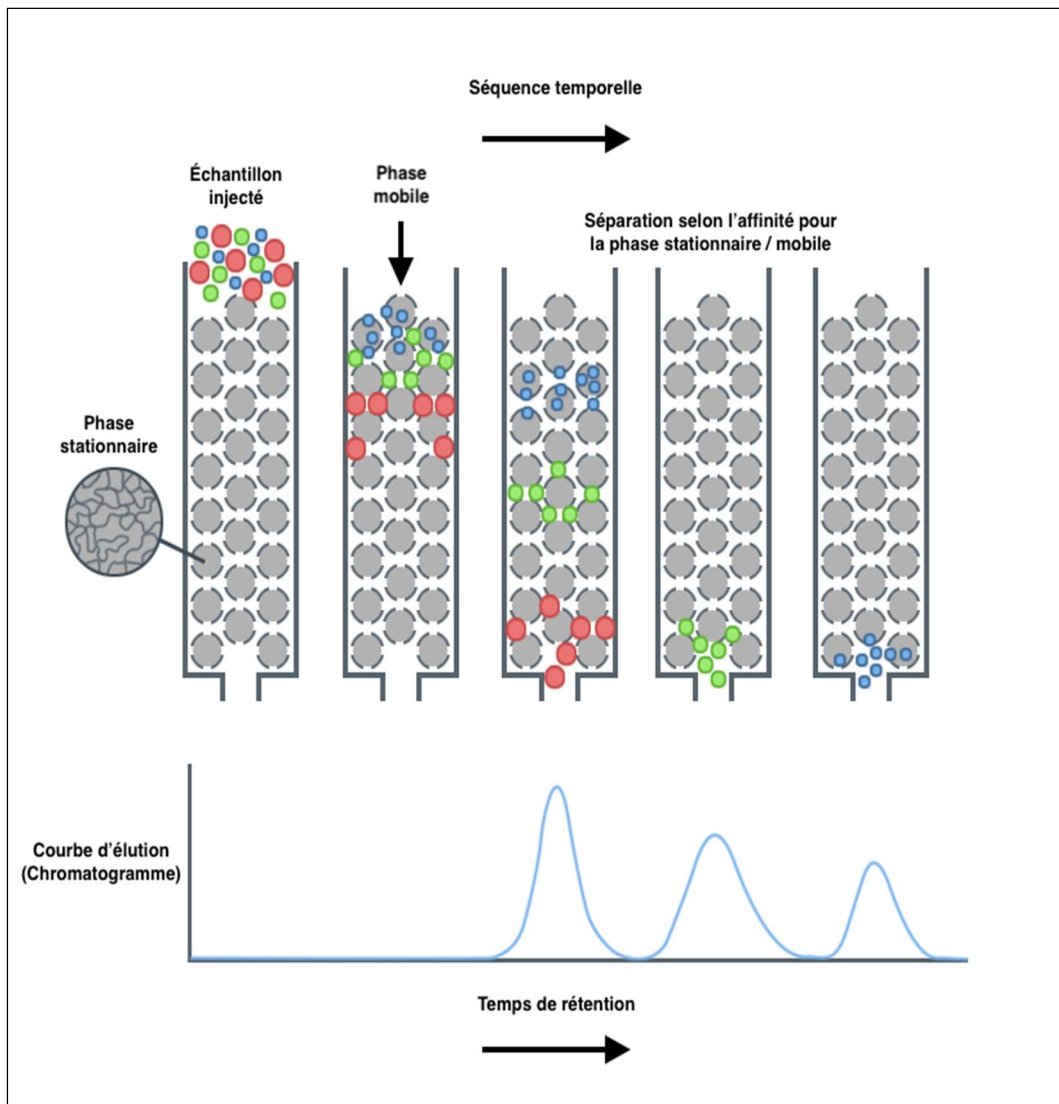


Figure 5 : Principe de la chromatographie liquide d'après Guedj Essa.

IV.2.2. Principes de la spectrométrie de masse

À la sortie de la colonne, les analytes sont déjà séparés dans le temps (temps de rétention), mais deux molécules différentes peuvent malgré tout co-éluer (avoir le même temps de rétention) si leurs temps de rétention se chevauchent. C'est là qu'intervient la spécificité de la spectrométrie de masse (SM). L'instrument ne s'intéresse plus aux affinités chromatographiques ; il trie chaque ion selon son rapport masse/charge (m/z) :

La masse : Elle représente la quantité de matière de l'ion et s'exprime en daltons (Da). Un dalton correspond, en première approximation, au poids d'un atome d'hydrogène. Ainsi, un peptide de 1 000 Da « pèse » mille fois plus qu'un atome d'hydrogène.

Charge : Lorsqu'une molécule gagne ou perd un ou plusieurs électrons ou protons au moment de l'ionisation, elle porte une charge électrique entière (+1, +2, -1, etc.). On note cette charge z .

La spectrométrie de masse débute toujours par l'ionisation, c'est-à-dire l'attribution, sans dégradation, d'une ou plusieurs charges à des molécules neutres. Sitôt l'effluent chromatographique arrivé dans le spectromètre de masse (le premier constituant est appelé source d'ionisation) il est pulvérisé en microgouttelettes par l'*electrospray ionisation* (ESI) ; au fil de l'évaporation, chaque goutte explose et libère une molécule intacte, désormais chargée positivement (ESI+) ou négativement (ESI-) : on parle d'ions « pseudo-moléculaires ». Le développement de la phase d'ionisation a été un tournant majeur permis, notamment par les travaux du Pr. J. B. Fenn en 1989 (88).

Vient ensuite l'analyse du rapport m/z : les ions sont guidés sous vide vers un analyseur qui les trie selon leur rapport masse/charge. Plusieurs architectures d'analyseurs existent : quadripôle, temps de vol (TOF) ou trappe ionique, chacune avec ses caractéristiques et ses usages privilégiés. Seul le quadripôle sera traité ici.

Un quadripôle ressemble à un portique composé de quatre barres métalliques parallèles. Sur ces barres, on applique simultanément une tension continue (DC) – le « courant stable » – et une tension radiofréquence (RF) – un champ alternatif qui vibre des centaines de milliers de fois par seconde. Ce duo de champs crée un couloir de danse virtuel : seuls les ions dont le rapport masse/charge (m/z) exécute la chorégraphie exacte traversent le filtre ; les autres voient leur trajectoire devenir instable et sont éjectés. Le principe, détaillé par Miller et Denton (89) permet donc de sélectionner avec une grande précision le m/z voulu, un ion à la fois. Dans ce travail, nous utiliserons l'architecture en triple quadripôle (Q1–q2–Q3) en mode tandem :

- Q1 isole l'ion précurseur ciblé ;
- q2 (cellule de collision) le fragmente sous l'effet d'une énergie contrôlée ;
- Q3 sélectionne l'un des fragments caractéristiques.

Le schéma temps de rétention (RT) → rapport masse/charge (m/z) fournit une signature à double niveau qui authentifie l'analyte. De plus, la surveillance d'un couple précurseur/fragment spécifique à la sortie de la cellule de collision (q2), appelée Multiple Reaction Monitoring (MRM), permet une quantification ultra-spécifique de la molécule à doser (90). La **Figure 6** résume le principe de fonctionnement du montage.

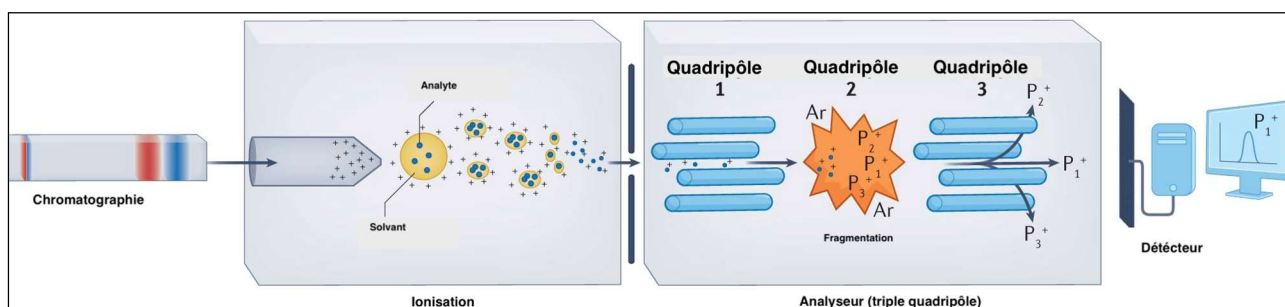


Figure 6 : Principe de la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (triple quadrupôle) selon Thomas *et al.* (91).

IV.2.3. Procédure de développement de méthode

Une méthode de bio analyse se définit comme « l'ensemble des procédures utilisées pour mesurer la concentration d'un analyte dans un échantillon biologique » (sang, plasma, urine, tissus, etc.). Cette approche englobe le prélèvement, la préparation de l'échantillon, la séparation, la détection et le traitement des données. Elle vise à produire des résultats fiables, exacts et reproductibles.

Le développement de méthode désigne quant à lui l'ensemble des démarches expérimentales visant à concevoir une procédure fiable pour quantifier un ou plusieurs analytes dans une matrice biologique (sang total, plasma, urines...). Il s'agit d'atteindre une sélectivité suffisante pour distinguer l'analyte des interférents, une sensibilité permettant la détection aux concentrations pertinentes, et une robustesse qui assure la reproductibilité des résultats dans des conditions d'utilisation routinières.

a. Préparation d'échantillon

La préparation de l'échantillon dans le cadre d'une méthode UPLC-MS/MS regroupe l'ensemble des opérations physico-chimiques appliquées à la matrice biologique brute (plasma, sérum, urines, tissus, etc.) afin de :

- Libérer l'analyte lié (pH, rupture liaisons protéiques) ;
- Éliminer les constituants susceptibles d'interférer (protéines, phospholipides, sels, hémoglobine) ;
- Concentrer et stabiliser l'analyte pour maximiser la sensibilité et la fiabilité lors de la détection UPLC-MS/MS.

Il existe plusieurs approches pour la préparation d'un échantillon :

Précipitation protéique (PPT) : La précipitation protéique repose sur l'addition d'un solvant organique (acétonitrile, méthanol) en excès pour dénaturer les protéines plasmatiques. Cette technique a pour avantage la rapidité et la possibilité de traiter des volumes importants en routine. Elle a pour principale limite de fournir des extraits souvent plus chargés en phospholipides, susceptibles d'accroître l'effet matrice (91,92).

Extraction liquide-liquide (LLE) : La LLE utilise un solvant organique (ex : hexane/acétate d'éthyle) pour extraire les analytes hydrophobes de la phase aqueuse des fluides biologiques. L'échantillon est agité avec le solvant afin de favoriser le passage des composés d'intérêt dans la phase organique, laquelle est ensuite récupérée, évaporée puis reconstituée dans un solvant compatible UPLC-MS/MS. Cette approche reste longue et assez complexe à mettre en œuvre (91).

Extraction en Phase-Solide (SPE) : L'extraction en phase solide (SPE) repose sur un sorbant – matériau logé dans une cartouche ou une plaque 96 puits – capable d'interagir sélectivement avec les analytes de sorte que la matrice est évacuée avant leur élution. Le procédé suit classiquement : (1) conditionnement du sorbant avec le solvant d'élution puis (2) équilibrage au tampon ; (3) application de l'échantillon—souvent mélangé à un tampon d'application pour optimiser la rétention ; (4) lavages sélectifs afin d'éliminer les composants matriciels et autres interférents ; (5) élution des analytes avec un solvant approprié, suivie au besoin d'une évaporation et d'une reconstitution dans une phase d'injection adaptée. La SPE se règle finement via le choix du sorbant, des tampons et des solvants de lavage/élution, permettant d'obtenir des extraits plus propres et, si nécessaire, de concentrer les analytes. En contrepartie, la technique est plus complexe et chronophage (91).

b. Choix des étalons internes (EI)

Un étalon interne (ou standard interne) est un composé exogène, ajouté en quantité constante à tous les échantillons et contrôles de qualité. Il subit exactement les mêmes étapes de préparation et d'analyse que l'analyte cible. On privilégie des dérivés isotopiquement marqués, principalement en deutérium, ou à défaut, des analogues structuraux. Le standard interne joue un rôle fondamental dans toute technique de UPLC/MS-MS :

- Correction des pertes : compense les variations de rendement liées aux étapes d'extraction, d'évaporation ou de reconstitution.
- Contrôle de l'effet matrice : l'ajout d'un étalon interne isotopiquement marqué, chimiquement analogue à l'analyte, garantit qu'il subit la même suppression (ou amélioration) d'ionisation dans la source d'ionisation ESI. La réponse relative Analyte/EI reste donc constante, ce qui réduit le biais de sensibilité.

- Suivi des dérives instrumentales : variations de débit, de spray, ou de réponse électronique sont normalisées par le rapport Analyte/EI.

Les EI, idéalement isotopiquement marqués, doivent présenter :

- Une similarité structurelle et physico-chimique avec l'analyte ;
- Une absence dans la matrice à l'état naturel ;
- Une stabilité durant tout le processus analytique.

L'ajout pré-extraction compense les pertes lors de la préparation d'échantillon ; l'ajout post-extraction contrôle la variabilité instrumentale. Le choix dépend donc du mécanisme d'extraction et du risque de dégradation (91).

c. Optimisation de la détection MS/MS

Dans une méthode UPLC-MS/MS, la phase de détection en tandem conditionne la sélectivité et la sensibilité globales : elle doit donc être paramétrée avec la même rigueur qu'une étape de préparation d'échantillon. L'objectif est double : obtenir le rapport signal/bruit le plus élevé possible tout en préservant la fidélité de l'identification.

La première étape consiste à sélectionner, à partir d'une solution standard (solution pure préparée en laboratoire), l'ion précurseur le plus abondant (habituellement MH⁺). Ce précurseur est ensuite soumis à une fragmentation collision-induite graduelle (91). Parmi les fragments générés, on retient :

- La transition de quantification, c'est-à-dire le couple précurseur/produit le plus intense, garant de la meilleure limite de quantification ;
- Au moins une transition de qualification, idéalement plus spécifique (cassure incluant un motif diagnostique) qui sert de témoin d'identité.

Le développement de méthode suit donc une progression logique : définition des exigences analytiques → choix du/des EI → préparation d'échantillon → optimisation UPLC-MS/MS. Cette approche structurée garantit que la méthode arrive au stade de validation avec un haut niveau de robustesse.

IV.3. Procédure de validation de la méthode

La validation d'une méthode de dosage est un processus expérimental et documentaire par lequel on démontre, à l'aide d'études des performances (fidélité, justesse, spécificité, linéarité, sensibilité, stabilité, etc.), que la méthode est fiable et adaptée à l'usage prévu pour l'analyse d'échantillons biologiques, garantissant ainsi l'acceptabilité des résultats et la traçabilité réglementaire.

IV.3.1. Cadre réglementaire

Dans le contexte français, la validation (ou la vérification pour une méthode reconnue) s'inscrit dans les exigences des normes NF EN ISO 15189 et 22870, telles qu'explicitées par le guide technique COFRAC SH GTA 04. Le guide rappelle que « validation » et « vérification » ont des définitions distinctes : la vérification confirme que des exigences spécifiées sont satisfaites (méthode reconnue), tandis que la validation confirme l'aptitude d'une méthode pour un usage prévu (méthode adaptée ou développée). La démarche ne porte que sur la phase analytique (la pré-analytique est traitée via l'analyse de risques et des dispositions spécifiques). En pratique, la majorité des laboratoires réalisent une vérification sur site des méthodes reconnues (portée A) et une validation complète pour les méthodes adaptées/développées (portée B). Le processus doit être formalisé (procédure, plan d'expérience, traitement statistique, décision d'aptitude), et aligné avec les besoins cliniques et le service médical rendu (93).

IV.3.2. Principes généraux de la validation de méthode

Le COFRAC détaille pour les méthodes quantitatives comme qualitatives, les critères de performance, les plans d'essais usuels et les méthodes de calcul, ainsi que la manière de conclure sur l'aptitude. L'objectif est d'évaluer, par des données expérimentales robustes, les critères de performance analytiques suivants :

a. Linéarité et domaine de mesure

Le domaine de mesure est borné par la limite inférieure de quantification LLOQ (Lower Limit Of Quantification) et la limite supérieure de linéarité ULOQ (Upper Limit Of Quantification). La linéarité est vérifiée en comparant les résultats observés et les concentrations théoriques après dilutions d'un échantillon concentré, avec une relation attendue proportionnelle dans le domaine utile. La limite supérieure de linéarité (ULOQ) est la plus haute concentration mesurable sans déviation. Combinée à la LLOQ, elles définissent la plage reportable au patient (93).

- Évaluation expérimentale : Série de 6–8 points standards, modèle linéaire : $y = ax + b$, calcul coefficient de corrélation R^2 .

- Critères d'acceptabilité : $R^2 \geq$ seuil défini, souvent 95-99 %

b. Limite de détection (LOD)

La LOD (Limit Of Detection) est la plus petite quantité détectable se distinguant d'un blanc avec une probabilité donnée. Classiquement, on réalise des mesures répétées d'un blanc et on estime la LOD à environ trois fois l'écart-type du blanc (en l'absence de bruit de fond significatif). Pour les méthodes qualitatives, la LOD correspond au seuil de positivité (93).

- Évaluation expérimentale : 30 mesures répétées des blancs (adaptable par chaque laboratoire), puis calculer la moyenne et l'écart-type (S_b). Calcul de la LOD selon la formule :

$$\text{Limite de détection} = 3 \times S_b$$

- Critères d'acceptabilité : LOD acceptable dès lors qu'il répond aux besoins cliniques (ex : seuil pharmacologique efficace).

c. Limite de quantification (LOQ)

La LOQ (Limit Of Quantification) est la plus petite valeur mesurée quantifiable avec une fidélité et une justesse acceptables. Une approche courante l'estime à environ dix fois l'écart-type du blanc, ou bien via un profil de précision : séries de dilutions autour du point bas de la gamme, calcul des coefficients de variation ($CV = \text{écart-type} / \text{moyenne} \times 100$), puis choix d'un niveau respectant un critère ($CV \approx 10-20\%$ selon l'usage clinique) (93).

- Évaluation expérimentale : Dilutions successives du point bas de la gamme et calcul du CV. Le niveau retenu correspond à celui pour lequel le CV est supérieur à la limite retenue par le laboratoire (20 % dans notre cas) sur 5 mesures.
- Critères d'acceptabilité : LOQ acceptable dès lors qu'elle répond aux besoins cliniques (ex : seuil pharmacologique efficace).

d. Répétabilité

La répétabilité caractérise la variabilité dans des conditions strictement constantes (même opérateur, même lot, même étalonnage, même séance). Elle se résume classiquement par un coefficient de variation calculé à plusieurs niveaux (idéalement proches des zones décisionnelles). Les CV obtenus sont confrontés aux limites admissibles (fournisseur/sociétés savantes/état de l'art) (93).

- Évaluation expérimentale : Analyser un même échantillon 30 fois (adaptable par chaque laboratoire, dans notre cas n =10) idéalement dans une seule série. Calculer la moyenne (m), l'écart-type (s), puis le Coefficient de Variation (CV) :

$$CV (\%) = \frac{(s)}{(m)} \times 100$$

- Critères d'acceptabilité : $CV \leq$ limite fixée par : Notice fabricant (données de validation analytique), guides des sociétés savantes, ou CV habituel du laboratoire pour cet analyte (dans notre cas $\leq 15\%$).

e. Fidélité intermédiaire (Reproductibilité intra-laboratoire)

La fidélité intermédiaire mesure la variabilité lorsque certaines conditions varient (jour, opérateur, lots, recalibrations...). Elle est souvent estimée à partir de contrôles internes (2 niveaux minimum, ~30 déterminations sur ≥ 15 jours). Elle sert aussi à paramétrer des règles de vérification (delta-check, repasses) (93).

- Évaluation expérimentale : Analyser un même échantillon 30 fois (adaptable par chaque laboratoire, dans notre cas n =10) sur plusieurs séries indépendantes. Calculer la moyenne (m), l'écart-type (s), puis le Coefficient de Variation (CV) :

$$CV (\%) = \frac{(s)}{(m)} \times 100$$

- Critères d'acceptabilité : $CV \leq$ limite fixée par : Notice fabricant (données de validation analytique), guides des sociétés savantes, ou CV habituel du laboratoire pour cet analyte (dans notre cas $\leq 15\%$).

f. Justesse

La justesse est l'accord entre la moyenne des mesures et une valeur de référence. En pratique, on approche la valeur vraie via des matériaux de référence, des contrôles internes de qualités (CIQ) externalisés ou des valeurs consensuelles (groupes de pairs). Le biais (en %) se compare à une limite acceptable fondée sur les besoins cliniques et les références professionnelles (93).

- Évaluation expérimentale : Comparaison à un contrôle interne (CIQ) avec valeur assignée (certifiée ou consensus) et calcul du biais selon la formule suivante où : m = moyenne des mesures ; v = valeur cible :

$$\text{Biais (\%)} = \frac{(m-v)x100}{v}$$

- Critères d'acceptabilité : Biais $\leq 15\%$ généralement, et jusqu'à 20% pour les valeurs proches de Limite Basse de Quantification (LLOQ).

g. Exactitude

L'exactitude décrit l'accord entre une valeur mesurée et la valeur vraie. En routine, elle est fréquemment appréciée à travers les résultats d'évaluations externes de qualité (EEQ), en comparant chaque mesure à une valeur cible (groupe de pairs et/ou toutes techniques) et en quantifiant l'inexactitude. L'analyse répétée d'EEQ au fil du temps renforce la robustesse de l'estimation (93).

- Évaluation expérimentale : participation aux EEQ obligatoire : 1 mesure par échantillon inconnu, puis calcul de l'inexactitude selon la formule où : x = valeur trouvée pour l'EEQ ; v = valeur cible

$$\text{Inexactitude (\%)} = \frac{(x-v)x1}{v}$$

- Critères d'acceptabilité : Résultats conformes aux limites acceptées par EEQ (typiquement ± 2 z-score), justesse globale validée si >95% des échantillons sont conformes.

h. Incertitude de mesure

L'estimation de l'incertitude est exigée pour les paramètres quantitatifs. La démarche consiste à définir l'analyte, cartographier les sources de variabilité (et justifier celles jugées négligeables), puis chiffrer l'incertitude en s'appuyant sur les données de fidélité (CIQ) et de justesse/exactitude (EEQ, valeurs assignées), selon une méthode décrite (COFRAC SH GTA 14). L'incertitude est réévaluée périodiquement et utilisée dans l'interprétation, notamment près des seuils décisionnels (93).

- Évaluation expérimentale : Conformément aux indications du SH-GTA-14, l'incertitude élargie se détermine par :

$$U = k * u_c$$

Où u_c est l'incertitude composée et $k = 2$ fournit un intervalle de confiance de 95 % pour les examens quantitatifs.

- Critères d'acceptabilité : le SH-GTA-04 recommande de comparer l'incertitude calculée aux spécifications biologiques publiées par les sociétés savantes :

- ◆ Les limites « souhaitables » de la base Ricos / EFLM.
- ◆ À défaut, les tolérances fixées par la SFBC ou un fournisseur.

i. Spécificité / Sélectivité

La spécificité, ou sélectivité, désigne la capacité de la méthode à mesurer exclusivement l'analyte cible sans interférence significative d'autres composés présents dans la matrice biologique. Dans le contexte UPLC-MS/MS, une attention particulière est portée à la séparation chromatographique, à la sélection des transitions ioniques et à l'évaluation des effets de matrice (93).

- Évaluation expérimentale : analyse d'un échantillon vierge (blanc biologique) : résultat attendu = nul, puis analyser l'échantillon enrichi : le résultat doit uniquement refléter l'ajout de l'analyte.
- Critères d'acceptabilité : Pas de faux positifs détectés.

j. Contamination

La validation de méthode selon le SH-GTA-04 impose également une vigilance particulière sur le risque de contamination. La contamination peut survenir :

- Entre deux échantillons analysés consécutivement (contamination inter-échantillons) ;
- Par les réactifs ou solvants (contamination inter-réactifs) ;
- Via l'environnement analytique (contamination croisée, projections).

L'évaluation de la contamination est obligatoire lors de la validation de méthodes quantitatives utilisant des équipements automatisés ou semi-automatisés. Elle repose sur des tests expérimentaux visant à vérifier qu'un échantillon faiblement concentré ne présente pas une élévation significative de concentration après le passage d'un échantillon fortement concentré. La norme recommande l'utilisation de séquences spécifiques (ex : fort-faible-fort-faible) avec calcul de pourcentage de contamination acceptable généralement fixé à $\leq 1\%$. Cette évaluation garantit que la méthode ne génère pas de résultats faussement positifs liés à des résidus d'analyte, ce qui revêt une importance capitale dans le suivi pharmacologique (93).

- Évaluation expérimentale : Après nettoyage complet de l'instrument, la contamination croisée est vérifiée à l'aide d'un protocole en séquences : trois injections consécutives d'un échantillon hautement concentré (H1 à H3) donnent une moyenne mH, immédiatement

suivies de trois injections d'un échantillon faiblement concentré (B1 à B3). Ce bloc de six analyses est répété jusqu'à cinq fois. Les valeurs recueillies pour B1 et B3 dans l'ensemble des cycles sont moyennées (mB1 et mB3) puis comparées par un test t de Student ; si la différence s'avère significative, on calcule le pourcentage de contamination croisée entre échantillons. Calcul contamination selon la formule :

$$\%Contamination = \frac{(mB1 - mB3)}{(mH - mB3)} \times 100$$

- Critères d'acceptabilité : Contamination \leq 1%.

k. Robustesse

La robustesse reflète la capacité de la méthode à rester fiable malgré des variations mineures mais délibérées des conditions analytiques (ex : légère modification du pH des solvants, petite fluctuation de température). Elle permet d'apprécier la stabilité et la robustesse opérationnelle de la méthode (93).

- Évaluation expérimentale : introduction volontaire d'une petite variation d'un paramètre ($\pm 10\%$), et analyse de la fidélité post-variation.
- Critères d'acceptabilité : Maintien des CV et biais dans les limites établies.

V. MATERIELS ET METHODE

V.1. Développement de la méthode de dosage UPLC-MS/MS

V.1.1. Matériel et réactifs

a. Appareillage chromatographique et spectromètre de masse

Tableau 5 : Appareillage chromatographique et SM utilisés pour la méthode.

Composant	Marque / Modèle	Informations complémentaires
Système UPLC principal	Waters Acquity UPLC	Débit max : 0,8 mL·min ⁻¹
Autosampler	Acquity Sample Manager	Volume d'injection : 10 µL Temps d'analyse : 7,0 minutes
Détecteur MS	Waters Xevo TQ-S micro	Triple quadripôle

b. Colonnes, phases mobiles, solvants

Tableau 6 : Colonne, les phases mobiles et les solvants utilisés pour la méthode.

Élément	Spécification
Colonne analytique	[C18 µm, 50 × 2,1 mm] – T = 75 °C
Phase mobile A	Eau LC-MS + 0,1 % HCOOH + 0,31 g·L ⁻¹ formiate d'ammonium
Phase mobile B	Acétonitrile LC-MS + 0,1 % HCOOH
Solvants	Eau, acétonitrile, méthanol grade LC-MS

c. Sources d'ionisation, mode MRM et paramètres du spectromètre de masse

Tableau 7 : Paramètres d'ionisation utilisés pour la méthode.

Paramètre source	Valeur
Type de source	ESI (positive)
Capillaire	2,00 kV
Cône	30 V
Température de désolvation	120 °C
Débit de gaz du cône	15 L·h ⁻¹
Température désolvation	400 °C
Débit de gaz de désolvation	800 L·h ⁻¹
Débit de gaz de collision (mL/Min)	Activé

d. Préparation des échantillons

La préparation des échantillons conditionne directement la sensibilité et la robustesse du dosage UPLC-MS/MS des modulateurs CFTR. Compte tenu de la littérature scientifique disponible, une

précipitation protéique simple, rapide et automatisable a été retenue pour maximiser le débit analytique tout en maintenant une récupération > 90 % (81).

- Procédures d'extraction par précipitation protéique (PPT) et justifications

Matrice : plasma centrifugé 10 min, 1920 G, décanté puis conservé à -20 °C jusqu'à analyse.

Volume minimal requis : 200 µL, prise d'essai : 50 µL.

1. A partir d'une prise d'essai de 50 µL ;
2. Ajout de 200 µL d'acétonitrile contenant l'étalon interne (EI) Ivacaftor-d19 à 50 mg/L ;
3. Homogénéisation : Vortex 30 secondes ;
4. Précipitation : Centrifugation 11 200 G /10 min à +4 °C ;
5. Dilution : Transfert 20 µL surnageant + 180 µL tampon A1 (eau/formiate d'ammonium 5 mM + 0,1 % acide formique) ;
6. Injection : 10 µL.

Le choix s'est porté sur cette solution technique, notamment pour la rapidité d'exécution (< 5 min/échantillon) et un rendement satisfaisant en témoignent les récupérations rapportées dans la littérature (95–100 %) (81,94).

- Blanc matrice

Le blanc matrice est préparé à partir d'un sérum synthétique certifié exempt de modulateurs CFTR. Il subit exactement la même procédure que les échantillons patients. Ce blanc matrice permet de contrôler la contamination et les interférences, ainsi que de préparer les solutions de calibrants et contrôles internes de qualité.

- Calibrants (C1-C5)

Les calibrants sont des échantillons « blanc matrice + analyte » préparés en plusieurs niveaux de concentration couvrant intégralement l'intervalle de mesure. Chaque point est obtenu en mélangeant un blanc matrice exempt d'analyte avec une solution de travail indépendante ; les concentrations nominales de la gamme de calibration ne doivent jamais provenir du même flacon que les CIQ afin d'éviter tout biais. Au cours de la séquence analytique, ils servent à construire la courbe d'étalonnage qui transforme le signal du SM en concentration réelle. Faute de calibrants commerciaux disponibles

sur le marché au moment du développement, la gamme a été élaborée à partir de poudres pures (cf. **Tableau 8**) pour obtenir les solutions de calibration couvrant la gamme de concentration rapportée dans la littérature (81,82). Le **Tableau 9** résume les concentrations des solutions de calibration.

Tableau 8 : Standards analytiques utilisés pour la méthode.

Analyte	Fournisseur	Réf.
Elexacaftor	medchemexpress	HY-111772
Tezacaftor	medchemexpress	<u>HY-15448</u>
Ivacaftor	medchemexpress	HY-13017

Tableau 9 : Concentrations des solutions de calibration (C1 à C5).

Point (mg/L)	ELX	TEZ	IVA
C1	0,10	0,10	0,05
C2	0,50	0,50	0,25
C3	2,00	2,00	1,00
C4	5,00	5,00	2,50
C5	10,00	10,00	5,00

- Contrôles internes de qualité (CIQ)

Les CIQ sont des échantillons « blanc matrice + analyte » préparés indépendamment des calibrants à deux niveaux représentatifs : bas ($\approx 2 \times C1$), et haut ($\approx 90 \% C5$). Intégrés en double dans chaque série (début, fin). Ils miment un échantillon patient et permettent de vérifier en temps réel la justesse et la précision de la méthode. Les concentrations cibles sont celles du **Tableau 10**. Les stocks et aliquots de travail sont conservés à $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Tableau 10 : Concentrations des CIQ utilisés.

CIQ (mg/L)	ELX	TEZ	IVA
CIQ1	2	2	0.5
CIQ2	10	10	3

- Étalon interne (EI)

L'Ivacaftor-d19 est un analogue marqué par 19 atomes de deutérium de l'Ivacaftor (cf. **Tableau 11**). Son comportement physico-chimique (extraction, rétention, ionisation) est quasiment identique à celui de la molécule native, mais la différence de masse permet à l'analyseur (SM) de les distinguer. Ajouté à concentration fixe dans tous les échantillons (patients, calibrants, QC, blancs), il corrige les pertes d'extraction et les variations d'ionisation, garantissant la robustesse quantitative de la méthode. La solution de travail a une concentration de 50 mg/L. Elle est conservée $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Tableau 11 : Étalon interne (EI) utilisé pour la méthode.

EI	Fournisseur	Réf.
Ivacaftor-d ₁₉	medchemexpress	HY-13017S1

V.2. Validation bio-analytique

Le processus de validation complet de la méthode UPLC-MS/MS développée a été mené conformément au référentiel COFRAC (norme 15189). La validation bio-analytique fait le lien entre le développement de la méthode et son application clinique en s'assurant que la méthode réponde aux critères de performance requis pour un dosage fiable en routine. Les paramètres évalués sont les suivants :

- Limite de Détection (LOD) ;
- Limite de Quantification (LLOQ) ;
- Limite de linéarité (ULOQ) ;
- Gamme de Calibration et Linéarité ;
- Répétabilité ;
- Fidélité intermédiaire ;
- Spécificité / sélectivité ;
- Contamination.

Les protocoles expérimentaux ainsi que les critères d'acceptabilité ont été traités en détail dans la section **IV.3.2. Principes généraux de la validation de méthode.**

V.3. Application clinique de la méthode

Nous avons appliqué la méthode UPLC-MS/MS à des reliquats d'échantillons prélevés lors des bilans de routine au Centre de Ressources et de Compétences de la Mucoviscidose (CRCM) du CHU de Lille afin de tenter d'identifier les facteurs expliquant la variabilité d'exposition.

V.3.1. Limites des approches PK traditionnelles

Les données pharmacocinétiques (PK) publiées sur les modulateurs CFTR proviennent majoritairement d'analyses ponctuelles : concentrations plasmatiques minimales ou maximales (C_{min} ou C_{max}) réalisées dans le cadre d'essais pivots ou de petites séries hospitalières. Trois limites majeures en découlent :

- Variabilité inter- et intra-individuelle élevée : compte tenu du rôle important du poids, ainsi que l'effet du repas gras, de l'activité CYP3A et de l'observance (79), les simples mesures ponctuelles (C_{min} ou C_{max}) pourraient mal capturer la dispersion.
- Absence de fenêtres thérapeutiques établies : aucun seuil d'exposition « efficace » ou « toxique » n'est officiellement validé chez l'enfant ; la littérature se contente de plages extrapolées de l'adulte, sans niveau de preuve suffisant (78). Cette lacune empêche toute décision d'adaptation posologique fondée sur les mesures ponctuelles isolées.
- Conditions de prélèvement hétérogènes en pratique clinique : les échantillons prélevés lors de démarches de STP le sont souvent lors des consultations de contrôle ; certains enfants peuvent être à l'état résiduel, d'autres à des heures variables après la dernière prise, rendant difficile la comparaison directe des concentrations.

Pour harmoniser les comparaisons malgré des créneaux de prélèvement aléatoires, notamment dans le Centre de Ressources et de Compétences de la Mucoviscidose (CRCM) du CHU de Lille, nous avons retenu l'aire sous la courbe (AUC) estimée par un modèle populationnel comme paramètre de suivi. Cette approche intègre le temps exact de la prise et du prélèvement, corrige la variabilité d'absorption et offre un indicateur d'exposition global. Elle constitue une réponse méthodologique directe aux limites des approches PK traditionnelles dans notre contexte.

V.3.2. Design de l'étude

a. Type et cadre

Étude observationnelle prospective, monocentrique, conduite au Centre de Ressources et de Compétences de la Mucoviscidose (CRCM) du CHU de Lille. Déclaration interne (n° DEC24-039) ; absence de passage devant CPP validée par la direction de la recherche ; conformité RGPD.

Notice d'information fournie aux parents ; registre des refus tenu à jour.

b. Objectifs

Principal : décrire la distribution des concentrations résiduelles et AUC calculées des modulateurs CFTR (Elexacaftor + Tezacaftor + Ivacaftor) chez les patients pédiatriques suivis au CRCM.

Secondaire : identifier les covariables participant à la variabilité inter-individuelle (âge, poids, paramètres biochimiques).

c. Population

Critères d'inclusion :

- Diagnostic confirmé de mucoviscidose ;
- Traitement stable ≥ 4 semaines par Kaftrio® (ELX/TEZ/IVA) et/ou Kalydeco® (IVA) ;
- Réalisation d'un bilan biochimique de routine lors d'une visite de contrôle au CRCM ;

Critère d'exclusion : Opposition explicite des parents après information (droit de refus).

Variables collectées :

- Données démographiques : sexe, âge, poids, taille ;
- Génotype *CFTR* ;
- Paramètres biochimiques :
 - ALAT (TGP) (UI/L)
 - Albumine sérique (g/L)
 - ASAT (TGO) (UI/L)

- Bilirubine totale ($\mu\text{mol/L}$)
- Créatine phosphokinase (CPK) (UI/L)
- Créatinine ($\mu\text{mol/L}$)
- Débit de filtration glomérulaire (mL/min)
- Gamma-glutamyl transférase (GGT) (UI/L)
- Phosphatase alcaline (PAL) (UI/L)
- Protéine C-réactive (CRP) (mg/L)
- Horodatage précis de la dernière prise et du prélèvement (hh:mm)
- Données pharmacologiques : médicament, dose, forme (comprimé, granulés)

d. Stratégie de prélèvements et de conservation

Les échantillons provenaient (i) des demandes de dosages spécifiques des modulateurs du CFTR (ELX/TEZA/IVA) par le service de soin, ou (ii) de plasmas résiduels issus des bilans biochimiques standards réalisés lors des visites de contrôle chez les patients sans demande spécifique de dosage des modulateurs du CFTR. Cette stratégie a permis d'éviter toute intervention additionnelle hors du parcours thérapeutique. Le volume résiduel moyen disponible par patient était de 1 à 2 ml. Le **Tableau 12** ci-dessous résume le circuit logistique des prélèvements traités.

Tableau 12 : Résumé du circuit logistique des prélèvements traités au laboratoire.

Étape	Délai / condition
Centrifugation	< 2 h après prélèvement
Aliquotage	1 à 2 mL
Congélation initiale	4 °C (armoire biochimie)
Transfert quotidien	Laboratoire de biochimie → Laboratoire de toxicologie (-20 °C)
Analyses	Une analyse hebdomadaire incluant tous les prélèvements de la semaine

Les aliquots résiduels sont conservés 12 mois (-80 °C) pour vérifications. La stratégie « reliquats de routine + chaîne de froid contrôlée » garantit la fiabilité des concentrations mesurées tout en restant compatible avec la pratique clinique.

V.3.3. Calcul des Aires sous la courbe (AUC)

Pour estimer l'aire sous la courbe (AUC) de la trithérapie ETI (ELX/TEZ/IVA) chez l'enfant, nous avons collaboré avec l'équipe du service de Pharmacologie clinique de l'Hôpital Cochin, AP-HP, Université Paris Cité, qui a élaboré un modèle pharmacocinétique populationnel (PopPK). L'approche adoptée par les équipes du laboratoire de Cochin repose sur la théorie de l'allométrie (relation puissance entre paramètres PK et poids) et l'algorithme MCMC-SAEM de Monolix 2023R1 (79). Dans cette partie, nous allons résumer brièvement l'article qui reprend les modalités de création du modèle pharmacocinétique populationnel (PopPK) utilisé.

a. Données cliniques et analytiques utilisées pour la conception du modèle (Cochin)

- Cohorte : 96 enfants (2–18 ans) de l'étude MODUL-CF, 150 mesures par molécule.
- Prélèvements : pic (~ 4 h post-dose) et/ou creux.
- Dosage : UPLC-MS/MS (couple chromatographie liquide et détection par spectrométrie de masse), LOQ (limites de quantification basse-haute) 0,075–20 mg/L (ELX/TEZ) et 0,0525–14 mg/L (IVA)

b. Analyse des covariables

Les covariables présélectionnées (âge, poids, BMI, sexe, forme galénique) ont été évaluées selon une approche pas à pas descendante ; le poids est ressorti comme facteur déterminant de la clairance et du volume de distribution. Aucun effet résiduel d'âge, de sexe ou de formulation n'a été retenu (79).

V.3.4. Analyse statistique des données de notre cohorte

Nous avons étudié les relations entre l'exposition aux modulateurs du CFTR—approchée par les aires sous la courbe (AUC) d'Elexacaftor (ELX), de Tezacaftor (TEZ) et d'Ivacaftor (IVA)—et les variables sélectionnées (données démographiques et paramètres biologiques) afin d'identifier des facteurs associés à la variabilité interindividuelle. La base de données comprenait 73 patients inclus.

a. Matériel

Logiciels. Python 3.12 ; bibliothèques : pandas, numpy, matplotlib, seaborn, scipy.

b. Variables dépendantes (AUC).

Aires sous la courbe des trois molécules : AUC-24h pour ELX et TEZ, AUC-12h pour IVA.

c. Variables indépendantes.

- Données démographiques : poids, sexe.
- Paramètres biologiques :
 - ALAT (TGP) (UI/L)
 - Albumine sérique (g/L)
 - ASAT (TGO) (UI/L)
 - Bilirubine totale ($\mu\text{mol/L}$)
 - Créatine phosphokinase (CPK) (UI/L)
 - Créatinine ($\mu\text{mol/L}$)
 - Débit de filtration glomérulaire (mL/min)
 - Gamma-glutamyl transférase (GGT) (UI/L)
 - Phosphatase alcaline (PAL) (UI/L)
 - Protéine C-réactive (CRP) (mg/L)

d. Méthodes

- Corrélations AUC–variables sélectionnées

Des analyses univariées ont été réalisées par régression linéaire simple. Les variables explicatives d'intérêt, identifiées soit sur des bases cliniques ou théoriques, soit en raison d'une association en univarié ($p < 0,20$), ont été incluses dans un modèle multivariées de régression linéaire.

- Gestion des manquants

Analyse en cas complet : exclusion des observations avec au moins une donnée manquante parmi les variables du modèle.

- Graphiques

Nous avons réalisé une série de nuages de points par molécule avec droite de régression linéaire (IC95 %). Nous avons retenu le seuil usuel de significativité fixé à $p < 0,05$.

VI. RESULTATS

Nous avons finalisé la méthode multiplex de dosage d'Elexacaftor (ELX), de Tezacaftor (TEZ) et d'Ivacaftor (IVA) sur UPLC-MS/MS. L'objectif était d'obtenir une séparation rapide, une réponse SM stable en ESI+ et une sensibilité compatible avec de faibles volumes pédiatriques.

VI.1. Développement de la méthode de dosage UPLC-MS/MS

VI.1.1. Gradient de phases retenu

Le gradient retenu assure l'éluion complète des trois analytes en 7,0 minutes (débit 0,400 mL·min⁻¹).

Le détail du gradient retenu est résumé dans le **Tableau 13**.

Tableau 13 : Gradient de phases.

Temps (min)	Débit (mL/min)	%A	%B
Initial	0.400	65.0	35.0
0.400	0.400	65.0	35.0
0.600	0.400	45.0	55.0
4.00	0.400	30.0	70.0
4.50	0.400	10.0	90.0
5.00	0.400	10.0	90.0
5.50	0.400	65.0	35.0
7.00	0.400	65.0	35.0

VI.1.2. Temps de rétention

Tableau 14 : Temps de rétention par molécule.

	Elexacaftor	Tezacaftor	Ivacaftor	Ivacaftor-d19
Temps de rétention (min)	3,94	1,68	2,58	2,69

La **Figure 7** ci-dessous illustre la séparation chromatographique des 3 molécules, ainsi que les transitions de quantification et de qualification pour chacune.

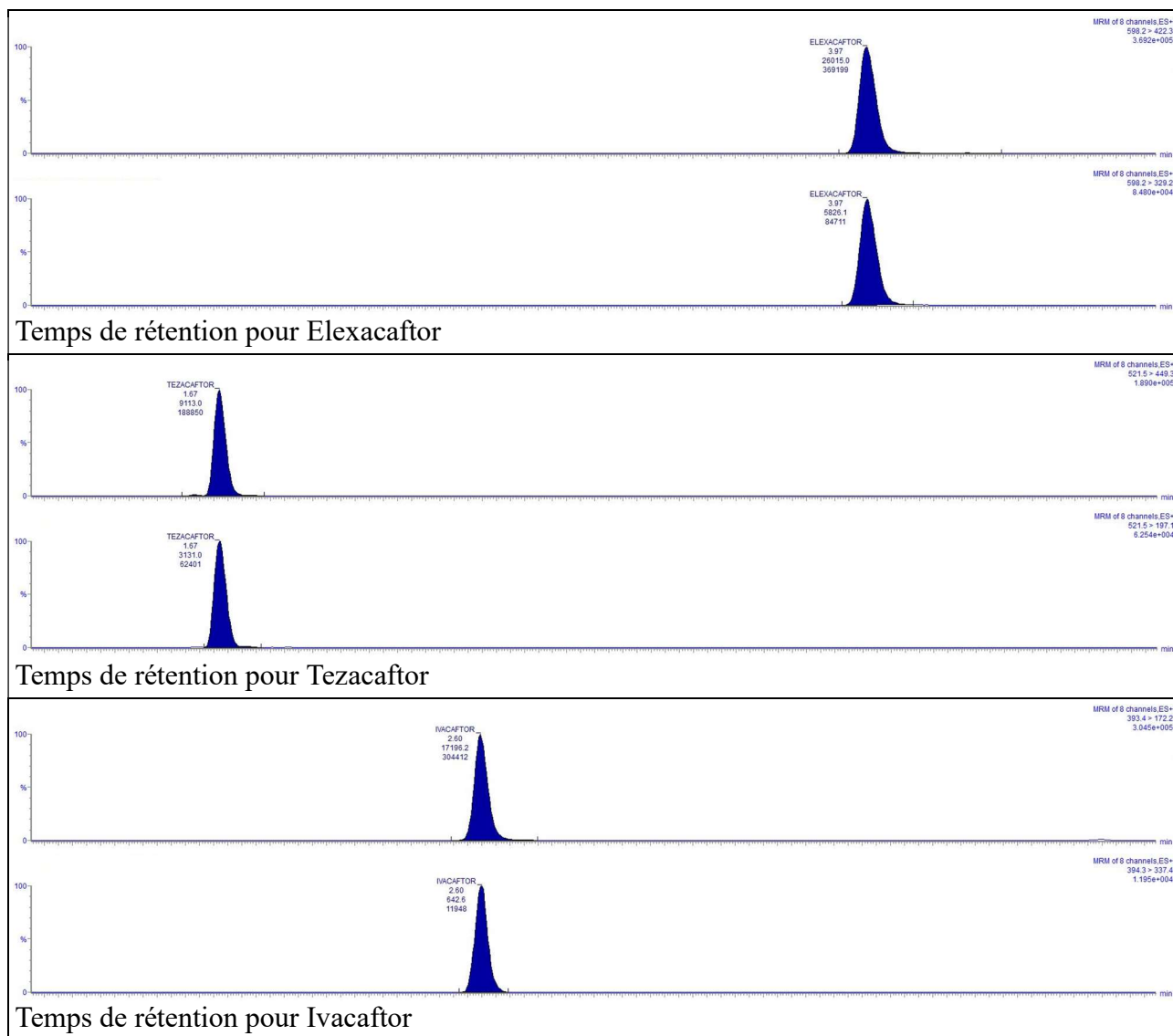


Figure 7 : Chromatogramme par molécule.

VI.1.3. Transitions MS/MS

Les énergies de collision ont été fixées à 40 eV. Les paramètres source finaux étaient : ESI positive, capillaire 2,00 kV ; cône 30 V ; T° source 120 °C ; T° désolvatation 400 °C ; gaz désolvatation 800 L·h⁻¹. Le **Tableau 15** reprend les transitions retenues pour la méthode.

Tableau 15 : Transitions MRM retenues pour la méthode.

Composé	Transition de quantification (m/z)	CE (eV)	Transition de qualification (m/z)	CE (eV)
Elexacaftor	598.2 → 329.2	40	598.2 → 422.3	40
Tezacaftor	521.5 → 197.1	40	521.5 → 449.3	40
Ivacaftor	393.4 → 172.2	40	394.3 → 337.4	40
Ivacaftor-d ₁₉ (IS)	412.5 → 172.2	40	412.5 → 348.5	40

CE : énergie de collision en électron-volt.

VI.2. Validation de la méthode de dosage UPLC-MS/MS

Cette section présente les performances analytiques obtenues pour la méthode UPLC-MS/MS de quantification simultanée d'Elexacaftor, Tezacaftor et Ivacaftor, conformément aux exigences du COFRAC. Les résultats sont rapportés par analyte et par niveau de concentration, confrontés aux critères d'acceptation, puis synthétisés en une conclusion d'aptitude de la méthode.

VI.2.1. Limites de Détection et de Linéarité (LOD, LLOQ & ULOQ)

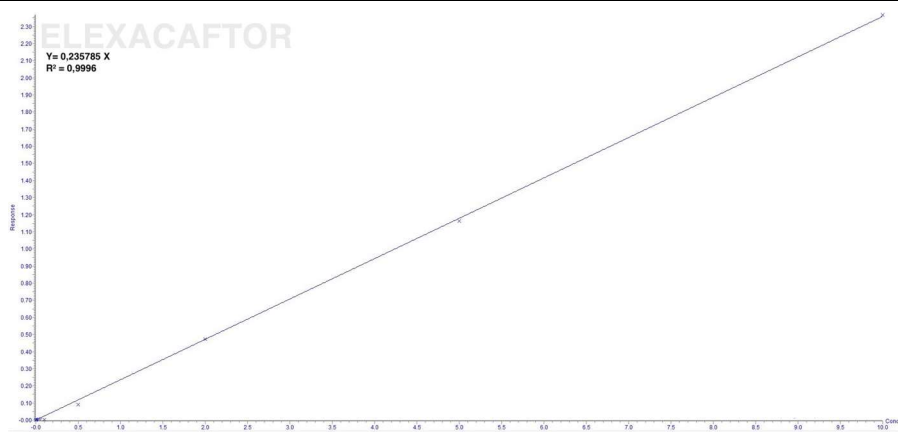
Tableau 16 : LOD, LLOQ et ULOQ retenues.

	Elexacaftor	Tezacaftor	Ivacaftor
Limites de détection (LOD) (mg/L)	0,2	0,1	0,1
Limites de quantification (LLOQ) (mg/L)	1	1	0,2
Limites de linéarité (ULOQ) (mg/L)	15	15	5

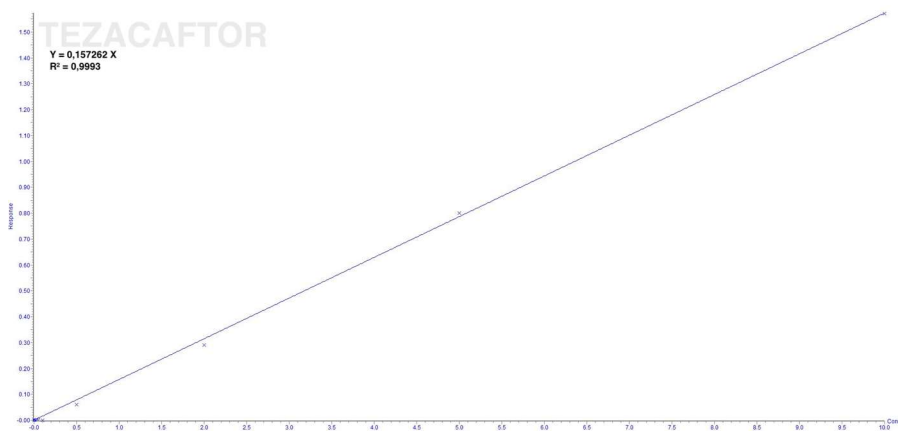
Ces performances permettent de quantifier des concentrations basses et hautes dans nos échantillons de routine.

VI.2.2. Gamme de Calibration et Linéarité

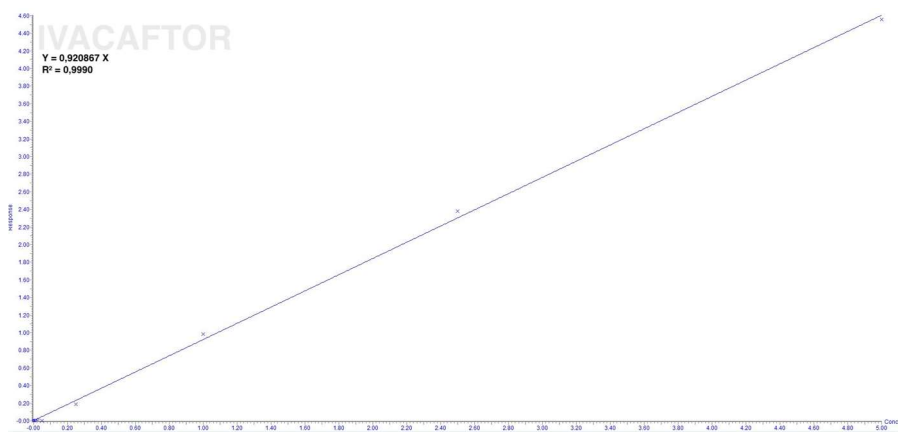
Pour chaque analyte (Elexacaftor, Tezacaftor, Ivacaftor), des courbes d'étalonnage ont été établies en matrice (plasma humain dépourvu d'analytes) sur au moins cinq niveaux non nuls, incluant la LLOQ et l'ULOQ. La **Figure 8** ci-dessous présente les courbes d'étalonnage ainsi que les coefficients de détermination obtenus (R^2) pour chaque molécule.



Courbe d'étalonnage de l'Elexacaftor



Courbe d'étalonnage de Tezacaftor



Courbe d'étalonnage de l'Ivacaftor

Figure 8 : Courbes d'étalonnages, R^2 obtenues par molécule.

VI.2.3. Répétabilité

Les résultats des tests de répétabilité sont résumés dans le tableau suivant.

Tableau 17 : Résultats des tests de répétabilité pour Elexacaftor (ELX), Tezacaftor (TEZ) et Ivacaftor (IVA).

Répétabilité Elaxacaftor (n =10)					
	Valeur (mg/L)	Moyenne	ET	CV (%)	Justesse (%)
CIQ1	1	1,48	0,12	7,92	47,95
CIQ2	6	8,74	0,85	9,69	45,70
Répétabilité Tezacaftor (n =10)					
	Valeur (mg/L)	Moyenne	ET	CV (%)	Justesse (%)
CIQ1	1	0,68	0,05	6,86	-31,51
CIQ2	6	3,83	0,38	10,01	-36,16
Répétabilité Ivacaftor (n =10)					
	Valeur (mg/L)	Moyenne	ET	CV (%)	Justesse (%)
CIQ1	0,5	0,58	0,03	5,79	15,18
CIQ2	3,0	2,84	0,25	8,79	- 5,27

CV : coefficient de variation en pourcentage ; ET : écart-type ; CIQ : contrôle interne de qualité.

VI.2.4. Fidélité intermédiaire

Les résultats des tests de Fidélité intermédiaire sont résumés dans le tableau suivant.

Tableau 18 : Résultats des tests de fidélité intermédiaire pour Elexacaftor (ELX), Tezacaftor (TEZ) et Ivacaftor (IVA).

Fidélité intermédiaire Elaxacaftor (n =13)					
	Valeur (mg/L)	Moyenne	ET	CV (%)	Justesse (%)
CIQ1	2,00	1,80	0,17	9,32	-9,85
CIQ2	10,00	9,95	1,33	13,34	13,34
Fidélité intermédiaire Tezacaftor (n =12)					
	Valeur (mg/L)	Moyenne	ET	CV (%)	Justesse (%)
CIQ1	2,00	1,95	0,21	10,66	-2,33
CIQ2	10,00	11,66	1,80	15,41	16,59
Fidélité intermédiaire Ivacaftor (n =13)					
	Valeur (mg/L)	Moyenne	ET	CV (%)	Justesse (%)
CIQ1	0,5	0,52	0,05	10,33	10,33
CIQ2	3,0	3,00	0,41	13,68	13,68

CV : coefficient de variation en pourcentage ; ET : écart-type ; CIQ : contrôle interne de qualité.

VI.2.5. Spécificité / sélectivité

Les essais de sélectivité ont confirmé l'absence d'interférences aux temps de rétention d'Elexacaftor, Tezacaftor et Ivacaftor. Sur l'ensemble des blancs matrice analysés, aucun signal exploitable n'a été détecté. L'analyse des échantillons enrichis a montré que le signal mesuré correspondait uniquement à l'analyte ajouté, sans contribution supplémentaire d'espèces co-éluant.

VI.2.6. Contamination

Le risque de contamination a été évalué à l'aide de séquences haut → bas répétées (H–L) conformément au protocole décrit dans la section IV.3.2. **Principes généraux de la validation de méthode.** Après des injections à forte concentration, les injections suivantes de blanc/faible concentration n'ont montré aucune élévation significative du signal aux transitions MRM des analytes. Le pourcentage de contamination calculé selon la formule pré-spécifiée est resté $\leq 1\%$, et le plus souvent indétectable.

VI.2.7. Stabilité

Plusieurs études de validation bio-analytique – réalisées selon les guides ICH, FDA ou EMA – ont évalué la stabilité des modulateurs CFTR Elexacaftor (ELX), Tezacaftor (TEZ) et Ivacaftor (IVA) dans le plasma. Leurs résultats concordants permettent de justifier l'absence d'étude de stabilité expérimentale supplémentaire dans la thèse. En effet, toutes ces études montrent que ces composés sont globalement stables dans les conditions de manipulation usuelles.

a. Stabilité à court terme (température ambiante)

Les trois molécules présentent une bonne stabilité pendant plusieurs heures à jours à température ambiante. Par exemple, aucune dégradation notable n'est observée après 24 h à 20-25°C ($\approx 100\%$ de la concentration initiale) (81,82). Plusieurs méthodes validées indiquent même une stabilité maintenue sur plus d'une semaine à température ambiante : jusqu'à 8 jours sans perte ($>85\%$ restant) (95). Néanmoins, une légère instabilité de l'Ivacaftor peut survenir sur des durées très prolongées : après 9 jours à température ambiante, environ 25% de perte d'Ivacaftor a été rapportée (contre stabilité quasi-intacte de Tezacaftor et Elexacaftor) (82).

b. Stabilité au froid (4°C)

Le stockage des échantillons réfrigérés conserve pleinement les concentrations. Les analyses montrent une stabilité de au moins 10 jours à +4°C, sans dégradation au-delà des critères d'acceptabilité (82). Dans certaines validations, aucune baisse significative n'est détectée sur 4 semaines à +4°C (81). Ainsi, le maintien des plasmas au réfrigérateur assure une bonne conservation à court et moyen terme.

c. Stabilité à long terme (congélation)

Les modulateurs CFTR se sont révélés stables sur de longues périodes lorsqu'ils sont conservés congelés (-20°C ou -80°C). Par exemple, après 5 mois à -80°C Elexacaftor (ELX), Tezacaftor (TEZ) et Ivacaftor (IVA) conservent plus de 85% de leur concentration initiale (82).

d. Stabilité après décongélation (cycles gel/dégel)

Les échantillons subissant des cycles de congélation/décongélation successifs ne montrent pas de perte significative des molécules actives. Les méthodes publiées incluent typiquement 3 à 4 cycles gel/dégel dans la validation : dans ces essais, les concentrations mesurées restent dans $\pm 15\%$ de la valeur initiale pour chaque cycle (95).

En synthèse, les données convergent pour montrer que les modulateurs CFTR ETI (ELX/TEZA/IVA) sont chimiquement stables dans le plasma humain, aussi bien à température ambiante contrôlée qu'au froid, et ce même sur des durées prolongées. Ils tolèrent également les cycles de congélation/décongélation sans perte significative. Toutes ces études – menées selon des protocoles de validation complets concluent que les variations de concentration restent dans les marges acceptables de $\pm 15\%$. Cela justifie qu'aucune étude expérimentale additionnelle de stabilité ne soit requise dans le cadre de la thèse : la littérature existante fournit déjà les garanties nécessaires quant à la stabilité de ces composés lors du prélèvement, du stockage et de l'analyse par UPLC-MS/MS. En d'autres termes, les protocoles analytiques de dosage peuvent s'appuyer sur ces données éprouvées, sans besoin de re-tester la stabilité des modulateurs de CFTR déjà démontrée par de multiples équipes.

VI.3. Analyse de la cohorte pédiatrique

VI.3.1. Données démographiques

Tous les patients inclus disposant d'un échantillon exploitable ont été dosés. Les résultats des dosages ainsi que l'ensemble des données nécessaires au calcul des AUC (âge, poids, taille, schéma d'administration) ont été transmis au laboratoire de Cochin pour le calcul des aires sous la courbe (AUC) de chaque molécule. Toutefois, seules les AUC des patients sous Kaftrio® (ELX/TEZ/IVA) et/ou Kalydeco® (IVA) ont pu être modélisés par le modèle pharmacocinétique. Ainsi, 5 patients qui n'étaient pas traités par Kaftrio® et/ou Kalydeco® ont été exclus car non éligibles au modèle pharmacocinétique. Les tableaux ci-dessous (**Tableau 19 et 20**) résument les données démographiques de la population étudiée ainsi que les mutations *CFTR* retrouvées. La **Figure 9** représente le diagramme de flux.

Tableau 19 : Démographie de la population incluse.

	Garçons (n=41)		Filles (n=32)	
	Age (années)	Poids (Kg)	Age (années)	Poids (Kg)
Moyenne	9,2	28,2	9,4	27,8
SD	4,8	16,9	4,2	14,8
Médiane	8,8	23,0	7,5	21,1
Min-Max	2,2-19,0	9,0-70,0	3,6-17,8	11,4-65,6

SD : déviation standard.

Après analyse des génotypes, 95,6 % des patients (65/68) portent la mutation F508del ; 64,7 % (44/68) sont homozygotes F508del/F508del, et 30,9 % (21/68) hétérozygotes. Le génotype le plus fréquent est F508del/F508del (n = 44). La combinaison F508del/1898+3A>G est observée chez 2 patients ; les autres associations sont uniques (une occurrence chacune).

Tableau 20 : Mutations retrouvées dans la population analysée.

Génotypes les plus fréquents (n=68)		
	Nombre	%
F508del/F508del	44	64,7
F508del/1898+3A>G	2	2,9
Autres combinaisons	22	32,4
Répartition de la mutation F508del (n=68)		
Patients avec mutation F508del	65	95,6
Patients homozygotes F508del/F508del	44	64,7
Patients hétérozygotes F508del/autre	21	30,9

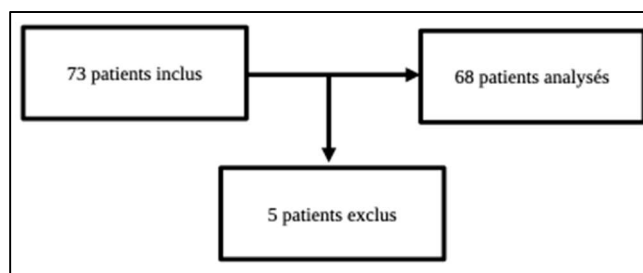


Figure 9 : Digramme de flux des patients.

VI.3.2. Données analytiques

Nous avons réalisé une analyse descriptive complète des dosages des trois composants de Kaftrio® (Elexacaftor, Tezacaftor, Ivacaftor). Les données traitées (102 mesures par molécule) ; englobent des résultats obtenus par des mesures au laboratoire (C_{prélèvement}) ainsi que des résultats estimés issus du modèle PK (AUC, C_{max}, C_{min}).

Le **Tableau 21** résume les résultats obtenus par notre méthode et ceux issus du modèle PopPK.

Le **Tableau 22** présente les variables analysées (cf. V.3.4. Analyse statistique).

Les **Figures 10** et **11** présentent les distributions des concentrations plasmatiques et des AUC pour chacune des trois molécules (Elexacaftor, Tezacaftor, Ivacaftor).

Tableau 21 : Distribution des paramètres PK de Elexacaftor, Tezacaftor et Ivacaftor.

	Moyenne	ET	CV	Min	Q1	Médiane	Q3	Max
Elexacaftor (n=102)								
C _{prélèvement}	9.93	5.97	62,32	0.10	5.58	8.95	12.40	27.40
AUC	210.10	91.01	44,50	77.80	140.28	183.00	250.10	520.00
C _{max}	10.73	3.88	36,16	4.25	8.13	9.77	12.73	24.19
C _{min}	6.11	3.64	59,57	1.46	3.62	5.05	8.12	18.66
Tezacaftor (n=102)								
C _{prélèvement}	6.42	3.75	58,87	0.10	3.85	6.00	7.80	20.60
AUC	106.33	32.84	30,70	44.90	89.17	100.55	120.60	247.10
C _{max}	7.02	1.77	25,21	2.71	5.95	7.05	7.76	13.38
C _{min}	2.23	1.09	48,88	0.79	1.43	1.99	2.69	7.37
Ivacaftor (n=102)								
C _{prélèvement}	1.70	1.23	75,46	0.10	0.90	1.30	2.08	7.50
AUC	16.80	9.31	55,52	5.20	11.05	14.00	18.68	58.40
C _{max}	1.69	0.80	47,34	0.53	1.16	1.52	1.89	5.21
C _{min}	1.00	0.74	74,00	0.21	0.55	0.81	1.10	4.39

Tableau 22 : Distribution des variables analysées.

Variable	n	Moyenne	Min	Q1	Médiane	Q3	Max
ALAT (TGP) (UI/L)	54	59.44	5.0	16.0	21.0	34.75	1400.0
Albumine sérique (g/L)	26	44.5	39.0	42.0	44.0	47.0	50.0
ASAT (TGO) (UI/L)	54	57.17	20.0	27.25	33.5	43.0	903.0
Bilirubine totale ($\mu\text{mol/L}$)	54	4.39	1.0	2.0	3.0	5.0	38.0
Créatine phosphokinase (CPK) (UI/L)	55	141.47	43.0	90.5	122.0	160.5	500.0
Créatinine ($\mu\text{mol/L}$)	54	3.72	1.0	3.0	3.0	4.0	9.0
Débit de filtration glomérulaire (mL/min)	54	187.26	126.0	165.0	184.5	210.75	269.0
Gamma-glutamyl transférase (GGT) (UI/L)	54	19.83	6.0	10.0	11.0	14.0	218.0
Phosphatase alcaline (PAL) (UI/L)	54	327.87	112.0	209.0	256.5	306.0	2814.0
Poids (kg)	68	28.37	9.0	17.15	22.9	36.05	70.0
Protéine C-réactive (CRP) (mg/L)	53	6.37	0.5	1.5	1.5	1.5	93.0
Sexe	68	37 garçons, 31 filles	-	-	-	-	-

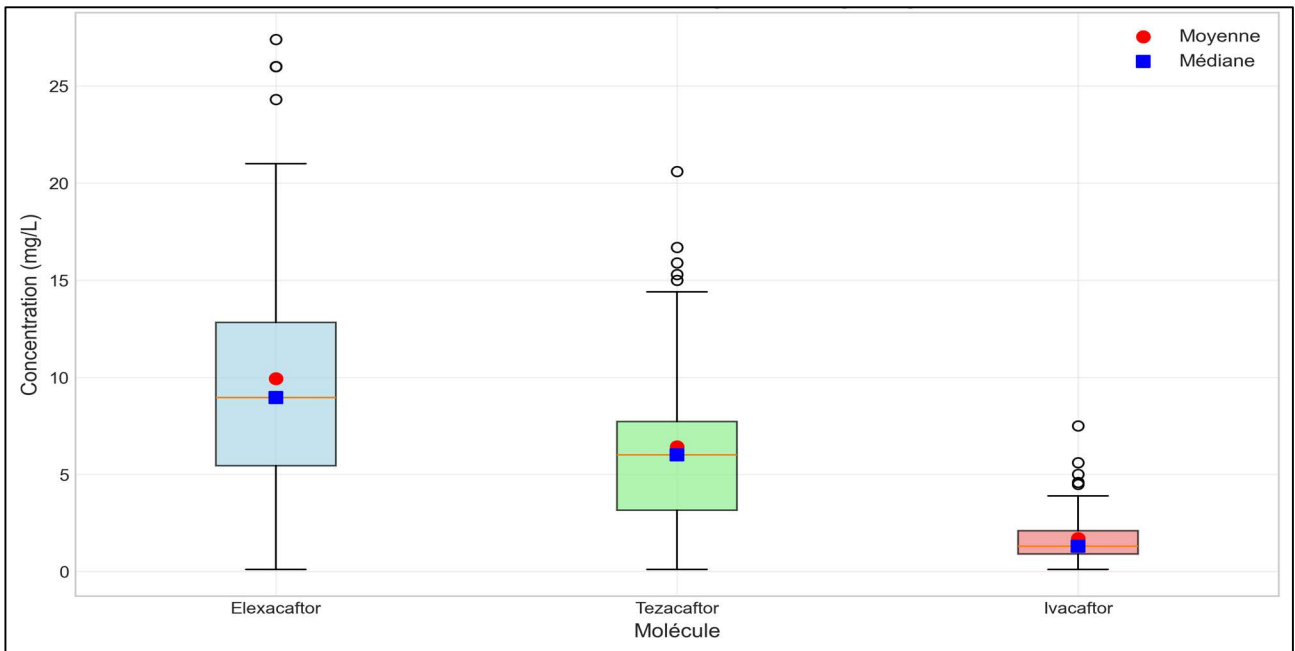


Figure 10-A

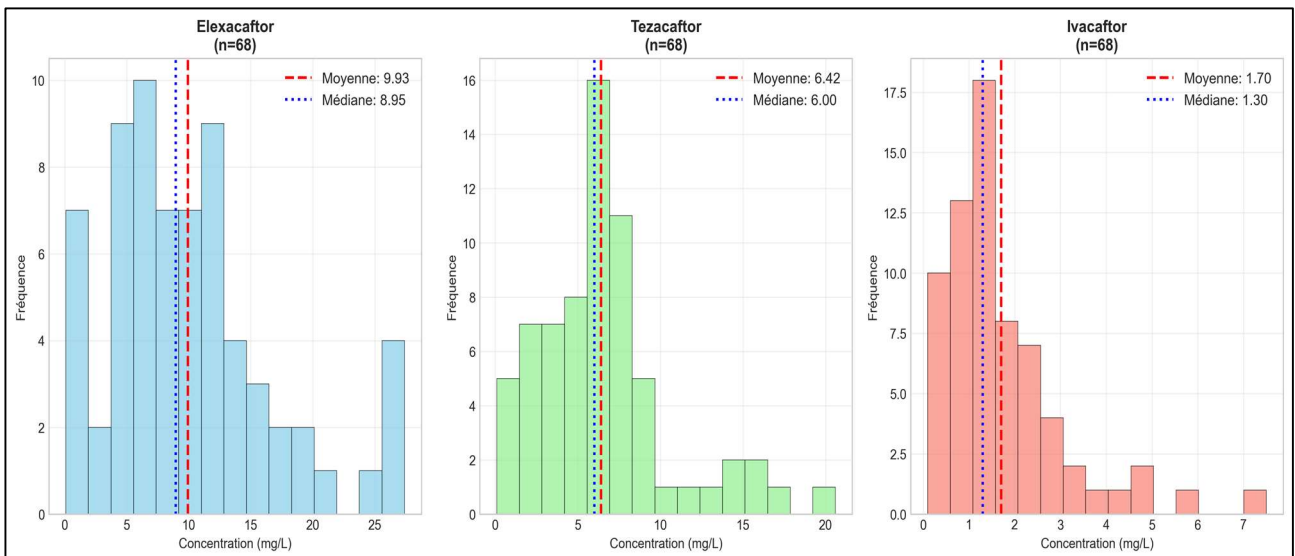


Figure 10-B

Figure 10 : Distribution des concentrations plasmatiques de ELX, TEZ et IVA. [A : boîtes à moustaches ; B : histogrammes]

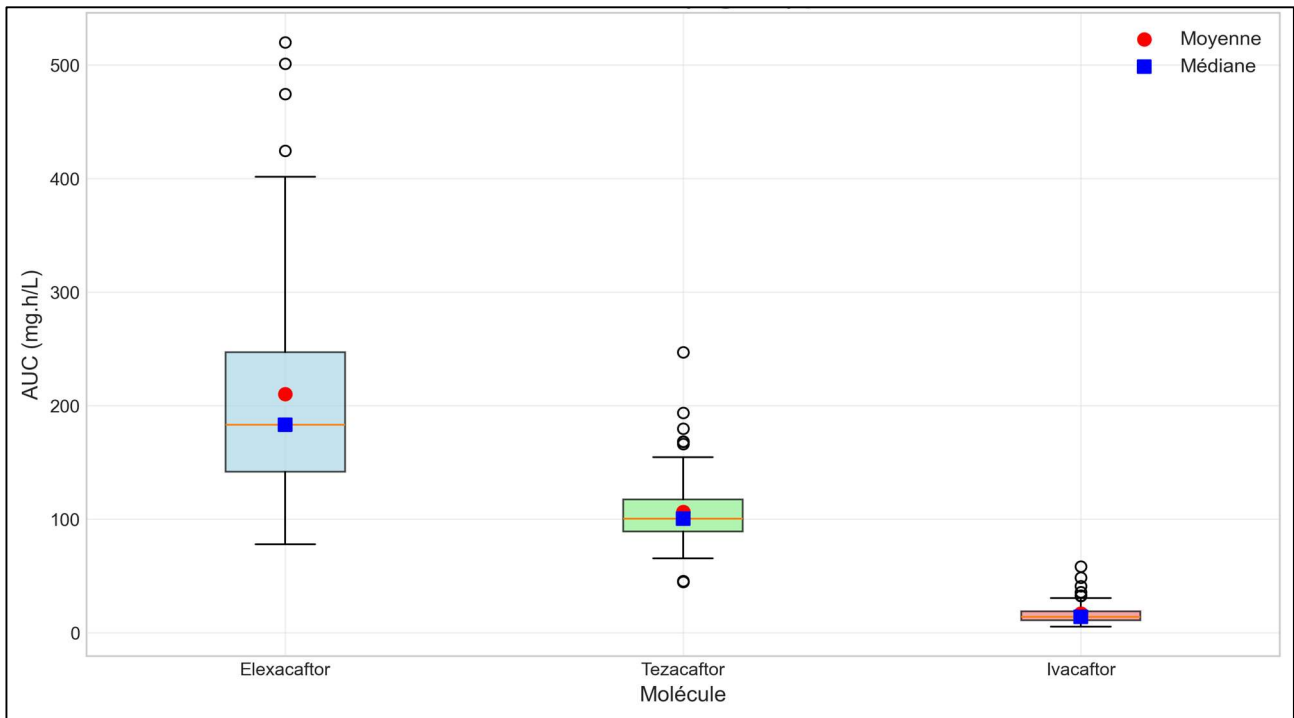


Figure 11-A

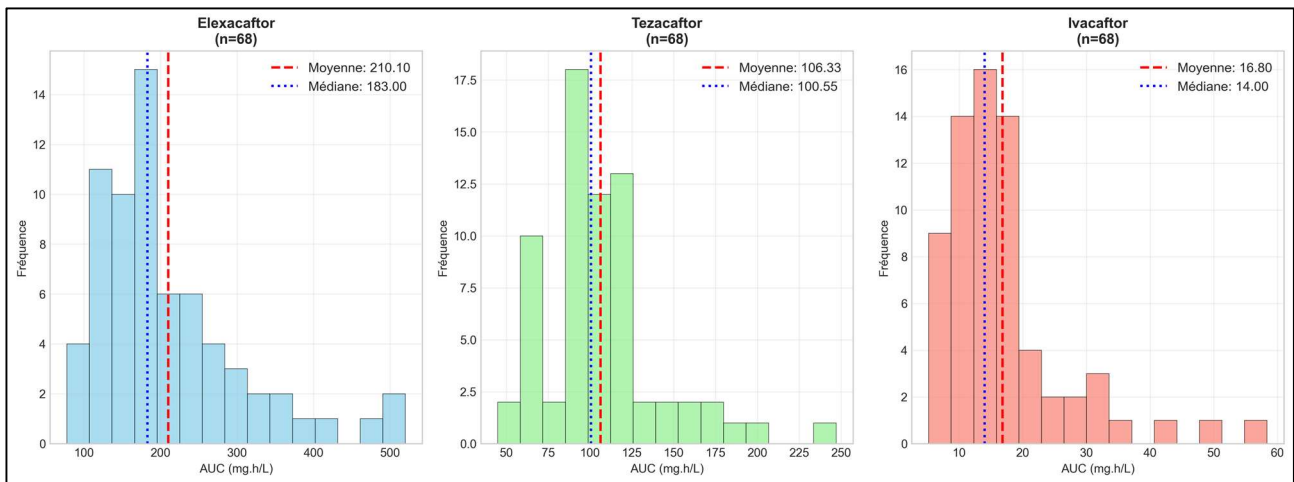


Figure 11-B

Figure 11 : Distribution des AUC de ELX, TEZ et IVA. [A : boîtes à moustaches ; B : histogrammes]

VI.3.3. Analyse statistique

a. L'analyse univariée

- Elexacaftor

L'analyse des régressions linéaires (**Figure 12**) montrent que trois paramètres sont significativement associés à l'AUC d'Elexacaftor :

- Débit de filtration glomérulaire (DFG) : $\beta = -1.13$, IC 95% [-2.04, -0.21], $p = 0.017$: Association négative significative : plus le DFG est élevé, plus l'AUC d'Elexacaftor est faible ;
- Créatinine : $\beta = 21.84$, IC 95% [1.31, 42.36], $p = 0.038$: Association positive significative : plus la créatinine est élevée, plus l'AUC d'Elexacaftor est élevée. Ce résultat est cohérent avec celui du DFG (la créatinine est inversement corrélée au DFG) ;
- Bilirubine totale : $\beta = 4.53$, IC 95% [-0.85, 9.91], $p = 0.097$: Tendance à une association positive au seuil de 0.20.

- Tezacaftor

Aucun paramètre n'est significativement associé à l'AUC de Tezacaftor au seuil de 0.05 (**Figure 13**).

Les associations les plus fortes (mais non significatives) sont :

- Créatinine : $\beta = 5.36$, IC 95% [-1.68, 12.40], $p = 0.132$;
- Gamma-glutamyl transférase (GGT) : $\beta = -0.19$, IC 95% [-0.46, 0.09], $p = 0.187$.

- Ivacaftor

Les résultats montrent que deux paramètres sont significativement associés à l'AUC d'Ivacaftor (**Figure 14**) :

- Débit de filtration glomérulaire (DFG) : $\beta = -0.09$, IC 95% [-0.17, -0.00], $p = 0.047$: Association négative significative : plus le DFG est élevé, plus l'AUC d'Ivacaftor est faible ;
- Créatinine : $\beta = 1.98$, IC 95% [0.13, 3.83], $p = 0.036$: Association positive significative : plus la créatinine est élevée, plus l'AUC d'Ivacaftor est élevée.

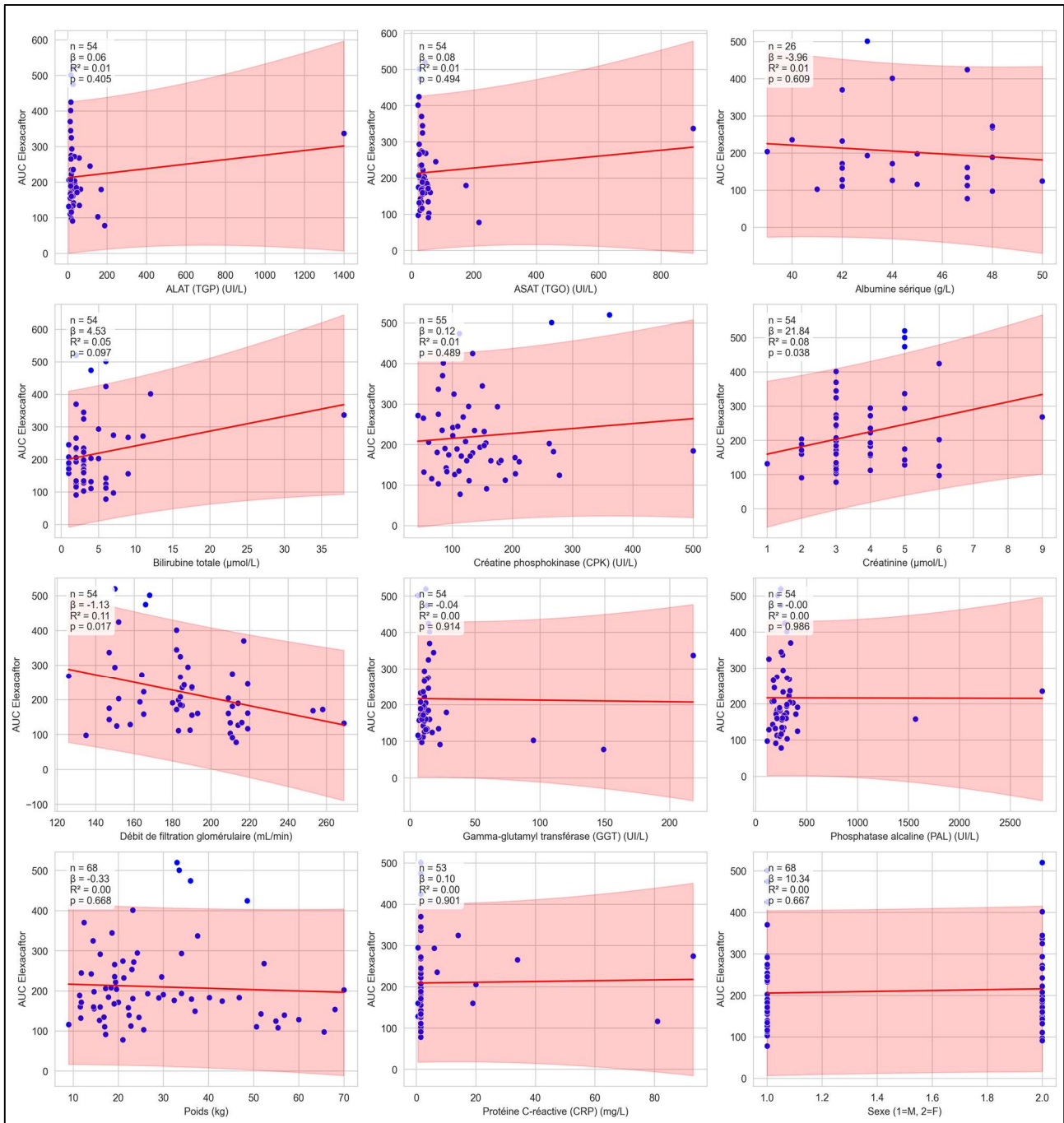


Figure 12 : Analyse de corrélation entre l'AUC de Elexacaftor et les variables sélectionnées.

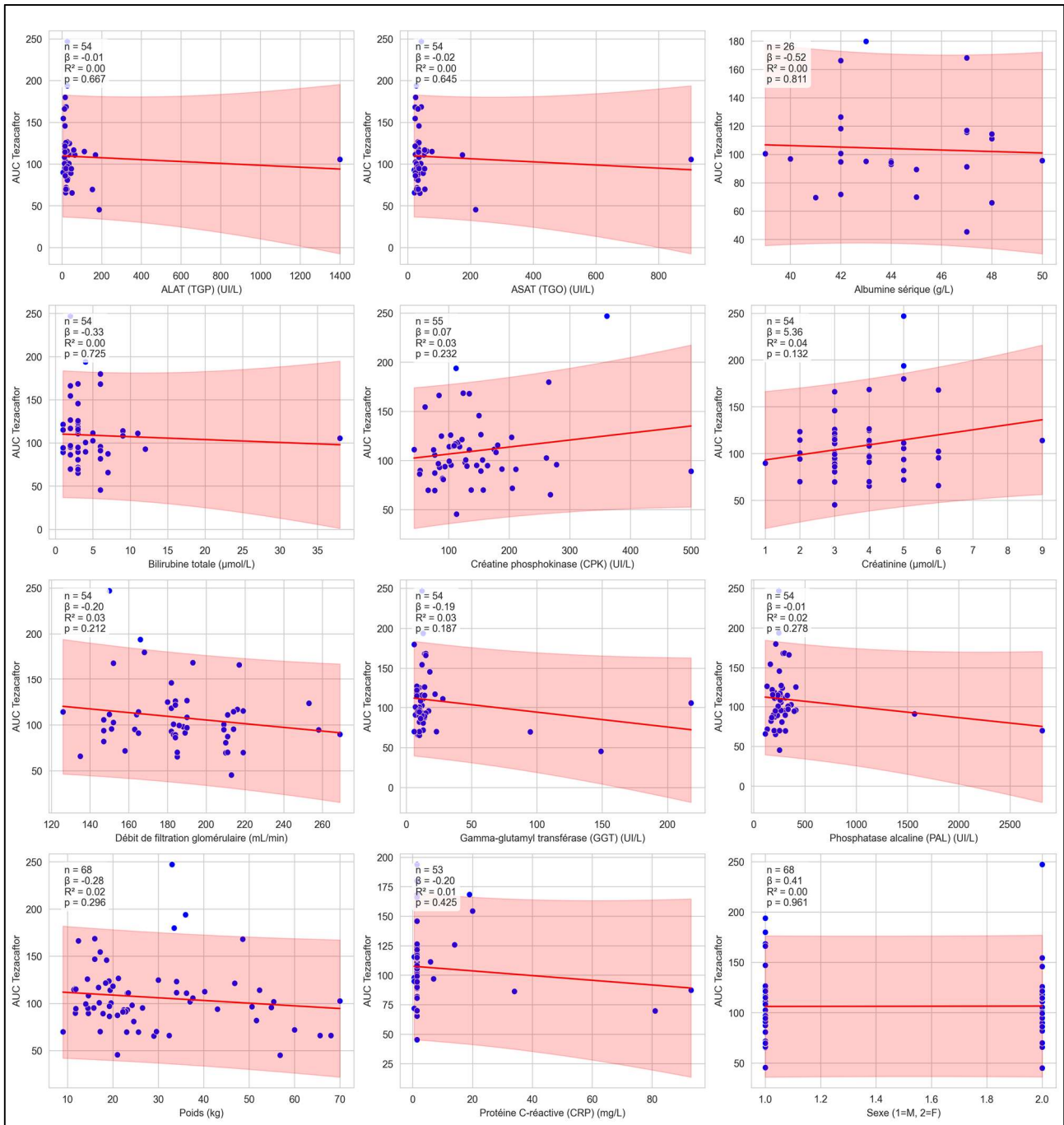


Figure 13 : Analyse de corrélation entre l'AUC de Tezacaffor et les variables sélectionnées.

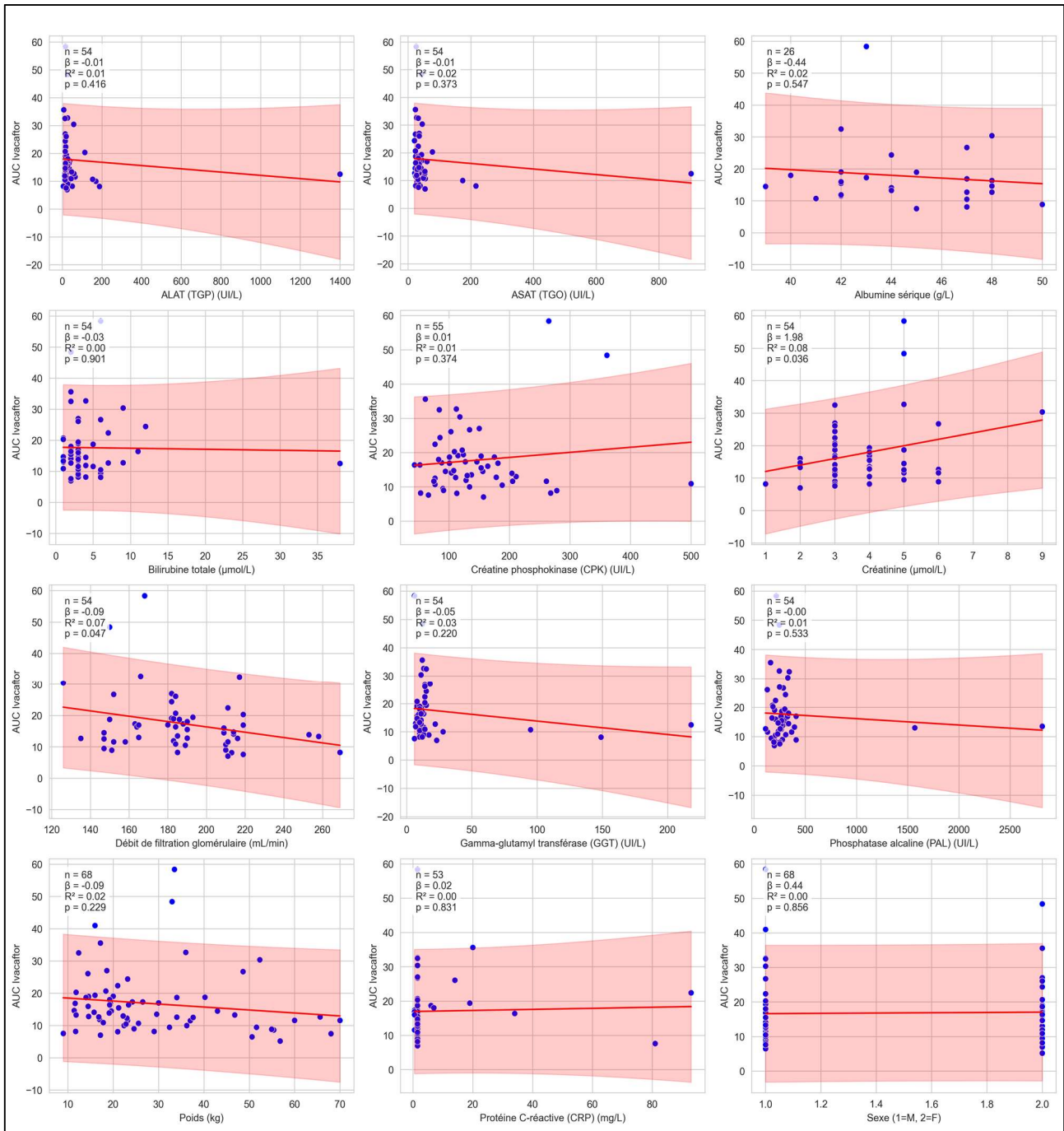


Figure 14 : Analyse de corrélation entre l'AUC de Ivacaftor et les variables sélectionnées.

b. L'analyse multivariée

Les variables significatives ($p < 0,05$) ainsi que les variables ayant montré des tendances ($p < 0,20$) seront utilisées comme variables d'ajustement dans l'analyse multivariée. Le poids (kg) a été inclus dans tous les modèles multivariés indépendamment de sa significativité univariée, en raison de sa pertinence théorique et des arguments disponibles dans la littérature chez l'enfant (79). Les résultats sont présentés dans le **Tableau 23**.

• Elexacaftor

Chaque paramètre a été analysé après ajustement sur les variables sélectionnées (Bilirubine totale, Créatinine, DFG, Poids) :

- Albumine sérique : Tendance à une association négative ($\beta = -14.18, p = 0.099$) ;
- Poids : Tendance à une association négative ($\beta = -3.27, p = 0.055$).

Aucun autre paramètre n'est significativement associé à l'AUC après ajustement.

• Tezacaftor

Chaque paramètre a été analysé après ajustement sur les variables sélectionnées (Créatinine, GGT, Poids) :

- Créatinine : Association positive significative ($\beta = 16.84, p = 0.006$) ;
- Phosphatase alcaline : Tendance à une association négative ($\beta = -0.02, p = 0.166$) ;
- Poids : Association négative significative ($\beta = -1.30, p = 0.023$) ;
- Protéine C-réactive : Tendance à une association négative ($\beta = -0.34, p = 0.161$).

• Ivacaftor

Chaque paramètre a été analysé après ajustement sur les variables sélectionnées (DFG, Créatinine, Poids) :

- Albumine sérique : Tendance à une association négative ($\beta = -1.13, p = 0.142$) ;
- Créatinine : Association positive significative ($\beta = 4.15, p = 0.041$) ;
- Poids : Association négative significative ($\beta = -0.37, p = 0.013$).

Tableau 23 : Analyse de la corrélation par régression linéaire univariée et multivariée entre les AUC de Elexacaftor, Tezacaftor, Ivacaftor et les variables sélectionnées.

AUC Elexacaftor								
Variable	Univariée				Multivariée ¹			
	n	β	IC 95 %	p-value	n	β	IC 95 %	p-value
ALAT (TGP) (UI/L)	54	0.06	[-0.09, 0.22]	0.405	52	-0.12	[-0.43, 0.20]	0.462
Albumine sérique (g/L)	26	-3.96	[-19.70, 11.78]	0.609	26	-14.18	[-31.31, 2.94]	0.099
ASAT (TGO) (UI/L)	54	0.08	[-0.16, 0.32]	0.494	52	-0.23	[-0.71, 0.26]	0.351
Bilirubine totale ($\mu\text{mol/L}$)	54	4.53	[-0.85, 9.91]	0.097*	52	2.74	[-2.84, 8.31]	0.328
Créatine phosphokinase (CPK) (UI/L)	55	0.12	[-0.23, 0.47]	0.489	51	0.10	[-0.27, 0.47]	0.604
Créatinine ($\mu\text{mol/L}$)	54	21.84	[1.31, 42.36]	0.038*	52	25.23	[-20.53, 71.00]	0.273
Débit de filtration glomérulaire (mL/min)	54	-1.13	[-2.04, -0.21]	0.017*	52	-1.16	[-2.93, 0.61]	0.194
Gamma-glutamyl transférase (GGT) (UI/L)	54	-0.04	[-0.87, 0.78]	0.914	52	-0.76	[-1.94, 0.42]	0.204
Phosphatase alcaline (PAL) (UI/L)	54	-0.00	[-0.07, 0.07]	0.986	52	-0.01	[-0.08, 0.06]	0.838
Poids (kg)	68	-0.33	[-1.87, 1.21]	0.668	52	-3.27	[-6.61, 0.08]	0.055
Protéine C-réactive (CRP) (mg/L)	53	0.10	[-1.44, 1.63]	0.901	50	0.16	[-1.37, 1.69]	0.833
Sexe	68	10.34	[-37.41, 58.10]	0.667	52	-6.86	[-102.60, 88.88]	0.886

AUC Tezacaftor								
Variable	Univariée				Multivariée ²			
	n	β	IC 95 %	p-value	n	β	IC 95 %	p-value
ALAT (TGP) (UI/L)	54	-0.01	[-0.06, 0.04]	0.667	52	0.05	[-0.05, 0.15]	0.311
Albumine sérique (g/L)	26	-0.52	[-4.98, 3.93]	0.811	26	-1.24	[-5.73, 3.25]	0.571
ASAT (TGO) (UI/L)	54	-0.02	[-0.10, 0.06]	0.645	52	0.09	[-0.08, 0.25]	0.293
Bilirubine totale ($\mu\text{mol/L}$)	54	-0.33	[-2.22, 1.56]	0.725	52	0.48	[-2.34, 3.30]	0.732
Créatine phosphokinase (CPK) (UI/L)	55	0.07	[-0.05, 0.19]	0.232	51	0.07	[-0.06, 0.19]	0.278
Créatinine ($\mu\text{mol/L}$)	54	5.36	[-1.68, 12.40]	0.132**	52	16.84	[4.95, 28.73]	0.006*
Débit de filtration glomérulaire (mL/min)	54	-0.20	[-0.52, 0.12]	0.212	52	-0.09	[-0.69, 0.50]	0.757
Gamma-glutamyl transférase (GGT) (UI/L)	54	-0.19	[-0.46, 0.09]	0.187**	52	-0.17	[-0.44, 0.09]	0.203
Phosphatase alcaline (PAL) (UI/L)	54	-0.01	[-0.04, 0.01]	0.278	52	-0.02	[-0.04, 0.01]	0.166
Poids (kg)	68	-0.28	[-0.82, 0.25]	0.296	52	-1.30	[-2.42, -0.18]	0.023*
Protéine C-réactive (CRP) (mg/L)	53	-0.20	[-0.70, 0.30]	0.425	50	-0.34	[-0.81, 0.14]	0.161
Sexe	68	0.41	[-16.45, 17.28]	0.961	52	2.41	[-17.10, 21.93]	0.805

AUC Ivacaftor								
Variable	Univariée				Multivariée ³			
	n	β	IC 95 %	p-value	n	β	IC 95 %	p-value
ALAT (TGP) (UI/L)	54	-0.01	[-0.02, 0.01]	0.416	52	-0.01	[-0.02, 0.01]	0.272
Albumine sérique (g/L)	26	-0.44	[-1.92, 1.04]	0.547	26	-1.13	[-2.66, 0.41]	0.142
ASAT (TGO) (UI/L)	54	-0.01	[-0.03, 0.01]	0.373	52	-0.01	[-0.03, 0.01]	0.263
Bilirubine totale ($\mu\text{mol/L}$)	54	-0.03	[-0.55, 0.49]	0.901	52	-0.19	[-0.69, 0.31]	0.442
Créatine phosphokinase (CPK) (UI/L)	55	0.01	[-0.02, 0.05]	0.374	53	0.02	[-0.02, 0.05]	0.304
Créatinine ($\mu\text{mol/L}$)	54	1.98	[0.13, 3.83]	0.036*	54	4.15	[0.17, 8.14]	0.041*
Débit de filtration glomérulaire (mL/min)	54	-0.09	[-0.17, -0.00]	0.047*	54	-0.06	[-0.21, 0.09]	0.450
Gamma-glutamyl transférase (GGT) (UI/L)	54	-0.05	[-0.12, 0.03]	0.220	52	-0.04	[-0.11, 0.03]	0.224
Phosphatase alcaline (PAL) (UI/L)	54	-0.00	[-0.01, 0.00]	0.533	52	-0.00	[-0.01, 0.00]	0.371
Poids (kg)	68	-0.09	[-0.24, 0.06]	0.229	54	-0.37	[-0.66, -0.08]	0.013*
Protéine C-réactive (CRP) (mg/L)	53	0.02	[-0.13, 0.16]	0.831	52	-0.01	[-0.14, 0.13]	0.899

Sexe	68	0.44	[-4.33, 5.20]	0.856	54	0.64	[-7.57, 8.85]	0.876
------	----	------	---------------	-------	----	------	---------------	-------

* p-value < 0.05

** p-value < 0.20

1 : Ajustement pour : Bilirubine totale, Créatinine, Débit de filtration glomérulaire (DFG), Poids.

2 : Ajustement pour : Créatinine, Gamma-glutamyl transférase (GGT), Poids.

3 : Ajustement pour : Créatinine, Débit de filtration glomérulaire (DFG), Poids.

VII. DISCUSSION

VII.1. Développement de la méthode

Notre objectif était de mettre au point un dosage UPLC-MS/MS simultané d'Elxacaftor (ELX), Tezacaftor (TEZ) et Ivacaftor (IVA) compatible avec les contraintes pédiatriques (faibles volumes, chaîne analytique hospitalière), en s'adossant au cadre COFRAC pour la validation de la bio-analyse. La méthode développée s'inscrit dans cet esprit d'opérationnalité en routine, avec des temps de rétention courts ($\approx 1,7-3,9$ min) et une stratégie d'extraction par précipitation protéique (PPT) à l'acétonitrile, pensée pour des volumes pédiatriques (≤ 200 μL).

Ci-dessous, nous discutons de façon critique ces choix au regard de deux méthodes de référence citées dans la thèse : Pigliasco *et al.* (81) et Mancini *et al.* (82).

VII.1.1. Préparation d'échantillon et volumes requis

Nous avons opté pour une précipitation par ajout d'acétonitrile (ACN) et d'étalon interne isotopique commun dans une logique de « haut débit » et de ciblage explicite des très faibles volumes pédiatriques. Pigliasco a opté pour une précipitation au méthanol (200 μL) sur 50 μL de plasma et centrifugation rapide (81). Mancini a également opté pour une précipitation à l'acétonitrile (82).

Les trois approches convergent vers la précipitation protéique à faible volume. Le choix de l'acétonitrile ou du méthanol dépend essentiellement des habitudes des équipes. En pratique, le méthanol peut réduire certains effets matrice phospholipidiques, tandis que l'acétonitrile améliore souvent la déprotéinisation : un test comparatif acétonitrile vs méthanol sur notre matrice pédiatrique pourrait être une piste d'optimisation.

VII.1.2. Chromatographie et débit analytique

Notre méthode dure 7,0 min par prélèvement avec des temps de rétention distincts pour chacune des molécules (ELX/TEZ/IVA).

La méthode présentée par Pigliasco (UHPLC Thermo) dure 5,0 min par prélèvement. Elle utilise une colonne Accucore Polar Premium 50 \times 2,1 mm, 2,6 μm (81).

La méthode présentée par Mancini (UHPLC Agilent) dure 10,5 min par prélèvement ; elle utilise une colonne Luna Omega Polar C18 100 \times 2,1 mm, 1,6 μm . Notons l'ajout de 25 % isopropanol (IPA) dans la phase B (82).

Notre méthode atteint un compromis débit / résolution pertinent. Pigliasco est plus rapide (5 min) ; Mancini est plus long (10,5 min) mais gagne en sélectivité (colonne plus longue, particules 1,6 µm), cette approche peut être utile si l'on vise une sensibilité basse et une séparation accrue.

VII.1.3. Détection et transitions MRM

Notre méthode utilise une ionisation positive par Electrospray (ESI+). Les transitions principales retenues sont : ELX 598.2→329.2, TEZ 521.5→197.1, IVA 393.4→172.2.

Pigliasco a également retenu des transitions très proches (81). Mancini a utilisé des transitions différentes : ELX 598.2→422.2, TEZ 521.2→449.1, IVA 393.2→172.0 (82).

Notre méthode présente un bon alignement : la sélectivité MRM est conforme aux articles cités, ce qui soutient la comparabilité inter-méthodes.

VII.1.4. Étalon interne et contrôle de l'effet matrice

Notre méthode utilise un seul EI (IVA-d19) utilisé pour les trois analytes (choix économique et simple), avec critères COFRAC sur la variation IS (< 20 %).

Pigliasco utilise des EI deutérés spécifiques : IVA-d9, TEZ-d9, ELX-d3 (81). Mancini utilise également des EI spécifiques : IVA-d9, TEZ-d4, ELX-d3 (82).

L'usage d'un EI unique peut dégrader la justesse en présence d'effets matrice différents entre molécules. L'adoption d'EI analyte-spécifiques pourrait être une recommandation forte si l'abaissement des LLOQ devenait un objectif prioritaire.

En regard des deux références, notre méthode est opérationnelle (infrastructure hospitalière, 7 min/injection, transitions MRM conformes) et cohérente avec les exigences COFRAC.

VII.2. Validation/performances de la méthode

L'objectif de validation était de démontrer que la méthode UPLC-MS/MS multiplex (ETI) développée est sensible, juste, fidèle et applicable en routine selon le référentiel COFRAC. Les paramètres évalués couvrent LOD/LLOQ/ULOQ, linéarité, répétabilité et fidélité intermédiaire, sélectivité, contamination, et la stabilité (temps court, froid, long terme, autosampler) avec confrontation aux deux méthodes de référence publiées (Pigliasco *et al.*, Mancini *et al.*).

VII.2.1. Sensibilité (LLOQ) et domaine de mesure (ULOQ)

Dans notre méthode, les LOD/LLOQ/ULOQ (mg/L) sont respectivement par molécule : ELX 0,2/1/15 ; TEZ 0,1/1/15 ; IVA 0,1/0,2/5. Le domaine de mesure a été dimensionné pour les concentrations cliniques usuelles mais LLOQ est relativement élevé pour TEZ/ELX.

Pigliasco déclare une LLOQ à 0,008 mg/L commune (gamme 0,008–12 mg/L) (81). Mancini rapporte une LLOQ à 0,1 mg/L et une gamme allant de 0,1 à 20 mg/L (82).

La sensibilité de notre méthode est nettement moindre que celle de Pigliasco et de Mancini. Pour un suivi pédiatrique incluant des taux résiduels très bas, l'écart peut être limitant. Deux pistes concrètes, validées dans les articles, permettraient d'abaisser la LLOQ : (i) Isotopes dédiés par analyte (ELX-d3, TEZ-d4/-d9, IVA-d9/-d19) au lieu d'un EI unique (IVA-d19) ; (ii) Optimiser la colonne/gradient (ex : Polar C18 plus long et fraction d'IPA dans la phase B), au prix d'un temps d'analyse légèrement accru (81,82).

VII.2.2. Linéarité et calibration

Notre méthode utilise des courbes de calibration en matrice à 5 points incluant LLOQ/ULOQ avec un coefficient de corrélation R^2 de 0,99.

Pigliasco a retenu 9 points avec une régression quadratique pondérée $1/x$, $R^2 \geq 0,999$ (81). Mancini a retenu 6 points, $R^2 \geq 0,99$ (82).

Une piste d'amélioration serait d'étendre la courbe à 8–9 points et appliquer une pondération $1/x$ (voire $1/x^2$) afin de réduire les erreurs au bas de courbe et baisser la LLOQ, comme proposé par Pigliasco (81).

VII.2.3. Répétabilité et fidélité intermédiaire

La répétabilité a été évaluée sur dix passages ($n = 10$) : les coefficients de variation (CV) sont conformes ($< 15\%$) pour les trois molécules. En revanche, des biais importants de justesse ont été observés à certains niveaux pour le Tezacaftor ($\approx -32\%$ et -36%) et l'Elexacaftor ($\approx +46\%$ et $+48\%$), suggérant un problème de cibles des contrôles internes de qualité (CIQ). Cet écart est très probablement lié à l'utilisation de solutions étalons préparées au laboratoire à partir de poudres de référence. Le recours à des solutions commerciales certifiées et l'augmentation du nombre de réplicats devraient réduire ces biais. Concernant la fidélité intermédiaire, les CV et les biais se situent en limite des critères mais demeurent acceptables ; l'extension du nombre de séries/jours de validation devrait corriger le décalage observé.

Dans le cas de Pigliasco, la répétabilité et fidélité intermédiaire respectent un CV ≤ 14 % ; une exactitude 85–115 % à tous niveaux (81).

Dans le cas de Mancini, la répétabilité et la fidélité intermédiaire respectent un CV ≤ 15 %, un biais ≤ 15 % sur la gamme et ≤ 20 % à la LLOQ (82).

La précision de notre méthode est satisfaisante, mais l'exactitude de TEZ et ELX est à corriger sur certains niveaux de CIQ. Actions prioritaires : (i) vérifier concentrations des CIQ ; (ii) préparer une série de CIQ avec EI dédiés ; (iii) refaire l'évaluation de l'exactitude sur 3 jours (≥ 5 réplicats/niveau).

VII.2.4. Sélectivité et Contamination

Dans notre méthode, les tests de sélectivité et de contamination satisfaisaient les critères CIFRAC.

De même, Pigliasco et Mancini rapportent des résultats comparables (81,82).

VII.2.5. Stabilité, sélectivité et portage en routine

Notre méthode : Validation dans le cadre COFRAC (ISO 15189). Pour la stabilité, nous nous sommes appuyés sur la littérature (stabilité à RT, +4 °C et congélation) montrant des variations $\leq \pm 15$ %, et justifiant l'absence d'essais supplémentaires.

En conclusion, notre méthode satisfait les critères COFRAC, mais présente deux écarts par rapport aux meilleures pratiques publiées : (i) sensibilité limitée (LLOQ TEZ/ELX = 1 mg/L) ; (ii) biais d'exactitude pour TEZ/ELX à certains niveaux.

VII.3. Analyse de la cohorte pédiatrique

VII.3.1. Design de l'étude et validité externe de la cohorte pédiatrique

La cohorte pédiatrique analysée est issue d'une étude monocentrique prospective incluant 73 patients atteints de mucoviscidose (41 garçons, 32 filles) âgés de 2 à 18 ans. Tous étaient traités par la trithérapie modulatrice ETI (Elexacaftor/Tezacaftor/Ivacaftor) (Kaftrio®) et/ou Ivacaftor seul (Kalydeco®), avec un prélèvement sanguin réalisé à proximité de la concentration résiduelle (C_{min}) couplé à un recueil prospectif des données démographiques, génétiques et biologiques. Cette population présente une forte proportion de mutations F508del (95,6 % porteurs, dont 64,7 % homozygotes), du fait des critères d'éligibilité aux modulateurs CFTR. De ce fait, la validité externe est limitée principalement aux patients pédiatriques porteurs de F508del et bénéficiant de ces traitements. Par ailleurs, 5 enfants traités par Lumacaftor/Ivacaftor (Orkambi®) ont été exclus de l'analyse d'exposition faute de pouvoir appliquer le modèle pharmacocinétique. Ainsi, les résultats concernent l'exposition ETI chez l'enfant. Bien que la cohorte décrive fidèlement la prise en charge dans un centre spécialisé, son caractère monocentrique et la distribution génétique restreinte peuvent limiter la généralisation des conclusions à l'ensemble de la population pédiatrique mucoviscidosique (notamment aux patients sans F508del ou sous d'autres modulateurs). La conception ponctuelle (un seul prélèvement par patient dans la grande majorité des cas) ne permet pas d'appréhender la variabilité intra-individuelle ni de relier directement l'exposition aux effets cliniques au cours du temps. Ces éléments doivent être pris en compte dans l'interprétation des données et suggèrent la nécessité d'études pédiatriques multicentriques complémentaires pour confirmer la représentativité des résultats.

VII.3.2. Niveaux d'exposition (AUC) observés dans la cohorte pédiatrique

Les aires sous la courbe (AUC) à l'état d'équilibre observées chez les enfants témoignent d'une exposition importante aux modulateurs, avec une variabilité interindividuelle notable. La médiane d'AUC est d'environ 183 mg·h/L pour l'Elexacaftor, 100 mg·h/L pour le Tezacaftor et 14 mg·h/L pour l'Ivacaftor. L'étendue des valeurs d'exposition est large : par exemple, l'AUC d'Ivacaftor va d'environ 5 mg·h/L chez le patient le moins exposé jusqu'à 58 mg·h/L chez le plus exposé, soit un rapport d'environ 1 à 11. De même, l'Elexacaftor présente une AUC minimale autour de 78 mg·h/L et maximale de 520 mg·h/L, reflétant une dispersion très importante. Le coefficient de variation (CV) de l'AUC est élevé pour Ivacaftor (~55 %) et Elexacaftor (~45 %), un peu moindre pour Tezacaftor (~30 %). Cette variabilité traduit des différences pharmacocinétiques interindividuelles marquées au sein de la population pédiatrique, malgré des schémas posologiques standardisés par classes de poids/âge. Il est à noter que les concentrations mesurées ($C_{\text{prélèvement}}$) étaient également très dispersées

(ex : IVA médiane $\sim 1,30$ mg/L, min 0,10 – max 7,50 mg/L), confirmant l'hétérogénéité de l'absorption et de l'élimination d'un enfant à l'autre mais également la difficulté à réaliser les prélèvements de façon standardisée dans la pratique réelle. Globalement, les niveaux d'exposition pédiatriques observés se situent dans des ordres de grandeur comparables à ceux rapportés chez l'adulte sous modulateurs, voire supérieurs chez certains patients plus jeunes (doses rapportées au poids plus élevées) (96). La majorité des enfants de la cohorte présentaient ainsi des concentrations plasmatiques au moins dans la fourchette attendue chez l'adulte pour une réponse clinique, beaucoup étant même au-dessus des concentrations minimales efficaces extrapolées de l'adulte (96).

Ces résultats suggèrent que le schéma posologique actuel permet en général d'atteindre l'exposition souhaitée en pédiatrie, tout en soulignant l'existence de cas d'expositions atypiques (basses ou élevées) qui méritent une attention particulière.

VII.3.3. Facteurs de variabilité interindividuelle de l'AUC

Une analyse des covariables a été réalisée pour identifier les facteurs associés à la variabilité de l'exposition (AUC) entre les patients. En analyse univariée, l'Elexacaftor et l'Ivacaftor montrent des corrélations significatives avec les marqueurs de la fonction rénale : un débit de filtration glomérulaire (DFG) élevé est associé à une AUC plus faible ($\beta = -1,13$ pour ELX, $p = 0,017$; $\beta = -0,09$ pour IVA, $p = 0,047$), tandis qu'une créatinine plasmatique plus élevée (donc DFG plus bas) est associée à une AUC accrue ($\beta = +21,8$ pour ELX, $p = 0,038$; $\beta = +1,98$ pour IVA, $p = 0,036$). Ces deux facteurs reflètent un même phénomène (clairance moindre chez les patients à DFG plus bas, donc exposition plus forte) et suggèrent qu'une fonction rénale modérément réduite – ou plus exactement un âge/poids plus élevé corrélé à la créatininémie – pourrait contribuer à augmenter l'exposition aux modulateurs. Une tendance non significative est notée entre la bilirubine totale et l'AUC d'Elexacaftor ($\beta = +4,53$, $p = 0,097$), pouvant évoquer qu'une fonction hépatique altérée (bilirubine élevée) augmenterait l'exposition, bien que cela ne soit pas confirmé au seuil de significativité. En revanche, pour le Tezacaftor, aucun facteur (poids, sexe ou paramètres biologiques) n'est ressorti significatif en univarié ($p > 0,05$). Les meilleures corrélations (non significatives) pour le TEZ suggéraient un effet de la créatinine ($\beta = +5,36$, $p = 0,132$) et possiblement de la GGT ($\beta = -0,19$, $p = 0,187$), mais sans atteindre le seuil requis.

En analyse multivariée, intégrant simultanément les variables d'intérêt (notamment le poids, la créatininémie, le DFG et les tendances observées en univarié), peu de covariables conservent une association indépendante avec l'exposition. **Pour l'Ivacaftor**, on confirme l'effet significatif de la créatinine ($\beta = +4,15$, $p = 0,041$) et du poids corporel ($\beta = -0,37$, $p = 0,013$) sur l'AUC. Concrètement, à dose standard, les enfants plus lourds présentent des AUC plus faibles (dilution par un volume de

distribution et une clairance augmentée), alors qu'une créatinine élevée s'associe à une AUC plus élevée. Une tendance négative de l'albumine sérique sur l'AUC de IVA est notée ($\beta = -1,13$, $p = 0,14$) sans atteindre la significativité. **Pour le Tezacaftor**, de façon intéressante, l'analyse multivariée fait émerger deux associations significatives non détectées en univarié : la créatinine ($\beta = +16,84$, $p = 0,006$) et le poids ($\beta = -1,30$, $p = 0,023$) influencent l'AUC de TEZ. Cela suggère que, bien que chaque facteur pris isolément manquait de puissance pour TEZ, c'est la combinaison des deux (en ajustant l'un pour l'autre) qui révèle leur impact. Ainsi, à poids égal, une créatininémie plus forte (donc DFG plus bas) augmente l'exposition au Tezacaftor, tandis qu'à créatininémie égale, un poids plus élevé la diminue – en accord avec l'hypothèse que le poids (donc la taille de l'enfant) et la maturation rénale/hépatique impactent le métabolisme du TEZ. Aucune autre variable (y compris le sexe) n'est ressortie comme déterminant significatif en multivarié pour TEZ. En ce qui concerne **l'Elxacaftor**, aucun facteur n'a montré d'association multivariée significative avec l'AUC après ajustement. Seules demeurent des tendances pour le poids ($\beta = -3,27$, $p = 0,055$) et l'albumine ($\beta = -14,2$, $p = 0,099$) qui suggèrent qu'un poids plus élevé ou une hypoalbuminémie pourraient réduire modestement l'exposition en ELX, sans atteindre le seuil de confiance suffisant.

En résumé, ces analyses pointent principalement le poids corporel (donc la taille de l'enfant) et, dans une certaine mesure, la fonction rénale (reflétée par la créatininémie/DFG) comme facteurs clés de la variabilité pharmacocinétique des modulateurs chez l'enfant. Il n'a pas été mis en évidence d'effet propre de l'âge ou du sexe lorsque le poids est pris en compte, ce qui concorde avec l'idée que les différences PK liées à l'âge sont largement expliquées par la croissance pondérale et la maturation des organes d'élimination.

VII.3.4. Mise en perspective avec la littérature récente

a. Études en vie réelle sur ETI (Kaftrio®) ou Lumacaftor/Ivacaftor (Orkambi®)

Plusieurs études observationnelles récentes ont exploré la pharmacocinétique en vie réelle des modulateurs chez l'enfant, confirmant l'importante variabilité interindividuelle et questionnant l'intérêt d'un suivi thérapeutique pharmacologique. Par exemple, une étude prospective néerlandaise (Vonk *et al.*, 2025) a évalué la PK du triplet ETI chez 29 enfants de 6 à 17 ans en conditions réelles (96). Cette étude a mis en évidence une variabilité significative de l'AUC d'ETI tant intra-groupe d'âge qu'entre les groupes d'âge, tout en notant que tous les enfants présentaient des concentrations dans ou au-dessus de la plage supposée nécessaire à l'efficacité clinique (96). Ce résultat rassurant suggère qu'en pratique courante, le risque de sous-exposition franche est faible chez l'enfant traité selon les doses approuvées (les enfants semblent plutôt un peu surexposés en moyenne, ce qui concorde avec la stratégie de « dose généreuse »). En revanche, l'analyse exposition-réponse

exploratoire de Vonk *et al.* n'a pas trouvé de relation linéaire claire entre l'AUC et la réponse clinique (ni en termes de baisse du chlorure sudoral, ni en gains de VEMS) (96,97). Cela peut indiquer que, dans la plage de concentrations atteintes, l'effet thérapeutique est déjà maximal ou que d'autres facteurs masquent la corrélation. Ce constat tempère l'hypothèse d'un ajustement de dose systématique basé sur l'AUC pour améliorer l'effet, bien qu'il s'agisse d'un effectif limité et d'une observation à court terme.

Pour l'ancienne combinaison Lumacaftor/Ivacaftor (Orkambi®), des études en vie réelle ont également mis en évidence une variabilité pharmacocinétique considérable en pédiatrie. Hanafin *et al.* (2021) ont rapporté que, chez des enfants sous LUM/IVA, les pics plasmatiques mesurés étaient jusqu'à plus de 10 fois inférieurs aux valeurs attendues d'après les données de l'AMM, suggérant possiblement des problèmes d'absorption, d'interactions ou d'inobservance dans la vraie vie (87). De plus, ils ont observé qu'il existait une forte variabilité interindividuelle des concentrations et que des facteurs tels que l'âge et le poids de l'enfant influençaient significativement la pharmacocinétique du Lumacaftor et de l'Ivacaftor (notamment les C_{max}) (87).

En synthèse, la littérature récente confirme que la variabilité PK des modulateurs CFTR en pédiatrie est élevée, ce qui renforce l'intérêt potentiel d'un suivi thérapeutique pharmacologique (STP) pour individualiser la prise en charge. Toutefois, les études disponibles montrent également que la plupart des enfants atteignent des concentrations au moins équivalentes aux concentrations adultes efficaces, et qu'aucun lien évident n'a encore été établi entre une légère sous- ou sur-exposition et une différence d'efficacité clinique à court terme (87,96). Ces éléments suggèrent qu'un STP systématique n'est peut-être pas indispensable pour tous, mais qu'il pourrait être ciblé. Ils encouragent aussi à poursuivre les études corrélant l'exposition aux marqueurs d'effet à plus long terme (exacerbations, évolution de la fonction pulmonaire, croissance, etc.) pour déterminer si, par exemple, les patients dans les quintiles inférieurs d'AUC ont des bénéfices moindres nécessitant une optimisation de dose.

b. Corrélation C_{min}–AUC chez l'enfant et implications pour le STP

En pratique de STP, il est crucial de savoir si la concentration résiduelle (C_{min}) peut servir de reflet fiable de l'exposition globale (AUC) chez l'enfant, car le prélèvement au moment du creux est le plus accessible logistiquement. Aucun consensus pédiatrique n'existe à ce jour sur des seuils de C_{min} efficaces ou toxiques chez l'enfant sous modulateurs, contrairement à certains traitements classiques. De plus, de simples mesures isolées de C_{min} capturent mal la variabilité d'exposition totale entre patients. Notre travail a contourné ce défi en utilisant un modèle PopPK intégrant l'heure de la dernière prise et du prélèvement pour estimer l'AUC individuelle, plutôt que de se fier uniquement à la valeur brute de C_{min}. Cette approche améliore l'estimation de l'exposition en tenant compte de la

cinétique propre du médicament, soulignant qu'une C_{min} "faible" relevée peu avant la prochaine dose peut malgré tout correspondre à une AUC normale si l'intervalle d'administration est long ou si l'absorption a été adéquate.

Cela dit, des données émergentes suggèrent qu'il existe bien une corrélation quantifiable entre C_{min} et AUC pour les modulateurs CFTR en pédiatrie. Par exemple, une analyse récente présentée en 2024 rapporte une corrélation significative entre la concentration résiduelle et l'AUC pour l'Elxacaftor, le Tezacaftor et l'Ivacaftor chez l'enfant (97). En d'autres termes, les enfants ayant les C_{min} les plus basses sur l'intervalle posologique tendent aussi à avoir les AUC les plus basses, et vice-versa, ce qui valide partiellement l'utilisation de la C_{min} comme indicateur d'exposition. Ce résultat, s'il se confirme dans des publications complètes, appuie l'idée qu'un STP basé sur la C_{min} pourrait être envisageable. Néanmoins, plusieurs bémols demeurent : (i) la C_{min} peut être fortement influencée par l'inobservance (un oubli de dose ou une prise non conforme se traduit immédiatement par un creux effondré) et par les interactions médicamenteuses ou l'état hépatique ; (ii) l'absence de "plages cibles" pédiatriques validées pour les C_{min} rend difficile l'interprétation clinique d'une valeur mesurée isolément ; (iii) la variabilité intra-individuelle (jour-à-jour) de la C_{min} n'est pas bien caractérisée – un enfant peut avoir une C_{min} variable selon les jours en fonction des variations du repas, de l'horaire de prise, etc. Ainsi, en pratique actuelle, on ne peut pas recommander un ajustement posologique fondé uniquement sur une C_{min} unique hors contexte. En revanche, la corrélation C_{min}-AUC encourage à développer des approches de STP simplifiées : par exemple, si l'on disposait d'un seuil minimal de C_{min} associé à une exposition adéquate, un dosage résiduel pourrait suffire à dépister les enfants clairement sous-exposés nécessitant une intervention. Pour l'heure, faute de cible établie, le clinicien devra interpréter une C_{min} dans son contexte (heures depuis la prise, prise avec repas gras, etc.) et, en cas de doute, pourrait recourir à une estimation de l'AUC comme nous l'avons fait dans l'étude afin de statuer sur l'exposition réelle du patient.

c. Implications cliniques du suivi des niveaux observés

Du point de vue clinique, les niveaux d'exposition observés dans la cohorte pédiatrique sont globalement rassurants et instructifs. Ils indiquent que les doses standards actuellement recommandées permettent à la vaste majorité des enfants d'atteindre des concentrations plasmatiques au moins équivalentes à celles d'adultes efficacement traités (96). On n'observe pas de sous-exposition systématique des jeunes enfants : au contraire, nombre d'entre eux présentent des concentrations résiduelles et des AUC supérieures aux valeurs de référence minimales extrapolées de l'adulte (96). Ce "sur-dosage" relatif intentionnel en pédiatrie explique sans doute l'efficacité clinique remarquable observée chez les plus jeunes, avec des taux de réponse élevés. Cela signifie qu'en

pratique, un suivi thérapeutique systématique n'est pas impératif chez tous les patients pédiatriques, tant que le patient répond cliniquement et tolère bien le traitement, puisque la plupart ont déjà une exposition suffisante. D'autre part, l'importante variabilité interindividuelle invite à rester vigilant pour certains profils particuliers. Les extrêmes observés suggèrent qu'un petit nombre d'enfants pourraient être significativement sous- ou sur-exposés. Inversement, quelques enfants présentaient des AUC très élevées (plusieurs fois la médiane), ce qui pourrait théoriquement augmenter le risque d'effets indésirables (hépatotoxicité, éruptions, etc.), bien qu'aucun signal clair de toxicité concentration-dépendante n'ait encore été décrit pour les trithérapies sur le court terme (96). Ainsi, l'enjeu clinique principal est d'identifier ces situations hors norme où un ajustement du suivi ou de la posologie pourrait s'avérer pertinent.

Concrètement, la faisabilité du STP chez l'enfant semble réunie sur le plan technique, mais son utilité clinique doit être ciblée. Il apparaît raisonnable de proposer un dosage des modulateurs dans les situations suivantes :

- Réponse clinique insuffisante ou douteuse : si un enfant sous modulateur n'améliore pas ses symptômes ou ses paramètres (VEMS, prise de poids, diminution du chlorure sudoral) comme attendu, un dosage pharmacologique peut éclairer la situation. Une concentration effondrée orienterait vers un problème d'inobservance ou de malabsorption, tandis qu'un niveau normal ou élevé redirigerait vers d'autres explications (inflammation résiduelle, colonisation persistante, etc.).
- Effets indésirables inhabituels ou sévères : par exemple, une cytolyse hépatique marquée ou une intolérance clinique pourraient faire suspecter une surexposition chez un patient donné. Mesurer les concentrations permettrait de distinguer un surdosage (appelant éventuellement à moduler la dose ou l'intervalle) d'une idiosyncrasie indépendante des niveaux. À ce jour, les événements indésirables sévères restent rares et imprévisibles, mais en cas de doute, connaître l'exposition du patient peut aider à la décision (poursuite à dose réduite vs arrêt du traitement).
- Contexte de pharmacocinétique altérée ou d'interactions : un enfant présentant une atteinte hépatique significative (cirrhose débutante, cholestase) pourrait avoir une clairance réduite entraînant une accumulation du médicament. De même, la co-administration de traitements inhibiteurs ou inducteurs des CYP3A (par exemple un traitement antifongique azolé, ou au contraire le millepertuis, la rifampicine) modifie substantiellement l'exposition aux modulateurs. Dans ces cas, un suivi des concentrations de modulateurs est fortement justifié pour ajuster les doses ou éviter une inefficacité/toxicité. Par exemple, sous LUM/IVA, on sait que l'induction enzymatique par le Lumacaftor réduit l'AUC d'Ivacaftor d'environ 20 à

30 % ; si un enfant était concomitamment sous un autre inducteur, la baisse d'exposition pourrait être encore plus marquée. Le STP servirait ici à quantifier cet impact.

- Très jeune âge ou situation hors étiquette : si à l'avenir on introduit les modulateurs chez des nourrissons (< 2 ans) ou en contexte de transplantation hépatique, entre autres situation, l'incertitude sur la PK justifierait un suivi étroit. Déjà, chez les 2–5 ans (extension d'indication récente de l'ETI), bien que les études cliniques aient guidé les doses, un centre pourrait choisir de doser ponctuellement pour s'assurer qu'un enfant de 2–3 ans présente bien des concentrations résiduelles détectables compte tenu d'une maturation métabolique encore en cours.

En pratique, la pertinence clinique des niveaux observés doit toujours être interprétée en regard de la prise du traitement : par exemple, une concentration résiduelle basse doit amener à vérifier l'horaire et les conditions de prise. On rappellera qu'une administration avec un repas gras est indispensable pour optimiser l'absorption (à défaut, par exemple, l'exposition à l'Ivacaftor peut être réduite d'un facteur 2 à 4 (83)). Ainsi, avant d'attribuer une Cmin basse à un métabolisme ultra-rapide, il faut exclure une prise à jeun ou un retard de dose. De même, face à une variabilité des concentrations d'un suivi à l'autre, le clinicien devra considérer l'observance : la Cmin étant très sensible aux doses manquées. En ce sens, le dosage des modulateurs peut aussi être vu comme un outil éducatif et de suivi de l'adhésion, à l'instar de ce qui se fait pour d'autres traitements chroniques (par exemple doser la tacrolémie chez un adolescent transplanté pour discuter de l'observance).

En résumé, la faisabilité du STP est acquise et son utilité clinique en pédiatrie semble surtout ciblée : la majorité des enfants étant dans la “fourchette verte” d'exposition, un suivi de routine de tous les patients n'apporterait probablement pas de changement de prise en charge. En revanche, dans des situations particulières (non-réponse, effets indésirables, interactions, comorbidités), mesurer les concentrations de modulateurs apporte une information objective sur l'exposition du patient, pouvant guider des ajustements. Pour l'instant, aucune adaptation posologique officielle basée sur les taux plasmatiques n'existe, mais ces données cliniques de “vraie vie” accumulées contribueront à définir les bonnes pratiques de suivi pour maximiser le bénéfice des modulateurs en pédiatrie tout en minimisant les risques.

VII.3.5. Limites méthodologiques spécifiques à la cohorte pédiatrique

Plusieurs limites doivent être soulignées concernant notre étude pédiatrique, afin d'en qualifier la portée. En premier lieu, son design transversal monocentrique sur un effectif modeste (n = 73) implique un risque de biais de sélection et ne permet pas d'analyser les évolutions individuelles dans

le temps. Les patients ont été inclus dans un centre expert, possiblement très observants et suivis de près ; les résultats pourraient différer dans un contexte de “vraie vie” plus large ou multicentrique. Nous avons, par ailleurs, exclu 5 patients sous Lumacaftor/Ivacaftor (Orkambi®) faute de pouvoir calculer leur AUC avec le modèle ETI, ce qui introduit un biais d’exclusion : les profils métaboliques de ces enfants nous sont inconnus, alors qu’ils auraient pu enrichir l’analyse de variabilité. De plus, l’étude s’est concentrée sur l’exposition plasmatique et ses déterminants, sans intégrer de données d’efficacité clinique corrélées (les améliorations de VEMS, la croissance ou les scores cliniques n’ont pas été corrélées aux AUC dans notre analyse). Cela signifie que nous ne pouvons pas, avec ces données, affirmer qu’une différence d’AUC se traduit par une différence de réponse clinique, ni identifier un seuil “optimal” d’AUC chez l’enfant – points qui relèvent plutôt d’analyses pharmacodynamiques à mener.

Deuxièmement, la méthode d’estimation des AUC repose sur un modèle PopPK externe : bien qu’il soit issu d’une large cohorte pédiatrique (MODUL-CF) et adapté pour nos patients, cela ajoute une couche modélisation qui peut introduire de l’incertitude. Si le modèle était mal spécifié pour certains sous-groupes (par exemple extrapolation chez un enfant de 2 ans alors que la plupart avaient >6 ans), l’AUC estimée pourrait être biaisée. La précision de l’AUC individuelle dépend aussi de la qualité de la donnée de base ($C_{\text{prélèvement}}$) et de l’exactitude de l’heure de la dernière prise rapportée ; une erreur ou imprécision à ce niveau pourrait impacter l’estimation de l’AUC. Nous avons supposé l’adhésion parfaite le jour du dosage, ce qui pourrait ne pas toujours être le cas en pratique (un patient ayant décalé sa prise du matin pourrait avoir un “faux creux” plus bas).

Par ailleurs, certaines données cliniques et biologiques manquaient pour une proportion de patients (par exemple albumine dosée chez 26 patients sur 68, données d’inflammation CRP manquantes pour quelques-uns), ce qui nous a contraints à des analyses en cas complet. Ce biais d’indisponibilité des données a réduit la puissance des analyses multivariées et peut avoir introduit un biais si les patients avec données manquantes diffèrent systématiquement des autres. Nous avons, par exemple, uniquement 54 patients avec mesure de DFG/créatininémie interprétable, les plus jeunes n’ayant parfois pas de clairance évaluée – or ce sont justement les plus jeunes qui auraient pu montrer un effet d’âge.

De plus, la mesure unique des concentrations pour chaque patient (sauf quelques-uns ayant des dosages répétés) ne permet pas d’évaluer la variabilité intra-individuelle ni de confirmer la reproductibilité des niveaux chez un même enfant. Un enfant peut avoir un dosage “bas” un jour et “normal” un autre jour en fonction de facteurs transitoires ; sans profil temporel ou répétition, on ne sait pas si les extrêmes observés sont persistants ou occasionnels. De même, nous n’avons pas pu

explorer la pharmacocinétique détaillée (T_{max} , demi-vie) de chaque patient, ce qui aurait nécessité des courbes de concentration versus temps ($C=f(t)$) complètes. Nous avons inféré la C_{max} et la C_{min} via le modèle, mais ce ne sont pas des observations directes – cela ajoute de la variabilité imputable au modèle.

Enfin, un point de limite est l'absence de fenêtres thérapeutiques validées pour interpréter nos résultats en termes de cible. Par défaut, nous avons comparé les expositions aux données adultes et utilisé l'approche percentiles, mais il serait plus satisfaisant d'avoir des objectifs d'AUC ou de C_{min} propres à la population pédiatrique. Cette lacune, soulignée dans la littérature, relativise l'impact clinique immédiat de nos mesures : par exemple, nous constatons qu'un enfant a une AUC d'Ivacaftor de 5 mg·h/L, soit très basse par rapport aux autres, mais nous ne savons pas si cela est réellement insuffisant pour corriger suffisamment le canal CFTR (faute d'étude de relation expo-réponse fine).

En résumé, si notre étude apporte une première photographie de l'exposition pédiatrique aux modulateurs CFTR pour la population étudiée, ses limitations – effectif limité et biais potentiel de sélection, utilisation d'un modèle PK externe, absence de corrélation clinique directe, données incomplètes et instantanées – invitent à la prudence. Nos résultats doivent être confirmés et complétés par d'autres travaux, idéalement multicentriques, pour guider de façon définitive le STP en pédiatrie.

VII.3.6. Perspectives de recherche et mise en place du STP en pratique pédiatrique

Les perspectives qui se dégagent de ce travail s'orientent vers une médecine pédiatrique plus personnalisée sous modulateurs, tout en soulignant les étapes à franchir avant une implémentation routinière du STP.

Un premier axe de recherche sera de définir des plages cibles pédiatriques d'exposition aux modulateurs. Comme souligné en introduction, l'absence de fenêtre thérapeutique validée chez l'enfant impose de proposer *a priori* des plages cibles provisoires basées sur les données disponibles. Notre étude visait d'ailleurs in fine à suggérer de telles plages pédiatriques affinées pour guider le STP. À partir des distributions d'AUC observées et en les confrontant aux données d'efficacité/tolérance cliniques, il sera possible de formuler des objectifs d'AUC ou de C_{min} minimaux et maximaux souhaitables. Par exemple, si l'on constate que même les plus faibles expositions observées (5–10 mg·h/L pour IVA) chez des enfants répondants suffisent à améliorer le test de la sueur, cela fixerait un plancher minimal. Inversement, si des expositions très élevées au-delà d'un certain seuil ne confèrent aucun bénéfice supplémentaire mais exposent à des perturbations du bilan hépatique ($ALAT > 3 N$), on pourrait définir un plafond d'exposition acceptable. Ces travaux

nécessiteront des études corrélatives exposition-effet plus étendues que celles réalisées jusqu'à présent (incluant peut-être des marqueurs sensibles comme la fonction respiratoire, l'imagerie ou la qualité de vie, sur un suivi plus long).

En parallèle, une validation clinique du concept de STP doit être menée. Cela pourrait passer par un essai d'intervention où l'on compare, par exemple, un suivi standard à un suivi avec ajustement de dose guidé par les concentrations plasmatiques. À ce jour, on manque de preuve pour affirmer que modifier la posologie en fonction des taux améliore réellement les résultats cliniques en mucoviscidose (contrairement à d'autres domaines comme la transplantation d'organes). Mais compte tenu du coût élevé des modulateurs et de leur importance, il serait pertinent d'évaluer si, par exemple, augmenter la dose d'Ivacaftor chez un enfant sous-exposé améliore son VEMS ou sa prise de poids par rapport à un enfant similaire non monitoré. Inversement, on pourrait tester si réduire la dose chez des enfants surexposés (AUC très supérieure à la médiane) permet de diminuer les effets indésirables (ex. rash, élévation des transaminases) sans perte d'efficacité. De telles études contrôlées, bien qu'ambitieuses, fourniraient le niveau de preuve nécessaire pour intégrer formellement le STP aux recommandations.

Sur le plan pratique, la mise en place du STP pédiatrique passera par la structuration de réseaux et de protocoles. Étant donné le faible volume de patients par centre, une approche collaborative (via des réseaux de laboratoires et de centres spécialisés) serait idéale pour partager les ressources analytiques et l'expertise. Des outils informatiques d'aide, comme des plateformes web sécurisées permettant de calculer l'AUC via un modèle PopPK une fois la/les concentration(s) saisie(s), pourraient être développés pour faciliter l'interprétation par les médecins non-pharmacologues. Ces outils devraient intégrer les covariables clés (poids, etc.) pour fournir des recommandations d'ajustement posologique si besoin. Cela s'inscrit dans la mouvance de la modélisation et simulation en temps réel, qui est en plein essor en pédiatrie.

Il sera également intéressant d'étendre le STP aux populations non encore étudiées : les enfants de 6–24 mois (si l'ETI y est introduit, ce qui se profile), voire des situations particulières comme les grossesses sous modulateurs (des études commencent à s'intéresser à l'exposition fœtale et néonatale via le placenta) (98). Dans ces cas, le STP pourrait contribuer à sécuriser ces usages novateurs en assurant que l'exposition reste dans des limites sûres pour le bébé tout en étant efficace pour la mère. De même, à plus long terme, si des combinaisons personnalisées de modulateurs ou d'autres correcteurs émergent, le STP pourrait aider à “ajuster le tir” pour chaque mutation ou profil métabolique.

Enfin, du point de vue des patients et familles, il faudra travailler les aspects éducatifs et d'acceptabilité. Le STP ne doit pas être perçu comme une contrainte supplémentaire, mais comme un allié pour optimiser le traitement. L'utilisation de prélèvements capillaires à domicile, le regroupement des dosages avec les bilans trimestriels de routine, et une communication pédagogique seront essentiels pour une bonne adhésion. Les familles de jeunes enfants sont généralement réceptives à toute mesure améliorant la santé de leur enfant, mais il convient d'éviter un excès de médicalisation si le bénéfice n'est pas clair.

En conclusion, les perspectives de recherche incluent la détermination de cibles d'exposition pédiatriques, la confirmation de l'utilité clinique du STP par des études dédiées, et l'exploration de la variabilité PK dans les tranches d'âge extrêmes. Les perspectives de mise en pratique impliquent de capitaliser sur les outils analytiques et modélisation disponibles pour intégrer progressivement le suivi des concentrations dans la prise en charge personnalisée des enfants sous modulateurs CFTR. Cette approche s'inscrit dans le mouvement plus large de la médecine de précision en mucoviscidose, où l'objectif est d'assurer à chaque patient – quel que soit son âge – la dose optimale du bon médicament au bon moment, afin de maximiser durablement les bienfaits de ces thérapies modulatrices révolutionnaires.

VIII. CONCLUSION

Cette thèse a montré qu'un dosage UPLC-MS/MS simultané d'Elexacaftor, Tezacaftor et Ivacaftor (ETI) est opérationnel en routine hospitalière, avec des performances compatibles avec le suivi pédiatrique et une stabilité documentée des analytes. Elle a également décrit, dans une cohorte d'enfants et d'adolescents, une variabilité interindividuelle d'exposition cliniquement pertinente, justifiant l'intégration raisonnée du suivi thérapeutique pharmacologique (STP) dans la prise en charge.

VIII.1. Apports majeurs de la thèse

Sur le plan analytique, la méthode multiplexe répond aux exigences de la bio-analyse clinique et s'inscrit dans la lignée des pratiques déjà publiées.

Sur le plan pharmacocinétique, les données pédiatriques confirment une variabilité marquée des AUC, en accord avec les travaux récents, et plaident pour des ajustements individualisés.

VIII.2. Forces et limites

La force principale réside dans l'ancrage COFRAC et la transférabilité de la méthode.

Les limites tiennent au caractère monocentrique de la cohorte, à une représentation génétique dominée par F508del, et à un échantillonnage ponctuel (majoritairement un prélèvement/patient), restreignant l'analyse de la variabilité intra-individuelle au long cours.

VIII.3. Implications cliniques

Premièrement, le STP ciblé apparaît justifié pour sécuriser l'exposition, notamment lors de co-prescriptions modulant les CYP3A (inducteurs forts ↓ ETI ; inhibiteurs ↑ ETI)

Deuxièmement, le recours au STP est pertinent dans les situations spéciales (malabsorption, observance douteuse, effets indésirables), domaines où les données s'accumulent mais restent incomplètes.

VIII.4. Perspectives

(i) Définir des cibles d'exposition pédiatriques (C_{min}/AUC) robustes, reliées à des critères cliniques (Cl^- sudoral, croissance, exacerbations, score pulmonaire) par des études prospectives multicentriques.

(ii) Valider cliniquement l'intérêt du STP d'ETI chez l'enfant (essais "STP-guidés" vs standard).

(iii) Documenter l'usage des modulateurs dans les grossesses et périodes périnatales avec fenêtres de STP sécurisées.

Au terme de ce travail, le STP des modulateurs CFTR chez l'enfant apparaît comme une démarche pertinente, faisable et utile pour fiabiliser l'exposition, anticiper les interactions et personnaliser la dose. L'étape suivante consiste à standardiser les cibles d'exposition pédiatriques et à démontrer l'impact clinique du STP dans des études dédiées. Cette trajectoire s'inscrit dans la médecine de précision en mucoviscidose : assurer, pour chaque enfant, la bonne dose du bon médicament au bon moment.

IX. BIBLIOGRAPHIE

1. Quinton PM. Physiological Basis of Cystic Fibrosis: A Historical Perspective. *Physiological Reviews*. 1 janv 1999;79(1):S3-22.
2. María Del Carmen López C. The History of Cystic Fibrosis. *Open J Pediatr Child Health*. 7 mars 2019;001-6.
3. Sinha CK, Davenport M, Ward HC. Meconium Ileus. In: Sinha CK, Davenport M, éditeurs. *Handbook of Pediatric Surgery* [Internet]. London: Springer London; 2010 [cité 27 juill 2025]. p. 109-15. Disponible sur: http://link.springer.com/10.1007/978-1-84882-132-3_16
4. Fakhoury K, Durie PR, Levison H, Canny GJ. Meconium ileus in the absence of cystic fibrosis. *Archives of Disease in Childhood*. 1 oct 1992;67(10 Spec No):1204-6.
5. Andersen Dh. Cystic Fibrosis Of The Pancreas and Its Relation to Celiac Disease: A Clinical And Pathologic Study. *Am J Dis Child*. 1 août 1938;56(2):344.
6. Farber S, Shwachman H, Maddock Cl. Pancreatic Function And Disease in Early Life. I. Pancreatic Enzyme Activity and The Celiac Syndrome 1. *J Clin Invest*. 1 nov 1943;22(6):827-38.
7. Di Sant'Agnese PA, Darling RC, Perera GA, Shea E. Abnormal Electrolyte Composition of Sweat in Cystic Fibrosis of The Pancreas. *Pediatrics*. 1 nov 1953;12(5):549-63.
8. Quinton PM. Chloride impermeability in cystic fibrosis. *Nature*. févr 1983;301(5899):421-2.
9. Riordan JR, Rommens JM, Kerem BS, Alon N, Rozmahel R, Grzelczak Z, et al. Identification of the Cystic Fibrosis Gene: Cloning and Characterization of Complementary DNA. *Science*. 8 sept 1989;245(4922):1066-73.
10. Csanády L, Vergani P, Gadsby DC. Structure, Gating, and Regulation of the CFTR Anion Channel. *Physiological Reviews*. 1 janv 2019;99(1):707-38.
11. Liu F, Zhang Z, Csanády L, Gadsby DC, Chen J. Molecular Structure of the Human CFTR Ion Channel. *Cell*. mars 2017;169(1):85-95. e8.
12. Raghuram V, Mak DOD, Foskett JK. Regulation of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator single-channel gating by bivalent PDZ-domain-mediated interaction. *Proc Natl Acad Sci USA*. 30 janv 2001;98(3):1300-5.
13. Anderson MP, Gregory RJ, Thompson S, Souza DW, Paul S, Mulligan RC, et al. Demonstration That CFTR Is a Chloride Channel by Alteration of Its Anion Selectivity. *Science*. 12 juill 1991;253(5016):202-5.
14. Tang L, Fatehi M, Linsdell P. Mechanism of direct bicarbonate transport by the CFTR anion channel. *Journal of Cystic Fibrosis*. mars 2009;8(2):115-21.
15. Ko SBH, Zeng W, Dorwart MR, Luo X, Kim KH, Millen L, et al. Gating of CFTR by the STAS domain of SLC26 transporters. *Nat Cell Biol*. avr 2004;6(4):343-50.
16. Tamma G, Dossena S. Functional interplay between CFTR and pendrin: physiological and pathophysiological relevance. *Front Biosci (Landmark Ed)*. 21 févr 2022;27(2):75.

17. Quinton PM. Cystic fibrosis: impaired bicarbonate secretion and mucoviscidosis. *The Lancet*. août 2008;372(9636):415-7.
18. Stutts MJ, Canessa CM, Olsen JC, Hamrick M, Cohn JA, Rossier BC, et al. CFTR as a cAMP-Dependent Regulator of Sodium Channels. *Science*. 11 août 1995;269(5225):847-50.
19. Balázs A, Mall MA. Role of the SLC26A9 Chloride Channel as Disease Modifier and Potential Therapeutic Target in Cystic Fibrosis. *Front Pharmacol*. 1 oct 2018;9:1112.
20. Zajac M, Dreano E, Edwards A, Planelles G, Sermet-Gaudelus I. Airway Surface Liquid pH Regulation in Airway Epithelium Current Understandings and Gaps in Knowledge. *IJMS*. 25 mars 2021;22(7):3384.
21. Tümmler B. Puzzle resolved: CFTR mediates chloride homeostasis by segregating absorption and secretion to different cell types. *Journal of Clinical Investigation*. 16 oct 2023;133(20):e174667.
22. Frizzell RA, Hanrahan JW. Physiology of Epithelial Chloride and Fluid Secretion. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. 1 juin 2012;2(6):a009563-a009563.
23. Hanssens LS, Duchateau J, Casimir GJ. CFTR Protein: Not Just a Chloride Channel? *Cells*. 22 oct 2021;10(11):2844.
24. Castellani C, Simmonds NJ, Barben J, Addy C, Bevan A, Burgel PR, et al. Standards for the care of people with cystic fibrosis (CF): A timely and accurate diagnosis. *Journal of Cystic Fibrosis*. nov 2023;22(6):963-8.
25. Elborn JS. Cystic fibrosis. *The Lancet*. nov 2016;388(10059):2519-31.
26. Pezzulo AA, Tang XX, Hoegger MJ, Abou Alaiwa MH, Ramachandran S, Moninger TO, et al. Reduced airway surface pH impairs bacterial killing in the porcine cystic fibrosis lung. *Nature*. juill 2012;487(7405):109-13.
27. Esther CR, Muhlebach MS, Ehre C, Hill DB, Wolfgang MC, Kesimer M, et al. Mucus accumulation in the lungs precedes structural changes and infection in children with cystic fibrosis. *Sci Transl Med*. 3 avr 2019;11(486):eaav3488.
28. Qin S, Xiao W, Zhou C, Pu Q, Deng X, Lan L, et al. *Pseudomonas aeruginosa*: pathogenesis, virulence factors, antibiotic resistance, interaction with host, technology advances and emerging therapeutics. *Sig Transduct Target Ther*. 25 juin 2022;7(1):199.
29. Di A, Brown ME, Deriy LV, Li C, Szeto FL, Chen Y, et al. CFTR regulates phagosome acidification in macrophages and alters bactericidal activity. *Nat Cell Biol*. sept 2006;8(9):933-44.
30. Zhang S, Shrestha CL, Wisniewski BL, Pham H, Hou X, Li W, et al. Consequences of CRISPR-Cas9-Mediated CFTR Knockout in Human Macrophages. *Front Immunol*. 18 août 2020;11:1871.
31. Rodriguez Gonzalez C, Basílio-Queirós D, Neehus AL, Merkert S, Tschritter D, Ünal S, et al. Human CFTR deficient iPSC-macrophages reveal impaired functional and transcriptomic response upon *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Front Immunol*. 13 nov 2024;15:1397886.

32. Mall MA, Davies JC, Donaldson SH, Jain R, Chalmers JD, Shteinberg M. Neutrophil serine proteases in cystic fibrosis: role in disease pathogenesis and rationale as a therapeutic target. *Eur Respir Rev.* juill 2024;33(173):240001.
33. Mall MA, Burgel PR, Castellani C, Davies JC, Salathe M, Taylor-Cousar JL. Cystic fibrosis. *Nat Rev Dis Primers.* 8 août 2024;10(1):53.
34. Corvol H, Blackman SM, Boëlle PY, Gallins PJ, Pace RG, Stonebraker JR, et al. Genome-wide association meta-analysis identifies five modifier loci of lung disease severity in cystic fibrosis. *Nat Commun.* 29 sept 2015;6(1):8382.
35. Sepahzad A, Morris-Rosendahl DJ, Davies JC. Cystic Fibrosis Lung Disease Modifiers and Their Relevance in the New Era of Precision Medicine. *Genes.* 13 avr 2021;12(4):562.
36. Szczesniak R, Rice JL, Brokamp C, Ryan P, Pestian T, Ni Y, et al. Influences of environmental exposures on individuals living with cystic fibrosis. *Expert Review of Respiratory Medicine.* 2 juill 2020;14(7):737-48.
37. Scotet V, L'Hostis C, Férec C. The Changing Epidemiology of Cystic Fibrosis: Incidence, Survival and Impact of the CFTR Gene Discovery. *Genes.* 26 mai 2020;11(6):589.
38. Zolin, ECFSPR 2023 Annual Data Report. European Cystic Fibrosis Report. <https://www.ecfs.eu/projects/ecfs-patient-registry>.
39. Anato A, Kadiatou K, Bessou A, Bilan des données 2023. Registre Français de la Mucoviscidose. <https://muco.vaincrelamuco.org/registre>.
40. Costache V, Chavanon O, St Raymond C, Sessa C, Durand M, Duret J, et al. Dramatic Improvement in Survival After Lung Transplantation Over Time: A Single Center Experience. *Transplantation Proceedings.* mars 2009;41(2):687-91.
41. Munck A, Cheillan D, Girodon E, Nguyen Khoa T, Wizla N, Audrezet MP, et al. Dépistage néonatal de la mucoviscidose en France : aspects pratiques et perspectives. *Perfectionnement en Pédiatrie.* juin 2019;2(2):163-71.
42. Gibson LE, Cooke RE. A test for concentration of electrolytes in sweat in cystic fibrosis of the pancreas utilizing pilocarpine by iontophoresis. *Pediatrics.* mars 1959;23(3):545-9.
43. Zubair M, Schmidt H, Sharma G. Sweat Testing. [Updated 2025 Feb 17]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK547728/>.
44. Gokdemir Y, Karadag BT. Sweat Testing and Recent Advances. *Front Pediatr.* 4 mai 2021;9:649904.
45. PhD LS. Trikafta shown to halve sweat chloride levels in real-world CF study [Internet]. 2024. Disponible sur : <https://cysticfibrosisnewstoday.com/news/trikafta-halves-sweat-chloride-levels-real-world-cf-study/>
46. Ideozu JE, Liu M, Riley-Gillis BM, Paladugu SR, Rahimov F, Krishnan P, et al. Diversity of CFTR variants across ancestries characterized using 454,727 UK biobank whole exome sequences. *Genome Med.* 21 mars 2024;16(1):43.

47. Audrézet MP, Munck A. Newborn screening for CF in France: An exemplary national experience. *Archives de Pédiatrie*. févr 2020;27:eS35-40.
48. Trouvé P, Saint Pierre A, Férec C. Cystic Fibrosis: A Journey through Time and Hope. *IJMS*. 4 sept 2024;25(17):9599.
49. Warnock L, Gates A. Airway clearance techniques compared to no airway clearance techniques for cystic fibrosis. Cochrane Cystic Fibrosis and Genetic Disorders Group, éditeur. *Cochrane Database of Systematic Reviews* [Internet]. 12 avr 2023;2023(4). Disponible sur: <http://doi.wiley.com/10.1002/14651858.CD001401.pub4>
50. Fuchs HJ, Borowitz DS, Christiansen DH, Morris EM, Nash ML, Ramsey BW, et al. Effect of Aerosolized Recombinant Human DNase on Exacerbations of Respiratory Symptoms and on Pulmonary Function in Patients with Cystic Fibrosis. *N Engl J Med*. 8 sept 1994;331(10):637-42.
51. Li D, Schneider-Futschik EK. Current and Emerging Inhaled Antibiotics for Chronic Pulmonary *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* Infections in Cystic Fibrosis. *Antibiotics*. 28 févr 2023;12(3):484.
52. Al-shehri H, Albassam D. Efficacy of Long-Term Use of Azithromycin in the Management of Cystic Fibrosis in Pediatric Patients with or Without *Pseudomonas aeruginosa*: A Systematic Review and Meta-Analysis Article. *Medicina*. 2 avr 2025;61(4):653.
53. Konstan MW, Byard PJ, Hoppel CL, Davis PB. Effect of High-Dose Ibuprofen in Patients with Cystic Fibrosis. *N Engl J Med*. 30 mars 1995;332(13):848-54.
54. Balfour-Lynn IM, Welch K, Smith S. Inhaled corticosteroids for cystic fibrosis. Cochrane Cystic Fibrosis and Genetic Disorders Group, éditeur. *Cochrane Database of Systematic Reviews* [Internet]. 4 juill 2019 [cité 3 août 2025];2021(4). Disponible sur: <http://doi.wiley.com/10.1002/14651858.CD001915.pub6>
55. Freswick PN, Reid EK, Mascarenhas MR. Pancreatic Enzyme Replacement Therapy in Cystic Fibrosis. *Nutrients*. 23 mars 2022;14(7):1341.
56. Baroni D. Unraveling the Mechanism of Action, Binding Sites, and Therapeutic Advances of CFTR Modulators: A Narrative Review. *CIMB*. 11 févr 2025;47(2):119.
57. Ramsey BW, Davies J, McElvaney NG, Tullis E, Bell SC, Dřevínek P, et al. A CFTR Potentiator in Patients with Cystic Fibrosis and the *G551D* Mutation. *N Engl J Med*. 3 nov 2011;365(18):1663-72.
58. Wainwright CE, Elborn JS, Ramsey BW, Marigowda G, Huang X, Cipolli M, et al. Lumacaftor–Ivacaftor in Patients with Cystic Fibrosis Homozygous for Phe508del *CFTR*. *N Engl J Med*. 16 juill 2015;373(3):220-31.
59. Taylor-Cousar JL, Munck A, McKone EF, Van Der Ent CK, Moeller A, Simard C, et al. Tezacaftor–Ivacaftor in Patients with Cystic Fibrosis Homozygous for Phe508del. *N Engl J Med*. 23 nov 2017;377(21):2013-23.
60. Middleton PG, Mall MA, Dřevínek P, Lands LC, McKone EF, Polineni D, et al. Elexacaftor–Tezacaftor–Ivacaftor for Cystic Fibrosis with a Single Phe508del Allele. *N Engl J Med*. 7 nov 2019;381(19):1809-19.

61. Hoppe JE, Kasi AS, Pittman JE, Jensen R, Thia LP, Robinson P, et al. Vanzacaftor–tezacaftor–deutivacaftor for children aged 6–11 years with cystic fibrosis (RIDGELINE Trial VX21-121-105): an analysis from a single-arm, phase 3 trial. *The Lancet Respiratory Medicine*. mars 2025;13(3):244-55.
62. Our Venture Philanthropy Model | Cystic Fibrosis Foundation [Internet]. Disponible sur: <https://www.cff.org/about-us/our-venture-philanthropy-model>
63. RNA/mRNA Related News & Publications | Cystic Fibrosis [Internet]. Arcturus Therapeutics. Disponible sur: <https://arcturusrx.com/publications-rna-medicines/cysticfibrosis/>
64. Boni A, d’Aniello F, Ubertini G, Cappa M, Ciciriello F, Majo F, et al. Height Velocity in Pediatric Cystic Fibrosis Under Triple CFTR Modulator Therapy: A Real-Life Monocentric Experience. *JCM*. 25 juill 2025;14(15):5259.
65. Migliorisi G, Collura M, Ficili F, Pensabene T, Bongiorno D, Collura A, et al. Elexacaftor-Tezacaftor-Ivacaftor as a Final Frontier in the Treatment of Cystic Fibrosis: Definition of the Clinical and Microbiological Implications in a Case-Control Study. *Pharmaceuticals*. 14 mai 2022;15(5):606.
66. Reasoner SA, Bernard R, Waalkes A, Penewit K, Lewis J, Sokolow AG, et al. Longitudinal profiling of the intestinal microbiome in children with cystic fibrosis treated with elexacaftor-tezacaftor-ivacaftor. Pier GB, O’Toole G, éditeurs. *mBio*. 14 févr 2024;15(2):e01935-23.
67. Jain R, Kazmerski TM, Taylor-Cousar JL. The modern landscape of fertility, pregnancy, and parenthood in people with cystic fibrosis. *Current Opinion in Pulmonary Medicine*. nov 2023;29(6):595-602.
68. Keating D, Marigowda G, Burr L, Daines C, Mall MA, McKone EF, et al. VX-445–Tezacaftor–Ivacaftor in Patients with Cystic Fibrosis and One or Two Phe508del Alleles. *N Engl J Med*. 25 oct 2018;379(17):1612-20.
69. Données de validation AMM Europe. Disponible sur: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/kaftrio-epar-product-information_en.pdf
70. Spoletini G, Gillgrass L, Pollard K, Shaw N, Williams E, Etherington C, et al. Dose adjustments of Elexacaftor/Tezacaftor/Ivacaftor in response to mental health side effects in adults with cystic fibrosis. *Journal of Cystic Fibrosis*. nov 2022;21(6):1061-5.
71. Marshall LZ, Espinosa R, Starner CI, Gleason PP. Real-world outcomes and direct care cost before and after elexacaftor/tezacaftor/ivacaftor initiation in commercially insured members with cystic fibrosis. *JMCP*. juin 2023;29(6):599-606.
72. Davies JC, Cunningham S, Harris WT, Lapey A, Regelman WE, Sawicki GS, et al. Safety, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of ivacaftor in patients aged 2–5 years with cystic fibrosis and a CFTR gating mutation (KIWI): an open-label, single-arm study. *The Lancet Respiratory Medicine*. févr 2016;4(2):107-15.
73. Davies JC, Wainwright CE, Sawicki GS, Higgins MN, Campbell D, Harris C, et al. Ivacaftor in Infants Aged 4 to <12 Months with Cystic Fibrosis and a Gating Mutation. Results of a Two-Part Phase 3 Clinical Trial. *Am J Respir Crit Care Med*. 1 mars 2021;203(5):585-93.

74. Rayment JH, Asfour F, Rosenfeld M, Higgins M, Liu L, Mascia M, et al. A Phase 3, Open-Label Study of Lumacaftor/Ivacaftor in Children 1 to Less Than 2 Years of Age with Cystic Fibrosis Homozygous for *F508del-CFTR*. *Am J Respir Crit Care Med*. 15 nov 2022;206(10):1239-47.
75. Davies JC, Sermet-Gaudelus I, Naehrlich L, Harris RS, Campbell D, Ahluwalia N, et al. A phase 3, double-blind, parallel-group study to evaluate the efficacy and safety of tezacaftor in combination with ivacaftor in participants 6 through 11 years of age with cystic fibrosis homozygous for F508del or heterozygous for the F508del-CFTR mutation and a residual function mutation. *Journal of Cystic Fibrosis*. janv 2021;20(1):68-77.
76. Zemanick ET, Taylor-Cousar JL, Davies J, Gibson RL, Mall MA, McKone EF, et al. A Phase 3 Open-Label Study of Elexacaftor/Tezacaftor/Ivacaftor in Children 6 through 11 Years of Age with Cystic Fibrosis and at Least One *F508del* Allele. *Am J Respir Crit Care Med*. 15 juin 2021;203(12):1522-32.
77. Goralski JL, Hoppe JE, Mall MA, McColley SA, McKone E, Ramsey B, et al. Phase 3 Open-Label Clinical Trial of Elexacaftor/Tezacaftor/Ivacaftor in Children Aged 2–5 Years with Cystic Fibrosis and at Least One *F508del* Allele. *Am J Respir Crit Care Med*. 1 juill 2023;208(1):59-67.
78. Choong E, Sauty A, Koutsokera A, Blanchon S, André P, Decosterd L. Therapeutic Drug Monitoring of Ivacaftor, Lumacaftor, Tezacaftor, and Elexacaftor in Cystic Fibrosis: Where Are We Now? *Pharmaceutics*. 11 août 2022;14(8):1674.
79. Truong NH, Benaboud S, Bouazza N, Barboura M, Bardin E, Miralles M, et al. Elexacaftor/Tezacaftor/Ivacaftor Population Pharmacokinetics in Pediatric Patients With Cystic Fibrosis. *Clinical Translational Sci*. mai 2025;18(5):e70245.
80. Bouazza N, Urien S, Foissac F, Choupeaux L, Lui G, Froelicher Bournaud L, et al. Lumacaftor/Ivacaftor Population Pharmacokinetics in Pediatric Patients with Cystic Fibrosis: A First Step Toward Personalized Therapy. *Clin Pharmacokinet*. mars 2024;63(3):333-42.
81. Pigliasco F, Cafaro A, Stella M, Baiardi G, Barco S, Pedemonte N, et al. Simultaneous Quantification of Ivacaftor, Tezacaftor, and Elexacaftor in Cystic Fibrosis Patients' Plasma by a Novel LC–MS/MS Method. *Biomedicines*. 20 févr 2023;11(2):628.
82. Mancini A, Simeoli R, Cristiani L, Cairoli S, Ciciriello F, Boni A, et al. Development and Validation of a New LC-MS/MS Method for Simultaneous Quantification of Ivacaftor, Tezacaftor and Elexacaftor Plasma Levels in Pediatric Cystic Fibrosis Patients. *Pharmaceutics*. 10 juill 2025;18(7):1028.
83. Données de validation FDA. Disponible sur: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2023/217660s000lbl.pdf
84. Magnas P, Bouazza N, Foissac F, Froelicher Bournaud L, Lui G, Carlier N, et al. Population Pharmacokinetics of Elexacaftor, Tezacaftor and Ivacaftor in a Real-World Cohort of Adults with Cystic Fibrosis. *Clin Pharmacokinet*. juin 2025;64(6):959-71.
85. Naehrig S, Shad C, Breuling M, Goetschke M, Habler K, Sieber S, et al. Therapeutic Drug Monitoring of Elexacaftor, Tezacaftor, and Ivacaftor in Adult People with Cystic Fibrosis. *JPM*. 17 oct 2024;14(10):1065.

86. Mansoor A, Mahabadi N. Volume of Distribution. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 [cité 6 sept 2025]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545280/>
87. Hanafin PO, Sermet-Gaudelus I, Griese M, Kappler M, Ellemunter H, Schwarz C, et al. Insights Into Patient Variability During Ivacaftor-Lumacaftor Therapy in Cystic Fibrosis. *Front Pharmacol.* 2 août 2021;12:577263.
88. Fenn JB, Mann M, Meng CK, Wong SF, Whitehouse CM. Electrospray Ionization for Mass Spectrometry of Large Biomolecules. *Science.* 6 oct 1989;246(4926):64-71.
89. Miller PE, Denton MB. The quadrupole mass filter: Basic operating concepts. *J Chem Educ.* juill 1986;63(7):617.
90. Rappold BA. Review of the Use of Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry in Clinical Laboratories: Part II—Operations. *Ann Lab Med.* 1 sept 2022;42(5):531-57.
91. Thomas SN, French D, Jannetto PJ, Rappold BA, Clarke WA. Liquid chromatography–tandem mass spectrometry for clinical diagnostics. *Nat Rev Methods Primers.* 8 déc 2022;2(1):96.
92. González O, Dubbelman AC, Hankemeier T. Postcolumn Infusion as a Quality Control Tool for LC-MS-Based Analysis. *J Am Soc Mass Spectrom.* 1 juin 2022;33(6):1077-80.
93. Guide technique d'accréditation de verification (portée A) /validation (portée B) des méthodes de Biologie médicale SH-GTA-04 V02 [Internet]. Disponible sur: <https://tools.cofrac.fr/documentation/SH-GTA-04>
94. Habler K, Kalla AS, Rychlik M, Bruegel M, Teupser D, Nährig S, et al. Isotope dilution LC-MS/MS quantification of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) modulators ivacaftor, lumacaftor, tezacaftor, elexacaftor, and their major metabolites in human serum. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM).* 26 janv 2022;60(1):82-91.
95. Wessels AMA, Elzinga FA, Koppelman GH, Akkerman OW, Mian P, Touw DJ. Quantification of Ivacaftor, Tezacaftor, Elexacaftor, and Lumacaftor and their active metabolites in plasma using UHPLC-MS/MS: Doors open to the application of therapeutic drug monitoring in cystic fibrosis treatment. *Journal of Chromatography B.* 15 mai 2025;1258:124604.
96. Vonk SEM, Terheggen-Lagro SWJ, Haarman EG, Hashimoto S, Maitland-van Der Zee AH, Mathôt RAA, et al. Real-world pharmacokinetics of elexacaftor-tezacaftor-ivacaftor in children with cystic fibrosis: a prospective observational study. *Journal of Cystic Fibrosis.* mai 2025;24(3):526-33.
97. Vonk SEM, Altenburg J, Mathôt RAA, Kemper EM. Correlation between trough concentration and AUC for elexacaftor, tezacaftor and ivacaftor. *Journal of Cystic Fibrosis.* sept 2024;23(5):1007-9.
98. Bonnel AS, Bihouée T, Ribault M, Driessen M, Grèvent D, Foissac F, et al. First real-world study of fetal therapy with CFTR modulators in cystic fibrosis: Report from the MODUL-CF study. *Journal of Cystic Fibrosis.* mai 2025;24(3):457-65.

X. ANNEXES



DIRECTION GENERALE

DEPARTEMENT DES RESSOURCES NUMERIQUES

N/Réf. : DEC24-039

*BOUZIDI Anthony
Délégué à la protection des
données*

*CALMELET Louise
Adjointe au Délégué à la
protection des données*

*Secrétariat Direction des
Ressources Numérique
Tél. 03.20.44.44.25
Fax : 03.20.44.58.59*

Attestation de déclaration d'un traitement informatique

L'équipe Déléguée à la Protection des Données du GHT Lille Métropole Flandre intérieure atteste que le fichier de traitement ayant pour finalité : **CAFTORLIL** mis en œuvre en **2024**, a bien été déclaré par Benjamin Hennart.

La déclaration est intégrée dans le registre des traitements du Centre Hospitalier Régional Universitaire de Lille.

Attestation réalisée pour valoir ce que de droit.

Fait à LILLE, le **26/02/2024**

Le Délégué à la protection des données
BOUZIDI Anthony
Son adjointe
CALMELET Louise

Toute correspondance devra être adressée à :
CHRU de Lille
Département Ressources Numériques
ex Clinique Fontan - 2^{ème} étage – rue du Professeur Lagüesse
59037 LILLE Cedex

NOTE D'INFORMATION D'UNE RECHERCHE N'IMPLIQUANT PAS LA PERSONNE HUMAINE

CAFTORLIL

Promoteur de l'étude : Laboratoire de toxicologie, CHU de Lille – Investigateur coordonnateur :
Dr Benjamin Hennart

Cette note d'information a pour objectif de vous expliquer le but de cette étude afin que vous puissiez décider de la participation ou non de votre enfant. Sa participation à cette étude doit être entièrement volontaire. Prenez le temps de lire cette note d'information et n'hésitez pas à poser des questions au médecin de votre enfant pour avoir des renseignements complémentaires.

I. Le but de la recherche

Cette recherche porte sur le dosage plasmatique des molécules administrées dans le traitement de certains patients atteints de mucoviscidose (famille des CAFTOR), suivis au CHU de LILLE, afin d'améliorer les connaissances sur ces traitements et d'optimiser la prise en charge thérapeutique de la maladie.

II. Quelles données sont recueillies, pourquoi et comment ?

Vous êtes sollicité(e) en raison des consultations programmées et hospitalisations de votre enfant au CHU de Lille sur la période du 15/01/2024 au 30/09/2024. Cette recherche portera sur l'analyse de données et d'échantillons biologiques recueillis sur cette même période (du 15/01/2024 au 30/09/2024) dans le cadre de la prise en charge de la mucoviscidose de votre enfant. Le recueil de données se fera à partir des informations présentes dans son dossier médical informatique / papier dans les différents services hospitaliers du CHU de Lille.

Les données nécessaires pour la conduite de la recherche comprennent notamment : âge, sexe, taille, poids, données cliniques, traitements, résultats de biologie, d'imagerie ainsi que les examens complémentaires d'exploration de fonction d'organe (ex : EFR).

Confidentialité des données

Les données médicales recueillies dans le cadre de cette étude seront traitées par le CHU de Lille, représenté par son représentant légal en exercice, en tant que responsable de traitement, sur le fondement de l'intérêt public. Les données concernant votre enfant seront pseudonymisées, c'est-à-dire identifiées par un numéro de code et par ses initiales. Elles seront ensuite transmises aux investigateurs de la recherche et aux coordinateurs.

La base de données ainsi créée sera conservée pendant la durée de réalisation de l'étude et jusqu'à deux ans après la dernière publication des résultats de l'étude. Puis, la base de données sera archivée pendant la durée légale autorisée.

Vous pouvez également être informé(e) des projets d'études ultérieures réalisés à partir de cette base de données et faire valoir le droit d'opposition à la participation à ces études à l'adresse suivante : www.chu-lille.fr/rgpd-recherche

Conformément à la loi « informatique et libertés » du 6 janvier 1978 et au règlement (UE) 2016/679 du 27 avril 2016 relatif à la protection des personnes physiques à l'égard du traitement des données à caractère personnel et à la libre circulation de ces données, vous et votre enfant disposez à leur égard d'un droit d'accès, de rectification, d'effacement, de limitation du traitement et du droit de vous opposer au traitement.

Si vous souhaitez exercer ces droits et obtenir communication des informations concernant votre enfant, veuillez-vous adresser au délégué à la protection des données du Groupement Hospitalier Territorial Lille Métropole Flandres Intérieur à l'adresse suivante : dpo@chru-lille.fr.

Si vous considérez que ces droits n'ont pas été respectés, vous avez également la possibilité de saisir la Commission Nationale de l'Informatique des Libertés (CNIL) directement via son site internet : www.cnil.fr.

Vous pouvez accéder directement ou par l'intermédiaire d'un médecin de votre choix à l'ensemble des données médicales en application des dispositions de l'article L1111-7 du Code de la Santé Publique. Ces droits s'exercent auprès du médecin qui suit votre enfant dans le cadre de la recherche et qui connaît son identité.

III. Acceptation et interruption de la participation de votre enfant

Vous êtes libre de refuser que votre enfant participe à cette recherche. Vous disposez également de la possibilité d'interrompre sa participation à tout moment sans aucun préjudice et sans engager votre responsabilité. Cela n'affectera évidemment pas sa prise en charge.

En l'absence d'opposition / refus de votre part sous un délai de 2 semaines après réception de la présente note nous considérerons que vous acceptez la participation à cette recherche.

IV. Comment cette recherche est-elle encadrée ?

Le responsable de la recherche a pris toutes les mesures pour mener cette recherche conformément à la loi française aux dispositions de la Loi Informatique et Liberté applicables aux recherches n'impliquant pas la personne humaine (CNIL loi 78-17 du 6 janvier 1978 modifiée) et européenne (Règlement européen ° 2016/679 relatif à la protection des données - RGPD).

Fait à Lille, le 26/01/2024

Signature du responsable de la recherche :



JB
B. HENNART

CADRE RESERVE A L'EXPRESSION DE L'OPPOSITION

NOM/Prénom du patient :

Je m'oppose à l'utilisation des données de mon enfant dans le cadre de cette recherche : CAFTORLIL - Dr B. Hennart

Date et signature :

AUTEUR : Nom : CHAIB Prénom : Sofiane

Date de soutenance : 29 septembre 2025

Titre de la thèse : Développement et validation d'une méthode de dosage de modulateurs du canal CFTR (Caftors) par UPLC-MS/MS - Applications cliniques à une cohorte pédiatrique.

Thèse - Médecine - Lille « 2025 »

Cadre de classement : Pharmacologie, Toxicologie.

DES + FST/option : Biologie médicale.

Mots-clés : Mucoviscidose ; Modulateurs du CFTR ; Suivi thérapeutique pharmacologique (STP) ; UPLC-MS/MS ; elexacaftor-tezacaftor-ivacaftor.

Résumé : La mucoviscidose connaît depuis l'avènement des modulateurs du CFTR un tournant thérapeutique majeur. Pourtant, la variabilité d'exposition aux associations Elexacaftor–Tezacaftor–Ivacaftor (ETI) demeure élevée et pourrait limiter le bénéfice individuel, en particulier chez l'enfant. Ce travail visait (i) à mettre en place la quantification des trois molécules dans le plasma humain, (ii) à documenter la variabilité inter- et intra-individuelle d'exposition, (iii) à rechercher des facteurs de variabilité clinico-biologiques, et (iv) à discuter de la place d'un suivi thérapeutique pharmacologique (STP) en pédiatrie.

Une méthode UPLC-MS/MS sensible et spécifique a été développée et validée (selon les critères du COFRAC Comité Français d'Accréditation) pour le dosage plasmatique des trois molécules, puis mise en application sur des échantillons issus d'une cohorte pédiatrique de suivi de patients atteints de mucoviscidose au CHU de Lille (n=73). Les aires sous la courbe (AUC) ont été estimées selon un modèle pharmacocinétique établi, et corrélées à des covariables cliniques et biologiques présélectionnées. Les analyses ont combiné statistiques descriptives, régressions linéaires et visualisations dédiées.

Les expositions à l'Elexacaftor, au Tezacaftor et à l'Ivacaftor, estimées par les AUC, se sont révélées très dispersées dans la cohorte analysée. L'analyse pédiatrique suggère des spécificités d'exposition liées à l'âge, au poids et aux apports lipidiques, justifiant une vigilance renforcée lors de l'initiation et du suivi.

Ces résultats confortent l'intérêt d'un suivi thérapeutique pharmacologique ciblé des modulateurs du CFTR, notamment en cas de réponse clinique suboptimale, d'interactions médicamenteuses probables (CYP3A), de suspicion d'inobservance ou encore de modifications diététiques. Ils mettent également en évidence la nécessité d'études complémentaires (PopPK, pharmacogénétique, liens exposition-effet/toxicité) pour définir des cibles d'exposition validées, en particulier en pédiatrie, pour optimiser les posologies et l'exposition des patients aux modulateurs du canal CFTR.

Abstract : Since the advent of CFTR modulators, cystic fibrosis has undergone a major therapeutic shift. However, variability in exposure to Elexacaftor–Tezacaftor–Ivacaftor (ETI) combinations remains high and could limit individual benefit, particularly in children. This study aimed to (i) establish the quantification of the three molecules in human plasma, (ii) document inter- and intra-individual variability in exposure, (iii) investigate clinical and biological factors contributing to variability, and (iv) discuss the role of therapeutic drug monitoring (TDM) in pediatrics.

A sensitive and specific UPLC-MS/MS method was developed and validated (according to COFRAC French Accreditation Committee criteria) for the plasma assay of the three molecules, then applied to samples from a pediatric cohort of cystic fibrosis patients followed up at Lille University Hospital (n=73). The areas under the curve (AUC) were estimated using an established pharmacokinetic model and correlated with preselected clinical and biological covariates. The analyses combined descriptive statistics and linear regressions.

Exposure to Elexacaftor, Tezacaftor, and Ivacaftor, estimated by AUC, was found to be highly variable in the cohort analyzed. The pediatric analysis suggests specificities of exposure related to age, weight, and lipid intake, warranting increased vigilance during initiation and follow-up.

These results reinforce the value of targeted therapeutic drug monitoring of CFTR modulators, particularly in cases of suboptimal clinical response, probable drug interactions (CYP3A), suspected non-compliance, or dietary changes. They also highlight the need for further studies (PopPK, pharmacogenetics, exposure-effect/toxicity relationships) to define validated exposure targets, particularly in pediatrics, in order to optimize dosages and patient exposure to CFTR channel modulators.

Composition du Jury :

Président : Claire-Marie DHAENENS, PU-PH

Assesseurs :

Nathalie WIZLA, PH

Sixtine GILLIOT, MCU-PH

Directeur de thèse :

Benjamin HENNART, PH