



**HAL**  
open science

## Pharmacocinétique de population en pédiatrie : application à l'étude des anti-infectieux

Aude Facchin

► **To cite this version:**

Aude Facchin. Pharmacocinétique de population en pédiatrie : application à l'étude des anti-infectieux. Médecine humaine et pathologie. Université Paris Cité, 2020. Français. NNT : 2020UNIP5018 . tel-03870655

**HAL Id: tel-03870655**

**<https://theses.hal.science/tel-03870655v1>**

Submitted on 24 Nov 2022

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

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

# Université de Paris

École doctorale 563 : Médicament, Toxicologie, Chimie, Imageries

CIC1426 INSERM – EA08

*Laboratoire de Pharmacologie Pédiatrique et Pharmacogénétique,  
Hôpital Robert Debré, Paris*

## Pharmacocinétique de population en pédiatrie : Application à l'étude des anti-infectieux

Par Aude FACCHIN

Thèse de doctorat de Pharmacocinétique

Dirigée par Evelyne JACQZ-AIGRAIN

Présentée et soutenue publiquement le 16 décembre 2020

Devant un jury composé de :

Directrice	Evelyne JACQZ-AIGRAIN,	PUPH, HDR, Hôpital Robert Debré, Université de Paris
Rapporteur	Jean Bernard GOUYON,	PUPH, HDR, Centre Hospitalier Universitaire de la Réunion - Site Sud - Université de la Réunion
Rapporteur	Nicolas SIMON,	PUPH, HDR, Hôpital de la Timone, Université Aix Marseille
Examinatrice	Patricia MARIANI,	Professeur associé PH, HDR, Hôpital Robert Debré, Université de Paris
Examineur	Wei ZHAO,	Professeur, Shandong Provincial Qianfoshan Hospital, Shandong University, China



# Résumé

## Titre de la thèse :

« Pharmacocinétique de population en Pédiatrie : Application à l'étude des anti-infectieux. »

## Résumé :

En pédiatrie, les maladies infectieuses soulèvent plusieurs problématiques majeures liées à la fréquence élevée et à la morbi-mortalité qui y sont associées, à l'émergence des résistances aux agents anti-infectieux et à leur bon usage. L'optimisation des posologies des anti-infectieux permet de répondre à ces 3 aspects en assurant l'efficacité clinique et la sécurité tout en limitant le risque de sélection de mutants résistants. Bien que cette classe thérapeutique soit une des plus utilisées en pédiatrie, les différents anti-infectieux sont largement prescrits en dehors des conditions de l'AMM. Pour augmenter les connaissances pédiatriques de cette classe thérapeutique, nous avons étudié trois antibiotiques et un antiviral dans des sous-groupes d'enfants afin de répondre aux questions suivantes : Quel est la cinétique de la molécule et sa variabilité dans la population étudiée ? Quels sont les facteurs influençant celle-ci ? Quelle est la dose optimale à prescrire par individu pour que le médicament soit efficace sans être toxique ? Pour cela, nous avons modélisé les paramètres pharmacocinétiques chez des enfants traités par ces médicaments en prenant en compte les particularités de la pédiatrie, recherché la cible pharmacologique à atteindre pour assurer l'efficacité du traitement et réalisé des simulations pour définir la dose optimale en fonction des caractéristiques des enfants, de la cible à atteindre et des toxicités de la molécule. La modélisation et les simulations ont été réalisées à l'aide du logiciel NONMEM. Les résultats des différents travaux ont permis :

- 1) de caractériser l'influence de la mucoviscidose sur la pharmacocinétique de la ceftazidime et d'optimiser son mode d'administration tout en conservant les recommandations posologiques actuelles
- 2) de quantifier l'influence de la drépanocytose sur la pharmacocinétique de la ciprofloxacine et d'élaborer des recommandations posologiques spécifiques à cette pathologie
- 3) de déterminer les paramètres pharmacocinétiques du céfotaxime dans une population d'enfants drépanocytaires pour élaborer des recommandations posologiques
- 4) de définir une dose individualisée de valganciclovir chez les enfants ayant bénéficié d'une transplantation rénale

**Mots clés :** pédiatrie, pharmacologie, modélisation pharmacocinétique, anti-infectieux

# **Abstract**

## **Title:**

"Population pharmacokinetics in children: Application to the study of anti-infective agents»

## **Abstract:**

In paediatrics, infectious diseases raise several major issues, linked to their high frequency and associated morbidity and mortality, the emergence of resistance to anti-infectious agents and the proper use of anti-infectives. Optimization of the anti-infective agents dosing regimen allows to respond to these 3 aspects by ensuring clinical efficacy and safety while limiting the risk of resistant strains selection. Although this therapeutic class is one of the most used in paediatrics, anti-infective agents are widely "off label" prescribed. To increase paediatric knowledge for this therapeutic class, we studied three antibiotics and one antiviral in paediatric population subgroups to answer the following questions: What is the drug pharmacokinetics and its variability in the study population? Which factors influence it? What is the drug optimal dosing regimen per individual to be effective without being toxic? For this, we have modelled the pharmacokinetic parameters in children treated with these drugs taking into account the paediatric characteristics, researched the pharmacological target to be reached to ensure the efficacy of the treatment and performed simulations to define the optimal dosing regimen according to the children characteristics, the pharmacological target and the molecule toxicities. Modelling and simulations were performed using NONMEM software. The results of the various works allowed:

- 1) to characterize the influence of cystic fibrosis on ceftazidime pharmacokinetics and to optimize its mode of administration while maintaining the current dosage recommendations
- 2) to quantify the influence of sickle cell disease on ciprofloxacin pharmacokinetics and to develop specific dosage recommendations to this pathology
- 3) to determine the cefotaxime pharmacokinetics in sickle cell children and to develop dosage recommendations
- 4) to define a tailored dose of valganciclovir in renal transplant children

**Keywords:** paediatrics, pharmacology, pharmacokinetics modelling, anti-infective agents

## **Remerciements**

### **Madame le professeur Evelyne Jacqz-Aigrain,**

*Je vous suis sincèrement reconnaissante de m'avoir accordée votre confiance et de m'avoir poussée à me lancer dans ce travail, j'ai énormément appris à vos côtés et pris beaucoup de plaisir à réaliser cette thèse. Un grand merci pour votre disponibilité, votre gentillesse, vos conseils, votre patience, et votre flexibilité quant à l'organisation de cette thèse. J'ai été ravie et honorée d'être votre dernière doctorante.*

### **Monsieur le Professeur Jean Bernard Gouyon,**

*Je suis très honorée que vous ayez accepté d'être rapporteur de ce travail, et vous remercie pour votre disponibilité malgré la distance.*

### **Monsieur le Professeur Nicolas Simon,**

*Je vous remercie pour l'honneur que vous me faites pour avoir accepté de rapporter ce travail, et pour votre livre qui a été ma bible !*

### **Madame le professeur Patricia Mariani,**

*Je vous remercie sincèrement d'avoir accepté de faire partie de ce jury, j'en suis vraiment honorée.*

### **Monsieur le professeur Wei Zhao,**

*Je te remercie de participer à ce jury de thèse, je regrette que tu ne puisses pas être parmi nous le jour de la soutenance.*

### **A l'ensemble du service du Laboratoire de Pharmacologie Clinique Pédiatrique de l'hôpital Robert Debré,**

*Merci à Marie Claude, Ophélie, Laurence, Yves, Michel, Thomas, Sophie, Stéphanie, Nadia, Valéry, Phoebe, Pauline et Virginia. Mes « journée labo » ont été un réel plaisir, merci pour votre bonne humeur votre accueil chaleureux et vos talents culinaires !*

*Merci également à Bérengère Koehl, Patricia Mariani, Albert Faye, Mathie Lorrot, Anne Maisin et Georges Deschênes pour votre collaboration. A l'ensemble de l'équipe de Pharma-A, à Stéphanie Bui, Fabienne Nacka et Michael Fayon.*

### **A l'ensemble du service de pédiatrie générale de l'hôpital Robert Ballanger,**

*A Yacine Laoudi pour m'avoir permis de faire l'étude, merci à toute l'équipe médicale, à Karine ... et surtout merci à l'équipe infirmière d'avoir joué le jeu, d'avoir subi mes appels incessants et pour votre bonne humeur. Je vous souhaite plein de courage dans votre travail, l'étude n'aurait pas pu être réalisée sans vous.*

### **Madame le docteur Marie Belloy,**

*Marie, ma collègue de Ballanger, je regrette profondément que tu ne puisses pas faire partie de ce jury...Merci pour le travail que nous avons réalisé ensemble, j'ai été ravie de notre collaboration à l'hôpital !*

**Merci à toute l'équipe de la pharmacie de l'hôpital Robert Ballanger,**

*Bernie, Anne, Arezki, Loulou, Véro, Maud, Gaëlle, la famille de Bob, j'ai été ravie de revenir parmi vous ! Travailler avec vous est un réel plaisir ! Bernie je te remercie sincèrement pour la confiance que tu as eue en moi et pour m'avoir choisie en tant qu'assistante malgré ma thèse en cours...*

*Merci à toute l'équipe des préparatrices de la pharmacie, vous avez toujours été adorables avec moi, quel bonheur de travailler avec vous ! Karlito, tu es toujours là pour m'aider, et pour ça merci ! C'est toujours un plaisir de te voir débarquer 10 fois par jour grignoter un bout dans mon bureau.*

*Merci à la team du bureau 6 : Odilou, ma petite secrétaire chérie ! Nos discussions sont toujours un plaisir ! Ma petite marie pour ta continuelle bonne humeur, Karine, pour ton humour et pour toutes les victuailles que tu me rapportes !*

*Ma coco d'amour, ma copine de bureau, que serait mes journées sans toi ?! Et dans quel état serait mon bureau ? Merci pour tous ces fous rires, pour ta gentillesse, ton humanité et j'en passe ! Ne change pas tu es parfaite comme ça !!!!*

*Un grand merci aussi à tous mes chefs pour ces belles années d'internat et pour tout ce que j'ai appris auprès de vous. A Valérie Archer, Marthe Rigal, Christophe Padoin, Rui Batista, Brigitte Sabatier, Hail qui m'ont particulièrement soutenue.*

**A ma famille,**

*Maman, Papa, Odile, Bernard, Coco, Mémé, Karine, Mickaël, Alexandre, François, Claire, Clément, Florence, Camille, Daniel, Caroline...Je profite de ce moment pour vous faire part de tout mon amour pour vous. Je suis fière et heureuse de la famille soudée que l'on forme ! Merci d'être vous. C'est promis après j'arrête !*

*A Claire, Mathieu, Carole, Alain, Martine, Bibiche, Marius, Giovanni Giovanni et Iris, mon petit rayon de soleil. Je vous remercie de m'avoir accueillie si chaleureusement parmi vous, je suis très heureuse de chaque moment passé auprès de vous. Un grand merci pour Carole qui m'a aidée à parfaire ce travail !*

**A mes amis,**

*A ma Vicky, Hélène et Anne Claire pour notre amitié sans faille, pour toutes ces belles années passées ensemble et pour toutes celles qui nous restent. Pour ces débats sans fin que l'on peut avoir autour d'un verre...ou plus...A Bill, Amandine, Bastien, Antoine, Seb, Marie, Alice, Emir, Flo, Jean Cha et Jean Zach...Merci pour tous les bons ou mauvais moments que l'on a passés ensemble et que l'on passera encore.*

*A tous mes cointernes : Anne, Johanna, Joséphine, Meriem, Colin, Afsou, Lorianne, Amel, Lison, Camille, Germain, Olivia, Maude, Dimitri, Sébastien, Adrien, Chloé, Etienne...avec qui j'ai partagé et partage encore tellement de choses. Merci pour votre soutien, votre amitié et pour tout ce que l'on a vécu ensemble !*

*A toi Clément pour être si présent et prévenant, pour ton soutien, tes conseils, ta patience et ton amour. Un bel avenir nous attend, j'en suis sûre !*

*A ceux que j'ai probablement oubliés...*

# **Productions scientifiques liées à la thèse**

## **Publications internationales**

### **POPULATION PHARMACOKINETICS OF CEFTAZIDIME IN CRITICALLY ILL CHILDREN - IMPACT OF CYSTIC FIBROSIS.**

S BUI, A FACCHIN, P HA, S BOUCHET, S LEROUX, F NACKA, M FAYON, E JACQZ-AIGRAIN. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* - Mai 2020

### **POPULATION PHARMACOKINETICS OF GANCICLOVIR AFTER VALGANCICLOVIR IN RENAL TRANSPLANT CHILDREN.**

A. FACCHIN, V. ELIE, N. BENYOUB, V. BAUDOIN, S. MAGREULT, T. STORME, W. ZHAO, G. DESCHENES, E JACQZ-AIGRAIN. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. (63) - Septembre 2019

### **VARIABILITY OF CIPROFLOXACIN PHARMACOKINETICS IN CHILDREN: IMPACT ON DOSAGE ADMINISTRATION IN SICKLE CELL PATIENTS.**

A FACCHIN, S BUI, E MAKSOU, F NACKA, W ZHAO, M FAYON, E JACQZ-AIGRAIN. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* (73) - Décembre 2018

### **POPULATION PHARMACOKINETICS OF CEFOTAXIME AND DOSAGE RECOMMENDATIONS IN CHILDREN WITH SICKLE CELL DISEASE.**

E. MAKSOU, B. KOEHL, A. FACCHIN, P. HA, W. ZHAO, F. KAGUELIDOU, M. BENKERROU, P. MARIANI, A. FAYE, M. LORROT, E. JACQZ-AIGRAIN. *Antimicrobial Agents Chemotherapy* (62) - Mars 2018

## **Communications orales internationales**

### **POPULATION PHARMACOKINETICS OF GANCICLOVIR AFTER ORAL VALGANCICLOVIR TREATMENT IN CHILDREN WITH RENAL TRANSPLANT.**

A. FACCHIN, V. ELIE, N. BENYOUB, V. BAUDOIN, A. MAISIN, S. MAGREULT, E. JACQZ-AIGRAIN. *European Society for Developmental Perinatal and Paediatric Pharmacology*, 28-30 Mai 2019 - Bâle, Suisse

### **VARIABILITY OF CIPROFLOXACIN PHARMACOKINETICS IN CHILDREN: IMPACT ON DOSE RANGE IN SICKLE CELL PATIENTS.**

A FACCHIN, S BUI, E MAKSOU, F NACKA, W ZHAO, M FAYON, E JACQZ-AIGRAIN. *Congress of the European Academy of Paediatric Societies*, 30 Octobre-3 Novembre 2018 - Paris, France

## **Communication orale nationale**

### **DRUGS EVALUATION IN PEDIATRICS: CLINICAL, PHARMACOLOGICAL AND PHARMACOKINETIC ASPECTS.**

A. FACCHIN *Journée scientifique Prix jeunes talents for women in science*. 8 octobre 2019 - Paris, France

## **Communication écrite internationale**

### **LIMITED SAMPLING STRATEGIES TO PREDICT VALGANCICLOVIR EXPOSURE IN KIDNEY TRANSPLANTED CHILDREN.**

N. BENYOUB, A. FACCHIN, S. MAGREULT, E. JACQZ-AIGRAIN, V. ELIE. *European Society for Developmental Perinatal and Paediatric Pharmacology*, 28-30 Mai 2019 - Bâle, Suisse

## **Intervention en congrès**

### **PEDIATRIC AND NEONATAL PHARMACOKINETIC MODELLING IN PRACTICE.**

A. FACCHIN. *Les journées du Groupe Métabolisme et Pharmacocinétique*, 17 - 19 octobre 2018 – Paris, France

# Table des matières

<b>Résumé.....</b>	<b>2</b>
<b>Abstract.....</b>	<b>3</b>
<b>Remerciements.....</b>	<b>4</b>
<b>Productions scientifiques liées à la thèse.....</b>	<b>6</b>
<b>Table des matières.....</b>	<b>7</b>
<b>Liste des illustrations.....</b>	<b>9</b>
<b>Liste des tableaux.....</b>	<b>10</b>
<b>Liste des abréviations.....</b>	<b>11</b>
<b>I. Les différentes problématiques de la pharmacologie pédiatrique : cas des anti-infectieux.....</b>	<b>13</b>
A. Infections et pédiatrie.....	15
B. Particularités pharmacocinétiques de la population pédiatrique : Impact sur la dose	19
i. Absorption.....	20
ii. Distribution.....	22
iii. Métabolisme.....	24
iv. Excrétion.....	27
C. Les études pharmacocinétiques de population et de pharmacocinétique/pharmacodynamie : Comment choisir la bonne dose ?.....	31
i. Les études pharmacocinétiques classiques.....	32
ii. Analyse pharmacocinétique par approche de population.....	34
iii. Principe de la pharmacocinétique/pharmacodynamie en infectiologie.....	43
<b>II. Objectifs de la thèse.....</b>	<b>48</b>
<b>III. Etude n°1 – Etude pharmacocinétique de population de la ceftazidime chez l’enfant – Impact de la mucoviscidose.....</b>	<b>49</b>
A. Contexte.....	49
B. Résumé de l’étude.....	50
C. Publication 1.....	51
<b>IV. Etude n°2 – Etude pharmacocinétique de population de la ciprofloxacine en pédiatrie – Impact de la drépanocytose.....</b>	<b>60</b>
A. Contexte.....	60
B. Résumé de l’étude.....	61
C. Publication 2.....	62
<b>V. Etude n°3 – Etude pharmacocinétique de population du céfotaxime chez l’enfant drépanocytaire.....</b>	<b>70</b>
A. Contexte.....	70
B. Résumé de l’étude.....	71
C. Publication 3.....	72

<b>VI. Etude n°4 - Etude pharmacocinétique de population du valganciclovir chez l'enfant transplanté rénal .....</b>	<b>85</b>
A. Contexte .....	85
B. Résumé de l'étude .....	87
C. Publication 4 .....	88
<b>VII. Synthèse des 4 études .....</b>	<b>99</b>
<b>VIII. Discussion.....</b>	<b>102</b>
<b>IX. Conclusion .....</b>	<b>110</b>
<b>X. Bibliographie.....</b>	<b>111</b>
<b>Annexes.....</b>	<b>122</b>
Etude n°1 : Supplemental data – Population pharmacokinetics of ceftazidime in critically ill children – Impact of cystic fibrosis .....	122
Etude n°2 : Supplemental data – Variability of ciprofloxacin pharmacokinetics in children: Impact on dosage administration in sickle cell patients.....	128
Etude n°3 : Supplemental data – Population pharmacokinetics of céfotaxime and dosage recommendations in children with sickle cell disease .....	136
Etude n°4 : Supplemental data – Population pharmacokinetics of ganciclovir after valganciclovir in renal transplant children .....	137

## **Liste des illustrations**

Figure 1 – Etapes pharmacocinétiques ADME .....	20
Figure 2 – Variation de la cinétique d'absorption des médicaments chez l'enfant par rapport à l'adulte.....	22
Figure 3 – Etapes du métabolisme au niveau d'un hépatocyte .....	24
Figure 4 – Ontogénèse des enzymes du métabolisme .....	27
Figure 5 – Modifications physiologiques des étapes ADME en fonction de l'âge chez l'enfant .....	30
Figure 6 – Exemple de profil pharmacocinétique : Evolution des concentrations plasmatiques d'un médicament en fonction du temps .....	31
Figure 7 – Analyse pharmacocinétique classique. Modalité de prélèvements. Un point bleu représente un prélèvement pour un patient donné .....	32
Figure 8 – Pharmacocinétique classique : Méthode des trapèzes pour déterminer l'AUC ....	32
Figure 9 – Notion de compartiments.....	33
Figure 10 – Modèle structural de population et modalité de prélèvements.....	34
Figure 11 – Variabilité interindividuelle du paramètre pharmacocinétique .....	36
Figure 12 – Modèle de variabilité interindividuelle additive.....	37
Figure 13 – Modèle de variabilité interindividuelle proportionnelle. ....	37
Figure 14 – Modèle d'erreur résiduelle .....	38
Figure 15 – Modèle d'erreur résiduelle additive .....	38
Figure 16 – Modèle d'erreur résiduelle proportionnelle .....	39
Figure 17 - Exemple de courbe de population. ....	41
Figure 18 – Modèle final d'un paramètre pharmacocinétique.....	41
Figure 19 – Paramètres pharmacocinétiques pharmacodynamiques prédictifs de l'efficacité clinique des antibiotiques. ....	44

## ***Liste des tableaux***

Tableau 1 – Propriétés pharmacodynamiques des anti-infectieux en pédiatrie.....	45
Tableau 2 – Tableau récapitulatif des 4 études .....	101

## Liste des abréviations

ADME	Absorption/Distribution/Métabolisme/Élimination
ADN	Acide désoxyribonucléique
AMM	Autorisation de mise sur le marché
AUC	Aire Sous la Courbe
C3G	Céphalosporine de 3 <sup>ème</sup> génération
CL	Clairance
C <sub>max</sub>	Concentration au pic
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
CMV	<i>cytomégalo</i> virus
CYP	Cytochrome
EMA	<i>European Medicines Agency</i>
F	Biodisponibilité
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FQ	Fluoroquinolone
GCV	Ganciclovir
GI	Gastro-Intestinal
GST	Glutathion S transférase
IC50	Concentration inhibitrice à 50%
IV	Intraveineux
k <sub>a</sub>	Constante d'absorption
NADPH	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
NONMEM	<i>Non-Linear Mixed Effect Model</i>
NPDE	<i>Normalized Prediction Distribution Errors</i>
OMS	Organisation mondiale de la Santé
PA	Principe actif
P-GP	<i>Permeability-GlycoProtein</i>
PIP	Plan d'investigation Pédiatrique
PK	Pharmacocinétique

PK/PD	Pharmacocinétique/Pharmacodynamique
$pK_a$	Constante d'acidité
PKPOP	Pharmacocinétique de population
PO	<i>Per os</i>
Q	Clairance intercompartimentale
$t_{1/2}$	Temps de demi-vie
$t_{max}$	Temps au pic
UGT	Uridine 5'-diphospho-glucuronyltransférase
Vc	Volume central de distribution
Vd	Volume de distribution
Vp	Volume périphérique de distribution

# ***I. Les différentes problématiques de la pharmacologie pédiatrique :***

## ***cas des anti-infectieux***

La pharmacologie clinique est une large discipline dont le but est de comprendre tous les aspects des relations entre les médicaments et l'organisme. Plusieurs types d'études, aussi bien précliniques que cliniques, permettent d'explorer ces aspects. Par la compréhension des mécanismes pharmacologiques impliqués, il est possible d'évaluer l'efficacité et l'innocuité d'un médicament, en tenant compte des facteurs pouvant les faire varier.

Les domaines de la pharmacologie clinique sont :

La pharmacodynamie ou l'étude des mécanismes d'action impliqués dans l'effet d'un xénobiotique sur l'organisme. Elle en cherche le mécanisme, mais aussi, détermine la relation concentration/effet d'une molécule : Elle décrit les effets du xénobiotique sur l'organisme.

La pharmacogénétique étudie la variabilité des effets pharmacologiques d'un médicament entraînée par la variabilité interindividuelle de la séquence d'ADN génomique des sujets testés.

La pharmacovigilance analyse les profils de sécurité des médicaments (effets indésirables).

La pharmacocinétique (PK) étudie le devenir d'un xénobiotique dans l'organisme. Elle permet de décrire toutes les étapes du devenir de la molécule dans l'organisme qui sont l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'excrétion, appelées les étapes ADME. Cette discipline, à l'inverse de la pharmacodynamie, analyse l'effet de l'organisme sur le xénobiotique. Elle permet de décrire l'évolution des concentrations d'une molécule au cours du temps, dans les milieux biologiques où elles peuvent être quantifiées.

La population pédiatrique présente des différences par rapport à l'adulte et entre les différents groupes d'âge, nécessitant de conduire des études dans chacune des 4 disciplines. C'est pourquoi la pharmacologie pédiatrique est un domaine de la pharmacologie à part entière. Elle permet d'étudier l'impact de la maturation de l'organisme en développement sur la cinétique

et l'effet des médicaments. A l'heure actuelle, de **nombreux médicaments sont utilisés chez les enfants sans évaluation spécifique de sécurité ou d'efficacité et sans posologie validée**. Les cliniciens sont régulièrement dans l'obligation de prescrire des traitements aux enfants en dehors des conditions fixées par l'autorisation de mise sur le marché (AMM). Cette pratique reste assez courante (environ 50% des prescriptions) avec des conséquences pouvant être graves (Conroy et al. 2000 ; Corny et al. 2016). En effet, **la prescription de posologies inadaptées peut être responsable d'inefficacité et/ou de toxicités imprévisibles**. Les doses chez l'enfant généralement exprimées en mg/kg ne sont pas identiques à celles de l'adulte et ne peuvent pas être extrapolées. En général, les nourrissons auront besoin de doses plus faibles que les doses en mg/kg extrapolées de l'adulte (Kearns et al. 2003) tandis que les jeunes enfants nécessiteront des doses plus élevées que les doses ajustées en fonction du poids des adultes (Kimland et al. 2012). Ces différences sont principalement dues à l'immaturation du nouveau-né et du jeune enfant, au développement et à la croissance, responsables des variabilités des paramètres PK entre les différentes tranches d'âges pédiatriques et par rapport aux adultes. Il est donc **nécessaire de réaliser des études chez les enfants afin d'optimiser la sécurité et l'efficacité** des médicaments.

Ces dernières années, plusieurs initiatives ont été lancées pour encourager et exiger la conduite d'études cliniques sur les médicaments en pédiatrie. Ces initiatives comprennent le règlement pédiatrique de 2007 (Pediatric Investigation Plans - PIPs), (European Medicines Agency 2008c), le plan de soutien au développement de médicaments pour les enfants (European Medicines Agency 2018a) introduits par l'Agence européenne des médicaments (EMA) et les « Pediatric Study Plans », par la Food and Drug Administration (FDA) (Food and Drug Administration 2016).

## **A. Infections et pédiatrie**

---

Dans ce contexte, nous avons ciblé nos travaux sur une classe thérapeutique particulière, les anti-infectieux, pour plusieurs raisons :

1) Les infections représentent 7 des 10 principales causes de décès d'enfants dans le monde (Stein et al. 2004). En 2013, 6,3 millions décès d'enfants de moins de 5 ans ont été rapportés, dont 51,8% ont été imputés à une cause infectieuse (Liu et al. 2015). Les complications liées à la prématurité, à l'accouchement, à la septicémie ou la méningite étaient les principales causes de décès néonatal. Chez les enfants plus âgés, ce sont la pneumonie, la diarrhée et le paludisme qui font le plus de victimes (UNICEF et al. 2018). Bien que le risque de décès de causes infectieuses soit plus élevé dans les pays sous-développés pour plusieurs raisons (l'accès limité à la vaccination, au traitement médical, à l'eau potable et aux installations sanitaires, malnutrition), elles restent responsables **d'une morbidité et d'une mortalité importantes dans la population pédiatrique même dans les pays développés**. En 2013, 6% des décès d'enfants de moins de 5 ans admis en unité de soins intensifs dans 7 pays Européens étaient attribuables à des infections. Parmi les enfants ayant survécus, 31% sont sortis avec une invalidité plus ou moins sévère (Boeddha et al. 2018). Aux États-Unis, 24,5% des hospitalisations en pédiatrie dues à une infection ont été rapportées en 2012. Les infections respiratoires basses représentaient 42,8% de toutes les hospitalisations pour maladie infectieuse (Goto et al. 2016).

2) Les anti-infectieux font partie de la **classe thérapeutique la plus largement employée en pédiatrie** (Kimland et al. 2012) mais aussi **une des plus utilisées en dehors des conditions de l'AMM** (Pratico et al. 2018), c'est-à-dire sans information appropriée sur la posologie à travers les différents groupes d'âge, la toxicité potentielle, la preuve de l'innocuité et de l'efficacité clinique (Folgori et al. 2016). **L'utilisation des anti-infectieux en pédiatrie reste peu uniforme** entre les différents centres et/ou pays (Spyridis et al. 2016 ; Versporten et al. 2016). Au vu du large emploi de cette classe thérapeutique en pédiatrie, il est important de maximiser la connaissance de leur profil pharmacocinétique pour aider à déterminer leur posologie optimale et, finalement, pour améliorer et préserver leur efficacité clinique. Malgré

cela, le **manque d'essais cliniques en pédiatrie qui concernent l'optimisation des doses, l'autorisation de mise sur le marché et les différentes indications** demeure un problème. Une grande disparité du nombre d'essais cliniques portant sur les anti-infectieux entre les adultes et les enfants persiste (Thompson et al. 2017). Par exemple, 4078 essais cliniques portant sur les antibiotiques ont été conduits chez l'adulte tandis que seulement 294 ont été réalisés dans la population pédiatrique entre 2000 et 2010 et seulement 2 des 37 nouveaux antibiotiques en développement listés dans les « Pew Charitable Trusts antibiotic development pipeline » en 2016 concernent les enfants (Thompson et al. 2017). Plusieurs facteurs peuvent expliquer cette disparité entre les adultes et les enfants : l'absence d'orientations réglementaires, la nécessité de protocoles spécifiques adaptés à la pédiatrie, la vulnérabilité de la population pédiatrique, les difficultés liées à la demande et l'obtention du consentement éclairé, une approbation éthique compliquée et le manque de personnels hospitaliers expérimentés dans la recherche en pédiatrie. Ces différents facteurs continuent de décourager à la fois la recherche académique et industrielle (Thompson et al. 2017). Par conséquent, **l'approbation et l'autorisation de mise sur le marché de nouveaux antibiotiques ou de nouvelles indications et les études permettant une utilisation optimale des antibiotiques plus anciens chez les enfants sont souvent retardées** (Folgori et al. 2016). Malgré les différentes initiatives mises en place par les autorités sanitaires (European Medicines Agency 2008c ; Food and Drug Administration 2016), peu de progrès ont été réalisés dans le développement d'antibiotiques pour cette population (Garazzino et al. 2013).

3) **L'émergence des résistances des microorganismes aux anti-infectieux** pose un réel problème de santé publique. Actuellement, un des objectifs les plus importants est de **préserver l'efficacité clinique des anti-infectieux**. En effet, la croissance et la diversification des résistances bactériennes ou virales associées à de faibles innovations en terme de molécules nous oblige à **optimiser leur utilisation au maximum** (Infectious Diseases Society of America 2010). Une utilisation optimisée des antibiotiques existants est essentielle pour améliorer la gestion des infections bactériennes graves chez les enfants et réduire la pression de sélection de mutants résistants (Folgori et al. 2016). Chez les enfants et notamment les nouveau-nés, une augmentation des infections sévères dues à des bactéries multirésistantes

a été associée à une augmentation de la morbidité et de la mortalité (Folgori et al. 2016) et leur utilisation inappropriée dans les hôpitaux a été décrite comme l'un des principaux facteurs favorisant le développement de la résistance aux antibiotiques (Gyssens et al. 1992 ; Singh et al. 2000 ; Lesch et al. 2001). La résistance aux antiviraux est également une source de préoccupation croissante dans les populations de patients immunodéprimés, où la réplication virale continue et l'exposition prolongée aux médicaments conduisent à la sélection de souches résistantes (Strasfeld et al. 2010).

Cette problématique fait l'objet de plans, aussi bien au niveau national (Ministère des solidarités et de la santé 2016), qu'europpéen et international, dont fait partie le « Plan d'action mondial pour combattre la résistance aux antimicrobiens établi par l'OMS. » (Organisation mondiale de la santé 2016). Au niveau national, la feuille de route interministérielle pour la maîtrise de la résistance aux antibiotiques préconise 13 mesures et 40 actions et fait office de référence dans la lutte contre la résistance aux antibiotiques (Ministère des solidarités et de la santé 2016). L'EMA a également publié en 2016 un document de réflexion pour proposer l'élaboration d'un addendum à la ligne directrice sur l'évaluation de nouveaux produits antibactériens pour le traitement des infections bactériennes chez les enfants (European Medicines Agency/CHMP 2016). Parallèlement, le groupe Clinical Trial Transformation Initiative (CTTI) s'est concentré sur l'identification des principaux obstacles à la conduite des essais cliniques pédiatriques impliquant les antibactériens, entravant leur mise en œuvre dans la pratique clinique (Clinical Trial Transformation Initiative 2017).

Quelle que soit la nature du plan, national ou international, une des actions à mettre en œuvre est **l'usage approprié des anti-infectieux** par la « Fourniture de programmes de bonne gestion visant à contrôler et à optimiser l'emploi des antimicrobiens aux niveaux national et local conformément aux normes internationales, afin que **les produits et les doses soient judicieusement choisis sur la base de données factuelles** » (Organisation mondiale de la santé 2016).

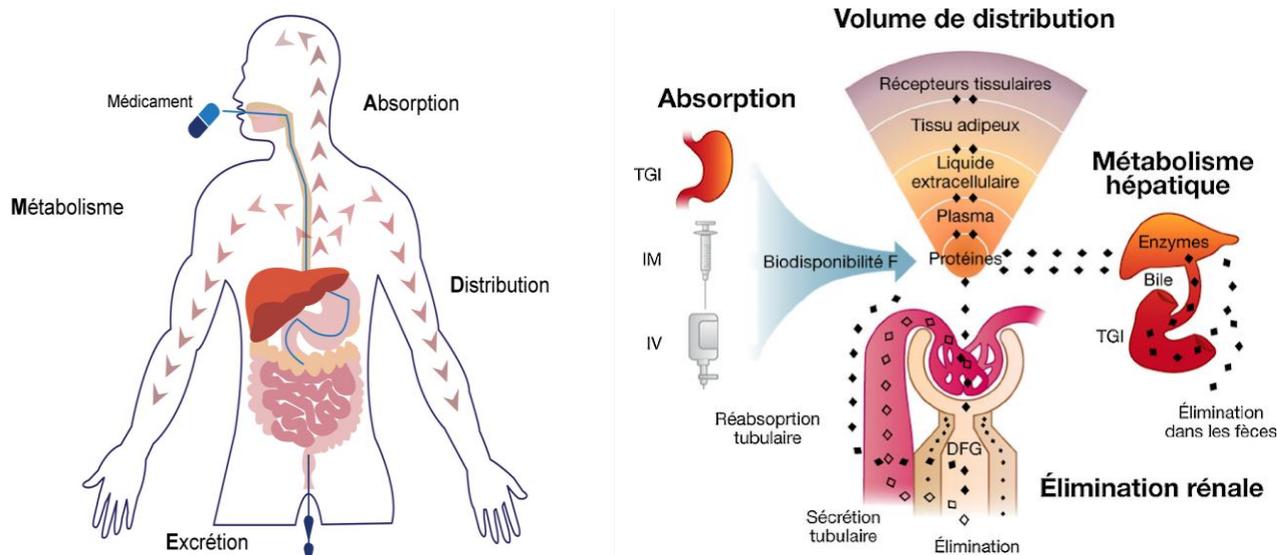
Malgré des contraintes pratiques et éthiques, il est donc indispensable de réaliser des études pédiatriques puisque seules celles-ci permettent d'optimiser les posologies de ces médicaments en fonction des différentes indications et des populations pédiatriques. **Ce travail de recherche s'inscrit pleinement dans une des actions à mettre en œuvre pour lutter contre l'émergence des résistances aux anti-infectieux** via la promotion de l'usage approprié des antimicrobiens dans la population pédiatrique encore trop peu étudiée à ce jour (Organisation mondiale de la santé 2016). **L'optimisation et la mise en place de recommandations permettront de limiter les risques d'inefficacité clinique et d'émergence des résistances bactériennes ou virales engendrés par des doses trop faibles, ou de toxicités causées par des doses trop élevées.**

## **B. Particularités pharmacocinétiques de la population pédiatrique : Impact sur la dose**

---

Les enfants constituent une population très hétérogène. Lorsque que l'on parle de « patients pédiatriques », cela englobe tous les âges de la naissance à 18 ans, séparés en différents groupes, dont les nouveau-nés prématurés (nés avant 37 semaines d'aménorrhée), les nouveau-nés à terme (de la naissance à 1 mois), les nourrissons (de 1 mois à 1 an), les enfants (de 1 à 12 ans) et les adolescents (de 12 à 18 ans). Chaque groupe d'âge présente des modifications physiologiques d'importances variables caractérisant des phénomènes de maturation et de croissance : ces modifications sont importantes chez les nouveau-nés et nourrissons, les groupes d'âges pour lesquels la pharmacocinétique des médicaments est fortement affectée (Le et al. 2018).

Les différents phénomènes de maturation affectent toutes les étapes pharmacocinétiques des médicaments. Ces 4 étapes couramment appelées étapes ADME : Absorption, Distribution, Métabolisme et Excrétion, sont représentées dans la **figure 1**. Elles conditionnent l'évolution de la concentration du médicament dans l'organisme et sont caractérisées par les paramètres PK primaires : la biodisponibilité (F), quantité de principe actif (PA) qui entre dans la circulation générale et la vitesse à laquelle il l'atteint, le volume de distribution (Vd), volume virtuel dans lequel se répartit le PA dans l'organisme, et la clairance (CL) qui correspond au volume de sang épuré du PA par unité de temps. Chaque étape ADME et les différents facteurs physiologiques pouvant entraîner des modifications de celles-ci dans la population pédiatrique sont décrites ci-dessous.



**Figure 1 – Etapes pharmacocinétiques ADME**

### ***i. Absorption***

C'est l'étape par laquelle le médicament inchangé passe dans la circulation systémique depuis son site d'administration (orale, intramusculaire, cutanée etc.). Plusieurs facteurs affectent cette étape (formulation du médicament, voie d'administration). Les médicaments faisant l'objet de cette thèse ont été étudiés pour des administrations orales ou intraveineuses (IV) donc seule la voie orale sera détaillée.

Après administration orale, le PA sous forme soluble traverse la barrière digestive, en fonction de son poids moléculaire, de son coefficient de partage (plus elle est lipophile, plus la solubilisation est faible) et de son  $pK_a$  qui conditionne le degré d'ionisation au pH du milieu gastro-intestinal (GI). Pour passer la barrière GI, le PA doit être solubilisé, non ionisé et assez lipophile. Au niveau des entérocytes, plusieurs phénomènes peuvent moduler l'absorption des PA : Il existe au sein des entérocytes des enzymes, des cytochromes (CYP) pouvant métaboliser certains PA, et des transporteurs (comme la P-glycoprotéine (P-GP), protéine d'efflux) diminuant le passage vers la circulation sanguine du PA qui serait substrat de ces transporteurs. Après avoir traversé la barrière GI, le PA entre dans la circulation générale via la veine porte. Un effet de premier passage hépatique, incluant une métabolisation pré-systémique et/ou un efflux vers la lumière intestinale, réduit ainsi la biodisponibilité du médicament.

Deux phénomènes contribuent à ralentir l'absorption des médicaments chez les nouveau-nés et les jeunes enfants :

- La **vitesse de la vidange gastrique** est plus faible chez les nouveau-nés et les jeunes enfants. Elle atteint des valeurs adultes aux alentours de 6 à 8 mois (Samardzic et al. 2015). Elle est également réduite d'environ 10% chez les prématurés par rapport aux nouveau-nés à terme (Gupta et al. 1978 ; Yokoi 2009).

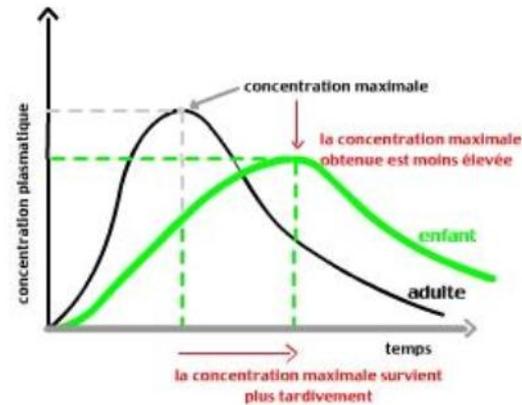
- Le **péristaltisme intestinal** est également réduit chez les nouveau-nés et les jeunes enfants. La fréquence et la motilité duodénale augmentent en rapport avec l'âge gestationnel du nouveau-né (Berseeth 1989).

La **variation du pH gastrique** peut également modifier la biodisponibilité des médicaments : en modifiant la fraction ionisée des médicaments qui sont des acides ou des bases faibles, mais aussi pour les PA qui sont instables à des pH très faibles, en diminuant leur dégradation gastrique (Huang et al. 1953 ; Samardzic et al. 2015). Le pH gastrique varie de la naissance (environ à 6) pour atteindre la valeur adulte (1 à jeun) vers 3-4 ans. Cette variation est principalement due à une **diminution de la sécrétion d'acide chlorhydrique par les cellules pariétales et à la diminution du volume des sécrétions gastriques** chez le jeune enfant par rapport à l'adulte (Agunod et al. 1969).

La **maturation de la fonction biliaire** pourrait aussi entraîner des variations de l'absorption des PA lipophiles. On estime que la maturation est complète peu après la première année de vie (Murphy et al. 1974). En conséquence, la sécrétion d'acide biliaire est moindre donc les médicaments lipophiles sont moins absorbés lors de cette période.

**L'intestin est un organe primordial dans l'absorption, mais aussi dans la métabolisation** des médicaments influençant leur biodisponibilité. Les entérocytes sont pourvus d'enzymes du système cytochrome P450, responsables de la métabolisation des PA (80% des CYP entérocytaires sont les 3A4 et 3A5 et 14% le CYP2C9) (Blumenfeld et al. 2010). Celles-ci présentent des **profils de maturation différents selon le cytochrome considéré** comme cela a été décrit pour le CYP1A1 (augmentation de l'activité avec l'âge) et la glutathion S

transférases (diminution de l'activité avec l'âge) (Ståhlberg et al. 1988 ; Gibbs et al. 1999). Les **processus de transport des médicaments** au niveau intestinal, aussi bien passifs qu'actifs, présentent une maturation jusqu'à l'âge de quatre mois (Heimann 1980).



**Figure 2 – Variation de la cinétique d'absorption des médicaments chez l'enfant par rapport à l'adulte**

Ces différentes modifications peuvent ainsi entraîner une variabilité des paramètres PK caractérisant l'étape d'absorption d'un PA (**figure 2**) : Le  $t_{max}$  est en général retardé et la concentration au pic ( $C_{max}$ ), réduite par rapport aux adultes et l'aire sous la courbe (AUC) qui représente le niveau d'exposition au médicament peut se trouver modifiée.

## **ii. Distribution**

Lorsque le PA a atteint la circulation générale, il se distribue dans les différents tissus, organes ou compartiments liquidiens. Sa distribution au sein des différents compartiments de l'organisme dépend des caractéristiques intrinsèques de la molécule et de son affinité pour les protéines sériques (albumine, glycoprotéines) ou tissulaires, des caractéristiques de l'organisme (taille des compartiments hydriques et adipeux) et des débits sanguins au niveau des organes et des tissus. Le paramètre PK qui caractérise la distribution d'un PA est le volume apparent de distribution. Les composés hydrophiles sont majoritairement distribués dans les compartiments extracellulaires et présentent des volumes de distribution faibles. A l'inverse, les composés se distribuant dans les tissus et au niveau intracellulaire présenteront des volumes de distribution élevés.

Chez les enfants, les variations du volume de distribution sont surtout liées à la **modification de la composition corporelle** notamment les tailles des compartiments adipeux et hydriques qui évoluent en fonction de l'âge :

- Le **compartiment hydrique** représente 85% du poids total chez les prématurés, 70-80% chez les nouveau-nés à terme et 64% chez les enfants de 1 à 12 ans contre 55% chez l'adulte (Fernandez et al. 2011 ; Samardzic et al. 2015). Le **volume du compartiment extracellulaire évolue** également en fonction de l'âge (45% chez le nouveau-né, 26% à 1 an versus 18% chez l'adulte) (Anderson et al. 2008).

- A l'inverse, la proportion **de tissu adipeux** est plus faible chez le nouveau-né (1 à 10%) par rapport à la puberté (18%) (Kearns et al. 2003). Et lorsque le nourrisson commence à marcher, la **masse protéique** augmente (20% nouveau-né à terme, 50% adulte) (Anderson et al. 2008).

En conséquence, les molécules hydrophiles auront un volume de distribution augmenté et nécessiteront des doses/kg plus élevées chez les plus jeunes pour obtenir les concentrations thérapeutiques plasmatiques cibles tandis que les molécules lipophiles sont administrées à des doses plus faibles (Le et al. 2018).

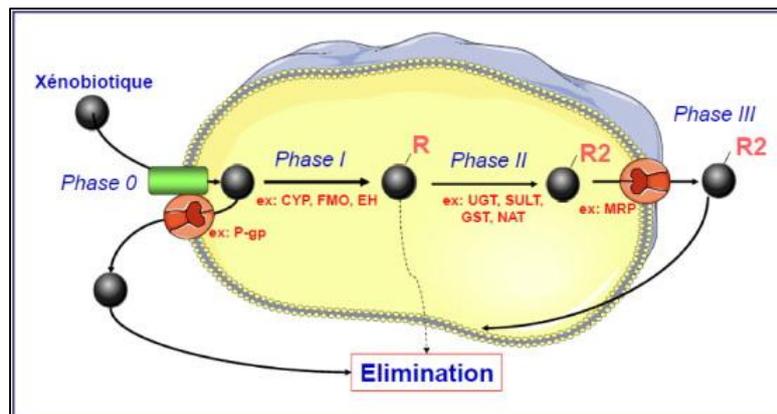
Les **modifications quantitatives et qualitatives de l'albumine et de l'alpha-1 glycoprotéine acide** (plus faible concentration et moindre affinité) ont surtout des conséquences chez le nouveau-né, le jeune nourrisson et le jeune enfant sur la fraction libre (fraction active) des médicaments qui présentent une forte liaison aux protéines plasmatiques (Kearns et al. 2003). La fixation protéique des acides est considérée comme étant équivalente à celle de l'adulte à l'âge de 1 an et à celle des bases vers 3-4 ans (Yokoi 2009). La conséquence est une augmentation du volume de distribution de la fraction libre et potentiellement de la toxicité.

Enfin, la distribution tissulaire s'effectue de manière prédominante par diffusion passive mais peut, pour certains médicaments, **dépendre de transporteurs tissulaires** comme la P-GP, un transporteur d'efflux capable d'expulser des composés hors des cellules. Son expression, localisée dans divers tissus spécifiques (hépatocytes, cellules tubulaires rénales, entérocytes,

BHE) (Lin et al. 2003) a montré une dépendance de l'âge sur des modèles murins ou primates (Takashima et al. 2011). De nombreux autres transporteurs sont identifiés, dont le profil de maturation en fonction de l'âge est encore insuffisamment connu. (Brouwer et al. 2015).

### iii. Métabolisme

Le métabolisme correspond à la transformation, par une réaction enzymatique, d'un PA en un ou plusieurs autres composés actifs ou inactifs sur le plan pharmacologique. C'est une étape possible d'élimination des PA, mais tous ne sont pas métabolisés et ils seront donc éliminés sous forme inchangée. Il peut se dérouler dans plusieurs organes mais le lieu privilégié de métabolisation est le foie, riche en enzymes. Plusieurs étapes sont nécessaires au niveau cellulaire (**figure 3**) :



**Figure 3 – Etapes du métabolisme au niveau d'un hépatocyte**

(i) L'entrée dans l'hépatocyte se fait par diffusion passive selon un gradient de concentration ou par le biais de transporteurs spécifiques (phase 0). Des pompes d'efflux peuvent aussi soit s'opposer à l'entrée du PA dans la cellule (P-GP), soit en faciliter l'élimination vers la bile ou vers la circulation sanguine sous forme inchangée ou métabolisée (MRP). (ii) La métabolisation au sein de l'hépatocyte est réalisée par deux types d'enzymes (Phases I et II) :

- Les enzymes d'oxydation dites de phase I, principalement les CYP ou la NADPH cytochrome réductase vont transformer le PA en molécule plus hydrophile.

- Les enzymes de conjugaison dites de phase II, les glutathion S transférases (GST), les N acétyl transférases, les Uridine 5'-diphospho-glucuronyltransférase (UGT)...

transfèrent un groupement hydrophile sur le PA ou sur la molécule issue de la phase I pour en faciliter l'élimination rénale.

(iii) Puis le PA, inchangé, issu de la phase I et/ou de la phase II, va sortir de l'hépatocyte par diffusion passive ou transport actif vers la bile ou la circulation générale pour être ensuite éliminé par l'organisme (Phase III).

De nombreux facteurs expliquent la variabilité du métabolisme des médicaments : états pathologiques, polymorphismes génétiques des gènes codant pour les enzymes du métabolisme.

**L'âge est un facteur majeur de variabilité** : A la naissance, les enfants présentent une immaturité métabolique qui va ensuite rapidement évoluer. Les **variations des profils d'activité des principales enzymes du métabolisme** sont résumées dans la **figure 4**.

### Les enzymes de phase I

Les principales enzymes responsables de cette phase sont les cytochromes P450 (CYP). La quantité de ces CYPs représente 25 à 50% des adultes de la période fœtale à 1 an, puis elle va approcher les valeurs adultes vers l'âge de 10 ans (de Wildt et al. 2003).

La famille CYP3A est la plus importante famille de CYP chez l'homme et de nombreuses études ont défini ses changements et caractéristiques au cours du développement.

Le CYP 3A7, principal CYP chez l'embryon et le nouveau-né, apparaît au bout de deux mois de vie fœtale, il atteint un pic d'activité lors du dernier trimestre de grossesse pour diminuer rapidement et n'être plus détectable chez le jeune enfant (Blumenfeld et al. 2010).

Le CYP3A4, principal CYP chez l'adulte (1/3 du bagage enzymatique), apparaît à partir de la naissance pour atteindre, entre 6 et 12 mois, 50% de l'expression observée à l'âge adulte. Puis il est surexprimé chez l'enfant et le jeune adolescent (jusqu'à 160% de l'adulte). Pour certains médicaments fortement métabolisés par le CYP3A4, il sera donc nécessaire d'augmenter les doses en mg/kg pendant cette période pour atteindre les mêmes concentrations plasmatiques que l'adulte (Buatois et al. 2014).

Le CYP3A5 a sensiblement le même profil que le CYP3A4 mais présente des polymorphismes engageant une forte variabilité interindividuelle et interethnique (de Wildt 2011).

Parmi les autres cytochromes :

Le CYP1A2 (12% des CYPs du foie) (Galetin et al. 2010) a une activité équivalente à celle de l'adulte à 4 mois, elle augmente ensuite pendant l'enfance. Son activité est plus élevée chez les enfants de 7 à 12 ans que chez l'adulte (Blake et al. 2005). La caféine est typiquement métabolisée par ce cytochrome, sa clairance est respectivement 50% plus élevée chez les enfants de 3 à 9 ans et 33% chez les adolescents de 9 à 15 ans que chez les adultes (Fernandez et al. 2011).

L'activité du CYP2C9 atteint le seuil adulte au cours des 6 premiers mois pour être supérieure entre trois et dix ans et redevenir équivalente à l'adulte au moment de la puberté (Blake et al. 2005). À la naissance, l'activité CYP2C19 représente environ 30% de l'activité adulte et atteint les valeurs adultes à partir de 10 ans (Strolin Benedetti et al. 2005).

Ces deux derniers cytochromes représentent 27% des CYPs chez l'adulte (Galetin et al. 2010).

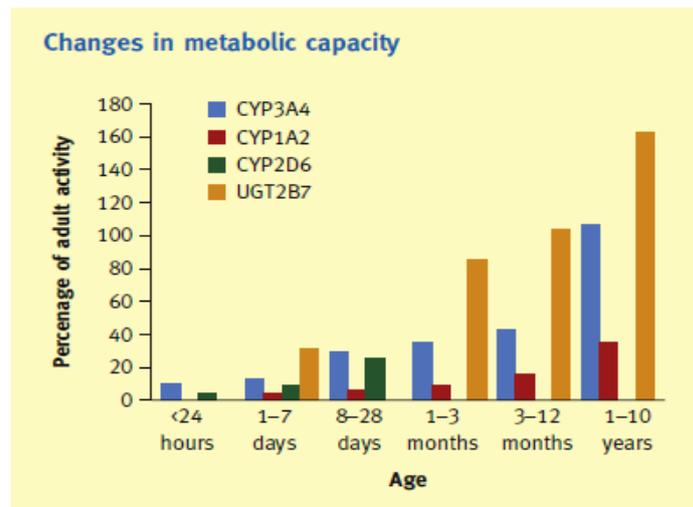
Le CYP2D6 est sujet à de nombreux polymorphismes génétiques. Son expression, réduite à l'âge de 1 an à 20% de celle de l'adulte, va augmenter pour atteindre une activité considérée équivalente à celle d'un adulte vers 10 ans (Treluyer et al. 1991).

L'expression du CYP2E1 commence au deuxième trimestre de grossesse. Son activité augmente rapidement après la naissance, et à partir de l'âge de 3 mois est semblable à celle de l'adulte (Johnsrud et al. 2003).

### **Les enzymes de phase II**

Les UGT sont immatures à la naissance. Pendant la première semaine de vie, le développement des UGT se fait très rapidement. A 2 ans, l'activité des UGT reste plus faible que celle des adultes. Certains isoformes de cette famille peuvent aussi présenter une activité plus élevée chez les adolescents (Strassburg et al. 2002).

Plusieurs isoformes de GST existent. Les GSTA1 et GSTA2 ont une activité détectable après 10 semaines de vie gestationnelle pour devenir équivalente à celle de l'adulte à 1 an. L'isoforme GSTM présente une activité très basse pendant la vie fœtale, elle va atteindre le seuil adulte quelques temps après la naissance. À l'inverse, l'isoforme GSTP1, détectable à 10 semaines de vie fœtale, voit son activité diminuer au cours des deuxième et troisième trimestres de grossesse pour devenir indétectable à l'âge adulte (Blake et al. 2005).



*Figure 4 – Ontogénèse des enzymes du métabolisme*

**L'évolution des profils d'activité des enzymes responsables du métabolisme durant l'enfance reste complexe et encore insuffisamment élucidée.** Au vu des données de la littérature, on observe une **grande variabilité de maturation en fonction de l'âge** qui pourrait avoir des conséquences importantes sur le métabolisme de certains PA chez les enfants. En plus de l'âge, d'autres facteurs, notamment les polymorphismes génétiques, les pathologies et l'environnement, peuvent entraîner des variabilités quant à l'activité des cytochromes.

#### ***iv. Excrétion***

L'élimination des médicaments et/ou de leurs métabolites circulants se fait principalement au niveau rénal. L'hépatocyte peut aussi excréter dans la bile les PA inchangés ou métabolisés. L'élimination rénale peut se faire par plusieurs mécanismes : Dans le glomérule rénal, les molécules peuvent être filtrées par diffusion passive (pour les molécules de moins de 65kDa de poids moléculaire). Ce processus peut être évalué en clinique par le calcul de la clairance

rénale de la créatinine. Les molécules peuvent également être secrétées de manière active au niveau du tubule proximal du néphron par le biais de transporteurs spécifiques. Ce mécanisme favorise l'élimination du médicament dans l'urine. Au contraire, les molécules peuvent être réabsorbées, soit passivement, soit par le biais de transporteurs spécifiques. L'élimination rénale d'un médicament est donc la somme de ces trois mécanismes :

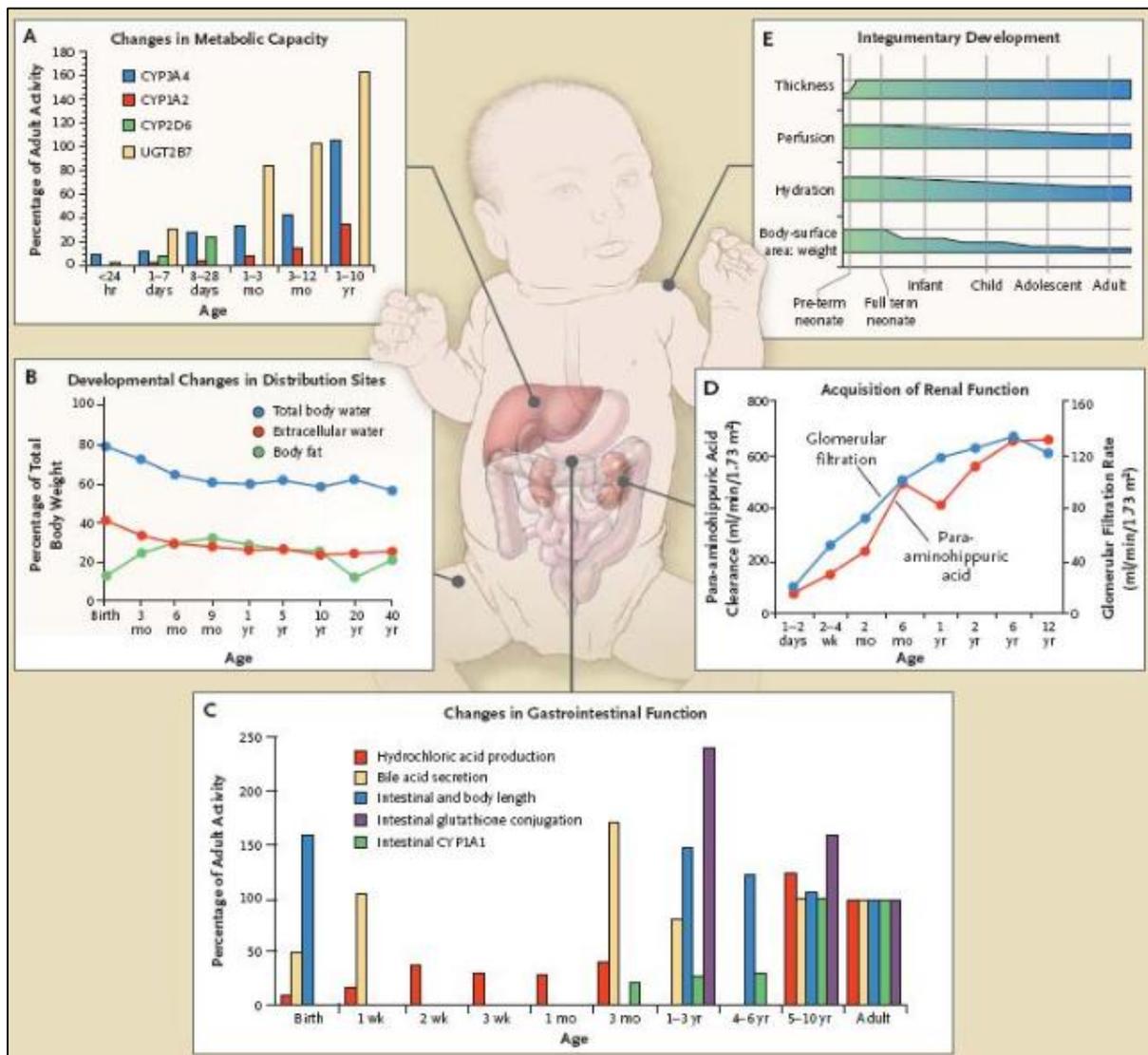
$CL \text{ rénale} = \text{Filtration Glomérulaire} + \text{Sécrétion Tubulaire} - \text{Réabsorption Tubulaire}$

Ces mécanismes dépendent du **débit sanguin rénal** qui s'accroît avec l'âge, en rapport avec l'augmentation du débit cardiaque et la réduction des résistances vasculaires périphériques. En effet, le débit sanguin rénal ne représente que 5 à 6% du débit cardiaque à la naissance, 15 à 25% à un an et atteint les valeurs adultes après deux ans (Fernandez et al. 2011).

La **maturation de la fonction rénale** est dépendante de l'âge. Elle débute in utéro à 9 semaines pour se terminer à 36 semaines de gestation. En effet, la **filtration glomérulaire, immature à la naissance, augmente rapidement** durant les deux premières semaines de vie **puis progressivement** pour atteindre 90% des valeurs adultes entre 8 et 12 mois et 100% à 2 ans. La maturation de la filtration glomérulaire sera plus lente chez les enfants nés prématurément (Rhodin et al. 2009). La **sécrétion tubulaire est également immature à la naissance**, elle **augmente plus lentement** que la filtration glomérulaire puisqu'elle est estimée à 90% de celle de l'adulte aux environs de trois ans (Buatois et al. 2014), dépassant les valeurs adultes chez les enfants et les adolescents (Fernandez et al. 2011). Les mécanismes de sécrétion et réabsorption tubulaires peuvent dépendre de certains transporteurs (OAT, P-GP). Ceux-ci ont été étudiés chez le rongeur montrant une maturation progressive entraînant de probables modifications de la clairance des médicaments éliminés par ces voies (Brouwer et al. 2015 ; Momper et al. 2019). L'expression des transporteurs de médicaments (ABC et SLC) semble faible pendant les périodes fœtale et néonatale, mais augmente à partir de 7 ans (Le et al. 2018).

Bien que pendant la période néonatale, l'élimination de nombreux médicaments excrétés sous forme inchangée dans l'urine est limitée par l'immaturité de la filtration glomérulaire et de la

sécrétion tubulaire rénale, un taux d'élimination plasmatique similaire ou supérieur à celui des adultes a été observé à la fin de la petite enfance et/ou dans l'enfance pour de nombreux médicaments. Par conséquent, des doses plus importantes de ces médicaments (mg/kg) sont nécessaires chez les enfants pour atteindre les mêmes concentrations plasmatiques que chez les adultes. Ceci peut être dû à un certain nombre de phénomènes liés à la fonction rénale (comme une augmentation de la capacité de sécrétion tubulaire) ou non directement liés (telle qu'une liaison aux protéines plasmatiques, liaison tissulaire plus étendue, activité métabolique hépatique accrue, etc.) (Fernandez et al. 2011).



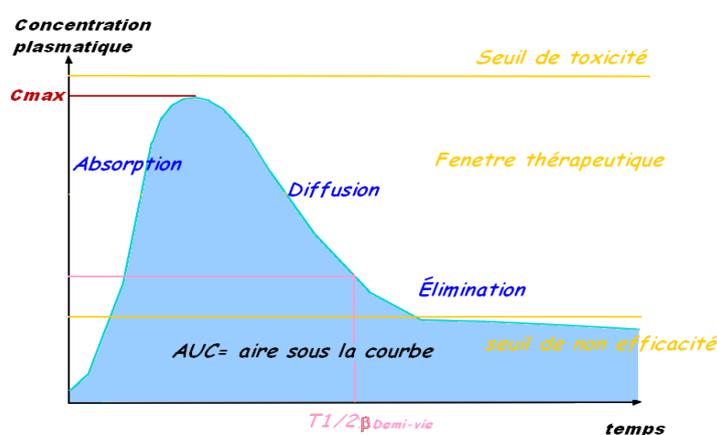
**Figure 5 – Modifications physiologiques des étapes ADME en fonction de l'âge chez l'enfant (Kearns et al. 2003)**

En résumé, des **étapes de maturation des fonctions physiologiques**, notamment rénales et hépatiques, sont partiellement connues chez les patients pédiatriques. Ils sont résumés dans la **figure 5**. Ces modifications physiologiques ont un **impact important sur la PK des médicaments chez l'enfant**, fortement dépendante de l'âge mais aussi de facteurs tels que la pathologie traitée, les co-administrations médicamenteuses, etc. Ceci explique l'importance de conduire des études pharmacocinétiques pour évaluer et élaborer des recommandations posologiques des médicaments en pédiatrie.

### **C. Les études pharmacocinétiques de population et de pharmacocinétique/pharmacodynamie : Comment choisir la bonne dose ?**

La PK des médicaments, ou l'évolution des concentrations plasmatiques du médicament au cours du temps, est soumise à des variations liées aux caractéristiques des patients comme l'âge, la pathologie traitée ou l'impact de facteurs environnementaux. L'analyse et la prise en compte de cette variabilité sont à la base de l'adaptation des posologies à l'individu ou à des sous-groupes de la population. Un sous-groupe est un groupe d'individus définis par des caractères cliniques et biologiques communs. Les enfants constituent un sous-groupe de la population, qui doit être individualisé en raison des particularités physiologiques et pharmacologiques de l'organisme en développement.

Les études PK sont réalisées à différents stades du développement clinique des médicaments. Deux types d'études PK sont couramment employés : les études classiques et les études par approche de population. Les paramètres étudiés sont le reflet des étapes PK du médicament ADME. Ils comprennent : la constante d'absorption ( $k_a$ ), le volume de distribution du médicament ( $V_d$ ), la clairance du médicament ( $CL$ ), le temps de demi-vie d'élimination du médicament ( $t_{1/2}$ ) (**figure 6**). Que ce soit lors des études PK classiques ou des études de population, la détermination des concentrations plasmatiques au cours du temps lors de l'administration du médicament est indispensable mais avec des modalités de prélèvements non nécessairement identiques.



**Figure 6 – Exemple de profil pharmacocinétique : Evolution des concentrations plasmatiques d'un médicament en fonction du temps**

### *i. Les études pharmacocinétiques classiques*

L'analyse des études PK classiques peut se faire par deux méthodes : compartimentale ou non compartimentale. Dans les deux cas, des prélèvements répétés sur un nombre généralement réduit de patients sont nécessaires (**figure 7**).

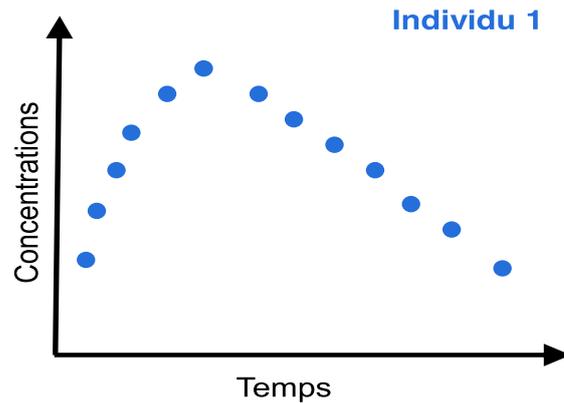


Figure 7 – Analyse pharmacocinétique classique. Modalité de prélèvements. Un point bleu représente un prélèvement pour un patient donné

Dans la méthode non compartimentale, les prélèvements doivent être réalisés à des temps précis suivant un protocole strict afin de réduire la variabilité au maximum. Puis l'estimation des paramètres PK (AUC,  $t_{1/2}$ ,  $k_a$ ) est faite graphiquement par la méthode des trapèzes (**figure 8**).

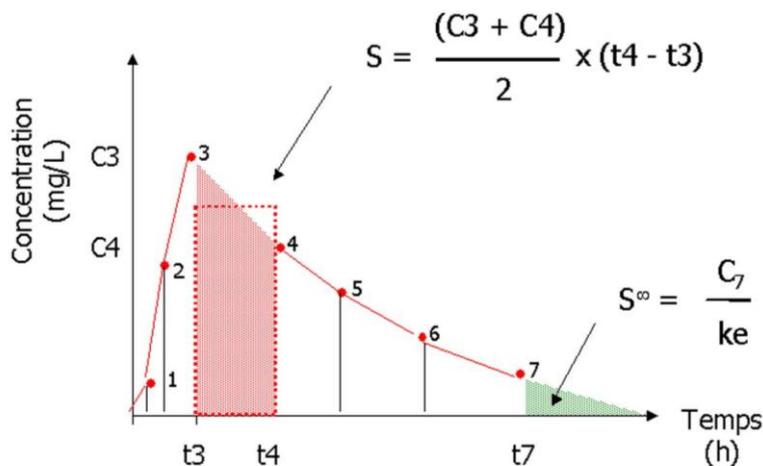
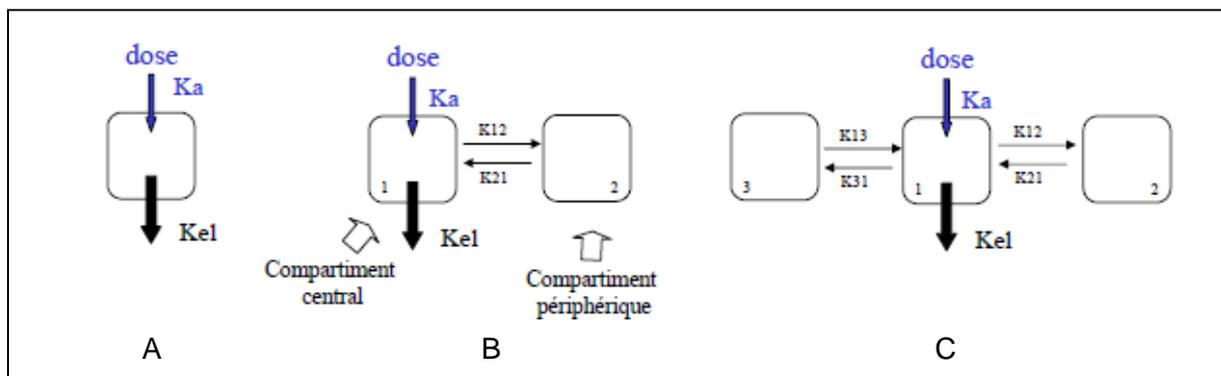


Figure 8 – Pharmacocinétique classique : Méthode des trapèzes pour déterminer l'AUC

Dans la méthode compartimentale, les paramètres sont estimés à partir d'un modèle mathématique. L'organisme est considéré comme un ou plusieurs volumes virtuels dans lesquels le médicament se répartit de la même manière. La représentation des différents modèles compartimentaux est illustrée par la **figure 9**. Cette méthode repose sur la résolution d'équations différentielles permettant de connaître la concentration du médicament dans un compartiment donné à un instant  $t$ . L'élaboration des modèles mathématiques permet le calcul des paramètres PK moyens du médicament dans la population et le calcul d'une erreur résiduelle (différence entre concentration mesurée et prédite). Cela permet également de faire des prédictions en faisant varier des paramètres comme la dose ou l'intervalle d'administration.



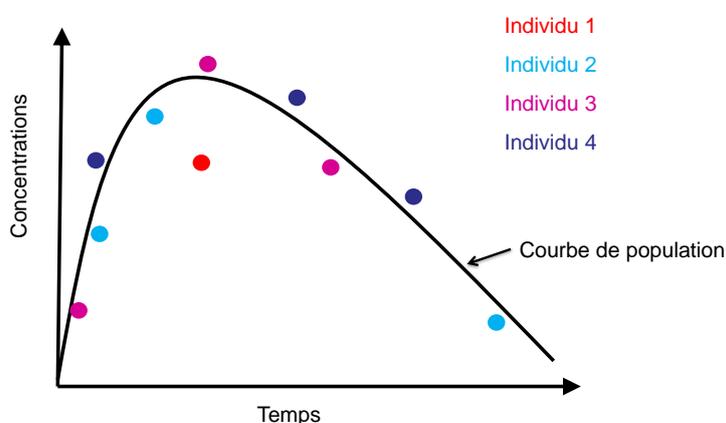
**Figure 9 – Notion de compartiments : A: Modèle monocompartimental, B : Modèle bicompartimental, C : Modèle tricompartmental.**  $k_a$  : constante d'absorption,  $k_{el}$  : constante d'élimination  $k_{12}$ ,  $k_{21}$ ,  $k_{13}$ ,  $k_{31}$  : constantes intercompartimentales.

Les informations obtenues par les méthodes PK classiques ne permettent pas d'expliquer la variabilité des paramètres mais d'en faire une description, soit individu par individu, soit par la moyenne et l'écart type des paramètres PK des individus de l'étude. Les populations étudiées dans ce type d'études sont des populations de patients ayant des caractéristiques homogènes ne reflétant pas toujours l'ensemble de la population qui va être traitée par le médicament à l'étude.

## ii. Analyse pharmacocinétique par approche de population

### Définitions

La pharmacocinétique de population (PKPOP) analyse en un seul temps, et non pas, individu par individu, les prélèvements sanguins d'un plus grand nombre d'individus (Simon et al. 2005). A contrario des études PK classiques, l'unité d'analyse est la population et non l'individu. En pédiatrie, tout particulièrement chez le nourrisson et le petit enfant, mais aussi chez certains patients présentant des pathologies particulières, les études PK classiques se heurtent à des problèmes éthiques du fait du nombre de prélèvements et du volume de sang nécessaire aux prélèvements. En effet, le volume sanguin prélevé dans le cadre d'un protocole de recherche ne doit pas dépasser 3% du volume sanguin total sur une période de quatre semaines (2,4 ml de sang par kg de poids corporel) et ne doit pas dépasser 1% par prélèvement (European Medicines Agency 2008a). Grâce à la modélisation par approche de population, le nombre de prélèvements par patient peut être considérablement réduit. Les heures de prélèvements peuvent différer d'un patient à l'autre et donc ceux-ci peuvent être réalisés à partir de « fonds de tubes » (Leroux et al. 2015), c'est-à-dire sur le « reste » d'un prélèvement réalisé au cours d'un bilan biologique de contrôle, réduisant ainsi le nombre de ponctions veineuses, le volume sanguin nécessaire, donc le problème éthique et réglementaire de réaliser des ponctions veineuses supplémentaires et le caractère anxiogène de ces procédures (**figure 10**).



**Figure 10 – Modèle structural de population et modalité de prélèvements.** *Les points de chaque couleur représentent les prélèvements de chaque patient*

Un autre des avantages de cette méthode est d'analyser des profils de concentration acquis dans des situations très diverses : doses administrées variables, voies d'administration différentes, altérations pathologiques, associations médicamenteuses ; ces situations non expérimentales sont ainsi plus proches de l'utilisation réelle du médicament.

En contrepartie, pour traiter ces données éparses, un modèle statistique plus complexe est nécessaire. Les mesures provenant de tous les individus sont traitées de manière globale à l'aide d'un modèle pharmaco-statistique, concept élaboré par Sheiner en 1972. La modélisation est effectuée à l'aide de NONMEM qui est un logiciel de PKPOP développé à San Francisco. Le logiciel NONMEM emploie une méthode paramétrique d'estimation des caractéristiques de population en PK. Cette méthode analyse simultanément les données obtenues chez tous les individus, pour une molécule donnée, et estime les paramètres PK moyens, leur variabilité interindividuelle, intraindividuelle, si elle existe, et la variabilité résiduelle du modèle PK dans la population étudiée.

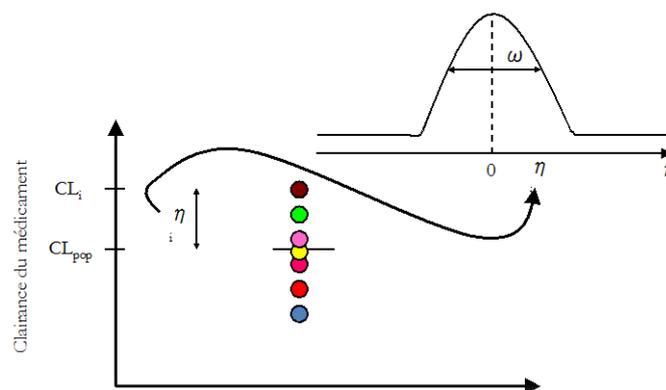
Le principe de la PKPOP est fondé sur l'analyse simultanée des concentrations provenant de tous les patients, permettant d'estimer les paramètres PK moyens ainsi que leur variabilité dans la population étudiée. Dans ce type d'étude, il est possible d'identifier des covariables, qui influencent la variabilité des paramètres PK et d'en déterminer les relations avec ces derniers. Pour décrire les données de la population, le modèle compartimental comprend des variables connues (appelées effets fixes) comme le temps, la dose et les paramètres PK moyens de population, les effets aléatoires qui sont la variabilité des paramètres PK ainsi que la variabilité résiduelle. C'est pourquoi la PKPOP est également appelée modélisation non linéaire à effets mixtes. Pour résumer, la PKPOP est une modélisation de la variabilité interindividuelle des paramètres PK (Aarons 1991 ; Simon et al. 2005).

Le modèle obtenu par la méthode de la PKPOP est un modèle pharmaco-statistique, lui-même divisé en sous-modèles (Simon 2006) :

**1) Le modèle structural (ou modèle de base)** représente le modèle décrivant les effets fixes et l'évolution de la concentration au cours du temps. C'est le modèle **PK moyen du médicament dans la population** auquel s'ajoute éventuellement l'influence des différentes caractéristiques individuelles (covariables) sur certains paramètres pharmacocinétiques.

**2) Le modèle d'erreur** décrivant les effets aléatoires, à savoir la **variabilité de la cinétique**, est défini par la différence entre les concentrations observées d'un individu et les concentrations prédites par le modèle structural pour ce même individu. Cette variabilité correspond à la somme de la variabilité interindividuelle, de la variabilité résiduelle et éventuellement de la variabilité interoccasion.

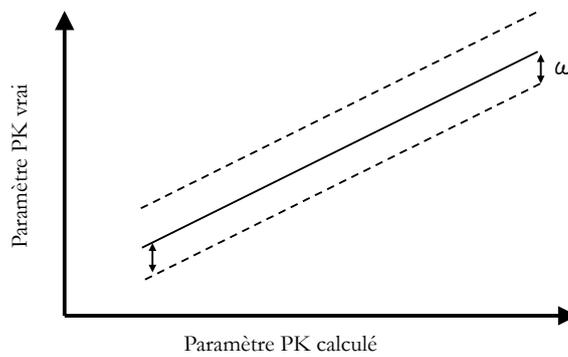
1) La variabilité interindividuelle ( $\eta$ ) (figure 11) représente la différence moyenne entre la valeur d'un paramètre PK chez un individu  $i$  et sa valeur moyenne dans la population, c'est-à-dire la variance des paramètres PK du modèle de population. C'est la **variable d'intérêt que l'on cherche à évaluer et à expliquer à l'aide des caractéristiques individuelles** (poids, taille, fonction rénale, etc.) appelées **covariables**.



**Figure 11 – Variabilité interindividuelle du paramètre pharmacocinétique : clairance  $CL_i = CL_{pop} + \eta_i$  ou par  $CL_i = CL_{pop} \times e^{\eta_i}$  ( $CL_i$  : clairance individuelle,  $CL_{pop}$  : clairance de la population,  $\eta_i$  : variabilité interindividuelle de l'individu  $i$ ,  $\eta$  suit une loi normale centrée sur 0 et de variance  $\omega^2$ )**

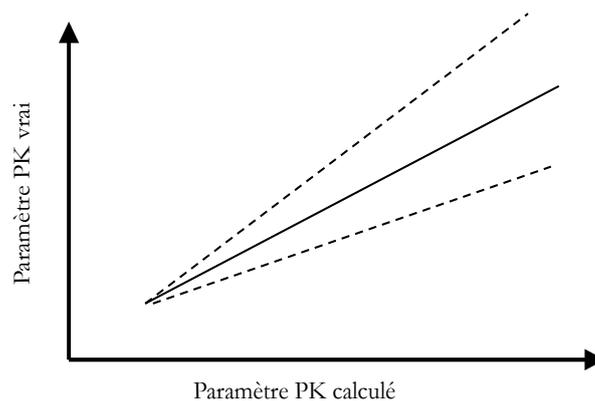
La variabilité interindividuelle peut être modélisée de plusieurs manières :

- De manière additive, pour laquelle la variance de l'erreur est constante (**figure 12**). Ce modèle convient généralement aux covariables dites qualitatives comme par exemple, le genre, la présence d'une pathologie ou non, la prise d'un traitement concomitant, etc.



**Figure 12 – Modèle de variabilité interindividuelle additive.**  $CL_i = CL_{pop} + \eta_i$  ( $CL_i$  : clairance individuelle,  $CL_{pop}$  : clairance de la population,  $\eta_i$  : variabilité interindividuelle de l'individu  $i$ ,  $\eta$  suit une loi normale centrée sur 0 et de variance  $\omega^2$ )

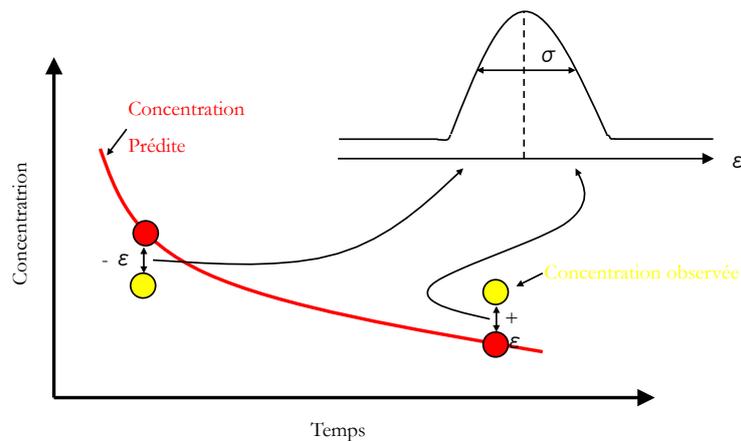
- De manière exponentielle ou proportionnelle (**figure 13**), pour laquelle la variance de l'erreur augmente avec la valeur du paramètre. Ce modèle est plus utile pour les covariables quantitatives (âge, poids, débit de filtration glomérulaire...)



**Figure 13 – Modèle de variabilité interindividuelle proportionnelle.**  $CL_i = CL_{pop} \times e^{\eta_i}$  ( $CL_i$  : clairance individuelle,  $CL_{pop}$  : clairance de la population,  $\eta_i$  : variabilité interindividuelle de l'individu  $i$ ,  $\eta$  suit une loi normale centrée sur 0 et de variance  $\omega^2$ )

- De manière mixte.

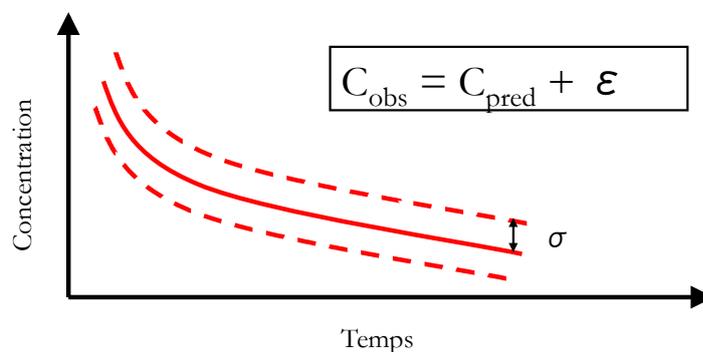
2) La variabilité résiduelle ( $\epsilon$ ) (figure 14) quantifie la différence entre les concentrations individuelles prédites par le modèle et les concentrations observées une fois que la variabilité interindividuelle a été prise en compte dans celui-ci. Elle **doit être la plus faible possible puisqu'elle représente la concordance du modèle aux données observées**. Elle est liée à l'imprécision du recueil de données, aux écarts des horaires d'administration et de prélèvements, aux aléas de la méthode de dosage, aux écarts du modèle mathématique... C'est la variabilité que l'on n'a pas réussie à expliquer.



**Figure 14 – Modèle d'erreur résiduelle ( $\epsilon$  : erreur résiduelle, suit une loi normale centrée réduite de variance  $\sigma$ )**

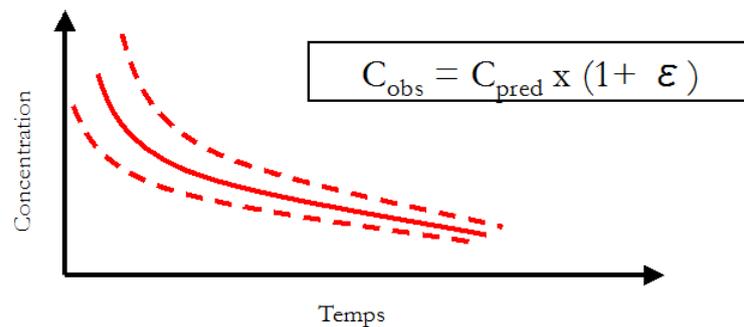
Cette erreur résiduelle peut être modélisée de 3 façons :

- Erreur résiduelle additive (**figure 15**) : La variance de l'erreur est indépendante des concentrations.



**Figure 15 – Modèle d'erreur résiduelle additive ( $C_{obs}$  : concentration observée,  $C_{pred}$  : concentration prédite,  $\epsilon$  : erreur résiduelle,  $\epsilon$  suit une loi normale centrée réduite de variance  $\sigma$ )**

- Erreur résiduelle proportionnelle (**figure 16**) : La variance de l'erreur est proportionnelle à la concentration mesurée.



**Figure 16 – Modèle d'erreur résiduelle proportionnelle** ( $C_{obs}$  : concentration observée,  $C_{pred}$  : concentration prédite,  $\epsilon$  : erreur résiduelle,  $\epsilon$  suit une loi normale centrée réduite de variance  $\sigma$ )

- Erreur résiduelle mixte qui est la combinaison des deux modèles précédents, représenté par la formule :

$$C_{obs} = C_{pred} \times (1 + \epsilon_1) + \epsilon_2$$

où  $C_{obs}$  : concentration individuelle,  $C_{pred}$  : concentration prédite,  $\epsilon_1$  : erreur résiduelle proportionnelle et  $\epsilon_2$  : erreur résiduelle additive.

3) La variabilité intraindividuelle, ou variabilité interoccasion, représente la variation des paramètres PK chez un même individu au cours du temps. Pour la mettre en évidence, il est nécessaire de détenir plusieurs données de concentration, correspondant à plusieurs administrations du médicament à l'étude chez un même individu.

### Construction du modèle pharmacocinétique (Simon 2006) :

#### *Construction du modèle structural :*

Le modèle structural comprend des variables indépendantes connues comme le temps, la dose (effets fixes), ainsi que les variabilités interindividuelle et résiduelle (effets aléatoires). Le modèle compartimental (1, 2, 3 etc.), le type d'élimination (premier ordre, michaelis Menten etc.) et les modèles d'erreur (variabilité interindividuelle, erreur résiduelle) les plus appropriés sont recherchés. On testera donc les modèles à 1, 2, 3 etc. compartiments, les différents modèles de variabilité interindividuelle et de variabilité résiduelle. L'évaluation de ces différents modèles se fera à l'aide de :

- L'analyse des graphiques diagnostics : Concentrations prédites et concentrations prédites individuelles en fonction des concentrations observées, concentrations résiduelles pondérées conditionnelles en fonction des concentrations prédites et en fonction du temps.

- La valeur de la fonction objective (pour les modèles emboîtés) qui doit être la plus basse possible. Le test du rapport de vraisemblance LRT (Likelihood Ratio test) est généralement utilisé pour comparer les valeurs des fonctions objectives de deux modèles. Ce test consiste à confronter la différence des deux valeurs de fonctions objectives, obtenues à partir des deux modèles comparés, à une distribution de  $\chi^2$ . Le nombre de degrés de liberté utilisé pour ce test est alors égal à la différence du nombre de paramètres entre les deux modèles.

- L'Akaike Information Criterion (AIC) et Bayesian Information Criterion (BIC) aussi bien pour les modèles non emboîtés que les modèles emboîtés.

- La précision de l'estimation des paramètres pharmacocinétiques et de celles de leur variabilité interindividuelle respective.

- Tout en respectant le principe de parcimonie, c'est-à-dire d'obtenir le meilleur modèle expliquant la pharmacocinétique du médicament avec le moins de paramètres possibles.

Les paramètres PK calculés du modèle de base sont donc les paramètres PK moyens de cette population définissant la courbe de population (**figure 10**).

#### *Construction du modèle final : Recherche des covariables*

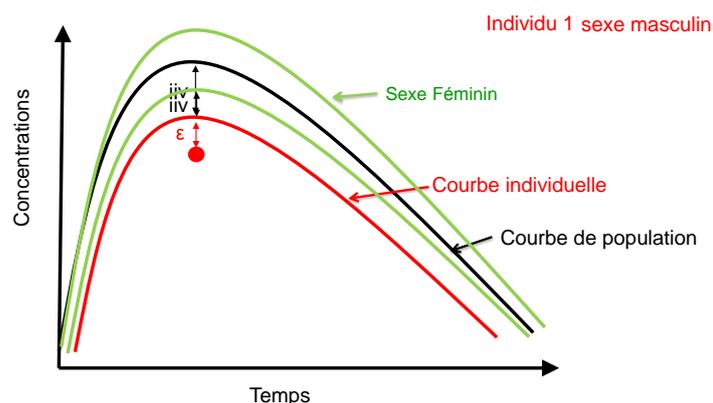
L'implémentation des covariables au sein du modèle structural permet d'améliorer son adéquation aux données et de réduire la variabilité interindividuelle des paramètres pharmacocinétiques. L'implémentation des covariables se fait en deux temps :

**1) La phase ascendante** : Une covariable sera incluse dans le modèle si elle conduit à une diminution significative de la fonction objective (test du rapport de vraisemblance). Les covariables considérées comme pertinentes seront implémentées une par une dans le modèle structural : celle entraînant la diminution de la fonction objective la plus importante sera

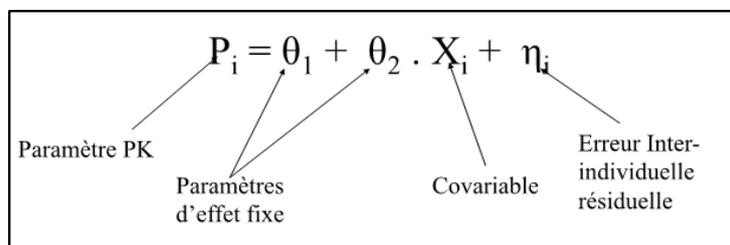
implémentée en premier dans le modèle et la recherche d'une nouvelle covariable sera reprise depuis le début, ainsi de suite. Cette phase permet d'aboutir à un modèle intermédiaire constitué du modèle de base et des covariables significatives à un certain seuil.

**2) La phase descendante** : Cette deuxième étape va permettre d'éliminer les covariables inutiles ou corrélées. Elle consiste à retirer aléatoirement les covariables une par une du modèle intermédiaire et de vérifier que l'augmentation de la fonction objective est significative à un seuil de significativité plus restreint que lors de la phase précédente. Dans ce cas la covariable sera définitivement conservée dans le modèle final.

Le modèle final obtenu est donc celui qui, à partir du modèle structural, a pris en compte les covariables d'intérêt clinique pour expliquer la variabilité interindividuelle et ainsi réduit au maximum la variabilité résiduelle (**figures 17,18**).



**Figure 17 – Exemple de courbe de population.** *iiv* : variabilité interindividuelle ;  $\epsilon$  : erreur résiduelle



**Figure 18 – Modèle final d'un paramètre pharmacocinétique.**  $\theta_1$  est le paramètre moyen de population,  $\theta_2$  quantifie l'impact de la covariable  $X_i$  sur la variabilité interindividuelle du paramètre pharmacocinétique

### *Evaluation et validation du modèle final*

L'évaluation du modèle final est caractérisée par l'amélioration des **graphiques diagnostics**, **la diminution de la fonction objective**, **la diminution de la variabilité interindividuelle des paramètres PK et de la variabilité résiduelle** par rapport au modèle de base.

La validation interne du modèle final sera basée sur des méthodes de simulation (des paramètres PK et du modèle d'erreur) à l'aide de la procédure de **Visual Predictive Check** (VPC), de **Normalized Prediction Distribution Errors** (NPDE) et d'une procédure de rééchantillonnage, **les Bootstraps**.

- La méthode VPC consiste à calculer le 5<sup>e</sup>, 50<sup>e</sup> et 95<sup>e</sup> percentiles des concentrations simulées par le modèle pour chaque temps, et d'y superposer les concentrations observées.
- La méthode des NPDE permet de vérifier que les résidus sont de distribution gaussienne.
- Les Bootstraps, permettent de vérifier la stabilité et l'exactitude des estimations des paramètres PK du modèle. Une nouvelle base de données est générée par une méthode d'échantillonnage avec remise à partir de la base de données initiale.

La validation externe, c'est-à-dire la vérification de la reproductibilité de l'adéquation du modèle sur une nouvelle population, reste la méthode la plus fiable. En pédiatrie, au vu de la pauvreté des données il est difficile d'obtenir suffisamment de prélèvements pour construire et réaliser la validation externe en même temps. La validation externe peut tout de même être réalisée à posteriori.

Au niveau réglementaire, l'EMA recommande de privilégier l'approche de population pour la modélisation pharmacocinétique en pédiatrie (European Medicines Agency 2008b).

En effet, la PKPOP nous permet donc de comprendre les causes de variabilité des concentrations dans une population et d'adapter les posologies en fonction des facteurs de variabilité retrouvés (par exemple de normaliser la dose en fonction du poids, de la fonction rénale, etc.).

### ***iii. Principe de la pharmacocinétique/pharmacodynamie en infectiologie***

La dose optimale d'un anti-infectieux est celle qui permet d'inhiber la croissance, de détruire le pathogène sans favoriser l'émergence de résistance ni la survenue de toxicités chez l'individu traité. La recherche de la dose optimale d'anti-infectieux passe donc par la compréhension de la relation entre l'anti-infectieux, l'hôte et le pathogène et repose donc sur :

- La **pharmacocinétique** qui étudie l'impact de l'hôte sur le médicament : le modèle pharmacocinétique permet de décrire l'évolution des concentrations en fonction du temps et sa variabilité. Dans le cas des anti-infectieux, les paramètres utilisés sont l'AUC (mesure de l'exposition de l'organisme au médicament), la  $C_{max}$  et la concentration à un instant  $t$ .
- La **pharmacodynamie** qui étudie l'action du médicament sur le pathogène.
- Le **risque d'émergence des résistances**.

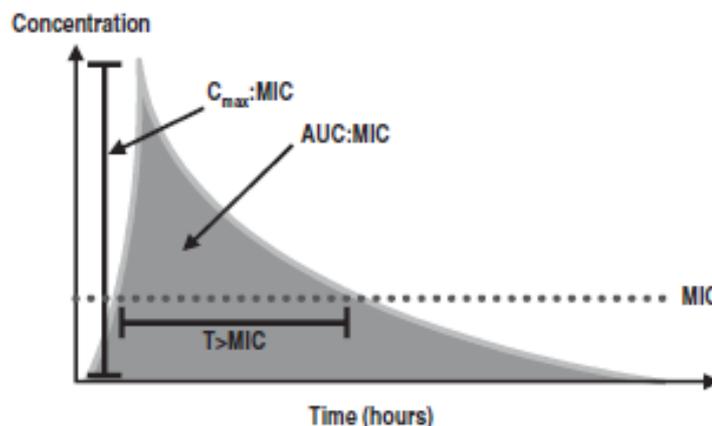
#### **Les antibiotiques**

Plusieurs **paramètres pharmacodynamiques** permettent d'étudier la sensibilité d'un germe à un antibiotique : la concentration minimale inhibitrice (CMI) qui est définie comme la plus petite concentration permettant d'inhiber *in vitro* la croissance d'une souche bactérienne après 18 heures de culture à 37°C (effet bactériostatique), la concentration minimale bactéricide (CMB) qui est définie comme la plus petite concentration d'antibiotique ne laissant subsister 0,01% ou moins de survivants de l'inoculum initial après 18 heures de culture à 37°C (effet bactéricide).

La prise en compte de **l'émergence des résistances bactériennes** est définie par la concentration prévenant les mutations (CPM) qui est la concentration nécessaire pour prévenir la sélection des premiers mutants. Cette concentration est toujours supérieure à la plus forte CMI du germe le moins susceptible de l'inoculum.

A partir de ces paramètres, trois indices pharmacocinétique/pharmacodynamique (PK/PD) permettant de prédire l'efficacité microbiologique et clinique des antibiotiques ont été décrits (**figure 19**) (Nicolau 2003 ; Le et al. 2018) :

- Le pourcentage du temps où la concentration de l'antibiotique est supérieure à la CMI de la bactérie ( $T > CMI$ ) qui définit la classe des antibiotiques temps-dépendants.
- Le rapport de la concentration maximale de l'antibiotique sur la CMI du germe ( $C_{max}/CMI$ ), qui définit la classe des antibiotiques concentration-dépendants.
- Le rapport entre l'exposition de l'antibiotique exprimée par l'aire sous la courbe des concentrations de l'antibiotique sur la CMI du germe ( $AUC/CMI$ ) qui représente les antibiotiques à activité mixte, c'est-à-dire dépendants à la fois de la concentration et du temps d'exposition.



**Figure 19 – Paramètres pharmacocinétiques pharmacodynamiques prédictifs de l'efficacité clinique des antibiotiques.** AUC : Aire sous la courbe, MIC : concentration minimale inhibitrice, Cmax : concentration au pic, Time : temps en heure (Nicolau 2003)

Ces indices PK/PD ont été étudiés *in vitro* et/ou *in vivo* pour les différentes classes d'antibiotiques. Ils sont liés au mécanisme d'action de l'antibiotique (Barker et al. 2014). Ils sont résumés dans le **tableau 1**.

Famille d'antibiotique	Mécanisme Pharmacodynamique	Paramètre PK/PD	Optimisations posologiques
Aminoglycosides	Concentration-dépendant ; EPA modéré	$C_{max}/CMI$ ; $AUC/CMI$	Augmentation des doses pour maximiser $C_{max}$ ou AUC
Bêta-lactamines	Temps-dépendant ; EPA nulle ou minime	$T > CMI$	Augmenter la durée de perfusion et/ou la fréquence d'administration
Fluoroquinolones	Concentration-dépendant ; EPA modéré	$C_{max}/CMI$ ; $AUC/CMI$	Augmentation des doses pour maximiser $C_{max}$ ou AUC
Lincosamides	Temps-dépendant ; EPA modéré à prolongé	$AUC/CMI$	Augmenter les doses, la fréquence d'administration et/ou la durée de perfusion
Macrolides	Temps-dépendant ; EPA modéré à prolongé	$AUC/CMI$	Augmenter les doses, la fréquence d'administration et/ou la durée de perfusion
Nitroimidazolés	Concentration-dépendant ; EPA modéré	$AUC/CMI$	Augmentation des doses pour maximiser $C_{max}$ ou AUC
Oxazolidinones	Temps-dépendant ; EPA Modéré à prolongé	$T > CMI$ ; $AUC/CMI$	Augmenter les doses, la fréquence d'administration et/ou la durée de perfusion
Rifamycines	Concentration-dépendant ; EPA modéré quand $16 \times CMI$	$C_{max}/CMI$ ; $AUC/CMI$	Augmentation des doses pour maximiser $C_{max}$ ou AUC
Sulfamides	Concentration-dépendant ; EPA modéré	$C_{max}/CMI$ ; $AUC/CMI$	Augmentation des doses pour maximiser $C_{max}$ ou AUC
Tetracyclines	Temps-dépendant ; EPA modéré à prolongé	$AUC/CMI$	Augmenter les doses, la fréquence d'administration et/ou la durée de perfusion
Glycopeptides	Temps-dépendant ; EPA modéré à prolongé	$AUC/CMI$	Augmenter les doses, la fréquence d'administration et/ou la durée de perfusion

**Tableau 1 – Propriétés pharmacodynamiques des anti-infectieux en pédiatrie adapté de (Le et al. 2018) :**  
*EPA : Effet post antibiotique ; AUC : Aire sous la courbe des 24h ;  $C_{max}$  : Concentration au pic ; CMI : Concentration minimale inhibitrice*

En fonction de leur indice PK/PD, différents objectifs sont recherchés pour optimiser l'activité antibactérienne d'un anti-infectieux. Pour les antibiotiques temps-dépendants, l'activité antibactérienne est maximale lorsque le  $T > CMI$  est prolongé. Pour les antibiotiques concentration-dépendants, l'activité antibactérienne est maximale lorsque la concentration au pic de l'antibiotique est la plus forte. Ces indices PK/PD permettent donc d'optimiser les schémas posologiques des différentes classes d'antibiotiques en pédiatrie (Barker et al. 2014). Pour chaque molécule, les valeurs cibles de ces indices sont décrites. Elles sont issues de données animales et de données adultes (Jacobs 2001). Peu d'études cliniques permettant

d'évaluer l'efficacité et la validité clinique de ces valeurs ont été réalisées dans la population pédiatrique. A défaut, les valeurs cibles adultes doivent être utilisées, bien que les pathologies sous-jacentes ou le statut immunologique de l'enfant puissent faire varier la valeur de cette cible pharmacologique.

Les objectifs d'une antibiothérapie optimale sont de **débuter l'antibiothérapie le plus rapidement possible, d'atteindre la cible pharmacologique dès la première dose** et de **réduire la durée de l'antibiothérapie** au minimum nécessaire (Martinez et al. 2012).

Ainsi pour optimiser les schémas posologiques, il est nécessaire de connaître la **pharmacocinétique de l'anti-infectieux dans la population étudiée, ses indices PK/PD et la CMI du germe.**

En pratique, il n'est pas toujours possible de connaître précisément la CMI du germe pour un patient donné, en particulier lors d'un traitement probabiliste, mais il est possible de se référer aux données de l'EUCAST qui met à disposition la distribution des CMI des différents germes en temps réel (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing 2020).

### Les antiviraux

Contrairement aux antibiotiques, il n'existe pas de **paramètre pharmacodynamique standardisé** comme la CMI pour mesurer la sensibilité des virus. Celle-ci peut être mesurée in vitro par l'IC50 (concentration inhibitrice à 50% de la réplication virale) sans pouvoir être réalisé en routine. De plus, au vu du haut taux de mutation des virus, ce paramètre PD est rapidement évolutif au cours du temps (Schmidt et al. 2008).

Tout comme les antibiotiques, la **prise en compte de l'émergence des résistances** virales est primordiale d'autant plus que la réplication virale est peu fidèle (Poole et al. 2017). En présence d'un antiviral, les virus qui ont développé des mutations leur conférant une résistance se répliquent plus efficacement et deviennent la population prédominante de l'hôte. Les antiviraux ont habituellement des marges thérapeutiques plus étroites que les antibiotiques

mais il n'existe pas de concentrations critiques standardisées pour estimer le risque d'émergence de résistance

**Des paramètres PK/PD ont été décrits pour certains antiviraux** : Les antiviraux contre le VIH et le VHC ont plus tendance à dépendre de la concentration résiduelle du traitement (Punyawudho et al. 2016) tandis que dans les infections à Herpes virus et Cytomégalovirus (CMV), l'efficacité clinique a été reliée à l'AUC (Drusano et al. 1996 ; Stockmann et al. 2015)(Bennett et al. 2019).

### Principe de la modélisation/simulation

A partir des indices PK/PD connus et d'un modèle pharmacocinétique de population, il est possible de réaliser des simulations de schémas posologiques afin de déterminer la proportion des patients atteignant la cible pharmacologique pour un schéma donné en fonction des facteurs de variabilité identifiés (Simon et al. 2005). Ce sont les simulations de Monte-Carlo (Trang et al. 2017). Ces simulations permettent donc de proposer des recommandations posologiques spécifiques par sous-groupe de la population (différents groupes d'âge, différentes pathologies, grades d'insuffisance rénale, etc.). Ces méthodes de modélisation et de simulation sont également recommandées par l'Agence Européenne du médicament pour optimiser la posologie des anti-infectieux en pédiatrie (European Medicines Agency 2018b).

Ainsi, à l'aide des données PK/PD des anti-infectieux, il **est possible d'optimiser les schémas posologiques** de ces molécules pour pouvoir **améliorer la prise en charge des infections en pédiatrie et d'agir sur le risque d'émergence des résistances bactériennes et virales.**

## ***II. Objectifs de la thèse***

L'optimisation des posologies des médicaments anti-infectieux en pédiatrie en utilisant les méthodes décrites ci-dessus a pour objectif d'améliorer la prise en charge des épisodes infectieux. Des posologies individuelles optimisées doivent permettre d'augmenter l'efficacité clinique des traitements, diminuer le risque de survenue de toxicités liées à des surdosages et réduire le risque de sélection de mutants résistants tout en répondant aux besoins pédiatriques définis par les différentes autorités sanitaires.

Si l'objectif ultime est de réduire la mortalité et la morbidité liées aux infections, les études pharmacocinétiques qui composent ce travail ont pour objectifs de décrire la cinétique de 3 antibiotiques et d'un antiviral dans des sous-groupes de la population pédiatrique, d'en étudier les facteurs de variabilité pour élaborer des recommandations posologiques précises.

### **III. Etude n°1 – Etude pharmacocinétique de population de la ceftazidime chez l'enfant – Impact de la mucoviscidose**

#### **A. Contexte**

---

La Ceftazidime est une céphalosporine de 3<sup>ème</sup> génération (C3G), un antibiotique de la famille des bêta-lactamines. Son mécanisme d'action passe par une inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne en se fixant aux protéines de liaison aux pénicillines (PLP), la transpeptidase et la D-Alanine carboxypeptidase (Richards et al. 1985). Cette fixation aux PLP empêche la biosynthèse de la paroi cellulaire de la bactérie, entraînant la lyse et la mort de celle-ci (European Medicines Agency 2010). Comme pour les autres bêta-lactamines, le paramètre prédictif de son efficacité est le temps où la concentration de l'antibiotique est supérieur à la CMI du germe ( $T > CMI$ ). Celui-ci doit être supérieur à 45% pour présenter un effet bactériostatique et à 60-70% pour un effet bactéricide (Zobell et al. 2013) .

Son spectre d'activité antibactérien est large, il est donc indiqué pour le traitement de nombreuses infections, en particulier dans les infections sévères, chez l'adulte, l'enfant et le nourrisson, y compris chez le nouveau-né (European Medicines Agency 2010). En raison de son efficacité supérieure aux autres C3G sur le *Pseudomonas aeruginosa* (Balant et al. 1985), la ceftazidime est l'antibiotique le plus largement utilisé pour traiter les exacerbations pulmonaires chez les patients atteints de mucoviscidose (Zobell et al. 2011). Cette molécule est dans l'ensemble bien tolérée, ses principaux effets indésirables sont des effets hépatiques (élévation des transaminases) et neurologiques (maux de tête, paresthésies voire convulsions), particulièrement en cas de surdosages. Des réactions d'hypersensibilité peuvent également survenir notamment sous forme d'urticaire ou de rashes cutanés avec un risque d'allergie croisée avec la pénicilline (Balant et al. 1985). Au vu de son large spectre d'activité et de sa très bonne tolérance, la ceftazidime a été très largement utilisée, avec pour conséquence, une augmentation des résistances bactériennes. Le principal mécanisme de résistance est médié par des enzymes appelées bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) qui hydrolysent l'ensemble des pénicillines et des céphalosporines à l'exception des

céphamycines, du moxalactam et des carbapénèmes (Doit et al. 2010). En quelques années, les BLSE ont évolué et se sont diversifiées parallèlement à l'utilisation massive des bêta-lactamines. Actuellement, plus de 400 bêta-lactamases dont plus de 200 BLSE sont décrites (Rodriguez-Villalobos et al. 2006). Depuis le début des années 2000, l'incidence d'isolement des souches BLSE en pédiatrie a augmenté (de 0,1 en 2000 à 0,61 en 2008, incidence des souches par 1000 jours d'hospitalisation) (Doit et al. 2010). Malgré une très forte utilisation dans la population pédiatrique, le nombre d'études pharmacocinétiques dans cette population reste assez faible. L'ensemble de ces études a mis en évidence une influence du stade de croissance associée à la fonction rénale et sa maturation sur la cinétique de la ceftazidime (Leeder et al. 1984 ; Hedman et al. 1988 ; Walstad et al. 1988 ; Conil et al. 2007 ; Muller et al. 2013 ; Bradley et al. 2016 ; Shi et al. 2018 ; Cojutti et al. 2019). D'autres facteurs de variabilité ont également été décrits chez les adultes comme la gravité clinique (patients graves ou en unité de soins intensifs) (Hanes et al. 2000 ; Mouton et al. 2005), la mucoviscidose (Leeder et al. 1984 ; Bulitta et al. 2011) ou chez les grands brûlés (Dailly et al. 2003 ; Conil et al. 2013). La posologie de la ceftazidime en pédiatrie dépend du type d'infection, elle peut varier entre 100 à 300mg/kg/j pour les enfants (European Medicines Agency 2010 ; Zobell et al. 2013) et de 10 à 30mg/kg/12h chez les nouveau-nés en fonction de l'âge gestationnel (van den Anker et al. 1995). Dans les exacerbations pulmonaires chez les patients atteints de mucoviscidose, le régime posologique recommandé pour traiter les exacerbations varie de 150mg/kg/j à 300mg/kg/j toutes les 6 à 8h selon les pays et les sociétés savantes (Zobell et al. 2013).

## ***B. Résumé de l'étude***

---

**Objectifs.** Les objectifs de ce travail ont été de **caractériser la pharmacocinétique de la ceftazidime chez des enfants atteints d'infections sévères**, d'identifier les covariables qui affectent sa cinétique et d'évaluer **les schémas posologiques actuels**.

**Méthode.** Cette étude, prospective, multicentrique, faisait partie du projet PHARMA-A (NCT01344512). Les enfants recevant de la ceftazidime ont été inclus dans 13 hôpitaux français. Les concentrations plasmatiques de ceftazidime ont été déterminées par

Chromatographie Liquide Ultra Performance couplée à la spectrométrie de masse. L'analyse pharmacocinétique de population a été effectuée à l'aide du logiciel NONMEN.

Résultats. 108 patients, âgés de 28 jours à 12 ans ont été inclus dans l'étude. Parmi ceux-ci 32 (29,6%) étaient également atteints de mucoviscidose et 47 (43,5%) d'une pathologie hématologique maligne et/ou oncologique. Au total, 271 concentrations plasmatiques étaient disponibles pour réaliser l'analyse pharmacocinétique. Un modèle bicompartimental avec une élimination de premier ordre a été développé. L'analyse des covariables a montré que la pharmacocinétique de la ceftazidime dépendait du poids de manière allométrique et était également significativement affectée par la clairance de la créatinine et la mucoviscidose. En effet, la clairance de la ceftazidime était 82% plus élevée chez les patients atteints de mucoviscidose que chez les autres enfants.

Ce que l'étude a apporté. Les simulations de Monte-Carlo ont montré que les enfants atteints de mucoviscidose atteignent moins fréquemment que les enfants non atteints la cible pharmacologique à la posologie recommandée dans l'AMM (150mg/kg/j) lorsque la ceftazidime était administrée en perfusions courtes. En revanche, cette différence est abolie lorsque l'antibiotique est administré en continu.

### ***C. Publication 1***

---

Ce travail a fait l'objet d'une publication dans la revue Journal of Antimicrobial Chemotherapy en 2020. Les figures et tables supplémentaires sont disponibles en annexe. L'article est présenté ci-dessous :

## Population pharmacokinetics of ceftazidime in critically ill children: impact of cystic fibrosis

S. Bui<sup>1†</sup>, A. Facchin<sup>2–4†</sup>, P. Ha<sup>2</sup>, S. Bouchet<sup>5</sup>, S. Leroux<sup>2</sup>, F. Nacka<sup>1</sup>, M. Fayon<sup>1</sup> and E. Jacqz-Aigrain<sup>2,4,6\*</sup> on behalf of the network of Paediatric Clinical Investigation Centres‡

<sup>1</sup>Centre d'Investigation Clinique (CIC1401), Centre de Ressources et de Compétences de la Mucoviscidose (CRCM), Centre de Recherche Cardio-thoracique de Bordeaux (U1045), Université de Bordeaux, Centre Hospitalier Universitaire de Bordeaux Groupe hospitalier Pellegrin, Bordeaux, France; <sup>2</sup>Département de Pharmacologie Pédiatrique et Pharmacogénétique, Centre Hospitalier Universitaire Robert Debré APHP, Paris, France; <sup>3</sup>Service de Pharmacie, Centre hospitalier Intercommunal Robert Ballanger, Aulnay-sous-Bois, France; <sup>4</sup>Université de Paris, Paris, France; <sup>5</sup>Département de Pharmacologie et de toxicologie, Centre Hospitalier Universitaire de Bordeaux, Groupe hospitalier Pellegrin, Bordeaux, France; <sup>6</sup>Centre d'Investigation Clinique (CIC1426), Centre Hospitalier Universitaire Robert Debré APHP, Paris, France

\*Corresponding author. E-mail: evelyne.jacqz-aigrain@aphp.fr

†These authors participated equally in this work.

‡Details are presented in the Acknowledgements.

Received 14 January 2020; returned 14 February 2020; revised 30 March 2020; accepted 2 April 2020

**Background:** Pharmacokinetics data on ceftazidime are sparse for the paediatric population, particularly for children with cystic fibrosis (CF) or severe infections.

**Objectives:** To characterize the population pharmacokinetics of ceftazidime in critically ill children, identify covariates that affect drug disposition and evaluate the current dosing regimens.

**Methods:** The study was registered with Clinicaltrials.gov (NCT01344512). Children receiving ceftazidime were selected in 13 French hospitals. Plasma concentrations were determined by UPLC-MS/MS. Population pharmacokinetic analyses were performed using NONMEN software.

**Results:** One hundred and eight patients, aged 28 days to 12 years, with CF ( $n = 32$ ), haematology and/or oncology disorders ( $n = 47$ ) or severe infection ( $n = 29$ ) were included. Ceftazidime was administered by continuous or intermittent infusions; 271 samples were available for analysis. A two-compartment model with first-order elimination and allometric scaling was developed and covariate analysis showed that ceftazidime pharmacokinetics were also significantly affected by  $CL_{CR}$  and CF. Ceftazidime clearance was 82% higher in CF than in non-CF patients. Monte Carlo simulations showed that the percentage of target attainment (PTA) for the target of  $T_{>MIC} = 65\%$  was (i) lower in CF than in non-CF children with intermittent infusions and (ii) higher with continuous than intermittent infusion in all children.

**Conclusions:** The population pharmacokinetics model for ceftazidime in children was influenced by body weight,  $CL_{CR}$  and CF. A higher PTA was obtained with continuous versus intermittent infusions. Further studies should explore the benefits of continuous versus intermittent infusion of ceftazidime, including current versus increased doses in CF children.

### Introduction

Ceftazidime, a third-generation cephalosporin, is active against a broad spectrum of aerobic Gram-positive and Gram-negative bacteria. It is the first cephalosporin recommended in cystic fibrosis (CF) owing to its activity against *Pseudomonas aeruginosa*.<sup>1,2</sup>

Ceftazidime is administered IV, by either continuous or intermittent infusions. Ceftazidime pharmacokinetics (PK) are well documented in adult healthy and critically ill septic or burn

populations, showing high interindividual variability. In children, PK data are sparse. As a  $\beta$ -lactam antibiotic, ceftazidime activity is time dependent and  $T_{>MIC}$  is the best predictor of efficacy.<sup>3–5</sup>

Our objectives were to determine the population PK parameters of ceftazidime, administered to children for severe medical conditions, to identify covariates affecting drug availability, evaluate the ceftazidime dosing regimen currently used and recommend dosing regimens adapted to children with critical illnesses or CF.

## Patients and methods

### Study design and population

This study was a prospective multicentre, open-label randomized population study of ceftazidime PK in children. It was part of the Pharma-A project (a nationwide project institutionally sponsored by the 'Programme Hospitalier de Recherche Clinique'). The project aim was to determine population PK parameters of three anti-infective drugs (ceftazidime, ciprofloxacin<sup>3</sup> and voriconazole) in French children. Pharma-A is registered with Clinicaltrials.gov (NCT01344512).<sup>4</sup> It was approved by the Ethics Committee (Comité de Protection des Personnes Sud-Ouest et Outre-Mer III; protocol no. 2010/116) and signed informed consent was obtained from both parents of all included patients. Additional assent was obtained from children aged >6 years, when appropriate. Inclusion criteria were children aged from 28 days to 12 years receiving IV ceftazidime for various medical indications. The medical history and covariates collected prospectively included: demographic covariates [weight, height, age, body surface area (BSA) and gender]; clinical covariate (underlying disease); and biological covariates (serum creatinine concentration, measured either by enzymatic or Jaffe method, glomerular filtration rate estimated by the Schwartz formula, serum protein concentration and leucocyte counts).

### Dose administration and PK sampling

Ceftazidime dose was 100 to 200 mg/kg/24 h, prescribed according to local protocols. The drug was administered as: (i) continuous infusion over 24 h, in three divided doses every 8 h, to respect conditions of stability of the diluted ceftazidime preparation; or (ii) intermittent infusion administered over a few to a maximum of 60 min and repeated three to four times a day, depending on local procedures. Two or three samples were drawn after the same administration in patients <2 or >2 years old, respectively, between Treatment Days 2 and 4 at times selected by the centres according to dosage regimen and local constraints. Predefined sampling intervals were 0–2 h, 2–4 h, 4–8 h, 8–12 h and 12–24 h. Precise infusion information (start and end of infusion and exact dose) and sampling times were recorded. The blood volume drawn for each PK analysis was 0.2 mL per sample. Blood samples were immediately centrifuged and plasma was stored at –80°C prior to analysis.

### Analytical methods

Ceftazidime blood samples were collected in 1.5 mL tubes and analysed centrally at the Pharmacology Department of Bordeaux University Hospital, according to a UPLC-MS/MS method developed in the laboratory. Briefly, after centrifugation and deproteinization, 300 µL of ceftazidime-d5 internal standard in water was added to 30 µL plasma and 10 µL was injected into an Acquity UPLC/TDQ (Waters). The column was an Agilent Pursuit XR3 (2.1×100 mm) column (Agilent Technologies) and the mobile phase was 0.01% formic acid/acetonitrile. Ceftazidime retention time was 2.2 min. The ceftazidime standard curve ranged from 5 to 200 mg/L. The inter- and intra-day coefficients of variation of quality controls were <8.5% at 5, 15, 100 and 150 mg/L (*n* = 5 per day for 3 days). The lower limit of quantification (LLOQ) was 3 mg/L.

### Statistical analysis

Demographic, clinical and biological variables are reported as number and percentage for categorical variables and mean (±SD) and/or median and range for continuous variables.

### Population PK analysis

PK analysis was carried out using the non-linear mixed-effects modelling program NONMEM V 7.2 (Icon Development Solutions, Ellicott City, MD,

USA) with the gfortran V 4.6.0 compiler. A first-order conditional estimation method with interaction option was used to estimate PK parameters and their variability. One- and two-compartment models with first-order elimination were tested to estimate clearance (CL), central volume of distribution (V1), peripheral volume of distribution (V2) and intercompartmental clearance (Q) using the ADVAN subroutines.

Interindividual variability was best described with an exponential model and was expressed as follows:

$$\theta_i = \theta_{\text{mean}} \times e^{\eta_i}$$

where  $\theta_i$  represents the parameter value of the  $i^{\text{th}}$  subject,  $\theta_{\text{mean}}$  the typical value of the parameter in the population and  $\eta_i$  the variability between subjects, which is assumed to follow a normal distribution with a mean of zero and variance  $\omega^2$ . To find the most appropriate residual error model, additive, proportional and mixed-error forms were tested.

### Covariate models

The allometric size approach was tested by incorporating the current weight into the basic model (coefficients of 1 for V1 and V2 and 0.75 for CL and Q). Covariate analysis followed a forward and backward selection process. The following continuous and categorical covariates were tested: demographic covariates (weight, height, age, BSA and gender); clinical covariate (underlying disease); and biological covariates (serum creatinine concentration, glomerular filtration rate estimated by the Schwartz formula, serum protein concentration and leucocyte counts). The likelihood ratio test was used to test the effect of each variable on model parameters. During the first step of covariate model building, a covariate was included if a significant ( $P < 0.05$ ,  $\chi^2$  distribution with one degree of freedom) decrease in the objective function value (OFV) (reduction > 3.84) from the basic model was obtained. All the significant covariates were then added simultaneously into a 'full' model. Subsequently, each covariate was independently removed from the full model. If the increase in the OFV was > 6.635 ( $P < 0.01$ ,  $\chi^2$  distribution), the covariate was considered as significantly associated with the PK parameter and was therefore retained in the final model.

### Model validation

The final model was visually evaluated by inspection of the goodness-of-fit (GOF) plots. These plots included the scatter plots of observed concentration (DV) versus population-predicted concentration (PRED), DV versus individual-predicted concentration (IPRED), conditional weighted residuals (CWRES) versus PRED and CWRES versus time since first dose.

A non-parametric bootstrap with resampling and replacement ( $n = 500$ ) was conducted to assess the robustness of the final model and the accuracy of all estimated PK parameters.<sup>5</sup> The result of the bootstrap from the successfully converging runs was used to obtain the median and the 95% CI (2.5th–97.5th percentile) for each parameter.

The prediction-corrected visual predictive check (pcVPC)<sup>6</sup> and the normalized prediction distribution error (NPDE)<sup>7</sup> were also performed with 500 simulations to visually and statistically examine the final model. The pcVPC results were presented as a graph of original data (predicted correction of DV versus time after last dose) with the median and the 95% CI derived from the simulation. The NPDE, assumed to follow an  $N(0, 1)$  distribution, was presented as a histogram and the QQ plot of residuals along with statistical tests. The simulation, statistical tests and NPDE were generated using R and graphs were built with Excel.

### Dosing regimen simulations

As a  $\beta$ -lactam antimicrobial, ceftazidime is a time-dependent antibiotic.  $T_{>MIC}$  is the best PK/pharmacodynamic (PK/PD) index to predict

drug-related responses. From animal infection models, PK/PD targets were 40%  $T_{>MIC}$  for bacteriostasis and 65%  $T_{>MIC}$  for near-maximal bactericidal activity at 24 h.<sup>8,9</sup> We performed Monte Carlo simulation ( $n = 500$ ) using the final model to calculate the percentage of target attainment (PTA) following intermittent or continuous infusion of 30, 50 and 70 mg/kg/8 h ceftazidime.<sup>10</sup> Additional simulations were also performed targeting 90%  $T_{>MIC}$  and testing the influence of renal function [ $CL_{CR}$  calculated by the Schwartz formula ( $CL_{CR,S}$ ) of 30, 120, 300 and 450 mL/min/1.73 m<sup>2</sup>] and age (<2, 2–6 and 6–12 years) in CF and non-CF children receiving 50 mg/kg/8 h continuous infusions.

## Results

### Patient characteristics

One hundred and eight paediatric patients from 13 French centres were included. Patients' characteristics are summarized in Table 1: age and weight (mean  $\pm$  SD) were 3.9  $\pm$  2.7 years and 15.7  $\pm$  7.0 kg, respectively, 32 patients (29.6%) had CF, 47 patients (43.5%) had haemato-oncological disorders and 29 (26.9%) had other indications such as pulmonary or renal infection. Sixty-four patients (59.3%) had a confirmed infection, predominantly due to *P. aeruginosa* ( $n = 39$ ) and *Staphylococcus aureus* or *Staphylococcus epidermidis* ( $n = 10$ ). Bacterial screens were negative in all the other patients ( $n = 44$ ).

Ceftazidime was administered by continuous infusion in 15 (13.9%) patients and intermittent infusions three or four times daily in 93 (86.1%) patients. The median (range) administered dose was 150 (41–310) mg/kg/day.

The total number of blood samples included in the PK analysis was 271 (mean 2.5 per patient). They were drawn in the intervals 0–2 h ( $n = 114$ ), 2–4 h ( $n = 52$ ), 4–8 h ( $n = 53$ ) and 8–24 h ( $n = 52$ ). Eight concentrations (2.95%) were below the LLOQ of 3 mg/L and were replaced by half this value.

### Model building

A two-compartment model with first-order elimination best described the data by inspection of GOF plots, had a lower OFV (2404 versus 2477) and reduced the interindividual variability in PK parameters in comparison with a one-compartment model. The residual variability was best explained by a proportional error model.

The two-compartment model was characterized by four PK parameters: CL,  $V_1$ ,  $V_2$  and Q.

Using an allometric approach by integrating the weight into the structural model, with coefficients of 0.75 for CL and Q and 1 for  $V_1$  and  $V_2$ , the structural model was greatly improved, as shown by the decrease in the OFV of 64.6% and of 12.2% in the interindividual variability of CL (Table S1, available as [Supplementary data at JAC Online](#)).

All covariates, including patients' characteristics, clinical and biological parameters, were tested in the first step of the forward selection process. Covariates with missing data <20%, such as height, serum creatinine and urea levels, total protein and haemoglobin concentrations, were imputed by the median. After the forward selection, CF, age and  $CL_{CR,S}$  were kept for the backward selection step. After backward elimination, CF and  $CL_{CR,S}$  had an impact on CL and were retained in the final model. Interindividual variability was estimated for CL and  $V_2$ . The estimated mean PK

parameters were the following: CL, 97.2 mL/kg/h;  $V_1$ , 29.1 mL/kg;  $V_2$ , 105.2 mL/kg; and Q, 169.4 mL/kg/h. Final estimates for all parameters are summarized in Table 2.

### Model evaluation

The bootstrap analysis ( $n = 500$ ) showed that the final model was stable since the median values of the PK parameters estimated from the bootstrap were close to those of the final model (Table 2). As shown in the GOF plots (Figure S1), the plots of PRED versus DV and IPRED versus DV for the final model indicated that there was no apparent bias for the prediction. From the plots of CWRES versus time after last dose and versus PRED, no trend was detected.

The results of NPDE satisfied the hypothesis of a normal distribution,  $N(0, 1)$ , with a mean of  $-0.0175$  ( $P = 0.813$ , Wilcoxon test), a variance of 1.16 ( $P = 0.0733$ , Fisher variance test) and  $P = 0.43$  for the Shapiro–Wilk test of normality (Figure S2). The pcVPC showed that the model reliably predicted the data (Figure 1).

### Dosing simulations

Monte Carlo simulations (Figure 2) were performed with MICs for *P. aeruginosa* ranging from 0.5 to 64 mg/L, targeting 65%  $T_{>MIC}$  or 90%  $T_{>MIC}$ .

PTA (for 65%  $T_{>MIC}$  and 90%  $T_{>MIC}$  targets) according to MIC and various ceftazidime continuous or intermittent dosage regimens was always lower in CF than in non-CF patients (Figure 2a–d). When testing an MIC of 8 mg/L (*P. aeruginosa* EUCAST breakpoint), with 50 mg/kg/8 h of ceftazidime intermittent administration over 30 min, PTAs (for 65%  $T_{>MIC}$ ) were 48.3% and 75.4% in CF and non-CF patients, respectively.

Irrespective of the dose, continuous infusions gave higher PTAs than intermittent 30 min infusions (Figure 2a, c). In children with CF, PTAs (for 65%  $T_{>MIC}$ ) were 48% and 99%, respectively, when administered over 30 min or as a continuous infusion, respectively. Simulations were done for intermittent infusion over 3 h. For an MIC of 8 mg/L, the PTA was over 60% in CF and non-CF patients. With 50 mg/kg/8 h of ceftazidime infusions over 3 h, PTAs (for 65%  $T_{>MIC}$ ) were 90.4% and 71.8% for non-CF and CF children, respectively (Figure S3).

Moreover, continuous infusions of 50 mg/kg/8 h achieved the same high PTA, for both 65% and 90%  $T_{>MIC}$ .

Table S2 shows the impact of  $CL_{CR,S}$  on PTA in CF and non-CF children (fixed weight of 15 kg). Continuous infusions of 50 mg/kg/8 h were adapted for all the  $CL_{CR,S}$  tested up to an MIC of 16 mg/L, with a target of 65%  $T_{>MIC}$ . Table S3 shows the impact of age on PTA (MIC of 8 mg/L) for 50 mg/kg/8 h ceftazidime administered by intermittent infusion over 30 min and continuous infusion. With 50 mg/kg/8 h as intermittent infusions over 30 min, PTA increased with age, but this difference was not evidenced with the same dose given as continuous infusions.

## Discussion

Few ceftazidime population PK studies have been conducted in paediatric patients.<sup>11–13</sup> To our knowledge, the present study, based on a rich dataset of 108 patients, is the first to report on the impact of CF on ceftazidime disposition. According to our results, ceftazidime PK are best described by a two-compartment model

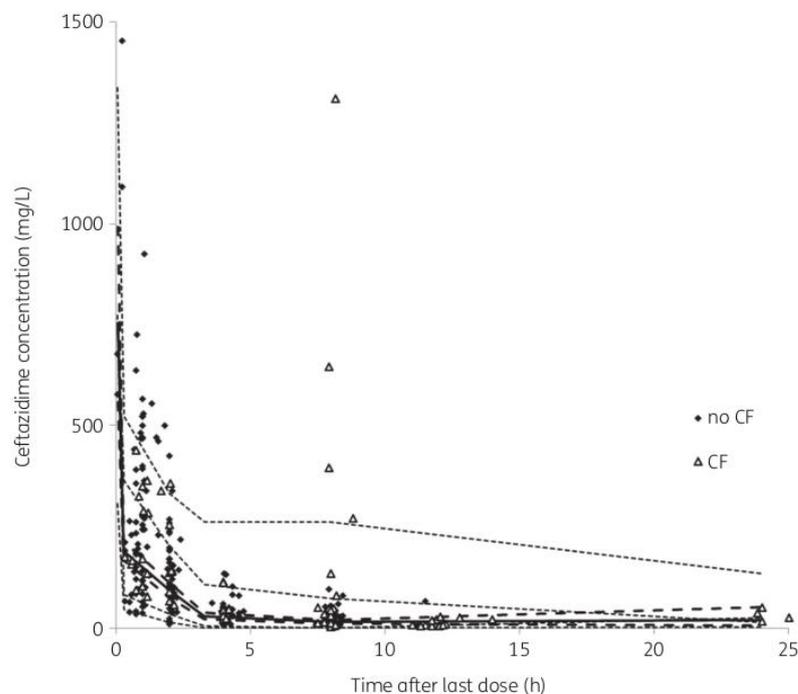
**Table 1.** Population clinical and laboratory characteristics

	N	Total		CF		Non-CF	
		median (range)	mean ± SD	median (range)	mean ± SD	median (range)	mean ± SD
<b>Clinical data</b>							
female/male	108	40/68		12/20		28/48	
age (years)	108	2.9 (0.1–12.0)	3.9±2.7	3.0 (0.3–12.0)	4.1±2.7	2.9 (0.1–11.8)	3.8±2.7
weight (kg)	108	12.4 (2.9–62.6)	15.7±7.0	12.7 (4.8–42.0)	16.1±6.6	12.4 (2.9–62.6)	15.6±7.2
height (cm)	98	94.0 (51.5–150.5)	97.7±20.2	94 (56.5–146.5)	99.8±20.0	94.5 (51.5–150.5)	96.7±20.3
BSA (m <sup>2</sup> )	98	0.565 (0.26–1.6)	0.64±0.2	0.57 (0.28–1.27)	0.66±0.20	0.56 (0.26–1.60)	0.63±0.21
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	98	15.6 (3.3–29.4)	15.6±2.4	15.2 (10.6–21.7)	15.3±1.3	15.7 (3.3–29.4)	15.8±2.8
<b>Biological parameters</b>							
serum creatinine concentration (µmol/L)	104	24 (5–97)	25.7±9.4	27 (9–52)	28±7	23.0 (5–97)	24.7±9.8
CL <sub>CRS</sub> (mL/min/1.73 m <sup>2</sup> )	104	198 (33–872)	215±70	181 (88–418)	183±44	204 (33–872)	228±80
serum urea (mmol/L)	103	3.2 (0.7–18.8)	3.7±1.7	4.3 (1–7)	4.0±1.3	2.9 (0.7–18.8)	3.6±1.8
total protein (g/L)	99	60 (41–92)	61±6	64 (55–92)	66±5	59 (41–82)	59±6
haemoglobin (g/100 mL)	99	10.2 (6.5–15.2)	10.5±1.4	12.2 (8.8–13.6)	11.9±1.1	9.9 (6.5–15.2)	10.0±1.2
blood leucocytes (×10 <sup>9</sup> /L)	99	5.66 (0.06–21.74)	7.14±5.38	10.8 (5.1–19.7)	11.3±3.3	2.7 (0.1–21.7)	5.6±5.1
<b>PK data</b>							
route of administration	108						
intermittent infusion	93			18		75	
continuous infusion	15			14		1	
dose administered (mg/kg/day)	108	150 (41–310)	152±41	200 (48–310)	191±27	147 (41–252)	135±36
serum ceftazidime concentration (mg/L)	271	66.5 (1.5–984)	133.7±121.1	53.3 (1.5–605.7)	105.2 ± 92.0	76.1 (1.5–984.0)	145.0 ± 130.3
<b>Number of samples per patient</b>							
1	108	2		0		2	
2		49		19		30	
3		57		13		44	
<b>Sampling times (h)</b>							
0–2	271	114					
2–4		52					
4–8		53					
8–24		52					

**Table 2.** Population PK parameters of ceftazidime and bootstrap results

Parameter	Final model		Bootstrap <sup>a</sup> (n = 500)		
	final estimate	RSE (%)	median	2.5th percentile	97.5th percentile
CL = 0.873 × (WT/12.4) <sup>0.75</sup> × F <sub>CF</sub> × RF	0.873	7.9	0.884	0.745	1.04
V1 = 0.36 × (WT/12.4)	0.360	25.3	0.401	0.235	1.08
V2 = 1.18 × (WT/12.4)	1.18	9.7	1.15	0.688	1.42
Q = 2.12 × (WT/12.4) <sup>0.75</sup>	2.12	19.2	2.02	0.316	3.57
F <sub>CF</sub> = 1.82 <sup>CF</sup>	1.82	12.0	1.8	1.42	2.33
RF = (CL <sub>CRS</sub> /198) <sup>0.474</sup>	0.474	20.8	0.486	0.256	0.679
<b>Interindividual variability</b>					
ω <sub>CL</sub>	0.528	15.1	0.516	0.370	0.611
ω <sub>V2</sub>	0.653	22.1	0.647	0.005	0.858
<b>Residual error</b>					
σ	0.267	17.6	0.263	0.210	0.430

F<sub>CF</sub>, impact of cystic fibrosis; RF, renal function; WT, current weight (kg); RSE, relative standard error, CF = 1 in CF children and 0 in non-CF children. <sup>a</sup>500 bootstraps were performed. The results were obtained from 493 successfully converging runs.



**Figure 1.** pcVPC of the final model describing the PK of ceftazidime in children with critical illnesses or CF. The diamonds and the triangles represent the prediction-corrected DV (mg/L) for non-CF and CF children, respectively. The wide solid line represents the median of prediction-corrected DV and wide dashed lines represent simulation-based 95% CIs for the median. The 95% intervals for the model-predicted 2.5th and 97.5th percentiles are indicated as corresponding dashed lines.

with first-order elimination, influenced by body weight in an allometric manner and by renal function. In addition, we showed that CF has an independent impact on ceftazidime elimination.

IV-administered ceftazidime is essentially eliminated by glomerular filtration (80% to 90%).<sup>10</sup> Previous PK studies in children have shown that the developmental changes of renal function associated with growth and maturation have a significant impact on renal drug clearance, as reported with many renally cleared drugs, including ceftazidime.<sup>11,12,14–18</sup> This was confirmed in our study by implementing  $CL_{CRS}$  and allometry<sup>19</sup> on ceftazidime CL.

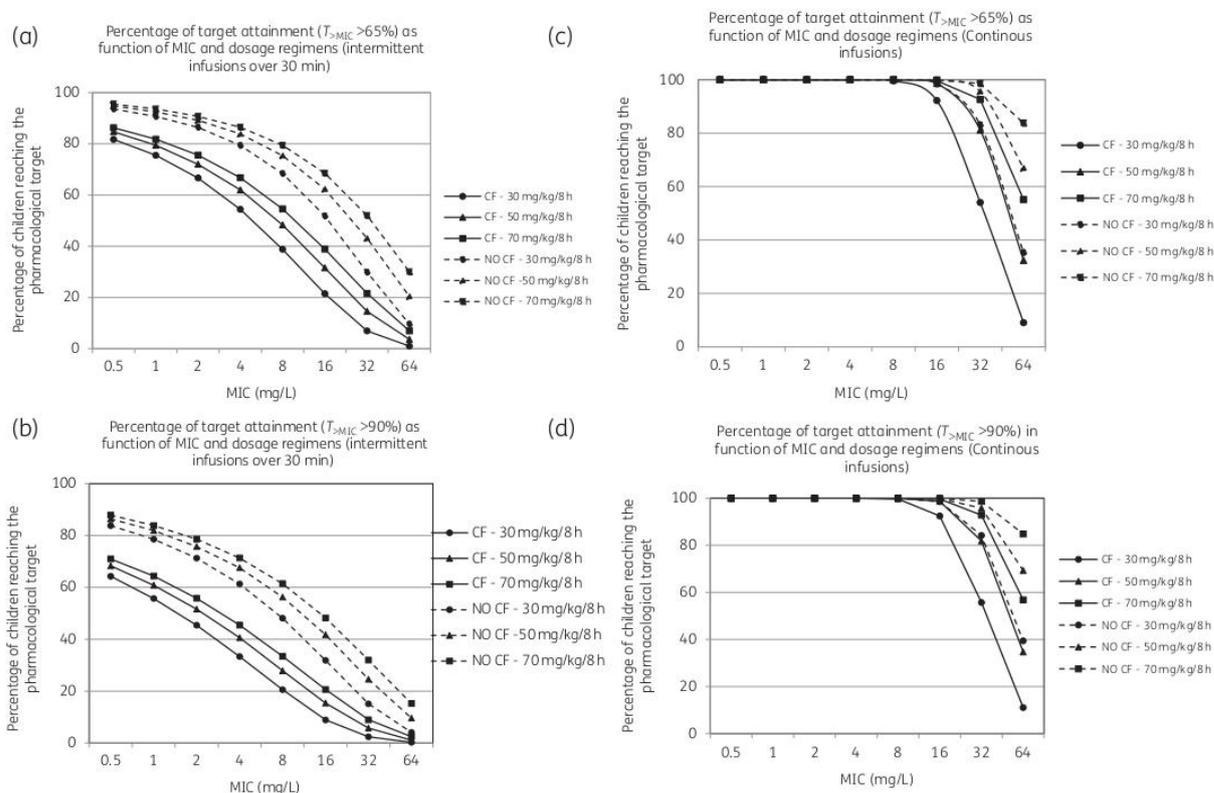
The impact of CF on ceftazidime CL has already been reported in young adults, with or without CF,<sup>17,20</sup> and in CF children versus healthy adults.<sup>21</sup> Ceftazidime CL was also reported in a limited number of paediatric patients: it was 169 mL/h/kg in 8 children aged 6–12 years<sup>12</sup> with current infections and 198 mL/h/kg in 10 children aged 2–13 years with peritonitis.<sup>22</sup> In our study, ceftazidime CL was in the range of values previously reported, but it was 82% higher in CF than in non-CF children (132 versus 82 mL/h/kg, respectively). For a fixed weight of 12.4 kg and a fixed  $CL_{CRS}$  of 198 mL/min/1.73 m<sup>2</sup>, ceftazidime CL was 0.873 L/h and 1.589 L/h in non-CF and CF children, respectively. The reasons for increased CL in CF patients remain controversial. Modifications of renal clearance may be linked to: (i) the high glomerular filtration rate<sup>16</sup> previously discussed; and (ii) additional renal changes in tubular excretion in CF.<sup>23–26</sup> However, the increased ceftazidime CL associated with the lower  $CL_{CRS}$  in CF patients is an argument for a non-

renal clearance contribution in CF children, already reported to be almost twice as high, but not significantly different, in 10 patients with CF versus 10 non-CF.<sup>17</sup>

Ceftazidime V was higher in children with CF, but this difference was no longer apparent when ceftazidime V was corrected for lean body mass.<sup>17</sup> Higher V was also observed in patients with CF and critically ill patients compared with adult volunteers.<sup>20,27</sup> In our data, ceftazidime V was not different between children with CF and non-CF children (144±34 versus 130±42 mL/kg, respectively). This lack of difference may reflect improved care following early neonatal screening, improved nutritional care and/or support in critical medical situations.

Ceftazidime is recommended in patients with CF to treat acute pulmonary exacerbations due to *P. aeruginosa*.<sup>28,29</sup> The observed higher clearance in children with CF requires dose adaptation due to the high risk of rapid induced resistance when the dose is inadequate. Previous authors have demonstrated that intermittent administration is associated with only 20%–40%  $T_{>MIC}$  and although some clinical and bacteriological efficacy may be apparent, increased selection of resistant *P. aeruginosa* will ensue.<sup>30,31</sup>

Based on the difference in ceftazidime CL, Monte Carlo simulations were performed. The pharmacological target of 65%  $T_{>MIC}$  was selected as recommended previously<sup>8,9</sup> and different MICs and different doses administered either by intermittent or continuous infusion were tested. Monte Carlo simulations showed that the PTA was lower in children with CF than in non-CF children when



**Figure 2.** PTA ( $T_{>MIC}>65\%$  and  $T_{>MIC}>90\%$ ) according to MIC and ceftazidime dosage regimen. (a and b) Infusions over 30 min. (c and d) Continuous infusions.

ceftazidime was administered at the same dose over 30 min. For an MIC of 8 mg/L, corresponding to the *P. aeruginosa* breakpoint from EUCAST,<sup>32</sup> and the recommended dosage of 150 mg/kg/day, as intermittent infusions over 30 min, PTAs were 48.3% and 75.4% in CF versus non-CF children, respectively. For the same MIC and dosing, continuous infusion enabled more than 99% of both CF and non-CF children to reach the pharmacological target. Simulations were then performed in CF and non-CF children with 50 mg/kg/8h as continuous infusions to investigate the potential impact of age and renal function (using  $CL_{CRS}$ ). Such dosing regimens resulted in high PTAs (>85%) whatever the age and renal function and for MICs up to 16 mg/L.

Thus, according to our simulations, continuous infusions of 50 mg/kg/8h of ceftazidime should be recommended for all patients, combined with an increased dose of 70 mg/kg/8h in the case of resistant strains (MIC >16 mg/L) in children with CF. The rationale for the administration of  $\beta$ -lactam antibiotics by continuous infusion is well documented, the objective being to maximize the PK/PD  $T_{>MIC}$  parameter.<sup>8,33</sup> Ceftazidime continuous infusion has already been shown to be more efficacious than intermittent infusion in patients treated for *P. aeruginosa* infections.<sup>34,35</sup> It is important to underline here that the continuous infusion requires three daily preparations of diluted ceftazidime, each infused over 8 h, due to the limited stability of the diluted ceftazidime preparations.<sup>36</sup>

Our study had some limitations. First, although the number of patients included was over 100, the population was heterogeneous in terms of age and disease. In particular, the number of children with CF represented only one-third of all patients. Second, our model underwent only internal validation; however, our PK results are in agreement with previously reported data. Additional data for an external validation are required in order to validate our results. As the ceftazidime PK/PD target in CF patients is not validated, we performed simulations targeting both 65% and 90%  $T_{>MIC}$  but additional data are required to define the target that is optimal for CF patients.

We have developed a population PK model for ceftazidime in children with suspected or confirmed infection complicating critical illnesses and cystic fibrosis, and report the significant impact of body weight and renal function on ceftazidime disposition. Total clearance was higher in children with CF compared with non-CF children. Moreover, we have shown the benefit of continuous infusions over intermittent infusions, for both critically ill and CF children. Our data are consistent with the recommendation of 50 mg/kg/8h of ceftazidime if administered as continuous infusion, for both critically ill and CF patients, aged 28 days to 12 years, with a large range of  $CL_{CRS}$ . Additional studies are required to validate the therapeutic benefit of continuous versus intermittent infusion of ceftazidime, administered at

current or higher doses depending on the MIC, in children with CF and versus the current dose in non-CF patients.

## Acknowledgements

We thank all paediatricians from the Cystic Fibrosis Reference Centres, departments of pulmonology, haemato-oncology, nephrology and intensive care, who participated in the patients' follow-up. We are also grateful to all children and their families who consented to their participation.

## Participating Paediatric Clinical Investigation Centres

Listed according to the number of patients included: CIC1401 (Prof M. Fayon, Bordeaux), CIC1426 (Prof E. Jacqz-Aigrain, Paris), CIC1405 (Prof J. Kanold, Clermont-Ferrand), CIC1411 (Dr H. Chevassus, Montpellier), CIC 1402 (Prof R. Hankard, Tours), CIC 1407 (Prof B. Kassai, Lyon) and CIC 1432 (Prof Marc Bardou, Dijon).

## Funding

This work was supported by a National French Programme: PHRC (Programme Hospitalier de Recherche Clinique) – 2010 no. 04-03, a grant from the French Ministry of Health.

## Transparency declarations

None to declare.

## Author contributions

E.J.-A., M.F., S. Bui and S.L. planned and organized the study. Physicians in CRMs were responsible for inclusions and researchers in CICs organized trial follow-up. S. Bouchet performed pharmacological bioanalysis. P.H. and F.N. performed data management. A.F. conducted the pharmacokinetic analysis/simulations and wrote the first versions of the manuscript, reviewed by E.J.-A. All authors revised and accepted the final version.

## Supplementary data

Figures S1 to S3 and Tables S1 to S3 are available as [Supplementary data](#) at JAC Online.

## References

- Verbist L, Verhaegen J. GR-20263: a new aminothiazolyl cephalosporin with high activity against *Pseudomonas* and Enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother* 1980; **17**: 807–12.
- Wise R, Andrews JM, Bedford KA. Comparison of in vitro activity of GR 20263, a novel cephalosporin derivative, with activities of other  $\beta$ -lactam compounds. *Antimicrob Agents Chemother* 1980; **17**: 884–9.
- Facchin A, Bui S, Leroux S et al. Variability of ciprofloxacin pharmacokinetics in children: impact on dose range in sickle cell patients. *J Antimicrob Chemother* 2018; **73**: 3423–9.
- Population Pharmacokinetics of Anti-infectious Drugs in Children (PHARMA-A). ClinicalTrials.gov. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01344512>.
- Parke J, Holford NH, Charles BG. A procedure for generating bootstrap samples for the validation of nonlinear mixed-effects population models. *Comput Methods Programs Biomed* 1999; **59**: 19–29.
- Bergstrand M, Hooker AC, Wallin JE et al. Prediction-corrected visual predictive checks for diagnosing nonlinear mixed-effects models. *AAPS J* 2011; **13**: 143–51.
- Comets E, Brendel K, Meunier F. Computing normalised prediction distribution errors to evaluate nonlinear mixed-effect models: the npde add-on package for R. *Comput Methods Programs Biomed* 2008; **90**: 154–66.
- Craig WA. Pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters: rationale for antibacterial dosing of mice and men. *Clin Infect Dis* 1998; **26**: 1–12.
- Drusano GL. Antimicrobial pharmacodynamics: critical interactions of 'bug and drug'. *Nat Rev Microbiol* 2004; **2**: 289–300.
- Ceftazidime—Summary of product characteristics. [https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/fortum-article-30-referral-annex-iii\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/fortum-article-30-referral-annex-iii_en.pdf).
- Shi Z-R, Chen X-K, Tian L-Y et al. Population pharmacokinetics and dosing optimization of ceftazidime in infants. *Antimicrob Agents Chemother* 2018; **62**: e02486–17.
- Bradley JS, Armstrong J, Arrieta A et al. Phase I study assessing the pharmacokinetic profile, safety, and tolerability of a single dose of ceftazidime-avibactam in hospitalized pediatric patients. *Antimicrob Agents Chemother* 2016; **60**: 6252–9.
- Cojutti PG, Maximova N, Schillani G et al. Population pharmacokinetics of continuous-infusion ceftazidime in febrile neutropenic children undergoing HSCT: implications for target attainment for empirical treatment against *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother* 2019; **74**: 1648–55.
- Conil JM, Georges B, Lavit M et al. A population pharmacokinetic approach to ceftazidime use in burn patients: influence of glomerular filtration, gender and mechanical ventilation. *Br J Clin Pharmacol* 2007; **64**: 27–35.
- Muller AE, Punt N, Mouton JW. Optimal exposures of ceftazidime predict the probability of microbiological and clinical outcome in the treatment of nosocomial pneumonia. *J Antimicrob Chemother* 2013; **68**: 900–6.
- Hedman A, Adan-Abdi Y, Alvan G et al. Influence of the glomerular filtration rate on renal clearance of ceftazidime in cystic fibrosis. *Clin Pharmacokinet* 1988; **15**: 57–65.
- Leeder JS, Spino M, Isles AF et al. Ceftazidime disposition in acute and stable cystic fibrosis. *Clin Pharmacol Ther* 1984; **36**: 355–62.
- Walstad RA, Dahl K, Hellum KB et al. The pharmacokinetics of ceftazidime in patients with impaired renal function and concurrent furosemide therapy. *Eur J Clin Pharmacol* 1988; **35**: 273–9.
- Anderson BJ, Holford N. Mechanism-based concepts of size and maturity in pharmacokinetics. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2008; **48**: 303–32.
- Mouton JW, Punt N, Vinks AA. A retrospective analysis using Monte Carlo simulation to evaluate recommended ceftazidime dosing regimens in healthy volunteers, patients with cystic fibrosis, and patients in the intensive care unit. *Clin Ther* 2005; **27**: 762–72.
- Assael BM, Boccuzzi A, Caccamo ML et al. Clinical pharmacology of ceftazidime in paediatrics. *J Antimicrob Chemother* 1983; **12** Suppl A: 341–6.
- Prokhorenko PI, Strachunskii LS, Andreenkova EG et al. Age-related characteristics of ceftazidime pharmacokinetics in children. *Antibiot Khimioter* 1992; **37**: 29–31.
- Verhagen CA, Mattie H, Van Strijen E. The renal clearance of cefuroxime and ceftazidime and the effect of probenecid on their tubular excretion. *Br J Clin Pharmacol* 1994; **37**: 193–7.
- Carbon C, Dromer F, Brion N et al. Renal disposition of ceftazidime illustrated by interferences by probenecid, furosemide, and indomethacin in rabbits. *Antimicrob Agents Chemother* 1984; **26**: 373–7.

- 25** Berg U, Kusoffsky E, Strandvik B. Renal function in cystic fibrosis with special reference to the renal sodium handling. *Acta Paediatr Scand* 1982; **71**: 833–8.
- 26** Arvidsson A, Alvan G, Strandvik B. Difference in renal handling of cefsulodin between patients with cystic fibrosis and normal subjects. *Acta Paediatr Scand* 1983; **72**: 293–4.
- 27** Hanes SD, Wood GC, Herring V *et al*. Intermittent and continuous ceftazidime infusion for critically ill trauma patients. *Am J Surg* 2000; **179**: 436–40.
- 28** Flume PA, Magayzel PJ, Robinson KA *et al*. Cystic fibrosis pulmonary guidelines: treatment of pulmonary exacerbations. *Am J Respir Crit Care Med* 2009; **180**: 802–8.
- 29** Bhatt JM. Treatment of pulmonary exacerbations in cystic fibrosis. *Eur Respir Rev* 2013; **22**: 205–16.
- 30** Hubert D, Le Roux E, Lavrut T *et al*. Continuous versus intermittent infusions of ceftazidime for treating exacerbation of cystic fibrosis. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; **53**: 3650–6.
- 31** Zobel JT, Waters CD, Young DC *et al*. Optimization of anti-pseudomonal antibiotics for cystic fibrosis pulmonary exacerbations: II. Cephalosporins and penicillins. *Pediatr Pulmonol* 2013; **48**: 107–22.
- 32** EUCAST. Clinical breakpoints and dosing of antibiotics. [http://www.eucast.org/clinical\\_breakpoints/](http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/).
- 33** Craig WA, Ebert SC. Continuous infusion of  $\beta$ -lactam antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother* 1992; **36**: 2577–83.
- 34** Mouton JW, den Hollander JG. Killing of *Pseudomonas aeruginosa* during continuous and intermittent infusion of ceftazidime in an in vitro pharmacokinetic model. *Antimicrob Agents Chemother* 1994; **38**: 931–6.
- 35** Cappelletty DM, Kang SL, Palmer SM *et al*. Pharmacodynamics of ceftazidime administered as continuous infusion or intermittent bolus alone and in combination with single daily-dose amikacin against *Pseudomonas aeruginosa* in an in vitro infection model. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; **39**: 1797–801.
- 36** Longuet P, Lecapitaine AL, Cassard B *et al*. Preparing and administering injectable antibiotics: how to avoid playing God. *Med Mal Infect* 2016; **46**: 242–68.

## ***IV. Etude n°2 – Etude pharmacocinétique de population de la ciprofloxacin en pédiatrie – Impact de la drépanocytose***

### ***A. Contexte***

---

La ciprofloxacin fait partie d'une famille d'antibiotiques appelés fluoroquinolones (FQ). Ces molécules, apparues dans les années 1980, dérivent de l'acide nalidixique, une quinolone créée en 1962 et employée dans les infections urinaires aussi bien chez l'adulte que chez l'enfant. Les FQ sont des antibiotiques bactéricides qui agissent par inhibition des topoisomérases de type II et IV, nécessaires à la réplication, la transcription, la réparation et la recombinaison de l'ADN bactérien (European Medicines Agency 2008d). Ce sont des antibiotiques concentration-dépendants, le rapport AUC/CMI et le rapport  $C_{max}/CMI$  sont les meilleurs paramètres prédictifs de leur efficacité (Conil et al. 2008 ; Khachman et al. 2011). Ils possèdent également une action prolongée sur la croissance bactérienne au-delà du temps pendant lequel leur concentration demeure supérieure à la CMI bactérienne : c'est l'effet post-antibiotique (Wolfson et al. 1989). Au vu des données de toxicités articulaires observées dans les études précliniques, les FQ ont été initialement contre-indiquées chez les enfants de moins de 15 ans. Elles ont tout de même été employées en pédiatrie dans un usage compassionnel lors d'infections sévères. La ciprofloxacin a ensuite obtenu l'AMM chez l'enfant en 2003 dans quelques indications, en particulier dans les infections sévères ou lorsqu'il n'existe pas d'autres alternatives thérapeutiques (European Medicines Agency 2008d). Ces molécules présentent des caractéristiques intéressantes comme une excellente pénétration tissulaire, un spectre antibactérien large ou même, une administration PO possible. Depuis, les FQ ont été plus fortement consommées, aussi bien chez l'adulte que chez l'enfant, entraînant une augmentation des résistances bactériennes à cette classe (Bradley et al. 2011 ; Rose et al. 2014 ; Observatoire National de l'Epidémiologie de la Résistance Bactérienne aux Antibiotiques 2018). Ce phénomène, déjà observé dans la population adulte, commence à apparaître dans la population pédiatrique (Karlowsky et al. 2013). C'est pourquoi il est important de préserver son efficacité dans la population pédiatrique et donc de limiter son

utilisation dans des indications bien argumentées et à des doses adéquates. Quelques éléments de la PK de la ciprofloxacine chez l'enfant sont disponibles mais les données demeurent peu nombreuses. Les études ont montré que la PK de la ciprofloxacine est très variable suivant le stade de développement de l'enfant. Cette variabilité, due aux phénomènes de maturation des différentes fonctions physiologiques au cours de la croissance, est reflétée dans les études par l'influence de l'âge et/ou du poids sur les paramètres PK. D'autres facteurs semblent avoir une influence comme la pathologie sous-jacente, par exemple dans la mucoviscidose, ou d'autres facteurs cliniques (sepsis, Score patient à haut risque de mortalité) et les caractéristiques biologiques comme la natrémie et la créatininémie sérique (Schaefer et al. 1996 ; Payen et al. 2003 ; Rajagopalan et al. 2003 ; Thuo et al. 2011 ; Zhao et al. 2014).

## **B. Résumé de l'étude**

---

**Objectifs.** Les objectifs de ce travail ont été de **déterminer la pharmacocinétique de la population de ciprofloxacine** chez les patients pédiatriques, de **mesurer l'impact de la maladie sous-jacente et d'évaluer la pertinence des schémas posologiques actuels.**

**Méthode.** Deux ensembles de données ont été combinés : des données recueillies rétrospectivement chez des enfants ayant bénéficié d'un dosage plasmatique de ciprofloxacine au sein de l'hôpital Robert Debré et des données recueillies prospectivement issues de l'étude multicentrique PHARM-A (NCT01344512). Les concentrations plasmatiques de ciprofloxacine des enfants traités ont été mesurées par chromatographie liquide à haute performance. L'analyse pharmacocinétique de la population a été réalisée à l'aide du logiciel NONMEM.

**Résultats.** L'analyse pharmacocinétique a été effectuée avec 128 concentrations plasmatiques mesurées chez 60 patients âgés de 3 mois à 19 ans recevant une dose quotidienne médiane de 30 mg/kg. Dans cette cohorte, 20 enfants (33%) étaient drépanocytaires, 3 étaient atteints de mucoviscidose (3.5%) et 15 d'une hémopathie maligne (25%). Les 22 autres enfants (37%) ne présentaient pas de maladie sous-jacente particulière. La pharmacocinétique de la ciprofloxacine a été la mieux décrite par un modèle à deux

compartiments avec une élimination de premier ordre. La clairance moyenne de la ciprofloxacine (moyenne + écart-type) était de  $0,81 \pm 0,30$  L/h/kg. Elle augmentait avec le poids (relation allométrique), avec l'âge (+ 0,95 L/h/an), diminuait avec l'augmentation de la créatininémie. De plus, une augmentation de 89% de la clairance de la ciprofloxacine a été montrée chez les enfants drépanocytaires par rapport aux autres enfants. Le volume de distribution moyen était de 6,9 L/kg et ne dépendait que du poids (relation allométrique).

Ce que l'étude a apporté. Des simulations de Monte-Carlo ont été effectuées pour chaque groupe, « drépanocytaires » ou non. Des recommandations de schémas posologiques adaptés à la pathologie ont pu être proposées pour atteindre la cible pharmacologique chez les enfants drépanocytaires.

### ***C. Publication 2***

---

Les résultats de ce travail ont fait l'objet d'une publication dans la revue Journal of antimicrobial Chemotherapy en 2018. Les figures et tables supplémentaires sont disponibles en annexe. L'article est présenté ci-dessous :

## Variability of ciprofloxacin pharmacokinetics in children: impact on dose range in sickle cell patients

A. Facchin<sup>1,2</sup>, S. Bui<sup>3</sup>, S. Leroux<sup>1</sup>, F. Nacka<sup>3</sup>, B. Koehl<sup>4,5</sup>, E. Maksoud<sup>1</sup>, M. Fayon<sup>3</sup> and E. Jacqz-Aigrain<sup>1,6,7\*</sup> with the assistance of the Paediatric Clinical Investigation Centres Pharmacology Group†

<sup>1</sup>Département de Pharmacologie Pédiatrique et pharmacogénétique, CHU Robert Debré APHP, Paris, France; <sup>2</sup>Ecole Doctorale MTCI, Université Paris Descartes, Paris, France; <sup>3</sup>Département de Pédiatrie, CIC1401, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France; <sup>4</sup>Service d'hématologie, Centre de référence de la drépanocytose, Hôpital Robert Debré, APHP, Paris, France; <sup>5</sup>Département de Pédiatrie, Hôpital Robert Debré, APHP, Paris, France; <sup>6</sup>Université Paris Diderot, Sorbonne Paris-Cité, Paris, France; <sup>7</sup>Centre d'investigation clinique, CIC1426, INSERM, Paris, France

\*Corresponding author. Department of Paediatric Pharmacology and Pharmacogenetics, Hôpital Robert Debré, 48 boulevard Serrurier, 75019 Paris, France. Tel: +33 (0)1 40032150; Fax: +33 (0)1 40034759; E-mail: evelyne.jacqz-aigrain@aphp.fr

†Participating Paediatric Clinical Investigation Centres: CIC1401 (Prof M. Fayon, Bordeaux); CIC1406 (Dr I. Pin, Grenoble); CIC1411 (Dr Y. Chevassus, Montpellier); CIC1419 (Prof J. M. Treluyer, Paris); and CIC1426 (Pr E. Jacqz-Aigrain, Paris).

Received 1 March 2018; returned 9 May 2018; revised 9 July 2018; accepted 19 July 2018

**Objectives:** To determine the ciprofloxacin population pharmacokinetics in paediatric patients and the impact of underlying disease and evaluate the appropriateness of current dosage regimens.

**Patients and methods:** Plasma concentrations of ciprofloxacin from children treated with ciprofloxacin were measured by HPLC. The pharmacokinetic population analysis was performed using NONMEM v7.2 (Icon Development Solutions, USA).

**Results:** Two datasets were combined and 128 plasma concentrations in 60 patients aged 5.6 years (range 0.3–18.9), treated with a median daily dose of 30.0 mg/kg (range 6.5–52.0) presenting with sickle cell disease (SCD;  $n = 20$ , 33%), haemopathy ( $n = 15$ , 25%), cystic fibrosis (CF;  $n = 3$ , 5%) and other diseases ( $n = 22$ , 37%) were analysed. Data were best described by a two-compartment model with first-order elimination. Ciprofloxacin clearance (mean  $\pm$  SD) was  $0.81 \pm 0.30$  L/h/kg, increased allometrically with weight, decreased with increasing creatinine concentration, was 89% higher in SCD compared with non-SCD patients and increased by 0.95 L/h/kg per year of age. The volume of distribution was 6.9 L/kg and depended only on the weight. Monte Carlo simulations were performed separately in SCD and non-SCD patients to target an AUC/MIC ratio  $>125$  at steady-state, required for antibacterial efficacy, and recommendations of dosing regimens were proposed.

**Conclusions:** In addition to known covariates, ciprofloxacin clearance is greater in SCD children compared with non-SCD patients. The dosing of this agent needs to be adapted to this subgroup of patients.

### Introduction

Ciprofloxacin is a bactericidal fluoroquinolone that targets bacterial DNA gyrase, a member of the class of type II topoisomerases, and displays *in vitro* activity against most Gram-negative and many Gram-positive pathogenic bacteria, many of which are resistant to a wide range of antibiotics.<sup>1</sup> Musculoskeletal complications<sup>2,3</sup> are adverse events that restrict the use of ciprofloxacin in children. Thus, it is not considered first-line treatment but is only used in the absence of alternative treatment in severe infections, owing to suspected or proven multiresistant organisms,

including complicated urinary tract infections and pyelonephritis and in patients with cystic fibrosis (CF).<sup>1</sup>

Fluoroquinolones are concentration-dependent antibiotics and the ratio AUC/MIC is the best predictor of efficacy. An AUC/MIC target ratio  $>125$  is recommended for efficacy.<sup>4</sup>

Ciprofloxacin is mainly eliminated by glomerular filtration and tubular secretion.<sup>5</sup> Non-renal clearance in adults accounts for only a third of its elimination. Pharmacokinetic data are available in different paediatric subpopulations, showing that age, renal function, CF and co-medications are covariates explaining ciprofloxacin pharmacokinetic variability.<sup>5–11</sup> However, such data are limited.

The present study aims to determine the pharmacokinetic parameters and variability of ciprofloxacin in paediatric patients in different disease subgroups.

## Patients and methods

### Subjects

Paediatric patients treated with ciprofloxacin who originated from two different sources were included, i.e. (i) data from the multicentre PHARMA-A trial (a nationwide research project 'Programme Hospitalier de Recherche Clinique'), and (ii) data from patients treated at Robert Debré University Hospital, whose samples were drawn during routine therapeutic monitoring. The research was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and the French Good Clinical Practice Guidelines.

The study PHARMA-A was registered in Clinicaltrials.gov (NCT01344512). It was approved by the regional Ethics Committee (Comité de Protection des Personnes Sud-Ouest et Outre-Mer III, protocol no. 2010/116) and signed informed consent was obtained from both parents. Additional assent was obtained from children aged >6 years, if appropriate. Inclusion criteria were as follows: children aged 28 days–11 years, receiving ciprofloxacin for a medical indication.

The use of monitoring data was validated by our local Ethics Board (CEERB-RD 2012/221). Children treated with ciprofloxacin at the Robert Debré Hospital were included if monitoring was performed as a routine examination.

### Ciprofloxacin administration and blood sampling

Ciprofloxacin dosage administered in the PHARMA-A study and currently used in medical care is 30 mg/kg/day intravenously, in two (q12h) or three divided doses (q8h) according to the physician's discretion as mentioned in the marketing authorization.

In the prospective study, the number of samples drawn varied according to the age groups, and time for collection was randomized as follows: two samples in patients aged <2 years drawn at 0.5 and 4 h, or at 1 and 12 h after administration; three samples in patients between 2 and 11 years drawn at 0.5, 2 and 8 h, or at 1, 4 and 12 h after administration. The following covariates were collected: age, sex, underlying disease, type of infection, ciprofloxacin treatment modalities (start date, dose and route of administration), biochemical parameters, bacteriological cultures and associated therapies.

Samples for clinically indicated drug monitoring were drawn at the end of administration (peak concentration,  $n = 20$ ), immediately prior to the next administration (residual concentration,  $n = 29$ ) or between two administrations in a small number of cases ( $n = 11$ ). Information on dosage, mode of administration (start date, route, time of sampling, age, weight, etc.) were requested on the monitoring form. Additional patient characteristics and associated therapies were collected retrospectively from the medical charts.

### Analytical assay methods for ciprofloxacin and creatinine

Ciprofloxacin samples collected in dry tubes were analysed centrally at the Department of Clinical Pharmacology, Robert Debré Hospital, using two analytical methods: (i) HPLC with spectrofluorometric detection (excitation 278 nm, emission 445 nm) as described by Payen *et al.*<sup>5</sup> during the first period; the method was then changed to (ii) HPLC/MS with ciprofloxacin-d8 as the internal standard, as described by Grondin *et al.*<sup>12</sup> We had previously demonstrated with 32 samples that both methods were equivalent using the Bland–Altman method (Figure S1, available as Supplementary data at JAC Online). Data were imported into R software or Excel for exploratory

analyses and formatted for subsequent modelling using NONMEM version 7.2 (Icon Development Solutions, Ellicott City, MD, USA).

Serum creatinine concentrations were measured by an adapted Jaffé method using the Architect C system (Abbott Diagnostics, IL, USA).

### Population pharmacokinetic analysis

Pharmacokinetic analysis was carried out using the non-linear mixed effects modelling program NONMEM V 7.2 (Icon Development Solutions) with the gfortran V 4.6.0 compiler. A first-order conditional estimation method with interaction option was used to estimate pharmacokinetic parameters and their variability. One- and two-compartment models with first-order elimination were tested to estimate clearance, central volume of distribution (V1), peripheral volume of distribution (V2) and intercompartmental clearance (Q) using the ADVAN subroutines.

Interindividual variability was best described with an exponential model and was expressed as follows:

$$\theta_i = \theta_{\text{mean}} * e^{\eta_i}$$

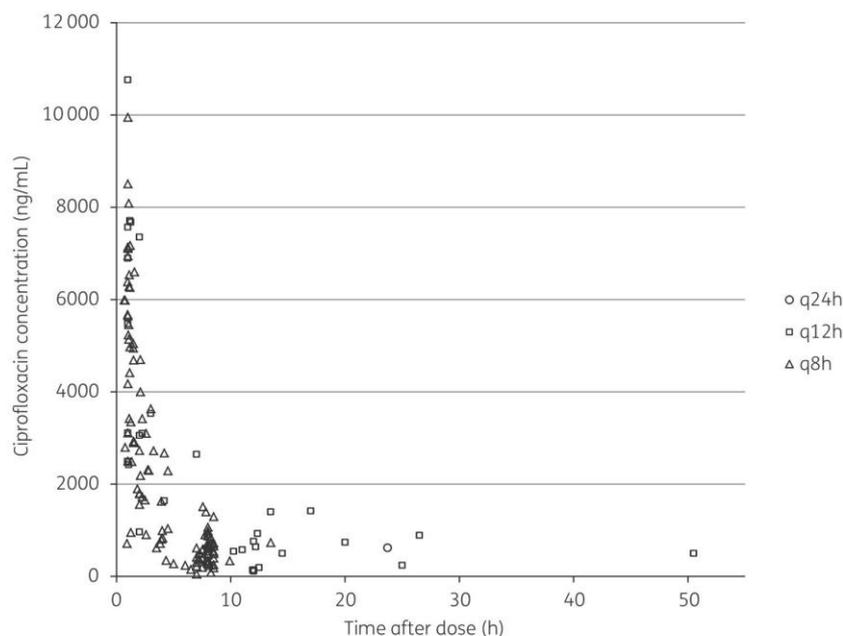
where  $\theta_i$  represents the parameter value of the  $i^{\text{th}}$  subject,  $\theta_{\text{mean}}$  the typical value of the parameter in the population and  $\eta_i$  the variability between subjects, which is assumed to follow a normal distribution with a mean of 0 and variance  $\omega^2$ . The different residual error models were tested.

The allometric size approach was tested by incorporating the current weight into the basic model (coefficients of 1 for V1 and V2, 0.75 for CL and Q). Covariate analysis followed a forward and backward selection process. Covariates with >20% of missing values were not included in the pharmacokinetic analysis (Table S1). The following continuous and categorical covariates were tested: demographic covariates (weight, age), clinical covariates (co-medications, underlying disease and factor of severity) and biological covariates (haemoglobin, serum creatinine concentration, serum protein concentration, leucocyte counts). The likelihood ratio test was used to test the effect of each variable on model parameters. During the first step of covariate model building, a covariate was included if a significant ( $P < 0.05$ ,  $\chi^2$  distribution with one degree of freedom) decrease (reduction >3.84) in the objective function value (OFV) from the basic model was obtained. All the significant covariates were then added simultaneously into a 'full' model. Subsequently, each covariate was independently removed from the full model. If the increase in the OFV was >6.635 ( $P < 0.01$ ,  $\chi^2$  distribution), the covariate was considered significantly associated with the pharmacokinetic parameter and was therefore retained in the final model.

Validation of the final model was based on graphical and statistical methods. Goodness of fit was assessed by population and individual predicted (PRED and IPRED respectively) versus observed concentrations (DV), conditional weighted residuals (CWRES) versus PRED and time. Prediction-corrected visual predictive check (pc-VPC) and normalized prediction distribution errors (NPDE) were performed by using simulated concentrations of 1000 virtual datasets from the final model. Then, the stability and performance of the final model was also assessed by means of a non-parametric bootstrap with re-sampling and replacement. Re-sampling was repeated 1000 times and the values of estimated parameters from the bootstrap procedure were compared with those estimated from the original data set. The 2.5th and 97.5th percentiles of the mean population pharmacokinetic parameters were regarded as the lower and upper 95% CI limits.

### Dosing regimen optimization

Monte Carlo simulations were performed using the parameter estimates of the final model. The optimal dosing regimen aimed to obtain a target AUC/MIC value of 125 at steady-state in at least 80% of patients. Different dosing regimens were simulated in the different subgroups of patients. One thousand simulations were performed using the original dataset and AUC



**Figure 1.** Serum ciprofloxacin concentrations versus time. Concentrations were measured in patients receiving ciprofloxacin every 24, 12 or 8 h.

at steady-state was calculated for each simulated patient. The target attainment rate was then calculated for each dosing regimen to define the optimal regimen in the different groups. The selection of MIC breakpoints, used the EUCAST database.<sup>13</sup>

## Results

### Population characteristics: ciprofloxacin treatment

A total of 128 samples from 60 patients treated with ciprofloxacin were available ( $n = 67$  from PHARMA-A and  $n = 61$  from the monitoring dataset obtained between January 2007 and December 2015). Patient characteristics, biological parameters, ciprofloxacin treatment and co-medications are summarized according to the study and sickle cell disease (SCD) patient status in Table S1. Patients had various underlying diseases including SCD (33%), haemopathy (25%) or CF (5%) and received ciprofloxacin for a suspected or proven infection.

Ciprofloxacin was administered intravenously at a median (range) daily dose of 30.0 mg/kg (6.5–52.0). The concentrations available for modelling are shown as a function of time in Figure 1.

### Model construction

A two-compartment model with first-order elimination best fitted the data with four parameters: CL, V1, Q and V2. Interindividual variability was best described with an exponential model and residual variability with a proportional model.

The allometric size approach, which consisted of an a priori incorporation of the current weight into the basic model, allowed a significant drop in the OFV of 85.1 points. Allometric exponents of 0.75 and 1 were fixed for CL, Q and V1 and V2 respectively.<sup>14</sup> SCD

was then identified as the most important covariate on CL, associated with a drop in the OFV ( $\Delta\text{OFV} = -16.1$ ). A further decrease was observed with the implementation of serum creatinine concentration on clearance ( $\Delta\text{OFV} = -19.3$ ). Finally, age caused a significant drop in the OFV ( $\Delta\text{OFV} = -17.5$ ). These covariates were all retained after the backward elimination process. Results of covariate analysis are presented in Table S2. Albuminaemia ( $n = 23$ ), serum C-reactive protein concentration ( $n = 33$ ), height ( $n = 34$ ) and creatinine clearance ( $n = 34$ ) were not tested as >20% of values were missing. Table 1 summarizes parameter estimates of the final model. The estimated weight-normalized CL was  $0.81 \pm 0.30$  L/h/kg (mean  $\pm$  SD); estimated mean weight-normalized volume distribution at steady-state (sum of V1 and V2) was 6.86 L/kg and depended only on the child's weight, as did the intercompartmental clearance. The  $\text{AUC}_{0-24}$  at steady-state (mean  $\pm$  SD) for the evaluated dose regimen was  $40.8 \pm 12.7$  mg·h/L. Ciprofloxacin clearance increased allometrically with current weight, showed an 89% increase in SCD, decreased with increasing creatinine concentration and increased by 0.95 L/h/kg for each year of age.

### Model evaluation

Model diagnostics showed acceptable goodness-of-fit for the final model, without prediction bias (Figure S2). In the diagnostic plots of CWRES versus time and PRED, no trends were observed (Figure S2). The median parameter estimates resulting from the bootstrap procedure closely agreed with the respective values from the final population model, indicating that the final model was stable and could re-determine the estimates of population pharmacokinetic parameters (Table 1). The NPDEs are presented

**Table 1.** Population pharmacokinetic parameters of ciprofloxacin and bootstrap results

Parameters	Full data set		Bootstraps (n = 1000)	
	final estimate	RSE <sup>a</sup> (%)	median	2.5th-97.5th percentiles
CL (L/h) = $\left(\theta_1 \times \left(\frac{WT}{20}\right)^{0.75} \times F_{SCD} \times RF\right) + F_{AGE}$				
$\theta_1$	12.4	12.8	12.3	8.6–16.3
$F_{SCD} = \theta_5^{SCD}$				
$\theta_5$	0.33	27.4	0.33	0.13–0.60
$RF = \exp\left(-\theta_6 \times \left(\frac{CREA}{23.5}\right)\right)$				
$\theta_6$	1.89	14.3	1.88	1.43–2.60
$F_{AGE} = \theta_7 \times \frac{AGE}{5.6}$				
$\theta_7$	5.28	22.9	5.33	2.60–8.10
$V1 (L) = \theta_2 \times \frac{WT}{20}$				
$\theta_2$	27.3	8.9	27.1	22.8–33.0
$Q (L/h) = \theta_3 \times \left(\frac{WT}{20}\right)^{0.75}$				
$\theta_3$	5	20.2	5.2	3.1–7.8
$V2 (L) = \theta_4 \times \frac{WT}{20}$				
$\theta_4$	110	37.0	111	35–294
Interindividual variability (%)				
$\omega_{CL}$	26.8	29.0	25.7	7.3–32.1
Residual variability (%)				
$\sigma_P$	37.3	15.3	36.7	30.9–44.9

<sup>a</sup>RSE, relative standard error.

in Figure S3. NPDE distribution and histograms were consistent with the theoretical N (0, 1) distribution and density, indicating a good fit of the model to the individual data. The mean and variance of the NPDE were 0.0347 (Wilcoxon signed-rank test,  $P = 0.71$ ) and 1.053 (Fisher variance test,  $P = 0.77$ ), respectively. The residuals also had a normal distribution ( $P = 0.06$ ) with no trend function of time and concentration, indicating good fit of the model to individual data.

The pc-VPC shown in Figure S4 reveals that the prediction-corrected concentrations observed were consistent with the concentrations simulated by the model.

### Dosing regimen optimization

The dosing regimen of 30 mg/kg/day (recommended in the marketing authorization for infectious bronchitis in patients with CF, pyelonephritis, and severe infections in paediatric patients) was tested first: 100%, 46.1% and 1.2% of patients with SCD versus 100%, 86.4% and 17.5% of non-SCD patients reached the target of AUC/MIC >125 when 0.06 mg/L, 0.25 and 0.5 mg/L MIC breakpoints, respectively, were tested. A dose of 45 mg/kg/day was required to ensure that >80% of patients with SCD would achieve the target AUC ratio for Enterobacteriaceae (MIC breakpoint of 0.25 mg/L).<sup>13</sup>

The target attainment rates as a function of dose in the presence or absence of SCD were calculated for the three MIC susceptibility breakpoints of 0.06, 0.25 and 0.5 mg/L. For a given MIC, the percentage of patients attaining the target was lower in patients with SCD than in non-SCD children, when treated with the same dose. Monte Carlo simulations classified by pathology are presented in Figure 2. The different dosages needed to allow 80% of SCD and non-SCD patients to exceed the AUC/MIC target and

function of age groups defined by the WHO are summarized in Table 2. These show that in patients with SCD aged 2–12 years, the doses needed to reach the pharmacological target are higher than in the other age groups, irrespective of the MIC.

### Discussion

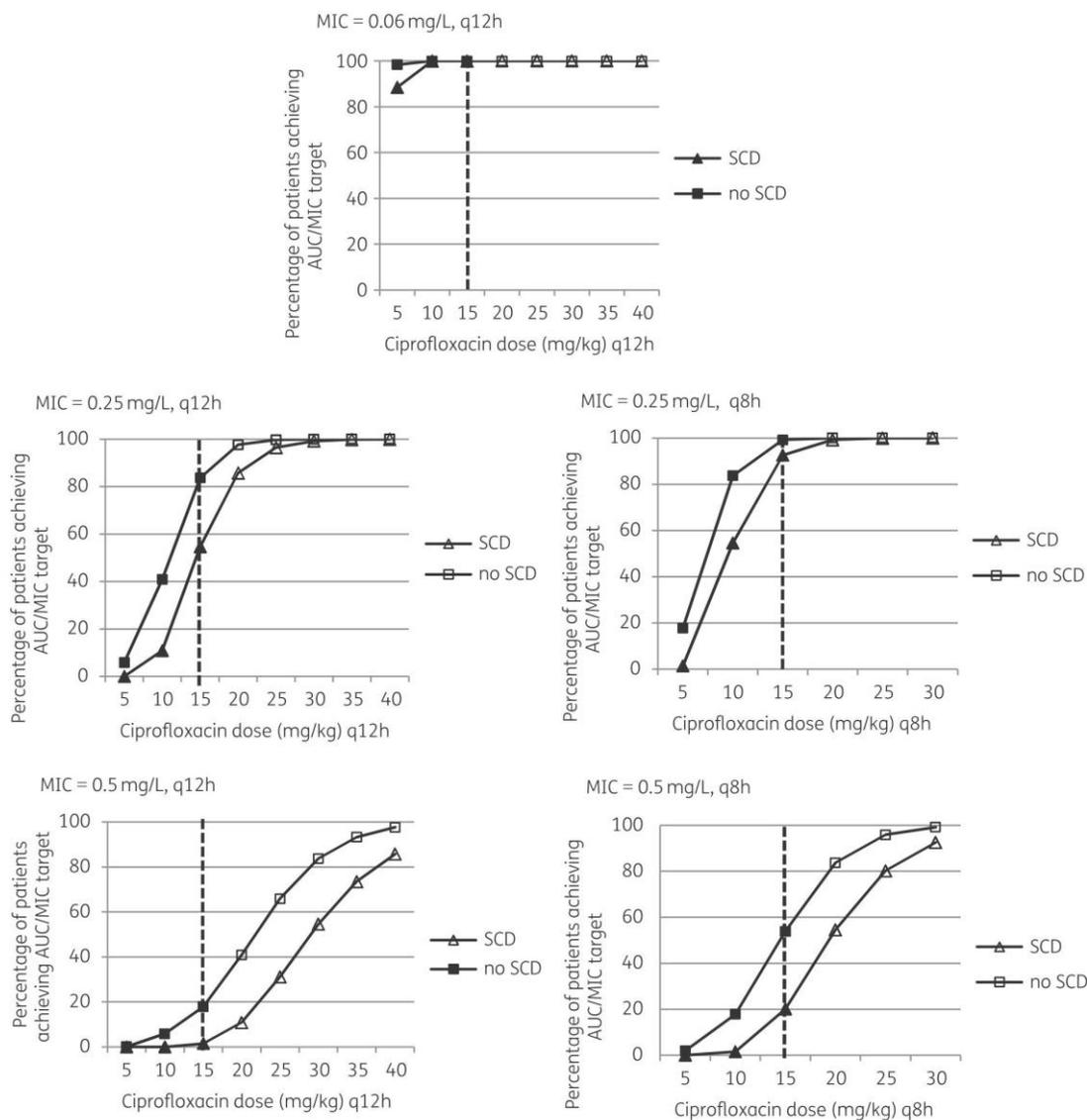
To the best of our knowledge, this is the first paediatric study focusing on the potential impact of the disease underlying an infection on ciprofloxacin pharmacokinetics. According to our results, ciprofloxacin pharmacokinetics is influenced by age, current body weight, serum creatinine concentration and for the first time, we showed that SCD had an independent impact on ciprofloxacin disposition.

In the present paediatric study, the mean ciprofloxacin clearance was 0.81 L/h/kg, a value in the range of previously reported values: 0.95 L/h/kg in 27 children (13 patients with CF) aged 2–11 years and 0.84 L/h/kg in 8 children (7 patients with CF) aged 12–24 years,<sup>5</sup> and 0.70 L/h/kg in 10 patients with CF aged 6–16 years.<sup>6</sup> These studies showed the significant impact of growth and maturation, measured by weight and/or age, on ciprofloxacin pharmacokinetics,<sup>5–8</sup> as does our study, as shown by modelling using a weight based on allometric scaling<sup>14</sup> and the impact of age on clearance.

As previously reported, we also identified renal function as a covariate, as shown by the impact of creatinine concentration on ciprofloxacin clearance.

In contrast to a neonatal population study,<sup>8</sup> co-administered drugs did not influence the pharmacokinetics of ciprofloxacin.

More importantly, our data showed that ciprofloxacin clearance was 89% greater in patients with SCD than in non-SCD patients



**Figure 2.** Monte-Carlo simulations. The target attainment rate for 1000 simulated trials with MIC values of 0.06, 0.25 and 0.5 mg/L are presented as a function of dose and groups (SCD and non-SCD patients). Filled markers represent dosages within the recommended dosage and empty markers represent higher than recommended dosages. Dotted line represents the usual dosage of 30 mg/kg/day.

(with haematological malignancies, CF, bone infection at the surgery site or without background pathology) with mean values of 1.03 and 0.70 L/h/kg, respectively.

Many pathophysiological factors, in addition to infection, may affect drug disposition in patients with SCD, including impaired renal function and organ damage, medical care and associated therapies. Renal disorders include acute renal failure and tubular dysfunction with altered urine concentration and acidification, haematuria and the so-called sickle cell nephropathy. Sickle cell

nephropathy is a specific type of renal damage that appears early in life, increases gradually up to the second decade<sup>15</sup> and results in hyperfiltration, contributing to high clearance levels of renally excreted drugs.<sup>16-18</sup> In adults, the prevalence of hyperfiltration is 66%.<sup>19</sup> Increased ciprofloxacin clearance in the sickle cell population may also be the result of increased hepatic blood flow and changes in enzyme activities,<sup>20,21</sup> as suggested by the increase in morphine clearance in patients with SCD.<sup>22</sup> Chronic inflammation, a consequence of sickle cell anaemia, may induce drug

**Table 2.** Dose regimen required to attain the pharmacological target according to the MIC, SCD status and age group

MIC	Dose (mg/kg/day)			
	<2 years	2–6 years	6–12 years	>12 years
0.06 mg/L				
no SCD	10	10	10	10
SCD	10	15	15	10
0.25 mg/L				
no SCD	30	30	40	30
SCD	40	45	45	37.5
0.5 mg/L				
no SCD	55	60	70	60
SCD	80	90	90	75

metabolism, or modify circulating plasma proteins, drug binding and distribution,<sup>20</sup> as suggested by the shorter codeine half-life in patients with SCD compared with unaffected patients.<sup>23</sup>

The rapid and effective administration of anti-infective agents remains a major challenge in infected SCD children<sup>24</sup> and clinicians may be forced to use ciprofloxacin. According to its high clearance, dosage adaptation is required and we selected three MIC susceptibility breakpoints to perform dosage simulations for the most frequent microorganisms:<sup>25,26</sup> *Pseudomonas aeruginosa* (MIC 0.5 mg/L), Enterobacteriaceae (MIC 0.25 mg/L) and *Salmonella* spp. (MIC 0.06 mg/L),<sup>13</sup> targeting an AUC/MIC ratio >125, which is the best surrogate pharmacokinetic/pharmacodynamic relationship<sup>4</sup> and is used both in adults and children.<sup>27</sup> According to simulations, the doses of ciprofloxacin currently used in children are only adapted to susceptible microorganisms with a low MIC, but are too low to reach the recommended AUC/MIC target >125 required for efficacy against organisms with high MICs.

Our study has some limitations. Owing to its potential toxicity, ciprofloxacin has limited indications in children with suspected or proven infection and we had to combine two different datasets to reach a number of patients sufficient to develop a population pharmacokinetic model. For this reason, the external validation of the model was not an aim of our study and similar to most paediatric studies, only internal validation was performed and gave satisfactory results.

We have developed a ciprofloxacin pharmacokinetic model in children with suspected or proven infection, showing that clearance is higher in SCD than in non-SCD patients and the daily dose should be increased in these patients to reach the recommended AUC/MIC target of >125. However, to avoid the potential dose-dependent toxicities of ciprofloxacin,<sup>3,28–31</sup> it should only be used against susceptible bacteria with a low MIC. Increasing the doses for organisms with potentially higher MICs should be avoided in the absence of a safety evaluation and it is highly recommended to select another antibiotic or, at least, to monitor ciprofloxacin exposure.

## Acknowledgements

We thank the teams of the Center of Methodology and Data Management, Department of Pharmacology (Prof. Nicolas Moore CHU

Pellegrin), the Centers for Sickle Cell Disease in Bordeaux (CHU Pellegrin) and Paris (CHU Robert Debré) for participating in the study. We are also grateful to all children and their families, who consented to participate.

## Funding

This study was supported by a grant from the national French programme, PHRC (Programme Hospitalier de Recherche Clinique) 2010.

## Transparency declarations

None to declare.

## Supplementary data

Tables S1 and S2 and Figures S1 to S4 appear as Supplementary data at JAC Online.

## References

- 1 Bayer Healthcare. *Summary of Product Characteristics—CIFLOX®*. <https://www.vidal.fr/>.
- 2 Adefurin A, Sammons H, Jacqz-Aigrain E et al. Ciprofloxacin safety in paediatrics: a systematic review. *Arch Dis Child* 2011; **96**: 874–80.
- 3 Burkhardt JE, Hill MA, Carlton WW et al. Histologic and histochemical changes in articular cartilages of immature beagle dogs dosed with difloxacin, a fluoroquinolone. *Vet Pathol* 1990; **27**: 162–70.
- 4 Forrest A, Nix DE, Ballow CH et al. Pharmacodynamics of intravenous ciprofloxacin in seriously ill patients. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; **37**: 1073–81.
- 5 Payen S, Serreau R, Munck A et al. Population pharmacokinetics of ciprofloxacin in pediatric and adolescent patients with acute infections. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; **47**: 3170–8.
- 6 Schaefer HG, Stass H, Wedgwood J et al. Pharmacokinetics of ciprofloxacin in pediatric cystic fibrosis patients. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; **40**: 29–34.
- 7 Rajagopalan P, Gastonguay MR. Population pharmacokinetics of ciprofloxacin in pediatric patients. *J Clin Pharmacol* 2003; **43**: 698–710.
- 8 Zhao W, Hill H, Le Guellec C et al. Population pharmacokinetics of ciprofloxacin in neonates and young infants less than three months of age. *Antimicrob Agents Chemother* 2014; **58**: 6572–80.
- 9 Peltola H, Ukkonen P, Saxén H et al. Single-dose and steady-state pharmacokinetics of a new oral suspension of ciprofloxacin in children. *Pediatrics* 1998; **101**: 658–62.
- 10 Peltola H, Väärälä M, Renkonen OV et al. Pharmacokinetics of single-dose oral ciprofloxacin in infants and small children. *Antimicrob Agents Chemother* 1992; **36**: 1086–90.
- 11 Thuo N, Ungphakorn W, Karisa J et al. Dosing regimens of oral ciprofloxacin for children with severe malnutrition: a population pharmacokinetic study with Monte Carlo simulation. *J Antimicrob Chemother* 2011; **66**: 2336–45.
- 12 Grondin C, Zhao W, Fakhoury M et al. Determination of ciprofloxacin in plasma by micro-liquid chromatography-mass spectrometry: an adapted method for neonates. *Biomed Chromatogr* 2011; **25**: 827–32.
- 13 EUCAST. *Clinical Breakpoints*. [http://www.eucast.org/clinical\\_breakpoints/](http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/).
- 14 Anderson BJ, Holford NHG. Mechanism-based concepts of size and maturity in pharmacokinetics. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2008; **48**: 303–32.
- 15 Ware RE, Rees RC, Sarnaik SA et al. Renal function in infants with sickle cell anemia: baseline data from the BABY HUG trial. *J Pediatr* 2010; **156**: 66–70.e1.

- 16 Becker AM. Sickle cell nephropathy: challenging the conventional wisdom. *Pediatr Nephrol* 2011; **26**: 2099–109.
- 17 Saborio P, Scheinman JI. Sickle cell nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 1999; **10**: 187–92.
- 18 Abusham AA, Mohammed AH, Alkindi SS *et al*. Sub-optimal serum gentamicin concentrations in sickle cell disease patients utilizing the Hartford protocol. *J Clin Pharm Ther* 2012; **37**: 212–6.
- 19 Haymann J-P, Stankovic K, Levy P *et al*. Glomerular hyperfiltration in adult sickle cell anemia: a frequent hemolysis associated feature. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010; **5**: 756–61.
- 20 Gremse DA, Fillingim E, Hoff CJ *et al*. Hepatic function as assessed by lidocaine metabolism in sickle cell disease. *J Pediatr* 1998; **132**: 989–93.
- 21 Nagar S, Remmel RP, Hebbel RP *et al*. Metabolism of opioids is altered in liver microsomes of sickle cell transgenic mice. *Drug Metab Dispos* 2004; **32**: 98–104.
- 22 Darbari DS, Neely M, van den Anker J *et al*. Increased clearance of morphine in sickle cell disease: implications for pain management. *J Pain* 2011; **12**: 531–8.
- 23 Mohammed SS, Ayass M, Mehta P *et al*. Codeine disposition in sickle cell patients compared with healthy volunteers. *J Clin Pharmacol* 1993; **33**: 811–5.
- 24 Morrissey BJ, Bycroft TP, Almosawi O *et al*. Incidence and predictors of bacterial infection in febrile children with sickle cell disease. *Hemoglobin* 2015; **39**: 316–9.
- 25 Magnus SA, Hambleton IR, Moosdeen F *et al*. Recurrent infections in homozygous sickle cell disease. *Arch Dis Child* 1999; **80**: 537–41.
- 26 Adamkiewicz TV, Sarnaik S, Buchanan GR *et al*. Invasive pneumococcal infections in children with sickle cell disease in the era of penicillin prophylaxis, antibiotic resistance, and 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccination. *J Pediatr* 2003; **143**: 438–44.
- 27 *Guideline on the Evaluation of Medicinal Products Indicated for Treatment of Bacterial Infections*. [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2009/09/WC500003417.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003417.pdf).
- 28 Heidelbaugh JJ, Holmstrom H. The perils of prescribing fluoroquinolones. *J Fam Pract* 2013; **62**: 191–7.
- 29 Bradley JS, Jackson MA; Committee on Infectious Diseases; American Academy of Pediatrics. The use of systemic and topical fluoroquinolones. *Pediatrics* 2011; **128**: e1034–e1045.
- 30 Grady R. Safety profile of quinolone antibiotics in the pediatric population. *Pediatr Infect Dis J* 2003; **22**: 1128–32.
- 31 Binz J, Adler CK, So T-Y. The risk of musculoskeletal adverse events with fluoroquinolones in children: what is the verdict now? *Clin Pediatr (Phila)* 2016; **55**: 107–10.

## **V. Etude n°3 – Etude pharmacocinétique de population du céfotaxime chez l'enfant drépanocytaire**

### **A. Contexte**

---

Le céfotaxime est également un antibiotique de la famille des C3G. Son mécanisme d'action et les mécanismes de résistance sont similaires à ceux de la ceftazidime. C'est un antibiotique largement employé dans la population pédiatrique en raison de son large spectre d'activité et de son profil de tolérance. Son spectre d'activité antibactérienne, similaire à celui de la ceftazidime, diffère par son activité moindre sur le *Pseudomonas aeruginosa* et son activité accrue sur les Staphylocoques sensibles à la méticilline, *le staphylococcus epidermidis* et le pneumocoque (Brogden et al. 1997).

Le céfotaxime s'administre par voie IV ou IM et se distribue largement dans les tissus de l'organisme. Sa fixation aux protéines plasmatiques représente 27 à 38%, principalement sur l'albumine. Il est partiellement métabolisé en 3 métabolites dont un possédant une activité antibactérienne, le desacetyl-céfotaxime. En effet, il agit en synergie contre certains agents pathogènes, notamment les entérobactéries, les bactéroïdes et les staphylocoques (Carmine et al. 1983). Environ 60% de la dose est excrétée dans l'urine sous forme inchangée et 24% sous forme de désacétyl-céfotaxime.(Carmine et al. 1983). Une faible partie est également éliminée par voie biliaire (environ 10%) (Jehl et al. 1987). Dans les études pédiatriques, l'influence de la fonction rénale, du poids et de l'âge sur la pharmacocinétique du céfotaxime a été décrite (Ahsman et al. 2010 ; Leroux et al. 2016 ; Béranger et al. 2018 ; Hartman et al. 2019).

Le céfotaxime a généralement été bien toléré par les adultes et les enfants après une injection intraveineuse ou intramusculaire. Les effets indésirables les plus fréquemment rapportés ont été des troubles gastro-intestinaux légers, un prurit, des éruptions cutanées et une phlébite (Carmine et al. 1983 ; Brogden et al. 1997).

Le céfotaxime est fréquemment prescrit chez les patients pédiatriques atteints de drépanocytose, une maladie génétique caractérisée par des complications vaso-occlusives, une anémie hémolytique chronique et une fonction immunitaire altérée prédisposant aux infections sévères.

## **B. Résumé de l'étude**

---

**Objectifs. Les données de pharmacocinétique du céfotaxime dans la population pédiatrique drépanocytaire sont inexistantes. Nous avons donc déterminé la pharmacocinétique du céfotaxime chez les enfants atteints de drépanocytose et effectué des simulations de Monte-Carlo pour proposer un schéma posologique spécifique pour cette population.**

Méthode. Cette étude prospective monocentrique a été réalisée dans le cadre du projet PK-Drep au sein de l'hôpital Robert Debré. Les critères d'inclusion étaient : patient âgé de 1 mois à 19 ans avec un génotype SCD documenté, présentant de la fièvre et nécessitant du céfotaxime sur décision médicale selon les recommandations nationales. Les concentrations sériques de céfotaxime ont été mesurées chez 78 patients pédiatriques drépanocytaires recevant du céfotaxime à une dose quotidienne de 200 mg/kg en trois ou quatre perfusions intraveineuses de 30 minutes. 107 concentrations étaient disponibles pour l'analyse pharmacocinétique.

Résultats. Les données ont été décrites par un modèle monocompartimental avec élimination de premier ordre. Le volume de distribution et la clairance étaient respectivement de 0,42 L/kg et 0,38 L/h/kg et augmentaient allométriquement avec le poids. La clairance du céfotaxime a montré une augmentation de 22% chez les patients présentant un syndrome thoracique aigu.

Ce que l'étude a apporté. Une dose de 100 mg/kg/6h doit être utilisée dans cette population pour que plus de 80% des enfants atteignent la cible pharmacologique (80% T>CMI) pour des CMI inférieures ou égales à 1 mg/L.

### **C. *Publication 3***

---

Les résultats de ce travail ont fait l'objet d'une publication dans le journal *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* en 2018. La figure supplémentaire est disponible en annexe. L'article est présenté ci-dessous :



## Population Pharmacokinetics of Cefotaxime and Dosage Recommendations in Children with Sickle Cell Disease

Elsa Maksoud,<sup>a</sup> Berengere Koehl,<sup>b,c</sup> Aude Facchin,<sup>a</sup> Phuong Ha,<sup>a</sup> Wei Zhao,<sup>a</sup> Florentia Kaguelidou,<sup>a,d,f</sup> Malika Benkerrou,<sup>b</sup> Patricia Mariani,<sup>e</sup> Albert Faye,<sup>c,f</sup> Mathie Lorrot,<sup>c,f\*</sup> Evelyne Jacqz-Aigrain<sup>a,d,f</sup>

<sup>a</sup>Department of Pediatric Pharmacology and Pharmacogenetics, Hôpital Robert Debré, APHP, Paris, France

<sup>b</sup>Department of Hematology, Reference Center for Sickle Cell Disease, Hôpital Robert Debré, APHP, Paris, France

<sup>c</sup>Department of Pediatrics, Hôpital Robert Debré, APHP, Paris, France

<sup>d</sup>Clinical Investigation Center (CIC1426), Hôpital Robert Debré, APHP, Paris, France

<sup>e</sup>Department of Microbiology, Hôpital Robert Debré, APHP, Paris, France

<sup>f</sup>University Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, Paris, France

**ABSTRACT** The pharmacokinetic profile of most drugs is dependent on the patient's covariates and may be influenced by the disease. Cefotaxime is frequently prescribed in pediatric patients with sickle cell disease (SCD), characterized by vaso-occlusive complications, chronic hemolytic anemia, and a defective immunological function predisposing the individual to severe infection. Data on the impact of the disease on the disposition of cefotaxime are missing. In the present study, our aims were to determine cefotaxime pharmacokinetics when prescribed to children with SCD for suspected or proven bacterial infection, identify significant covariates, and perform Monte Carlo simulations to optimize the drug dosage. Cefotaxime serum concentrations were measured in 78 pediatric SCD patients receiving cefotaxime intravenously at a daily dose of 200 mg/kg of body weight in three or four divided doses over 30 min. A total of 107 concentrations were available for pharmacokinetic analysis. A population pharmacokinetic model was developed with NONMEM software and used for Monte Carlo simulations. Cefotaxime concentrations ranged from 0.05 to 103.7 mg/liter. Cefotaxime pharmacokinetics were best described by a one-compartment model: the median estimated weight-normalized volume of distribution and clearance were 0.42 liter/kg (range, 0.2 to 1.1 liter/kg) and 0.38 liter/h/kg (range, 0.1 to 1.2 liter/h/kg). Cefotaxime clearance increased by 22% in patients with acute chest syndrome. Dosing optimization, performed using EUCAST MIC susceptibility breakpoints, showed that a dose of 100 mg/kg/6 h should be used, depending on the patient's characteristics and clinical presentation, in order to reach a value of the percentage of time that the drug concentration exceeded the MIC under steady-state pharmacokinetic conditions of 80% in 80% of the patients when targeting sensitive Gram-positive cocci and Gram-negative bacilli with MICs of 1 mg/liter or below.

**KEYWORDS** Monte Carlo simulation, cefotaxime, dosage adaptation, pediatrics, population pharmacokinetics, sickle cell disease

Sickle cell disease (SCD) is one of the most frequent genetic diseases worldwide and is classified as a major health problem by the World Health Organization (WHO) (1) and the United Nation (UN) (2). It is an autosomal recessive hemoglobinopathy due to a single nucleotide mutation in the  $\beta$ -globin gene resulting in the production of abnormal hemoglobin (Hb), HbS. SCD is characterized by vaso-occlusive complications, chronic hemolytic anemia, splenic dysfunction, and defective immunological function predisposing the individual to severe infection (3). The management of the infection risk is a major issue in SCD patients. Indeed, complications of infection remain one of

Received 28 March 2017 Returned for modification 11 June 2017 Accepted 7 January 2018

Accepted manuscript posted online 29 January 2018

**Citation** Maksoud E, Koehl B, Facchin A, Ha P, Zhao W, Kaguelidou F, Benkerrou M, Mariani P, Faye A, Lorrot M, Jacqz-Aigrain E. 2018. Population pharmacokinetics of cefotaxime and dosage recommendations in children with sickle cell disease. *Antimicrob Agents Chemother* 62:e00637-17. <https://doi.org/10.1128/AAC.00637-17>.

**Copyright** © 2018 American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Address correspondence to Evelyne Jacqz-Aigrain, [evelyne.jacqzaigrain@gmail.com](mailto:evelyne.jacqzaigrain@gmail.com).

\* Present address: Mathie Lorrot, Department of Pediatrics, Hôpital Trousseau, APHP, Paris, France.

E.M. and B.K. contributed equally to this article.

the main causes of death, particularly in children under 5 years of age. Increased susceptibility to invasive bacterial infections is related to several factors, including dysfunctional antibody production and opsonophagocytosis, as well as defective splenic clearance (4). Before 2 years of age, invasive infections in SCD patients are mainly due to *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae*, whereas after 2 years of age the most frequently germs are minor salmonellae (5, 6). In children with SCD, the early initiation of a probabilist antibiotherapy, as the bacterium responsible for the infection is not known, is recommended (7, 8). Third-generation cephalosporins, such as cefotaxime, are usually prescribed because of their efficacy against *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, and *Salmonella* spp., but in the absence of specific dosage recommendations, a standard dose is used in SCD patients.

Data on the pharmacokinetics (PK) of most drugs, including antibiotics, in SCD patients are lacking. As the clinical presentation and early changes in renal and hepatic functions may impact the drug disposition, the aim of this study was to define the population pharmacokinetic parameters and the variability in the pharmacokinetics of cefotaxime in order to optimize the dosage in children with SCD.

## RESULTS

**Study population.** Eighty patients fulfilled the inclusion and exclusion criteria and were included in the study from September 2013 to October 2014.

Patients were aged 1.1 to 18.7 years and weighed 9.5 to 80.2 kg (neither characteristic was normally distributed by the Shapiro-Wilk test [ $P < 0.01$ ]). When data on height were missing, height was calculated on the basis of weight and age, which was done for 27 patients. Cefotaxime treatment was started on the appearance of clinical symptoms of fever in all patients. Twenty-three patients had fever without concomitant vaso-occlusive complications. Thirty-three patients had a concomitant extrathoracic vaso-occlusive crisis (VOC), and 22 patients had acute chest syndrome (ACS). Bacterial infections caused by *Escherichia coli* ( $n = 2$ ) and a *Salmonella* sp. ( $n = 1$ ) were confirmed in three patients. No adverse effects attributed to cefotaxime and no discontinuation of treatment occurred. All patients were hyperhydrated with an intravenous infusion of polyionic solution (2 liters/m<sup>2</sup>/24 h). Some children were concomitantly treated with acetaminophen, morphine, hydroxycarbamide, nalbuphine, and/or nonsteroidal anti-inflammatory drugs. The patients' characteristics are presented Table 1.

**Model building.** A total of 110 blood samples were collected: 107 blood samples from 78 patients were drawn prior to the next administration (residuals  $n = 42$ ) or between 0 and 4 h ( $n = 57$ ) or 4 and 12 h ( $n = 8$ ) after drug administration and were included in the model building. Three samples with concentrations with very low values (0.004, 0.646, and 0.673 mg/liter) within 2 h of administration were excluded, as they were incompatible with correct intravenous drug administration and/or information on the sampling time was missing. Cefotaxime concentrations ranged from 0.05 to 103.7 mg/liter. Three concentrations (2.8%) below the lower limit of quantitation (LLOQ) were replaced by a value of 0.05 mg/liter (the LLOQ/2 method). The profiles of the concentrations versus time after dosing are shown in Fig. S1 in the supplemental material.

A one-compartment model with first-order elimination fitted the data, as the objective function value (OFV) and residual variability of the one-compartment were lower than those of the two-compartment model. The model was parameterized in terms of the volume of distribution ( $V$ ) and clearance (CL). Interindividual variability was best described by an exponential model and was estimated for CL. A proportional model best described the residual variability.

**Covariate analysis.** The allometric size approach was tested by incorporating weight into the basic model (coefficients of 0.75 for CL and of 1 for  $V$ ), which caused a significant drop in the OFV of 25.7 points (9). However, incorporating weight as a covariate generated a drop of 31.8 points, and the latter model was selected. ACS was identified to be the most important covariate on CL and was associated with a drop of the OFV of 9.4 points. A further decrease of 4 points in the OFV was obtained by

**TABLE 1** Patient demographics, characteristics, and treatment with cefotaxime

Characteristic	Value(s)	Mean (SD)	Median (range)
Total no. of patients	78		
No. of male/no. of female patients	47/31		
Age (yr)		9.4 (5.5)	9.6 (1.1–18.7)
Wt (kg)		29.9 (16.8)	25 (9.5–80.2)
Ht (cm)		1.3 (0.3)	1.3 (0.7–1.8)
No. of patients with the following SCD genotype:			
Hb SS	73		
Hb S $\beta^0$ -thal	4		
Hb SC	1		
No. of patients with the following type of infection:			
Suspected infection site	29		
Documented bacterial infection	3		
Sepsis	1		
No. of patients with the following severity of SCD:			
Only fever	23 (27 <sup>a</sup> )		
VOC	33 (48 <sup>a</sup> )		
ACS	22 (32 <sup>a</sup> )		
Biochemistry			
Hematocrit (%)		24.72 (4.03)	25 (16.2–33.7)
Hemoglobin concn (g/dl)		8.69 (1.39)	8.8 (5.4–11.4)
CRP (mg/liter)		113.4 (87.4)	94 (5–400)
Total protein concn (g/liter)		73.6 (7.4)	73 (59–89)
Serum creatinine concn ( $\mu$ mol/liter)		26.9 (9.4)	24.5 (12–66)
Creatinine CL (ml/min/1.73 m <sup>2</sup> )		255.4 (69.6)	238.0 (134.5–464.6)
Cefotaxime treatment			
Dose (mg/dose)		1,396.2 (820.0)	1,050 (400–4,000)
Dose (mg/kg/24 h)		184.3 (36.2)	193.7 (60–333.3)
			2.0 (0.3–9.6)
Treatment duration (days)		2.7 (2.0)	
No. of patients with the following no. of PK samples per patient			
1	54		
2	19		
3	5		
No. of samples obtained through:			
Blood transfusion	48		
Transfusion exchange	8		
Hyperhydration	106		
No. of samples obtained under different comedications			
Acetaminophen	102		
NSAID <sup>b</sup>	5		
Hydroxyurea	50		
Inotropic agents	0		
Morphine	57		
Nalbuphine	46		

<sup>a</sup>The number of samples under the different clinical conditions.

<sup>b</sup>NSAID, nonsteroidal anti-inflammatory drugs.

incorporating the total protein concentration in the forward selection process. However, this covariate was not retained in the final model because of its high relative standard error (RSE) of 50%.

In the backward selection process, weight and ACS were retained as covariates. A detailed presentation of the covariate analysis results is presented in Table 2.

Estimates of the values of the parameters in the final pharmacokinetic model are summarized in Table 3. The median estimated weight-normalized  $V$  and CL were 0.42 liter/kg (range, 0.2 to 1.1 liter/kg) and 0.38 liter/h/kg (range, 0.1 to 1.2 liter/h/kg), respectively. Cefotaxime clearance increased with the incidence of ACS by 22%.

**TABLE 2** Summary of covariate analysis and selection process<sup>a</sup>

Characteristic	OFV	IIV for CL (%)	Residual variability (%)
Structural model with V and CL	446.8	26.9	52.2
Allometric model	421.1	26.6	45.5
Model with wt	<b>415.1<sup>b</sup></b>	<b>24.9</b>	<b>46</b>
Impact of demographic characteristics on CL			
Sex	413.9		
Age	414.9		
Ht	415.1		
SCD genotype	414.5		
Impact of clinical variables on CL			
ACS	<b>405.7</b>	<b>24.1</b>	<b>44.5</b>
VOC	414.3		
Impact of renal function on CL			
Serum creatinine concn	<b>409.4</b>		
Creatinine clearance	411.9		
Impact of biological variables on CL			
Hematocrit (%)	414.4		
Hemoglobin (g/dl)	415.5		
CRP (mg/liter)	415.9		
Total protein (g/liter)	<b>406.8</b>	<b>22.5</b>	<b>46.7</b>
Infection site	412.9		
Documented bacterial agent	415.1		
Impact of cotreatments or comedications on CL			
Blood transfusion	412.1		
Exchange transfusion	414.5		
Acetaminophen	419.7		
NSAID	419.9		
Hydroxyurea	418.5		
Morphine	419.5		
Nalbuphine	419.9		
Hyperhydration	414.9		

<sup>a</sup>OFV, objective function value; V, volume of distribution; CL, clearance; SCD, sickle cell disease; ACS, acute chest syndrome; VOC, vaso-occlusive crisis; CRP, C-reactive protein; NSAID, nonsteroidal anti-inflammatory drugs; IIV, interindividual variability.

<sup>b</sup>Values with significant improvements are indicated in bold.

**Model validation.** Model diagnostics showed an acceptable goodness of fit for the final model for cefotaxime. As shown in Fig. 1, the predictions were unbiased. In the diagnostic plots of conditional weighted residuals (CWRES) versus time and the population predicted concentration (PRED), no trends were observed. The normalized prediction distribution error (NDPE) distribution and histogram met well the theoretical  $N(0,1)$  distribution and density, indicating a good fit of the model to the individual data. The mean and variance of the NDPE were 0.04 (Wilcoxon signed-rank test,  $P = 0.89$ ) and 1.11 (Fisher variance test, 0.42), respectively.

In addition, the median parameter estimates resulting from the bootstrap procedure closely agreed with the respective values from the final population model, indicating that the final model is stable and can redetermine the estimates of the population pharmacokinetic parameters (Table 2).

The visual predictive check (VPC) of the final model is shown in Fig. 2. The outliers represented 8.41% of the data, which is acceptable according to the 10% limit. The VPC confirmed that the average predicted concentrations matched the observed concentrations and that the variability was well estimated.

**Dosing regimen optimization.** With the prescribed median dosing regimen of 63 mg/kg of body weight three times a day (TID), 50.5%, 30.4%, and 13.1% of our pediatric population reached the target attainment of a percentage of time that the drug concentration exceeded the MIC under steady-state pharmacokinetic conditions ( $T_{MIC}$ )

**TABLE 3** Population pharmacokinetic parameters of cefotaxime and bootstrap results

Parameter	Full data set		Bootstrap result ( <i>n</i> = 1,000)	
	Final estimate	RSE <sup>a</sup> (%)	Median	5th–95th percentile
<i>V</i> (liters) for $V = \theta_1 \times (\text{wt}/25)^{\theta_3}$				
$\theta_1$	11	10.5	10.9	8.74–14.0
$\theta_3$	0.8	16.0	0.80	0.51–1.16
CL (liters/h) for $\text{CL} = \theta_2 \times (\text{wt}/25)^{\theta_4}$				
$\theta_2$	9.1	7.9	9.09	7.69–10.8
$\theta_4$	0.7	14.2	0.71	0.50–1.00
$\theta_5$ for $F_{\text{ACS}} = \theta_5^{\text{ACS}}$	1.22	4.5	1.22	1.08–1.32
Interindividual variability (%) of CL	24.1	25.3	23.3	16.3–29.1
$\sigma_p$ for residual variability (%)	44.5	20.2	44.2	35.6–53.2

<sup>a</sup>RSE, relative standard error;  $\theta_1$  to 5, constant coefficients;  $F_{\text{ACS}}$ , impact of acute chest syndrome.

of 80% for the breakpoints of MICs of 0.5, 1, and 2 mg/liter, respectively. For a  $T_{\text{MIC}}$  of 90% and with the same susceptibility breakpoints, target attainment values were 32.4%, 16.3%, and 5.6%, respectively (Table 3).

The target attainment rates as a function of dose for susceptibility breakpoints of MICs of 0.5, 1, and 2 mg/liter are shown for a  $T_{\text{MIC}}$  of 80% in Fig. 3.

For patients who were >12 years of age or who weighed >50 kg, we investigated the attainment rate (in percent) obtained with the recommended fixed dosing regimen of 1,000 or 2,000 mg four times a day (QID) compared to that obtained with the milligram-per-kilogram-based dosing regimen. The simulated dosages were 1 or 2 g QID versus 63, 75, and 100 mg/kg QID. The results are shown in Table 4.

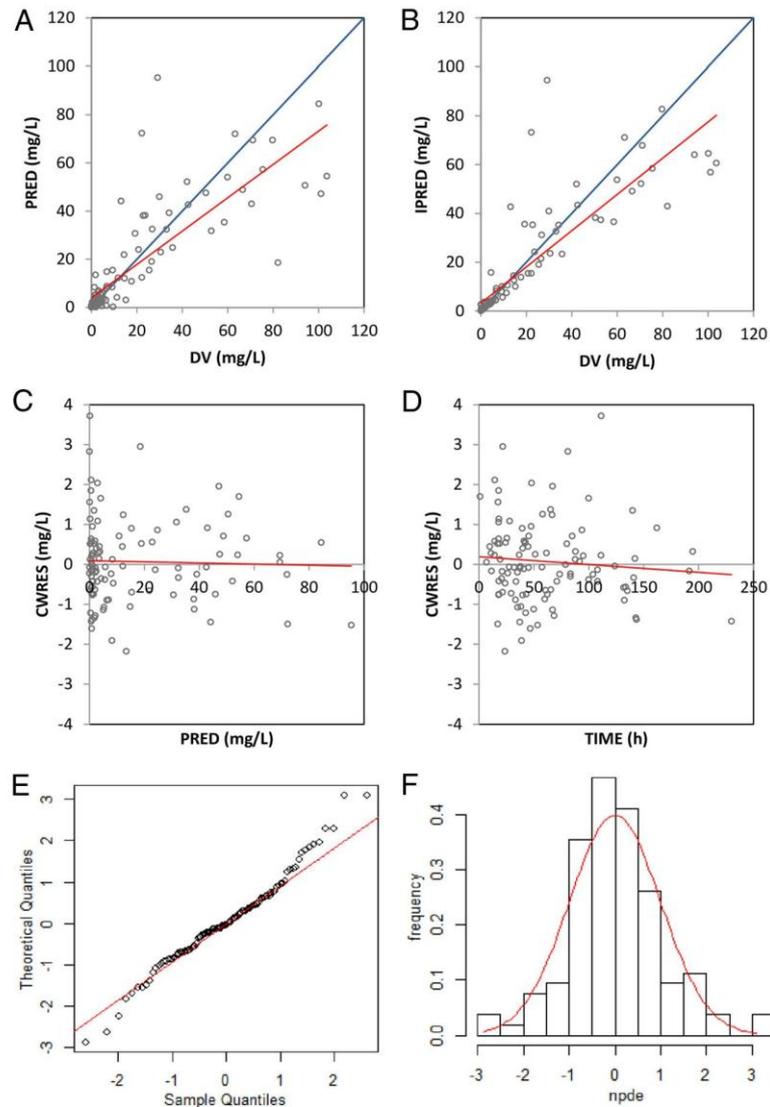
## DISCUSSION

This is the first population pharmacokinetic study of cefotaxime conducted in a homogeneous pediatric population with SCD. It was undertaken to determine the values of cefotaxime pharmacokinetic parameters and quantify the impacts of demographic, clinical, and biological factors on the disposition of cefotaxime. We demonstrated that pharmacokinetic variability is high, with a significant impact of concomitant ACS on cefotaxime clearance.

Cefotaxime has a broad antibacterial spectrum and is active against Gram-positive bacteria (10) due to its amino-thiazolyl imino-methoxy side chain (11). It penetrates cell walls and the cerebrospinal fluid (CSF) and shows high  $\beta$ -lactamase stability (12). Cefotaxime is not absorbed when administered orally and metabolized to the active desacetylcefotaxime, which retains 1/2 to 1/10 of the parent compound's antimicrobial activity (13, 14), and two other metabolites, M2 and M3. Forty to 60% of unchanged cefotaxime is excreted by the renal route (10, 15). Neither cefotaxime nor its active metabolite has shown significant side effects (11).

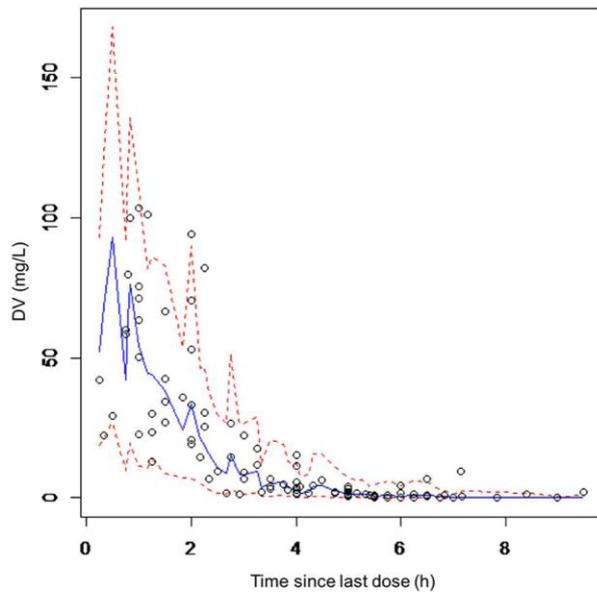
The use of this cephalosporin in neonates, older infants, and children has become increasingly popular (16). The dosage recommendation for young patients is 75 mg/kg every 8 h, resulting in serum concentrations in children effective against pathogens targeted by cefotaxime (17). For children weighing more than 50 kg and/or aged more than 12 years, it is recommended to switch to the adult regimen of 1 to 2 g every 6 or 8 h, without exceeding 12 g/day, to treat mild to moderate infections (18).

In SCD patients, many organ dysfunctions that may impact drug disposition occur. Renal dysfunction with glomerular hyperfiltration appears early in the course of SCD in children (19) and adults (20), in which the prevalence is 66%. The increase in the glomerular filtration rate (GFR) appears at the age of 1 year (21), with gradual changes occurring until the second decade of life. In the preadolescent population, the lack of capacity to concentrate urine is almost constant (19), leading to irreversible anatomical lesions at the adult age (22). At the same time, teenagers may develop chronic renal



**FIG 1** Diagnostic plots of the final model. (A) Population predicted concentration (PRED) versus observed concentration (DV); (B) individual predicted concentration (IPRED) versus DV; (C) conditional weighted residuals (CWRES) versus PRED; (D) CWRES versus time; (E) QQ plot of the distribution of the normalized prediction distribution errors (NPDE) versus the theoretical  $N(0,1)$  distribution; (F) histogram of the distribution of the NPDE, with the density of the standard Gaussian distribution overlaid (represented by the red line).

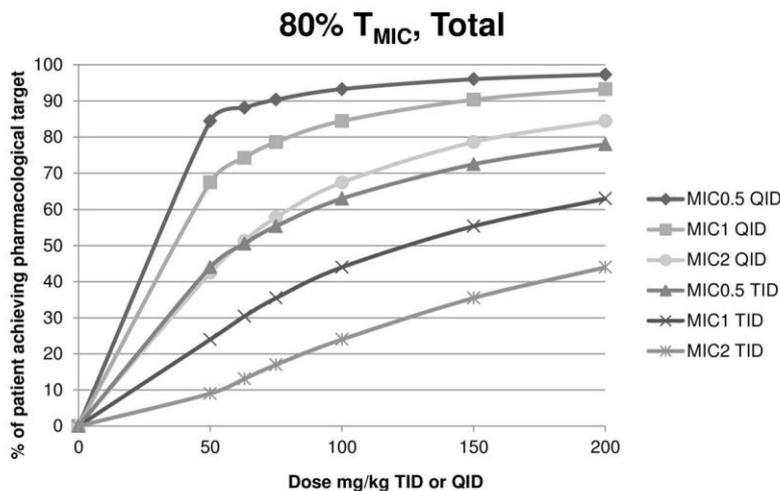
lesions associated with SCD, known as sickle cell nephropathy with glomerular hyperfiltration, microalbuminuria, and then macroalbuminuria and kidney failure. In our study, the high glomerular filtration rate probably resulted from both glomerular hyperfiltration as a consequence of SCD nephropathy and hyperhydration as treatment for prevention of the crisis. In addition, early hepatic dysfunction without a correlation with an elevation of classical liver function biomarkers occurs in SCD patients. Due to chronic hemolytic anemia, the hepatic blood flow increases and the induction of hepatic glucuronidation enzymes (UDP-glucuronosyltransferase and P450 enzymes) has been reported (23). Additional studies have highlighted an impairment of the hepatic metabolism of some drugs in SCD patients, and the rate of occurrence of this phenomenon seems to increase with age (24). Furthermore, SCD is characterized by



**FIG 2** Validation of the model by use of a visual predictive check (VPC). Comparison of the 5th (bottom dashed line), 50th (solid line), and 95th (top dashed line) percentiles obtained from 1,000 simulations and the observed data (circles) for cefotaxime concentrations.

chronic inflammation at steady state and worsening of the inflammation during VOC (25), leading to an increase in the plasma concentrations of many proteins and modifications of the volume of distribution of many drugs (24). According to the physiopathology of SCD, factors that may affect drug disposition include, among others, age, weight, clinical presentation of the disease, renal and hepatic function, and inflammation.

On the basis of the plasma concentrations obtained in SCD patients during treatment with cefotaxime, a one-compartment model with first-order elimination and weight and ACS as significant covariates was developed and validated. Our results showed that the cefotaxime volume of distribution (0.42 liter/kg) is in accordance with



**FIG 3** Target attainment rates for the 1,000 simulated trials for MICs of 0.5 mg/liter, 1 mg/liter, and 2 mg/liter are presented as a function of dose (in milligrams per kilogram) administered three times per day (TID) or four times per day (QID). The  $T_{MIC}$  target was 80%.

**TABLE 4** Monte Carlo simulations using the parameter estimates obtained from the final cefotaxime model developed in SCD patient model in order to attain a  $T_{MIC}$  target of 80% or 90%<sup>a</sup>

Target and characteristic	% pediatric population that attained the $T_{MIC}$ target												
	MIC = 0.5 mg/liter					MIC = 1 mg/liter					MIC = 2 mg/liter		
	All ages	2–12 yr	0–12 yr	>12 yr	≥50 kg	All ages	2–12 yr	0–12 yr	>12 yr	≥50 kg	All ages	>12 yr	≥50 kg
$T_{MIC}$ of 80%													
Dose TID (mg/kg)													
50	44	38	38	57		24	19	19	34		9		
63	51	45	45	63	70	30	25	25	42	49	13	21	26
75	55	50	50	68	74	35	30	30	48	55	17	26	31
100	63	58	58	74	<b>80</b>	44	38	38	57	64	24	34	41
150	72	68	68	<b>82</b>		55	50	50	68		36		
200	78	74	74	<b>86</b>		63	58	58	74		44		
Dose QID (mg/kg)													
50	<b>84</b>	<b>82</b>	<b>82</b>	<b>91</b>		67	63	63	78		43		
63	<b>88</b>	<b>86</b>	<b>86</b>	<b>93</b>	<b>95</b>	74	70	70	<b>83</b>	<b>88</b>	51	64	71
75	<b>90</b>	<b>88</b>	<b>88</b>	<b>95</b>	<b>96</b>	79	75	75	<b>87</b>	<b>91</b>	58	70	76
100	<b>93</b>	<b>92</b>	<b>92</b>	<b>97</b>	<b>98</b>	<b>84</b>	<b>82</b>	<b>82</b>	<b>91</b>	<b>94</b>	67	78	<b>84</b>
150	<b>96</b>	<b>95</b>	<b>95</b>	<b>98</b>		<b>90</b>	<b>88</b>	<b>88</b>	<b>95</b>		79		
200	<b>97</b>	<b>97</b>	<b>97</b>	<b>99</b>		<b>93</b>	<b>92</b>	<b>92</b>	<b>97</b>		<b>84</b>		
Fixed dose (mg)													
1,000				73	73				46	45		18	16
2,000				<b>89</b>	<b>89</b>				73	73		46	45
$T_{MIC}$ of 90%													
Dose (mg/kg) TID													
50	27	22	22	37		12	9	9	19		4		
63	32	27	27	44	52	16	12	12	25	30	6	10	13
75	37	31	31	49	57	20	16	16	30	36	8	13	17
100	45	39	39	57	64	27	22	22	37	44	12	19	24
150	55	49	49	67		37	31	31	49		20		
200	62	56	56	73		45	39	39	57		27		
Dose (mg/kg) QID													
50	70	66	66	80		49	43	43	62		25		
63	76	72	72	85	89	57	51	51	69	75	33	45	53
75	80	76	76	87	<b>91</b>	62	57	57	74	80	39	51	59
100	85	82	82	<b>91</b>	<b>94</b>	70	66	66	80	86	49	62	69
150	<b>90</b>	88	88	<b>94</b>		80	76	76	87		62		
200	<b>93</b>	<b>91</b>	<b>91</b>	<b>96</b>		85	82	82	<b>91</b>		70		
Fixed dose QID (mg)													
1,000				55	55				28	27		8	7
2,000				76	77				55	55		28	27

<sup>a</sup>QID, four times a day; TID, three times a day. Data in bold indicate the percentage of the pediatric population that attained the  $T_{MIC}$  target, depending on the MIC and dose of cefotaxime, in different age groups.

previously reported values determined in pediatric patients (0.2 liter/kg) (26, 27) and young adults with normal renal function (0.21 to 0.45 liter/kg) (28). Similarly in our SCD patients, a cefotaxime clearance of 0.38 liter/h/kg was higher than the one reported for healthy subjects (0.23 to 0.31 liter/h/kg) (26). It was variable (0.1 to 1.2 liter/h/kg) and increased by 22% in the presence of ACS. Such modifications of cefotaxime pharmacokinetics are multifactorial, resulting from interactions between (i) the patient; (ii) the disease (SCD is characterized by glomerular enlargement and an increased GFR), resulting in hemodynamic alterations and the early onset of renal damage ([20, 29]); (iii) an association with ACS, characterized by severe inflammation, fever, tachycardia, respiratory symptoms, and hypoxia; and (iv) modifications linked to hyperhydration, increasing the elimination of cefotaxime.

The different Monte Carlo simulations with the criteria that we selected (the percentage of patients achieving the target of a  $T_{MIC}$  of either 80% or 90%) illustrated that the recommended dosage regimen allows the effective area under the concentration-time curve (AUC)/MIC target to be reached in only a limited number of patients. Whatever the MIC (range, 0.5 to 2 mg/liter), an optimal exposure with a

concomitant gain of efficacy is observed when higher doses per administration and/or a greater number of administrations, which were increased from 3 (TID) to 4 (QID), are simulated.

In previous studies, the documented incidence of bacterial infections in febrile patients with SCD was 2 to 4% (30, 31), which is consistent with our results. The low incidence of bacterial infection must not be used to question the importance of systematic antibiotic therapy in SCD children with fever, and dosage optimization is mandatory to avoid high-risk complications of bacteremia (32, 33).

According to our data, a dosing regimen of 75 or 100 mg/kg QID may be considered, depending on the clinical presentation, whether the infection is suspected or confirmed, and the local bacterial epidemiology. In addition, in order to compare a fixed dose to a milligram-per-kilogram-based dose in patients who are >12 years of age and/or who weigh  $\geq 50$  kg, simulations were performed with different AUC/MIC targets and showed the superiority of the milligram-per-kilogram-based dosing regimen compared to the fixed dosing regimen. The prescription of a standard dosage of cefotaxime (75 mg/kg TID) in children with SCD in case of suspicion of bacterial infection is inappropriate and potentially dangerous, considering the risk of severe complications of infections in this population, as the corresponding AUC is lower than the target AUC, whatever the germs and the corresponding MIC.

A few other studies aimed to investigate the pharmacokinetic alterations of the drug disposition in SCD patients. A study of morphine pharmacokinetics showed that SCD patients had a 3- to 10-fold shorter half-life: clearance was higher than expected, which was likely linked to increased hepatic and renal blood flow, while the volume of distribution was within the range of values in non-SCD individuals (34). Another study investigating the pharmacokinetic profile of codeine showed a significant difference in the volume of distribution between SCD patients and healthy controls, while the mean clearance was not modified (35). In another study, the response to codeine was reduced, and the hypothesis was that the significantly higher levels of gamma globulins found in SCD patients may be the reason behind the increase in codeine plasma protein binding and the decreased response to normal doses (25). Finally, Gremse et al., investigating hepatic metabolism in SCD patients, found that lidocaine metabolism was impaired in patients with SCD (24). Although pharmacokinetic data are still limited, our results, in combination with the results of others, may have clinical implications for drugs metabolized by the liver and prescribed in SCD patients.

**Conclusion.** In SCD patients, the volume of distribution and clearance of many drugs may be modified. This modification may result from potential differences in protein binding, glomerular filtration, and/or liver metabolism, depending on the drug, between SCD and non-SCD subjects. In the present study, cefotaxime clearance was high, and according to Monte Carlo simulations, the doses currently prescribed are associated with a low, unsatisfactory target attainment rate, based on  $T_{MIC}$ . This indicates that the use of a standard dosage of cefotaxime is not accurate for these patients and the dose should be increased in order to optimize efficacy. A dosage regimen of 100 mg/kg/6 h should be considered, depending on the patient's clinical presentation and characteristics, in order to reach a  $T_{MIC}$  of 80% in 80% of patients when targeting sensitive germs with MICs of 1 mg/liter or below. Similar pharmacokinetic studies and dosage modifications might be required in adult SCD patients.

## MATERIALS AND METHODS

**Study design.** This PK-Drep trial (PK-Drep is an acronym for pharmacokinetics [PK] and drépanocytose [Drep], which is the French denomination of sickle cell disease) is a prospective, single-center pharmacokinetic study of cefotaxime in SCD pediatric patients conducted in the pediatric ward of the Robert Debré Hospital. Inclusion criteria were as follows: the patients had to be between the ages of 1 month and 19 years, to have a documented SCD genotype (SS, SC, or  $S\beta^0$  thalassemia), to present with fever (defined as a body temperature higher than 38.5°C), and to require cefotaxime on the basis of a medical decision made according to the national recommendations adapted by the Reference Center for Sickle Cell Disease of the Robert Debré Hospital (32). An additional blood volume of 500  $\mu$ l was obtained during sampling for routine medical care, with a maximum of two scavenged samples being used per patient. Exclusion criteria were a hemoglobin (Hb) level lower than 5 g/dl (as blood sampling should be

limited) and sampling for the study in the previous 2 weeks. The study design and aims were approved by the local ethics review board (CEERB no. 2013/78). The patients were included after the parents and child were provided with information and they offered no opposition.

The patients' characteristics were recorded and included age, current weight, SCD genotype, a detailed clinical presentation and the indication for cefotaxime treatment, associated therapies, bacteriological results, and the following biological parameters: hemoglobin (Hb), hematocrit (Ht), C-reactive protein (CRP), and total plasma protein levels.

**Dosing regimen and pharmacokinetic sampling.** Cefotaxime (Panpharma, Fougères, France), was administered as a 30-min intravenous infusion at a dose of 150 to 300 mg/kg/day divided into three or four administrations (every 8 or 6 h, respectively) using a syringe pump. The drug dosage followed the local protocol established to treat fever, taking into account the severity and the alteration of the patients' clinical status, and was adapted from Haute Autorité de Santé (France) (32) and National Institutes of Health (United States) (33) guidelines. Thus, every child presenting with SCD and a temperature of  $>38^{\circ}\text{C}$  required the administration of empirical parenteral antibiotics to provide coverage against *Streptococcus pneumoniae* and Gram-negative enteric organisms, namely, 150 to 200 mg/kg/day of intravenous cefotaxime. When febrile illness was accompanied by clinical or hemodynamic symptoms, the dose was raised to 300 mg/kg/day cefotaxime in four divided doses.

An opportunistic PK sampling was performed. In most patients, a single PK sample was drawn within 24 to 48 h of treatment initiation to control hematological parameters and to determine whether cefotaxime could be switched to oral amoxicillin. If cefotaxime was continued because of an unfavorable outcome, a second PK sample was taken when blood analysis was required for medical care. This strategy allowed drawing of a second PK sample without additional vein puncture. The precise infusion time and dosage were recorded prospectively, along with the date and the exact time of blood sampling. Blood samples were collected in heparin-containing tubes, kept at  $4^{\circ}\text{C}$ , and sent to the pharmacology laboratory to be centrifuged (10,000 rpm for 10 min at  $4^{\circ}\text{C}$ ) within 24 h of sampling. Serum was stored at  $-20^{\circ}\text{C}$  and kept frozen prior to analysis.

**Cefotaxime assay and analysis of biological parameters.** Briefly, cefotaxime and a deuterated internal standard, cefotaxime-d<sub>3</sub>, were purchased from Toronto Research Chemicals Inc. (Canada). We used a Waters Acquity I-Class instrument coupled to a Xevo-TQD triple-quadrupole mass spectrometer (Waters Corp., Milford, MA). The analytical column was an Acquity ultraperformance liquid chromatography (UPLC) HSS T3 2.1-mm by 100-mm column with a  $1.8\text{-}\mu\text{m}$  particle size (Waters Corp., Milford, MA) to which a Vanguard HSS T3 precolumn unit was added. Data were acquired using MassLynx (v4.1) software and processed using TargetLynx software (Waters Corp., Milford, MA).

For sample and calibration preparation, 200  $\mu\text{l}$  acetonitrile (ACN) containing 5 mg/liter of the internal standard was added to 50  $\mu\text{l}$  of serum sample. After centrifugation and evaporation to dryness, the residue was reconstituted with 50  $\mu\text{l}$  of 5 mM ammonium acetate (pH 2.4)-ACN (93:7).

For UPLC-tandem mass spectrometry (MS/MS) analysis, mobile phase A consisted of 5 mM ammonium acetate (pH 2.4) and mobile phase B consisted of ACN with 0.1% formic acid with a composition ratio of 93:7. Chromatographic separation was performed with a gradient elution of increasing amounts of mobile phase B to 100% and reestablishment of the basal condition by the end of the run. The flow rate was 0.5 ml/min, and the column temperature was  $50^{\circ}\text{C}$ . Analytes were detected via MS with a positive electrospray ionization interface in multiple-reaction-monitoring (MRM) mode. The cefotaxime-to-product transition was  $456.1 \rightarrow 167\text{ m/z}$  at a retention time of 1.45 min. The calibration curve ranged from 0.1 to 50 mg/liter. The inter- and intra-assay coefficients of variation (CV) of the internal quality controls ranged from 7 to 9% and 4 to 9%, respectively. The lower limit of quantification (LLOQ) was set at 0.1 mg/liter, and the limit of detection (LOD) was 0.01 mg/liter. Serum creatinine, hemoglobin (Hb), hematocrit (Ht), C-reactive protein (CRP), and total protein levels were measured at the Biochemistry Department at the Robert Debré Hospital, using currently used standard biochemical techniques.

**Population pharmacokinetic modeling of cefotaxime.** Pharmacokinetic analysis was performed using the nonlinear mixed effects modeling software NONMEM (v7.2; Icon Development Solutions, San Antonio, TX). The first-order conditional estimation with interaction method was used to estimate the pharmacokinetic parameters and their corresponding variability, and the interindividual variability of the different pharmacokinetic parameters was estimated using the classical exponential model, expressed as  $\theta_i = \theta_{\text{mean}} \cdot e^{\eta_i}$ , where  $\theta_i$  represents the parameter value of the  $i$ th subject,  $\theta_{\text{mean}}$  is the typical value of the parameter in the population, and  $\eta_i$  is the variability between subjects, which is assumed to follow a normal distribution with a mean value equal to zero and a variance of  $\omega^2$ .

The covariate analysis followed a forward approach and a backward selection process. The likelihood ratio test was used to test the effect of each variable on the pharmacokinetic model parameters. The effects of the demographic and clinical characteristics (weight, SCD genotype, concomitant vaso-occlusive crisis [VOC], or acute chest syndrome [ACS]), biological parameters (serum creatinine concentration, creatinine clearance, and Ht, Hb, CRP, and total protein levels collected within 72 h of the pharmacokinetic sampling), and comedications were investigated as potential significant variables influencing the pharmacokinetic parameters. During the first step of covariate selection and implementation in the model, the covariate was included if a significant ( $P < 0.05$ ,  $\chi^2$  distribution with 1 degree of freedom) decrease (reduction  $> 3.84$ ) in the objective function value (OFV) from that in the basic model and a reduction in the variability of the pharmacokinetic parameter were achieved. All of the significant covariates were then added simultaneously into the full model, beginning with the most significant covariate. Subsequently, each covariate was independently removed from the full model. If the increase in the OFV was higher than 6.635 ( $P < 0.01$ ,  $\chi^2$  distribution), the covariate was considered

significantly correlated with the pharmacokinetic parameter and was therefore retained in the final model.

Model validation was based on graphical and statistical criteria. Goodness-of-fit plots, including the observed concentration (DV) versus the population predicted concentration (PRED), DV versus the individual predicted concentration (IPRED), conditional weighted residuals (CWRES) versus time, and CWRES versus PRED, were initially used for diagnostic purposes (36). The stability and the performance of the final model were also assessed by means of a nonparametric bootstrap with resampling and replacement. Resampling was repeated 1,000 times, and the values of the parameters estimated from the bootstrap procedure were compared to those estimated from the original data set. The final model was also evaluated graphically and statistically by the use of normalized prediction distribution errors (NPDE) and a visual predictive check (VPC) (37, 38). One thousand data sets were simulated using the final population model parameters. The NPDE results were summarized graphically by default, as provided by the NPDE R package (v1.2) (37), by use of (i) a quantile-quantile (QQ) plot of the NPDE and (ii) a histogram of the NPDE. NPDE is expected to follow an  $N(0,1)$  distribution. For VPC, the 95% confidence intervals for the median and the 5th and 95th percentiles of the simulated concentrations were calculated, plotted against time, and compared to the observed concentrations.

**Dosing regimen optimization.** Monte Carlo simulations were performed using the parameter estimates obtained from the final model in order to define the optimal dosing regimen able to attain the target of a  $T_{MIC}$  of 80% or 90%.

According to the data from the French reference center for *S. pneumoniae* and *Salmonella* spp., the MIC breakpoint for susceptible *S. pneumoniae* in our population is 0.5 mg/liter and that for susceptible *E. coli* and *Salmonella* spp. is 1 mg/liter (39, 40). In our population, about 95% of invasive pneumococcal infections are due to susceptible strains of *S. pneumoniae*. For intermediate strains of both *S. pneumoniae* and *Salmonella* spp., the MIC was set at 2 mg/liter. Resistant strains of *S. pneumoniae* and *Salmonella* would require an MIC of >2 mg/ml (41).

Simulations were performed with different dosage regimens to report the percentage of patients reaching the target (target attainment rate). The following abbreviations for dosage regimen were used: BID, twice a day; TID, three times a day; and QID, four times a day. We first simulated the different target attainment rates with a dose of 63 mg/kg TID, i.e., the median dosing regimen used in our population. Then, cefotaxime doses of 50, 63, 75, 100, 150, and 200 mg/kg TID and QID were simulated. Fixed dosing regimens of 1 or 2 g QID were also tested in older patients using either age (>12 years of age) or weight (more than 50 kg). One thousand simulations were performed from the original data set, and  $T_{MIC}$  was calculated for each simulated patient using the following equation (42):  $\frac{\ln(\text{dose}/V) - \ln(\text{MIC})}{0.693/t_{1/2}}$ , where  $t_{1/2}$  is the half-life.

The different dosing regimens were compared using  $T_{MIC}$  and the aforementioned susceptibility breakpoints of MICs of 0.5 mg/liter, 1 mg/liter, and 2 mg/liter with target attainment rates of  $T_{MIC}$ s of 80% and 90% were considered.

## SUPPLEMENTAL MATERIAL

Supplemental material for this article may be found at <https://doi.org/10.1128/AAC.00637-17>.

**SUPPLEMENTAL FILE 1**, PDF file, 0.1 MB.

## ACKNOWLEDGMENTS

We first thank our patients and their parents for accepting the request to participate in the present study. We also thank the team of the Reference Center for Sickle Cell Disease, all the nurses of the Department of Pediatrics, and the technicians of the Department of Pediatric Pharmacology and Pharmacogenetics, Hôpital Robert Debré, Paris, France.

B.K., M.B., F.K., and E.J.-A. conceptualized the study; B.K. performed patient inclusion and follow-up; E.M., A.F., P.H., W.Z., and E.J.-A. performed the data analysis and pharmacokinetic analysis; E.M., P.H., and B.K. performed the data curation; E.M., A.F., W.Z., and E.J.-A. prepared the original draft of the manuscript; and all authors reviewed and edited the manuscript.

## REFERENCES

- World Health Organization. 2006. Sickle-cell disease and other haemoglobin disorders. Fifty-ninth World Health Assembly. World Health Organization, Geneva, Switzerland. [http://apps.who.int/gb/archive/pdf\\_files/WHA59/A59\\_9-en.pdf](http://apps.who.int/gb/archive/pdf_files/WHA59/A59_9-en.pdf). Accessed 18 March 2017.
- United Nations. 2008. Recognition of sickle-cell anaemia as a public health problem. Resolution A/RES/63/237 adopted by the General Assembly, United Nations, 63rd session. United Nations, New York, NY. [www.un.org/fr/ga/63/resolutions.shtml](http://www.un.org/fr/ga/63/resolutions.shtml). Accessed 18 March 2017.
- Battersby AJ1, Knox-Macaulay HH, Carrol ED. 2010. Susceptibility to invasive bacterial infections in children with sickle cell disease. *Pediatr Blood Cancer* 55:401–406. <https://doi.org/10.1002/pbc.22461>.
- Stuart MJ, Nagel RL. 2004. Sickle-cell disease. *Lancet* 364:1343–1360. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(04\)17192-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(04)17192-4).
- Ware RE. 1997. Salmonella infection in sickle cell disease: a clear and present danger. *J Pediatr* 130:350–351.
- Adamkiewicz TV, Sarnaik S, Buchanan GR, Iyer RV, Miller ST, Pegelow CH, Rogers ZR, Vichinsky E, Elliott J, Facklam RR, O'Brien KL, Schwartz B, Van Beneden CA, Cannon MJ, Eckman JR, Keyserling H, Sullivan K, Wong WY,

- Wang WC. 2003. Invasive pneumococcal infections in children with sickle cell disease in the era of penicillin prophylaxis, antibiotic resistance, and 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccination. *J Pediatr* 143:438–444. [https://doi.org/10.1067/S0022-3476\(03\)00331-7](https://doi.org/10.1067/S0022-3476(03)00331-7).
7. Cherry MG, Greenhalgh J, Osipenko L, Venkatachalam M, Boland A, Dunder Y, Marsh K, Dickson R, Rees DC. 2012. The clinical effectiveness and cost-effectiveness of primary stroke prevention in children with sickle cell disease: a systematic review and economic evaluation. *Health Technol Assess* 16:43. <https://doi.org/10.3310/hta16430>.
  8. Booth C, Inusa B, Obaro SK. 2010. Infection in sickle cell disease: a review. *Int J Infect Dis* 14:e2–e12. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2009.03.010>.
  9. Anderson BJ, Holford NH. 2008. Mechanism-based concepts of size and maturity in pharmacokinetics. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 48:303–332. <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.48.113006.094708>.
  10. Schrinner E, Limbert M, Penasse L, Lutz A. 1980. Antibacterial activity of cefotaxime and other newer cephalosporins (in vitro and in vivo). *J Antimicrob Chemother* 6:25–30. [https://doi.org/10.1093/jac/6.suppl\\_A.25](https://doi.org/10.1093/jac/6.suppl_A.25).
  11. Neu HC. 1990. Third generation cephalosporins: safety profiles after 10 years of clinical use. *J Clin Pharmacol* 30:396–403.
  12. Cherubin CE, Eng RH, Norrby R, Modai J, Humbert G, Overturf G. 1989. Penetration of newer cephalosporins into cerebrospinal fluid. *Rev Infect Dis* 11:526–548. <https://doi.org/10.1093/clinids/11.4.526>.
  13. Coombes JD. 1982. Metabolism of cefotaxime in animals and humans. *Rev Infect Dis* 4:5325–5332. [https://doi.org/10.1093/clinids/4.Supplement\\_2.S325](https://doi.org/10.1093/clinids/4.Supplement_2.S325).
  14. Jones RN, Barry AL, Thornsbury C. 1982. Antimicrobial activity of desacetylcefotaxime alone and in combination with cefotaxime: evidence of synergy. *Rev Infect Dis* 4:5366–5373. [https://doi.org/10.1093/clinids/4.Supplement\\_2.S366](https://doi.org/10.1093/clinids/4.Supplement_2.S366).
  15. Paap CM, Nahata MC, Mentser MA, Mahan JD, Puri SK, Hubbard JW. 1991. Pharmacokinetics of cefotaxime and its active metabolite in children with renal dysfunction. *Antimicrob Agents Chemother* 35:1879–1883. <https://doi.org/10.1128/AAC.35.9.1879>.
  16. Jacobs R. 1991. Efficacy and safety of cefotaxime in the management of pediatric infections. *Infection* 19:S330–S336. <https://doi.org/10.1007/BF01715774>.
  17. Kearns GL, Young RA, Jacobs RF. 1992. Cefotaxime dosage in infants and children. Pharmacokinetic and clinical rationale for an extended dosage interval. *Clin Pharmacokinet* 22:284–297.
  18. Dulaney Lopez AM, Rodriguez JC, Lopez-Samblas AM, Estes KS. 1999. Limiting cefotaxime pediatric dosing to adult standards: a pharmacokinetic simulation study. *Int J Clin Pharmacol Ther* 37:269–274.
  19. Becker AM. 2011. Sickle cell nephropathy: challenging the conventional wisdom. *Pediatr Nephrol* 26:2099–2109. <https://doi.org/10.1007/s00467-010-1736-2>.
  20. Haymann JP, Stankovic K, Levy P, Avellino V, Tharaux PL, Letavernier E, Grateau G, Baud L, Girot R, Lionnet F. 2010. Glomerular hyperfiltration in adult sickle cell anemia: a frequent hemolysis associated feature. *Clin J Am Soc Nephrol* 5:756–761. <https://doi.org/10.2215/CJN.08511109>.
  21. Kavanagh PL, Sprinz PG, Vinci SR, Bauchner H, Wang CJ. 2011. Management of children with sickle cell disease: a comprehensive review of the literature. *Pediatrics* 128:e1552–e1574. <https://doi.org/10.1542/peds.2010-3686>.
  22. Saborio P, Scheinman JI. 1999. Sickle cell nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 10:187–192.
  23. Nagar S, Rimmel RP, Hebbel RP, Zimmerman CL. 2004. Metabolism of opioids is altered in liver microsomes of sickle cell transgenic mice. *Drug Metab Dispos* 32:98–104. <https://doi.org/10.1124/dmd.32.1.98>.
  24. Gremse DA, Fillingim E, Hoff CJ, Wells DJ, Boerth RC. 1998. Hepatic function as assessed by lidocaine metabolism in sickle cell disease. *J Pediatr* 132:989–993. [https://doi.org/10.1016/S0022-3476\(98\)70396-8](https://doi.org/10.1016/S0022-3476(98)70396-8).
  25. Zhang D, Xu C, Manwani D, Frenette PS. 2016. Neutrophils, platelets, and inflammatory pathways at the nexus of sickle cell disease pathophysiology. *Blood* 127:801–809. <https://doi.org/10.1182/blood-2015-09-618538>.
  26. Trang JM, Jacobs RF, Kearns GL, Brown AL, Wells TG, Underwood FL, Kluz RB. 1985. Cefotaxime and desacetylcefotaxime pharmacokinetics in infants and children with meningitis. *Antimicrob Agents Chemother* 28:791–795. <https://doi.org/10.1128/AAC.28.6.791>.
  27. Kearns GL, Young RA. 1995. Pharmacokinetics of cefotaxime and desacetylcefotaxime in the young. *Diagn Microbiol Infect Dis* 22:97–104. [https://doi.org/10.1016/0732-8893\(95\)00052-C](https://doi.org/10.1016/0732-8893(95)00052-C).
  28. Esmieu F, Guibert J, Rosenkilde HC, Ho I, Le Go A. 1980. Pharmacokinetics of cefotaxime in normal human volunteers. *J Antimicrob Chemother* 6:83–92.
  29. Ware RE, Rees RC, Sarnaik SA, Iyer RV, Alvarez OA, Casella JF, Shulkin BL, Shalaby-Rana E, Strife CF, Miller JH, Lane PA, Wang WC, Miller ST, BABY HUG Investigators. 2010. Renal function in infants with sickle cell anemia: baseline data from the BABY HUG trial. *J Pediatr* 156:66–70.e1. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2009.06.060>.
  30. West DC, Andrada E, Azari R, Rangaswami AA, Kuppermann N. 2002. Predictors of bacteremia in febrile children with sickle cell disease. *J Pediatr Hematol Oncol* 24:279–283. <https://doi.org/10.1097/00043426-200205000-00012>.
  31. Morrissey BJ, Bycroft TP, Almossawi O, Wilkey OB, Daniels JG. 2015. Incidence and predictors of bacterial infection in febrile children with sickle cell disease. *Hemoglobin* 39:316–319.
  32. Haute Autorité de Santé. 2010. Syndromes drépanocytaires majeurs de l'enfant et de l'adolescent. Haute Autorité de Santé, Saint-Denis La Plaine, France. [http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2010-04/ald\\_10\\_pnds\\_drepano\\_enfant\\_web.pdf](http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2010-04/ald_10_pnds_drepano_enfant_web.pdf).
  33. National Institutes of Health. 2014. Evidence-based management of sickle cell disease: expert panel report. National Institutes of Health, Bethesda, MD. <https://www.nhlbi.nih.gov/health-pro/guidelines/sickle-cell-disease-guidelines>.
  34. Darbari DS, Neely M, van den Anker J, Rana S. 2011. Increased clearance of morphine in sickle cell disease: implications for pain management. *J Pain* 12:531–538. <https://doi.org/10.1016/j.jpain.2010.10.012>.
  35. Mohammed SS, Ayass M, Mehta P, Kedar A, Gross S, Derendorf H. 1993. Codeine disposition in sickle cell patients compared with healthy volunteers. *J Clin Pharmacol* 33:811–815. <https://doi.org/10.1002/j.1552-4604.1993.tb01956.x>.
  36. Hooker AC, Staatz CE, Karlsson MO. 2007. Conditional weighted residuals (CWRES): a model diagnostic for the FOCE method. *Pharm Res* 24:2187–2197. <https://doi.org/10.1007/s11095-007-9361-x>.
  37. Brendel K, Comets E, Laffont C, Laveille C, Mentré F. 2006. Metrics for external model evaluation with an application to the population pharmacokinetics of gliclazide. *Pharm Res* 23:2036–2049. <https://doi.org/10.1007/s11095-006-9067-5>.
  38. Bergstrand M, Hooker AC, Wallin JE, Karlsson MO. 2011. Prediction-corrected visual predictive checks for diagnosing nonlinear mixed-effects models. *AAPS J* 13:143–151. <https://doi.org/10.1208/s12248-011-9255-z>.
  39. Centre National de Référence des *Escherichia coli*, *Shigella* et *Salmonella*. 2016. Rapport d'activité annuel: année d'exercice 2016. Centre National de Référence des *Escherichia coli*, *Shigella* et *Salmonella*, Paris, France. [https://www.pasteur.fr/sites/default/files/rubrique\\_pro\\_sante\\_publique/les\\_cnr/escherichia\\_coli\\_shigella\\_salmonella/rapport-cnr\\_escherichia-coli-shigella-salmonella-2016\\_pdf\\_final\\_.pdf](https://www.pasteur.fr/sites/default/files/rubrique_pro_sante_publique/les_cnr/escherichia_coli_shigella_salmonella/rapport-cnr_escherichia-coli-shigella-salmonella-2016_pdf_final_.pdf).
  40. Varon E, Janoir C. 2016. CNRP Rapport d'activité 2016: Epidemiologie 2015. Centre National de Référence des pneumocoques. <http://cnr-pneumo.com/docs/rapports/CNRP2016.pdf>.
  41. Varon E, Janoir C, Gutmann L. 2015. Rapport d'activité 2015. CNRP, Paris, France. <http://cnr-pneumo.com/docs/rapports/CNRP2015.pdf>.
  42. Dudley MN, Ambrose PG. 2000. Pharmacodynamics in the study of drug resistance and establishing in vitro susceptibility breakpoints: ready for prime time. *Curr Opin Microbiol* 3:515–521. [https://doi.org/10.1016/S1369-5274\(00\)00132-6](https://doi.org/10.1016/S1369-5274(00)00132-6).

## **VI. Etude n°4 - Etude pharmacocinétique de population du valganciclovir chez l'enfant transplanté rénal**

### **A. Contexte**

---

Le valganciclovir, prodrogue du ganciclovir (GCV), est un médicament antiviral analogue nucléosidique de la guanosine. Il est actif contre le cytomégalovirus (CMV) mais aussi contre les virus herpès simplex 1 et 2, le virus Epstein-Barr, l'herpès virus humain-6 et le virus varicelle-zona (Crumpacker 1996). Ce médicament est indiqué dans le traitement de la rétinite à CMV chez les patients adultes atteints de syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA) et en traitement prophylactique des infections à CMV chez les adultes et les enfants (de la naissance à 18 ans) de statut sérologique CMV-négatifs qui ont bénéficié d'une transplantation d'organe solide à partir d'un donneur CMV-positif (D+/R-) (Roche 2018). Il est également utilisé en dehors des conditions de l'AMM pour le traitement curatif des infections à CMV chez ces patients (Len et al. 2008 ; Kotton et al. 2018), chez les nouveau-nés qui présentent une infection congénitale, chez les transplantés de cellules souches hématopoïétiques, et en traitement préventif des infections à EBV chez les patients transplantés (Razonable et al. 2004 ; Yu et al. 2013 ; Vezina et al. 2014). Les infections à CMV chez les enfants transplantés entraînent encore une morbidité et une mortalité importantes (Humar et al. 2009 ; Kotton et al. 2018). En effet, une diminution de la fonction du greffon 3 ans après la greffe a été significativement reliée à un épisode de virémie chez des patients pédiatriques transplantés rénaux (Höcker et al. 2016). Sans prophylaxie, 40% des transplantés hépatiques pédiatriques et 15% des transplantés rénaux pédiatriques risquent de développer une maladie à CMV (Kotton et al. 2018).

L'activité antivirale du GCV résulte du blocage de l'ADN polymérase virale (UL54) par inhibition compétitive de l'incorporation de la désoxyguanosine triphosphate. L'incorporation du GCV triphosphate provoque l'arrêt de l'élongation de l'ADN viral et donc sa réplication (Roche 2018). Pour être actif, le GCV passe d'abord par une série de phosphorylation virale et intracellulaire en GCV triphosphate. Cette première phosphorylation par une kinase du CMV (UL97) est

responsable de la sélectivité de l'activité du GCV sur les cellules infectées ((Freitas et al. 1985 ; Littler et al. 1992). Les mécanismes de résistance sont le plus souvent causés par des mutations du gène UL97, empêchant la première phosphorylation du GCV, donc sa formation en composé actif, et/ou par des mutations dans le gène UL54, qui code pour l'ADN polymérase virale. Ce dernier mécanisme confère, en plus du GCV, une résistance croisée au foscarnet et au cidofovir (Erice 1999). Les taux de résistance virale parmi les transplantés d'organes solides ayant présenté une virémie varient entre 5% et 12%. (Lurain et al. 2010 ; Kotton et al. 2018). Au cours de la prophylaxie contre le CMV, l'incidence de la résistance au GCV est faible, de l'ordre de 0% à 3%, chez les receveurs de rein D+/R- (Kotton et al. 2013 ; Khurana et al. 2019). En France, l'incidence globale de la résistance était de 4,12 cas pour 100 patients-années (Hantz et al. 2010). En pédiatrie, en raison de la forte probabilité de statut CMV D+/R-, la résistance au GCV est potentiellement préoccupante, bien qu'une faible incidence de résistance au GCV de seulement 2% à 4% ait été rapportée. Cette faible incidence pourrait être due à une faible proportion de résistance comme à un manque de données ou à une sous-déclaration (Kotton et al. 2018). Une étude a détecté au moins une variation de séquence UL97 chez 12% des enfants ayant bénéficié d'une transplantation (Kim et al. 2012). L'un des facteurs de risque de résistance est l'administration inadéquate de médicaments antiviraux (Kotton et al. 2018), d'où l'importance de schémas posologiques adaptés.

Le profil de sécurité du valganciclovir chez les patients pédiatriques est similaire à celui des patients adultes. Les effets indésirables les plus communément signalés (survenant chez environ 10% des enfants transplantés) sont des troubles digestifs (nausée, vomissement, constipation), de la fièvre, des pneumonies, de l'hypertension et une altération de la fonction rénale (Yu et al. 2013). Les effets indésirables cliniquement pertinents les plus fréquemment signalés dans les études pédiatriques sont les leucopénies et les neutropénies qui sont dose-dépendants et peuvent nécessiter l'arrêt du traitement (plus de 20%) (Wiltshire et al. 2005).

Le valganciclovir est un pro-médicament ester L-valine du GCV (forme active) qui est disponible en solution buvable et en comprimé. L'avantage du valganciclovir est une biodisponibilité orale (~ 60%) environ 10 fois plus élevée comparée au GCV (Pescovitz et al.

2000). Après administration orale, le valganciclovir est rapidement converti en GCV par des estérases intestinales et hépatiques (Yu et al. 2013). Il présente une faible fixation aux protéines plasmatiques (3%) et est éliminé quasi exclusivement sous forme inchangée par filtration glomérulaire et sécrétion tubulaire (Roche 2018). Dans la population pédiatrique, plusieurs facteurs ont déjà montré un impact sur la pharmacocinétique du valganciclovir : la surface corporelle, le poids, l'âge et/ou la clairance rénale (Vaudry et al. 2009 ; Zhao et al. 2009 ; Pescovitz et al. 2010 ; Åsberg et al. 2014 ; Vezina et al. 2014 ; Stockmann et al. 2015). La cible pharmacologique prédictive de son efficacité est une AUC des 24h et des 12h comprise entre 40 et 60 mg.h/L pour les traitements préventif et curatif respectivement (Wiltshire et al. 2005).

Le RCP suggère de calculer la dose individuelle à l'aide de l'équation suivante :  $Dose (mg) = 7 \times surface\ corporelle (m^2) \times Clairance\ rénale\ estimée$  par la formule de Schwartz (Roche 2018). Cependant, cette formule peut s'associer à des expositions et à une toxicité élevées chez les enfants transplantés rénaux avec un faible poids et une fonction rénale normale, comme l'a alerté la FDA en 2010 (Food and Drug Administration). Actuellement, les recommandations posologiques restent controversées car le nombre de patients atteignant l'AUC cible est très variable et la prescription indispensable de ce médicament nécessite un suivi thérapeutique pharmacologique (Wiltshire et al. 2005) qui n'est pas disponible dans tous les centres de soins (Stockmann et al. 2015).

## **B. Résumé de l'étude**

---

**Objectifs.** Les objectifs du travail présenté ci-dessous ont été de **déterminer la pharmacocinétique de population du valganciclovir** chez les enfants transplantés rénaux pour pouvoir **proposer un schéma posologique approprié.**

**Méthode.** Les enfants transplantés rénaux ayant reçu du valganciclovir en traitement préventif ou curatif d'une infection à CMV au sein de l'hôpital Robert Debré ont été inclus dans l'étude pharmacocinétique. Les concentrations plasmatiques de GCV ont été mesurées par

chromatographie liquide à haute performance couplée à la détection par ultraviolets. L'analyse pharmacocinétique de population a été réalisée à l'aide du logiciel NONMEM.

Résultats. Au total, 1212 échantillons étaient disponibles pour l'analyse pharmacocinétique. Ils étaient issus d'une population de 104 patients, âgés de 2 à 20 ans, traités par le valganciclovir à une dose moyenne de  $17,3 \pm 6,1$  mg/kg pour prévenir et/ou traiter l'infection à CMV après transplantation rénale. Les données ont été décrites par un modèle à deux compartiments avec une élimination de premier ordre. La clairance totale du GCV augmentait significativement avec la surface corporelle, était 15% plus élevée chez les garçons et diminuait significativement lorsque la créatininémie augmentait. Le volume de distribution central augmentait avec la surface corporelle et était 14% plus élevé chez les garçons.

Ce que l'étude a apporté. Après validation interne du modèle, nous avons proposé des recommandations posologiques individualisées dépendant de la surface corporelle, de la créatininémie et du genre de l'enfant. A l'aide de simulations, nous avons estimé que 65,7% et 65,4% des enfants devraient atteindre la cible pharmacologique en traitement prophylactique et curatif, respectivement.

### ***C. Publication 4***

---

Le travail présenté ci-dessus a fait l'objet d'une publication dans le journal *Antimicrobial Agents and chemotherapy* en 2019. Les figures supplémentaires sont disponibles en annexe. L'article est présenté ci-dessous :



## Population Pharmacokinetics of Ganciclovir after Valganciclovir Treatment in Children with Renal Transplant

A. Facchin,<sup>a,b,c</sup> V. Elie,<sup>a</sup> N. Benyoub,<sup>a</sup> S. Magreault,<sup>a</sup> A. Maisin,<sup>d</sup> T. Storme,<sup>e</sup> W. Zhao,<sup>f,g</sup> G. Deschenes,<sup>d</sup> E. Jacqz-Aigrain<sup>a,h</sup>

<sup>a</sup>Département de Pharmacologie Pédiatrique et Pharmacogénétique, CHU Robert Debré, APHP, Paris, France

<sup>b</sup>Service de Pharmacie, Centre Hospitalier Intercommunal Robert Ballanger, Aulnay-Sous-Bois, France

<sup>c</sup>Université de Paris, Ecole Doctorale MTCL, Paris, France

<sup>d</sup>Service de Néphrologie Pédiatrique, Hôpital Robert Debré, APHP, Paris, France

<sup>e</sup>Service de Pharmacie, CHU Robert Debré, APHP, Paris, France

<sup>f</sup>Department of Clinical Pharmacy, School of Pharmaceutical Sciences, Shandong University, Jinan, China

<sup>g</sup>Paediatric Research Institute, Children's Hospital of Hebei Province, Shijiazhuang, China

<sup>h</sup>Université de Paris, Paris, France

**ABSTRACT** Valganciclovir, the ganciclovir prodrug, is an antiviral agent administered orally to prevent or treat cytomegalovirus infection in solid-organ transplant recipients. The valganciclovir dosing regimen in children is still controversial, as the number of patients reaching the area under the concentration-time curve at steady state (AUC<sub>ss</sub>) target (40 to 60 mg·h/liter) remains highly variable. The aim of this study was to determine the population pharmacokinetics of valganciclovir in pediatric renal transplant recipients and propose an appropriate dosing regimen. Children with renal transplant who received valganciclovir to prevent or treat cytomegalovirus infection at the Robert Debré University Hospital were included. Plasma ganciclovir concentrations were determined by high-performance liquid chromatography and UV detection. Population pharmacokinetic analysis was performed with NONMEM software. A total of 104 patients aged 2 to 20 years treated with valganciclovir, administered at a mean dose of 17.3 ± 6.1 mg/kg of body weight to prevent and/or treat cytomegalovirus infection after renal transplantation, were included. A total of 1,212 samples were available. A two-compartment model with first-order elimination best fitted the data: ganciclovir clearance increased with body surface area, was 15% higher in boys than in girls, and decreased with increasing creatinine concentration. The central volume of distribution increased with body surface area and was 14% higher in boys than in girls. According to the personalized dosing regimen, 65.7% and 65.4% of the children were predicted to achieve the AUC<sub>ss</sub> target for cytomegalovirus prophylaxis and treatment, respectively. A new pharmacokinetic model that allows the proposal of an individualized dose adapted to the characteristics of pediatric patients with renal transplant was built.

**KEYWORDS** cytomegalovirus, ganciclovir, pediatrics, population pharmacokinetics, renal transplantation

Cytomegalovirus (CMV) infection is a major cause of morbidity in solid-organ transplant recipients. Valganciclovir, an antiviral agent, is commonly used to prevent or treat CMV infection in this population (1). Valganciclovir, the valine ester prodrug of ganciclovir, results in ganciclovir bioavailability (*F*) of 55 to 60% in pediatric patients (2, 3), up to 10 times higher than that of oral ganciclovir. Valganciclovir is rapidly converted to ganciclovir by liver and intestinal esterases and is predominantly eliminated unchanged by renal excretion (4). The indications for treatment with valganciclovir for the pediatric population of the Food and Drug Administration (FDA) include renal trans-

**Citation** Facchin A, Elie V, Benyoub N, Magreault S, Maisin A, Storme T, Zhao W, Deschenes G, Jacqz-Aigrain E. 2019. Population pharmacokinetics of ganciclovir after valganciclovir treatment in children with renal transplant. *Antimicrob Agents Chemother* 63:e01192-19. <https://doi.org/10.1128/AAC.01192-19>.

**Copyright** © 2019 American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Address correspondence to E. Jacqz-Aigrain, evelyne.jacqzaigrain@gmail.com.

**Received** 12 July 2019

**Returned for modification** 5 August 2019

**Accepted** 3 September 2019

**Accepted manuscript posted online** 16 September 2019

**Published** 21 November 2019

**TABLE 1** Characteristics of the patients included in the pharmacokinetic analysis

Characteristic	Value for the following group <sup>a</sup> :		
	Total	Female	Male
<b>Patient characteristics</b>			
No. (%) of patients included	104	38	66
Median (range) age (yr)	12.2 (2.1–20.5)	13.2 (2.6–18.4)	10.1 (2.1–20.5)
Median (range) CW (kg)	30.35 (11.9–83.0)	38.6 (11.9–73.7)	25.85 (12.5–83.0)
Median (range) ht (m)	1.34 (0.85–1.84)	1.49 (0.87–1.65)	1.19 (0.85–1.84)
Median (range) BSA (m <sup>2</sup> )	1.08 (0.54–1.95)	1.28 (0.54–1.83)	0.91 (0.54–1.95)
Median (range) serum creatinine concn (μmol/liter)	72.5 (22.0–265.0)	75.0 (26.0–265.0)	70.5 (22.0–187.0)
Median (range) CrCLS (ml/min/1.73 m <sup>2</sup> )	94.0 (10.0–189.0)	94.5 (10.0–180.0)	94.0 (53.0–189.0)
<b>Valganciclovir treatment characteristics</b>			
No. of pharmacokinetic profiles	175	65	110
Median (range) dose in:			
mg/dose	450 (125–900)	450 (250–900)	450 (125–900)
mg/kg/day	18.5 (5.0–70.2)	18.5 (5.0–42.1)	18.5 (5.0–70.2)
No. of patients with the following dosing interval (h):			
12	30	9	21
24	145	56	89
No. of patients with the following no. of pharmacokinetic profiles/patient:			
1	104	38	66
2	53	20	33
3	18	7	11
No. of pharmacokinetic profiles with the following cotreatment:			
Mycophenolate mofetil	173	64	109
Tacrolimus	154	57	97
Cyclosporine	20	7	13
Azathioprine	1	0	1

<sup>a</sup>Age, current body weight, height, body surface area, serum creatinine concentration, and creatinine clearance (Schwartz formula) (CrCLS) were not significantly different between female and male children (Wilcoxon test,  $P > 0.05$ ).

plantation in patients aged 4 months to 16 years and heart transplantation in patients aged 1 month to 16 years. However, valganciclovir is also used off-label to treat congenital CMV infection and to treat or prevent CMV or Epstein-Barr virus infection among other solid-organ and hematopoietic stem cell transplant patients in the pediatric population (5–7).

Different valganciclovir dosing regimens have been proposed, but the optimal dose is still controversial, as the percentage of patients reaching the pharmacological target remains variable (8). The use of subtherapeutic levels risks the emergence of CMV resistance (9) and clinical failure, whereas suprathreshold levels increase the risk of adverse effects, such as leukopenia, neutropenia, and nephrotoxicity, the most relevant adverse effects in the pediatric population (4, 10). The objective of this study was to describe the valganciclovir pharmacokinetics in a large cohort of children with renal transplant and develop an optimized dosing regimen for this population.

## RESULTS

**Population characteristics and ganciclovir treatment.** A total of 1,212 samples were collected from 104 patients aged 2 to 20 years treated with valganciclovir between August 1999 and December 2016, and from these, 175 pharmacokinetic profiles (treatment,  $n = 30$ ; prophylaxis,  $n = 145$ ) were obtained. Valganciclovir concentrations ranged from 0.25 to 22.23 ng/ml. The patients' characteristics, biological parameters, valganciclovir treatment, and comedications are summarized in Table 1.

Valganciclovir was administered orally at a mean dose of  $17.3 \pm 6.1$  mg/kg of body weight (BW)/dose once a day (every 24 h [q24h]) or twice a day (every 12 h [q12h]), according to the indication (prophylaxis or treatment, respectively).

**Model construction.** A two-compartment model with first-order elimination and the following six parameters best fitted the data: absorption rate constant ( $k_a$ ), lag time (ALAG), apparent oral clearance (CL/F), apparent central volume of distribution ( $V_1/F$ ), apparent intercompartmental clearance (Q/F), and apparent peripheral volume of

TABLE 2 Covariate analysis<sup>a</sup>

Parameter	Pharmacokinetic parameter(s)	OFV ( $\Delta$ OFV)	IIV				Residual error (%)
			CL	$V_1$	$V_2$	$k_a$	
Structural model	ALAG, $k_a$ , CL, $V_1$ , $V_2$ , Q	690.6 (−22.3)	35.4	41.2	106.7	101.5	33.3
Interoccasion variability	CL, $V_2$ , $k_a$	396.6 (−294.0)	32.6	43.9	0.75	59.5	23.5
Impact of covariates, forward selection							
BSA/ $V_1$	$V_1$	218.7 (−177.9)	31.8	12.4	37.4	56.4	23.3
BSA/ $V_1$ and CrCLS/CL	CL, $V_1$	171.6 (−47.1)	29.4	12.4	1.0	56.1	23.3
BSA/ $V_1$ , CrCLS/CL, and BSA/CL	CL, $V_1$	97.5 (−74.1)	19.9	11.5	53.2	56.1	23.5
BSA/ $V_1$ , CrCLS/CL, CREA/CL, and BSA/CL	CL, $V_1$	70.7 (−26.8)	16.8	10.7	53.7	56.4	23.6
BSA/ $V_1$ , CrCLS/CL, CREA/CL, BSA/CL, and gender/ $V_1$	CL, $V_1$	61.4 (−9.3)	17.1	9.4	54.9	58.7	23.5
BSA/ $V_1$ , CrCLS/CL, CREA/CL, BSA/CL, gender/ $V_1$ and gender/CL	CL, $V_1$	54.3 (−7.1)	16.0	9.3	54.6	59.2	23.5
Final model, backward selection, BSA/ $V_1$ , CREA/CL and BSA/CL, gender/ $V_1$ and gender/CL	CL, $V_1$	54.7 (+0.4)	16.0	9.3	54.6	59.2	23.5
Others models <sup>b</sup>							
CrCLS/CL and gender/ $V_1$	CL, $V_1$	340.6	30.3	42.9	58.0	59.5	23.6
CrCLS/CL, BSA/ $V_1$ , and gender/ $V_1$	CL, $V_1$	150.0	29.4	10.8	40.2	59.0	23.3

<sup>a</sup>OFV, objective function value;  $\Delta$ OFV, difference in OFV; IIV, interindividual variability; CREA, creatinine concentration; ALAG, lag time;  $k_a$ , absorption rate constant; CL, apparent clearance;  $V_1$ , apparent central volume of distribution;  $V_2$ , apparent peripheral volume of distribution; Q, apparent intercompartmental clearance.

<sup>b</sup>These 2 models showed that valganciclovir pharmacokinetics were better explained with BSA, creatinine concentration, and gender on CL and BSA and gender/ $V_1$  separately than when they were included in the CrCLS formula.

distribution ( $V_2/F$ ). Interindividual variability was best described by an exponential model, and residual variability was best described by a proportional model. Interindividual variability on  $Q/F$  and ALAG did not improve the model. The interoccasion variability of  $CL/F$ ,  $k_a$ , and  $V_2/F$  improved the model significantly.

The allometric model was first tested and resulted in a significant drop in the objective function value (OFV) to 164.9. Body surface area (BSA) was the most significant parameter, impacting  $V_1/F$  and allowing a drop in the OFV to 177.9, and so the allometric model was not retained. Creatinine clearance on  $CL/F$  was then identified to be the most important covariate and associated with a significant drop in the OFV (difference in the OFV [ $\Delta$ OFV] = 47.1). BSA on  $CL/F$  also showed a significant drop in the OFV ( $\Delta$ OFV = 74.1). A further decrease was observed with the implementation of the serum creatinine concentration on  $CL/F$  ( $\Delta$ OFV = 25). Finally, gender on  $V_1/F$  and  $CL/F$  showed a significant drop in the OFV ( $\Delta$ OFV = 9.3 and 7.1, respectively). The additional variables tested did not decrease the OFV significantly. After the backward elimination, creatinine clearance estimated by the Schwartz formula (CrCLS) did not remain significant ( $\Delta$ OFV = 1.7), and three covariates (BSA, serum creatinine concentration, and gender) were retained after the backward elimination process. The results of the covariate analysis are presented in Table 2. Table 3 summarizes the parameter estimates of the final model. The estimated  $CL/F$  was  $11.3 \pm 3.1$  liters/h, the estimated mean volume of distribution at steady state (the sum of  $V_1$  and  $V_2$ ) was  $75.1 \pm 23.9$  liters, the intercompartmental clearance was 1.5 liters/h,  $k_a$  was  $9.0 \pm 5.8$  h<sup>−1</sup>, and ALAG was 0.86 h. Apparent ganciclovir clearance increased with BSA, was 15% higher in boys than in girls, and decreased with increasing creatinine concentration. The central volume of distribution also increased with BSA and was 14% higher in boys than in girls.

**Model evaluation.** Model diagnostics showed an acceptable goodness of fit for the final model without a prediction bias: no trends in the plots of conditional weighted residuals (CWRES) and population predicted concentration (PRED) versus time were observed (Fig. 1). The median parameter estimates resulting from the bootstrap procedure closely agreed with the respective values from the final population model, indicating that the final model was stable and could redetermine the estimates of the population pharmacokinetic parameters. The results of 500 bootstrap replicates (a 93.4% successful run) are summarized in Table 3. The distribution of the normalized prediction distribution error (NPDE) and histograms was consistent with the theoretical

**TABLE 3** Population pharmacokinetic parameters of valganciclovir and bootstrap results<sup>a</sup>

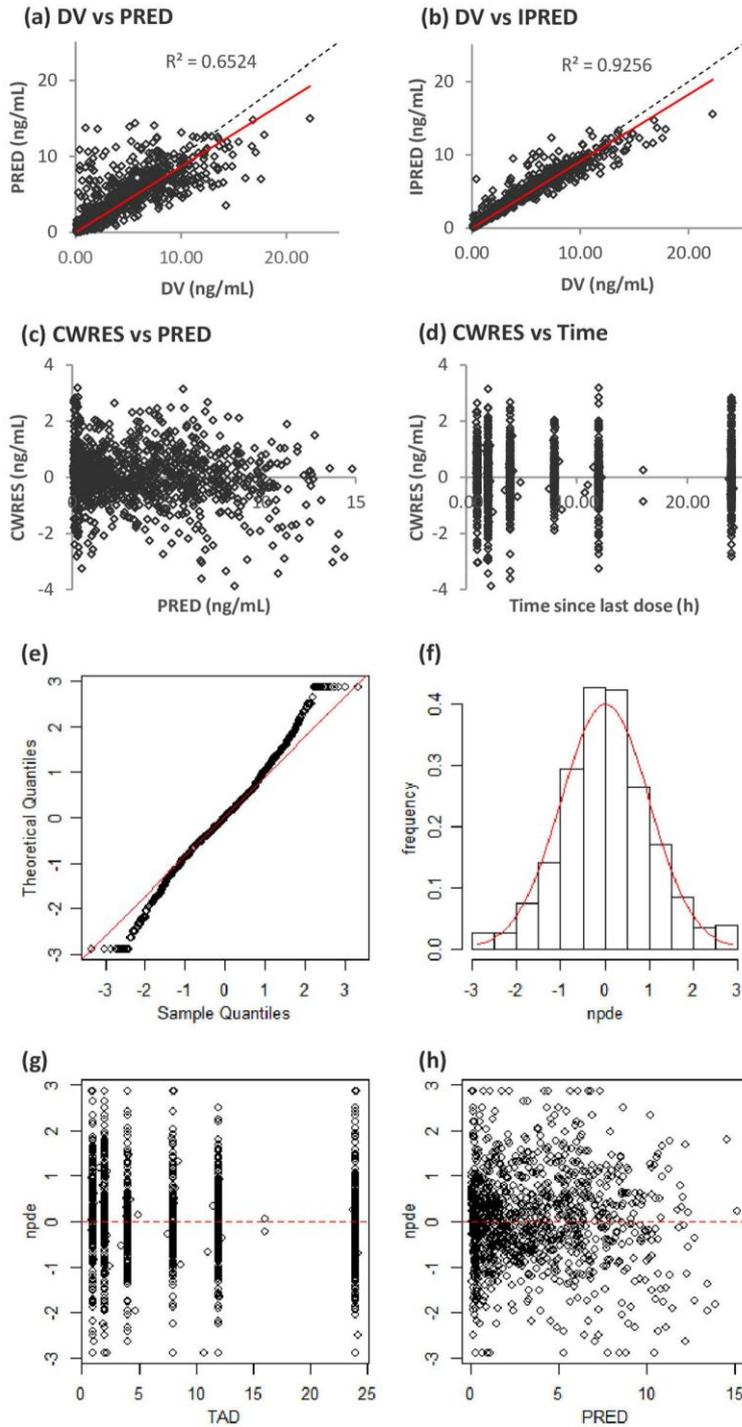
Parameter	Full data set		Bootstrap analysis (n = 500)	
	Final estimate	RSE (%)	Median	95% confidence interval
CL (liters/h) = $\theta_1 \times F_{\text{RENAL}} \times F_{\text{BSA/CL}} \times F_{\text{GENDER/CL}}$ $\theta_2$	9.07	3.7	9.04	8.36, 9.80
$F_{\text{RENAL}} = (\text{creatinine concentration}/72.5)^{0.68}$ $\theta_8$	-0.768	7.6	-0.765	-0.98, -0.63
$F_{\text{BSA/CL}} = (\text{BSA})^{0.9}$ $\theta_9$	1.31	8.5	1.32	1.07, 1.57
$F_{\text{GENDER/CL}} = \theta_{11}^{\text{GENDER}}$ $\theta_{11}$	1.15	4.3	1.16	1.06, 1.26
$V_1$ (liters) = $\theta_2 \times F_{\text{BSA/V}} \times F_{\text{GENDER/V}}$ $\theta_2$	45.0	3.3	44.9	41.6, 48.0
$F_{\text{BSA/V}} = (\text{BSA})^{0.7}$ $\theta_7$	1.28	5.0	1.28	1.16, 1.42
$F_{\text{GENDER/V}} = \theta_{10}^{\text{GENDER}}$ $\theta_{10}$	1.14	3.9	1.14	1.06, 1.22
$Q$ (liters/h) = $\theta_3$ $\theta_3$	1.46	13.6	1.50	1.13, 2.20
$V_2$ (liters) = $\theta_4$ $\theta_4$	18.5	17.9	18.4	14.0, 30.9
$k_a$ (h <sup>-1</sup> ) = $\theta_5$ $\theta_5$	6.96	16.2	7.11	5.29, 11.00
ALAG (h) = $\theta_6$ $\theta_6$	0.86	1.9	0.86	0.83, 0.91
Interindividual variability (%)				
$\omega_{\text{CL}}$	16.0	36.0	14.9	7.0, 20.7
$\omega_{V_1}$	9.3	51.0	8.7	0.7, 12.8
$\omega_{V_2}$	54.6	101.7	49.5	0.5, 128.9
$\omega_{k_a}$	59.2	79.2	58.7	0.7, 93.9
IOV (%)				
IOV <sub>CL</sub>	14.4	24.4	14.4	10.7, 18.3
IOV <sub>k<sub>a</sub></sub>	111.4	20.4	111.4	91.7, 135.6
IOV <sub>V<sub>2</sub></sub>	77.2	51.0	74.1	0.5, 113.2
Residual variability, $\sigma_p$	23.5	11.6	23.3	20.5, 25.7

<sup>a</sup>RSE, relative standard error; IOV, interoccasion variability.

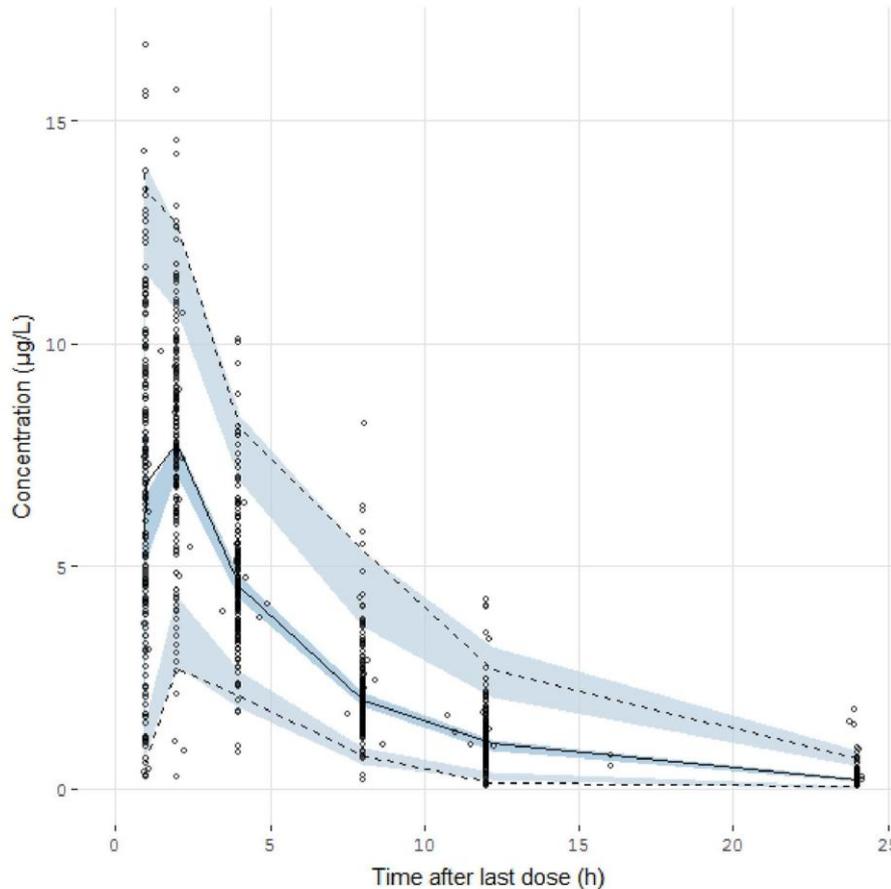
$N(0,1)$  distribution and density, indicating a good fit of the model to the individual data (Fig. 1). The mean and variance of the NPDE were 0.0381 (Wilcoxon signed-rank test,  $P = 0.402$ ) and 1.05 (Fisher variance test,  $P = 0.223$ ), respectively. The residuals also presented a normal distribution with no trend function for time or concentration.

The prediction-corrected visual predictive check (pc-VPC) showed that the prediction-corrected concentrations observed were consistent with the concentrations simulated by the model (Fig. 2).

**Dosing regimen optimization.** According to our current dosing regimen and rich pharmacokinetics ( $n = 174$ ), only 42.5% of the values of the area under the concentration-time curve at steady state over 24 h ( $AUC_{\text{ss-24 h}}$ ) were within the therapeutic range for CMV prophylaxis, 30.8% were over 60 mg-h/liter, and 26.7% were under 40 mg-h/liter and only 34.5% of the values of the area under the curve at steady state over 12 h ( $AUC_{\text{ss-12h}}$ ) were within the therapeutic range for CMV treatment, 20.7% were over 60 mg-h/liter, and 44.8% were under 40 mg-h/liter.



**FIG 1** (a to d) Population predicted concentrations (PRED) versus observed concentrations (DV) (a), individual predicted concentrations (IPRED) versus DV (b), conditional weight residual concentrations (CWRES) versus PRED (c), and CWRES versus time since last dose (d). The dashed lines represent the lines of identity, and the solid red lines represent the linear regression lines. (e to h) QQ (quantile-quantile) plot of the distribution of the normalized prediction distribution errors versus the theoretical distribution,  $N(0,1)$  (represented by the red line) (e), histogram of the distribution of NPDE, with the density of the standard Gaussian distribution overlaid represented by the red line (f), plot of NPDE versus time (TAD, time after last dose) (g), and plot of NPDE versus PRED (h).



**FIG 2** Prediction-corrected visual predictive check of the final model describing the pharmacokinetics of valganciclovir in children. The circles represent the prediction-corrected observed concentrations. The solid line represents the median of the prediction-corrected observed concentrations, and the semitransparent blue field represents the simulation-based 95% confidence intervals for the median. The observed 2.5th and 97.5th percentiles are indicated by dashed lines, and the 95% confidence intervals for the model-predicted percentiles are indicated as corresponding semitransparent blue fields.

Based on the final model, personalized optimized dosing was calculated with the following formulas: prophylactic valganciclovir dose (number of milligrams every 24 h) =  $AUC_{ss-24h} \text{ target} \times CL/F$  and therapeutic valganciclovir dose (number of milligrams every 12 h) =  $AUC_{ss-12h} \text{ target} \times CL/F$ , where clearance (CL) was calculated using the equation developed from the model  $CL/F = 9.07 \times (\text{serum creatinine concentration}/72.5)^{-0.768} \times BSA^{1.31} \times 1.15^{\text{gender}}$ , with the serum creatinine concentration being expressed in micromoles per liter, BSA being expressed in square meters, and gender being fixed to 1 for male and 0 for female.

Using the personalized dosing regimen, 65.7% of  $AUC_{ss-24h}$  values would be within the therapeutic target for CMV prophylaxis, 19.7% would be over the therapeutic target range for CMV prophylaxis, and 14.6% would be under the therapeutic target range for CMV prophylaxis, while 65.4% of  $AUC_{ss-12h}$  values would be satisfactory for CMV treatment, 14.5% would be over 60 mg-h/liter, and 20.1% would be under 40 mg-h/liter.

## DISCUSSION

This work successfully described the valganciclovir population pharmacokinetics in a large cohort of children with renal transplant. Valganciclovir pharmacokinetics were better described by a two-compartment model with first-order elimination and were influenced by BSA and the serum creatinine concentration, and, for the first time in

children, a gender effect on clearance and the central volume of distribution was observed.

Valganciclovir, the prodrug of ganciclovir, is administered orally to prevent and treat CMV infection in renal transplant recipients (4). Its bioavailability is much higher than that of ganciclovir (11), but the pharmacokinetic variability of the ganciclovir disposition is high.

In the present study, the mean of the weight-normalized estimated clearance ( $0.39 \pm 0.14$  liter/h/kg) was comparable to the values previously reported in adults (0.32 liter/h/kg) (12) and in children (0.30 liter/h/kg) (13). Monitoring of ganciclovir on the basis of the area under the concentration-time curve is recommended in both adult and pediatric solid-organ transplant patients (14), with the target being an  $AUC_{ss}$  between two administrations (12 or 24 h) and at steady state of between 40 and 60 mg·h/liter (14, 15).

Different pharmacokinetic models describing ganciclovir pharmacokinetics have been published, and different dosing algorithms have been tested in adults and children, but the optimal dosing regimen remains controversial. In children in different age groups and with different indications for treatment, BSA, CW, and/or renal clearance has been identified to be a covariate explaining part of the observed variability (3, 8, 10, 13, 15, 16). Our first population pharmacokinetic study in 22 children with renal transplant identified that current weight and creatinine clearance, two factors that were included in the proposed dosing regimen, influenced ganciclovir clearance (13). The pharmacokinetic model by Vaudry and coauthors (8) suggested that the individual dose be calculated with the following equation:  $\text{dose} = 7 \times \text{BSA} \times \text{CrCLS}$ , where the dose is in milligrams and BSA is in square meters. However, this formula was associated with high exposures and toxicity in children with renal transplant with a low current weight and normal renal function, as pointed out by the FDA in 2010 (17). Pescovitz et al. revealed the influence of age on the valganciclovir apparent  $AUC_{ss}$  and CL, with bioavailability being lower in the youngest children (3). They recommended that doses be adjusted according to both BSA and renal function and that 100%, 50%, and 25% of a 520-mg/m<sup>2</sup> dose be given when renal clearance was over 70, between 50 and 69, or between 40 and 49 ml/min, respectively (3). As a result, with a pediatric dosing regimen derived from the adult dose and adjusted to renal function, the youngest patients (age, <5 years) were underexposed (4). Moreover, information on children with poor renal function is lacking, as they were excluded from the study. Åsberg et al. proposed a different population-based dosing algorithm, depending on CW and estimated clearance calculated by the Cockcroft and Gault equation (GFR):  $\text{dose (in milligrams)} = \text{weight} \times (0.07 \times \text{GFR} + k)$  (where  $k$  is a correction factor for renal function), but this was still not optimal in patients with extreme renal function or CW (15). Additional observational studies that have tested manufacturer doses and different dosing regimens, that have reported AUCs in small groups of patients (18–20), and that have shown that the target  $AUC_{ss}$  for ganciclovir was achieved only in a limited number of patients are available.

Dosing simulations with the published models tested different dosing regimens, but the percentage of patients reaching the pharmacologically desired ganciclovir exposure was, at most, 30% (15, 19, 20) and was 40% in the Robert Debré University Hospital prior to the present study. In contrast, by individualizing valganciclovir doses, 65.7% and 65.4% of  $AUC_{ss}$  values were within the therapeutic range for CMV infection prophylaxis and treatment, respectively, and are much higher than those achieved in previous studies. Moreover, as  $V_1$  and apparent CL are higher in boys than in girls, boys would need higher doses than girls to reach the AUC target. Such an influence of gender on valganciclovir pharmacokinetics was already described in adults (21) but was not described in children. Since ganciclovir is partly secreted by the kidney, this may result from gender differences in organic anion transporter expression and maturation (22).

Our study has some weaknesses, as the model was built only with ganciclovir concentrations following oral valganciclovir administration and bioavailability could

not be calculated. However, this parameter showed low variability in children, ranging from 55% to 60% (3, 11, 15).

**Conclusion.** The ganciclovir pharmacokinetic model developed in children with renal transplant receiving valganciclovir revealed that its apparent clearance is higher in boys than in girls, increases with BSA, and decreases with the serum creatinine concentration. The new dosing regimen would allow two-thirds of children to reach the pharmacological target but will need to be validated prospectively.

## MATERIALS AND METHODS

**Study population.** Pediatric renal transplant recipients receiving valganciclovir to prevent or treat CMV infection at the Robert Debré University Hospital were included in this retrospective analysis. Only patients with pharmacokinetic samples drawn during routine valganciclovir therapeutic drug monitoring were selected. The research was conducted in accordance with the recommendations of the institutional research committee (Comité de l'Evaluation de l'Ethique des Projets de Recherche Biomédicale de Robert Debré CEERB, no. 221), the 1964 Helsinki Declaration and its later amendments, and the French good clinical practice guidelines. No consent was required for this type of retrospective study. All patients received an induction therapy with antilymphocyte serum or basiliximab and were treated with prednisone, azathioprine, or mycophenolate mofetil (MMF)-mycophenolic acid (MPA) and tacrolimus or cyclosporine after transplantation.

**Valganciclovir administration, therapeutic drug monitoring, and pharmacokinetic sampling.** Valganciclovir was administered orally once a day (q24h; for prevention) or twice a day (q12h; for infection). Plasma samples for clinically indicated therapeutic drug monitoring were drawn at 1 h, 2 h, 4 h, 8 h, 12 h, and/or 24 h after valganciclovir administration, depending on the dosing regimen. A sample was obtained at 24 h when valganciclovir was administered once daily. The dosing recommendations in the Robert Debré University Hospital are dependent on the child's age and creatinine clearance estimated by the Schwartz formula (CrCLS) (23).

The valganciclovir dosing regimen for CMV prophylaxis depends on age: (i) for children less than 12 years of age, the recommended dose is calculated as dose (in milligrams) =  $7 \times$  body surface area (BSA)  $\times$  CrCLS (in milliliters per minute per  $1.73 \text{ m}^2$ ) once a day, with an upper limit of  $150 \text{ ml/min}/1.73 \text{ m}^2$  for CrCLS and with BSA estimated by Mosteller's equation  $\{\text{BSA (in square meters)} = [\text{height (in centimeters)} \times \text{weight (in kilograms)}]/3,600\}^{0.725}$  (8), and (ii) in children over 12 years of age, the recommended dose is adjusted according to CrCLS ( $900 \text{ mg}/24 \text{ h}$ ,  $450 \text{ mg}/24 \text{ h}$ ,  $450 \text{ mg}/48 \text{ h}$ , and  $450 \text{ mg}/72 \text{ h}$  for those with a CrCLS over  $60 \text{ ml/min}/1.73 \text{ m}^2$ ,  $40$  to  $59 \text{ ml/min}/1.73 \text{ m}^2$ ,  $25$  to  $39 \text{ ml/min}/1.73 \text{ m}^2$ , and  $10$  to  $25 \text{ ml/min}/1.73 \text{ m}^2$ , respectively) and is contraindicated in those with a CrCLS below  $10 \text{ ml/min}/1.73 \text{ m}^2$ . For the treatment of CMV infection, the same doses are given twice daily when CrCLS is over  $40 \text{ ml/min}/1.73 \text{ m}^2$ , once daily when CrCLS is between  $25$  and  $39 \text{ ml/min}/1.73 \text{ m}^2$ , and every  $48 \text{ h}$  when CrCLS is under  $25 \text{ ml/min}/1.73 \text{ m}^2$ . The ganciclovir area under the concentration-time curve at steady state ( $\text{AUC}_{0-\infty}$ ) target was between  $40$  and  $60 \text{ mg}\cdot\text{h}/\text{liter}$ .

Data on dose administration (e.g., start date, route, time of sampling, age, weight, gender) were available on the monitoring form requested for therapeutic drug monitoring. Additional patient characteristics and associated therapies were collected retrospectively from the medical charts: gender, height, serum creatinine concentration, proteinuria, underlying disease, indication for treatment (CMV infection or prophylaxis), and associated therapies.

**Analytical assay method for ganciclovir.** The analytical method for ganciclovir was adapted from the method described by Zhao et al. (13). Plasma concentrations were determined using high-performance liquid chromatography (HPLC) with UV detection at  $254 \text{ nm}$ . The calibration curve for ganciclovir ranged from  $0.25$  to  $25 \text{ mg/ml}$  ( $0.25$ ,  $0.5$ ,  $1$ ,  $5$ ,  $10$ , and  $25 \text{ mg/ml}$ ). The intraday coefficients of variation (CVs) were between  $0.5\%$  and  $2.3\%$  for calibration concentrations, and the interday CVs were  $6.25\%$  for calibration and  $3.3\%$  for the controls. The lower limit of quantification (LLOQ) was  $0.25 \text{ mg/ml}$ . Serum creatinine concentrations were measured by the Jaffé method using the Architect C system (Abbott Diagnostics, IL, USA).

**Population pharmacokinetic analysis.** Data were imported into R or Excel software for exploratory analysis and formatted for subsequent modeling. Pharmacokinetic analysis was carried out using the nonlinear mixed effects modeling program NONMEM (v7.2; Icon Development Solutions, Ellicott City, MD, USA) with the gfortran (v4.6.0) compiler. Oral doses of valganciclovir were administered into a depot compartment. The absorption of valganciclovir was modeled as a first-order process, and conversion to ganciclovir in the central compartment was assumed to be instantaneous. A first-order conditional estimation (FOCE) method with an interaction option was used to estimate the pharmacokinetic parameters and their variability. One- and two-compartment models with first-order elimination were tested. The two-compartment model aimed to estimate the absorption rate constant ( $k_a$ ), apparent oral clearance ( $\text{CL}/F$ ), apparent central volume of distribution ( $V_1/F$ ), apparent peripheral volume of distribution ( $V_2/F$ ), apparent intercompartmental clearance ( $Q/F$ ), and lag time (ALAG) using the ADVAN subroutines.

Interindividual variability was best described with an exponential model and was expressed as follows:  $\theta_i = \theta_{\text{mean}} \times e^{\eta_i}$ , where  $\theta_i$  represents the parameter value of the  $i$ th subject,  $\theta_{\text{mean}}$  is the typical value of the parameter in the population, and  $\eta_i$  is the variability between subjects, which is assumed to

follow a normal distribution with a mean of zero and a variance of  $\omega^2$ . To find the most appropriate residual error model, additive, proportional, and mixed error forms were tested.

**Covariate analysis.** The following continuous and categorical covariates were tested: demographic covariates (current body weight [CW], height, age, BSA, and gender), clinical covariates (comedications and underlying disease), and biological covariates (serum creatinine concentration, creatinine clearance, serum uremia, and proteinuria). Results are reported as the mean and standard deviation for continuous variables and number and percentage for categorical variables, with a *P* value of  $<0.05$  being considered statistically significant.

Covariate analysis followed a forward and backward selection process.

The likelihood ratio test was used to test the effect of each variable on the model parameters. During the first step of covariate model building, a covariate was included if a significant decrease ( $P < 0.05$ ,  $\chi^2$  distribution with 1 degree of freedom, reduction  $> 3.84$ ) in the objective function value (OFV) from the basic model was obtained. All the significant covariates were then added simultaneously into a full model. Subsequently, each covariate was independently removed from the full model. If the increase in the OFV was higher than 6.635 ( $P < 0.01$ ,  $\chi^2$  distribution), the covariate was considered significantly associated with the pharmacokinetic parameter and was therefore retained in the final model.

The allometric size approach was tested by incorporating the CW into the basic model (a coefficient of 1 for  $V_1/F$  and  $V_2/F$  and a coefficient of 0.75 for  $CL/F$  and  $Q/F$ ).

**Model validation.** Validation of the final model was based on graphical and statistical methods. The goodness of fit was assessed by the population predicted concentration (PRED) and individual predicted concentration (IPRED) versus the observed concentration (DV) and conditional weighted residuals (CWRES) versus PRED and time. A prediction-corrected visual predictive check (pc-VPC) and normalized prediction distribution errors (NPDE) were performed by using simulated concentrations of 500 virtual data sets with the final population model parameters. Then, the stability and performance of the final model were also assessed by means of a nonparametric bootstrap analysis with resampling and replacement. Resampling was repeated 500 times, and the values of the estimated parameters from the bootstrap procedure were compared with those estimated from the original data set. The 2.5th and 97.5th percentiles of the median population pharmacokinetic parameters were regarded as the lower and upper 95% confidence interval limits, respectively.

**Dosing regimen optimization.** The parameter estimates obtained from the model were used for valganciclovir dosing optimization. Five hundred simulated trials were performed using NONMEM. The simulation cohort was built with all the patients from the original data set. As the recommended  $AUC_{55}$  is between 40 and 60 mg·h/liter over 24 h for prevention and over 12 h for treatment (14), the  $AUC_{55}$  value of 50 mg·h/liter was selected for both prevention ( $AUC_{55-24\text{ h}}$ ) and treatment ( $AUC_{55-12\text{ h}}$ ) (14, 15).

## ACKNOWLEDGMENTS

We thank all the nurses who took care of the patients in the Department of Pediatric Nephrology, Robert Debré University Hospital, and the technicians who performed the biochemical analysis in the Department of Pediatric Pharmacology, Robert Debré University Hospital.

A.F., V.E., N.B., and E.J.-A. planned the study. A.M. and G.D. were in charge of patient care after renal transplantation. S.M. and T.S. were in charge of bioanalysis and pharmacological follow-up. A.F. conducted the pharmacokinetic analysis under the supervision of W.Z. and E.J.-A. A.F. wrote the first version of the manuscript with the help of E.J.-A. All authors revised and accepted the final and revised versions.

This research received no specific grant from any funding agency in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

The Children's Hospital of Hebei Province is affiliated with Hebei Medical University.

A. Facchin, V. Elie, N. Benyoub, S. Magreault, A. Maisin, T. Storme, W. Zhao, G. Deschenes, and E. Jacqz-Aigrain have no conflict of interest to declare.

## REFERENCES

- Humar A, Snyderman D, AST Infectious Diseases Community of Practice. 2009. Cytomegalovirus in solid organ transplant recipients. *Am J Transplant* 9(Suppl 4):S78–S86. <https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2009.02897.x>.
- Asberg A, Humar A, Rollag H, Jardine AG, Mouas H, Pescovitz MD, Sgarabotto D, Tuncer M, Noronha IL, Hartmann A, VICTOR Study Group. 2007. Oral valganciclovir is noninferior to intravenous ganciclovir for the treatment of cytomegalovirus disease in solid organ transplant recipients. *Am J Transplant* 7:2106–2113. <https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2007.01910.x>.
- Pescovitz MD, Ettenger RB, Strife CF, Sherbotie JR, Thomas SE, McDiarmid S, Bartosh S, Ives J, Bouw MR, Bucuvalas J. 2009. Pharmacokinetics of oral valganciclovir solution and intravenous ganciclovir in pediatric renal and liver transplant recipients. *Transpl Infect Dis* 12:195–203. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3062.2009.00478.x>.
- Yu MA, Park JM. 2013. Valganciclovir: therapeutic role in pediatric solid organ transplant recipients. *Expert Opin Pharmacother* 14:807–815. <https://doi.org/10.1517/14656566.2013.778244>.
- Meine Jansen CF, Toet MC, Rademaker CMA, Ververs TFF, Gerards LJ, van Loon AM. 2005. Treatment of symptomatic congenital cytomegalovirus infection with valganciclovir. *J Perinat Med* 33:364–366.
- Schulzke S, Bührer C. 2006. Valganciclovir for treatment of congenital cytomegalovirus infection. *Eur J Pediatr* 165:575–576. <https://doi.org/10.1007/s00431-006-0109-0>.
- Müller A, Eis-Hübinger AM, Brandhorst G, Heep A, Bartmann P, Franz AR. 2008. Oral valganciclovir for symptomatic congenital cytomegalovirus

- infection in an extremely low birth weight infant. *J Perinatol* 28:74–76. <https://doi.org/10.1038/sj.jp.7211854>.
8. Vaudry W, Ettenger R, Jara P, Varela-Fascinetto G, Bouw MR, Ives J, Walker R, Valcyte WV16726 Study Group. 2009. Valganciclovir dosing according to body surface area and renal function in pediatric solid organ transplant recipients. *Am J Transplant* 9:636–643. <https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2008.02528.x>.
  9. Razonable RR. 2018. Drug-resistant cytomegalovirus: clinical implications of specific mutations. *Curr Opin Organ Transplant* 23:388–394. <https://doi.org/10.1097/MOT.0000000000000541>.
  10. Stockmann C, Roberts JK, Knackstedt ED, Spigarelli MG, Sherwin CM. 2015. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of ganciclovir and valganciclovir in children with cytomegalovirus infection. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 11:205–219. <https://doi.org/10.1517/17425255.2015.988139>.
  11. Pescovitz MD, Rabkin J, Merion RM, Paya CV, Pirsch J, Freeman RB, O'Grady J, Robinson C, To Z, Wren K, Banken L, Buhles W, Brown F. 2000. Valganciclovir results in improved oral absorption of ganciclovir in liver transplant recipients. *Antimicrob Agents Chemother* 44:2811–2815. <https://doi.org/10.1128/AAC.44.10.2811-2815.2000>.
  12. Czock D, Scholle C, Rasche FM, Schaarschmidt D, Keller F. 2002. Pharmacokinetics of valganciclovir and ganciclovir in renal impairment. *Clin Pharmacol Ther* 72:142–150. <https://doi.org/10.1067/mcp.2002.126306>.
  13. Zhao W, Baudouin V, Zhang D, Deschênes G, Le Guellec C, Jacqz-Aigrain E. 2009. Population pharmacokinetics of ganciclovir following administration of valganciclovir in paediatric renal transplant patients. *Clin Pharmacokinet* 48:321–328. <https://doi.org/10.2165/00003088-200948050-00004>.
  14. Wiltshire H, Paya CV, Pescovitz MD, Humar A, Dominguez E, Washburn K, Blumberg E, Alexander B, Freeman R, Heaton N, Zuideveld KP, Valganciclovir Solid Organ Transplant Study Group. 2005. Pharmacodynamics of oral ganciclovir and valganciclovir in solid organ transplant recipients. *Transplantation* 79:1477–1483. <https://doi.org/10.1097/01.TP.0000164512.99703.AD>.
  15. Åsberg A, Bjerre A, Neely M. 2014. New algorithm for valganciclovir dosing in pediatric solid organ transplant recipients. *Pediatr Transplant* 18:103–111. <https://doi.org/10.1111/ptr.12179>.
  16. Vezina HE, Brundage RC, Balfour HH. 2014. Population pharmacokinetics of valganciclovir prophylaxis in paediatric and adult solid organ transplant recipients. *Br J Clin Pharmacol* 78:343–352. <https://doi.org/10.1111/bcp.12343>.
  17. Center for Drug Evaluation and Research, Food and Drug Administration. 2010. FDA drug safety communication: new dosing recommendations to prevent potential Valcyte (valganciclovir) overdose in pediatric transplant patients. <https://www.fda.gov/Drugs/DrugSafety/ucm225727.htm>.
  18. Launay E, Théoret Y, Litalien C, Duval M, Alvarez F, Lapeyraque A-L, Phan V, Larocque D, Poirier N, Lamarre V, Ovetchkine P. 2012. Pharmacokinetic profile of valganciclovir in pediatric transplant recipients. *Pediatr Infect Dis J* 31:405–407. <https://doi.org/10.1097/INF.0b013e3182463a19>.
  19. Villeneuve D, Brothers A, Harvey E, Kemna M, Law Y, Nemeth T, Gantt S. 2013. Valganciclovir dosing using area under the curve calculations in pediatric solid organ transplant recipients. *Pediatr Transplant* 17:80–85. <https://doi.org/10.1111/ptr.12030>.
  20. Peled O, Berkovitch M, Rom E, Bilavsky E, Bernfeld Y, Dorfman L, Pappo A, Ziv-Baran T, Brandriss N, Bar-Haim A, Amir J, Ashkenazi-Hoffnung L. 2017. Valganciclovir dosing for cytomegalovirus prophylaxis in pediatric solid-organ transplant recipients: a prospective pharmacokinetic study. *Pediatr Infect Dis J* 36:745–750. <https://doi.org/10.1097/INF.0000000000001595>.
  21. Perrottet N, Csajka C, Pascual M, Manuel O, Lamoth F, Meylan P, Aubert JD, Venetz JP, Soccal P, Decosterd LA, Biollaz J, Buclin T. 2009. Population pharmacokinetics of ganciclovir in solid-organ transplant recipients receiving oral valganciclovir. *Antimicrob Agents Chemother* 53:3017–3023. <https://doi.org/10.1128/AAC.00836-08>.
  22. Nigam SK, Bush KT, Martovetsky G, Ahn S-Y, Liu HC, Richard E, Bhatnagar V, Wu W. 2015. The organic anion transporter (OAT) family: a systems biology perspective. *Physiol Rev* 95:83–123. <https://doi.org/10.1152/physrev.00025.2013>.
  23. Schwartz GJ, Brion LP, Spitzer A. 1987. The use of plasma creatinine concentration for estimating glomerular filtration rate in infants, children, and adolescents. *Pediatr Clin North Am* 34:571–590. [https://doi.org/10.1016/s0031-3955\(16\)36251-4](https://doi.org/10.1016/s0031-3955(16)36251-4).

## VII. Synthèse des 4 études

Les études n°1 et n°2 ont permis de rechercher les facteurs de variabilité de la cinétique de la ciprofloxacine et de la ceftazidime chez les enfants atteints de différentes **pathologies** (mucoviscidose, drépanocytose, pathologies malignes...). **L'analyse pharmacocinétique a montré un effet pathologie** dans ces deux études : la **drépanocytose entraîne une augmentation de la clairance de la ciprofloxacine** et la **mucoviscidose augmente la clairance de la ceftazidime**. Dans les deux cas, l'augmentation de la clairance rend nécessaire une adaptation des modalités posologiques pour optimiser le traitement. La ciprofloxacine est un antibiotique concentration-dépendant, il faut donc optimiser le rapport  $C_{max}/CMI$  ou  $AUC/CMI$  en augmentant la dose. La ceftazidime, quant à elle, est un antibiotique temps-dépendant, il faut donc augmenter le temps durant lequel les concentrations sont supérieures à la CMI du germe, en pratique, en l'administrant par des perfusions plus prolongées ou continues. Dans les deux cas, les modifications posologiques qui ont été proposées devront dans un second temps être testées et validées cliniquement.

L'étude n°3 a été réalisée pour déterminer les paramètres PK du céfotaxime dans une population d'enfants drépanocytaires. **Aucune donnée n'existait dans cette population** malgré le très large emploi du céfotaxime chez ces patients. Comparativement aux données existantes dans la littérature, les enfants drépanocytaires ont une clairance du céfotaxime plus élevée que les enfants atteints d'une autre pathologie. Des **recommandations posologiques ont été établies** pour cette population. Elles font actuellement l'objet d'une validation externe à l'aide d'une nouvelle cohorte d'enfants drépanocytaires issus du service de pédiatrie du centre hospitalier Intercommunal Robert Ballanger. Celle-ci est réalisée à partir de fonds de tube, provenant des analyses biologiques de routine réalisées dans le cadre de la prise en charge des enfants drépanocytaires. Cette étude permettra de valider la robustesse du modèle pharmacocinétique et les recommandations posologiques qui en découlent. L'impact clinique en termes de réduction des complications infectieuses et de la durée d'hospitalisation de ces épisodes sera plus complexe à évaluer.

L'étude n°4, portant sur le valganciclovir chez les enfants transplantés rénaux a été réalisée dans un contexte où les **recommandations posologiques de ce médicament sont encore controversées**. Au sein même de notre cohorte, 42,5% des enfants avaient des AUC comprises dans la fourchette thérapeutique habituellement utilisée (Wiltshire et al. 2005) pour le traitement prophylactique de la maladie liée au CMV et 34,5% des enfants atteignaient la cible pharmacologique dans le cadre d'un traitement curatif. L'analyse pharmacocinétique nous a permis d'élaborer des recommandations posologiques individualisées en fonction des trois facteurs de variabilité identifiés (surface corporelle, créatininémie et genre) pour permettre aux deux-tiers des enfants traités d'atteindre la fourchette thérapeutique. La continuité de ce travail serait d'évaluer prospectivement l'efficacité pharmacocinétique et clinique de la dose individualisée, mais là encore, les difficultés sont réelles.

Ainsi, ces différentes études ont pu montrer le **grand nombre de facteurs (covariables) pouvant influencer la pharmacocinétique des médicaments chez l'enfant**. Elles ont été résumées dans le tableau 2. Cependant, toutes les études pharmacocinétiques pédiatriques doivent systématiquement prendre en compte et analyser les possibles **effets de la croissance et de la maturation de l'organisme**.

Population						Modèle			
Etude	N	Age (ans)	Poids (kg)	CrCLS (mL/min/m <sup>2</sup> )	Terrains de la population	CPT	Nombre de covariables	Impact sur la clairance	Impact sur le volume de distribution
<b>1 (CAZ)</b>	108	0,1 -12	2,9 - 62,6	33 - 872	<b>Hétérogène :</b> Mucoviscidose ; pathologies malignes ; Autres	2	3	Allométrie ; Mucoviscidose (+82%) ; Clairance rénale	Allométrie
<b>2 (CIP)</b>	60	0,3 - 18,9	5,6 - 61,4	28 - 545	<b>Hétérogène :</b> Drépanocytose ; Pathologies malignes ; Mucoviscidose ; Autres	2	4	Allométrie ; Drépanocytose (+89%) ; Créatininémie ; Age	Allométrie
<b>3 (CTX)</b>	78	1,1 - 18,7	9,5 - 81,2	134 - 465	<b>Homogène :</b> Drépanocytose	1	3	Poids ; STA (+22%)	Poids
<b>4 (ValG)</b>	104	2,1 -20,5	11,9-83	10 - 189	<b>Homogène :</b> Transplantés rénaux	2	5	Surface corporelle ; Créatininémie ; Genre (+ 15%)	Surface corporelle ; Genre (+14%)

**Tableau 2 – Tableau récapitulatif des 4 études.** N : nombre d'enfants inclus ; CrCLS : Clairance de la créatinine estimée par la formule de Schwartz ; CPT : Nombre de compartiments ; CAZ : Cefotaxime ; CIP : Ciprofloxacine ; CTX : Céfotaxime ; ValG ; Valganciclovir ; STA : Syndrome thoracique aigu.

## **VIII. Discussion**

Confronté aux problématiques de l'émergence des résistances aux anti-infectieux et au taux élevé de morbi-mortalité de cause infectieuse chez les enfants, ce travail de thèse a pour objectif l'amélioration de la prise en charge thérapeutique des infections en pédiatrie. La prise en charge optimale, c'est-à-dire l'administration du bon anti-infectieux, à la bonne dose, le plus rapidement possible, est un des facteurs de succès du traitement.

Notre travail s'est plus particulièrement centré sur les anti-infectieux pour lesquels les données sont insuffisantes pour en valider le schéma posologique dans des indications pédiatriques fréquentes, mal étudiées et caractérisées par des particularités physiologiques pouvant impacter le devenir des médicaments dans l'organisme. Nous avons en particulier étudié des groupes d'enfants d'âges très variables, atteints de diverses pathologies dont la drépanocytose, la mucoviscidose, une hémopathie maligne ou des situations cliniques particulières comme les enfants transplantés rénaux. Pour cela, nous avons réalisé plusieurs études de pharmacocinétique de population.

**1) La première étape** de notre travail a permis de construire et valider les bases de données nécessaires à chaque étude. Chaque base inclut les caractéristiques essentielles de la population, qui doivent être précises. Les enfants inclus présentent des caractéristiques très variables (poids, taille, âge...) comme nous avons pu le voir dans les 4 études présentées ci-dessus. Ces études doivent aussi concerner un nombre suffisant d'enfants. Il n'existe pas de modalité précise de calcul du « nombre de sujets nécessaires » à une étude pharmacocinétique de population et la règle de « 10 patients pour une covariable » est plutôt une règle tacite. En pédiatrie, l'inclusion d'un nombre suffisant d'enfants peut s'avérer long. Il est difficile de réaliser des études prospectives pour des médicaments faiblement utilisés, comme par exemple la ciprofloxacine, pour laquelle nous avons dû compléter les données prospectives par des données rétrospectives. Il est possible de réaliser des études multicentriques mais leur mise en place et l'hétérogénéité des pratiques suivant les centres et les pays peuvent également diminuer la qualité des résultats.

2) **L'analyse de population proprement dite** nécessite de sélectionner le modèle de base adéquat (nombre de compartiments) puis de rechercher les covariables importantes en pédiatrie, et celles dépendantes de chaque étude. L'analyse des covariables doit toujours rechercher et prendre en compte l'effet de la croissance et de la maturation des enfants sur la variabilité des paramètres pharmacocinétiques (Urien 2013).

Dans nos différentes études, les modèles à 1 ou 2 compartiments ont été testés. Le modèle à 2 compartiments a été sélectionné pour trois molécules (ceftazidime, ciprofloxacine et valganciclovir) au vu de l'amélioration de la fonction objective, c'est-à-dire la meilleure correspondance du modèle aux concentrations. Ce modèle à 2 compartiments est en accord avec les données de la littérature pour ces molécules (Schaefer et al. 1996 ; Payen et al. 2003 ; Rajagopalan et al. 2003 ; Vaudry et al. 2009 ; Zhao et al. 2009, 2014 ; Pescovitz et al. 2010 ; Bradley et al. 2016 ; Cojutti et al. 2019). Pour le céfotaxime, un modèle monocompartimental suffisait à décrire les concentrations de la population, comme déjà décrit dans la littérature (Kearns et al. 1995).

3) Plusieurs « descripteurs » peuvent décrire **l'effet de la croissance et de la maturation** de l'enfant sur la pharmacocinétique des médicaments : le poids (facilement mesurable), la taille, la surface corporelle, l'index de masse corporelle, la masse maigre, etc. L'approche par allométrie, c'est-à-dire l'étude de l'effet de la dimension corporelle sur les différents processus physiologiques, est particulièrement intéressante. Elle **permet d'établir une relation entre l'évolution des paramètres PK** (volume de distribution, clairance) **et l'évolution du poids de l'enfant** (Anderson et al. 2008). L'intérêt de cette méthode est de prendre en compte le fait que la clairance du médicament (en particulier par la voie rénale) n'évolue pas de façon linéaire avec le poids. Selon la loi de l'allométrie, les paramètres PK structuraux sont exprimés par des fonctions puissances du poids avec des coefficients de 1 pour le volume de distribution du volume (poids/poids médian)<sup>1</sup> et 0,75 pour la clairance  $CL = (\text{poids/poids médian})^{0,75}$ . La **mise à l'échelle allométrique de 0,75 est considérée comme un bon descripteur de l'évolution du taux de filtration glomérulaire, des volumes hépatiques et rénaux et du débit cardiaque chez les patients pédiatriques, y compris les nouveau-nés.** (Rhodin et al. 2009

; Anderson et al. 2013). L'approche allométrique nous a permis de décrire une partie de la variabilité liée au stade de croissance dans la variabilité pharmacocinétique de la ceftazidime et de la ciprofloxacine dans les études n°1 et n°2.

Cependant, ces exposants peuvent ne pas être applicable pour prédire la clairance de certains médicaments, en particulier ceux qui présentent un processus d'élimination autre que par voie rénale/filtration glomérulaire. Idéalement, pour optimiser la posologie adaptée à l'âge sur tout le spectre d'âge pédiatrique, **la valeur exacte utilisée pour la mise à l'échelle allométrique doit être déterminée pour chaque médicament par des études pharmacocinétiques** (Le et al. 2018) comme nous avons dû procéder dans l'étude portant sur le céfotaxime, en estimant les coefficients de la fonction puissance du poids. Les **exposants retrouvés pour cette molécule dans la population pédiatrique drépanocytaire sont de 0,8 et 0,7 respectivement pour la clairance et le volume de distribution**. Dans ce cas précis, les coefficients allométriques n'ont pas pu être utilisés. S'agissant d'une population d'enfants drépanocytaires, les explications probables sont que les processus de maturation rénaux et hépatiques, les modifications des volumes de distribution et des profils protéiques varient en raison de différences liées à la maladie (inflammation chronique, hyperfiltration glomérulaire, altération du métabolisme).

Pour le valganciclovir, **la surface corporelle a été un meilleur descripteur de l'effet du stade de croissance sur la cinétique du valganciclovir**. L'approche allométrique n'a pas été adaptée, probablement à cause de l'homogénéité de la population uniquement constituée d'enfants transplantés rénaux avec, pour conséquence l'impact de la greffe d'un rein qui pouvait provenir aussi bien d'un adulte que d'un enfant. L'allométrie ne pouvait donc pas être un bon descripteur de la maturation de la filtration glomérulaire qui dépendait ici du greffon.

Ainsi, dans les quatre études présentées dans ce travail, **le paramètre de croissance a été pris en compte par différents descripteurs : la surface corporelle, l'allométrie avec les coefficients fixés et le poids**. Bien que l'allométrie soit une approche séduisante, elle n'a pas été la plus précise pour décrire la cinétique du valganciclovir et du céfotaxime. La raison pour laquelle l'allométrie n'est pas adaptée à toutes les molécules n'est pas complètement claire. Ceci pourrait être dû à des processus d'élimination mixtes (rénale et non rénale), des modifications pathologiques liées à la maladie et qui n'affectent pas un enfant ayant une maturation « normale ». C'est pourquoi dans les études pharmacocinétiques de population en **pédiatrie, il ne faut pas tester uniquement l'approche allométrique mais aussi les différents descripteurs de l'effet du stade de croissance**.

4) Une fois le **stade de croissance normalisé, les effets d'autres covariables telles que l'âge et la fonction rénale peuvent être étudiés**.

La deuxième spécificité à prendre en compte dans la population pédiatrique est **l'effet du niveau de maturation des organes impliqués dans la disposition des médicaments**. Tout comme le poids, **l'âge est un facteur important** à intégrer lors de l'optimisation des posologies des médicaments chez les nouveau-nés, les nourrissons et les jeunes enfants car il est bien **corrélé avec la fonction des organes responsables de la clairance, à la fois rénale et hépatique**. Le poids et l'âge sont des facteurs confondants chez l'enfant. Pour estimer l'effet de l'âge sur la maturation, il faut dans un premier temps fixer l'effet lié au poids ou à la croissance de l'enfant.

La **maturation des fonctions hépatiques** qui affectent les médicaments subissant une métabolisation ou une élimination hépatique **se produit à des vitesses différentes en fonction de l'âge**. Comme nous l'avons vu, l'activité de la plupart de ces enzymes est réduite pendant la petite enfance, la maturation se produisant de la petite enfance à la fin de l'enfance à des rythmes différents en fonction de l'enzyme (Le et al. 2018). En plus des fonctions rénales et hépatiques qui contribuent au métabolisme et à l'élimination d'un médicament, donc à sa clairance et plus concrètement à son dosage, **l'âge influence également la distribution du**

**médicament.** Les modifications physiologiques liées à l'âge modifient la composition corporelle et la liaison aux protéines plasmatiques, le volume de distribution des médicaments chez les patients pédiatriques change en conséquence (Le et al. 2018).

Les paramètres pharmacocinétiques peuvent être décrits chez un patient pédiatrique comme **le résultat des influences de la croissance, de la maturation et de la fonction des différents organes. La fonction d'organe (influant par exemple sur la capacité d'élimination) peut être altérée** par différents états pathologiques, certaines prises en charge, comédications etc. Elle **peut être décrite par des marqueurs spécifiques** comme la créatininémie ou la cystatine C pour la fonction rénale (Schwartz et al. 1987 ; Vidal-Petiot et al. 2017). Dans le cas d'un médicament exclusivement éliminé par voie rénale, il faudra donc prendre en compte le stade de croissance de l'enfant (taille, allométrie), le stade de maturation (âge), mais aussi « l'état » de la fonction rénale au moment de l'étude, décrite par un marqueur de celle-ci (créatininémie). En revanche, **les marqueurs de la fonction hépatique sont plus complexes.** La dysfonction hépatique (légère, modérée, sévère) peut être classée en fonction de la concentration de la bilirubinémie et d'une enzyme hépatique, l'aspartate amino transférase (ASAT) (Ramalingam et al. 2010). Certains biomarqueurs, comme la bilirubinémie peuvent être dosés en routine dans la prise en charge des patients. Celle-ci peut apporter des informations indirectes sur la fonction d'absorption, de conjugaison et d'excrétion du foie mais son augmentation peut être due à des facteurs extra-hépatiques (Hoekstra et al. 2013). D'autres biomarqueurs spécifiques des voies métaboliques hépatiques comme le 4 $\beta$ -hydroxycholestérol, reflètent l'activité du CYP 3A4 mais ne sont pas utilisés en routine (Mao et al. 2017). L'activité de plusieurs enzymes hépatiques peut être mesurée en administrant des molécules spécifiquement métabolisées par une des enzymes (caféine : CYP 1A2, N-acetyltransférase-2 et la xanthine oxidase, dextrométhorphan : CYP2D6, oméprazole : CYP2C19, midazolam : CYP3A) (Chainuvati et al. 2003). Enfin, les polymorphismes génétiques des enzymes du métabolisme reflétant leur activité peuvent être étudiés pour rechercher les métaboliseurs lents ou rapides (Oscarson 2003).

Dans les études n°1 et 2, la **fonction et la maturation des organes** ont bien été prises en compte en plus de l'effet de la croissance, **pour la ceftazidime par la clairance de la créatinine calculée à l'aide de la formule de Schwartz, elle-même prenant en compte l'âge, la créatinine et la taille**, soit par une **combinaison de la créatininémie et de l'âge pour la ciprofloxacine**. En revanche, dans le cas du **valganciclovir, seule la créatininémie, marqueur de la fonction rénale, décrivait la fonction d'organe**, car il s'agissait d'enfants transplantés rénaux ne présentant pas une maturation rénale uniforme en fonction de la date de la greffe, du type et de l'âge du greffon... **Aucun descripteur de la fonction d'organe et de sa maturation n'a été implémenté pour décrire la cinétique du céfotaxime dans la population drépanocytaire** et ce, probablement en raison de la prise en charge aigüe des crises vaso-occlusives et de la fièvre chez les patients drépanocytaires qui passe toujours par une hyperhydratation, additionnée à un phénomène d'hyperfiltration glomérulaire, caractéristique de la maladie drépanocytaire à son stade précoce (Ware et al. 2010 ; Becker 2011).

**D'autres facteurs peuvent également impacter la cinétique des médicaments aussi bien chez l'adulte qu'en pédiatrie** : l'état clinique et pathologique, les perturbations biologiques, les facteurs génétiques et environnementaux (alimentation, exposition chimique et/ou physique...). Dans les quatre travaux, ces facteurs de variabilité influencent la cinétique des médicaments à l'étude : **le genre de l'enfant, la drépanocytose, le syndrome thoracique aigu et la mucoviscidose**. En effet, de ces pathologies découlent des modifications liées à la pathologie prise en charge, soit aigües (STA), soit chroniques (mucoviscidose, drépanocytose), caractérisant la progression de la maladie, qui altèrent la cinétique des médicaments. L'impact du genre sur la cinétique du valganciclovir pourrait être dû à des différences de maturation de l'expression d'un transporteur rénal responsable de l'élimination du GCV entre les 2 sexes (Perrottet et al. 2009). Il peut être également dû à une différence dans la composition corporelle entre les filles et les garçons.

En conclusion, **les facteurs spécifiques de la population pédiatrique tels que le stade de croissance et de maturation, les facteurs associés à la fonction des organes, liés à l'état clinique et biologique, à l'environnement, etc. doivent être systématiquement recherchés** au cours des études pharmacocinétiques en pédiatrie. Comme nous l'avons vu, différents descripteurs et biomarqueurs sont utilisés pour décrire les particularités pharmacocinétiques d'un médicament chez l'enfant. Sans étude spécifique, **il est impossible de prédire les descripteurs adaptés, ni leur degré d'influence dans une population donnée, qu'ils soient spécifiques de la population pédiatrique ou non.**

Ajoutée à la variabilité pharmacocinétique des anti-infectieux en pédiatrie, la physiopathologie de nombreuses infections varie entre les adultes, les enfants et les nouveau-nés. Il peut exister des **différences de présentation clinique, d'histoire naturelle, de comorbidités sous-jacentes et d'évolution sous traitement** entre les différents groupes d'âge. Actuellement, **les cibles pharmacologiques des antibiotiques proviennent principalement de modèles précliniques *in vitro* et animaux, secondairement utilisées dans les études cliniques humaines chez l'adulte** (Drusano 2007). La plupart des études PKPD, dont celles présentées dans ce travail, sont basées sur un paramètre PD utilisé chez l'enfant mais issu des données de l'adulte. Cependant, la maturation immunologique influençant les capacités/défenses immunitaires et/ou certaines maladies pédiatriques entraînant une susceptibilité accrue aux infections, pouvant **impacter le paramètre PD optimal. La réponse thérapeutique microbiologique et clinique chez l'enfant peut donc ne pas être similaire à celle des adultes** (Le et al. 2018). Ainsi, le principal défi de l'optimisation posologique des médicaments chez les enfants est **de comprendre si et comment « la réponse pharmacodynamique » diffère de celle des adultes.** (Anderson et al. 2013). Dans les études n°1 et n°3, les cibles pharmacologiques de la ceftazidime et du céfotaxime ont été majorées en raison de la vulnérabilité aux infections des populations pédiatriques drépanocytaires et atteintes de mucoviscidose et du bon profil de tolérance de ces deux molécules. En revanche, pour la ciprofloxacine et le valganciclovir, les profils de tolérance étant plus critiques (toxicités doses-dépendantes), nous avons maintenu les valeurs des cibles pharmacologiques adultes.

**L'optimisation posologique est ainsi directement liée aux données pharmacocinétiques et à la qualité de l'indice pharmacodynamique.** Des études pharmacodynamiques supplémentaires validant le paramètre PK/PD seraient nécessaires dans la population pédiatrique.

## ***IX. Conclusion***

Les différents travaux portant sur les anti-infectieux en pédiatrie réalisés dans cette thèse répondent à plusieurs besoins de santé publique. Ils favorisent l'usage approprié des anti-infectieux, outil de lutte contre l'émergence des résistances, par la prise en compte des propriétés pharmacocinétiques propres à cette population, des propriétés pharmacodynamiques propres aux anti-infectieux étudiés et aux données microbiologiques existantes. Ils répondent également aux besoins de la pédiatrie en fournissant des recommandations posologiques spécifiques en fonction du germe responsable de l'infection à traiter (CMI), des caractéristiques propres à l'enfant et d'éventuelles pathologies sous-jacentes. L'optimisation posologique des anti-infectieux en pédiatrie est indispensable ; l'efficacité clinique, la sécurité et le risque de sélection de résistances en dépendent.

## X. **Bibliographie**

- Aarons L. Population pharmacokinetics: theory and practice. *Br J Clin Pharmacol.* déc 1991;32(6):669-70.
- Agunod M, Yamaguchi N, Lopez R, et al. Correlative study of hydrochloric acid, pepsin, and intrinsic factor secretion in newborns and infants. *Am J Dig Dis.* juin 1969;14(6):400-14.
- Ahsman MJ, Wildschut ED, Tibboel D, et al. Pharmacokinetics of Cefotaxime and Desacetylcefotaxime in Infants during Extracorporeal Membrane Oxygenation. *Antimicrob Agents Chemother.* mai 2010;54(5):1734-41.
- Anderson BJ, Holford NHG. Mechanism-based concepts of size and maturity in pharmacokinetics. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2008;48:303-32.
- Anderson BJ, Holford NHG. Understanding dosing: children are small adults, neonates are immature children. *Arch Dis Child.* sept 2013;98(9):737-44.
- van den Anker JN, Schoemaker RC, Hop WC, et al. Ceftazidime pharmacokinetics in preterm infants: effects of renal function and gestational age. *Clin Pharmacol Ther.* déc 1995;58(6):650-9.
- Åsberg A, Bjerre A, Neely M. New algorithm for valganciclovir dosing in pediatric solid organ transplant recipients. *Pediatr Transplant.* févr 2014;18(1):103-11.
- Balant L, Dayer P, Auckenthaler R. Clinical pharmacokinetics of the third generation cephalosporins. *Clin Pharmacokinet.* avr 1985;10(2):101-43.
- Barker CIS, Germovsek E, Hoare RL, et al. Pharmacokinetic/pharmacodynamic modelling approaches in paediatric infectious diseases and immunology. *Adv Drug Deliv Rev.* 30 juin 2014;73(100):127-39.
- Becker AM. Sickle cell nephropathy: challenging the conventional wisdom. *Pediatr Nephrol Berl Ger.* déc 2011;26(12):2099-109.
- Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases - 9780323482554 | Elsevier Health Student and Practitioner Medical Books, ebooks and journals [Internet]. 9<sup>e</sup> éd. 2019 [cité 7 juill 2020]. Disponible sur: <https://www.eu.elsevierhealth.com/mandell-douglas-and-bennetts-principles-and-practice-of-infectious-diseases-9780323482554.html?dmnum=12449>
- Béranger A, Oualha M, Urien S, et al. Population Pharmacokinetic Model to Optimize Cefotaxime Dosing Regimen in Critically Ill Children. *Clin Pharmacokinet.* 2018;57(7):867-75.
- Berseth CL. Gestational evolution of small intestine motility in preterm and term infants. *J Pediatr.* oct 1989;115(4):646-51.
- Blake MJ, Castro L, Leeder JS, et al. Ontogeny of drug metabolizing enzymes in the neonate. *Semin Fetal Neonatal Med.* avr 2005;10(2):123-38.
- Blumenfeld YJ, Reynolds-May MF, Altman RB, et al. Maternal-fetal and neonatal pharmacogenomics: a review of current literature. *J Perinatol Off J Calif Perinat Assoc.* sept 2010;30(9):571-9.

- Boeddha NP, Schlapbach LJ, Driessen GJ, et al. Mortality and morbidity in community-acquired sepsis in European pediatric intensive care units: a prospective cohort study from the European Childhood Life-threatening Infectious Disease Study (EUCLIDS). *Crit Care Lond Engl*. 31 2018;22(1):143.
- Bradley JS, Armstrong J, Arrieta A, et al. Phase I Study Assessing the Pharmacokinetic Profile, Safety, and Tolerability of a Single Dose of Ceftazidime-Avibactam in Hospitalized Pediatric Patients. *Antimicrob Agents Chemother*. 2016;60(10):6252-9.
- Bradley JS, Jackson MA, Committee on Infectious Diseases, et al. The use of systemic and topical fluoroquinolones. *Pediatrics*. oct 2011;128(4):e1034-1045.
- Brogden RN, Spencer CM. Cefotaxime. *Drugs*. 1 mars 1997;53(3):483-510.
- Brouwer KLR, Aleksunes LM, Brandys B, et al. Human Ontogeny of Drug Transporters: Review and Recommendations of the Pediatric Transporter Working Group. *Clin Pharmacol Ther*. sept 2015;98(3):266-87.
- Buatois S, Le Merdy M, Labat L, et al. Principales modifications pharmacocinétiques chez l'enfant. *Toxicol Anal Clin*. sept 2014;26(3):156-64.
- Bulitta JB, Kinzig M, Naber CK, et al. Population pharmacokinetics and penetration into prostatic, seminal, and vaginal fluid for ciprofloxacin, levofloxacin, and their combination. *Chemotherapy*. 2011;57(5):402-16.
- Carmine AA, Brogden RN, Heel RC, et al. Cefotaxime. *Drugs*. 1 mars 1983;25(3):223-89.
- Chainuvati S, Nafziger AN, Leeder JS, et al. Combined phenotypic assessment of cytochrome p450 1A2, 2C9, 2C19, 2D6, and 3A, N-acetyltransferase-2, and xanthine oxidase activities with the « Cooperstown 5+1 cocktail ». *Clin Pharmacol Ther*. nov 2003;74(5):437-47.
- Clinical Trial Transformation Initiative. *Peds Trials | Improving Pediatric Trials In Antibacterial Drug Development* [Internet]. 2017 [cité 29 juin 2020]. Disponible sur: <https://www.ctti-clinicaltrials.org/projects/peds-trials>
- Cojutti PG, Maximova N, Schillani G, et al. Population pharmacokinetics of continuous-infusion ceftazidime in febrile neutropenic children undergoing HSCT: implications for target attainment for empirical treatment against *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother*. 1 juin 2019;74(6):1648-55.
- Conil JM, Georges B, Lavit M, et al. A population pharmacokinetic approach to ceftazidime use in burn patients: influence of glomerular filtration, gender and mechanical ventilation. *Br J Clin Pharmacol*. juill 2007;64(1):27-35.
- Conil J-M, Georges B, de Lussy A, et al. Ciprofloxacin use in critically ill patients: pharmacokinetic and pharmacodynamic approaches. *Int J Antimicrob Agents*. déc 2008;32(6):505-10.
- Conil J-M, Georges B, Ravat F, et al. Ceftazidime dosage recommendations in burn patients: from a population pharmacokinetic approach to clinical practice via Monte Carlo simulations. *Clin Ther*. oct 2013;35(10):1603-12.
- Conroy S, Choonara I, Impicciatore P, et al. Survey of unlicensed and off label drug use in paediatric wards in European countries. *Br Med J*. 8 janv 2000;320(7227):79-82.

- Corny J, Bailey B, Lebel D, et al. Unlicensed and off-label drug use in paediatrics in a mother-child tertiary care hospital. *Paediatr Child Health*. mars 2016;21(2):83-7.
- Crumpacker CS. Ganciclovir. *N Engl J Med*. 5 sept 1996;335(10):721-9.
- Dailly E, Pannier M, Jolliet P, et al. Population pharmacokinetics of ceftazidime in burn patients. *Br J Clin Pharmacol*. déc 2003;56(6):629-34.
- Doit C, Mariani-Kurkdjian P, Bingen E. Entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu. *Arch Pédiatrie*. 1 sept 2010;17:S140-4.
- Drusano GL. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of antimicrobials. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 15 juill 2007;45 Suppl 1:S89-95.
- Drusano GL, Aweeka F, Gambertoglio J, et al. Relationship between foscarnet exposure, baseline cytomegalovirus (CMV) blood culture and the time to progression of CMV retinitis in HIV-positive patients. *AIDS Lond Engl*. sept 1996;10(10):1113-9.
- Erice A. Resistance of human cytomegalovirus to antiviral drugs. *Clin Microbiol Rev*. avr 1999;12(2):286-97.
- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. EUCAST: Clinical breakpoints and dosing of antibiotics v10.0 [Internet]. 2020 [cité 3 août 2020]. Disponible sur: [https://www.eucast.org/clinical\\_breakpoints/](https://www.eucast.org/clinical_breakpoints/)
- European Medicines Agency. European Union Ethical Considerations for Clinical Trials on Medicinal Products Conducted with the Paediatric Population. *Eur J Health Law*. 1 janv 2008a;15(2):223-50.
- European Medicines Agency. Guideline on the role of pharmacokinetics in the development of medicinal products in the paediatric population. 2008b;:8.
- European Medicines Agency. Paediatric investigation plans [Internet]. European Medicines Agency. 2008c [cité 8 juill 2020]. Disponible sur: <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/research-development/paediatric-medicines/paediatric-investigation-plans>
- European Medicines Agency. Summary of product characteristics - Ciprofloxacin Bayer [Internet]. 2008d [cité 4 août 2020]. Disponible sur: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/ciprofloxacin-bayer-article-30-referral-annex-i-ii-iii\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/ciprofloxacin-bayer-article-30-referral-annex-i-ii-iii_en.pdf)
- European Medicines Agency. Summary of product characteristic - Ceftazidime [Internet]. 2010 [cité 4 août 2020]. Disponible sur: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/fortum-article-30-referral-annex-iii\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/fortum-article-30-referral-annex-iii_en.pdf)
- European Medicines Agency. European Medicines Agency and European Commission (DG Health and Food Safety) action plan on paediatrics. 2018a;:6.
- European Medicines Agency. ICH E11(R1) step 5 guideline on clinical investigation of medicinal products in the pediatric population [Internet]. European Medicines Agency. 2018b [cité 3 août 2020]. Disponible sur: <https://www.ema.europa.eu/en/ich-e11r1-step-5-guideline-clinical-investigation-medicinal-products-pediatric-population>
- European Medicines Agency/CHMP. Concept paper on an addendum to the guideline on the evaluation of medicinal products indicated for treatment of bacterial infections

- (CPMP/EWP/558/95 rev 2) to address paediatric-specific clinical data requirements. 2016 avr p. 4.
- Fernandez E, Perez R, Hernandez A, et al. Factors and Mechanisms for Pharmacokinetic Differences between Pediatric Population and Adults. *Pharmaceutics*. 7 févr 2011;3(1):53-72.
- Folgori L, Bielicki J, Ruiz B, et al. Harmonisation in study design and outcomes in paediatric antibiotic clinical trials: a systematic review. *Lancet Infect Dis*. 1 sept 2016;16(9):e178-89.
- Food and Drug Administration. Pediatric Study Plans: Content of and Process for Submitting Initial Pediatric Study Plans and Amended Pediatric Study Plans [Internet]. U.S. Food and Drug Administration. 2016 [cité 8 juill 2020]. Disponible sur: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/pediatric-study-plans-content-and-process-submitting-initial-pediatric-study-plans-and-amended>
- Food and Drug Administration. Drug Safety and Availability - FDA Drug Safety Communication: New dosing recommendations to prevent potential Valcyte (valganciclovir) overdose in pediatric transplant patients [Internet]. <https://www.fda.gov/Drugs/DrugSafety/ucm225727.htm>. [cité 6 juin 2018]. Disponible sur: <https://www.fda.gov/Drugs/DrugSafety/ucm225727.htm>
- Freitas VR, Smee DF, Chernow M, et al. Activity of 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guanine compared with that of acyclovir against human, monkey, and rodent cytomegaloviruses. *Antimicrob Agents Chemother*. août 1985;28(2):240-5.
- Galetin A, Gertz M, Houston JB. Contribution of intestinal cytochrome p450-mediated metabolism to drug-drug inhibition and induction interactions. *Drug Metab Pharmacokinet*. 2010;25(1):28-47.
- Garazzino S, Lutsar I, Bertaina C, et al. New antibiotics for paediatric use: a review of a decade of regulatory trials submitted to the European Medicines Agency from 2000--why aren't we doing better? *Int J Antimicrob Agents*. août 2013;42(2):99-118.
- Gibbs JP, Liacouras CA, Baldassano RN, et al. Up-regulation of glutathione S-transferase activity in enterocytes of young children. *Drug Metab Dispos Biol Fate Chem*. déc 1999;27(12):1466-9.
- Goto T, Tsugawa Y, Mansbach JM, et al. Trends in Infectious Disease Hospitalizations in US Children, 2000 to 2012. *Pediatr Infect Dis J*. 2016;35(6):e158-163.
- Gupta M, Brans Y. Gastric retention in neonates [Internet]. *Pediatrics*. 1978 [cité 16 juill 2020]. Disponible sur: [https://pubmed-ncbi-nih-gov.rproxy.sc.univ-paris-diderot.fr/683779/?from\\_single\\_result=Gastric+retention+in+neonates+gupta](https://pubmed-ncbi-nih-gov.rproxy.sc.univ-paris-diderot.fr/683779/?from_single_result=Gastric+retention+in+neonates+gupta)
- Gyssens IC, van den Broek PJ, Kullberg BJ, et al. Optimizing antimicrobial therapy. A method for antimicrobial drug use evaluation. *J Antimicrob Chemother*. nov 1992;30(5):724-7.
- Hanes SD, Wood GC, Herring V, et al. Intermittent and continuous ceftazidime infusion for critically ill trauma patients. *Am J Surg*. juin 2000;179(6):436-40.
- Hantz S, Garnier-Geoffroy F, Mazon M-C, et al. Drug-resistant cytomegalovirus in transplant recipients: a French cohort study. *J Antimicrob Chemother*. 1 déc 2010;65(12):2628-40.

- Hartman SJF, Boeddha NP, Ekinci E, et al. Target attainment of cefotaxime in critically ill children with meningococcal septic shock as a model for cefotaxime dosing in severe pediatric sepsis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2019;38(7):1255-60.
- Hedman A, Adan-Abdi Y, Alvan G, et al. Influence of the glomerular filtration rate on renal clearance of ceftazidime in cystic fibrosis. *Clin Pharmacokinet*. juill 1988;15(1):57-65.
- Heimann G. Enteral absorption and bioavailability in children in relation to age. *Eur J Clin Pharmacol*. juill 1980;18(1):43-50.
- Höcker B, Zencke S, Krupka K, et al. Cytomegalovirus Infection in Pediatric Renal Transplantation and the Impact of Chemoprophylaxis With (Val-)Ganciclovir. *Transplantation*. avr 2016;100(4):862-70.
- Hoekstra LT, de Graaf W, Nibourg GAA, et al. Physiological and biochemical basis of clinical liver function tests: a review. *Ann Surg*. janv 2013;257(1):27-36.
- Huang NN, High RH. Comparison of serum levels following the administration of oral and parenteral preparations of penicillin to infants and children of various age groups. *J Pediatr*. juin 1953;42(6):657-8.
- Humar A, Snyderman D, AST Infectious Diseases Community of Practice. Cytomegalovirus in solid organ transplant recipients. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg*. déc 2009;9 Suppl 4:S78-86.
- Infectious Diseases Society of America. The 10 x '20 Initiative: pursuing a global commitment to develop 10 new antibacterial drugs by 2020. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 15 avr 2010;50(8):1081-3.
- Jacobs J. Optimisation of Antimicrobial Therapy Using Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Parameters [Internet]. *Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2001 [cité 6 juill 2020]. Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov.rproxy.sc.univ-paris-diderot.fr/11737083/>
- Jehl F, Peter J-D, Picard A, et al. Élimination biliaire du céfotaxime et du désacétylcéfotaxime. *Rev Médecine Interne*. 1 nov 1987;8(5):487-92.
- Johnsrud EK, Koukouritaki SB, Divakaran K, et al. Human hepatic CYP2E1 expression during development. *J Pharmacol Exp Ther*. oct 2003;307(1):402-7.
- Karlowsky JA, Adam HJ, Desjardins M, et al. Changes in fluoroquinolone resistance over 5 years (CANWARD 2007–11) in bacterial pathogens isolated in Canadian hospitals. *J Antimicrob Chemother*. 5 janv 2013;68(suppl 1):i39-46.
- Kearns GL, Abdel-Rahman SM, Alander SW, et al. Developmental pharmacology--drug disposition, action, and therapy in infants and children. *N Engl J Med*. 18 sept 2003;349(12):1157-67.
- Kearns GL, Young RA. Pharmacokinetics of cefotaxime and desacetylcefotaxime in the young. *Diagn Microbiol Infect Dis*. juin 1995;22(1-2):97-104.
- Khachman D, Conil J-M, Georges B, et al. Optimizing ciprofloxacin dosing in intensive care unit patients through the use of population pharmacokinetic-pharmacodynamic analysis and Monte Carlo simulations. *J Antimicrob Chemother*. août 2011;66(8):1798-809.

- Khurana MP, Lodding IP, Mocroft A, et al. Risk Factors for Failure of Primary (Val)ganciclovir Prophylaxis Against Cytomegalovirus Infection and Disease in Solid Organ Transplant Recipients. *Open Forum Infect Dis* [Internet]. 8 mai 2019 [cité 23 juill 2020];6(6). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6559280/>
- Kim Y-J, Boeckh M, Cook L, et al. Cytomegalovirus infection and ganciclovir resistance caused by UL97 mutations in pediatric transplant recipients. *Transpl Infect Dis Off J Transplant Soc*. déc 2012;14(6):611-7.
- Kimland E, Odland V. Off-Label Drug Use in Pediatric Patients. *Clin Pharmacol Ther*. 2012;91(5):796-801.
- Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, et al. Updated international consensus guidelines on the management of cytomegalovirus in solid-organ transplantation. *Transplantation*. 27 août 2013;96(4):333-60.
- Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, et al. The Third International Consensus Guidelines on the Management of Cytomegalovirus in Solid-organ Transplantation. *Transplantation*. 1 juin 2018;102(6):900-31.
- Le J, Bradley JS. Optimizing Antibiotic Drug Therapy in Pediatrics: Current State and Future Needs. *J Clin Pharmacol*. 2018;58(S10):S108-22.
- Leeder JS, Spino M, Isles AF, et al. Ceftazidime disposition in acute and stable cystic fibrosis. *Clin Pharmacol Ther*. 1 sept 1984;36(3):355-62.
- Len O, Gavaldà J, Aguado JM, et al. Valganciclovir as treatment for cytomegalovirus disease in solid organ transplant recipients. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 1 janv 2008;46(1):20-7.
- Leroux S, Roué J-M, Gouyon J-B, et al. A Population and Developmental Pharmacokinetic Analysis To Evaluate and Optimize Cefotaxime Dosing Regimen in Neonates and Young Infants. *Antimicrob Agents Chemother*. 2016;60(11):6626-34.
- Leroux S, Turner MA, Guellec CB-L, et al. Pharmacokinetic Studies in Neonates: The Utility of an Opportunistic Sampling Design. *Clin Pharmacokinet*. 1 déc 2015;54(12):1273-85.
- Lesch CA, Itokazu GS, Danziger LH, et al. Multi-hospital analysis of antimicrobial usage and resistance trends. *Diagn Microbiol Infect Dis*. nov 2001;41(3):149-54.
- Lin JH, Yamazaki M. Role of P-glycoprotein in pharmacokinetics: clinical implications. *Clin Pharmacokinet*. 2003;42(1):59-98.
- Littler E, Stuart AD, Chee MS. Human cytomegalovirus UL97 open reading frame encodes a protein that phosphorylates the antiviral nucleoside analogue ganciclovir. *Nature*. 9 juill 1992;358(6382):160-2.
- Liu L, Oza S, Hogan D, et al. Global, regional, and national causes of child mortality in 2000–13, with projections to inform post-2015 priorities: an updated systematic analysis. *The Lancet*. 31 janv 2015;385(9966):430-40.
- Lurain NS, Chou S. Antiviral Drug Resistance of Human Cytomegalovirus. *Clin Microbiol Rev*. 1 oct 2010;23(4):689-712.
- Mao J, Martin I, McLeod J, et al. Perspective: 4 $\beta$ -hydroxycholesterol as an emerging endogenous biomarker of hepatic CYP3A. *Drug Metab Rev*. 2017;49(1):18-34.

- Martinez MN, Papich MG, Drusano GL. Dosing regimen matters: the importance of early intervention and rapid attainment of the pharmacokinetic/pharmacodynamic target. *Antimicrob Agents Chemother.* juin 2012;56(6):2795-805.
- Ministère des solidarités et de la santé. feuille de route interministérielle visant à maîtriser l'antibiorésistance [Internet]. feuille de route interministérielle visant à maîtriser l'antibiorésistance. 2016 [cité 29 juin 2020]. Disponible sur: [https://solidarites-sante.gouv.fr/IMG/pdf/feuille\\_de\\_route\\_antibioresistance\\_nov\\_2016.pdf](https://solidarites-sante.gouv.fr/IMG/pdf/feuille_de_route_antibioresistance_nov_2016.pdf)
- Momper JD, Yang J, Gockenbach M, et al. Dynamics of Organic Anion Transporter-Mediated Tubular Secretion during Postnatal Human Kidney Development and Maturation. *Clin J Am Soc Nephrol CJASN.* 5 avr 2019;14(4):540-8.
- Mouton JW, Punt N, Vinks AA. A retrospective analysis using Monte Carlo simulation to evaluate recommended ceftazidime dosing regimens in healthy volunteers, patients with cystic fibrosis, and patients in the intensive care unit. *Clin Ther.* 1 juin 2005;27(6):762-72.
- Muller AE, Punt N, Mouton JW. Optimal exposures of ceftazidime predict the probability of microbiological and clinical outcome in the treatment of nosocomial pneumonia. *J Antimicrob Chemother.* avr 2013;68(4):900-6.
- Murphy GM, Signer E. Bile acid metabolism in infants and children. *Gut.* févr 1974;15(2):151-63.
- Nicolau DP. Optimizing outcomes with antimicrobial therapy through pharmacodynamic profiling. *J Infect Chemother.* 1 janv 2003;9(4):292-6.
- Observatoire National de l'Epidémiologie de la Résistance Bactérienne aux Antibiotiques. Rapports d'activité ONERBA 2017 [Internet]. 2018 déc p. 134. Disponible sur: <http://onerba.org/publications/rapports-onerba/>
- Organisation mondiale de la santé. Plan d'action mondial pour combattre la résistance aux antimicrobiens [Internet]. Organisation mondiale de la Santé; 2016. Disponible sur: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/249548>
- Oscarson M. Pharmacogenetics of drug metabolising enzymes: importance for personalised medicine. *Clin Chem Lab Med.* avr 2003;41(4):573-80.
- Payen S, Serreau R, Munck A, et al. Population Pharmacokinetics of Ciprofloxacin in Pediatric and Adolescent Patients with Acute Infections. *Antimicrob Agents Chemother.* oct 2003;47(10):3170-8.
- Perrottet N, Csajka C, Pascual M, et al. Population pharmacokinetics of ganciclovir in solid-organ transplant recipients receiving oral valganciclovir. *Antimicrob Agents Chemother.* juill 2009;53(7):3017-23.
- Pescovitz MD, Ettenger RB, Strife CF, et al. Pharmacokinetics of oral valganciclovir solution and intravenous ganciclovir in pediatric renal and liver transplant recipients. *Transpl Infect Dis Off J Transplant Soc.* juin 2010;12(3):195-203.
- Pescovitz MD, Rabkin J, Merion RM, et al. Valganciclovir Results in Improved Oral Absorption of Ganciclovir in Liver Transplant Recipients. *Antimicrob Agents Chemother.* 10 janv 2000;44(10):2811-5.
- Poole CL, Kimberlin DW. Antiviral Drugs in Newborn and Children. *Pediatr Clin North Am.* 2017;64(6):1403-15.

- Pratico AD, Longo L, Mansueto S, et al. Off-Label Use of Drugs and Adverse Drug Reactions in Pediatric Units: A Prospective, Multicenter Study. *Curr Drug Saf.* 2018;13(3):200-7.
- Punyawudho B, Singkham N, Thammajarak N, et al. Therapeutic drug monitoring of antiretroviral drugs in HIV-infected patients. *Expert Rev Clin Pharmacol.* 1 déc 2016;9(12):1583-95.
- Rajagopalan P, Gastonguay MR. Population pharmacokinetics of ciprofloxacin in pediatric patients. *J Clin Pharmacol.* juill 2003;43(7):698-710.
- Ramalingam SS, Kummar S, Sarantopoulos J, et al. Phase I Study of Vorinostat in Patients With Advanced Solid Tumors and Hepatic Dysfunction: A National Cancer Institute Organ Dysfunction Working Group Study. *J Clin Oncol.* 10 oct 2010;28(29):4507-12.
- Razonable RR, Paya CV. Valganciclovir for the prevention and treatment of cytomegalovirus disease in immunocompromised hosts. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 1 févr 2004;2(1):27-41.
- Rhodin M, Anderson B, Peters A, et al. Human renal function maturation: a quantitative description using weight and postmenstrual age. *Pediatr Nephrol Berl Ger* [Internet]. janv 2009 [cité 17 juill 2020]; Disponible sur: [https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18846389/?from\\_single\\_result=Human+renal+function+maturation%3A+a+quantitative+description+using+weight+and+postmenstrual+age](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18846389/?from_single_result=Human+renal+function+maturation%3A+a+quantitative+description+using+weight+and+postmenstrual+age)
- Richards DM, Brogden RN. Ceftazidime. A review of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic use. *Drugs.* févr 1985;29(2):105-61.
- Roche. Résumé des caractéristiques du produit - valganciclovir (ROVALCYTE®) [Internet]. 2018 [cité 6 mai 2020]. Disponible sur: <http://srv-vidal:8012/showProduct.html?productId=88045>
- Rodriguez-Villalobos H, Struelens M. Résistance bactérienne par  $\beta$ -lactamases à spectre étendu : implications pour le réanimateur. *Réanimation.* juin 2006;15(3):205-13.
- Rose L, Coulter MM, Chan S, et al. The quest for the best metric of antibiotic use and its correlation with the emergence of fluoroquinolone resistance in children. *Pediatr Infect Dis J.* juin 2014;33(6):e158-161.
- Samardzic J, Allegaert K, Bajcetic M. Developmental pharmacology: A moving target. *Int J Pharm.* août 2015;492(1-2):335-7.
- Schaefer HG, Stass H, Wedgwood J, et al. Pharmacokinetics of ciprofloxacin in pediatric cystic fibrosis patients. *Antimicrob Agents Chemother.* 1 janv 1996;40(1):29-34.
- Schmidt S, Barbour A, Sahre M, et al. PK/PD: new insights for antibacterial and antiviral applications. *Curr Opin Pharmacol.* oct 2008;8(5):549-56.
- Schwartz GJ, Brion LP, Spitzer A. The use of plasma creatinine concentration for estimating glomerular filtration rate in infants, children, and adolescents. *Pediatr Clin North Am.* juin 1987;34(3):571-90.
- Shi Z-R, Chen X-K, Tian L-Y, et al. Population Pharmacokinetics and Dosing Optimization of Ceftazidime in Infants. *Antimicrob Agents Chemother.* 2018;62(4).
- Simon N. Pharmacocinétique de population. Introduction à Nonmem. Marseille: Solal Editeurs; 2006. (Pharmacologie médicale).

- Simon N, Guellec CL, Laporte S. Analyse pharmacocinétique de population. *Médecine Thérapeutique*. 31 mai 2005;11(3):212-8.
- Singh N, Yu VL. Rational empiric antibiotic prescription in the ICU. *Chest*. mai 2000;117(5):1496-9.
- Spyridis N, Syridou G, Goossens H, et al. Variation in paediatric hospital antibiotic guidelines in Europe. *Arch Dis Child*. janv 2016;101(1):72-6.
- Ståhlberg MR, Hietanen E, Mäki M. Mucosal biotransformation rates in the small intestine of children. *Gut*. août 1988;29(8):1058-63.
- Stein CE, Inoue M, Fat DM. The global mortality of infectious and parasitic diseases in children. *Semin Pediatr Infect Dis*. 1 juill 2004;15(3):125-9.
- Stockmann C, Roberts JK, Knackstedt ED, et al. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of ganciclovir and valganciclovir in children with cytomegalovirus infection. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. févr 2015;11(2):205-19.
- Strasfeld L, Chou S. Antiviral Drug Resistance: Mechanisms and Clinical Implications. *Infect Dis Clin North Am*. juin 2010;24(2):413-37.
- Strassburg CP, Strassburg A, Kneip S, et al. Developmental aspects of human hepatic drug glucuronidation in young children and adults. *Gut*. févr 2002;50(2):259-65.
- Strolin Benedetti M, Whomsley R, Baltés EL. Differences in absorption, distribution, metabolism and excretion of xenobiotics between the paediatric and adult populations. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. oct 2005;1(3):447-71.
- Takashima T, Yokoyama C, Mizuma H, et al. Developmental Changes in P-Glycoprotein Function in the Blood–Brain Barrier of Nonhuman Primates: PET Study with R-11C-Verapamil and 11C-Osetamivir. *J Nucl Med*. 1 juin 2011;52(6):950-7.
- Thompson G, Barker CI, Folgori L, et al. Global shortage of neonatal and paediatric antibiotic trials: rapid review. *BMJ Open*. 13 oct 2017;7(10):e016293.
- Thuo N, Ungphakorn W, Karisa J, et al. Dosing regimens of oral ciprofloxacin for children with severe malnutrition: a population pharmacokinetic study with Monte Carlo simulation. *J Antimicrob Chemother*. oct 2011;66(10):2336-45.
- Trang M, Dudley MN, Bhavnani SM. Use of Monte Carlo simulation and considerations for PK-PD targets to support antibacterial dose selection. *Curr Opin Pharmacol*. 2017;36:107-13.
- Treluyer JM, Jacqz-Aigrain E, Alvarez F, et al. Expression of CYP2D6 in developing human liver. *Eur J Biochem FEBS*. 5 déc 1991;202(2):583-8.
- UNICEF, Organisation mondiale de la santé, World Bank group and United nations. Levels and Trends in Child Mortality Report 2018 [Internet]. 2018 sept. Disponible sur: [https://www.unicef.org/publications/index\\_103264.html](https://www.unicef.org/publications/index_103264.html)
- Urien S. Modélisation en pédiatrie : Pharmacopédiatrie (2de partie). *Modélisation En Pédiatrie Pharmacopédiatrie*. 2013;27(2):34-40.

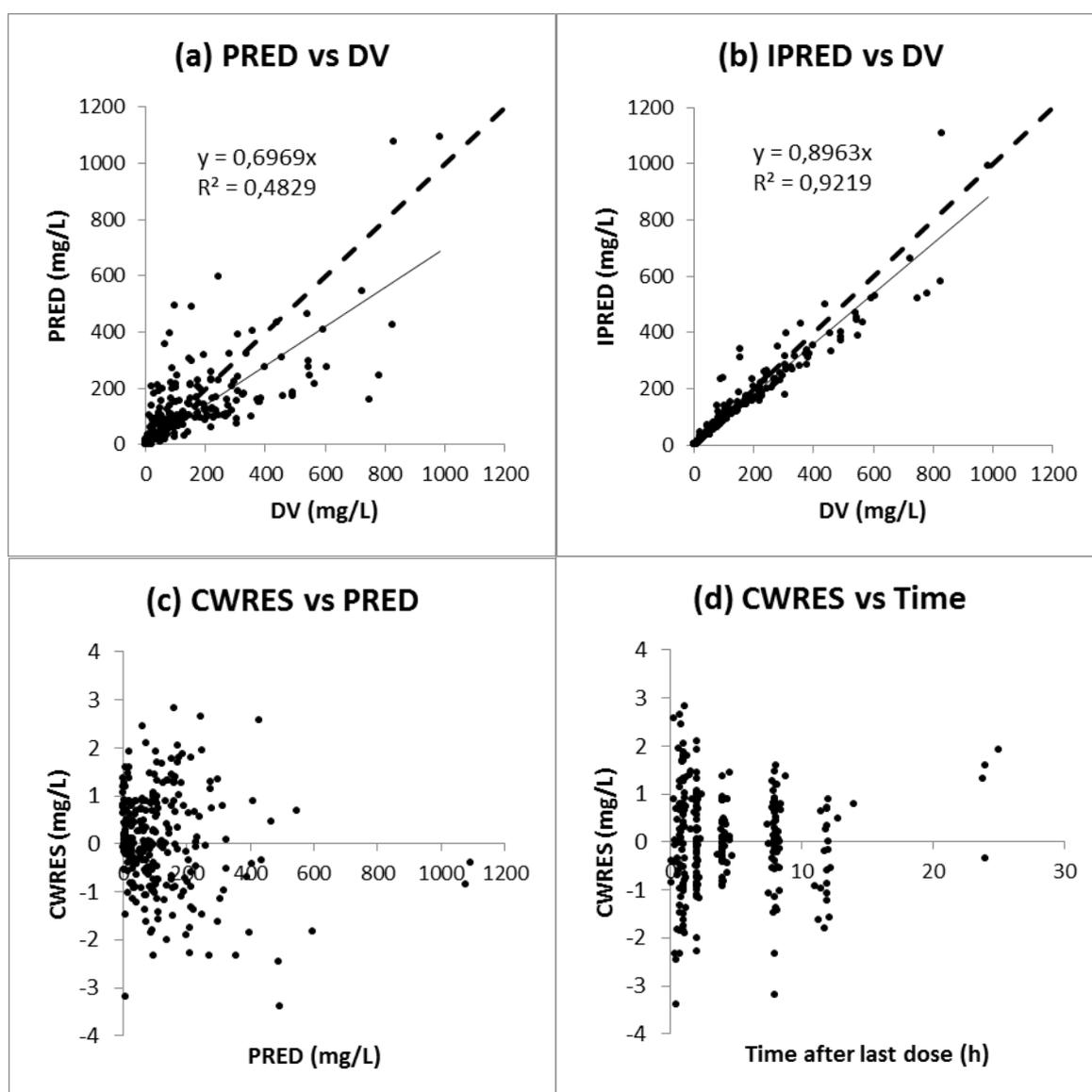
- Vaudry W, Ettenger R, Jara P, et al. Valganciclovir dosing according to body surface area and renal function in pediatric solid organ transplant recipients. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* mars 2009;9(3):636-43.
- Versporten A, Bielicki J, Drapier N, et al. The Worldwide Antibiotic Resistance and Prescribing in European Children (ARPEC) point prevalence survey: developing hospital-quality indicators of antibiotic prescribing for children. *J Antimicrob Chemother.* avr 2016;71(4):1106-17.
- Vezina HE, Brundage RC, Balfour HH. Population pharmacokinetics of valganciclovir prophylaxis in paediatric and adult solid organ transplant recipients. *Br J Clin Pharmacol.* août 2014;78(2):343-52.
- Vidal-Petiot E, Flamant M. [Measurement and estimation of glomerular filtration rate]. *Nephrol Ther.* déc 2017;13(7):560-8.
- Walstad RA, Dahl K, Hellum KB, et al. The pharmacokinetics of ceftazidime in patients with impaired renal function and concurrent frusemide therapy. *Eur J Clin Pharmacol.* 1 mai 1988;35(3):273-9.
- Ware RE, Rees RC, Sarnaik SA, et al. Renal function in infants with sickle cell anemia: baseline data from the BABY HUG trial. *J Pediatr.* janv 2010;156(1):66-70.e1.
- de Wildt S, Johnson T, Choonara I. The effect of age on drug metabolism. *Paediatr Perinat Drug Ther.* 11 juill 2003;5(3):101-6.
- de Wildt SN. Profound changes in drug metabolism enzymes and possible effects on drug therapy in neonates and children. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* août 2011;7(8):935-48.
- Wiltshire H, Paya CV, Pescovitz MD, et al. Pharmacodynamics of oral ganciclovir and valganciclovir in solid organ transplant recipients. *Transplantation.* 15 juin 2005;79(11):1477-83.
- Wolfson J, Hooper D. Bacterial-Resistance to Quinolones - Mechanisms and Clinical Importance. *Rev Infect Dis.* août 1989;11:S960-8.
- Yokoi T. Essentials for starting a pediatric clinical study (1): Pharmacokinetics in children. *J Toxicol Sci.* 2009;34 Suppl 2:SP307-312.
- Yu MA, Park JM. Valganciclovir: therapeutic role in pediatric solid organ transplant recipients. *Expert Opin Pharmacother.* avr 2013;14(6):807-15.
- Zhao W, Baudouin V, Zhang D, et al. Population Pharmacokinetics of Ganciclovir Following Administration of Valganciclovir in Paediatric Renal Transplant Patients. *Clin Pharmacokinet.* 1 mai 2009;48(5):321-8.
- Zhao W, Hill H, Le Guellec C, et al. Population pharmacokinetics of ciprofloxacin in neonates and young infants less than three months of age. *Antimicrob Agents Chemother.* nov 2014;58(11):6572-80.
- Zobell JT, Waters CD, Young DC, et al. Optimization of anti-pseudomonal antibiotics for cystic fibrosis pulmonary exacerbations: II. cephalosporins and penicillins. *Pediatr Pulmonol.* févr 2013;48(2):107-22.

Zobell JT, Young DC, Waters CD, et al. A survey of the utilization of anti-pseudomonal beta-lactam therapy in cystic fibrosis patients. *Pediatr Pulmonol.* oct 2011;46(10):987-90.

## Annexes

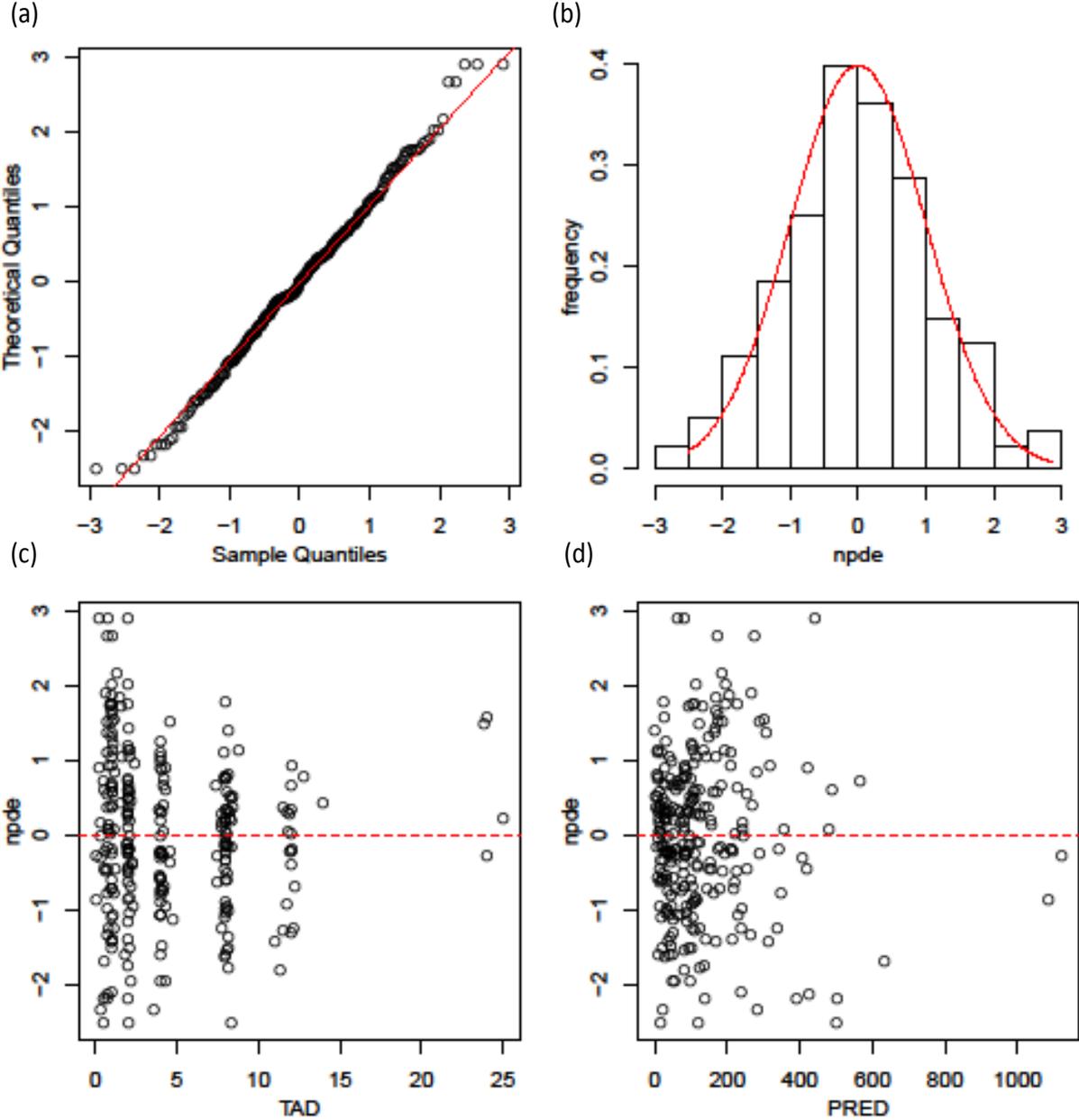
### Etude n°1 : Supplemental data – Population pharmacokinetics of ceftazidime in critically ill children – Impact of cystic fibrosis

**Figure S1:** Goodness of plot (a) Population predicted (PRED) versus observed (DV) concentrations, (b) Individual predicted (IPRED) versus DV, (c) Conditional weight residuals (CWRES) versus PRED, (d) CWRES versus time since last dose.



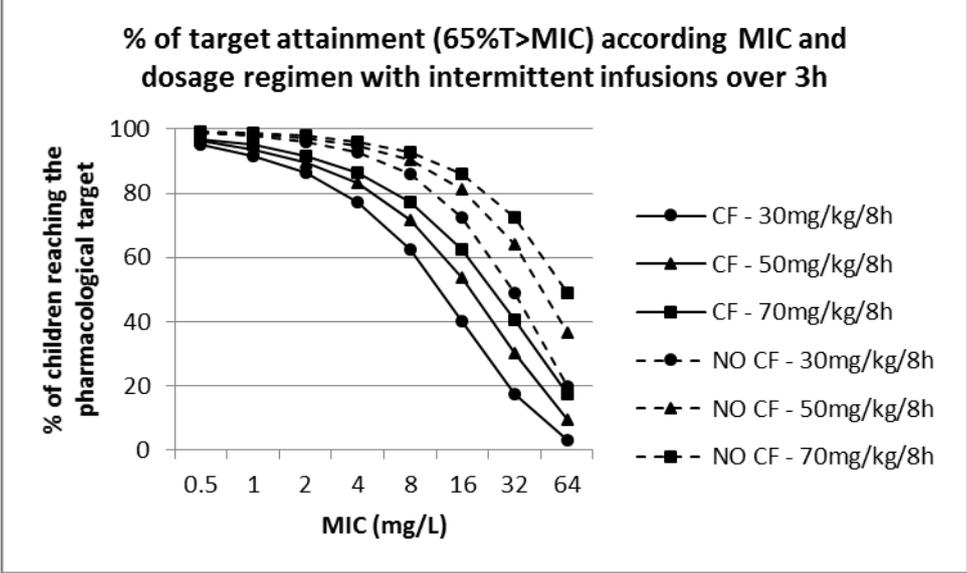
The dotted line represents the line of identity and the solid line represents the linear regression line.

**Figure S2:** (a) QQ plot of the distribution of the normalized prediction distribution errors versus theoretical distribution  $N(0, 1)$ ; (b) Histogram of the distribution of NPDE, (c) Plot of NPDE versus time, and (d) Plot of NPDE versus PRED.



NPDE: normalized prediction distribution errors  
 PRED: Population predicted concentrations

**Figure S3:** Probability of target attainment ( $T > MIC > 65\%$ ) according to MIC with infusions over 3h.



**Table S1.** Covariates analysis

	<b>PK parameters</b>	<b>OF value (<math>\Delta</math>OFV)</b>	<b>IIV CL (%)</b>	<b>IIV V2 (%)</b>	<b>Residual error (%)</b>
Structural model Two-compartment model	CL, V1*, V2, Q*	2404.2	74.6	70.5	28.6
<b>Impact of covariates</b>					
<b>Allometric model</b>	<b>CL, V1, V2, Q</b>	<b>2339.6 (-64.6)</b>	<b>62.4</b>	<b>68.1</b>	<b>25.9</b>
Age	CL	2352.7 (-51.5)	58.5	72.5	27.9
Weight	CL	2361.9 (-42.3)	61.7	71.7	28.23
Height	CL	2363.6 (-40.6)	61.6	72.2	28.1
BSA	CL	2359.5 (-44.7)	60.4	72.0	28.1
Serum Creatinine concentration	CL	2404.0 (-0.2)	74.6	70.1	28.5
CrCLS/CL	CL	2390.2 (-14.0)	69.5	69.8	29.0
Cystic fibrosis	CL	2391.5 (-12.7)	69.9	68.0	28.9
Haematological-Oncologic disorder	CL	2404.0 (-0.2)	74.6	70.6	28.6
Age	V2	2384.7 (-19.5)	77.5	68.0	26.2
Weight	V2	2390.1 (-14.1)	76.6	68.6	26.9
Height	V2	2390.0 (-14.2)	77.1	68.8	26.7
BSA	V2	2389.0 (-15.2)	74.9	68.6	26.7
Cystic fibrosis	V2	2402.7 (-1.5)	74.7	69.8	28.5
Haematological-oncologic disorder	V2	2403.5 (-0.7)	74.6	70.5	28.5
Allometric model and CF/CL	CL	2323.3 (-16.3)	57.3	66.4	26.2
Allometric model, CF/CL, CrCLS/CL	CL	2308.3 (-15.0)	52.8	65.3	26.7
Allometric model, CF/CL, CrCLS/CL and Age/CL	CL	2303.5 (-4.8)	52.2	63.1	27.0
<b>Final model :</b>					
<b>Allometric model, CF/CL, CrCLS/CL</b>	<b>CL</b>	<b>2308.3</b>	<b>52.8</b>	<b>65.3</b>	<b>26.7</b>

OF: Objective function, IIV: Interindividual variability, CL: Clearance, V1: Central distribution volume, V2: Peripheral distribution volume, Q: Intercompartmental clearance, CrCLS: Creatinine Clearance (Schwart's Formula)

(\*V1 and Q fixed)

**Table S2:** PTA (%) (65%T>MIC) depending of CrCLS for 50mg/kg/8h of ceftazidime continuous infusion for à MIC of 8mg/mL, in CF and non CF children, with a fixed weight of 15kg.

		<b>MIC 0.5</b>	<b>MIC 1</b>	<b>MIC 2</b>	<b>MIC 4</b>	<b>MIC 8</b>	<b>MIC 16</b>	<b>MIC 32</b>	<b>MIC 64</b>
<b>30.0</b>	No CF	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	96.7
	CF	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	98.5	76.3
<b>120.0</b>	No CF	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	98.0	73.1
	CF	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	98.9	82.2	30.2
<b>300.0</b>	No CF	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	99.5	89.1	42.4
	CF	100.0	100.0	100.0	100.0	99.7	92.9	54.5	9.1
<b>450.0</b>	No CF	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	98.7	80.7	29.2
	CF	100.0	100.0	100.0	99.98	99.29	86.31	39.42	4.56

PTA: CrCLS: Renal clearance estimated by Schwarz formula; CF: Cystic fibrosis.

**Table S3:** PTA (65%T>MIC) depending of age, MIC (8mg/L) and dose of 50mg/kg/8h as intermittent infusion over 30min (a) and continuous infusion (b).

(a)	<2 years		2 to 6 years		> 6 years	
	No CF	CF	No CF	CF	No CF	CF
<b>PTA</b>	70.16%	42.1%	76.6%	49.3%	81.7%	53.8%

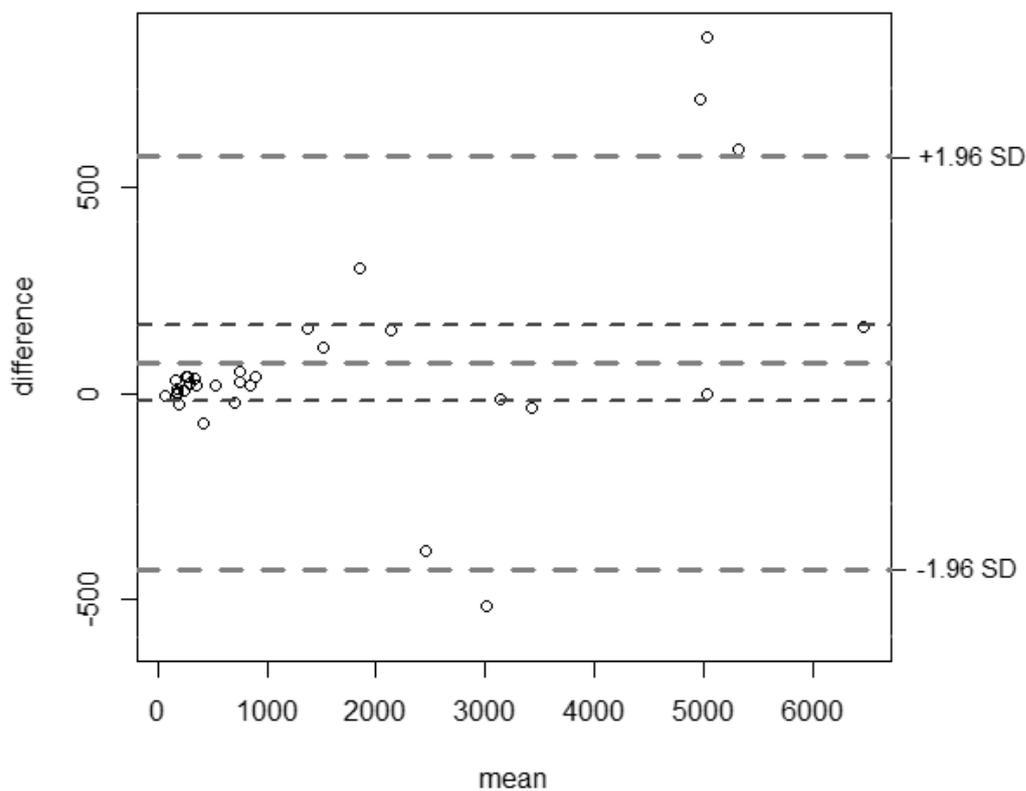
(b)	<2 years		2 to 6 years		> 6 years	
	No CF	CF	No CF	CF	No CF	CF
<b>PTA</b>	99.99%	99.9%	100%	99.98%	100%	99.98%

***Etude n°2 : Supplemental data – Variability of ciprofloxacin pharmacokinetics in children: Impact on dosage administration in sickle cell patients***

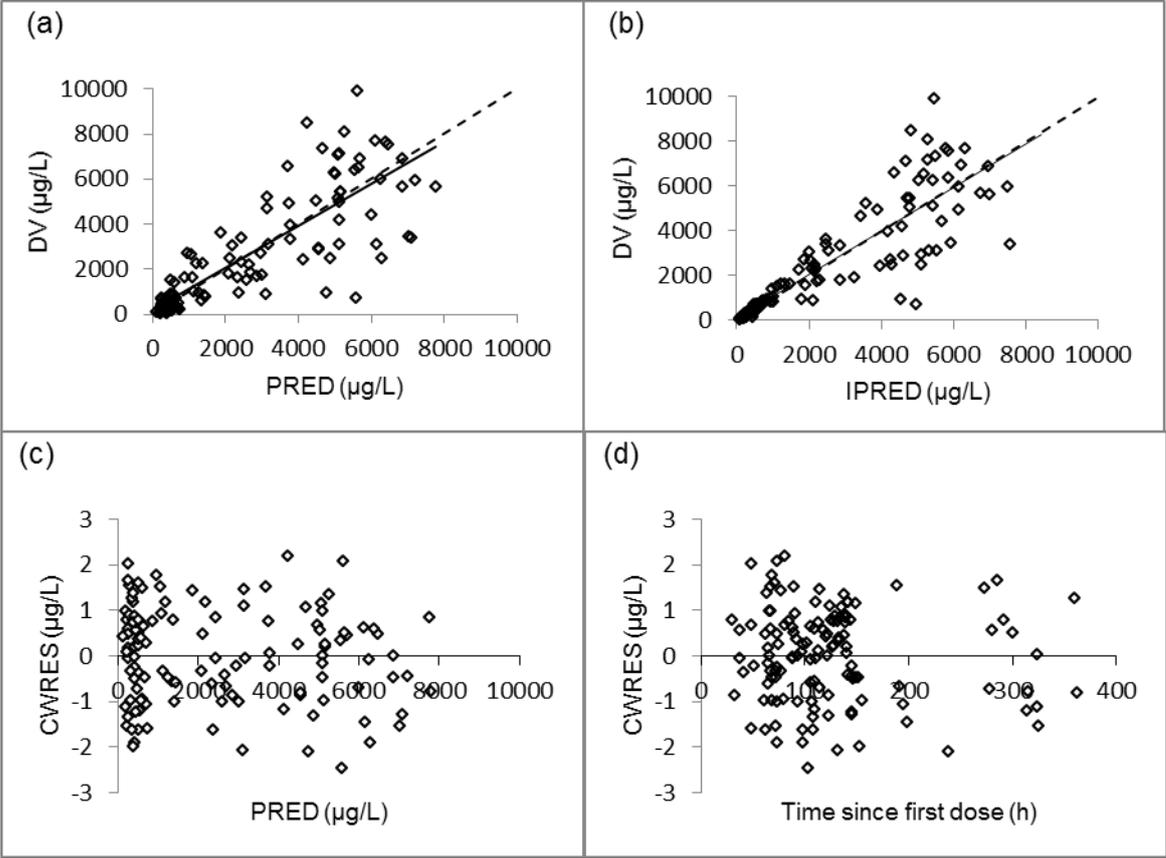
---

**Figure S1:** A Bland Altman graph comparing the HPLC and MS methods used to measure ciprofloxacin concentrations.

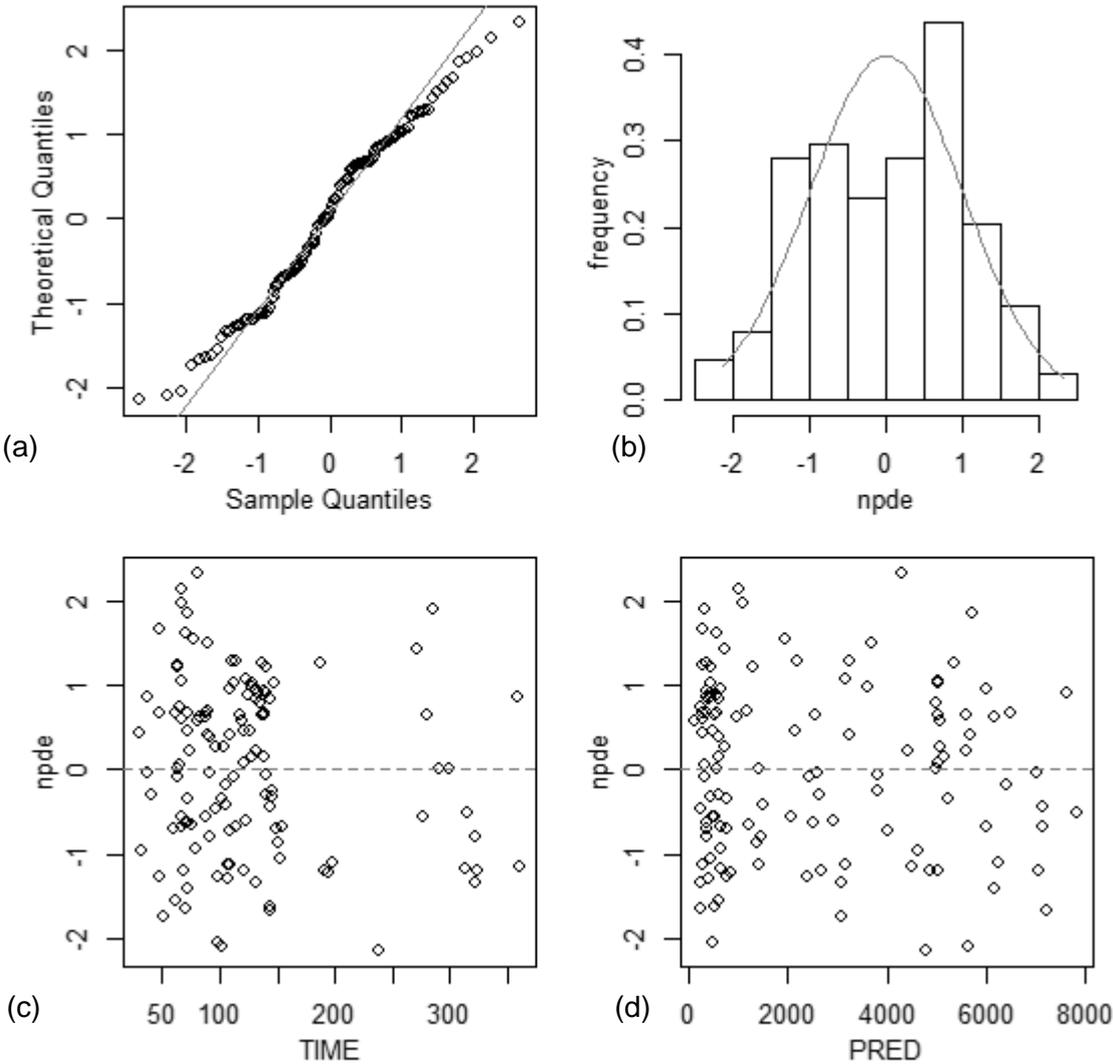
The middle dashed line represents the mean of the differences of concentrations measured by each method with the 95% confidence intervals of the mean of differences. The upper and lower dashed lines represent the limits.



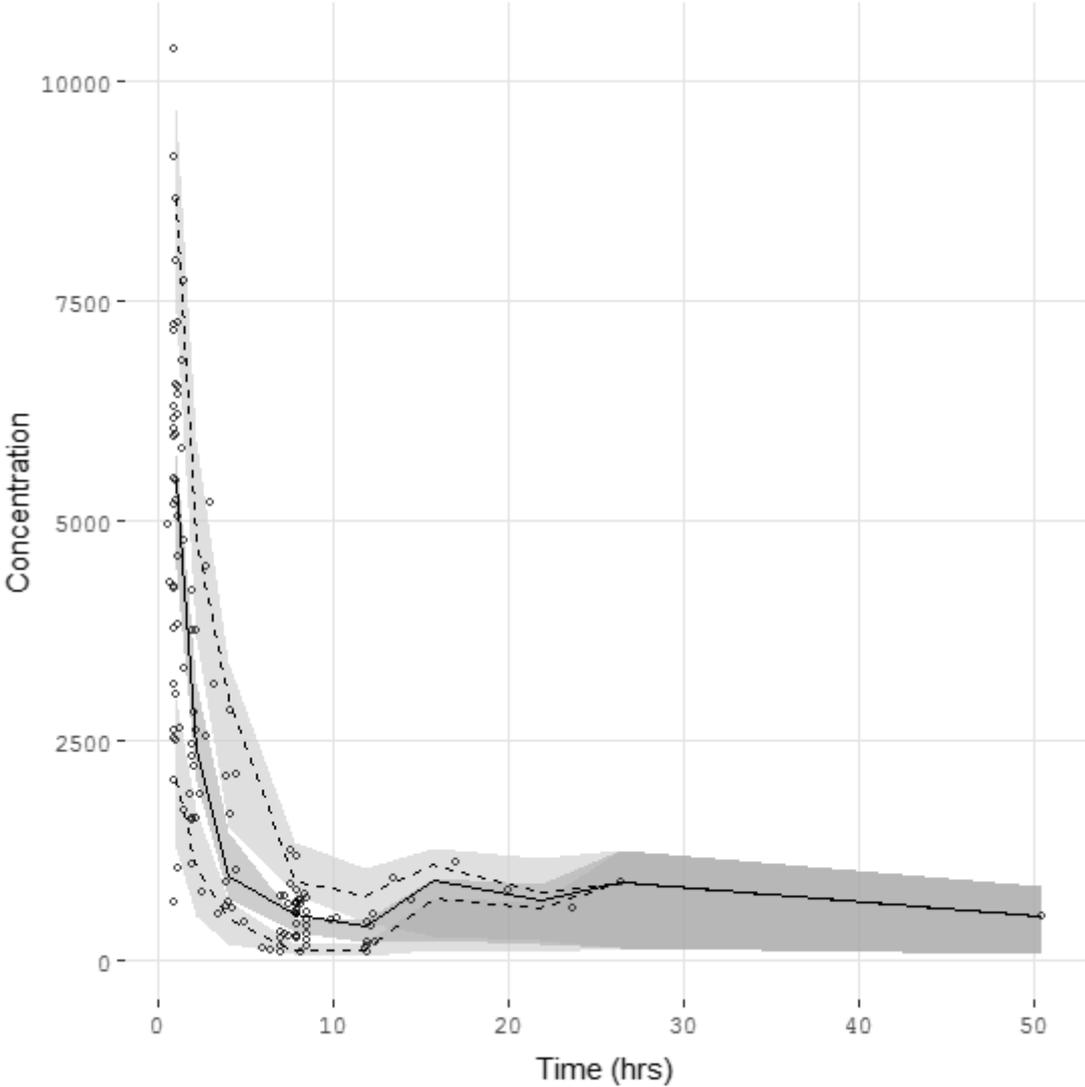
**Figure S2:** (a) Population predicted (PRED) versus observed (DV) concentrations, (b) Individual predicted (IPRED) versus DV, (c) Conditional weight residuals (CWRES) versus PRED, (d) CWRES versus time since last dose. The dotted line represents the line of identity and the solid line represents the linear regression line.



**Figure S3:** (a) QQ plot of the distribution of the normalized prediction distribution errors versus theoretical distribution  $N(0, 1)$ ; (b) Histogram of the distribution of NPDE, (c) Plot of NPDE versus time, and (d) Plot of NPDE versus PRED (d).



**Figure S4:** Prediction-corrected visual predictive check of the final model describing the pharmacokinetics of IV ciprofloxacin in children. The circles represent the prediction-corrected observed concentrations. The solid line represents the median of prediction-corrected observed concentrations and semi-transparent grey field represents simulation-based 95% confidence intervals for the median. The observed 5<sup>th</sup> and 95<sup>th</sup> percentiles are indicated by dashed lines, and the 95% intervals for the model-predicted percentiles are indicated as corresponding semitransparent grey fields.



**Table S1:** Characteristics of patients included and ciprofloxacin treatment depending on the origin of data (Drug monitoring concentrations or PHARMA-A) and SCD patient status.

<sup>a</sup> : Retrospective Study, <sup>b</sup> : Number of samples under the different clinical conditions

Characteristics	Total Median [range] or Number of patients (%)	Drug Monitoring Median [range] or Number of patients (%)	PHARMA-A Median [range] or Number of patients (%)	SCD patient Median [range] or Number of patients (%)	Non SCD patients Median [range] or Number of patients (%)
<b>Patients included (n)</b>	60	33	27	20	40
Sex (Male/Female) n=60	27/33	11/22	16/11	8/12	19/21
Age (years) n=60	5.6 [0.4 - 18.9]	9.9 [0.6 - 18.9]	2.4 [0.4 - 10.6]	9.2 [0.6 - 15.5]	3.3 [0.4 - 18.9]
Current weight (kg) n=60	20.1 [5.6 - 61.4]	30.0 [6.3 - 61.4]	13.0 [5.6 - 40.0]	27.9 [8.2 - 53.2]	13.9 [5.6 - 61.4]
Height (m) n=34	1.1 [0.6 - 1.7]	1.4 [0.7 - 1.7]	0.9 [0.6 - 1.5]	1.3 [0.8 - 1.6]	1.05 [0.61 - 1.69]
Serum creatinine conc. ( $\mu\text{mol/L}$ ) n=60	23.5 [8.0 - 168.0]	31.0 [14.0 - 131.0]	20.0 [8.0 - 40.0]	28.5 [15 - 57]	23.0 [8.0 - 168]
Creatinine clearance ( $\text{ml/min/1.73m}^2$ ) <sup>a</sup> n=60	221.8 [28.5 - 545.1]	226.0 [28.5 - 467.3]	207.1 [82.7 - 545.1]	240.2 [75.1 - 347.7]	254.3 [28.5 - 545.1]
Haemoglobin (mg/dL)	9.7 [6.7 - 14.8]	9.2 [6.7 - 12.9]	10.4 [8.6 - 14.8]	9.2 [6.7 - 10.7]	10.4 [7.8 - 14.8]
Leucocytemia (G/L) n=59	9.7 [0.1 - 49.4]	9.8 [0.1 - 30.4]	9.6 [0.1 - 49.4]	10.45 [5.5 - 19.9]	9.6 [0.1 - 49.4]
Serum protein conc. (g/L) n=59	64 [40.0 - 91.0]	69.5 [50.0 - 91.0]	58.0 [40.0 - 76.0]	72.5 [52.0 - 91.0]	58.0 [40.0 - 82.0]
Albuminemia (g/L) n=23	26.0 [18.9 - 37.2]	25.7 [18.9 - 37.2]	26.4 [21.0 - 36.0]	24.15 [18.9 - 31.7]	26.4 [21.0 - 37.2]
Serum C reactive protein conc. (mg/L) n=33	82 [5.0 - 310.0]	82 [5.0 - 310.0]	NA	75.0 [5.0 - 310.0]	60.0 [5.0 - 284.0]
<b>Disease status</b>					
Sickle cell disease (SCD)	20 (33%)	20 (61%)	0 (0%)	20 (100%)	0 (0%)
Haematological malignancy (HM)	15 (25%)	6 (18%)	9 (33%)	0 (0%)	15 (37.5%)
Cystic fibrosis (CF)	3 (5%)	0 (0%)	3 (11%)	0 (0%)	3 (7.5%)
Others	22 (37%)	7 (21%)	15 (56%)	0 (0%)	22 (55%)

	Total	Drug Monitoring	PHARMA-A	SCD patient	Non SCD patients
<b>Ciprofloxacin treatment</b>					
<b>N=60</b>					
Duration (days)	4.5 [1.3 - 15.0]	5.0 [1.3 - 15.1]	4.4 [2.5 - 6.5]	4.1 [1.3 - 15.0]	4.6 [1.5 - 11.9]
Dose (mg/dose)	200 [30 - 700]	200 [30 - 700]	200 [30 - 700]	400 [125 - 700]	145 [30 - 600]
Dose (mg/kg/day)	30.0 [6.5 - 52.0]	30.0 [6.5 - 52.0]	30.0 [6.5 - 52.0]	44.9 [28.2 - 52.0]	28.9 [6.5 - 34.1]
Dosing interval (h)					
8	48 (80%)	29 (87.9%)	19 (70.4%)	20 (100%)	28 (70.0%)
12	11 (18.3%)	3 (9.1%)	8 (29.6%)	0	11 (27.5%)
24	1 (1.7%)	1 (3.0%)	0 (0%)	0	1 (2.5%)
Concentrations per patient (n)					
1	9 (15%)	6 (10%)	3 (5%)	3 (15.0%)	6 (15.0%)
2	34 (56.7%)	26 (43.3%)	8 (13.3%)	17 (75.0%)	17 (42.5%)
3	17 (28.3%)	1 (1.7%)	16 (26.7%)	0	17 (42.5%)
<b>Co-medications<sup>b</sup></b>					
Hydration (mL/kg/day)	33.4 [0 - 142.8]	50.9 [0 - 142.8]	0 [0 - 110.6]	57.5 [7.2 - 122.2]	2.2 [0 - 142.8]
Acetaminophen	79	50	29	35	44
Cephalosporin	76	44	32	34	42
Proton Pump Inhibitor	76	29	47	13	63
Morphine	48	34	14	18	30
Glycopeptide	38	17	21	4	34
Nalbuphine	30	11	19	11	19
Aminoside	31	15	16	13	18
Cotrimoxazol	31	3	28	0	31
Nefopam	21	21	0	12	9

**Table S2:** Covariate analysis

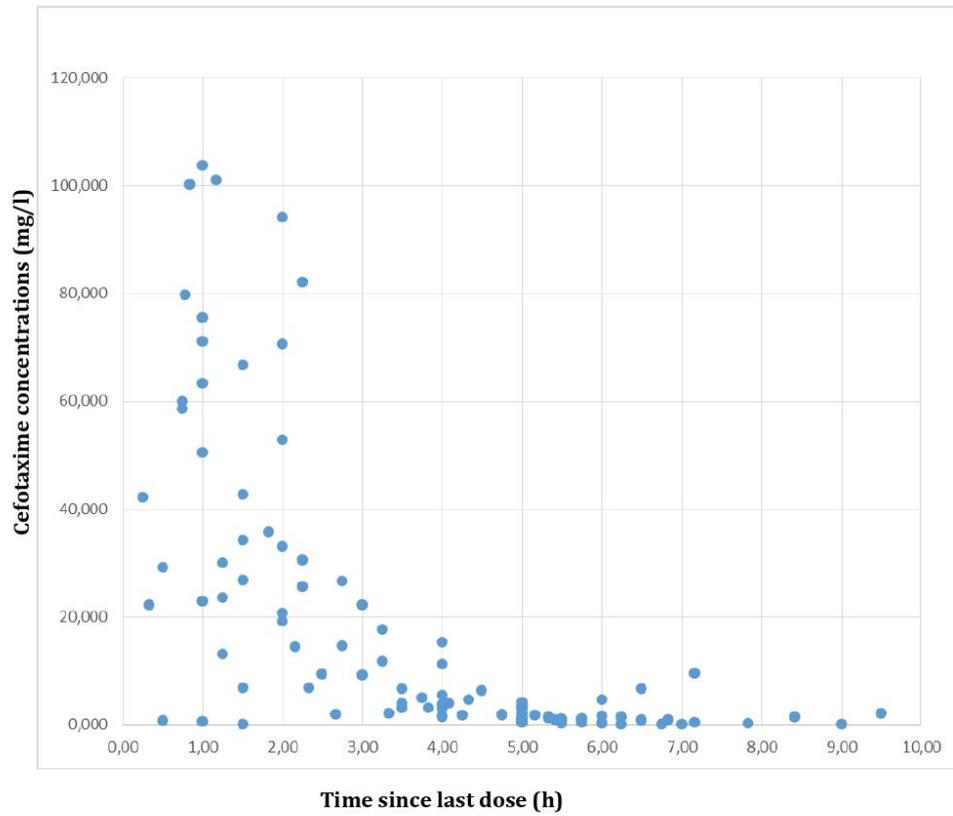
	PK parameters	OFV <sup>a</sup> ( $\Delta$ OFV)	VII (CI) <sup>b</sup>	N (%) <sup>c</sup>
<b>Structural model</b>	CI, V1, V2, Q	1926.1	61.0	60 (100)
<b>Allometric model</b>	CI, V1, V2, Q	1841.0 (-85.1)	43.6	60 (100)
<b>Impact of covariates:</b>				
Age	CI	1831.3 (-9.2)	39.9	60 (100)
Sickle cell disease (SCD)	CI	1824.9 (-16.1)	37.9	59 (98)
Hematologic malignancy	CI	1839.0 (-2.0)	42.7	59 (98)
Cystic fibrosis (CF)	CI	1841.0 (0)	43.6	59 (98)
Serum creatinine ( $\mu$ mol/L)	CI	1832.8 (-8.2)	37.3	60 (100)
Haemoglobin (mg/dL)	CI	1837.7 (-3.3)	42.2	60 (100)
Hydration (mL/kg/d)	CI	1836.3 (-4.7)	41.3	59 (98)
Protein (g/L)	CI	1832.5 (-8.5)	40.3	59 (98)
Leukocyte counts (G/L)	CI	1841.0 (-0.0)	43.6	59 (98)
SCD and age	CI	1815.2 (-9.7)	34.0	
SCD and serum creatinine	CI	1814.0 (-10.9)	31.1	
SCD and acute chest syndrome	CI	1824.8 (-0.1)	37.1	59 (98)
SCD and vaso-occlusive crisis	CI	1823.8 (-1.1)	36.9	59 (98)
SCD and hydration	CI	1824.6 (-0.3)	37.0	
SCD and protein	CI	1823.6 (-1.3)	36.9	
SCD, serum creatinine and age	CI	1798.5 (-17.5)	26.8	
<b>Co-medications</b>				<b>60(100)</b>
<b>Serum creatinine, SCD, age</b>				
+ acetaminophen	CI	1797.7 (-0.8)	26.3	
+ cephalosporin	CI	1798.3 (-0.2)	26.7	
+ PPI	CI	1796.8 (-1.7)	26.4	
+ morphine	CI	1795.2 (-3.3)	26.0	
+ glycopeptide	CI	1798.2 (-0.3)	26.8	
+ aminoside	CI	1796.3 (-2.3)	26.1	
+ cotrimoxazole	CI	1797.6 (-0.9)	26.0	
+ nefopam	CI	1796.5 (-2.0)	26.0	

<sup>a</sup> : Objective Function value, <sup>b</sup> : Interindividual variability on clearance., <sup>c</sup> : Number (and percentage) of patients with available data.

***Etude n°3 : Supplemental data – Population pharmacokinetics of céfotaxime and dosage recommendations in children with sickle cell disease***

---

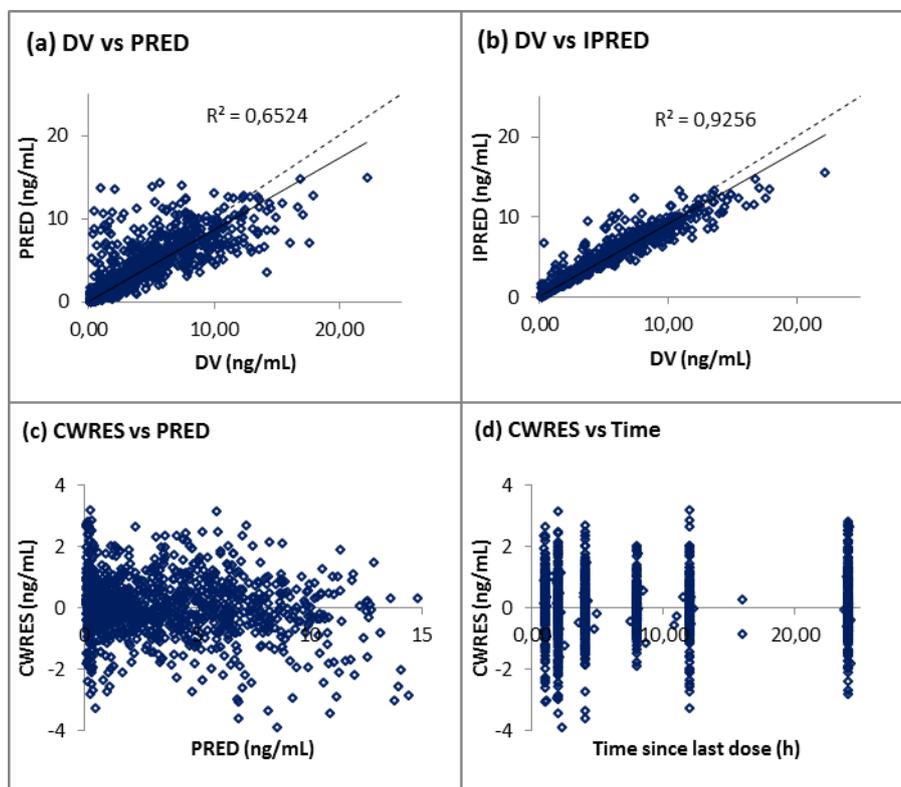
**Figure S1.** Cefotaxime concentrations versus time of the 80 pediatric patients



***Etude n°4 : Supplemental data – Population pharmacokinetics of ganciclovir after valganciclovir in renal transplant children***

---

**Figure S1.** (a) Population predicted (PRED) versus observed (DV) concentrations, (b) Individual predicted (IPRED) versus DV, (c) Conditional weight residuals (CWRES) versus PRED, (d) CWRES versus time since last dose. The dotted line represents the line of identity and the solid line represents the linear regression line.



**Figure S2.** (a) QQ plot of the distribution of the normalized prediction distribution errors versus theoretical distribution  $N(0, 1)$ ; (b) Histogram of the distribution of NPDE, (c) Plot of NPDE versus time, and (d) Plot of NPDE versus PRED

