Thèse de Doctorat de Pharmacologie

Université Paris Cité

École Doctorale 563– Médicament, Toxicologie, Chimie, Imageries

Unité de Recherche URP7328, Université Paris Cité, Hôpital Necker

Fédération Pour La Recherche En Explorations Et Thérapeutiques Innovantes in Utero

Thérapies Fœtales Curatives Innovantes : De l'Évaluation Préclinique à l'Analyse Clinique du Passage Transplacentaire de Médicaments

Dr Valentine FAURE BARDON
MCU-PH Gynécologie-Obstétrique

Dirigée par le Professeur Yves VILLE
Et co-dirigée par le Docteur Naïm BOUAZZA

Soutenance publique le 17 octobre 2025

Devant un jury composé de :

Pr Yves VILLE, PU-PH, Université Paris Cité – Directeur de thèse

Dr Naïm BOUAZZA, MCU-PH, Université Paris Cité – Co-Directeur de thèse

Pr Florence BRETELLE, PU-PH, Université Aix-Marseille – Rapporteur

Dr Anna GONCÉ, Professeur Associé, Université de Barcelone – Rapporteur

Pr Jean-Marc TRELUYER, PU-PH, Université Paris Cité – Examinateur

Pr Jacky NIZARD, PU-PH, Sorbonne Université - Examinateur

Dr Laurence LEGEAI MALLET, Directrice de Recherche, Institut Imagine – Membre invité

Table des matières

Remerciements *5*

Résumé *7*

Mots clés *8*

Version en langue anglaise des Titre, Mots Clés et Résumé *9*

Liste des abréviations utilisées *11*

Introduction *13*

A. Pharmacologie médicale appliquée à la thérapie fœtale: Approches méthodologiques *15*

1. Bases pharmacologiques appliquées au couple materno-fœtal **15**
a. Pharmacocinétique dans le contexte materno-fœtal 15
b. Paramètres modifiant la diffusion des médicaments 15
c. Pharmacodynamie fœtale 16

2. Contraintes et spécificités de la pharmacologie fœtale **18**
a. Enjeux éthiques propres à la thérapie fœtale 18
b. Contraintes méthodologiques 18

3. Outils méthodologiques pour l'évaluation pharmacologique d'un traitement fœtal. **20**
a. Modélisation PK et modèles PBPK intégrant le fœtus 20
b. Accès aux concentrations fœtales : prélèvements *in utero* et à la naissance 21
c. Mesure des concentrations dans les tissus fœtaux : apports et limites 22

4. De l'évaluation préclinique à l'analyse clinique du passage transplacentaire de médicaments **23**
a. Pharmacologie préclinique 23
b. Études de phase I à III appliquées à la pharmacologie clinique fœtale 25
c. Apports de la pharmaco-épidémiologie 26

B. Traitement in utero de l'infection congénitale à CMV. *29*

1. Synthèse des études menées dans la thèse sur l'infection congénitale à CMV. **29**

2. Traitement de la primo-infection maternelle : Réduire le risque de transmission materno-fœtale du virus **30**
a. Contexte 30
b. Consolider les preuves de l'efficacité du VACV en prévention secondaire de la transmission materno-fœtale du CMV 31
c. Travail (1) - Article publié : Chatzakis C, Shahar-Nissan K, Faure-Bardon V, Picone O, Hadar E, Amir J, Egloff C, Vivanti A, Sotiriadis A, Leruez-Ville M, Ville Y. *The effect of valacyclovir on secondary prevention of congenital cytomegalovirus infection, following primary maternal infection acquired periconceptionally or in the first trimester of pregnancy*. An individual patient data meta-analysis. Am J Obstet Gynecol. 2024 Feb;230(2):109-117.e2. doi : 10.1016/j.ajog.2023.07.022. Epub 2023 Jul 18. PMID : 37473793 32
d. Évaluation de la pharmacocinétique maternelle et fœtale du VACV 8g/ jour. 44
e. Travail (2) - Article original publié : Faure-Bardon V, Bouazza N, Benaboud S, Foissac F, Rouillon S, Froelicher-Bournaud L, Leruez-Ville M, Guilleminot T, Lui G, Tréluyer JM, Ville Y. *Quantification of maternal and fetal valaciclovir exposure in a pharmacokinetic study of cytomegalovirus-infected pregnant women treated to prevent vertical transmission*. J Antimicrob Chemother. 2025 Mar 3 ;80(3) :760-766. doi : 10.1093/jac/dkae470. PMID : 39810739. 46

3. Traitement du fœtus infecté : Réduire le risque de complications et séquelles **57**

a. Contexte....57
b. Letermovir : un nouvel antiviral candidat. 59
c. Quantification *in vivo* et modélisation PBPK de l'exposition maternelle et fœtale au Letermovir 60
d. Travail (3) – Article soumis dans *Journal of Infectious Diseases* (juillet 2025). Faure-Bardon V, Bouazza N, Peytavin G, Le Minh Patrick, Benaboud S, Foissac F, Lui G, Froelicher-Bournaud L, Urien S, Bessières B, Guilleminot T, Bussières L, Tréluyer JM, Leruez-Ville M, Ville Y. *Maternal-Fetal Letermovir Exposure in Vivo and PBPK-based :A Rationale for Congenital CMV Therapy.* 62

4. Analyse des risques liés à l'exposition *in utero* au VACV à haute dose (*projet en cours*). 97
a. Contexte général du projet....97
b. Enjeux de sécurité d'emploi 97
c. Questions de recherche....98
d. Travail (4). Étude en cours : Analyse des risques tératogènes, fœtotoxiques et maternels liés à l'exposition *in utero* au VACV à haute dose pendant la grossesse dans le contexte du CMV congénital dans une étude pharmaco-épidémiologique basée sur les données du SNDS avec chaînage mère-enfant...99
e. État des lieux du projet....100

C. Achondroplasie fœtale : histoire naturelle et perspectives de traitement in utero pour correction du phénotype....101

1. Histoire naturelle....101
a. Physiopathologie et épidémiologie....101
b. Cascade de FGFR3 101

2. Évolution post-natale 103
a. Complications post natales....103
b. Sténose du foramen magnum dans l'ACH : enjeux pronostiques, recommandations actuelles et place de l'IRM dans le dépistage....104
c. Traitement de l'enfant atteint 105

3. Travaux de thèse réalisés en collaboration avec les équipes de l'Institut Imagine (Paris), pionnières au niveau international dans le domaine de la recherche fondamentale sur l'ACH. 108
a. Partenariat avec le laboratoire « Bases moléculaires et physiopathologiques des ostéochondrodysplasies » (Inserm / Université Paris Cité), ...108
b. Synthèse sur les travaux de thèse réalisés sur l'ACH fœtale....109

4. Prise en charge prénatale 110
a. Diagnostic prénatal....110
b. Issues de grossesses....110
c. Place de l'IRM cérébrale fœtale : étude de faisabilité....111
d. Étude rétrospective observationnelle dans l'unité de médecine fœtale de l'hôpital Necker des cas ACH diagnostiqués entre 2009 et 2022 113
e. Travail (5) Article publié : Vallin AL, Grévent D, Bessières B, Salomon LJ, Legeai-Mallet L, Cormier-Daire V, Baujat G, Ville Y, Faure-Bardon V. Foetal achondroplasia : Prenatal diagnosis, outcome and perspectives. J Gynecol Obstet Hum Reprod. 2025 Feb ;54(2) :102891. doi : 10.1016/j.jogoh.2024.102891. Epub 2024 Dec 5. PMID : 39643117. 115

5. Perspectives de thérapie fœtale de l'ACH....126
a. Rationnel 126
b. Travail (6) : Étude préclinique évaluant le passage transplacentaire de l'infigratinib, à l'aide du modèle de perfusion *ex vivo* du cotylédon humain, et son efficacité à réduire le phénotype ACH chez le fœtus dans un modèle murin. 126
c. Étude du passage transplacentaire du vosoritide. 130
d. Article " In-Utero Therapy for Achondroplasia : Proof-of-Concept for Placental Transfer & Phenotype Rescue" 130

Discussion....131

1. Infection materno-fœtale à CMV....131
a. Principaux résultats 131
b. Implications cliniques et de recherche 131

2. Achondroplasie **132**
a. Principaux résultats 132
b. Implications cliniques et de recherche 133
Conclusion ***134***
Annexes ***135***
1. Annexe 1 : Présentations aux congrès **135**
a. Travaux sur l'infection congénitale à CMV 135
c. Travaux sur l'achondroplasie 135
2. Annexe 2 : Liste des figures du manuscrit **136**
3. Annexe 3 : Liste des tableaux du manuscrit **137**
Références ***138***

Remerciements

Monsieur Ville, apprendre à vos côtés depuis toutes ces années est un privilège unique, tant sur le plan professionnel que personnel. Merci de m'avoir transmis cette culture du *doer,* où il n'y a jamais d'obstacles mais de simples défis à relever.
Je vous suis profondément reconnaissante pour la confiance que vous m'accordez chaque jour - et ce depuis le début -, pour m'avoir ouvert la voie de la carrière hospitalo-universitaire et pour être, dans mon quotidien, un mentor exigeant, inspirant et surtout constant.

Naïm, je te remercie sincèrement d'avoir co-dirigé cette thèse et de m'avoir guidée à travers les différents aspects de la pharmacologie que nous avons appliqués à la médecine fœtale. Ta patience et ta pédagogie m'ont permis d'aborder l'ensemble de ces travaux avec confiance et sérénité.

Madame Bretelle, je vous remercie vivement d'avoir accompagné avec attention l'évolution de ma thèse et de m'avoir apporté vos précieux conseils, qui ont largement contribué à la réussite de ce travail.

Anna, je te remercie d'avoir accepté d'être rapporteuse de ce travail de thèse. J'ai une grande admiration pour ton expertise - très humaine - en diagnostic prénatal, et tout particulièrement dans la prise en charge du CMV congénital. Ta présence au sein de mon jury est pour moi un véritable honneur et donne à ce travail une portée internationale.

Monsieur Tréluyer, je vous remercie chaleureusement de m'avoir accueillie au sein de votre unité de recherche et de m'avoir présentée à chaque membre de votre équipe. Je suis également très reconnaissante de l'honneur que vous me faites en acceptant de faire partie de mon jury de thèse. J'ai à cœur de poursuivre notre collaboration au-delà de ce travail doctoral, à travers de nouveaux et nombreux projets pharmacologiques appliqués à la médecine fœtale.

Jacky, je te remercie d'avoir accepté de faire partie de mon jury et de juger mon travail de recherche. Ta confiance, ton respect et ta bienveillance me sont d'une grande aide dans mon quotidien de médecin-chercheur.

Laurence, je te remercie très sincèrement de m'avoir sollicitée il y a quelques années afin que nous collaborions dans ce projet de traitement *in utero* de l'achondroplasie. Travailler avec toi et Nabil a été une expérience scientifique à la fois enrichissante, inspirante et stimulante. Je te remercie sincèrement de me faire l'honneur d'être dans mon jury de thèse.

Merci également…

À toutes les femmes enceintes — et à leurs fœtus — qui sont ou ont été mes patientes, et qui, par leurs histoires de vie, m'ont donné l'envie d'élargir mes compétences médicales au domaine de la recherche fondamentale.

À l'ensemble de l'équipe médicale de recherche de l'URP 7328-Necker - et particulièrement Marianne Leruez-Ville, Laurent Salomon, David Grévent, Julien Stirnemann, Laurence Bussières et Bettina Bessières – de m'avoir accompagnée dans toutes les étapes de ma vie de jeune chercheuse avec bienveillance et amitié.

À Anne-Lyse Vallin qui, par son travail de master 2, m'a aidée à mener à bien les travaux de recherche sur l'achondroplasie.

À Tiffany Guilleminot, devenue une vraie amie, toujours présente pour s'impliquer dans les travaux de recherche dans la joie et la bonne humeur.

À Nabil Kaci, pour son enthousiasme et sa gentillesse.

À Laurent Mandelbrot, Dominique Duro et Gilles Peytavin de m'avoir initiée à la perfusion placentaire.

À l'ensemble des membres de l'équipe de pharmacologie de Cochin - et particulièrement à Gabrielle, Léo, Frantz et Saïk - pour leurs conseils et leur rigueur scientifique.

À mes co-thésards en particulier Romain Corroenne, Jacques Fourgeaud, Nathalie Roux et Imane Ben M'Barek.

À mes internes motivées par la recherche et toujours enthousiastes : Maëlys Nkobetchou, Ines Benkritly, Jeanne Zamanski, Helyett Ollivier, Claire Skrzypczak.

À ma nouvelle équipe de la Pitié Salpêtrière et de Sorbonne Université qui m'accueille désormais en tant que médecin hospitalo-universitaire. Merci particulièrement à Marc Dommergues pour son soutien et ses conseils et à Elisabeth Elefant, pour être un modèle de femme engagée et inspirante.

À tous mes amis et collègues qui m'encouragent et me soutiennent dans chacune des étapes de mon parcours hospitalo-universitaire. Merci notamment à Lucie, Alice, Thomas et Claire, Baloo et Laure, RV, Maryline, ainsi qu'à Ana Bouzaglou, Jean-Pierre Bernard, Laurence Foix-L'Hélias, François Jacquemard, Stéphanie Friszer, Pascale Sonigo, Sophie Guillaume, Thierry Bultez, Neil O'Gorman, Alice Thoreau et Bertrand Stos.

À mes parents, mon grand frère Aymeric et sa femme Emma, ma petite sœur Juliette et son mari Maxime, ma marraine Chantal, tous passionnés et engagés dans leurs parcours. Vous êtes mon premier soutien et une source constante d'inspiration.

À ma famille nucléaire, mon mari Victor, mes trois petits garçons Antoine, Simon et Orso, d'être mon équilibre dans le quotidien et mon refuge dans l'adversité.

Résumé

Thérapies Fœtales Curatives Innovantes : De l'Évaluation Préclinique à l'Analyse Clinique du Passage Transplacentaire de Médicaments.

Les anomalies congénitales concernent environ 2 à 3 % des grossesses. Certaines pathologies fœtales, à évolution rapide *in utero*, peuvent entraîner des séquelles sévères en l'absence de prise en charge précoce. Dans ce contexte, l'instauration d'un traitement dès la vie fœtale pourrait être bénéfique.

L'infection congénitale à cytomégalovirus (CMV) est la plus fréquente des infections en cours de grossesse, avec une incidence de 0,5 à 2,2 % des naissances vivantes. Elle constitue la première cause non génétique de surdité neurosensorielle et constitue une cause majeure de morbidité neurologique à long terme. Le pronostic dépend principalement du terme de contamination et des anomalies visibles à l'imagerie fœtale. Lors d'une primo-infection maternelle en début de grossesse – incluant la période péri-conceptionnelle et le premier trimestre de grossesse – la transmission verticale survient dans 30 à 40 % des cas, avec un risque de complications fœtales estimé entre 20 et 30 %, et un risque de séquelles neuro-auditives entre 15 et 30%. L'intérêt des antiviraux pour prévenir la transmission verticale ou réduire les séquelles est toujours débattu, ce qui justifie les études menées dans ce travail.

L'achondroplasie (ACH) est la dysplasie osseuse la plus fréquente, responsable de la majorité des formes de nanisme d'origine génétique. Elle résulte d'une mutation activatrice du gène *FGFR3*, entraînant un trouble de l'ossification endochondrale. Dans 80 à 90 % des cas, le diagnostic est posé en période prénatale, à partir de signes d'appel échographiques généralement détectables après 26 semaines d'aménorrhée. Ces anomalies osseuses peuvent entraîner des complications sévères chez l'enfant, telles qu'une cyphose thoraco-lombaire, des troubles respiratoires ou encore une sténose du foramen magnum conduisant à une compression médullaire, potentiellement mortelle. Toutes ces complications médicales graves s'ajoutent à la petite taille disproportionnée qui caractérise l'ACH, et qui constitue en elle-même une source de limitations fonctionnelles importantes ainsi que d'impacts psychologiques significatifs sur la qualité de vie. Malgré des avancées thérapeutiques significatives en pédiatrie, aucune thérapie prénatale n'est encore disponible.

Les objectifs des travaux de thèse s'articulent autour de deux axes : évaluer l'efficacité d'antiviraux dans le CMV congénital et explorer de nouvelles stratégies thérapeutiques prénatale pour l'ACH.

Dans cette perspective, les travaux de thèse présentés s'inscrivent dans une démarche rigoureuse reposant sur **différentes approches méthodologiques issues de la pharmacologie médicale appliquée à la dyade mère–fœtus**. Une approche intégrée, mobilisant la pharmacocinétique, la pharmacodynamie, la pharmacologie préclinique, clinique et la pharmacovigilance, a permis de conduire l'ensemble de ces recherches tout en assurant une évaluation scientifique, clinique et éthique des thérapies fœtales innovantes envisagées.

Mots clés

- Médecine fœtale
- Thérapie fœtale.
- Infection congénitale à cytomégalovirus (CMV)
- Achondroplasie
- Diagnostic prénatal
- Pharmacologie médicale
- Études *in vivo*
- Modèle *ex vivo*
- Pharmacocinétique materno-fœtale
- Modélisations pharmacocinétiques (PK) et physiologiquement basées (PBPK)

Version en langue anglaise des Titre, Mots Clés et Résumé

Title

Innovative Curative Fetal Therapies: From Preclinical Studies to Clinical Assessment of Transplacental Drug Transfer

Key words

- Fetal medicine
- Fetal therapy
- Congenital cytomegalovirus infection (CMV)
- Achondroplasia
- Prenatal diagnosis
- Medical pharmacology
- *In vivo* studies
- *Ex vivo* model
- Maternal–fetal pharmacokinetics
- Pharmacokinetic (PK) and physiologically based pharmacokinetic (PBPK) modeling

Abstract

Congenital anomalies affect approximately 2 to 3% of pregnancies. Certain fetal conditions, which may progress rapidly *in utero*, can result in severe sequelae in the absence of early intervention. In this context, initiating treatment during fetal life could prove beneficial.

Congenital cytomegalovirus (CMV) infection is the most common infection during pregnancy, with an incidence ranging from 0.5 to 2.2% of live births. It is the leading non-genetic cause of sensorineural hearing loss and a major contributor to long-term neurological morbidity. Prognosis largely depends on the gestational age at the time of infection and the abnormalities detectable on fetal imaging. In cases of maternal primary infection occurring early in pregnancy—including the peri-conceptional period and the first trimester—vertical transmission occurs in 30 to 40% of cases, with an estimated risk of fetal complications between 20 and 30%, and a risk of neuro-auditory sequelae between 15 and 30%. The effectiveness of antiviral therapy in preventing vertical transmission or reducing sequelae remains under debate, which justifies the studies conducted in this thesis.

Achondroplasia is the most common skeletal dysplasia and accounts for the majority of genetic forms of dwarfism. It results from an activating mutation of the FGFR3 gene, leading to impaired endochondral ossification. In 80 to 90% of cases, the diagnosis is made prenatally, based on ultrasound findings usually detectable after 26 weeks of gestation. These skeletal abnormalities can lead to serious complications in childhood, such as thoracolumbar kyphosis, respiratory disorders, or stenosis of the foramen magnum causing spinal cord compression—a potentially life-threatening condition. These severe medical complications add to the disproportionate short stature that characterizes achondroplasia, which itself causes significant functional limitations and psychological impact on quality of life. Despite ongoing therapeutic development in pediatrics, no prenatal treatment is currently available.

This thesis focuses on two main objectives: evaluating the effectiveness of antiviral therapies in congenital CMV infection and exploring new prenatal therapeutic strategies for achondroplasia.

In this perspective, the thesis is grounded in a rigorous framework based **on various methodological approaches drawn from medical pharmacology applied to the mother–fetus** dyad. An integrated approach—encompassing pharmacokinetics, pharmacodynamics, preclinical and clinical pharmacology, as well as pharmacovigilance—enabled the conduct of this research while ensuring a scientific, clinical, and ethical evaluation of these innovative fetal therapies.

Liste des abréviations utilisées

ACH : Achondroplasie

AFMS : Achondroplasia Foramen Magnum Score

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

ANSM : Agence Nationale de Sécurité des Médicaments

AUC : aire sous la courbe

CépiDC : Centre d'épidémiologie sur les causes médicales de décès)

CF : concentration fœtale

CIM 10 : Classification internationale des maladies, 10e révisionvalaciclovir (VACV

CM : concentration maternelle

Cmax : Concentration maximale

Cmin : Concentration minimale

CMV : cytomegalovirus

CNAM : Caisse nationale d'Assurance Maladie

CNIL : Commission nationale de l'informatique et des libertés

CPDPN : Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal

DCIR : Données de Consommation Inter-Régimes

DPNI : Diagnostic Prénatal Moléculaire non Invasif

EC50 : Effective Concentration 50

ECCI: Initiative Européenne sur le Cytomégalovirus Congénital

EUROCAT : European Surveillance of Congenital Anomalies

FGFR3 : récepteur 3 du facteur de croissance des fibroblastes

HAS : Haute Autorité de Santé

IC : Intervalle de Confiance

IMC : Index de Masse Corporel

IMG : Interruption Médicale de Grossesse

INSEE : Institut national de la statistique et des études économiques

IRM : Imagerie par résonance magnétique

LCR : Liquide Céphalo Rachidien

MAPK : Mitogen-Activated Protein Kinase

MFIU : Mort Fœtale In Utero

OR : Odds Ratio

PBPK: Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling

PHRC : Programme Hospitalier de Recherche Clinique

PI3K/AKT : Phosphoinositide 3-kinase/ Protein kinase B

PIM : primo-infection maternelle

PK: Pharmacokinetic

PLCγ/PKC : Phospholipase C gamma / Protein kinase C

PMSI : Programme de Médicalisation des Systèmes d'Information

SA : Semaines d'Aménorrhées

SNDS : Système National des Données de Santé

SNIIRAM : Système National d'Information Inter-Régime de l'Assurance Maladie

STAT1 : Signal Transducer and Activator of Transcription 1

TMF : transfert materno-fœtal (*du médicament)*

Introduction

Les **anomalies congénitales** concernent environ 2 à 3% des grossesses[1,2]. Certaines pathologies présentent un potentiel évolutif rapide *in utero* et en l'absence de traitement peuvent mener à des complications sévères chez l'enfant en devenir. Dans ces circonstances, il serait alors bénéfique d'initier un traitement dès la vie fœtale.

Le cytomegalovirus (CMV) représente l'infection congénitale la plus fréquente, touchant 0,5 à 2,0 % de l'ensemble des naissances vivantes, et constitue la principale cause non génétique de surdité neurosensorielle et de lésions neurologiques congénitales[3,4]. Le pronostic dépend principalement du terme de contamination et des anomalies visibles à l'imagerie fœtale par échographie et IRM fœtale cérébrale [5]. Lors d'une primo-infection maternelle (PIM) en début de grossesse – incluant la période **péri-conceptionnelle et le premier trimestre de grossesse** – la transmission verticale survient dans 30 à 40 % des cas, avec un **risque de complications fœtales** estimé entre **20 et 30 %,** et un risque de **séquelles neuro-auditives entre 15 et 30%** [6,5,7–9]. Les séquelles sont quasi exclusivement observées chez les fœtus infectés à la suite d'une primo-infection maternelle survenue en début de grossesse [6,10]. L'utilisation de traitement anti-CMV pour réduire le risque de transmission verticale et/ou pour diminuer le risque de séquelles chez un fœtus infecté est depuis longtemps débattu et c'est dans ce contexte que les études inclues dans ce travail de thèse ont été menées.

L'achondroplasie (ACH) est la dysplasie osseuse la plus fréquente, responsable de la majorité des formes de nanisme d'origine génétique. L'ACH est causée par une mutation hétérozygote activatrice du domaine transmembranaire du récepteur 3 du facteur de croissance des fibroblastes (FGFR3). Le diagnostic d'ACH est suspecté et/ou fait en période prénatale dans environ 80-90% des cas grâce aux échographies fœtales de dépistage[11]. Les signes échographiques évocateurs sont une macrocrânie associée à des os longs courts, une dysmorphie faciale - caractérisée par un front bossu et une arête nasale déprimée - un thorax étroit, des anomalies rachidiennes[12–14]. Ces caractéristiques apparaissent généralement après 26 semaines d'aménorrhées (SA) et le diagnostic prénatal est donc tardif, le plus souvent au 3ème trimestre de grosssesse[11]. **L'ACH est associée à des complications médicales tout au long de la vie et à des défis fonctionnels et psychosociaux majeurs.** Une des complications les plus sévères chez l'enfant est la sténose du foramen magnum et peut nécessiter une prise en charge thérapeutique neurochirurgicale en urgence en cas de compression médullaire[15]. Le suivi médical des enfants atteints d'ACH doit débuter dès la naissance et a été récemment protocolisé

au niveau international[11]. En parallèle, la recherche thérapeutique de molécules permettant d'améliorer leur qualité de vie est très active, notamment pour augmenter la taille de ces enfants atteints[16,17]. Il n'existe, en revanche, pas d'étude thérapeutique chez le fœtus et c'est dans cette perspective que ce travail de thèse a été conduit.

Les **objectifs des travaux de thèse** s'articulent autour de deux grands axes. Le premier concerne l'infection congénitale à **CMV** et vise à évaluer **l'efficacité d'antiviraux** à, d'une part, réduire le risque de transmission materno-fœtale du virus et, d'autre part, traiter un fœtus infecté. Le second axe porte sur **l'ACH,** avec pour objectif de définir de **nouvelles perspectives thérapeutiques** pour sa prise en charge en période prénatale. Pour ces deux pathologies l'objectif commun est, à long terme, l'usage de traitements prénataux efficaces et sécuritaires pour la femme enceinte et son fœtus atteint.

Dans cette perspective, les travaux de thèse présentés s'inscrivent dans une démarche rigoureuse reposant sur différentes approches méthodologiques issues de la **pharmacologie médicale appliquée à la dyade mère–fœtus**. Une approche intégrée mobilisant la pharmacocinétique, la pharmacodynamie, la pharmacologie préclinique, clinique et pharmaco-vigilance nous a permis de mener à bien l'ensemble des travaux menés dans cette thèse tout en conservant une évaluation scientifique, clinique et éthique de ces thérapies fœtales innovantes.

A. Pharmacologie médicale appliquée à la thérapie fœtale : Approches méthodologiques.

1. Bases pharmacologiques appliquées au couple materno-fœtal

a. Pharmacocinétique dans le contexte materno-fœtal

La **pharmacocinétique** désigne l'étude du devenir d'un médicament dans l'organisme, c'est-à-dire comment celui-ci est absorbé, distribué, métabolisé et éliminé. Elle décrit l'évolution des concentrations du médicament dans les différents compartiments biologiques au fil du temps. En contexte materno-fœtal, elle inclut notamment le transfert placentaire, la distribution dans le liquide amniotique, et les différences de métabolisme entre la mère et le fœtus.

Le transfert placentaire dépend de nombreux paramètres, tels que le poids moléculaire, la lipophilie, le degré d'ionisation du médicament et le mécanisme d'échange au travers du placenta (diffusion passive, facilitée, le transport actif et l'endocytose). Chez le fœtus, les systèmes enzymatiques hépatiques et rénaux sont immatures, ce qui affecte profondément la clairance. Par ailleurs, l'accumulation médicamenteuse dans le liquide amniotique peut engendrer une recirculation prolongée, impactant l'exposition globale du fœtus[18,19].

Un aspect crucial de la pharmacocinétique est la distinction entre la concentration totale et la concentration libre du médicament. Seule l**a fraction non liée aux protéines plasmatiques est pharmacologiquement active,** ce qui est particulièrement pertinent chez le fœtus, dont le profil protéique est différent de celui de la mère et évolue au cours de la grossesse[20].

b. Paramètres modifiant la diffusion des médicaments

Le **transfert des médicaments** à travers le placenta est conditionné par les propriétés du médicament, les facteurs placentaires et materno-fœtaux résumés dans le Tableau[18].

Tableau 1. Paramètres modifiant le transfert placentaire des médicaments

Médicament	**Placenta**
– Poids moléculaire – Liaison aux protéines plasmatiques – Liposolubilité – Ionisation – Concentration – ½ vie	– Stade de la grossesse – Épaisseur placenta – Surface d'échange – Débit placentaire – Métabolisme – Affinité et liaison tissulaire – Présence de transporteurs
Mère	**Fœtus**
– Stade de la grossesse – pH sanguin – Débit utérin – Modifications physiologiques – Maladies et thérapies – Âge	– Stade grossesse – Affinité et liaison tissulaire – Métabolisme – Excrétion rénale – Recirculation entre compartiments amniotique et circulation fœtale

c. Pharmacodynamie fœtale

La pharmacodynamie étudie les **effets du médicament sur l'organisme** et leur mécanisme d'action. Les études pharmacocinétiques permettent d'établir la relation entre la concentration du médicament et son effet thérapeutique ou toxique.

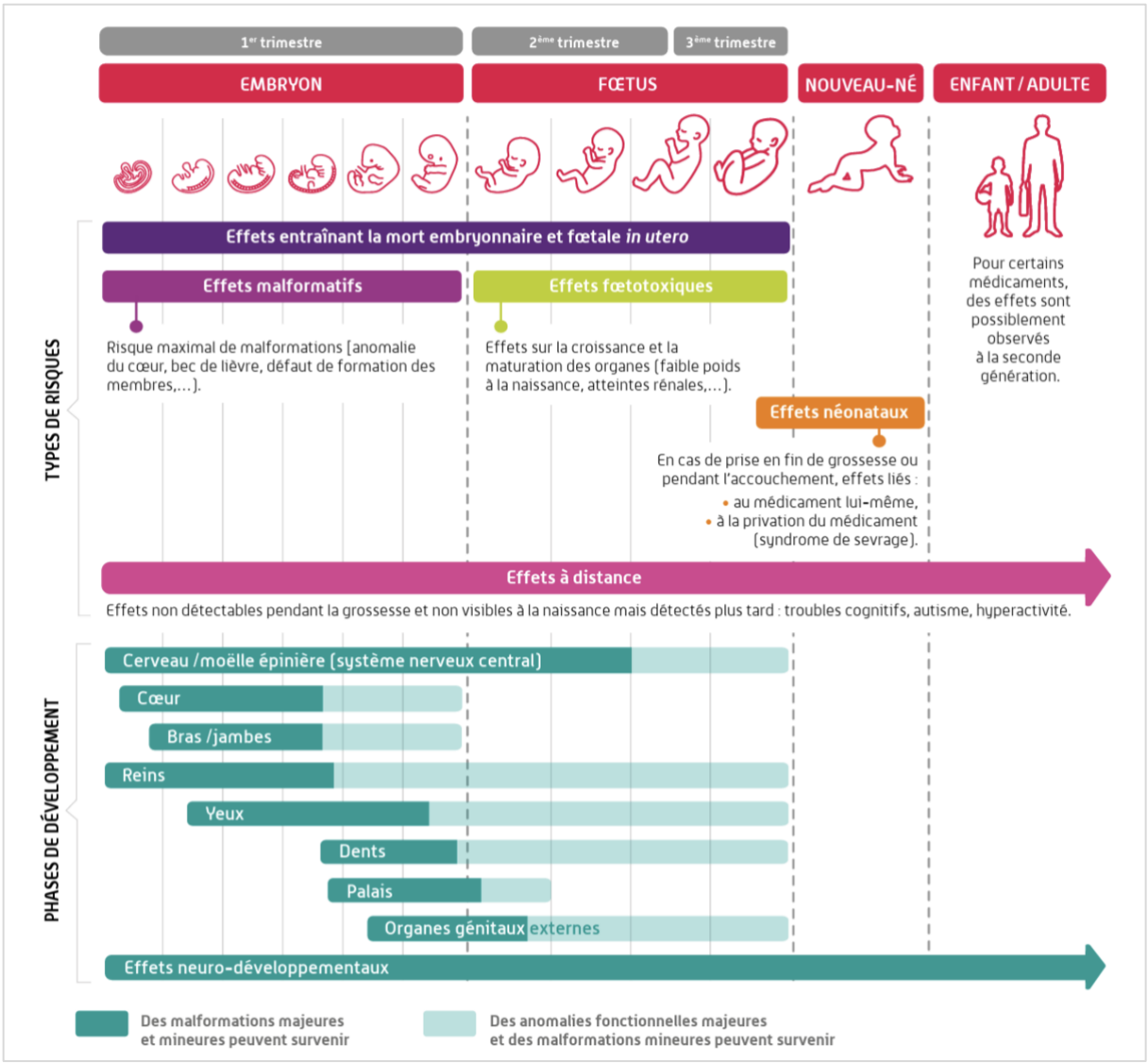
La pharmacodynamie fœtale repose sur l'interaction du médicament avec des cibles biologiques dont l'expression est souvent immature, variable selon l'âge gestationnel et en constante évolution. Cela confère **une spécificité temporelle** à la réponse pharmacologique. Les effets thérapeutiques ou indésirables peuvent être accentués ou imprévisibles en raison du développement inachevé des récepteurs, des canaux ioniques et des enzymes. Les effets potentiels sur la croissance et la différenciation des tissus imposent une grande prudence dans le choix des molécules utilisées *in utero*.

En infectiologie, lorsque l'objectif est de traiter un fœtus via sa mère et que les doses médicamenteuses doivent être optimisées dans le but d'obtenir une concentration fœtale

efficace et sécuritaire le raisonnement peut se faire à partir de l'**EC50** (Effective Concentration 50) du médicament (concentration nécessaire pour obtenir 50 % de l'effet maximal).

Les **risques tératogènes**, liés à une exposition lors de l'organogénèse (jusqu'à 10 SA) et de **toxicité développementale** – ou foetotoxicité - doivent être considérés et sont un enjeu majeur en thérapeutique materno-fœtale. L'Agence Nationale de Sécurité des Médicaments (ANSM) , dans une fiche pratique, résume particulièrement bien les risques de l'exposition médicamenteuse en lien avec les différents stades de la grossesse (Figure 2)[21].

Figure 1 . Fiche pratique proposée par l'ANSM concernant les risques embryologique et fœtaux des médicaments pris pendant la grossesse[21].



2. Contraintes et spécificités de la pharmacologie fœtale

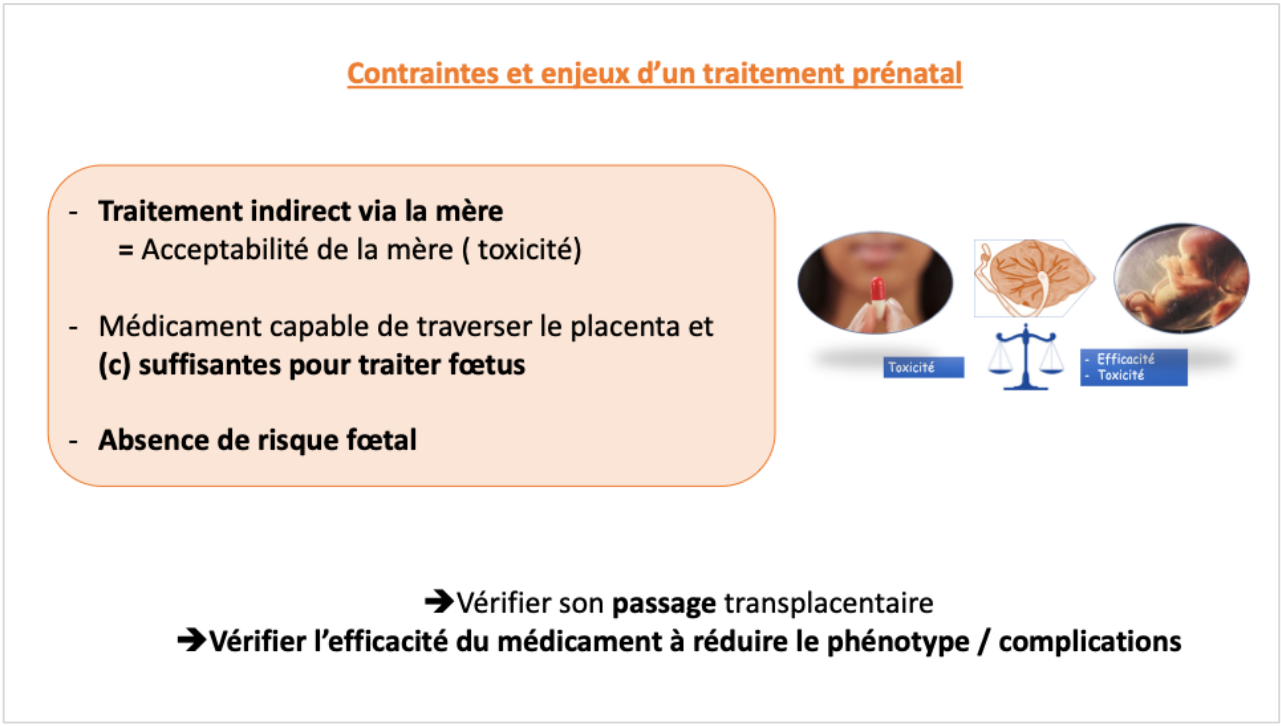
a. Enjeux éthiques propres à la thérapie fœtale

La thérapie fœtale soulève des **enjeux éthiques majeurs** liés à la prise en charge d'un patient non autonome – le fœtus – au sein d'un organisme maternel autonome. Le consentement **maternel** doit couvrir à la fois les **risques pour elle-même, pour le fœtus et les bénéfices escomptés** pour ce dernier, dans un contexte où le bénéfice direct pour la mère est souvent inexistant. Le principe de non-malfaisance impose de minimiser les risques maternels, tout en assurant une justification scientifique solide pour toute intervention fœtale.

b. Contraintes méthodologiques

Les contraintes méthodologiques sont nombreuses : le recueil de données pharmacocinétiques fœtales nécessite souvent des **prélèvements invasifs** difficiles à justifier en pratique clinique. Les **essais cliniques randomisés sont rares** voire impossibles dans ce contexte en raison du faible nombre de cas et de la complexité éthique. L'évaluation repose donc, le plus souvent, sur des études précliniques, des modèles ***ex vivo*** comme la perfusion *ex vivo* du cotylédon placentaire humain, des méthodes ***in silico*** comme les modélisations mathématiques adaptées au modèle materno-fœtal et ***in vivo*** par des méthodes alternatives, comme les études observationnelles. Aussi, la **pharmaco-épidémiologie** et l'analyse de registres permet, dans ce cadre, de détecter des signaux d'efficacité ou de sécurité à partir de données en vie réelle et sur des larges échantillons de population.

Figure 2 Contraintes et enjeux d'un traitement prénatal



3. Outils méthodologiques pour l'évaluation pharmacologique d'un traitement fœtal.

a. Modélisation PK et modèles PBPK intégrant le fœtus

L'analyse de la pharmacologie clinique materno-fœtale nécessite des stratégies adaptées, notamment l'utilisation de modèles pharmacocinétiques (PK) de population et de modélisations *in silico* PBPK (Physiologically-Based Pharmacokinetic Models) intégrant les spécificités de la femme enceinte et fœtales. Ces dernières années on note un essor de ces modélisations, en particulier pour l'étude de la pharmacologie périnatale, qui sont de plus en plus précises, puissantes et fiables[22–25].

Les modèles PK de population permettent d'estimer la variabilité interindividuelle des paramètres pharmacocinétiques (comme la clairance ou le volume de distribution) à partir de données collectées sur un ensemble de dyades mère–fœtus. Ils intègrent des covariables maternelles telles que l'âge, l'Index de Masse Corporel (IMC), la fonction rénale et hépatique, la concentration en protéines plasmatiques, ainsi que des paramètres fœtaux comme l'âge gestationnel, le poids estimé, l'état du liquide amniotique. Ces études définissent ainsi, en population, les concentrations minimale, maximale, et l'exposition cumulée (aire sous la courbe – AUC).

Les modèles PBPK, quant à eux, s'appuient sur des équations physiologiques et anatomiques pour prédire le devenir du médicament dans chaque compartiment maternel et fœtal. Selon les différents modèles, le fœtus, le liquide amniotique et le placenta peuvent être considérés comme une seule entité, appelée **unité fœto-placentaire**. Ces modèles s'appuient sur des paramètres physiologiques mesurés ou estimés, comme les volumes des organes, leurs débits de perfusion, la liaison aux protéines plasmatiques et l'activité enzymatique chez la mère. Côté fœtal, ils intègrent le volume des compartiments, la perfusion des organes, la perméabilité placentaire et la dynamique du liquide amniotique[23,26].

b. Accès aux concentrations fœtales : prélèvements *in utero* et à la naissance

L'évaluation de l'exposition fœtale à un médicament repose sur des méthodes de prélèvement réalisées soit ***in utero*** au cours de la grossesse, soit **à la naissance**. Dans les deux cas, il est possible de mesurer la concentration du médicament dans le compartiment fœtal et, en la comparant à celle de la mère, de calculer un **ratio concentration fœtale / concentration maternelle**[27]. Ce ratio constitue un indicateur du transfert placentaire et permet d'estimer l'intensité de l'exposition fœtale.

En période prénatale, deux techniques principales sont disponibles. La **cordocentèse** (ponction de sang fœtal) offre une mesure précise et directe de la concentration circulante fœtale, mais reste invasive, réservée à des indications cliniques spécifiques, et non reproductible en série. L'**amniocentèse**, moins risquée, permet quant à elle d'évaluer l'accumulation médicamenteuse dans le liquide amniotique, notamment en cas d'administration chronique. Son interprétation reste cependant indirecte et soumise à de nombreux facteurs physiologiques.

À la naissance, le **sang de cordon ombilical** fournit un accès simple et éthique à la concentration fœtale résiduelle, avec les mêmes possibilités de calcul de ratio fœtus/mère. Ce prélèvement ponctuel, bien que pratique, est influencé par le moment de la dernière prise, la demi-vie du médicament et le terme gestationnel. Le **liquide amniotique résiduel**, s'il est recueilli, peut compléter l'analyse, mais reste soumis à une forte variabilité et à une interprétation prudente.

Les données issues de ces prélèvements, qu'elles soient uniques ou répétées, peuvent être utilisées pour construire des **modèles PK et PBPK** afin d'en améliorer la précision. Elles permettent ainsi de renforcer la valeur prédictive des simulations ***in silico***, en les ancrant sur des données ***in vivo*** mesurées, dans une démarche intégrative et translative.

c. Mesure des concentrations dans les tissus fœtaux : apports et limites

Dans certains contextes particuliers, il est possible de **mesurer les concentrations médicamenteuses** directement dans les tissus fœtaux**.** Cette approche est principalement utilisée en recherche préclinique (modèles animaux gestants), mais peut également être menée chez l'humain dans des situations exceptionnelles, avec consentement parental et encadrement éthique strict[28]. Ces mesures de concentration tissulaires sont réalisées au cours d'un **examen foetopathologique** mené après une interruption médicale de grossesse (IMG) ou de mort fœtale *in utero* (MFIU).

L'analyse des tissus (foie, rein, cerveau, poumon, muscle, peau, etc.) permet de notamment d'évaluer la **distribution différentielle** du médicament selon les organes cibles, de quantifier l'accumulation tissulaire en lien avec les caractéristiques physicochimiques, détecter une toxicité potentielle localisée et aussi de compléter ou **valider les** modèles PBPK, en renseignant les coefficients de partage entre plasma et tissus spécifiques[28].

Toutefois, ces mesures présentent des limites. D'abord, elles ne sont disponibles que dans des situations rares et les effectifs sont donc faibles**.** Ensuite, elles ne permettent pas d'étude dynamique car une seule mesure est réalisée par individu. Enfin, les résultats animaux doivent être extrapolés avec prudence en raison des différences inter espèces.

4. De l'évaluation préclinique à l'analyse clinique du passage transplacentaire de médicaments

a. Pharmacologie préclinique

i. Modèle animal

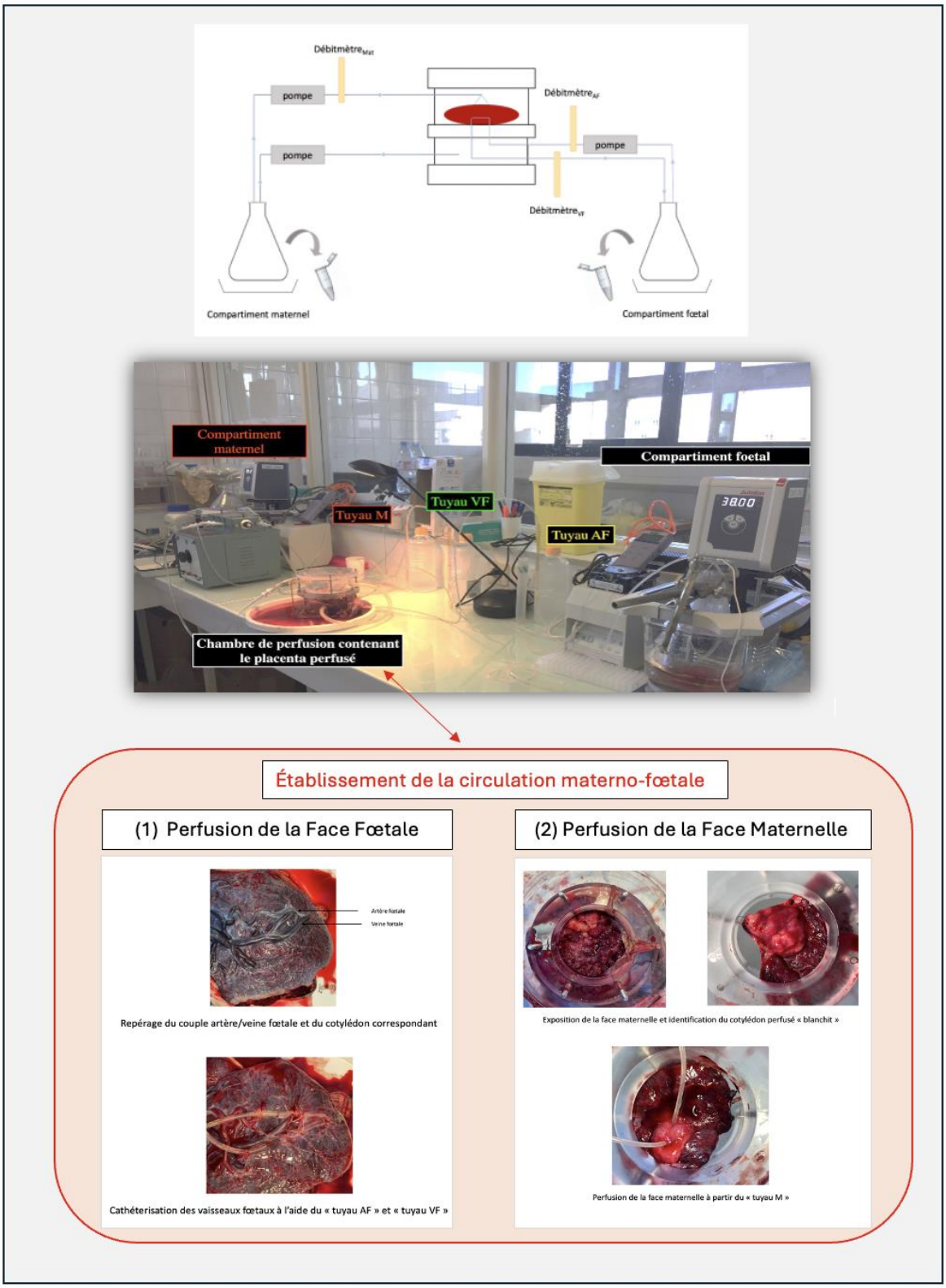
La phase préclinique repose sur l'utilisation de **modèles animaux gestants**, tels que les rongeurs, les moutons ou les primates non humains, permettant d'évaluer le transfert placentaire, la toxicité développementale et l'efficacité. Toutefois, la transposition des résultats animaux à l'homme reste limitée par les **différences d'anatomie placentaire**, de métabolisme et de cinétique fœtale.

ii. Perfusion placentaire ex-vivo

Le placenta humain est hémochorial, ce qui le rend différent de celui des autres mammifères. Les études sur les placentas d'origine animale ne sont donc pas physiologiquement extrapolables à l'Homme.

En 1972, Scheiner et al. ont décrit le **modèle du cotylédon perfusé** [29]. Ce modèle *ex vivo* permet de recréer la double circulation materno-fœtale *in vivo*. Il est, depuis, largement utilisé dans le monde pour étudier le passage transplacentaire de molécules et des recommandations pour uniformiser les protocoles ont été édités [30–33]. Il s'agit d'un **modèle éthique sans implication pour la mère** qui donne le placenta puisque celui-ci est normalement destiné aux déchets biologiques juste après l'accouchement.
C'est le modèle qui **représente le mieux les échanges fœto-maternels** actuellement et plusieurs études ont montré qu'il existe une corrélation significative entre les données du cotylédon perfusé et les données *in vivo* [27]. Le circuit de perfusion peut être en « ouvert/ouvert », c'est-à-dire qu'il n'y a pas de recirculation des perfusats maternel et fœtal. Cela permet d'étudier le passage transplacentaire brut d'une molécule et la clairance placentaire. A l'inverse il peut être en « fermé/fermé » où les perfusats de sortie sont réinjectés dans les solutions maternelle et fœtale pour une durée totale de perfusion placentaire de classiquement 3 heures. Cela permet de reproduire un circuit comparable au circuit materno-fœtal physiologique et d'évaluer l'atteinte de l'état d'équilibre [34].

Figure 3: Schéma de la chaine de perfusion de cotylédon en circuit fermé



Lors de ce protocole *ex vivo*, il est nécessaire d'utiliser une **molécule témoin diffusant librement** pour s'assurer que les échanges materno-fœtaux sont conservés tout au long de l'expérience. C'est l'antipyrine qui est classiquement utilisée car elle traverse la barrière placentaire par diffusion passive. Un taux de transfert de l'antipyrine d'au moins 20% est nécessaire pour valider l'expérience [35]. Son utilisation permet également de pouvoir comparer les résultats obtenus entre les différentes expériences car il existe des différences de perméabilité d'un placenta à l'autre [36].

Les paramètres mesurés, pour les placentas valides, sont, pour le circuit fermé, la concentration maternelle moyenne du médicament, la concentration fœtale moyenne du médicament et le taux de transfert materno-fœtal du médicament (TMF) définit comme suivant à la fin de l'expérience, à T180 min :

$$TMF(T180) = \frac{CF * VF}{(CM * VM) + (CF * VF)} * 100$$

Ces données de transfert placentaires issues de ces perfusions *ex vivo* peuvent aussi être intégrées dans les modèles PBPK afin d'améliorer leurs prédictions[31].

b. Études de phase I à III appliquées à la pharmacologie clinique fœtale

Les **études de phase I et II** chez la femme enceinte présentent des enjeux méthodologiques et bioéthiques majeurs, car elles engagent à la fois la sécurité du fœtus - patient non autonome - et l'intégrité physique de la mère - patiente saine, dans un contexte où les bénéfices sont souvent attendus pour l'un, mais pas pour l'autre.

Les études de **phase I** ont pour objectif principal d'évaluer la **tolérance, la sécurité et les paramètres PK** d'un médicament. Dans le contexte de la grossesse, elles sont rares et ne peuvent être envisagées que si le médicament est déjà utilisé dans d'autres indications ou si la mère présente une pathologie justifiant un traitement. Elles permettent de caractériser la posologie optimale, de documenter le transfert placentaire, et de mesurer l'exposition dans les compartiments fœtaux à l'aide de prélèvements maternels, de sang de cordon ou de liquide amniotique.

Les études de **phase II** s'attachent ensuite à **évaluer l'efficacité thérapeutique** dans une population ciblée, tout en continuant à surveiller la sécurité. Elles concernent souvent des interventions visant un bénéfice direct pour le fœtus, comme certaines thérapeutiques antiarythmiques ou anti-infectieuses administrées à la mère[37,38]. Leurs critères de jugement combinent des données biologiques, échographiques et cliniques, en lien avec l'évolution fœtale et l'issue néonatale. Ces essais, très encadrés, nécessitent une coordination étroite entre obstétriciens, pédiatres, pharmacologues et comités d'éthique.

Lorsque les résultats des phases précoces sont probants, **la phase III** permet de confirmer l'efficacité et la sécurité du traitement à plus grande échelle. Ces études sont généralement randomisées et contrôlées, avec un effectif plus large et des critères d'évaluation robustes. En contexte périnatal, leur mise en œuvre reste rare mais représente l'étape essentielle pour valider une stratégie thérapeutique fœtale et envisager sa généralisation clinique[39,40].

c. Apports de la pharmaco-épidémiologie

i. Complément aux essais cliniques contrôlés

La **pharmaco-épidémiologie** occupe une place stratégique dans l'évaluation des thérapies fœtales, en complément des études pharmacocinétiques et des essais cliniques. Dans un contexte où les essais randomisés sont souvent difficiles, voire impossibles à conduire pour des raisons éthiques ou logistiques les approches observationnelles apportent des données essentielles issues de la pratique réelle.

ii. Analyse des données.

Les cohortes mère-enfant, construites à partir de bases de données médicales, de **registres périnataux ou de systèmes de surveillance** des anomalies congénitales, permettent d'évaluer l'efficacité, la tolérance et les issues fœtales et néonatales associées à une exposition *in utero.*

En France, le **Système National des Données de Santé (SNDS)** constitue une ressource unique, permettant de suivre plusieurs millions de grossesses, d'identifier les expositions médicamenteuses au cours des différents trimestres et d'associer ces expositions aux issues

obstétricales ou néonatales[41]. Il permet de réaliser des **études de grande ampleur, notamment pour la détection de signaux de malformations congénitales rares**, l'évaluation du risque iatrogène à large échelle ou encore l'analyse comparative de plusieurs stratégies thérapeutiques en population réelle (Tableau 3) [42,43]. La base française à l'échelle régionale, EFEMERIS, s'inscrit dans la même logique d'analyse populationnelle couplée à des données périnatales enrichies[44,45].

Ces études peuvent être rétrospectives ou prospectives, et prendre la forme de cohortes ou d'études cas-témoins, selon la fréquence des événements étudiés. Elles permettent notamment de détecter des signaux de sécurité, de quantifier des effets à court terme (ex. : morbidité néonatale, croissance), voire à plus long terme (ex. : neurodéveloppement).

iii. Valorisation des données issues de l'exposition prénatale

Les études de pharmaco-épidémiologie valorisent également les données cliniques issues de l'exposition prénatale en dehors des essais, en générant des informations utiles pour affiner les modèles PK ou PBPK, ou orienter les recommandations en santé périnatale en informant les autorités de santé (Haute Autorité de Santé (HAS), ANSM…)

iv. Limites

Toutefois, ces approches observationnelles sont soumises à des limites méthodologiques : hétérogénéité des données, risque de biais de sélection ou de confusion, et faible précision de l'exposition si les données pharmacocinétiques individuelles ne sont pas disponibles. Malgré ces limites, la pharmaco-épidémiologie constitue aujourd'hui un outil incontournable pour étudier les effets des thérapies administrées, en vie réelle, pendant la grossesse.

Tableau 2 Le SNDS : caractéristiques, apports et limites en périnatalité

	Contenu détaillé
Périmètre couvert	> 67 millions de personnes (soit > 99 % de la population française)
Sources de données	- SNIIRAM : dépenses de l'Assurance Maladie - PMSI :Séjours hospitaliers - CépiDC: Causes médicales de décès - INSEE (données socio-démographiques) - DCIR (données individuelles des soins de ville) ➔ Accès soumis à autorisation (CNIL, Health Data Hub)
Lien mère–enfant	Oui, par appariement via le numéro d'assuré social (filiation mère-enfant reconstruite)
Période de couverture	Depuis 2006 pour les soins de ville et les hospitalisations ; actualisation annuelle
Données disponibles	- Médicaments dispensés (date, durée) - Hospitalisations (dates, diagnostics CIM-10, actes) - Soins ambulatoires (consultations, examens) -Données d'accouchement, issues fœtales (mort-né, prématurité, hypotrophie, césarienne) - Données de suivi pédiatrique (pathologies chroniques, décès)
Types d'études possibles	- Cohortes mère–enfant exposées / non exposées - Études cas-témoins - Suivi longitudinal post-exposition - Études d'incidence, prévalence, association exposition–effet
Applications en périnatalité	- Surveillance de l'utilisation de médicaments pendant la grossesse - Détection de signaux de tératogénicité ou fœtotoxicité - Comparaison d'alternatives thérapeutiques - Études sur l'impact à long terme de traitements *in utero*
Avantages majeurs	- Très grande taille de population - Représentativité nationale - Suivi longitudinal (mère + enfant) - Faible coût par rapport aux essais cliniques - Permet l'analyse de médicaments peu étudiés en essai
Limites méthodologiques	- Données administratives non conçues pour la recherche clinique - Pas de concentrations plasmatiques ou données biologiques (pas de PK directe) - Codage diagnostic parfois imprécis ou incomplet - Difficultés d'identification précise du terme de grossesse ou de l'âge gestationnel au moment de l'exposition
Exemples d'études françaises menées chez la femme enceinte	- Étude sur les macrolides et malformations congénitales (2024, > 9 millions de grossesses) [46] - Études sur les médicaments contre-indiqués et tératogènes [42,43]

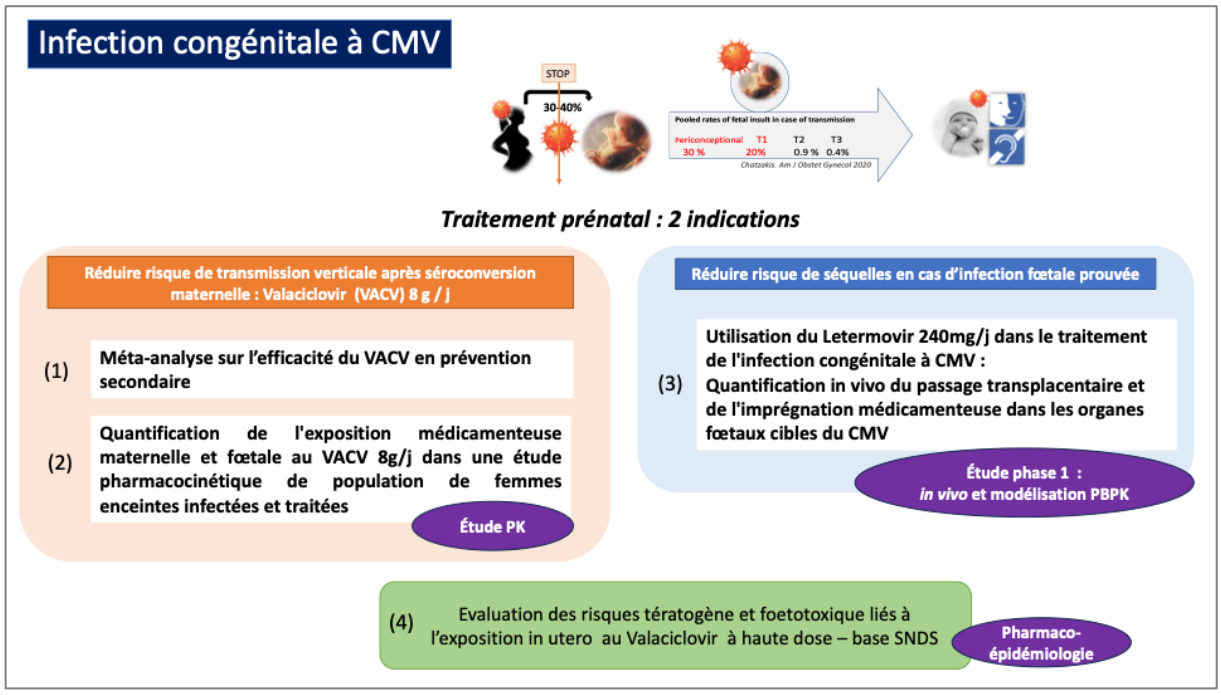
B. Traitement *in utero* de l'infection congénitale à CMV.

1. Synthèse des études menées dans la thèse sur l'infection congénitale à CMV.

Les travaux de thèse, s'intégrant dans une démarche d'évaluation des thérapies fœtales pour l'infection congénitale à CMV, s'articulent autour de quatre études menées à partir des outils pharmacologiques sus décrits. Les travaux avaient pour objectifs d'évaluer :

- **L'efficacité du valaciclovir (VACV) 8g/j dans le traitement de la PIM**
- **La pharmacocinétique maternelle et fœtale du VACV 8g/j**
- **L'exposition materno-fœtale au letermovir**, nouvel antiviral
- **Les risques tératogènes et foetotoxiques** liés à l'exposition *in utero* au **VACV** haute dose.

Figure 4. Synthèse des études menées dans la thèse sur l'infection congénitale à CMV. En violet les outils et méthodes pharmacologiques utilisés pour mener à bien ces travaux de recherche.



2. Traitement de la primo-infection maternelle : Réduire le risque de transmission materno-fœtale du virus

a. Contexte

Jusqu'en 2021, aucune étude n'avait été menée visant à évaluer l'efficacité d'antiviraux dans cette indication. Cette perspective de traiter la mère avant que le fœtus ne soit lui-même infecté est venue après le constat – lui aussi récent – que **seules les PIM du début de grossesse (péri-conceptionnelles et du 1er trimestre) étaient à risque de séquelles** chez le fœtus infecté. Une **fenêtre de prise en charge prénatale** s'est donc créée : dépister seulement les infections maternelles du début de grossesse et envisager de les traiter avant que la transmission verticale du virus - objectivée par une amniocentèse réalisée 6-8 semaines après la PIM - n'est lieu.

Ainsi, en 2021, il a été démontré par une équipe israélienne, dans une étude de phase 3 contre placebo, que le **VACV,** à une dose empirique de 8g/jour, instauré dès la PIM identifiée, permettait de **réduire de 70% la proportion d'amniocentèses** positives au CMV[39]. Cette efficacité a été confirmée dans une étude observationnelle, menée à l'hôpital Necker par notre équipe recherche la même année, en montrant une réduction significative du risque de transmission materno-fœtale (OR = 0,318 ; IC 95 % : 0,120–0,841 ; p = 0,021). Dans cette cohorte, les femmes enceintes avaient débuté le traitement par VACV en moyenne à 12,5 semaines d'aménorrhée, et l'amniocentèse avait été réalisée à un terme moyen de 17,4 SA[47].

Dans ce contexte, nous avons décidé de mener **deux études complémentaires** :D'une part, nous avons réalisé une méta-analyse de données individuelles issues de plusieurs cohortes internationales, afin de **consolider les preuves de l'efficacité** du VACV en prévention secondaire de la transmission materno-fœtale du CMV. D'autre part, nous avons évalué cette **efficacité sous un angle pharmacologique**, en étudiant la pharmacocinétique maternelle et fœtale du VACV dans cette indication. Les deux résumés de ces articles originaux et les versions publiées en anglais sont ci-après rapportés.

b. Consolider les preuves de l'efficacité du VACV en prévention secondaire de la transmission materno-fœtale du CMV

Les données issues de l'article de 2021 ont été réexploitées et associées à d'autres données internationales[47,39,48]. Ce travail, intitulé « The effect of valacyclovir on secondary prevention of congenital cytomegalovirus infection, following primary maternal infection acquired periconceptionally or in the first trimester of pregnancy. An individual patient data meta-analysis » a été publié dans *l'American Journal of Obstetrics and Gynecology* en 2023.

L'objectif de ce travail a été d'évaluer l'efficacité et la sécurité du traitement par VACV oral à la dose de 8 g/jour dans la prévention secondaire de l'infection congénitale à CMV, chez les femmes ayant présenté une PIM acquise en période péri-conceptionnelle ou au cours du premier trimestre de grossesse.

Pour ce faire, **une recherche systématique** a été menée dans **les bases de données** MEDLINE, Scopus, le registre Cochrane des essais contrôlés (CENTRAL), le registre américain des essais cliniques (www.clinicaltrials.gov), ainsi que dans des sources de littérature grise, depuis leur création jusqu'en mars 2023. Les études retenues ont été des essais contrôlés randomisés ou quasi-randomisés ayant administré du VACV oral à 8 g/jour à des femmes enceintes atteintes d'une PIM à CMV, contractée autour de la conception ou durant le premier trimestre. Tous les auteurs correspondants des études éligibles ont été contactés afin d'obtenir les **données individuelles** des patientes. Le risque de biais a été évalué à l'aide des outils Cochrane Risk of Bias 2 et ROBINS-I. **Le critère principal analysé a été le résultat de l'amniocentèse**. Une méta-analyse en un temps sur données individuelles a été réalisée à l'aide d'un modèle linéaire généralisé mixte, avec regroupement par étude. Une analyse en sous-groupes a également été effectuée pour évaluer séparément l'effet du VACV dans les infections péri conceptionnelles et celles du premier trimestre.

Trois études ont été incluses dans l'analyse, représentant un total de **527 femmes**.
Le traitement par VACV a permis :

- de **réduire significativement le taux de transmission verticale** du CMV, avec un odds ratio ajusté (ORa) de 0,34 (IC 95 % : 0,18–0,61). Cette réduction a été observée aussi bien chez les femmes infectées en période péri conceptionnelle (ORa = 0,34 ; IC

95 % : 0,12–0,96) que chez celles infectées au premier trimestre (ORa = 0,35 ; IC 95 % : 0,16–0,76).

- de **diminuer de manière significative le taux d'infection néonatale** (ORa= 0,30 ; IC 95 % : 0,19–0,47), avec un effet comparable en période péri conceptionnelle (ORa = 0,30 ; IC 95 % : 0,14–0,61) et au premier trimestre (ORa = 0,30 ; IC 95 % : 0,17–0,54).
- de **réduire le recours à l'IMG** en lien avec des anomalies fœtales graves associées au CMV (ORa = 0,23 ; IC 95 % : 0,22–0,24).

De plus, une **corrélation positive** a été observée entre **l'âge gestationnel au début du traitement et l'ensemble des critères évalués**. Enfin, le traitement a été bien toléré, avec un taux global d'effets indésirables sévères de 2,1 %.

En **conclusion**, Ces résultats ont confirmé que le VACV oral à forte dose (8 g/jour) constituait une stratégie efficace et bien tolérée pour réduire le risque de transmission verticale du CMV en cas de PIM en début de grossesse.

c. Travail (1) - Article publié : Chatzakis C, Shahar-Nissan K, Faure-Bardon V, Picone O, Hadar E, Amir J, Egloff C, Vivanti A, Sotiriadis A, Leruez-Ville M, Ville Y. *The effect of valacyclovir on secondary prevention of congenital cytomegalovirus infection, following primary maternal infection acquired periconceptionally or in the first trimester of pregnancy*. An individual patient data meta-analysis. Am J Obstet Gynecol. 2024 Feb;230(2):109-117.e2. doi : 10.1016/j.ajog.2023.07.022. Epub 2023 Jul 18. PMID : 37473793

The effect of valacyclovir on secondary prevention of congenital cytomegalovirus infection, following primary maternal infection acquired periconceptionally or in the first trimester of pregnancy. An individual patient data meta-analysis

Christos Chatzakis, MD, MSc, PhD; Karen Shahar-Nissan, PhD; Valentine Faure-Bardon, PhD; Olivier Picone, PhD; Eran Hadar, PhD; Jacob Amir, PhD; Charles Egloff, PhD; Alexandre Vivanti, PhD; Alexandros Sotiriadis, PhD; Marianne Leruez-Ville, PhD; Yves Ville, MD

OBJECTIVE: Recent studies have shown that a dosage of 8 g/d of oral valacyclovir reduces substantially the vertical transmission rate of cytomegalovirus in women with primary cytomegalovirus infection acquired periconceptionally or during the first trimester of pregnancy. This individual patient data meta-analysis aimed to assess the effectiveness and safety of valacyclovir treatment in the secondary prevention of congenital cytomegalovirus infection.

DATA SOURCES: MEDLINE, Scopus, Cochrane Central Register of Controlled Trials, the US registry of clinical trials (www.clinicaltrials.gov), and gray literature sources were searched from inception to March 2023.

STUDY ELIGIBILITY CRITERIA: Randomized controlled trials and quasi-randomized studies administering 8 g/d of oral valacyclovir in pregnant women with primary cytomegalovirus infection acquired periconceptionally or during the first trimester of pregnancy were included.

METHODS: All corresponding authors of the eligible studies were contacted. Cochrane's Risk of Bias 2 and Risk Of Bias In Non-randomised Studies - of Interventions tools were used for the risk of bias assessment. The result of amniocentesis was the primary outcome of interest. A 1-stage individual patient data meta-analysis was performed, using a generalized linear mixed model, clustered by the different trials. A subgroup analysis was performed, assessing separately the effect of valacyclovir in the periconceptional period and first trimester of pregnancy.

RESULTS: Overall, 3 studies were included in the analysis (n=527 women). Valacyclovir reduced the vertical transmission rate of cytomegalovirus (adjusted odds ratio, 0.34; 95% confidence interval, 0.18—0.61). This reduction was apparent for both periconceptional period (adjusted odds ratio, 0.34; 95% confidence interval, 0.12—0.96) and first-trimester (adjusted odds ratio, 0.35; 95% confidence interval, 0.16—0.76) infections. Moreover, valacyclovir reduced the rate of neonatal infection (adjusted odds ratio, 0.30; 95% confidence interval, 0.19—0.47), in both periconceptional period (adjusted odds ratio, 0.30; 95% confidence interval, 0.14—0.61) and first-trimester (adjusted odds ratio, 0.30; 95% confidence interval, 0.17—0.54) infections. Furthermore, valacyclovir reduced the rate of termination of pregnancy because of cytomegalovirus-associated severe fetal findings (adjusted odds ratio, 0.23; 95% confidence interval, 0.22—0.24). The gestational age at the initiation of treatment has a positive correlation with all outcomes. The overall prevalence of severe side effects was 2.1%.

CONCLUSION: A dosage of 8 g/d of oral valacyclovir reduced the vertical transmission rates of cytomegalovirus following primary maternal infection acquired periconceptionally or in the first trimester of pregnancy, with a low incidence of side effects.

Key words: amniocentesis, congenital cytomegalovirus infection, first trimester, neonates, periconceptional period, prevention, primary infection, side effects, valacyclovir, vertical transmission

Introduction

Congenital cytomegalovirus (cCMV) infection is the most common congenital infection, with an incidence rate of 0.2% to 2.2%.[1,2] Cytomegalovirus (CMV) infection is the single most common cause of congenital hearing loss, accounting for approximately one-third of cases of CMV infection. In addition, cCMV-related neurologic sequelae are diagnosed in more than 8000 infants every year in the United States.[3] Although half of the cases of cCMV infections follow maternal nonprimary infections, the individual risk of vertical transmission is the highest following a primary infection.[4,5] The reported risk of vertical transmission after primary maternal CMV infection is approximately 21.0% in the periconceptional period and 36.8% in the first trimester of pregnancy.[6] It is now established that cCMV is a threat to fetal development only when occurring between 2 months before and 3 months after conception.[6]

In 2020, a randomized double-blind placebo-controlled trial assessed the

AJOG at a Glance

Why was this study conducted?

This study aimed to assess the efficacy and safety of a dosage of 8 g/d of oral valacyclovir on the secondary prevention of congenital cytomegalovirus (CMV) infection following primary maternal infection acquired periconceptionally or in the first trimester of pregnancy.

Key findings

A dosage of 8 g/d of oral valacyclovir reduced the vertical transmission rates of CMV by 70% in both periconceptional infections and infections during the first trimester of pregnancy, with earlier initiation leading to better prevention. Moreover, oral valacyclovir has been determined as a safe option for mothers, with a low incidence of side effects.

What does this add to what is known?

A dosage of 8 g/d of oral valacyclovir reduces the vertical transmission rates of CMV following primary maternal infection acquired periconceptionally or in the first trimester of pregnancy, with a low incidence of side effects.

effect of oral valacyclovir at a dosage of 8 g/d and showed a 71% reduction in vertical transmission of CMV in women with primary CMV infection acquired periconceptionally or during the first trimester of pregnancy.[7] This publication was followed by 2 quasi-randomized trials showing similar results.[8,9]

Objectives

This individual patient data (IPD) meta-analysis aimed to assess the effectiveness of valacyclovir treatment (a dosage of 8 g/d) on the prevention of vertical transmission in cases with maternal primary infection in the periconceptional period and the first trimester of pregnancy. In addition, this meta-analysis aimed to assess the maternal safety of high-dose valacyclovir for this indication.[10]

Methods

This meta-analysis was conducted according to the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses statement for IPD meta-analyses and registered with the International Prospective Register of Systematic Reviews (identifier: CRD42022370458).

Eligibility criteria

Types of studies

This study included randomized controlled trials (RCTs) and quasi-randomized studies (cohort studies applying a statistical matching method) administering oral valacyclovir at a dosage of 8 g/d in pregnant women with primary infection in the periconceptional period or first trimester of pregnancy to prevent the vertical transmission of CMV and performing and reporting the results of amniocentesis. No publication date or language restriction was imposed.

Types of participants

This study included pregnant women with primary CMV infection in the periconceptional period or first trimester of pregnancy, receiving a dosage of 8 g/d of oral valacyclovir, who underwent an amniocentesis for prenatal diagnosis of cCMV. Moreover, fetuses and neonates of women with CMV infection were included to estimate short- and long-term outcomes.

Types of intervention

The intervention under investigation was the administration of a dosage of 8 g/d of oral valacyclovir.

Types of outcome measures

The main outcome of the study was the rate of vertical transmission of CMV, as assessed by amniocentesis performed at least 6 weeks after maternal infection and from 17 weeks of gestation onward.

The secondary outcomes included (1) positive CMV infection at birth, (2) termination of pregnancy because of CMV-associated central nervous system (CNS) finding or multiorgan involvement on ultrasound or magnetic reso-

From the Department of Obstetrics, Fetal-Medicine, and Surgery, Necker—Enfants Malades Hospital, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, University of Paris, Paris, France (Drs Chatzakis, Faure-Bardon, and Ville); Second Department of Obstetrics and Gynecology, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece (Drs Chatzakis and Sotiriadis); Department of Pediatrics "C," Schneider Children's Medical Center of Israel, Petach Tikvah, Israel (Dr Shahar-Nissan); Sackler Faculty of Medicine, Department of Pediatric Infectious Diseases, Tel Aviv University, Tel Aviv, Israel (Drs Shahar-Nissan, Hadar, and Amir); Department of Obstetrics and Gynecology, Hospital Paul Brousse, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, University of Paris, Paris, France (Drs Picone and Egloff); Helen Schneider Hospital for Women, Rabin Medical Center, Petach Tikvah, Israel (Drs Hadar and Amir); Department of Obstetrics and Gynecology, DMU Santé des Femmes et des Nouveau-nés, Hôpital Antoine Béclère, Paris Saclay University, AP-HP, Clamart, France (Dr Vivanti); and Virology Laboratory, Necker—Enfants Malades Hospital, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France (Dr Leruez-Ville).

Received May 24, 2023; revised July 10, 2023; accepted July 11, 2023.

The authors report no conflict of interest.

This study received no funding.

Corresponding author: Yves Ville, MD. ville.yves@gmail.com

0002-9378/$36.00 • © 2023 Elsevier Inc. All rights reserved. • https://doi.org/10.1016/j.ajog.2023.07.022

Click Video under article title in Contents at ajog.org

nance imaging (MRI), and (3) maternal side effects of valacyclovir administration.

Search methods for the identification of studies

Eligible studies were identified through a predefined search strategy of electronic databases. We searched the literature (last search March 2023) for RCTs and quasi-randomized studies administering a dosage of 8 g/d of oral valacyclovir in pregnant women with primary CMV infection in the periconceptional period or in the first trimester of pregnancy to prevent the vertical transmission of CMV while performing and reporting the results of amniocentesis for prenatal diagnosis of cCMV infection via a polymerase chain reaction. MEDLINE, Scopus, Cochrane Central Register of Controlled Trials, the US Registry of clinical trials (www.clinicaltrials.gov), and gray literature sources were searched. There was no language restriction. The search was performed using combinations of the terms "valacyclovir," "secondary prevention," "CMV," "cytomegalovirus," "congenital CMV infection," and "primary CMV infection." Of note, 2 authors independently performed the literature search, and in case of disagreement, a consensus was reached after discussion. Whenever a consensus could not be reached, a third author offered advice. All studies were carefully compared to avoid inclusion of duplicates or overlapping samples. In case of overlap, the study with the largest number of events was included. There was no limitation concerning the publication dates.

Study selection

Of note, 2 reviewers independently assessed the eligibility of all identified citations according to the above-mentioned criteria. Disagreements between the 2 reviewers were resolved by consensus.

Data collection process

The corresponding authors of eligible studies were contacted and asked to participate in this IPD meta-analysis by sharing their anonymized data. The requested data included gestational age at the time of primary maternal infection, details of valacyclovir regimen, gestational age at valacyclovir treatment initiation, duration of treatment, gestational age at amniocentesis, results of amniocentesis, side effects, termination of pregnancy because of CMV-associated CNS findings or multiorgan involvement on ultrasound or MRI, and presence of CMV infection at birth.

Data extraction

Data extraction and assessment of study quality were independently performed by 2 authors. The study characteristics of each included study were assessed according to a predefined data extraction form included in the Cochrane Handbook for Systematic Reviews.[11] In case of disagreement, a consensus was reached after discussion between the 2 authors.

Risk of bias in individual studies

Of note, 2 review authors independently assessed the risk of bias in included studies using version 2 of the Cochrane risk-of-bias tool for randomized controlled trials (RoB 2)[12] and the Risk Of Bias In Non-randomised Studies - of Interventions (ROBINS-I) tool for quasi-randomized studies.[13]

Synthesis of the results

A 1-stage IPD meta-analysis was conducted, as it presents better statistical properties in terms of bias and coverage and enables the investigation of interaction effects.[14] In this 1-stage approach, a generalized linear mixed model with random treatment effects and stratified by trial nuisance parameters was used. Treatment effects were analyzed using a random effects model to account for between-study heterogeneity. Interaction terms were used in the model to identify the predictors of response.[15] The heterogeneity between the separate trials was summarized by the estimated between-trial variance. A P value of $<.05$ was regarded as statistically significant. Cases with missing values in the outcomes of interest were excluded. Missing values in the independent variables were imputed by multivariate imputation by chained equations, using predictive mean matching for the continuous variables, where the imputations are based on values observed from the no missing data and generating 10 imputed datasets.[16] For the descriptive statistics of the continuous variables, their distribution was assessed and was found to be normally distributed. Therefore, mean and standard deviation (SD) were used. All analyses were performed in R (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

Additional analyses

A subgroup analysis was performed according to the timing of maternal primary infections, that is, (1) the periconceptional period (defined between 8 weeks before and 4 weeks after the last menstrual period) and (2) the first trimester of pregnancy. These analyses were performed for the outcomes of vertical transmission, neonatal CMV positivity, and termination of pregnancy because of fetal CNS or multiorgan involvement on ultrasound or MRI.

Results

Study selection

The electronic search from the databases after the removal of duplicates yielded 17,432 potential studies; 17,419 of the studies were excluded on the basis of their title or abstract, leaving 14 studies for full-text review. After the full-text review, we finally included 3 studies (Figure 1).[7,9,17] The excluded studies with reasons are shown in Supplemental Table 1, and the characteristics of the included studies are shown in the Table.

Overall, 1 study was an RCT,[7] and 2 studies were quasi-randomized trials, which used propensity score matching.[9,17]

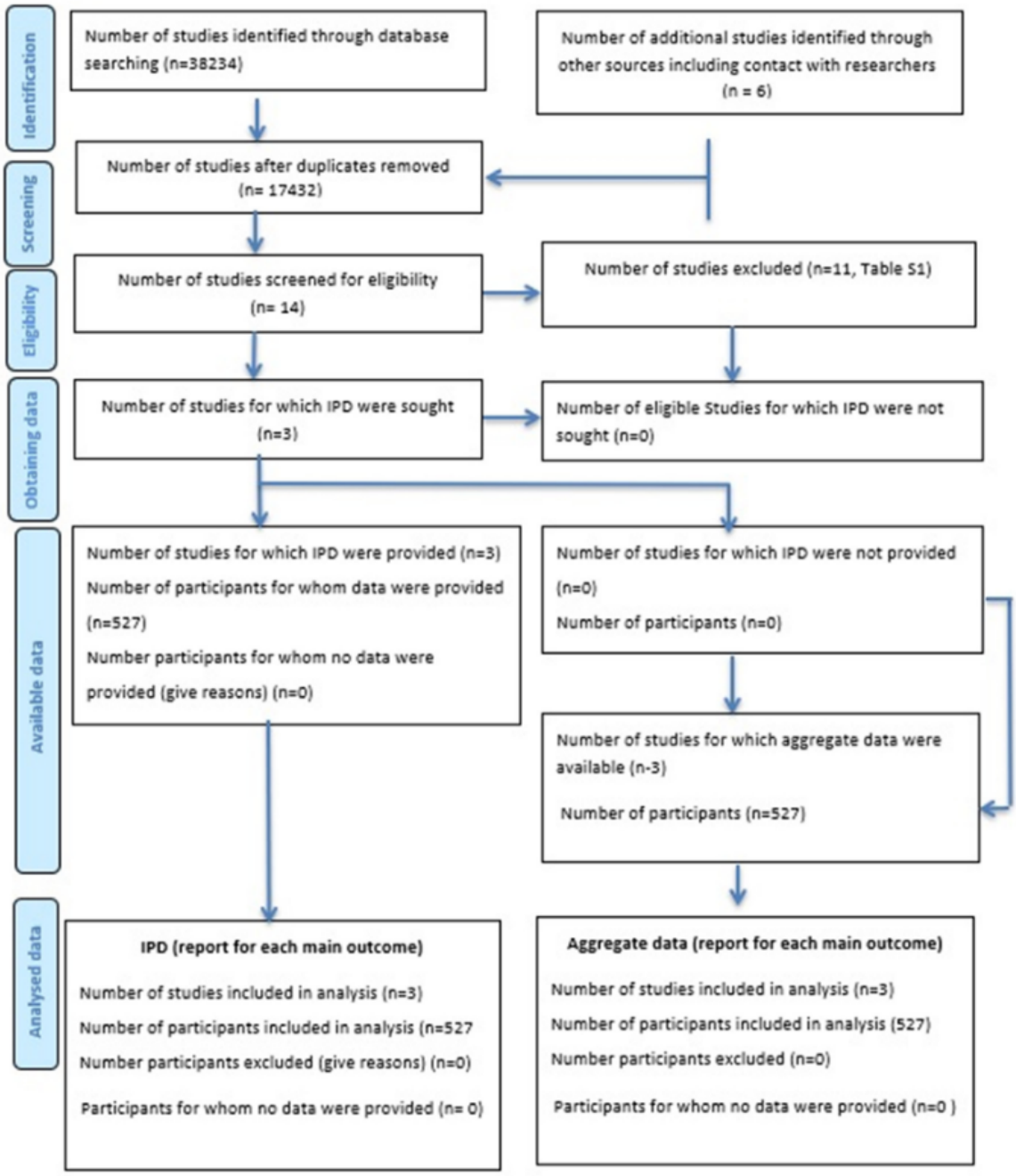
Assessment of the risk of bias

The methodological quality of studies was assessed using RoB 2 and the ROBINS-I tool. Supplemental Tables 2 and 3 show the scoring of the included studies. All studies have been classified as low risk of bias.

Synthesis of results

Overall, 527 cases of pregnant women with primary CMV infection during the periconceptional period or the first

FIGURE 1
Selection process of the included studies



IPD, individual patient data.

Chatzakis. Valacyclovir prevents the vertical transmission of cytomegalovirus. Am J Obstet Gynecol 2023.

trimester of pregnancy were included. Of those women, 218 received a dosage of 8 g/d of valacyclovir, and 309 received placebo or no intervention. The mean maternal age was 32.2 years (SD, 4.08), the mean gestational age at seroconversion was 3.68 weeks (SD, 4.8; 0.2 weeks [SD, 3.1] in the periconceptional period and 7.9 weeks [SD, 2.4] in the first trimester of pregnancy), the mean gestational age at the beginning of valacyclovir treatment was 11.8 weeks (SD, 2.9), the mean interval between maternal primary CMV infection and treatment initiation was 8.4 weeks

TABLE
Characteristics of the included studies

Study	Design	Patients	Timing of the infection and method for determining the infection	Intervention and gestational age at intervention	Timing of amniocentesis	Primary outcome
Shahar-Nissan et al,[7] 2020	Randomized controlled trial, 1:1 randomization	90 women with serological evidence of a primary CMV infection	Periconceptional or first trimester of pregnancy; seroconversion of IgG from negative to positive during pregnancy or an IgG with low avidity in the presence of a specific IgM and a subsequent, substantial rise in IgG titer	8 g/d of oral valacyclovir (4 g twice a day) and 11.5 gw (SD, 2.88)	At least 7 wk after the estimated time of maternal infection and after 21 wk of gestation	Amniocentesis result
Faure-Bardon and Ville,[17] 2022	Cohort study applying 1:2 propensity score matching	327 women with CMV seroconversion before 14 wk of gestation	Periconceptional or first trimester of pregnancy; IgG and IgM measurements, followed by IgG avidity tests in cases with positive IgM and positive IgG	8 g/d of oral valacyclovir (4 g twice a day [n=81] and 2 g 4 times a day [n=42]) and 12 gw (SD, 2.9)	At least 8 wk after the estimated time of maternal infection at 17−22 wk of gestation	Amniocentesis result
Egloff et al,[9] 2023	Cohort study applying 1:1 propensity score matching	143 women with primary CMV infection periconceptionally or during pregnancy	Periconceptional or first, second, or third trimester of pregnancy; seroconversion of IgG from negative to positive during pregnancy or an IgG with low avidity in the presence of a specific IgM and a subsequent, substantial rise in IgG titer	8 g/d of oral valacyclovir (2 g 4 times a day) and 13.6 gw (IQR, 11.0−17.0)	At least 6 wk after the estimated time of maternal infection and after 21 wk of gestation	CMV infection at birth

CMV, cytomegalovirus; *IgG*, immunoglobulin G; *IgM*, immunoglobulin M, *IQR*, interquartile range; *SD*, standard deviation.

Chatzakis. Valacyclovir prevents the vertical transmission of cytomegalovirus. Am J Obstet Gynecol 2023.

(SD, 4.3), the mean gestational age at amniocentesis was 20.0 weeks (SD, 2.0), and the mean duration of treatment was 60.3 days (SD, 33.1).

Primary outcome

Data regarding the result of amniocentesis were available for 515 women. Of the 298 women in the placebo or no intervention group, 76 (25.5%) had a positive CMV amniocentesis. Of the 217 women who received valacyclovir, 24 (11.1%) had a positive CMV amniocentesis (odds ratio [OR], 0.36; 95% confidence interval [CI], 0.22−0.59; $P<.001$; number needed to treat (NNT), 6.9).

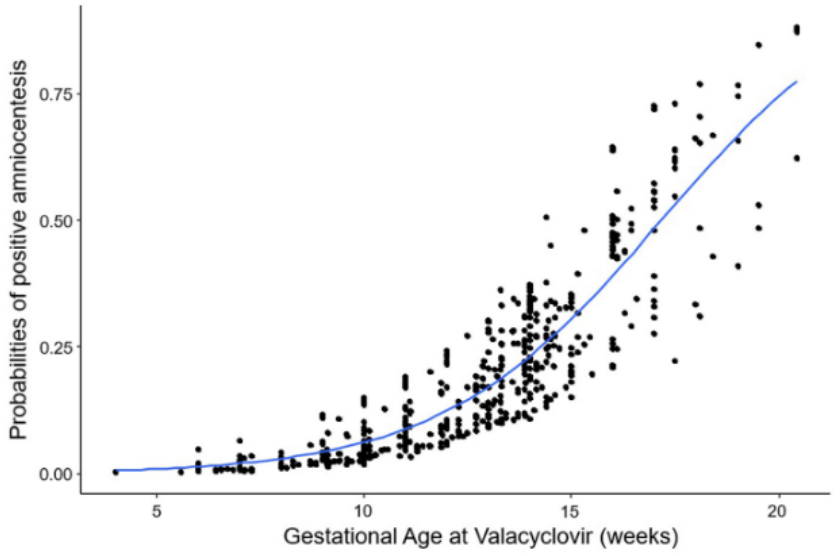
After performing a generalized linear mixed effects model with random intercept and random slope for gestational age at seroconversion, gestational age at the beginning of treatment, and gestational age at amniocentesis, clustered by the different trials, the adjusted OR (aOR) for valacyclovir treatment was 0.34 (95% CI, 0.18−0.61). Gestational age at the initiation of treatment was found to be a significant predictive factor (OR, 1.28; 95% CI, 1.05−1.57) (Figure 2).

The variance of the model attributed to the differences between studies was 0.7995, 0.00005638 for gestational age at seroconversion, 0.006670 for gestational age at the beginning of treatment, and 0.01263 for the gestational age at amniocentesis.

Secondary outcomes

For the outcome of positive CMV infection at birth, data from 396 neonates were available. Of the 219 neonates

FIGURE 2
Probabilities of positive amniocentesis and gestational age at treatment



Chatzakis. Valacyclovir prevents the vertical transmission of cytomegalovirus. Am J Obstet Gynecol 2023.

in the placebo or no intervention group, 90 (41.1%) had a positive CMV test. Of the 177 neonates who were exposed to valacyclovir, 34 (19.2%) had a positive CMV test (OR, 0.34; 95% CI, 0.21−0.54; *P*<.001; NNT, 4.6). After performing a generalized linear mixed effects model with random intercept and random slope for gestational age at seroconversion and gestational age at the beginning of treatment, clustered by the different trials, the aOR for valacyclovir treatment was 0.30 (95% CI, 0.19−0.47). The gestational age at initiation of treatment was found to be a significant predictive factor (OR, 1.20; 95% CI, 1.004−1.431) (Figure 3).

Regarding the side effects of valacyclovir administration, there were available data for 139 women who received it. Of those women, 29 (20.8%) reported nausea, 29 (20.8%) reported headache, 2 (1.4%) had low platelets count, and 3 women (2.1%) developed acute kidney injury, which resolved after cessation of treatment.

Moreover, 527 women were available for assessing the outcome of termination of pregnancy because of CMV-associated CNS or multiorgan involvement on ultrasound or MRI. Of the 309 women in the placebo or no intervention group, 14 (4.5%) terminated their pregnancies. Of the 218 women who received valacyclovir, 2 (0.9%) terminated their pregnancies (OR, 0.19; 95% CI, 0.04−0.86; *P*=.017; NNT, 27.8). After performing a generalized linear mixed effects model with random intercept and random slope for gestational age at seroconversion and gestational age at the beginning of treatment, clustered by the different trials, the aOR for valacyclovir treatment was 0.23 (95% CI, 0.22−0.24). The gestational age at the beginning of treatment was found to be a significant predictive factor (OR, 1.57; 95% CI, 1.56−1.58) (Figure 4).

Additional analyses

Subgroup analyses according to the timing of primary infection were performed for the outcome of vertical transmission, CMV positivity at birth, and termination of pregnancy because of CMV-associated CNS finding or multiorgan involvement on ultrasound or MRI.

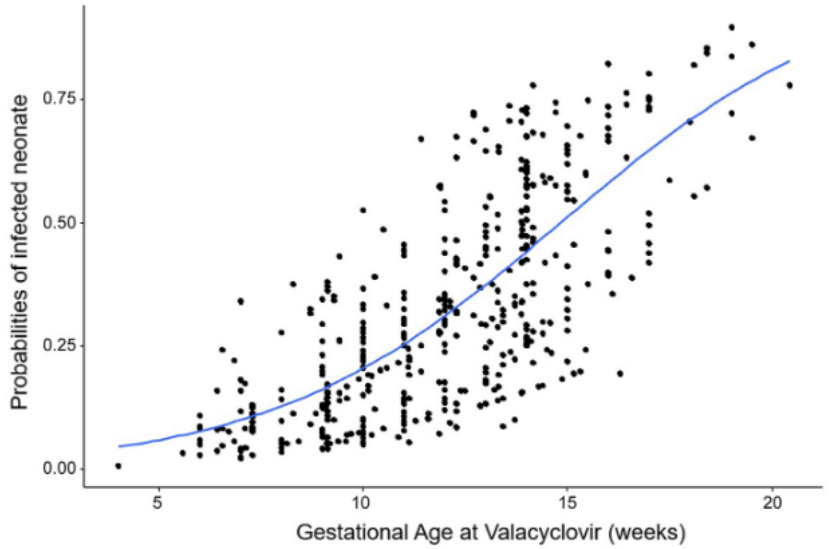
For the subgroup with primary CMV infection in the periconceptional period, 22 of 151 women (14.6%) in the placebo or no intervention group had a positive amniocentesis. Of the 123 women who received valacyclovir, 8 (6.5%) had a positive CMV amniocentesis (OR, 0.40; 95% CI, 0.17−0.95; *P*=.033). After performing a generalized linear mixed effects model with random intercept and random slope for gestational age at seroconversion, gestational age at the beginning of treatment, and gestational age at amniocentesis, clustered by the different trials, the aOR for valacyclovir treatment was 0.34 (95% CI, 0.12−0.96).

For the subgroup with primary CMV infection in the first trimester of pregnancy, 54 of 147 women (36.7%) in the placebo or no intervention group had a positive CMV amniocentesis. Of the 94 women who received valacyclovir, 16 (17.0%) had a positive amniocentesis (OR, 0.35; 95% CI, 0.18−0.66; *P*=.001). After performing a generalized linear mixed effects model with random intercept and random slope for gestational age at seroconversion, gestational age at the beginning of treatment, and gestational age at amniocentesis, clustered by the different trials, the aOR for valacyclovir treatment was 0.35 (95% CI, 0.16−0.76).

For the subgroup with primary CMV infection in the periconceptional period, 24 of 105 neonates (22.9%) in the placebo or no intervention group tested positive for CMV at birth. Of the 95 neonates in the valacyclovir group, 9 (9.5%) tested positive for CMV (OR, 0.35; 95% CI, 0.15−0.80; *P*=.011). After performing a generalized linear mixed effects model with random intercept and random slope for gestational age at seroconversion and gestational age at the beginning of treatment, clustered by the different trials, the aOR for valacyclovir treatment was 0.30 (95% CI, 0.14−0.61).

For the subgroup with primary CMV infection in the first trimester of pregnancy, 66 of 114 neonates (57.9%) in the placebo or no intervention group tested positive for CMV. Of the 82 neonates in the valacyclovir group, 25 (30.5%) tested

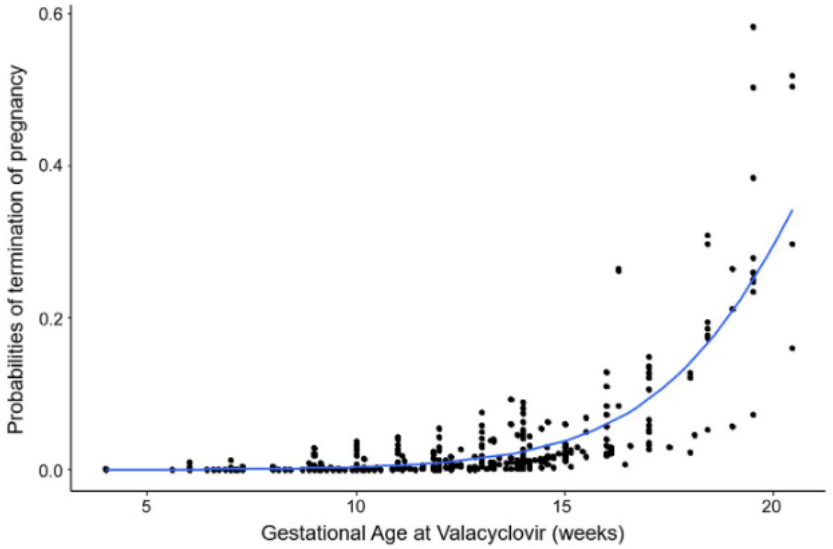
FIGURE 3
Probabilities of neonatal infection and gestational age at treatment



CMV, cytomegalovirus.

Chatzakis. Valacyclovir prevents the vertical transmission of cytomegalovirus. Am J Obstet Gynecol 2023.

FIGURE 4
Probabilities of termination of pregnancy and gestational age at treatment



CMV, cytomegalovirus; *CNS*, central nervous system.

Chatzakis. Valacyclovir prevents the vertical transmission of cytomegalovirus. Am J Obstet Gynecol 2023.

positive for CMV (OR, 0.31; 95% CI, 0.17−0.58; $P<.001$). After performing a generalized linear mixed effects model with random intercept and random slope for gestational age at seroconversion and gestational age at the beginning of treatment, clustered by the different trials, the aOR for valacyclovir treatment was 0.30 (95% CI, 0.17−0.54).

For the subgroup with primary infection in the periconceptual period, 3 of 154 women (1.9%) in the placebo or no intervention group terminated their pregnancies. Of 124 women who received valacyclovir, 2 (1.6%) terminated their pregnancies (OR, 0.82; 95% CI, 0.13−5.01; $P=.834$). After performing a generalized linear mixed effects model with random intercept and random slope for gestational age at seroconversion and gestational age at the beginning of treatment, clustered by the different trials, the aOR for valacyclovir treatment was 0.62 (95% CI, 0.08−4.77).

For the subgroup with primary CMV infection in the first trimester of pregnancy, 11 of 155 women (7.1%) in the placebo or no intervention group terminated their pregnancies. None of the 94 women who received valacyclovir terminated their pregnancy (OR, 0.60; 95% CI, 0.54−0.67; $P=.008$). After performing a generalized linear mixed effects model with random intercept and random slope for gestational age at seroconversion and gestational age at the beginning of treatment, clustered by the different trials, the aOR for valacyclovir treatment was 0.55 (95% CI, 0.31−0.97).

Comments

Principal findings

In this IPD meta-analysis, we showed that the administration of a dosage of 8 g/d of oral valacyclovir leads to reduced rates of vertical transmission of CMV for infections both in the periconceptional period and in the first trimester of pregnancy. Moreover, the administration of valacyclovir had a tertiary prevention effect through the decreased rates of termination of pregnancy for CMV-related CNS findings or multiorgan involvement on ultrasound or

MRI in pregnancies complicated by primary CMV infection. In addition, we showed that administration of 8 g/d of oral valacyclovir poses a minimal risk for the mother, as severe side effects or any side effects were uncommon. Gestational age at initiation of treatment was a significant factor for the successful prevention of vertical transmission and neonatal infection; the more advanced gestational age at initiation of the treatment, the higher were the rates of vertical transmission and neonatal infection.

Comparison with existing literature

It is known that long-term complications occur only following maternal primary CMV infections acquired between 2 months before and 3 months after conception,[6] and the rates of vertical transmission in the periconceptional period and in the first trimester are 21.0% and 36.8%, respectively.[6] Valacyclovir has been tested for the secondary prevention of congenital CMV infection, as it is the precursor drug of acyclovir, a DNA polymerase inhibitor. Acyclovir is subsequently converted into acyclovir triphosphate, which itself exerts antiviral activity through DNA chain termination and disruption of viral DNA synthesis,[18,19] Here, we showed that the administration of valacyclovir substantially reduces CMV vertical transmission rates in this high-risk population, and we also proved that timing is crucial, with earlier initiation leading to better prevention.

To date, the effectiveness of valacyclovir in preventing vertical transmission in periconceptional infections was only apparent as a trend in individual studies and in a previous meta-analysis.[20] The latter was a meta-analysis of aggregate data,[20] which used studies with retrospective nonrandomized design, which lacked standardized criteria for prenatal and postnatal assessment of fetuses with CMV infection. Moreover, those studies were heterogeneous in gestational age at maternal seroconversion. Finally, the number of studies and the number of patients were very limited to perform a meta-analysis of aggregated data.[21] Furthermore, the power of the analysis of IPD of eligible studies enabled us to confirm the effectiveness of valacyclovir prevention in periconceptional infections, with a 66% and 70% decrease in CMV vertical transmission and neonatal infection, respectively.

In addition, the previous meta-analysis suggested that the overall rate of severe adverse events was 3.17%.[20] We report a lower rate of 2.1%, limited to acute obstructive renal failure because of crystallization of its by-product eliminated in the renal tubules.[22] This risk can be avoided by fragmenting the administration and ensuring adequate hydration.[18]

All included studies used a dosage of 8 g/d of valacyclovir, and the average duration of treatment was 55 and 65 days in cases with a negative and a positive amniocentesis, respectively. In all cases, the valacyclovir treatment was started at a mean gestational age of 12 weeks and was discontinued at the time of amniocentesis in women with CMV-negative amniocentesis. In women with CMV-positive amniocentesis, valacyclovir treatment was discontinued at birth in 2 studies[9,17] and at the time of amniocentesis in 1 study.[7]

Cessation of treatment after a negative amniocentesis is a safe option, as a negative amniocentesis ensures the absence of fetal insult or long-term complications, even if fetal transmission occurred later in 8% of the cases, by the time of birth.[23]

Strengths and limitations

A strength of this study is that this is a meta-analysis of the effectiveness and safety of valacyclovir in the secondary prevention of congenital CMV infection, using IPD exclusively from randomized or quasi-randomized trials. The design of the study permitted the assessment of different potential confounders, revealing the significant effect of gestational age at the initiation of treatment. By aggregating IPD, we ensured that this analysis had the required statistical power to also address uncommon events, such as the potential side effects.

The absence of reported complications in the group of women who received no intervention in the quasi-randomized studies did not permit us to compare the 2 groups in terms of side effects. As nausea and headache are commonly encountered in uncomplicated pregnancies, low platelets are encountered in pregnant women too.

A limitation of this study is the lack of reported side effects in the control group. This is because only 1 study used a placebo.[7] In the quasi-randomized studies where women received no intervention, the absence of reported complications prevented us from making a comparison between the 2 groups in terms of side effects. It should be noted that nausea and headache are commonly encountered in uncomplicated pregnancies and that low platelet count is relatively less common.

Conclusions and implications

The administration of a dosage of 8 g/d of oral valacyclovir led to reduced rates of vertical transmission and severe forms of CMV infection in pregnancies complicated by primary CMV infection acquired in the periconceptional period or first trimester of pregnancy. Moreover, oral valacyclovir has been determined as a safe option for mothers, as severe side effects or any side effects were uncommon. ■

REFERENCES

1. Fowler KB, Stagno S, Pass RF. Maternal age and congenital cytomegalovirus infection: screening of two diverse newborn populations, 1980-1990. J Infect Dis 1993;168:552–6.
2. Kenneson A, Cannon MJ. Review and meta-analysis of the epidemiology of congenital cytomegalovirus (CMV) infection. Rev Med Virol 2007;17:253–76.
3. Cannon MJ, Davis KF. Washing our hands of the congenital cytomegalovirus disease epidemic. BMC Public Health 2005;5:70.
4. Ahlfors K, Ivarsson SA, Harris S. Secondary maternal cytomegalovirus infection–a significant cause of congenital disease. Pediatrics 2001;107:1227–8.
5. Boppana SB, Fowler KB, Britt WJ, Stagno S, Pass RF. Symptomatic congenital cytomegalovirus infection in infants born to mothers with preexisting immunity to cytomegalovirus. Pediatrics 1999;104:55–S60.
6. Chatzakis C, Ville Y, Makrydimas G, Dinas K, Zavlanos A, Sotiriadis A. Timing of primary maternal cytomegalovirus infection and rates of vertical transmission and fetal consequences. Am J Obstet Gynecol 2020;223:870–83.e11.

7. Shahar-Nissan K, Pardo J, Peled O, et al. Valaciclovir to prevent vertical transmission of cytomegalovirus after maternal primary infection during pregnancy: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. Lancet 2020;396:779–85.
8. Faure-Bardon V, Fourgeaud J, Stirnemann J, Leruez-Ville M, Ville Y. Secondary prevention of congenital cytomegalovirus infection with valacyclovir following maternal primary infection in early pregnancy. Ultrasound Obstet Gynecol 2021;58:576–81.
9. Egloff C, Sibiude J, Vauloup-Fellous C, et al. New data on efficacy of valacyclovir in secondary prevention of maternal-fetal transmission of cytomegalovirus. Ultrasound Obstet Gynecol 2023;61:59–66.
10. Schurder J, Lazareth H, Mrad J, Thervet E, Benachi A, Vivanti AJ. Acute kidney injury after valacyclovir administration for prevention of congenital cytomegalovirus infection. Ultrasound Obstet Gynecol 2021;58:636–7.
11. Kausar S, Said Khan F, Ishaq Mujeeb Ur Rehman M, et al. A review: Mechanism of action of antiviral drugs. Int J Immunopathol Pharmacol 2021;35:20587384211002621.
12. Sterne JAC, Savović J, Page MJ, et al. RoB 2: a revised tool for assessing risk of bias in randomised trials. BMJ 2019;366:l4898.
13. Sterne JA, Hernán MA, Reeves BC, et al. Robins-I: a tool for assessing risk of bias in non-randomised studies of interventions. BMJ 2016;355:i4919.
14. Kontopantelis E. A comparison of one-stage vs two-stage individual patient data meta-analysis methods: a simulation study. Res Synth Methods 2018;9:417–30.
15. Riley RD, Tiery JF, Stewart LA, eds. Individual participant data meta-analysis: a handbook for healthcare research. Chichester, United Kingdom: Wiley; 2021.
16. van Buuren S. Flexible imputation of missing data, 2nd ed. Boca Raton, FL: Chapman and Hall/CRC; 2018.
17. Faure-Bardon V, Ville Y. OC05.08: Valacyclovir is effective to prevent vertical transmission after maternal primary infection with CMV in the first trimester of pregnancy. Ultrasound Obstet Gynecol 2022;60(Suppl1):16.
18. Huntjens DW, Dijkstra JA, Verwiel LN, et al. Optimizing antiviral dosing for HSV and CMV treatment in immunocompromised patients. Pharmaceutics 2023;15:163.
19. Kausar S, Said Khan F, Ishaq Mujeeb Ur Rehman M, et al. A review: mechanism of action of antiviral drugs. Int J Immunopathol Pharmacol 2021;35:20587384211002621.
20. D'Antonio F, Marinceu D, Prasad S, Khalil A. Effectiveness and safety of prenatal valacyclovir for congenital cytomegalovirus infection: systematic review and meta-analysis. Ultrasound Obstet Gynecol 2023;61:436–44.
21. Sotiriadis A, Chatzakis C, Odibo AO. The use and abuse of meta-analysis. Ultrasound Obstet Gynecol 2020;55:719–23.
22. Inaba I, Kondo Y, Iwasaki S, et al. Risk evaluation for acute kidney injury induced by the concomitant use of valacyclovir, analgesics, and renin-angiotensin system inhibitors: the detection of signals of drug-drug interactions. Front Pharmacol 2019;10:874.
23. Chatzakis C, Sotiriadis A, Dinas K, Ville Y. Neonatal and long-term outcomes of infants with congenital cytomegalovirus infection and negative amniocentesis: systematic review and meta-analysis. Ultrasound Obstet Gynecol 2023;61:158–67.
24. Goncé A, Hawkins-Villarreal A, Salazar L, et al. Maternal high-dose valacyclovir and its correlation with newborn blood viral load and outcome in congenital cytomegalovirus infection. J Matern Fetal Neonatal Med 2022;35:4004–8.
25. Ville Y, Leruez-Ville M. Renal toxicity of high-dosage valacyclovir for secondary prevention of congenital cytomegalovirus infection: a dose regimen-related issue. Ultrasound Obstet Gynecol 2021;58:637–8.
26. De Santis M, Apicella M, De Luca C, et al. Valacyclovir in primary maternal CMV infection for prevention of vertical transmission: a case-series. J Clin Virol 2020;127:104351.
27. Codaccioni C, Vauloup-Fellous C, Letamendia E, Saada J, Benachi A, Vivanti AJ. Case report on early treatment with valaciclovir after maternal primary cytomegalovirus infection. J Gynecol Obstet Hum Reprod 2019;48:287–9.
28. De Santis M, De Luca C, Apicella M, et al. Prenatal valacyclovir treatment of fetal citomegalovirus infection: a case series. J Infect 2019;79:462–70.
29. Lim Y, Lyall H. Congenital cytomegalovirus - who, when, what-with and why to treat? J Infect 2017;74 (Suppl 1):S89–94.
30. Leruez-Ville M, Ghout I, Bussières L, et al. In utero treatment of congenital cytomegalovirus infection with valacyclovir in a multicenter, open-label, phase II study. Am J Obstet Gynecol 2016;215:462.e1–10.
31. Roxby AC, Atkinson C, Asbjörnsdóttir K, et al. Maternal valacyclovir and infant cytomegalovirus acquisition: a randomized controlled trial among HIV-infected women. PLoS One. 2014;9:e87855.
32. Jacquemard F, Yamamoto M, Costa JM, et al. Maternal administration of valaciclovir in symptomatic intrauterine cytomegalovirus infection. BJOG 2007;114:1113–21.

SUPPLEMENTAL TABLE 1

Excluded studies and reason for the exclusion

Author	Year	Title	Reason for the exclusion
Gonce et al[24]	2022	Maternal high-dose valacyclovir and its correlation with newborn blood viral load and outcome in congenital cytomegalovirus infection	The study is a case series without a control group.
Faure-Bardon and Ville[17]	2022	Secondary prevention of congenital cytomegalovirus infection with valacyclovir following maternal primary infection in early pregnancy	The study of Faure-Bardon and Ville,[17] has an overlapping population.
Schurder et al[10]	2021	Acute kidney injury after valacyclovir administration for prevention of congenital cytomegalovirus infection	The study has no data on the outcomes observed in the current systematic review.
Ville et al[25]	2021	Acute kidney injury after valacyclovir administration for prevention of congenital cytomegalovirus infection	The study is likely to share cases from those of Faure-Bardon and Leruez-Ville, which have already been included in the current systematic review.
De Santis et al[26]	2020	Valacyclovir in primary maternal CMV infection for prevention of vertical transmission: a case-series	The study is a case series without a control group.
Codaccioni et al[27]	2019	Case report on early treatment with valaciclovir after maternal primary cytomegalovirus infection	This is a case report.
De Santis et al[28]	2019	Prenatal valacyclovir treatment of fetal citomegalovirus infection: a case series	The study is a case series without a control group
Lim et al[29]	2017	Congenital cytomegalovirus — who, when, what-with and why to treat?	The study is a narrative review; however, no original data were included
Leruez-Ville et al[30]	2016	In utero treatment of congenital cytomegalovirus infection with valacyclovir in a multicenter, open-label, phase II study	The study has a population of no interest. The included population was pregnant women carrying a symptomatic fetus with CMV infection.
Roxby et al[31]	2014	Maternal valacyclovir and infant cytomegalovirus acquisition: a randomized controlled trial among HIV-infected women	Population of no interest. The Included population was women infected by HIV.
Jacquemard et al[32]	2007	Maternal administration of valaciclovir in symptomatic intrauterine cytomegalovirus infection	The study has a population of no interest. The included populations were patients with fetuses that showed biological and/or ultrasound markers of infection and parents that had elected to continue with the pregnancy.

CMV, cytomegalovirus.

Chatzakis. Valacyclovir prevents the vertical transmission of cytomegalovirus. Am J Obstet Gynecol 2023.

SUPPLEMENTAL TABLE 2

Risk of bias of a randomized controlled trial using the ROB 2 tool

	Risk of bias						
Study author	1	2	3	4	5	6	Overall risk of bias
Shahar-Nissan et al,[7] 2020	+	+	+	+	+	+	Low

The indications of the risk of bias are as follows: "1" denotes bias arising from the randomization process, "2" denotes bias because of deviations from intended interventions (effect of assignment to intervention), "3" denotes bias because of deviations from intended interventions (effect starting and adhering to intervention), "4" denotes bias because of missing outcome data, "5" denotes bias in measurement of the outcome, and "6" denotes bias in the selection of the reported result.

RoB 2, version 2 of the Cochrane risk-of-bias tool for randomized controlled trials.

Chatzakis. Valacyclovir prevents the vertical transmission of cytomegalovirus. Am J Obstet Gynecol 2023.

SUPPLEMENTAL TABLE 3

Risk of bias of quasi randomized studies using the ROBINS-I tool

	Risk of bias							
Study author	1	2	3	4	5	6	7	Overall risk of bias
Faure-Bardon and Ville,[17] 2022	+	+	+	+	+	+	+	Low risk
Egloff et al,[9] 2023	+	+	+	+	+	+	+	Low risk

The indications of the risk of bias are as follows: "1" denotes bias because of confounding, "2" denotes bias in the selection of participants into the study, "3" denotes bias in the classification of interventions, "4" denotes bias because of deviations from intended interventions, "5" denotes bias because of missing data, "6" denotes bias in the measurement of outcomes, and "7" denotes bias in the selection of the reported result.

ROBINS-I, Risk Of Bias In Non-randomised Studies - of Interventions.

Chatzakis. Valacyclovir prevents the vertical transmission of cytomegalovirus. Am J Obstet Gynecol 2023.

d. Évaluation de la pharmacocinétique maternelle et fœtale du VACV 8g/ jour.

L'initiation d'un traitement maternel par VACV oral à la dose de 8 g/jour a montré une réduction du risque d'infection fœtale mais le profil pharmacologique de ce dosage élevé durant la grossesse n'avait pas encore été établi.

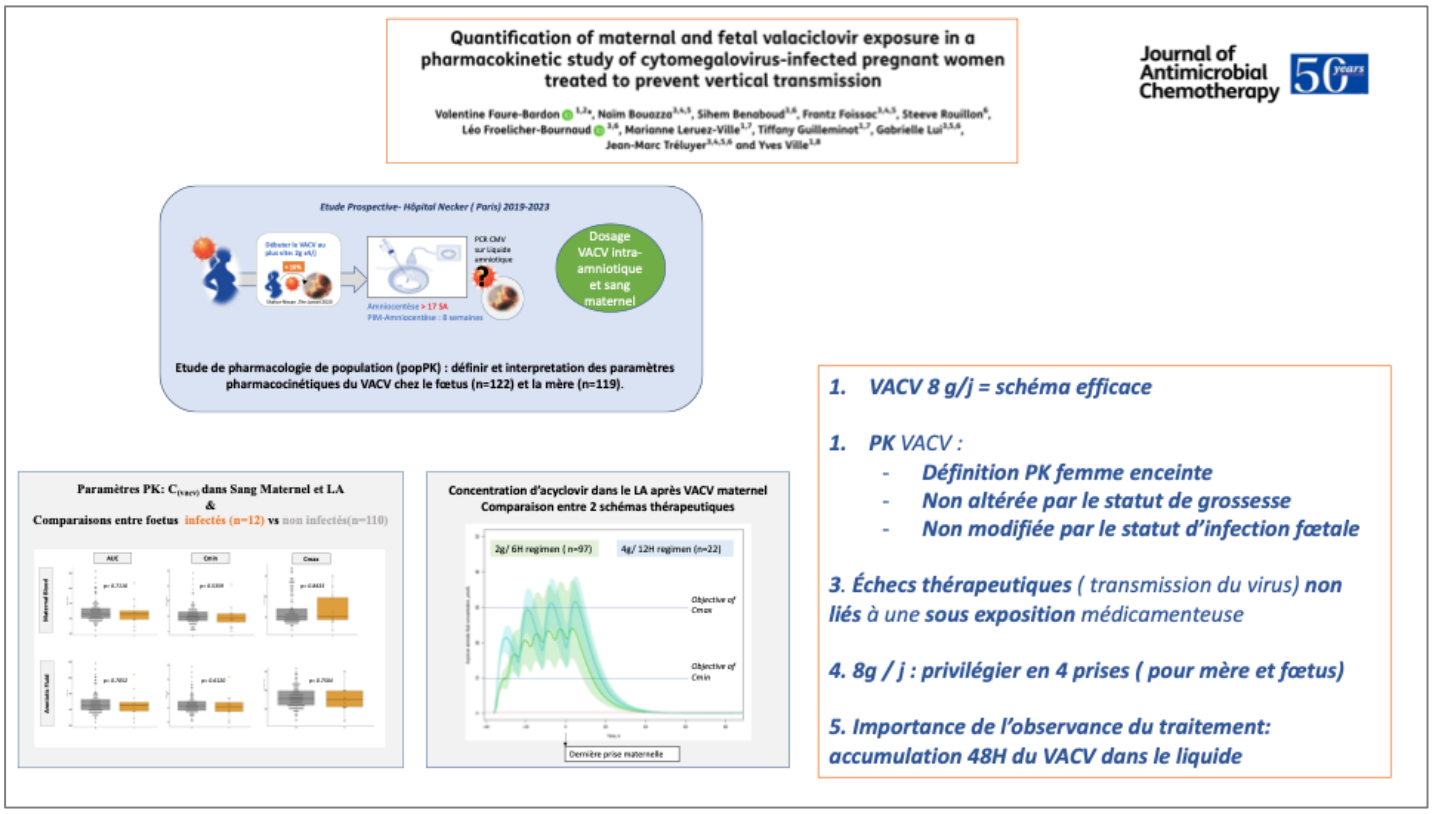
L'objectif de cette étude a été de **quantifier l'exposition materno-fœtale au VACV 8 g/jour** dans le cadre d'une étude de pharmacocinétique de population. Ce travail, intitulé "Quantification of maternal and fetal valacyclovir exposure in a pharmacokinetic study of CMV-infected pregnant women treated to prevent vertical transmission" a été publié dans le *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* en 2025.

Dans une **étude observationnelle**, conduite entre octobre 2019 et avril 2023, des femmes enceintes adressées pour une PIM à CMV dans le centre de diagnostic prénatal de l'hôpital Necker ont été inclus de manière **prospective** selon les critères suivants : infection primaire à CMV avant 14 SA, acceptation du traitement par VACV à 8 g/jour, et consentement pour la réalisation d'une amniocentèse. Le **liquide amniotique** a été analysé pour deux objectifs : la réalisation d'une PCR CMV à visée diagnostique, et le dosage de la concentration d'aciclovir (forme active du VACV). Les **concentrations maternelles d'aciclovir** dans le sérum ont également été mesurées le jour de l'amniocentèse. Les dosages réalisés dans ces deux compartiments ont été utilisés pour **l'analyse pharmacocinétique de population**. La pharmacocinétique a été modélisée à l'aide d'un modèle non linéaire à effets mixtes.

Au total, **119 femmes et leurs 122 fœtus** ont été inclus. L'infection primaire à CMV est survenue à un âge gestationnel médian de 3,0 SA (intervalle : –12 à +14 SA). Les femmes enceintes infectées ont été traitées à un terme médian de 12,3 SA (intervalle : 4,6 à 21,4 SA), pour une durée médiane de 35 jours (intervalle : 7 à 90 jours). Les paramètres pharmacocinétiques médians **(Cmin, Cmax et AUC 0–24h) ont été définis** avec succès dans les compartiments maternel et fœtal. Aucune différence significative d'exposition à l'aciclovir n'a été observée entre les fœtus infectés (n = 12, soit 9,8 %) et non infectés. Les simulations ont montré qu'après la dernière dose maternelle, la **concentration d'aciclovir dans le liquide amniotique devenait indétectable entre 43 et 47 heures**.

En **conclusion**, cette étude de pharmacocinétique de population a permis d'établir, à partir de données cliniques *in vivo*, les profils pharmacocinétiques maternel et fœtal du VACV à forte dose. Ces résultats ont apporté une **meilleure compréhension** du fonctionnement de cette approche thérapeutique fœtale.

Figure 5: Résumé graphique de l'article visant à évaluer la pharmacocinétique maternelle et fœtale du VACV 8g/ j donné dans le cadre d'une PIM à CMV



e. Travail (2) - Article original publié : Faure-Bardon V, Bouazza N, Benaboud S, Foissac F, Rouillon S, Froelicher-Bournaud L, Leruez-Ville M, Guilleminot T, Lui G, Tréluyer JM, Ville Y. *Quantification of maternal and fetal valaciclovir exposure in a pharmacokinetic study of cytomegalovirus-infected pregnant women treated to prevent vertical transmission*. J Antimicrob Chemother. 2025 Mar 3 ;80(3) :760-766. doi : 10.1093/jac/dkae470. PMID : 39810739.

J Antimicrob Chemother
https://doi.org/10.1093/jac/dkae470

Journal of Antimicrobial Chemotherapy 50 years

Quantification of maternal and fetal valaciclovir exposure in a pharmacokinetic study of cytomegalovirus-infected pregnant women treated to prevent vertical transmission

Valentine Faure-Bardon [1,2]*, Naïm Bouazza[3,4,5], Sihem Benaboud[3,6], Frantz Foissac[3,4,5], Steeve Rouillon[6], Léo Froelicher-Bournaud [3,6], Marianne Leruez-Ville[1,7], Tiffany Guilleminot[1,7], Gabrielle Lui[3,5,6], Jean-Marc Tréluyer[3,4,5,6] and Yves Ville[1,8]

[1]URP 7328 Federation for Research into Innovative Explorations and Therapeutics in Utero, University of Paris-Cité, Paris, France; [2]Department of Gynecology and Obstetrics, Pitié Salpétrière Hospital, APHP, Sorbonne University, Paris, France; [3]URP 7323 Pharmacology and Therapeutic Evaluation in Children and Pregnant Women, University of Paris-Cité, Paris, France; [4]Unité de Recherche Clinique Necker Cochin, AP-HP, Paris, France; [5]CIC-1419 Inserm, Cochin-Necker, Paris, France; [6]Department of Clinical Pharmacology, Cochin Hospital, AP-HP, University of Paris-Cité, Paris, France; [7]Virology Laboratory, Necker-Enfants Malades Hospital, APHP, University of Paris-Cité, Paris, France; [8]Department of Obstetrics, Fetal-Medicine, and Surgery, Necker-Enfants Malades Hospital, APHP, University of Paris-Cité, Paris, France

*Corresponding author. E-mail: valentine.faure@aphp.fr

Received 8 October 2024; accepted 6 December 2024

Background: In cases of maternal primary infection with cytomegalovirus (CMV-MPI) maternal treatment with oral valaciclovir 8 g/day has been shown to reduce the risk of fetal infection. The pharmacological profile of this high dosage during pregnancy is not yet known.

Objectives: To quantify maternal-fetal exposure to valaciclovir 8 g/day in a population pharmacokinetic (popPK) study.

Methods: Between October 2019 and April 2023, pregnant women referred for CMV-MPI were offered to participate following: (i) CMV-MPI <14 weeks of gestation; (ii) acceptance of valaciclovir 8 g/day; and (iii) consent for amniocentesis. Amniotic fluid was tested for (i) CMV PCR for prenatal diagnosis; and (ii) dosage of aciclovir concentration (the active form of valaciclovir). Maternal serum levels of aciclovir were also measured. Aciclovir assays in both compartments were used for popPK analysis. Pharmacokinetics were described using non-linear mixed-effect modelling.

Results: We prospectively included 119 women with their 122 fetuses. CMV-MPI occurred at a median of 3.0 (range: −12; +14) weeks of gestation. CMV-infected pregnant women were treated at a median of 12.3 (range: 4.6–21.4) weeks of gestation for a median duration of 35 days (range: 7–90 days). Median pharmacokinetic parameters (C_{min}, C_{max} and AUC_{0-24}) were all successfully defined in both maternal blood and amniotic fluid compartments. No differences in aciclovir exposure were observed between infected ($n=12$, 9.8%) and non-infected fetuses. Simulations showed that after a last maternal dose, aciclovir concentration would be undetectable in the amniotic fluid after 43–47 h.

Conclusions: In this popPK study, maternal and fetal pharmacokinetics were established using *in vivo* data. The results provide a better understanding of how this fetal therapy works.

Introduction

Human cytomegalovirus (CMV) is the most prevalent cause of congenital infection and a major cause of neurological disabilities, with a worldwide prevalence of 7 cases per 1000 live births.[1] Prenatal management of congenital CMV infection has undergone major changes over the past 5 years: (i) only maternal primary infections occurring in the pre-conception period and first trimester of pregnancy can lead to neurosensory sequelae in the infant;[2,3] and (ii) secondary prevention of fetal infection initiated as early as possible

© The Author(s) 2025. Published by Oxford University Press on behalf of British Society for Antimicrobial Chemotherapy. All rights reserved. For commercial re-use, please contact reprints@oup.com for reprints and translation rights for reprints. All other permissions can be obtained through our RightsLink service via the Permissions link on the article page on our site—for further information please contact journals.permissions@oup.com.

following the diagnosis of seroconversion using valaciclovir, at a dose of 8 g/day, reduces transplacental passage of the virus by 70%.[4–6]

The prenatal dose of 8 g/day was chosen initially as it was effective in preventing CMV disease in CMV-negative renal transplant patients receiving a CMV-positive graft.[7] Prevention of vertical transmission of the virus could be considered as a similar situation, with the fetus playing the role of host and the mother that of graft. The aciclovir concentrations that led to the clinical efficacy were not investigated in the renal transplant study. The only published pharmacological study reporting pharmacokinetic (PK) parameters after the use of valaciclovir 8 g/day was carried out in healthy male volunteers.[8] By combining the results of these two studies, we put forward the hypothesis that these reported PK exposure parameters constitute an objective to be achieved to reduce maternal viral load, prevent vertical transmission, and reduce the risk of fetal CMV infection and disease.

To date, no PK studies reporting both maternal and fetal exposure to valaciclovir, used in this indication and at these dose regimens, have been conducted to our knowledge. Results from the study conducted in healthy males should be confirmed in pregnant women before being extrapolated, as it is known that pregnancy leads to significant changes in PK and pharmacodynamics.

Our objective was to quantify maternal-fetal exposure to valaciclovir 8 g/day in a population PK (popPK) study of pregnant women infected with CMV in early pregnancy and treated with the aim to reduce the risk of fetal infection. A secondary objective was to look for any association between this exposure and the occurrence of fetal infection.

Methods

Study participants

Between October 2019 and April 2023, pregnant women referred for maternal primary CMV infection were prospectively recruited. Inclusion criteria were: (i) seroconversion occurring in the pre-conceptional period or in the first trimester; (ii) maternal acceptance of oral treatment with valaciclovir 8 g/day; (iii) maternal consent for amniocentesis to be performed; and (iv) maternal consent to participate in this research.

Ethical approval from the local committee was obtained to conduct this study (IRB #00011928).

Data collection and sampling

Maternal seroconversion was always confirmed biologically in the national reference centre for herpesviruses using serological testing (IgG, IgM, IgG avidity). Dating of maternal infection with CMV was estimated using a standardized algorithm used for all pregnant women in the cohort. Pre-conceptional period was defined from about −3 months before the conception, and the first trimester was defined from 0 to 14 weeks of amenorrhoea. The serological screening strategy at the referral centre is not described in detail here but can be found in a previous published article.[9]

Treatment with valaciclovir was offered as soon as serological diagnosis was confirmed by the national reference centre. It was recommended to continue the treatment until the amniocentesis results were known. Between October 2019 and July 2020 cases were treated with 2 g/6 h (q6h), then after July 2020 they were treated with 4 g/12 h (q12h) as in the protocol proposed in the phase 3 trial published by Shahar-Nissan *et al.*[4] However, with the q12h regimen we had observed renal acute failure cases so the previous regimen, q6h, was reused by the end of 2020 and the q12h regimen was permanently dropped from the protocols of our prenatal unit.[10] Pregnant women had a biological follow-up every fortnight with maternal serum creatinine, estimated glomerular filtration rate (eGFR) and evaluation of the liver function.

Amniocentesis was performed at least 8 weeks after the presumed date of maternal seroconversion and from 17 weeks of gestation. Two investigations were performed on amniotic fluid: (i) CMV PCR for prenatal diagnosis of fetal infection; and (ii) dosage of aciclovir concentration, with maternal serum for aciclovir concentrations. We measured aciclovir concentration as it is the final active form of valaciclovir. Aciclovir assay was performed as previously detailed, and samples from both compartments were used for the popPK analysis.[11]

Information on maternal treatment was recorded including adherence (oral declaration), type of regimen (q6h or q12h), and time elapsed between drug intake and blood or amniotic fluid sampling. Baseline maternal characteristics were also collected: age, BMI, gravidity, parity, tobacco use during pregnancy, pregnancy conception method, and type of pregnancy (singleton, multiple). All women also underwent an ultrasound examination to record estimated fetal weight, amniotic fluid volume, morphological aspect of the placenta, and presence of ultrasound features of CMV fetopathy.

PopPK analysis

Data were analysed by a population approach, using the non-linear mixed-effect modelling software program *Monolix* version 2023R1 (available at www.lixoft.eu). Parameters were estimated by computing the maximum likelihood estimator of the parameters, using the stochastic approximation expectation maximization (SAEM) algorithm combined with a Markov chain Monte Carlo (MCMC) procedure.

Several structural models for aciclovir plasma PK were investigated, i.e. one and two compartments with linear absorption and elimination. Models with first-order or zero-order absorption rate constants were also considered.

Continuous covariates (CO) were tested with the following equation, using apparent elimination clearance (CL/F), for example:

$$CL/F = \theta CL/F \cdot \left(\frac{CO}{\text{median (CO)}}\right)^{\beta CO}$$

where θCL/F is the typical value of apparent elimination clearance for a subject with the median covariate value and βCO is the estimated influential factor for the continuous covariate. Aciclovir amniotic fluid PK was modelled as an effect compartment connected to the central compartment by a first-order process with same or different input and output constants. The effect compartment was modelled as a virtual compartment of negligible volume that does not modify the plasma compartmental model.

Several error models (proportional, additive, mixed) were investigated to describe the residual variability (ϵ) in plasma and amniotic fluid. Inter-individual variabilities (IIV or η) were assumed to be exponential. The objective function value (OFV) was used to test different hypotheses regarding the structural model, the structure of the variance-covariance matrix for IIV and residual variability models. The OFV was also used to test the covariate effect(s) on PK parameter(s). A covariate was finally retained in the model if its effect was biologically plausible, if the OFV was decreased by at least 3.84 (χ^2 with 1 *df*, $P < 0.05$), and if it produced a reduction in the variability of the PK parameter (IIV).

The final model was evaluated by visual inspection of the observed versus predicted (population and individual) concentrations, and the normalized prediction distribution error (NPDE) metrics versus population-predicted concentrations and time scatter plots. The prediction-corrected visual predictive checks (pcVPC) plots were also used to evaluate the predictive performance of the model. Aciclovir plasma and amniotic fluid concentrations were simulated by the model, and the 90% CIs of the 5th, 50th

and 95th percentiles of the simulated concentrations were overlaid to the 5th, 50th and 95th percentiles of the observed concentrations.

Statistical analysis with clinical outcomes

Individual values for the AUC_{0-24} of aciclovir concentrations in both maternal plasma and amniotic fluid were computed for each patient with Bayesian estimations from the final model. Individual predicted maximal (C_{max}) and minimal (C_{min}) concentrations were also derived. Clinical success was defined as a negative CMV PCR in amniotic fluid. Association between drug exposure parameters and clinical success was investigated using Wilcoxon tests. Statistical analysis was performed using the R software.

Dosing simulation

From the final models, Monte Carlo simulations (200 replicates) were performed in order to evaluate aciclovir exposure in maternal and amniotic fluid compartments. Different valaciclovir dose options (8 g/day) were simulated: 2 g q6h or 4 g q12h regimens.

All simulations were based on a typical pregnant woman with the covariates fixed to the median population values. The simulated PK profiles were compared with previous reported exposure parameters following 8 g/day administration in healthy non-pregnant volunteers (C_{min} and C_{max} of 9 μmol/L and 30 μmol/L, respectively).[8]

Results

Study participants

During the study period, 119 CMV-infected pregnant women with 122 fetuses (three twin pregnancies) were included (Table 1). Maternal infection with CMV occurred at a median 3.0 (range: −12; + 14) weeks of gestation and, based on positive CMV PCR at amniocentesis, 12 (9.8%) fetuses were infected. Regarding data on the use of valaciclovir, CMV-infected-pregnant women were treated at a median 12.3 (range: 4.6–21.4) weeks of gestation. The median time between the dating of seroconversion (by the algorithm) and the introduction of valaciclovir was 60 days (range: 10–167). For fetuses who became infected despite being treated with valaciclovir, the median time between the estimated date of seroconversion and the date of initiation of treatment was 43 days (range: 22–134). For 24 women, treatment was started after 14.0 weeks': 5 of these presented with CMV seroconversion at the very end of the first trimester (between 11 and 14 weeks'), the others were referred to our unit by their primary care provider late after their seroconversion had been diagnosed. The valaciclovir regimen was prescribed four times or two times a day to 97 and 22 pregnant women, respectively, and the median duration of treatment was 35 days (range: 7–90 days). Three cases decided to stop treatment before the amniocentesis for personal reasons (5, 7 and 70 days before). No side effects requiring discontinuation of treatment were reported. Aciclovir concentrations were assessed in maternal blood and amniotic fluid sampled at a median 17.4 (16.7–23.6) weeks'. Ultrasound examination on the day of the amniocentesis reported normal morphological examination of the placentas and fetuses as well as normal quantification of the amniotic fluid.

Table 1. Baseline demographic and clinical data of study participants

	Pregnant women[a] ($n = 119$)
Fetuses	122 (3 twins)
Maternal age, y	33 (21–42)
BMI	21.7 (17.0–54.1)
GFR	137.5 (106.9–164.2)
Parity	
0	21 (17.6%)
≥1	98 (82.4%)
GA at seroconversion, wk	3.0 (−12; + 14)
Data on the use of valaciclovir	
GA at valaciclovir initiation, wk	12.3 (4.6–21.4)
Time between seroconversion and valaciclovir initiation, d	60 (10–167)
2 g/6 h regimen	97 (81.5%)
4 g/12 h regimen	22 (18.5%)
Duration of treatment before amniocentesis, d	35 (7–90)
Data from amniocentesis day	
GA at amniocentesis, wk	17.4 (16.7–23.6)
Placenta on US scan	All normal[b]
AF on US scan	All normal[b]
Estimation of fetal weight	All eutrophic[c]
CMV PCR^+ on amniotic fluid	12/122 (9.8%)

AF, amniotic fluid; CMV, cytomegalovirus; GA, gestational age; GFR, glomerular filtration rate (GFR estimated at a mean GA of 17.1 (7–23) wk; US, ultrasound.

[a]Data are presented as median (range), or *n* (%).

[b]Normal: placenta: thickness, morphological aspect. Amniotic fluid: estimation of the volume, morphological aspect.

[c]Eutrophic: based on Hadlock formula. For six fetuses, the estimation of fetal weight was not performed on the day of the amniocentesis.

PopPK analysis

A total of 119 and 122 samples of maternal plasma and amniotic fluid for aciclovir concentrations at steady state were available for the analysis. A one-compartment model with zero-order absorption and first-order elimination with an effect compartment linked to the central compartment satisfactorily described the aciclovir maternal plasma and amniotic fluid concentrations. For amniotic fluid, estimating different input and output rate constants for the effect compartment did not improve the fit and provided similar estimates for both constants. Therefore, a unique parameter was estimated. The PK parameters of this model were the absorption constant (Tk0), apparent elimination clearance (CL/F), volume of distribution (V/F), maternal to amniotic fluid transfer rate constant (kmp) and amniotic fluid elimination rate constant (kmp), F being the unknown bioavailability (Table 2).

The residual variability was described by a mixed error model for maternal plasma and additive model for amniotic fluid. Inter-individual variability was retained for CL/F. The most significant decrease in OFV was obtained by adding the effect of eGFR on CL/F (8 units decrease, P value = 0.0047). After the inclusion of eGFR on CL/F, the addition of gestational age (GA) on CL/F significantly decreased the OFV (4 units decrease, P value = 0.046). An additional drop in OFV was observed with BMI effect on CL/F (5 units decrease, P value = 0.025). Thus, the final covariate model was $CL/F = \theta_{CL/F} \times \left(\frac{eGFR}{137.5}\right)^{\beta_{eGFR}} \times \left(\frac{BMI}{21.7}\right)^{\beta_{BMI}} \times \left(\frac{GA}{17.4}\right)^{\beta_{GA}}$ with $\theta_{CL/F}$ the typical value of CL/F for a typical patient. Table 2 summarizes the

Table 2. Estimation of the population parameters in the popPK analysis

Population parameter	Estimated value	RSE, %
Fixed population effects		
Absorption constant, h	2.01	1.53
Clearance, L/h	42.8	3.65
Volume of distribution, L	132	16.3
βeGFR effect on clearance	1.8	27.7
βBMI effect on clearance	0.468	46.5
βGA_at_dosage effect on clearance	−1.2	43.6
Kmp_pop	0.131	7.1
Interindividual variability		
Omega_CL	0.267	11
Residual variability		
Residual additive error (maternal concentrations)	0.22	
Residual proportional error (maternal concentrations)	0.339	9.24
Residual additive error (amniotic fluid concentrations)	5.86	12.2

AF, amniotic fluid; Beta terms, influential factors of covariates on clearance; CMT, compartment; GA, gestational age; GFR, glomerular filtration rate (GFR estimated at a mean GA of 17.1 (7–23) weeks; Kmp_pop, tranfer rate constant between maternal and amniotic fluid compartments; Omega_CL, interindividual variability on clearance; RSE, relative standard errors; US, ultrasound.

final population PK estimates including the relative standard errors. Diagnostic plots are provided in Figure S1 (available as Supplementary data at *JAC* Online).

Statistical analysis with clinical outcomes

Median (range) PK parameters were (i) in the maternal compartment: AUC_{mat} (0–24 h) = 570.2 (297.6–1282.4) µmol.h/L, $Cmin_{mat}$ = 9.6 (0.3–38.6) µmol/L and $Cmax_{mat}$ = 40.7 (27.1–87.9) µmol/L; and (ii) in the amniotic fluid compartment: AUC_{AF} (0–24 h) = 562.4 (293.6–1229.2) µmol.h/L, $Cmin_{AF}$ = 21.2 (9.3–48.8) µmol/L and $Cmax_{AF}$ = 25.4 (13.4–52.8) µmol/L.

Based on positive CMV PCR at amniocentesis, 12 (9.8%) fetuses were infected (CMV PCR^{+}). In both maternal and amniotic fluid compartments, no statistical differences were observed in aciclovir exposure between the infected and non-infected cases (Figure 1, Table S1).

Dosing simulations

The evolution of aciclovir concentration in the amniotic fluid after a maternal oral dose of valaciclovir 8 g, depending on the type of regimen (q6h versus q12h), has been simulated and the results are illustrated in Figure 2. Simulations showed that median steady-state minimal concentrations between q6h and q12h regimen were close. However, the C_{max} with the q12h regimen was 50% higher than with the q6h one, with important fluctuations. Furthermore, simulations showed that after a last maternal dose, the aciclovir concentration would be undetectable in the amniotic fluid after 43 and 47 h under q6h and q12h regimen, respectively (Figure 2). The same

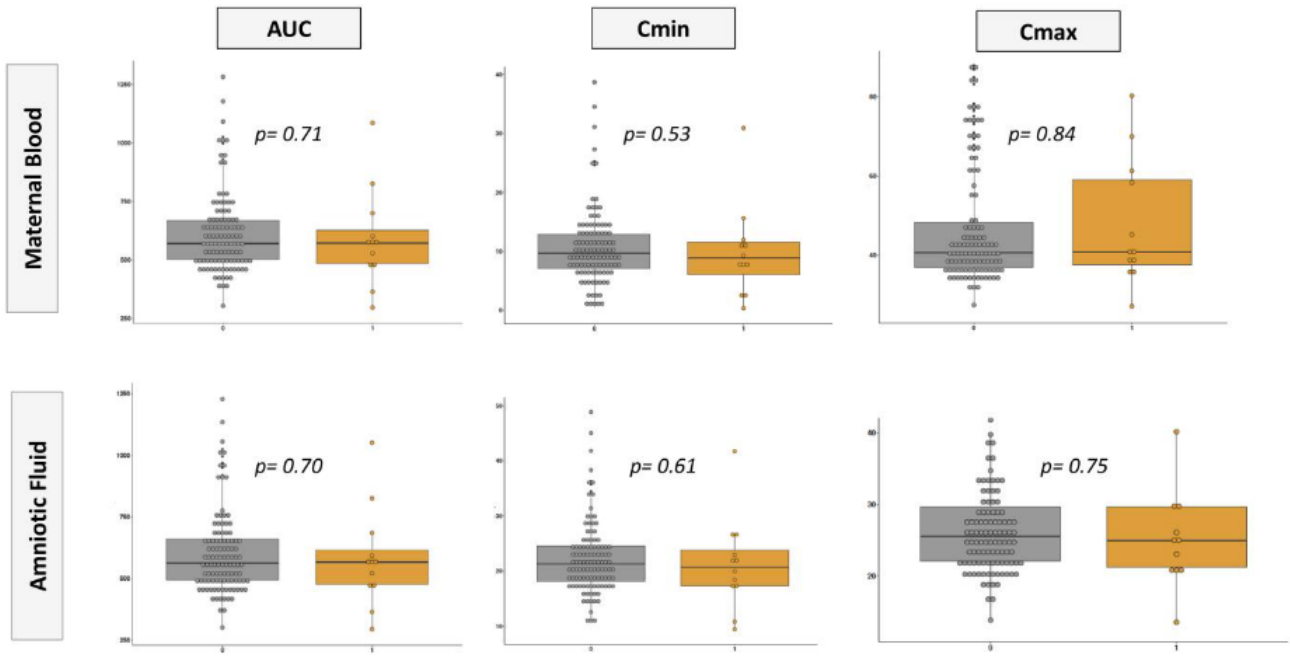


Figure 1. Comparison of median maternal and fetal pharmacokinetic parameters between pregnant women who transmitted the virus to their fetuses (1 in the X-axis) and those who did not (0 in the X-axis). The Y-axis corresponds to the value of the pharmacokinetic parameter: AUC in µmol.h/L; C_{max} and C_{min} in µmol/L. The shaded boxes correspond to the distribution of data between the 1st and 3rd interquartiles, the horizontal line in the box corresponds to the median value. AUC, area under the curve; C_{max}, maximum concentration; C_{min}, minimum concentration.

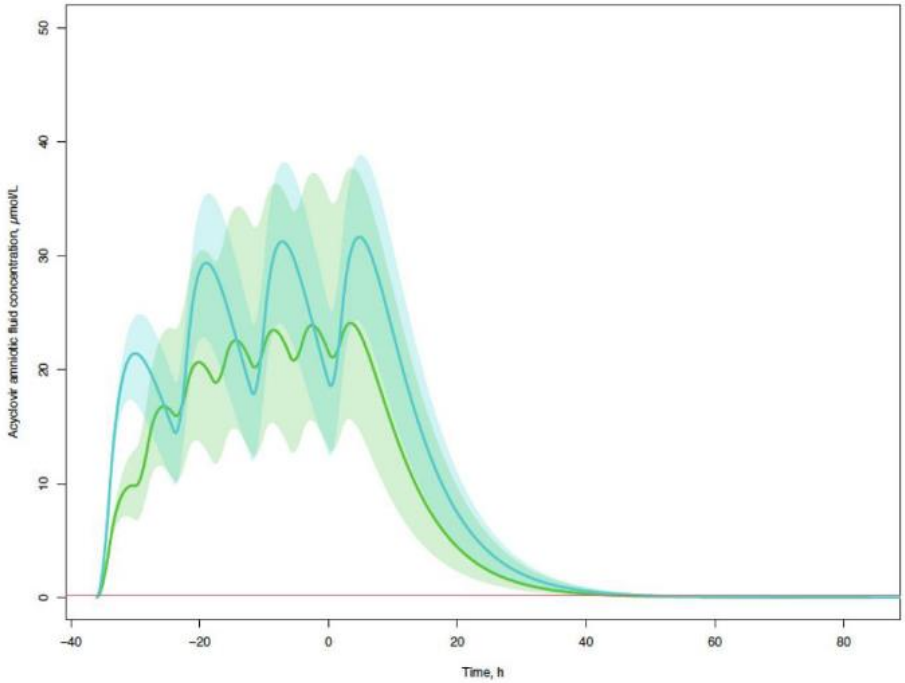


Figure 2. Aciclovir amniotic fluid concentrations (µmol/L) after maternal oral dose of valaciclovir 8 g/day: 2 g/6 h or 4 g/12 h regimens in green and blue, respectively. On the *x*-axis, $t=0$ corresponds to the last maternal oral administration of valaciclovir after steady state was reached.

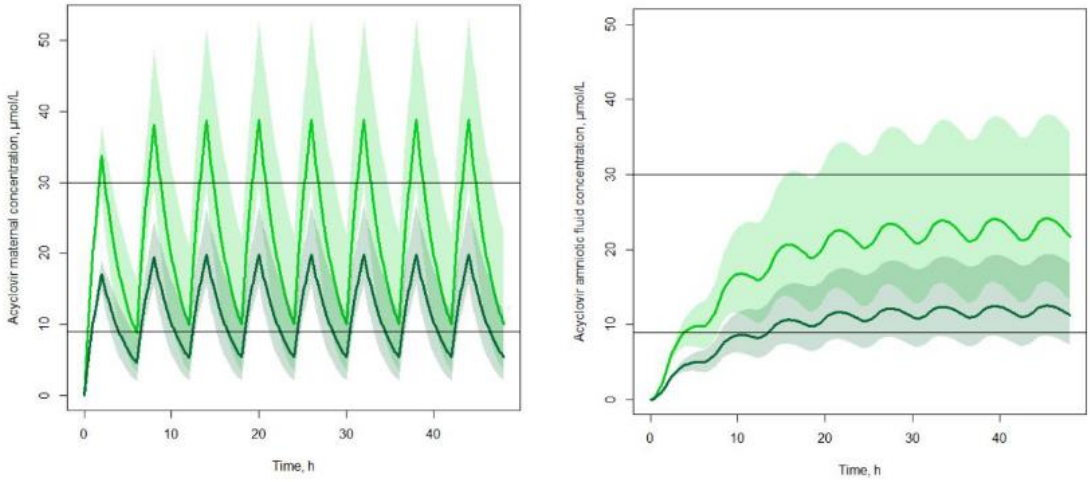


Figure 3. Median aciclovir concentrations in the maternal serum (left) and in the amniotic fluid (right), when comparing the standard dose of 8 g/day (green) versus a reduced maternal dose of 4 g/day (black). The shadded area correspond to the 5th and 95th simulated percentiles. The horizontal lines represent the reported C_{min} and C_{max} values following 8 g/day administration in healthy non-pregnant volunteers (9 µmol/L and 30 µmol/L, respectively).

simulation has been performed in the maternal blood (Figure S2). Identical fluctuations in concentrations and the same variation in C_{max} (50% difference) were also observed in the mother. Valaciclovir was undetectable in maternal blood approximately 18 h after the last dose.

Simulations were also performed to compare the standard dose of 8 g/day versus a reduced maternal dose of 4 g/day (1 g q6h) (Figure 3). Simulated maternal plasma concentrations using 8 g/day were within the range of reported values in healthy non-pregnant volunteers.[8] However, the 4 g/day dose provided maternal minimal aciclovir concentrations below 9 µmol/L in more than 50% of women. Regarding the aciclovir exposure in amniotic fluid, the standard dose of 8 g/day provided concentrations above 9 µmol/L in more than 99% of pregnancies. When

using the half dose, there were more than 75% of pregnancies with amniotic fluid concentrations remaining above 9 µmol/L.

Discussion

Principal findings

The popPK analysis, carried out in pregnant women infected and treated with 8 g/day valaciclovir, showed that the concentrations measured in the maternal and amniotic fluid compartments were within the range of therapeutic levels previously reported as being able to control CMV infection.[7,8] The PK of aciclovir in pregnant women, when compared with that in healthy volunteers adults, was not substantially modified by either maternal-fetal CMV infection or gestational age in the first and second trimesters. Exposure PK parameters were identical whether vertical transmission of the virus had occurred or not, suggesting that transplacental passage of valaciclovir was not altered by CMV infection. Therefore, in this cohort, treatment failures (i.e. when vertical transmission occurred), do not appear to be related to drug underexposure.

We also showed that aciclovir in amniotic fluid remained detectable only 48 h after maternal last intake of valaciclovir. This information is important to enable patients to optimize adherence to treatment.

Results in the context of what is known

To date, the main hypothesis to explain valaciclovir failure is the timing of treatment initiation. Indeed, it has been reported that (i) a short interval between maternal seroconversion and the introduction of treatment,[4] and (ii) an early gestational age at the initiation of valaciclovir[5] were major predictive factors of success.

In terms of toxicity, it has been shown that when the maternal dosage of 8 g/day was given in two doses, maternal acute obstructive renal failure was observed, whereas no such complications were observed when the dose was split into four doses.[10] The pathogenesis of valaciclovir-related acute renal failure mainly involves aciclovir accumulation and precipitation of crystals in renal proximal tubule cells.[12] In this study, we analysed the variations in concentrations in the amniotic compartment with the two dosing regimens: the C_{max} with the q12h regimen was 50% higher than with the q6h one, with important fluctuations suggesting that fetal toxicity might also be expected with this q12h scheme. These data reinforce our recommendation to treat four times a day.

Clinical implications

Our study also showed that, even if the fetus is infected, the estimated concentrations in the amniotic compartment should theoretically be sufficient to prevent fetal CMV disease to happen. Indeed, the concentrations observed in our study are within the same ranges as those probably observed in CMV-negative kidney transplant recipients receiving a CMV-positive graft and in whom a reduction in CMV disease has been observed.[7,8]

These data are important from a clinical standpoint, since continuing valaciclovir after a positive amniocentesis may be beneficial to contain viral replication and limit the severity of lesions initiated at an earlier stage of embryonic and fetal development.[13,14] Evidence for the latter is limited to a Phase 2 study in infected fetuses showing signs of infection on ultrasound scans in the second trimester of pregnancy following maternal primary infection before 2016, therefore without valaciclovir secondary prevention.[15] In addition, a reduction in the rate of terminations of pregnancy for severe forms of fetal CMV disease was observed following failure of valaciclovir secondary prevention in comparison with infected fetuses in the absence of valaciclovir preventive treatment.[5] However, larger studies describing the long-term outcome of infected fetuses resulting from failure of valaciclovir prophylaxis 8 g/day in early pregnancy are awaited.

Research implications

The dose of 8 g/day has been shown to be effective in preventing vertical transmission, but this dose has not yet been challenged. This high dosage is cumbersome for pregnant women, representing 8 to 16 tablets per day depending on the dose per tablet, and is associated with a risk of renal toxicity. In our study, we showed that 8 g/day provided amniotic fluid concentrations far above the reported C_{min} values in healthy volunteers. When the dose was halved, we found that aciclovir concentrations in the amniotic fluid remained above the reported C_{min} in more than three-quarters of pregnancies. Our study provides pharmacological support for the design of clinical studies aiming at reducing doses.

Strengths and limitation

Evaluation of the PK parameters of valaciclovir 8 g/day used to treat CMV-infected pregnant women to prevent vertical transmission of the virus has long been missing; our study described this in a large cohort of 119 infected pregnant women and their 122 fetuses.

The main limitation of our study is that aciclovir assays were carried out in the amniotic fluid and not in fetal blood. The results obtained are therefore only an indirect reflection of actual fetal exposure. However, aciclovir concentrations from fetal blood have been reported in a single previous study including several severely affected CMV-infected fetuses.[16] Fetal blood concentrations were, in the 10 fetuses studied, lower than those measured in the amniotic compartment. There is currently no tool to correlate concentrations observed in amniotic fluid and in fetal plasma. Compartmental modelling studies could help to extrapolate these results.[17]

Conclusion

In this popPK study assessing the use of valaciclovir 8 g/day during pregnancy, maternal and fetal PK parameters were established using *in vivo* data. The results obtained provide a better understanding of how this fetal therapy works. It should help in refining the optimal therapeutic management of maternal seroconversions and fetal CMV infections during pregnancy.

Funding

The data were generated as part of the routine work of the URP 7328 Federation for Research into Innovative Explorations and Therapeutics in Utero, University of Paris-Cité, Paris, France. This study was supported by internal funding.

Transparency declarations

In the context of this work, none of the authors has any financial conflicts of interest.

Supplementary data

Figures S1 and S2 and Table S1 are available as Supplementary data at *JAC* Online.

References

1 Kenneson A, Cannon MJ. Review and meta-analysis of the epidemiology of congenital cytomegalovirus (CMV) infection. *Rev Med Virol* 2007; **17**: 253–76. https://doi.org/10.1002/rmv.535

2 Faure-Bardon V, Magny J-F, Parodi M *et al*. Sequelae of congenital cytomegalovirus (cCMV) following maternal primary infection are limited to those acquired in the first trimester of pregnancy. *Clin Infect Dis* 2019; **69**: 1526–32. https://doi.org/10.1093/cid/ciy1128

3 Chatzakis C, Ville Y, Makrydimas G *et al*. Timing of primary maternal cytomegalovirus infection and rates of vertical transmission and fetal consequences. *Am J Obstet Gynecol* 2020; **223**: 870–83.e11. https://doi.org/10.1016/j.ajog.2020.05.038

4 Shahar-Nissan K, Pardo J, Peled O *et al*. Valaciclovir to prevent vertical transmission of cytomegalovirus after maternal primary infection during pregnancy: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2020; **396**: 779–85. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31868-7

5 Chatzakis C, Shahar-nissan K, Faure-bardon V *et al*. The effect of valacyclovir on secondary prevention of congenital cytomegalovirus infection, following primary maternal infection acquired periconceptionally or in the first trimester of pregnancy. An individual patient data meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol* 2024; **230**: 109–17.e2. https://doi.org/10.1016/j.ajog.2023.07.022

6 Faure-Bardon V, Fourgeaud J, Stirnemann J *et al*. Secondary prevention of congenital cytomegalovirus infection with valacyclovir following maternal primary infection in early pregnancy. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2021; **58**: 576–81. https://doi.org/10.1002/uog.23685

7 Lowance D, Neumayer H-H, Legendre CM *et al*. Valacyclovir for the prevention of cytomegalovirus disease after renal transplantation. *N Engl J Med* 1999; **340**: 1462–70. https://doi.org/10.1056/NEJM199905133401903

8 Weller S, Blum MR, Doucette M *et al*. Pharmacokinetics of the acyclovir pro-drug valaciclovir after escalating single-and multiple-dose administration to normal volunteers. *Clin Pharmacol Ther* 1993; **54**: 595–605. https://doi.org/10.1038/clpt.1993.196

9 Fourgeaud J, Nguyen C-Â, Guilleminot T *et al*. Comparison of two serological screening strategies for cytomegalovirus primary infection in the first trimester of pregnancy. *J Clin Virol* 2023; **169**: 105614. https://doi.org/10.1016/j.jcv.2023.105614

10 Ville Y, Leruez-Ville M. Renal toxicity of high-dosage valacyclovir for secondary prevention of congenital cytomegalovirus infection: a dose regimen-related issue. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2021; **58**: 637–8. https://doi.org/10.1002/uog.24753

11 Abdalla S, Briand C, Oualha M *et al*. Population pharmacokinetics of intravenous and oral acyclovir and oral valacyclovir in pediatric population to optimize dosing regimens. *Antimicrob Agents Chemother* 2020; **64**: e01426-20. https://doi.org/10.1128/AAC.01426-20

12 Schurder J, Lazareth H, Mrad J *et al*. Acute kidney injury after valacyclovir administration for prevention of congenital cytomegalovirus infection. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2021; **58**: 636–7. https://doi.org/10.1002/uog.23724

13 Walter S, Atkinson C, Sharland M *et al*. Congenital cytomegalovirus: association between dried blood spot viral load and hearing loss. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2008; **93**: F280–5. https://doi.org/10.1136/adc.2007.119230

14 MacDougall C, Guglielmo BJ. Pharmacokinetics of valaciclovir. *J Antimicrob Chemother* 2004; **53**: 899–901. https://doi.org/10.1093/jac/dkh244

15 Leruez-Ville M, Ghout I, Bussières L *et al*. In utero treatment of congenital cytomegalovirus infection with valacyclovir in a multicenter, open-label, phase II study. *Am J Obstet Gynecol* 2016; **215**: 462.e1–e10. https://doi.org/10.1016/j.ajog.2016.04.003

16 Jacquemard F, Yamamoto M, Costa J-M *et al*. Maternal administration of valaciclovir in symptomatic intrauterine cytomegalovirus infection. *BJOG* 2007; **114**: 1113–21. https://doi.org/10.1111/j.1471-0528.2007.01308.x

17 Bouazza N, Foissac F, Hirt D *et al*. Methodological approaches to evaluate fetal drug exposure. *Curr Pharm Des* 2019; **25**: 496–504. https://doi.org/10.2174/1381612825666190319102812

Supplemental table and figures

Table S1: Predicted individual pharmacokinetic parameters, in µmol/L, for 8g/day of valacyclovir.
Data are presented as median (range).

	All fetuses N=122	Non-Infected fetuses N=110	Infected fetuses N= 12	p value
Maternal Blood				
Daily AUC_{mat}	570.2 (297.6-1282.4)	570.2 (304.0-1282.4)	573.0 (297.6-1087.6)	0.71
$Cmin_{mat}$	9.6 (0.3-38.6)	9.6 (0.6-38.6)	8.8 (0.3-30.8)	0.53
$Cmax_{mat}$	40.7 (27.1-87.9)	40.7 (27.4-87.9)	40.7 (27.1-80.1)	0.84
Amniotic Fluid				
Daily AUC_{AF}	562.4 (293.6-1229.2)	562.4 (300.0-1229.2)	567.0 (293.6-1051.6)	0.70
$Cmin_{AF}$	21.2 (9.3-48.8)	21.2 (10.7-48.8)	20.7 (9.3-41.6)	0.61
$Cmax_{AF}$	25.4 (13.4-52.8)	25.4 (13.7-52.8)	24.9 (13.4-45.3)	0.75

Abbreviations:
AF: amniotic fluid, AUC : Area Under the Curve , Cmax : maximum concentration , Cmin: minimum concentration, mat : maternal

Figure S1: Diagnostic plots from the final model. Scatter plot of observed versus predicted concentrations in µmol/L (a). Observed versus individual predicted concentrations in µmol/L (b). Normalized prediction distribution errors (NPDE) versus time in hours (c). Normalized prediction distribution errors (NPDE) versus predicted concentrations in µmol/L (d). Circle for Maternal and stars for Amniotic fluid (AF). Two last panel stand for prediction corrected visual predictive checks (pcVPC) plots for maternal and AF concentrations time course.

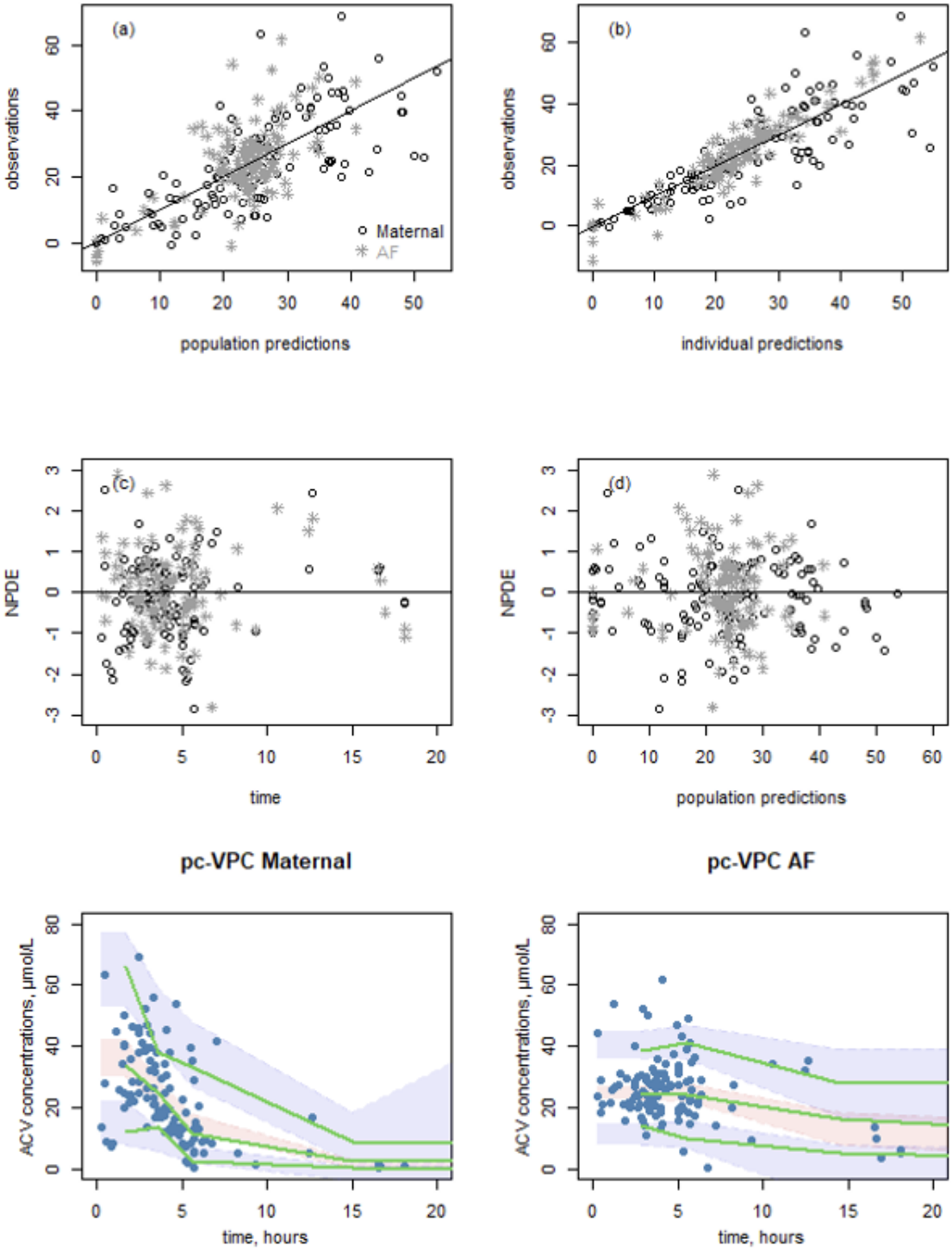
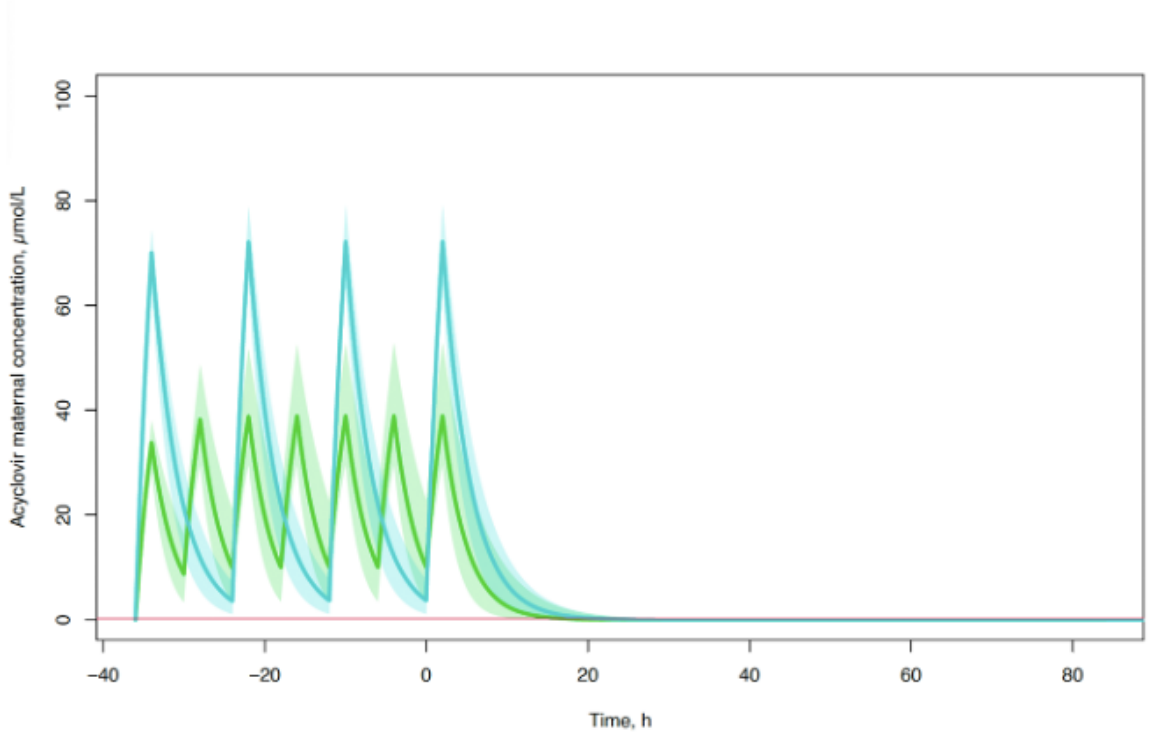


Figure S2. **Acyclovir maternal blood concentrations (µmol/) after maternal oral dose of valacyclovir 8 g / day: 2g/6H or 4g /12h regimens in green and blue respectively.**

On the x-axis, t=0 corresponds to the last maternal oral administration of valacyclovir after steady state was reached.



3. Traitement du fœtus infecté : Réduire le risque de complications et séquelles

a. Contexte

i. Transmission verticale et risque de séquelles

Selon une méta-analyse récente des données de la littérature, les taux combinés de **transmission verticale** augmentent de 5,5 % en période préconceptionnelle à 66,2 % au troisième trimestre. En revanche, les **taux combinés d'atteinte fœtale** en cas de transmission sont de 28,8 %, 19,3 %, 0,9 % et 0,4 % pour une PIM survenant respectivement en période péri-conceptionnelle, au premier, deuxième et troisième trimestre[6]. Pour les infections contractées au deuxième et au troisième trimestre, l'atteinte fœtale se manifeste majoritairement sous la forme d'un retard de croissance intra-utérin. Ce dernier est principalement lié à une atteinte placentaire induite par l'infection, entraînant un dysfonctionnement du placenta et, par conséquent, une hypotrophie fœtale. Les taux combinés de **surdité neurosensorielle** associés à une infection maternelle au premier, deuxième et troisième trimestre sont de 22,8 %, 0,1 % et 0 %, respectivement. Cette méta-analyse vient donc confirmer les résultats d'études observationnelles récentes et met ainsi clairement en évidence que les **PIM survenant en début de grossesse sont celles qui sont associées à des séquelles neurologiques et auditives**[10,6]**.**

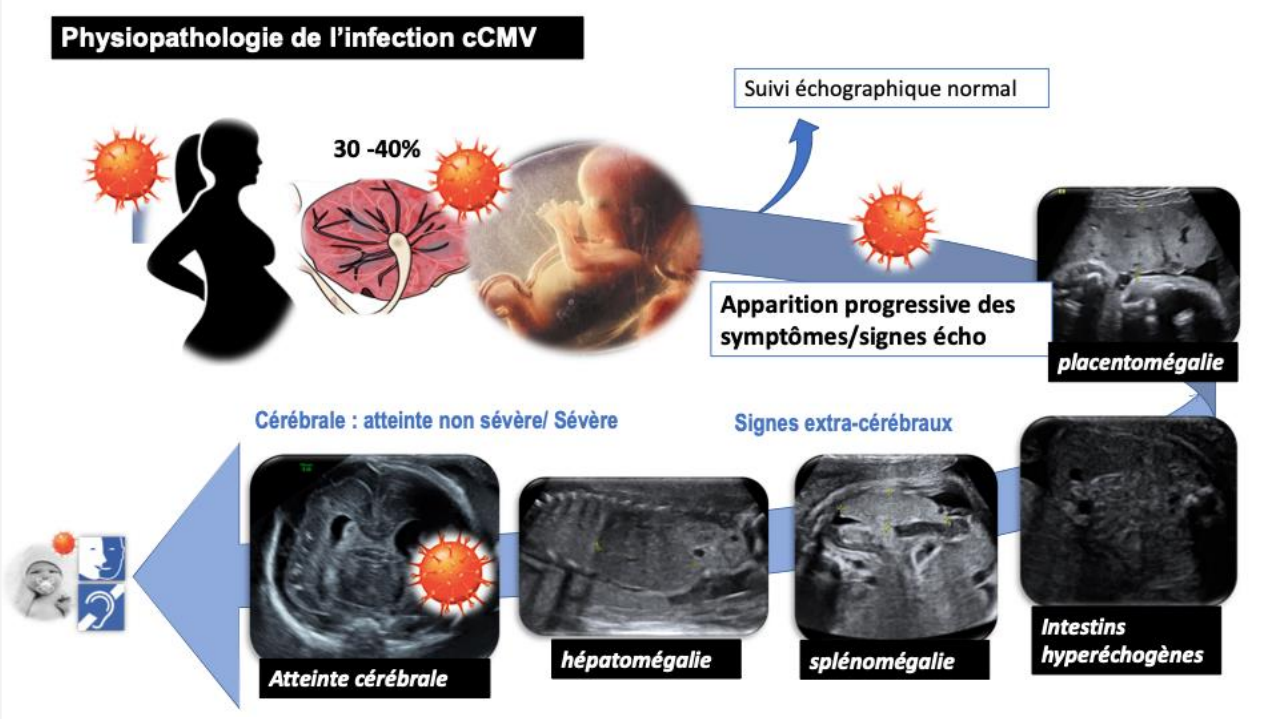
ii. Physiopathologie de la transmission verticale

Le virus, circulant dans le plasma maternel sanguin, est d'abord confronté au placenta où il se réplique. Celui-ci agit à la fois comme une barrière contre le CMV mais aussi comme un réservoir. Une fois dans la circulation fœtale le **virus peut entrainer une atteinte de tous les organes fœtaux** de façon séquentielle. Ces atteintes d'organes peuvent se traduire en symptômes/ signes échographiques détectables en prénatal : atteinte rénale (oligoamnios), entérocolite virale (hyperéchogénicité intestinale), atteinte hépatique (hépatomégalie), et hématotoxicité (splénomégalie, ascite, voire anasarque). Un retard de croissance intra utérin peut aussi être identifié ; il est la conséquence de l'infection fœtale et/ou de l'infection placentaire. Dans certains cas le virus peut entrainer une atteinte cérébrale sévère (microcéphalie, anomalie de la gyration…) ou modérée (calcifications intra cérébrales, kystes

subépendymaires…)[49]. Cependant, le fœtus peut, bien qu'infecté, ne pas présenter de manifestation clinique/ échographique d'infection.

La physiopathologie des lésions cérébrales et de l'oreille interne dans l'infection congénitale à CMV reste incomplètement élucidée, mais il est établi que les **lésions virales et la réplication active du virus** jouent un rôle central dans les altérations du développement neurologique. Les fœtus présentant les lésions cérébrales les plus sévères sont également ceux qui présentent une réplication virale massive dans le cerveau ainsi que dans d'autres organes[50,51,52].

Figure 6: Physiopathologie de l'infection congénitale à CMV en cas de PIM du début de grossesse : symptomes/ signes échographiques d'atteinte fœtale conduisant au handicap neuro-sensoriel.



iii. Antiviraux disponibles

Le traitement antiviral néonatal par **(val)ganciclovir** est utilisé depuis plus de vingt ans et est recommandé chez les nouveau-nés symptomatiques. Une étude a montré que ce traitement permettait une amélioration de l'audition et des capacités intellectuelles chez les nouveau-nés symptomatiques atteints au niveau du système nerveux central[53]. Toutefois, cette amélioration reste modeste, probablement en raison du caractère déjà irréversible des lésions cérébrales constituées *in utero*. **Notre hypothèse est qu'un traitement antiviral prénatal précoce chez les fœtus infectés à haut risque de lésions cérébrales serait plus efficace** pour limiter les séquelles à long terme que le traitement instauré après la naissance

Les premiers antiviraux homologués pour le traitement du CMV – le ganciclovir, le foscarnet et le cidofovir – sont des inhibiteurs nucléotidiques contre-indiqués pendant la grossesse en raison de leur potentiel tératogène et cancérogène. Cependant, des données émergentes concernant le (val)ganciclovir suggèrent un profil de sécurité plus rassurant, justifiant une réévaluation clinique dans des cas sélectionnés[54,55].

Le **VACV** à fortes doses a démontré son efficacité dans la prévention des infections à CMV chez les patients transplantés[56]; il est bien toléré pendant la grossesse et, comme déjà vu, traverse efficacement le placenta[57,58,59]. En 2016, une étude de phase II, non randomisée, ouverte, en un seul bras, a évalué l'efficacité du VACV, chez des femmes enceintes ayant un fœtus infecté présentant des signes échographiques non sévères d'infection, depuis le diagnostic jusqu'à l'accouchement[38]. Cette étude a conduit à la naissance de 79 % de nouveau-nés asymptomatiques, contre 43 % selon l'histoire naturelle de la maladie. Toutefois, **l'efficacité virologique du VACV** s'est révélée partielle, tous les nouveau-nés présentant encore un ADN viral détectable dans la salive et les urines[38]. Par ailleurs, l'efficacité clinique n'a pas été optimale : seuls 57 % des fœtus présentant plus d'un signe échographique sont nés asymptomatiques, ce qui suggère une efficacité antivirale réduite du VACV dans ces situations.

b. Letermovir : un nouvel antiviral candidat.

Dans le cadre de mon Master 2 effectué en 2017-2018, nous avons réalisé un travail de recherche préclinique sur les antiviraux potentiellement utilisables pendant la grossesse. Parmi

ces médicaments, le letermovir présente **l'activité anti-CMV la plus spécifique** (*in vitro)* et a été autorisé en 2018 pour la prévention de la maladie à CMV chez les patients transplantés. Chez les patients ayant bénéficié d'une greffe de moelle osseuse, le letermovir permet de contrôler l'infection et la maladie à CMV, avec une clairance de la charge virale sanguine observée dans 50 à 80 % des cas [60,61]. Dans les études de toxicité précliniques, le médicament n'était **pas génotoxique et aucune toxicité du développement** n'a été observée jusqu'à la dose la plus élevée testée. De plus, aucun signal de sécurité particulier n'a été identifié chez l'humain[62]. Aucune étude n'a rapporté, à ce jour, des données d'usage du letermovir chez la femme enceinte.

Ainsi, nous avons montré, dans une **étude *ex-vivo*** sur des placentas humains du 3ème trimestre de grossesse, que le **letermovir, avait la capacité de franchir la barrière placentaire** humaine[63] . Forts de ces résultats, nous avons monté un PHRC (**Programme Hospitalier de Recherche Clinique)** pour **tester, en clinique, l'efficacité du letermovir** à traiter les fœtus infectés par le CMV (Clinicaltrial NCT05446571)[64]. Celui-ci a été construit en deux étapes :

- Une phase pilote préliminaire, équivalente à une phase 1, pour choisir entre deux doses de letermovir (240 vs 480 mg)
- Suivi d'un essai randomisé : instauration d'un traitement par letermovir *versus* VACV en cas d'infection fœtale documentée, avec pour objectif principal de négativer la charge virale.

Dans la phase pilote du PHRC, les données de passage transplacentaires *ex-vivo* ont été confirmées par des données *in vivo* ce qui nous a permis de débuter la deuxième phase de notre PHRC avec une dose de 240 mg de Letermovir (automne 2023). La phase pilote est ci-après décrite et l'article est en cours de soumission.

c. Quantification *in vivo* et modélisation PBPK de l'exposition maternelle et fœtale au Letermovir

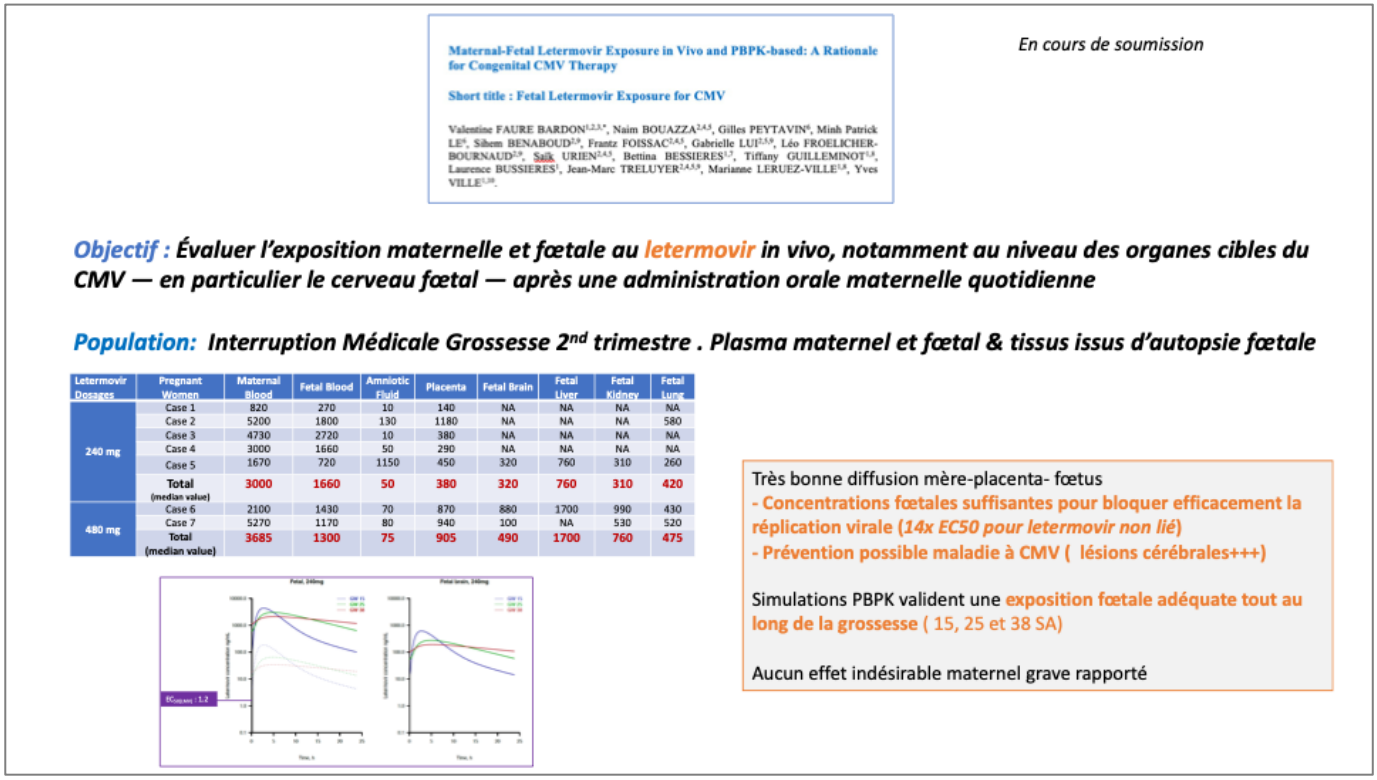
L'objectif de cette étude a été de quantifier l'exposition maternelle et fœtale au letermovir *in vivo*, avec une attention particulière portée aux organes cibles du CMV — en particulier le cerveau fœtal — à la suite d'une administration orale quotidienne maternelle.

Une étude prospective a été menée chez des femmes enceintes demandeuses d'une **IMG** du fait d'anomalies fœtales sévères identifiées au deuxième trimestre de la grossesse. Toutes les participantes ont donné leur consentement pour recevoir du **letermovir oral (240 ou 480 mg/jour)** pendant trois jours avant l'IMG. Le jour de l'IMG, des échantillons ont été prélevés à des fins de **quantification du letermovir** dans le **sang maternel, le sang fœtal, le placenta,** ainsi que dans **différents organes fœtaux**.
En parallèle, **une modélisation PBPK** a été réalisée à l'aide du logiciel Simcyp™, afin de simuler l'exposition fœtale et maternelle au letermovir tout au long de la grossesse.
Les concentrations totales observées ont été comparées à la concentration efficace 50 % (EC50) connue du Letermovir ($EC50_{LMV}$), dans le but d'évaluer le potentiel antiviral du traitement.

Sept femmes enceintes ont été incluses dans l'étude. L'âge gestationnel médian au moment de l'IMG était de 22 SA. Pour tous les cas, des prélèvements sanguins maternels, fœtaux et placentaires ont pu être recueillis, et les organes fœtaux suivants ont été analysés : cerveau (n=3), foie (n=2), rein (n=3) et poumon (n=4), liquide amniotique (n=6). L'administration de letermovir à la dose de 240 mg a permis une **distribution tissulaire efficace, en particulier au niveau du cerveau fœtal, avec des concentrations mesurées systématiquement supérieures au seuil d'efficacité ($EC50_{LMV}$).** Les simulations PBPK ont confirmé une exposition fœtale suffisante au letermovir aux différents stades de la grossesse (15-35 SA). Aucun effet indésirable maternel sévère n'a été observé.

En **conclusion,** ces résultats suggèrent qu'une dose maternelle quotidienne unique de 240 mg de letermovir pourrait être suffisante pour traiter efficacement un fœtus infecté. L'ensemble des données recueillies dans cette étude établit une base pharmacologique solide en faveur de l'utilisation du letermovir pendant la grossesse, dans le cadre des infections materno-fœtales à CMV.

Figure 7: Résumé graphique de l'article évaluant l'exposition maternelle et foetale au letermovir



Letermovir Dosages	Pregnant Women	Maternal Blood	Fetal Blood	Amniotic Fluid	Placenta	Fetal Brain	Fetal Liver	Fetal Kidney	Fetal Lung
240 mg	Case 1	820	270	10	140	NA	NA	NA	NA
	Case 2	5200	1800	130	1180	NA	NA	NA	580
	Case 3	4730	2720	10	380	NA	NA	NA	NA
	Case 4	3000	1660	50	290	NA	NA	NA	NA
	Case 5	1670	720	1150	450	320	760	310	260
	Total (median value)	3000	1660	50	380	320	760	310	420
480 mg	Case 6	2100	1430	70	870	880	1700	990	430
	Case 7	5270	1170	80	940	100	NA	530	520
	Total (median value)	3685	1300	75	905	490	1700	760	475

d. Travail (3) – Article soumis dans *Journal of Infectious Diseases* (juillet 2025). Faure-Bardon V, Bouazza N, Peytavin G, Le Minh Patrick, Benaboud S, Foissac F, Lui G, Froelicher-Bournaud L, Urien S, Bessières B, Guilleminot T, Bussières L, Tréluyer JM, Leruez-Ville M, Ville Y. *Maternal-Fetal Letermovir Exposure in Vivo and PBPK-based :A Rationale for Congenital CMV Therapy.*

Maternal-Fetal Letermovir Exposure in Vivo and PBPK-based: A Rationale for Congenital CMV Therapy

Short title : Fetal Letermovir Exposure for CMV

Valentine FAURE BARDON[1,2,3,*], Naim BOUAZZA[2,4,5], Gilles PEYTAVIN[6], Minh Patrick LE[6], Sihem BENABOUD[2,9], Frantz FOISSAC[2,4,5], Gabrielle LUI[2,5,9], Léo FROELICHER-BOURNAUD[2,9], Saïk URIEN[2,4,5], Bettina BESSIERES[1,7], Tiffany GUILLEMINOT[1,8], Laurence BUSSIERES[1], Jean-Marc TRELUYER[2,4,5,9], Marianne LERUEZ-VILLE[1,8], Yves VILLE[1,10].

[1] University of Paris- Cité , URP 7328 Federation for Research into Innovative Explorations and Therapeutics in Utero, Paris, France.

[2] Université Paris Cité, Inserm, Pharmacologie et évaluations des thérapeutiques chez l'enfant et la femme enceinte, F-75006 Paris, France

[3] Sorbonne University, Department of Gynecology and Obstetrics, Pitié-Salpêtrière Hospital, APHP, Paris, France

[4] Unité de Recherche Clinique Necker Cochin, AP-HP, France

[5] CIC-1419 Inserm, Cochin-Necker, Paris, France

[6] AP-HP, Hospital Bichat-Claude Bernard, Pharmacology Laboratory, IAME UMR 1137 INSERM, Université Paris Cité, France

[7] Fetopathological Unit of Genomic medicine department, Necker-Enfants Malades Hospital, APHP, University of Paris-Cité, Paris, France.

[8] Virology Laboratory, Necker-Enfants Malades Hospital, APHP, University of Paris-Cité, Paris, France.

[9] Department of Clinical Pharmacology, Cochin Hospital, AP-HP, University of Paris-Cité, Paris, France

[10] Department of Obstetrics, Fetal-Medicine, and Surgery, Necker-Enfants Malades Hospital, APHP, University of Paris-Cité, Paris, France

***corresponding author :**

Valentine FAURE BARDON, MD

Sorbonne University

Pitié-Salpêtrière Hospital, APHP

Department of Gynecology and Obstetrics,

45-83 Boulevard de l'Hôpital

75013 Paris, France

+ 33 (0)184828265

valentine.faure@aphp.fr

Summary

Combining rare in vivo fetal organ data with PBPK modeling, this study quantifies letermovir exposure throughout pregnancy, reveals effective drug levels in CMV-target tissues, and provides a pharmacological rationale for prenatal antiviral strategies against congenital CMV infection.

Abstract

Cytomegalovirus (CMV) affects 0.5-2.0% of all live births and is the main nongenetic cause of congenital sensorineural hearing loss and neurological damage, yet no validated prenatal treatment exists for infected fetuses. Letermovir, a CMV-specific antiviral, is approved for prophylaxis in transplant recipients. This study aimed to quantify maternal-fetal exposure to letermovir following maternal administration, focusing on CMV-target fetal organs, particularly the brain. Seven pregnant women undergoing second-trimester termination of pregnancy for fetal anomalies received oral letermovir (240 or 480 mg once daily) for three days. On the day of termination, samples from maternal and fetal blood, placenta, and fetal organs were collected and analyzed. Plasma and tissue drug concentrations were compared to the $EC50_{Letermovir}$ to assess potential antiviral efficacy. Letermovir achieved therapeutic levels in all compartments. Complementary physiologically-based-pharmacokinetic modeling confirmed adequate fetal exposure across pregnancy stages. No maternal adverse events were observed. These unique *in vivo* data provide the first pharmacological rationale supporting letermovir use during pregnancy for congenital CMV therapy.

Introduction

Cytomegalovirus (CMV) is the most common congenital infection, affecting 0.5-2.0% of all live births and the main nongenetic cause of congenital sensorineural hearing loss and neurological damage[1]. During pregnancy, 15-20% of the fetuses infected with CMV, are symptomatic and up-to 60% of those will develop postnatal sequelae[2–5]. Long-term sequelae are seen in fetuses infected following maternal primary infection in the first trimester [6,7]. Based on these findings, several European countries have decided, very recently, to implement a universal CMV screening strategy for pregnant women[8,9] . The European Congenital Cytomegalovirus Initiative (ECCI) recommends valaciclovir treatment after maternal seroconversion detected by screening, to reduce the risk of vertical transmission. In contrast, there is no high-level (grade A) recommendation supporting antiviral treatment for infected fetuses to prevent long-term sequelae[10].

The pathophysiology of lesions to the brain and inner ear is not completely elucidated but viral lesions and viral replication play a major role in this altered neurodevelopment. Fetuses with the most severe brain lesions are also those presenting with high CMV replication in the brain and in all other organs [11,12,13]. Neonatal antiviral treatment with (val)ganciclovir has been used for more than 20 years and is recommended for symptomatic infected neonates. A study demonstrated that this treatment improves hearing and intellectual capacities of symptomatic neonates with central nervous system involvement[14]. However, this improvement was only modest. This can probably be explained by the fact that cerebral lesions developed *in utero* are already fixed in the neonatal period. Our hypothesis is that early prenatal antiviral therapy for infected fetuses at high risk of brain lesions will be more efficient to alleviate long-term sequelae than neonatal treatment.

The first antiviral agents approved for CMV—ganciclovir, foscarnet, and cidofovir—are nucleotide inhibitors formally contraindicated in pregnancy due to potential teratogenic and carcinogenic risks; however, emerging data on (val)ganciclovir suggest a more reassuring safety profile, justifying renewed clinical evaluation in selected cases [15]. Valaciclovir at high dosage is efficient to prevent CMV infection in transplant patients[16]; it is safe in pregnancy and crosses the placenta efficiently [17,18,19]. In 2016 a non-randomized, open-label, single arm, phase II study tested the efficacy of valaciclovir in pregnancies with infected fetuses showing non-severe ultrasound features of infection from the time of diagnosis and up until delivery [20]. This led to 79% asymptomatic neonates compared to 43% following natural history of the disease. However, the virological efficacy of valaciclovir was only partial since all had detectable CMV

DNA in neonatal saliva and urine[20]. Also, the clinical efficacy was not optimal since only 57% of fetuses with more than one ultrasound feature were born asymptomatic, suggestive of valaciclovir lower antiviral efficacy in such cases.

We therefore looked at new anti CMV drugs. Among them, letermovir has the highest specific anti-CMV *in vitro* activity and has been licensed to prevent CMV disease in transplant recipients in 2018. Letermovir contains CMV infection and disease in bone marrow transplant patients by achieving blood viral load clearance in 50-80% of cases [21,22] . In preclinical toxicity studies, the medication was not genotoxic, and no developmental toxicity was observed up to the highest exposure tested. Also no specific concerns arise from its safety profile in human[23]. We were able to establish that letermovir crosses the placenta and may probably allow to reach an effective fetal concentration using an *ex-vivo* model of a perfused human placenta cotyledon[24]. Although these preclinical studies were reassuring and promising we decided to confirm this data, in a clinical pharmacological study, before testing the efficacy of this medication in clinical trials in pregnant women with a prenatal diagnosis of CMV infection.

Therefore, the aim of this study was to quantify, *in vivo*, in pregnant women, the fetal exposure to letermovir and to define the minimal effective dose of letermovir to inhibit *in utero* viral replication in CMV-infected fetuses.

Methods

Design of the trial

A prospective, monocentric clinical pharmacology study was conducted between June 2021 and November 2021.This study has been registered on clinicaltrials.gov under NCT04732260 and was approved by the ethics committee of Ile de France IV (2020/120).

Population

The eligible population was any pregnant woman, seen in the fetal medicine unit of Necker Hospital (Paris, France), requesting a termination of pregnancy (TOP) for fetal anomaly in the second trimester of pregnancy. All requests of TOP were approved by the multidisciplinary prenatal diagnosis committee and accordingly to French laws.

Inclusion criteria were: Pregnant women: i) Over 18 years old ii) In their second trimester of pregnancy iii) Undergoing TOP for any severe fetal abnormality with no evidence of placental dysfunction iv) With affiliation to a social security regime/health insurance v) Who

gave their consents for the study vi) Who were able and willing to comply with study visits and procedures

Exclusion criteria were : i) Participation to another interventional drug trial ii) Subject protected by law under guardianship or curatorship iii)Woman with creatinine clearance <75 ml/mn iv)Woman with liver insufficiency (Child Pugh grade C) v)Woman with known allergy to letermovir vi) Contraindication for the administration of letermovir [23]

Information of the participants. All participants were informed of : i) the risks added by the study which are the side effects reported with letermovir: nausea, diarrhea and vomiting (frequent), hypersensitivity, loss of appetite, headache, vertigo, abdominal pain, ALT and AST increase, muscle spasm, blood creatinine increase, fatigue, peripheral edema (very rare) ii) that none direct expected benefit for the participant was expected. Also, participants were informed that they could withdraw from participating in the research at any time and for any reason.

Procedure of the study

Once the decision of TOP had been validated by the committee, the pregnant women attended a consultation to organize the medical management of the TOP (usually 4 to 7 days beforehand). It was during this consultation that the woman was invited to take part in the study (baseline visit).

Treatment dispensation at baseline visit. Validation of inclusion and exclusion criteria were assessed by the investigator through: i) checking for all criteria ii) inquiring about maternal concomitant treatment(s) iii) blood sampling: to check for renal and liver functions iv) signature of the written consent.

Two dosages of letermovir tablets were tested at 240 and 480 mg daily for three days. The first five cases included received 240 mg/day and it was initially planned to include a further 5 cases with letermovir 480 mg/day. Pregnant women were asked to start their treatment 3 days before the TOP date, to obtain a plasma concentration close to steady state on the TOP date.

Collection of the samples during TOP procedures to quantify fetal exposure to letermovir. The protocol used for the management of TOP is provided in Figure S1.The procedures and treatments added by the study to this standard protocol are detailed in the same figure.

At the time of admission in the labor room, a maternal examination was carried out and included: i) Inquiry into potential adverse effects; ii) Clinical examination; iii) Recording of the timing of the 3 drug intakes.

Samples, for letermovir concentration measurement were collected at different times and in the following compartments: 1) fetal blood, sampled in the umbilical vein under ultrasound guidance at the time of feticide before lethal injection was given, 2) maternal serum blood collected concomitantly with the feticide procedure 3) amniotic fluid sampled at the time of feticide or at the time of artificial rupture of the amniotic membranes, 4) placental biopsies: two cotyledons were collected after delivery 5) fetal tissues : if an autopsy and letermovir assays in the tissues were agreed, they were sent from the pathology department to the pharmacology unit after autopsy had been performed.

All samples were centralized in Virology Laboratory of Necker Hospital, stored at -80°C and sent for letermovir concentration measurements at the end of the study at the pharmacological laboratory of Bichat Hospital. Letermovir concentrations were measured in blood plasma and amniotic fluid after precipitation and in tissue samples after crushing using ultraperformance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry (Waters Xevo UPLC-TQD, Milford, MA, USA), according to a previously published study[24]. Furthermore, retention of letermovir in tissues was also calculated, and expressed as an accumulation index, defined by the ratio of the concentration of the study drug in the tissue (ng/mg) multiplied by the tissue density (1.04 g/mL) divided by the blood plasma concentration (reference).

At day 4 after TOP, women were contacted by phone to collect any adverse effect after TOP.

Statistical analysis

To assess the efficacy of letermovir at treating a CMV-infected fetus, all observed total concentrations obtained were analyzed relative to the EC50 of letermovir (EC_{50LMV}) which is reported to be 1.2 ng/mL[23]. Assuming a protein binding of 99%[23], the concentrations of unbound letermovir were also compared relative to $EC50_{LMV}$.

Besides the assessment of the *in vivo* concentrations in the different compartments (maternal, fetal and placental), a mathematical modeling was carried out to simulate *in silico* the maternal and fetal exposure to letermovir. Physiologically-based pharmacokinetic modeling (PBPK) was used with Simcyp™ PBPK Simulator version 22 (Certara, Sheffield, UK). The letermovir compound file was obtained from the Simcyp Simulator default compound library and the *Pregnancy* virtual population was used. Input parameters are provided in supplemental table S1. The Simcyp pregnancy population includes previously reported physiologic changes that occur during pregnancy, including maternal and fetal physiology[25]. Growth and decline of the physiologic parameters during pregnancy are incorporated in the model as continuous functions to allow predictions at different gestational ages. The model considers the continuous

change of all physiologic and biologic parameters simultaneously over time and within each subject to account for any time-varying covariates. The model structure includes a multicompartment fetal PBPK model coupled with the maternal PBPK model via a permeability-limited placenta model. The Simcyp placental-permeability limited model was used to integrate ex vivo data from a previous placental perfusion study[24] that were modeled using non-linear mixed-effects modeling. Placenta data were analyzed using Monolix 2023R1 program (Lixoft, Antony, France). Transplacental transfer clearances for letermovir were estimated using a five compartimental physiologically based mechanistic placenta (PBMP) model adapted from Roelofsen et al[26]. This structural model had the advantage of matching the permeability-limited placenta model in Simcyp PBPK simulator version 22. The schematic representation of the PBMP model and the associated parameters are shown in Supplementary Material (Figure S2). Parameters were estimated by computing the maximum likelihood estimator of the parameters using the stochastic approximation expectation maximization algorithm combined to a Markov chain Monte Carlo procedure. Estimation of *ex-vivo* transplacental transfer clearances are provided in Table S2.

Simulations in Simcyp Simulator were carried out to: i) compare our *in vivo* data with those predicted by the PBPK model in order to evaluate the full PBPK modeling ii) obtain the prediction of maternal and fetal drug concentrations time course at different gestational ages (15, 25 and 37 weeks of gestation) and to provide more concentration estimations in addition to the concentration obtained in the clinical trial (gestational age of TOP for our cases).

Results

Population

Seven pregnant women agreed to participate and were included and completed all the procedure of this study.

At the baseline visit, pregnant women had a median age of 38 years, were at a median gestational age of 21 weeks' and had normal renal and liver functions (Table 1).

The fetal pathologies that led to request TOP were: i) Chromosomal anomalies: trisomy 18 (case 1) and trisomy 21 (cases 3 and 4); ii) Right diaphragmatic hernia (case 2); iii) Polymalformative syndrome (cardiac defect + ventriculomegaly; case 5); iv) Cerebral anomaly (posterior parietal meningocele; case 6); v) Complex cardiac malformation (case 7) .

For treatment dispensation, 5 cases received letermovir at oral dose of 240 mg/24h and 2 cases at a dose of 480g/24h. Among the 7 women, six were treated during the three days preceding TOP and one was treated for only two days, as she went into labor during the night before the third dose (Figure 1).

We did not include three other pregnant women at 480 mg/24H since the results obtained with the minimal dose of 240 mg/24h were conclusive.

TOP procedure

In the study population, TOP occurred at a median gestational age of 22 weeks' (Table1).

All cases included in this study benefited from a standard management of TOP according to the protocol (Figure S1). All pregnant women received 1 oral tablet of mifepristone 200 mg and had a Foley balloon placed for cervical ripening. They were admitted in the labor room where TOP procedure was performed under epidural anesthesia.

Maternal clinical examination was normal in all 7 cases. A record of all time-points when letermovir was taken was available for all cases. Of the seven cases included, two reported adverse events with a total of three adverse events reported. The first case (case 3, Table S3) reported two adverse events on the same day: on the second day of treatment, she reported a single episode of moderate diarrhea and nausea. The other case (case 5, Table S3) reported moderate nausea on the first day of treatment. No serious adverse events were observed.

All pregnant women delivered vaginally. Four patients requested fetal autopsy as part of the etiological work-up of the fetal anomalies and also agreed that, once the autopsy had been completed and the findings reported, letermovir concentrations could be measured in fetal tissues (Figure 1, Table S3).

Four days post TOP, 7/7 cases answered to the phone call and none of the women reported any adverse effects

In vivo quantification of materno-fetal exposure

Samples. For the 7 cases included, maternal blood, fetal blood (umbilical vein), and placental (2 cotyledons) samples were all collected and sent to the pharmacology laboratory without incident. Among the 7 assays performed in amniotic fluid, one could not be analyzed due to blood contamination reported by the laboratory. The following fetal organs were available for concentration analysis: brain (n= 3), liver (n= 2), kidney (n=3), lung (n=4) (Figure 1, Table S3).

Maternal blood plasma (Figure S3, Table S3). In the 240 mg and 480 mg dosage groups, the median maternal plasma concentrations were 3000 ng/mL (range: 820-5200 ng/mL), and 3685 ng/mL (2100 and 5270 ng/mL) respectively. After adjustment for plasma protein binding, unbound (free) maternal concentrations remained consistently well above the $EC50_{LMV}$ with values approximately 25-fold and 30-fold higher than the $EC50_{LMV}$ for the 240 mg and 480 mg doses, respectively.

Fetal blood plasma (Figure 2, Table S2). Following administration of 240 mg, the median fetal plasma concentration was 1660 ng/mL (range: 270–2720 ng/mL), and 1300 ng/mL (1170 and 1430 ng/mL) with the 480 mg dose. When corrected for plasma protein binding, unbound fetal concentrations remained well above the $EC50_{LMV}$; 14-fold higher than the $EC50_{LMV}$ after the 240 mg dose and 11-fold higher after the 480 mg dose.

Fetal tissues and Placenta (Figure 3, Table S3). Letermovir demonstrated effective tissue distribution, particularly into the fetal brain, with all measured concentrations consistently above the $EC50_{LMV}$ threshold with both the 240 mg and 480 mg dosages. Concentrations in the brain ranged between 100 and 880 ng/mL and in the placenta between 140 and 1180 ng/mL.

Amniotic fluid (Figure S3, Table S3). Letermovir, 240 mg and 480 mg, was also found in amniotic fluid at levels above the $EC50_{LMV}$ threshold in all cases. Concentrations ranged between 10 and 130 ng/mL.

Simulation of maternal and fetal exposure with PBPK modeling.

Validation of our PBPK modelisation with the in vivo data (Figure 2, Figure 3 and Figure S3). Maternal and fetal plasma and tissue concentrations were well predicted by the PBPK model at both studied doses, with the only exception being a slight overestimation of fetal plasma concentrations at the highest dose.

Simulations of fetal exposure at different stages of the pregnancy (*Figure 4).* Using PBPK modeling, we were able to assess steady state letermovir concentrations in fetal blood plasma (corresponding to overall fetal exposure) and in the fetal brain for 240 mg/day letermovir at 15, 25 and 38 weeks of pregnancy. The corresponding daily concentrations were all within therapeutic targets (above $EC50_{LMV}$) in both fetal blood plasma (free or total fraction) and fetal brain.

Simulation of maternal exposure in case of letermovir at different stages of the pregnancy (Figure S4) . After dose intake, 240 mg or 480 mg, total letermovir concentrations remained above the $EC50_{LMV}$ threshold for 24 hours at each stage of pregnancy. However,

when specifically analyzing the free fraction of letermovir after taking a 240 mg tablet, maternal concentration of free letermovir dropped below the $EC50_{LMV}$ threshold after approximately 15 hours at 15 weeks of pregnancy and 12 hours at 38 weeks'. This is particularly relevant when prioritizing the treatment of an infected pregnant woman, especially in clinical scenarios where the primary objective is the rapid reduction of viremia. These aspects are further discussed in the 'Research Implication' section.

Discussion

Principal findings

We report maternal-fetal pharmacological results on the use of letermovir during pregnancy, made possible by the design of a study conducted using *in vivo* fetal and maternal tissues. Our results showed that letermovir reaches high concentrations in the placenta and crosses it efficiently, achieving levels in fetal CMV target organs likely sufficient for therapeutic efficacy. More specifically, since the prognosis of congenital CMV infection is primarily associated with fetal brain involvement, we also demonstrated that letermovir crosses the blood-brain barrier and reaches the fetal brain at concentrations likely sufficient to control viral replication. This may help prevent the development of severe brain lesions, which are key determinants of CMV poor outcomes. Additionally, our PBPK simulations—based on a model evaluated with our *in vivo* data—allowed us to simulate fetal drug exposure throughout pregnancy. These simulations showed that the fetus would be adequately exposed to letermovir during all the second and third trimesters. We further showed that a daily maternal oral dose of 240 mg (one tablet per day) is sufficient to achieve effective fetal concentrations capable of preventing CMV-related complications. Also, no serious maternal adverse effects associated with letermovir administration were reported in our clinical trial. Our work therefore provides pharmacological evidence that the lowest dose of letermovir—once daily 240 mg administered orally to the mother—could be effective in treating a CMV-infected fetus while minimizing the risk of maternal toxicity.

Clinical implications

Treatment of the infected fetus. The indication for administering letermovir during pregnancy would apply to cases with an infected fetus. There are currently no international guidelines recommending fetal treatment. Some centers prescribe valaciclovir 8g/ day until

delivery, based on results from a phase 2 trial published in 2016[20]; others advocate the use of valganciclovir in cases with ultrasound-visible fetal lesions[27,28]. However, most centers do not offer any treatment due to the lack of official protocols and/or validated scientific data.

The results of our study suggest that letermovir—the most potent and specific antiviral agent against CMV—could represent an effective and safe therapeutic option for both the fetus and the mother. Letermovir also has the advantage of once-daily oral administration, in contrast to the high pill burden of valaciclovir, which requires up to sixteen 500 mg tablets per day in France. Our study demonstrated that letermovir reaches therapeutic concentrations in CMV fetal target organs, concentrations that should effectively control high levels of viral replication in the context of CMV disease.

Treatment of maternal infection to reduce vertical transmission. Letermovir could also be considered when maternal infection (CMV IgG seroconversion) is identified to reduce the risk of fetal infection. To date, only valaciclovir has been evaluated in this setting and showed a 70% reduction of vertical transmission[29,30]. One of the key predictive factors for the success of this intervention is the prompt initiation of antiviral therapy, as close as possible to the time of maternal seroconversion[31]. The results presented in our study regarding maternal blood concentrations are significant, as they suggest that a rapid and effective control of viral replication could be achieved, potentially preventing the spread of the virus to the feto-placental compartment. The placental findings are also of major importance, given that the placenta acts as a physiological protective barrier between the mother and the fetus. Letermovir, by accumulating in the placental tissue, may enhance this barrier function and further reduce the risk of vertical transmission, as demonstrated in an *ex-vivo* model of CMV-infected human placenta showing significant inhibition of viral replication with letermovir (83.3%, $P < 0.05$), whereas (val)aciclovir showed no such effect ($P > 0.99$)[32]

Research implications

Treatment of the infected fetus. In our clinical study, we demonstrated that letermovir could reach effective concentrations in the fetal compartment. However, our study was conducted in pregnant women undergoing TOP for reasons unrelated to CMV. To confirm the actual efficacy of letermovir in this target population—and building on these results—we have initiated a second clinical trial. This second step involves a randomized, placebo-controlled study comparing the efficacy of letermovir 240 mg/24h to that of valaciclovir 8 g/day in treating CMV-infected fetuses. The trial is currently recruiting (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT05446571).

Treatment of maternal infection to reduce vertical transmission. We also demonstrated that letermovir reaches effective concentrations in both maternal and placental compartments. However, simulations of maternal plasma concentrations at doses of 240 mg, adjusted for gestational age, showed that free drug levels dropped below the $EC50_{LMV}$ approximately 12 to 15 hours after tablet administration. Therefore, in the context of treating an infected mother to reduce the risk of virus transmission to the fetus, it may be beneficial to administer letermovir 240 mg every 12 hours (twice daily) to maintain maternal plasma concentrations consistently above the $EC50_{LMV}$ and ensure maximal antiviral efficacy. We therefore propose that letermovir represents an ideal candidate for effectively targeting both maternal and placental CMV infection, potentially reducing the risk of fetal infection more significantly than valaciclovir [29,30]. Clinical trials evaluating letermovir in this indication are warranted, and our study provides a robust pharmacological basis to the design of such trials.

Letermovir Resistance. A critical point to emphasize when considering letermovir for therapeutic use is the emergence of resistance reported in the literature: although data are limited due to its current prophylactic indication, small series in immunocompromised patients with active CMV infection have documented resistance in approximately 10–20% of cases. This should be specifically addressed in future research[33,34].

Strengths and limits of this study

This appears to be one of the first investigation using *in vivo* human fetal tissues in the field of fetal medicine and therapy to obtain pharmacological measurements of a drug that has not yet been used in pregnant women. Fetal therapy studies are typically conducted in animal models, *ex-vivo* systems, or *in-silico* simulations, but never on fetuses obtained following TOP[35,36]. Our study is also the first to provide both pharmacological and clinical insights into the use of letermovir in pregnant women and in human fetal tissues.

Beyond the initial in vivo results, we also used a PBPK model approach to simulate drug PK under physiological conditions of pregnancy. The *in-silico* model was evaluated by comparing predicted and observed concentrations in fetal tissues. This approach then enabled us to simulate fetal exposure to letermovir throughout gestation. These simulations provided a temporal and spatial mapping of both maternal and fetal exposure to letermovir from 15 to 38 weeks. In clinical practice, letermovir would be administered throughout pregnancy once amniocentesis confirms fetal infection. Therefore, having comprehensive data on both maternal

and fetal pharmacology of the drug across the entire gestational period represents a major strength of our study.

Our study has several limitations. First, the sample size is small, with only seven cases included, and only three measurements available for the fetal brain. Second, our findings regarding sufficient fetal exposure to letermovir throughout gestation are based on PBPK simulations rather than real clinical data, which would have required fetal tissue sampling from TOP occurring at each trimester. Finally, none of the included cases involved TOP specifically due to CMV infection. However, we would like to emphasize several points in response to these limitations: (1) the recruitment of pregnant women undergoing TOP is particularly challenging, given the psychological vulnerability of these women and the absence of direct benefit from participation in a study addressing a condition that does not affect them personally; (2) PBPK simulation is a widely recognized method for extrapolating pharmacokinetics to special populations, including the perinatal period[35,37,38]. The availability of fetal tissue data in our study provided a unique opportunity to evaluate the predictive accuracy of the model[35,37–40]; (3) we have previously conducted an *ex-vivo* study[24] assessing the transplacental transfer of letermovir during the third trimester, and the present *in vivo* study confirms and strengthens those earlier findings; (4) we have initiated a new Phase 3 clinical trial involving the target population—pregnant women carrying a CMV-infected fetus who have opted to continue the pregnancy—which will allow us to further validate our results through prospective clinical and pharmacological data.

Sources of funding

The study was funded by a grant from PHRC-2018, Ministry of Health of France

Acknowledgment

We express our deepest gratitude to all the women who agreed to take part in this study. Despite the pain of perinatal grief following a TOP, and with no direct benefit to themselves, they showed remarkable generosity by choosing to contribute to this research.

Certara UK Limited (Simcyp Division) granted access to the Simcyp Simulators through a sponsored academic licence (subject to conditions).

References

1. Leruez-Ville M, Foulon I, Pass R, Ville Y. Cytomegalovirus infection during pregnancy: state of the science. *Am J Obstet Gynecol*. Published online February 24, 2020. doi:10.1016/j.ajog.2020.02.018

2. Guerra B, Simonazzi G, Puccetti C, et al. Ultrasound prediction of symptomatic congenital cytomegalovirus infection. *Am J Obstet Gynecol*. 2008;198(4):380.e1-380.e7. doi:10.1016/j.ajog.2007.09.052

3. Picone O, Vauloup-Fellous C, Cordier AG, et al. A series of 238 cytomegalovirus primary infections during pregnancy: description and outcome. *Prenat Diagn*. 2013;33(8):751-758. doi:10.1002/pd.4118

4. Pass RF, Fowler KB, Boppana SB, Britt WJ, Stagno S. Congenital cytomegalovirus infection following first trimester maternal infection: symptoms at birth and outcome. *J Clin Virol Off Publ Pan Am Soc Clin Virol*. 2006;35(2):216-220. doi:10.1016/j.jcv.2005.09.015

5. Faure-Bardon V, Millischer AE, Deloison B, et al. Refining the prognosis of fetuses infected with Cytomegalovirus in the first trimester of pregnancy by serial prenatal assessment: a single-centre retrospective study. *BJOG Int J Obstet Gynaecol*. 2020;127(3):355-362. doi:10.1111/1471-0528.15935

6. Faure-Bardon V, Magny JF, Parodi M, et al. Sequelae of congenital cytomegalovirus (cCMV) following maternal primary infection are limited to those acquired in the first trimester of pregnancy. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. Published online December 31, 2018. doi:10.1093/cid/ciy1128

7. Chatzakis C, Ville Y, Makrydimas G, Dinas K, Zavlanos A, Sotiriadis A. Timing of primary maternal cytomegalovirus infection and rates of vertical transmission and fetal consequences. *Am J Obstet Gynecol*. 2020;223(6):870-883.e11. doi:10.1016/j.ajog.2020.05.038

8. Cytomégalovirus (CMV) chez la femme enceinte : la HAS recommande un dépistage systématique pour toutes à réévaluer après 3 ans de mise en œuvre. Haute Autorité de Santé. Accessed June 18, 2025. https://www.has-sante.fr/jcms/p_3610208/fr/cytomegalovirus-cmv-chez-la-femme-enceinte-la-has-recommande-un-depistage-systematique-pour-toutes-a-reevaluer-apres-3-ans-de-mise-en-oeuvre

9. Zammarchi L, Lazzarotto T, Di Tommaso M, et al. Valacyclovir for prevention and treatment of fetal CMV infection: inclusion in the Law 648/96 list and launch of the Italian multicentre observational prospective study "MEGAL-ITALI." *Infez Med*. 2021;29(2):299-303.

10. Leruez-Ville M, Chatzakis C, Lilleri D, et al. Consensus recommendation for prenatal, neonatal and postnatal management of congenital cytomegalovirus infection from the European congenital infection initiative (ECCI). *Lancet Reg Health – Eur*. 2024;40. doi:10.1016/j.lanepe.2024.100892

11. Gabrielli L, Bonasoni MP, Santini D, et al. Congenital cytomegalovirus infection: patterns of fetal brain damage. *Clin Microbiol Infect*. 2012;18(10):E419-E427. doi:10.1111/j.1469-0691.2012.03983.x

12. Leruez-Ville M, Stirnemann J, Sellier Y, et al. Feasibility of predicting the outcome of fetal infection with cytomegalovirus at the time of prenatal diagnosis. *Am J Obstet Gynecol*. 2016;215(3):342.e1-9. doi:10.1016/j.ajog.2016.03.052

13. Sellier Y, Marliot F, Bessières B, et al. Adaptive and Innate Immune Cells in Fetal Human Cytomegalovirus-Infected Brains. *Microorganisms*. 2020;8(2):176. doi:10.3390/microorganisms8020176

14. Kimberlin DW, Jester PM, Sánchez PJ, et al. Valganciclovir for Symptomatic Congenital Cytomegalovirus Disease. *N Engl J Med*. 2015;372(10):933-943. doi:10.1056/NEJMoa1404599

15. Contejean A, Leruez-Ville M, Treluyer JM, et al. Assessing the risk of adverse pregnancy outcomes and birth defects reporting in women exposed to ganciclovir or valganciclovir during pregnancy: a pharmacovigilance study. *J Antimicrob Chemother*. 2023;78(5):1265-1269. doi:10.1093/jac/dkad087

16. Lowance D, Neumayer HH, Legendre CM, et al. Valacyclovir for the Prevention of Cytomegalovirus Disease after Renal Transplantation. http://dx.doi.org.sirius.parisdescartes.fr/10.1056/NEJM199905133401903. doi:10.1056/NEJM199905133401903

17. Jacquemard F, Yamamoto M, Costa JM, et al. Maternal administration of valaciclovir in symptomatic intrauterine cytomegalovirus infection. *BJOG Int J Obstet Gynaecol*. 2007;114(9):1113-1121. doi:10.1111/j.1471-0528.2007.01308.x

18. Faure-Bardon V, Bouazza N, Benaboud S, et al. Quantification of maternal and fetal valaciclovir exposure in a pharmacokinetic study of cytomegalovirus-infected pregnant women treated to prevent vertical transmission. *J Antimicrob Chemother*. Published online January 15, 2025:dkae470. doi:10.1093/jac/dkae470

19. Pasternak B, Hviid A. Use of acyclovir, valacyclovir, and famciclovir in the first trimester of pregnancy and the risk of birth defects. *JAMA*. 2010;304(8):859-866. doi:10.1001/jama.2010.1206

20. Leruez-Ville M, Ghout I, Bussières L, et al. In utero treatment of congenital cytomegalovirus infection with valacyclovir in a multicenter, open-label, phase II study. *Am J Obstet Gynecol*. 2016;215(4):462.e1-462.e10. doi:10.1016/j.ajog.2016.04.003

21. Stoelben S, Arns W, Renders L, et al. Preemptive treatment of Cytomegalovirus infection in kidney transplant recipients with letermovir: results of a Phase 2a study. *Transpl Int*. 2014;27(1):77-86. doi:10.1111/tri.12225

22. Marty FM, Ljungman P, Chemaly RF, et al. Letermovir Prophylaxis for Cytomegalovirus in Hematopoietic-Cell Transplantation. *N Engl J Med*. 2017;377(25):2433-2444. doi:10.1056/NEJMoa1706640

23. PREVYMIS (letermovir) Tablets and PREVYMIS (letermovir) Injection. Accessed May 29, 2018. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2017/209939Orig1s000,209940Orig1s000TOC.cfm

24. Bardon VF, Peytavin G, Lê MP, et al. Placental transfer of Letermovir & Maribavir in the ex vivo human cotyledon perfusion model. New perspectives for in utero treatment of congenital cytomegalovirus infection. *PLOS ONE*. 2020;15(4):e0232140. doi:10.1371/journal.pone.0232140

25. Abduljalil K, Ning J, Pansari A, Pan X, Jamei M. Prediction of Maternal and Fetoplacental Concentrations of Cefazolin, Cefuroxime, and Amoxicillin during Pregnancy Using Bottom-Up Physiologically Based Pharmacokinetic Models. *Drug Metab Dispos*. 2022;50(4):386-400. doi:10.1124/dmd.121.000711

26. Roelofsen D, van Hove H, Bukkems V, Russel F, Eliesen G, Greupink R. Predicting fetal exposure of crizotinib during pregnancy: Combining human ex vivo placenta perfusion data with physiologically-based pharmacokinetic modeling. *Toxicol Vitro Int J Publ Assoc BIBRA*. 2022;85:105471. doi:10.1016/j.tiv.2022.105471

27. Seidel V, Feiterna-Sperling C, Siedentopf JP, et al. Intrauterine therapy of cytomegalovirus infection with valganciclovir: review of the literature. *Med Microbiol Immunol (Berl)*. Published online July 21, 2017. doi:10.1007/s00430-017-0512-3

28. Bourgon N, Lopez R, Fourgeaud J, et al. In utero treatment of congenital cytomegalovirus infection with valganciclovir: an observational study on safety and effectiveness. *J Antimicrob Chemother*. 2024;79(10):2500-2508. doi:10.1093/jac/dkae247

29. Shahar-Nissan K, Pardo J, Peled O, et al. Valaciclovir to prevent vertical transmission of cytomegalovirus after maternal primary infection during pregnancy: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *The Lancet*. 2020;396(10253):779-785. doi:10.1016/S0140-

6736(20)31868-7

30. Faure-Bardon V, Fourgeaud J, Stirnemann J, Leruez-Ville M, Ville Y. Secondary prevention of congenital cytomegalovirus infection with valacyclovir following maternal primary infection in early pregnancy. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2021;58(4):576-581. doi:10.1002/uog.23685

31. Chatzakis C, Shahar-nissan K, Faure-bardon V, et al. The effect of valacyclovir on secondary prevention of congenital cytomegalovirus infection, following primary maternal infection acquired periconceptionally or in the first trimester of pregnancy. An individual patient data meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol*. Published online July 18, 2023. doi:10.1016/j.ajog.2023.07.022

32. Hamilton ST, Marschall M, Rawlinson WD. Investigational Antiviral Therapy Models for the Prevention and Treatment of Congenital Cytomegalovirus Infection during Pregnancy. *Antimicrob Agents Chemother*. 2020;65(1):e01627-20. doi:10.1128/AAC.01627-20

33. Veit T, Munker D, Barton J, et al. Letermovir in lung transplant recipients with cytomegalovirus infection: A retrospective observational study. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg*. 2021;21(10):3449-3455. doi:10.1111/ajt.16718

34. von Hoerschelmann E, Münch J, Gao L, et al. Letermovir Rescue Therapy in Kidney Transplant Recipients with Refractory/Resistant CMV Disease. *J Clin Med*. 2023;13(1):100. doi:10.3390/jcm13010100

35. Bouazza N, Foissac F, Hirt D, et al. Methodological Approaches to Evaluate Fetal Drug Exposure. *Curr Pharm Des*. 2019;25(5):496-504. doi:10.2174/1381612825666190319102812

36. Abduljalil K, Furness P, Johnson TN, Rostami-Hodjegan A, Soltani H. Anatomical, Physiological and Metabolic Changes with Gestational Age during Normal Pregnancy. *Clin Pharmacokinet*. 2012;51(6):365-396. doi:10.2165/11597440-000000000-00000

37. Balhara A, Kumar AR, Unadkat JD. Predicting Human Fetal Drug Exposure Through Maternal-Fetal PBPK Modeling and In Vitro or Ex Vivo Studies. *J Clin Pharmacol*. 2022;62(S1). doi:10.1002/jcph.2117

38. Heijden JEMVD, Hove HV, Elst NMV, et al. Optimization of the betamethasone and dexamethasone dosing regimen during pregnancy: a combined placenta perfusion and pregnancy physiologically based pharmacokinetic modeling approach. *Am J Obstet Gynecol*. 2024;0(0). doi:10.1016/j.ajog.2024.05.012

39. Hudson RE, Metz TD, Ward RM, et al. Drug exposure during pregnancy: Current understanding and approaches to measure maternal-fetal drug exposure. *Front Pharmacol*.

2023;14:1111601. doi:10.3389/fphar.2023.1111601

40. Abduljalil K, Jamei M, Johnson TN. Fetal Physiologically Based Pharmacokinetic Models: Systems Information on the Growth and Composition of Fetal Organs. *Clin Pharmacokinet*. 2019;58(2):235-262. doi:10.1007/s40262-018-0685-y

Tables and Figures

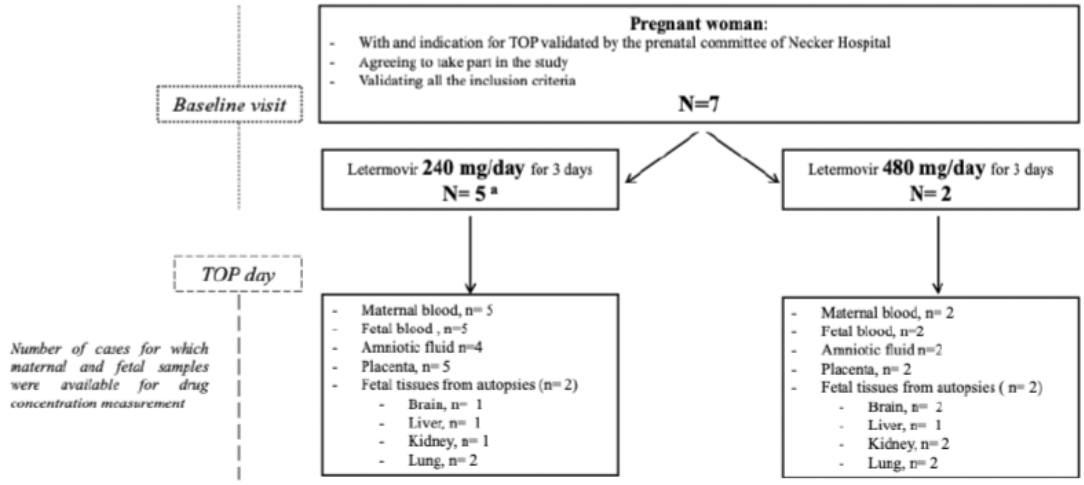
Table 1. Maternal characteristics.

Results are presented as median values, with ranges in parentheses.

	Letermovir dosages		
	All (n=7)	**240 mg/d (n=5)**	**480 mg/d (n=2)**
Maternal age (year)	38 (25, 42)	38 (26, 39)	. (25, 42)
WG at baseline visit	21 (20, 25)	21 (20, 22)	. (23, 25)
WG at TOP	22 (21, 26)	22 (21, 22)	. (24, 26)
Weight (kg)	65 (45, 100)	56 (45, 100)	. (65, 70)
Height (cm)	163 (155, 188)	164 (155, 188)	. (159, 162)
Parity	1 (0, 2)	1 (0, 2)	. (1, 1)
Gestity	2 (1, 7)	2 (1, 4)	. (2, 7)
Laboratory results			
Creatinin clearance (ml/mn/1.73m^2)	131 (89.1, 152)	131 (89.1, 152)	. (125, 147)
Creatinin (µmol/L)	45 (33, 78.8)	45 (33, 78.8)	. (42.3, 50)
Urea (mmol/L)	2.7 (1.9, 3.1)	2.7 (1.9, 3.1)	. (2.4, 2.9)
ALAT (U/L)	12 (7, 27)	12 (7, 18)	. (17, 27)
ASAT (U/L)	24 (16, 27)	24 (17, 27)	. (17, 27)
GGT (U/L)	15 (9, 19)	10 (9, 17)	. (19, 19)
Hemoglobin (g/dL)	12.1 (10.1, 12.7)	11.6 (10.1, 12.7)	. (12.1, 12.4)
Platelets counts (G/L)	249 (222, 352)	249 (222, 345)	. (222, 352)

Abbreviations :ALAT : Alanine aminotransferase ; ASAT : aspartate aminotransferase, GGT : Gamma-Glutamyl Transferase ; TOP : Termination of pregnancy ; WG : weeks of gestation

Figure 1 – Flow chart showing the population included and the number of samples available for pharmacological analysis according to the letermovir dosage allocated.



Abbreviations : TOP : Termination of pregnancy

[a]1 pregnant woman was treated for only 2 days because she went into labour during the night before taking the 3rd dose.

Figure 2 . Results of letermovir concentration assays from *in vivo* fetal blood plasma sampling (white dots) and obtained by simulation (PBPK modelling) according to the dose of letermovir taken during the 3 days prior to TOP (240 or 480 mg once daily).

The shadded area correspond to the 5th and 95th simulated percentiles.

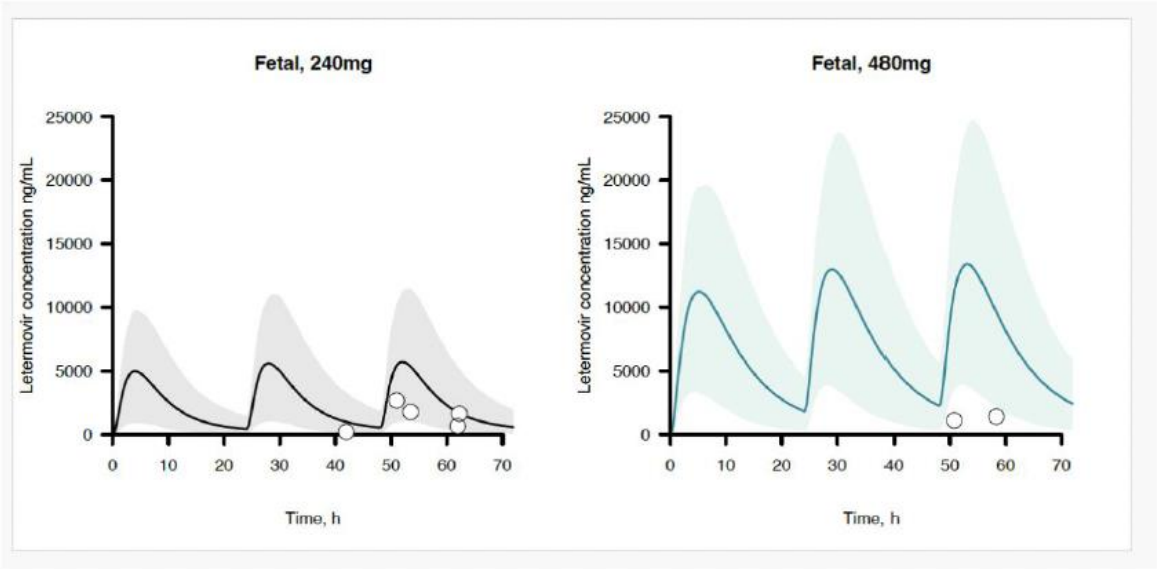


Figure 3. Results of letermovir concentration assays carried out on *in vivo* key-tissues (white dots) and obtained by simulation (PBPK modelling) according to the dose of letermovir taken during the 3 days prior to TOP (240 or 480 mg once daily).

The shadded area correspond to the 5th and 95th simulated percentiles.

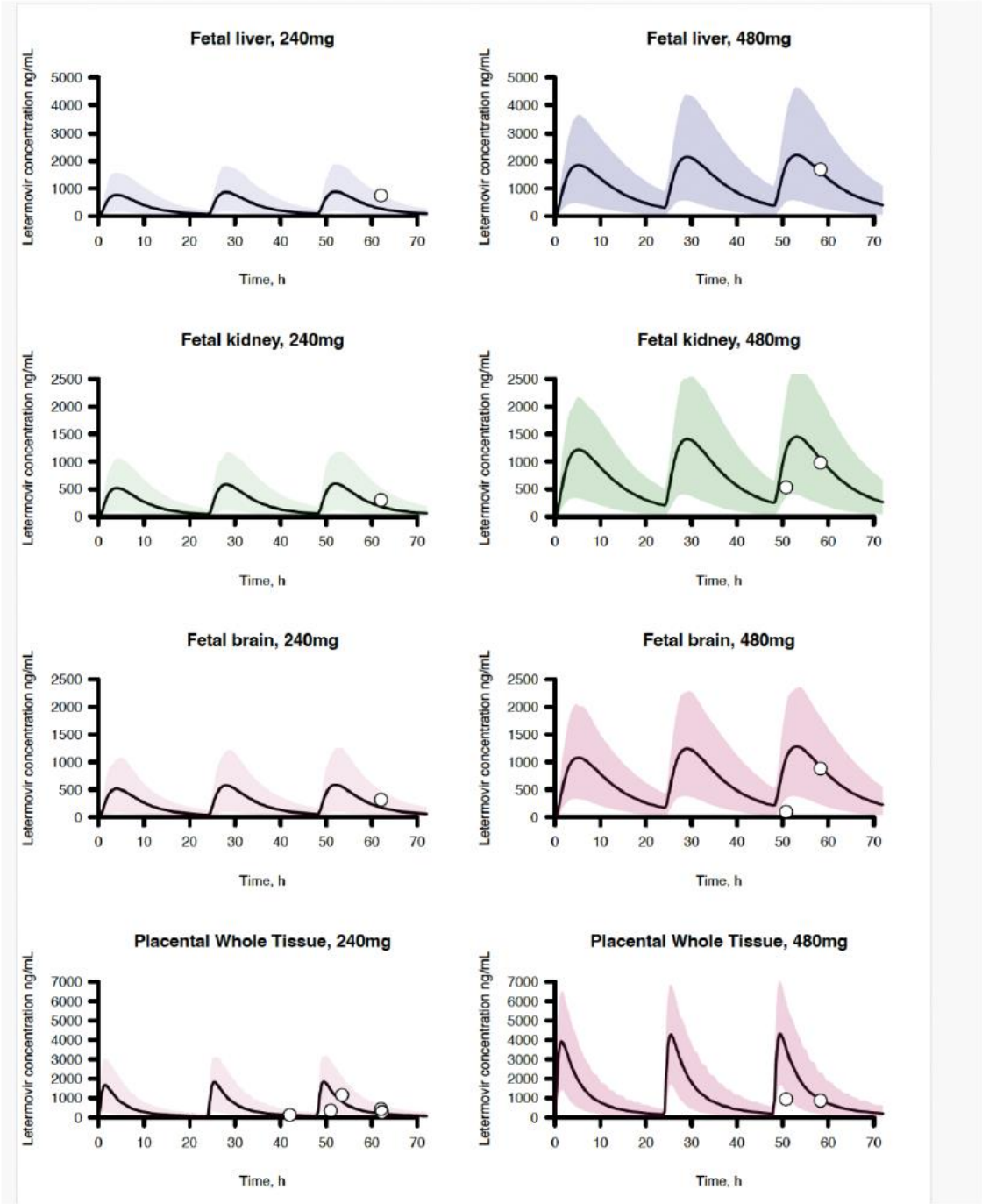
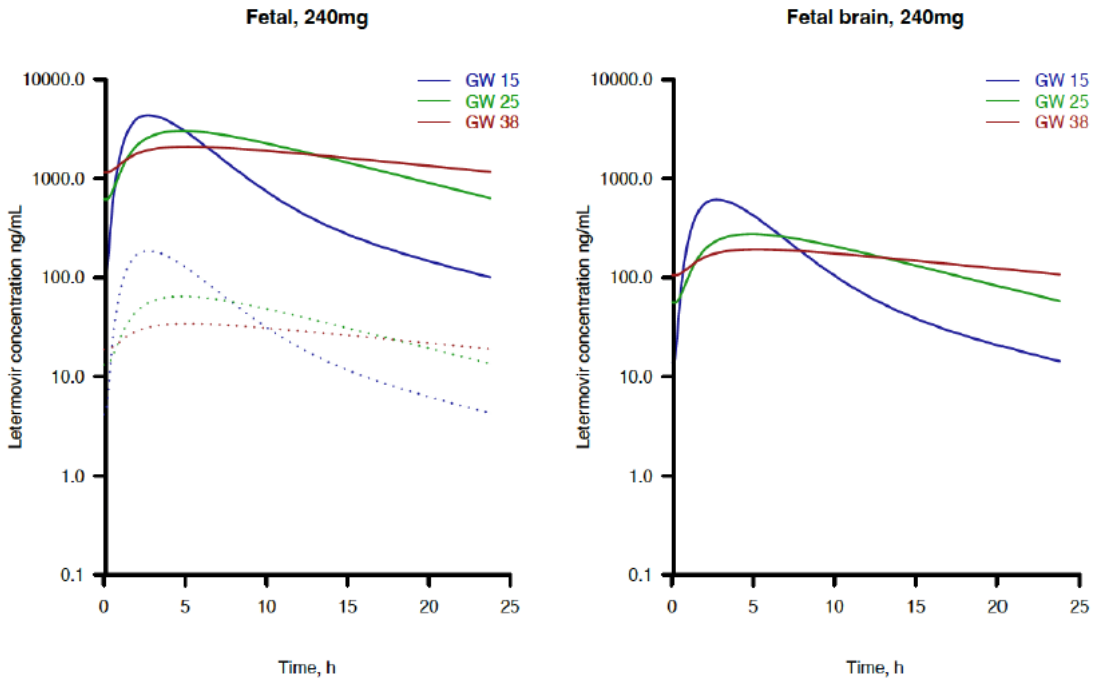


Figure 4 Simulation of concentrations obtained after daily maternal intake of 240 mg/day letermovir at different stages of pregnancy (15, 25 and 38 weeks) in fetal blood plasma (right) and brain (left). Simulation results in fetal blood are given here for the free (dotted lines) and total (solid line) fraction of letermovir .



Abbreviations : WG : weeks of gestation

Supplementary Tables and Figures

Figure S1: Protocol for the management of temination of pregnancy (TOP) for fetal abnormalities in Necker: Procedures and treatments associated with standard care and those added by the study.

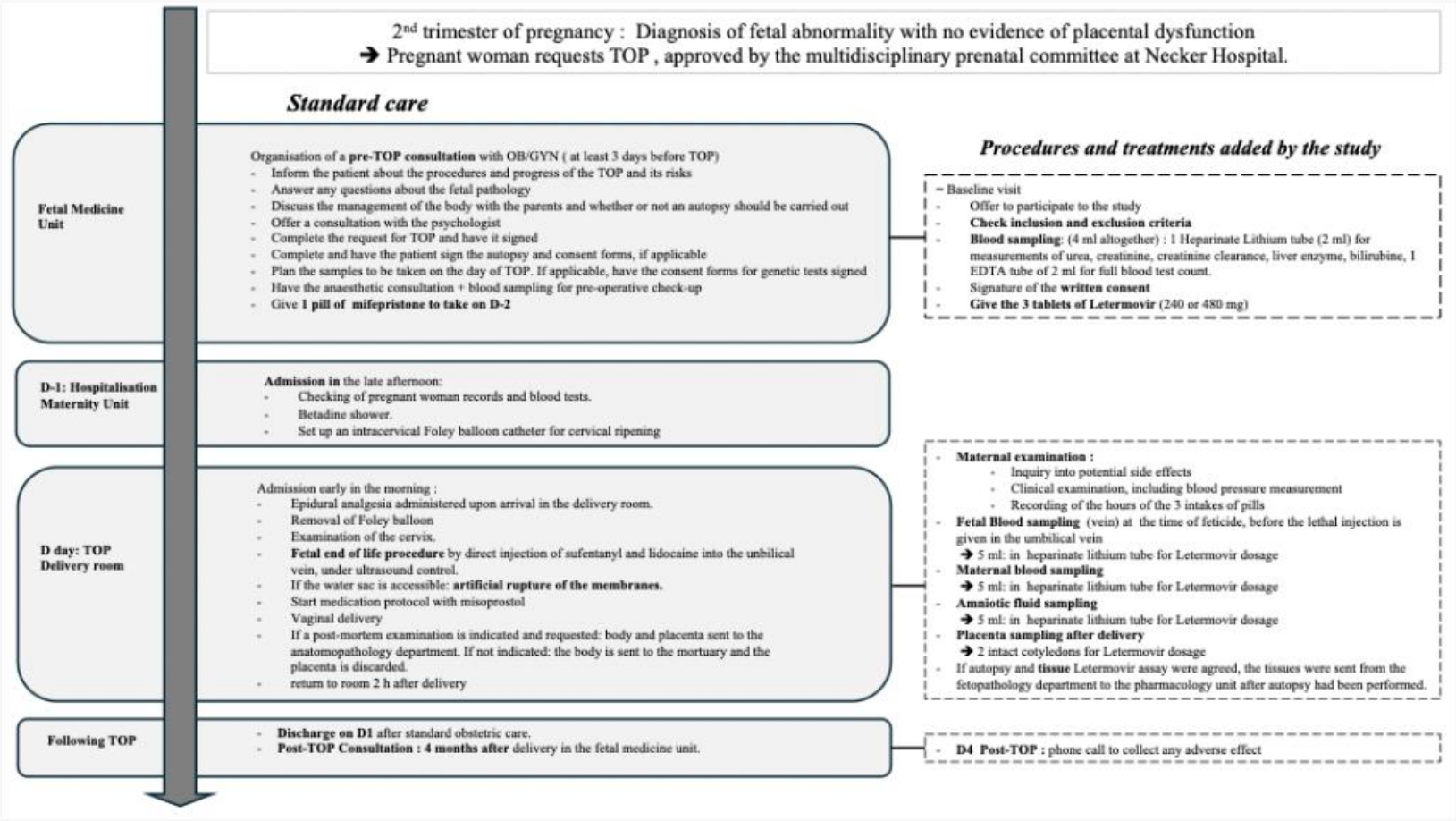
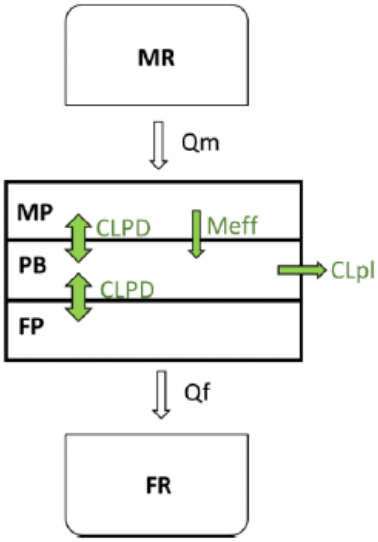


Figure S2 : Schematic representation of the physiologically-based mechanistic placenta model. The model was derived to estimate letermovir transfer parameters based on ex vivo perfusions data, in an open-circuit model.



Abbreviations and units: MR, maternal reservoir; MP, maternal part of the placenta; PB, placental barrier; FP, fetal part of the placenta; FR = fetal reservoir; Q_m, maternal blood flow; Q_f, fetal blood flow; CLPD, intrinsic unbound passive diffusion clearance (L/h/cotyledon) ; M_{eff}, intrinsic unbound clearance from the maternal part of the placenta to the placental barrier (L/h/cotyledon); CL_{pl}, placental clearance (L/h/cotyledon).

Table S1 Input Simcyp PBPK parameters

Compound Name	Letermovir
Molecule Type	Small Molecule
Route	Oral
PhysChem and Blood Binding	
Mol Weight (g/mol)	572.565
log P	6.013
Compound Type	Ampholyte
pKa 1	3.900
pKa 2	7.200
Extended Clearance Classification System	Class 1B - Hepatic Uptake
BP input type	User
B/P	0.560
Haematocrit	45.000
fu Input	User
fu	0.013
Reference Binding Component	HSA
Protein Reference Conc (g/L)	45.000
% Bound to Lipoprotein	0.000
% Bound to Lipoprotein (CV %)	0.000
Absorption	
Absorption Model	ADAM
Use UBL fluid volumes	No
fu(Gut) input type	User
fu(Gut)	0.100
Peff.man Type	Global
Peff.man Cap (10-4 cm/s)	12.000
Permeability Assay	Physicochemical
PSA(Å²)	77.800
HBD	1.000

Distribution	
Distribution Model	Full PBPK Model
Prediction Method	Method 2
Elimination	
Clearance Type	Enzyme Kinetics
In vitro metabolic system	HLM
Pathway	Pathway 1
Enzyme	UGT1A1
Vmax (pmol/min/mg protein)	64.000
Km (µM)	29.500
fu mic	0.128
Additional placenta CL (L/h/mL of placental volume)	0.207
Additional HLM CLint (µL/min/mg protein)	10.000
Biliary CLint (Hep) (µL/min/10^6)	20.000
CYPs and/or UGTs Interaction	
Enzyme	CYP2C8
Ki (µM)	0.220
fu mic	0.500
MIA (pmol/mg microsomal protein)	56.472
Enzyme	CYP3A4
MBI Kapp (µM)	35.000
MBI Kinact (1/h)	2.838
MBI fu mic	0.500
Ind max	8.200
CV (%)	30.000
MIA (pmol/mg microsomal protein)	2059.192
Ind C50 (µM)	1.900
CV (%)	30.000

fu inc	1.000
γ	1.000
Transporters Interaction	
Organ/Tissue	*Liver*
Transporter	SLCO1B1 (OATP1B1)
Ki (µM)	0.209
fuinc (Ki)	1.000
Transporter	SLCO1B3 (OATP1B3)
Ki (µM)	0.033
fuinc (Ki)	1.000
Organ/Tissue	Liver
Model	PerL
CL_{PD}*(mL/min/10^6 cells)*	0.050
Drug concentration for passive permeability	Unbound (ionised and unionised)
Organ/Tissue	Liver
Transporter	SLCO1B1 (OATP1B1)
Location	Sinusoidal
Function	Influx
Jmax (pmol/min/million cells)	54.770
Km (µM)	0.209
fuinc	1.000
Transporter	SLCO1B3 (OATP1B3)
Location	Sinusoidal
Function	Influx
Jmax (pmol/min/million cells)	39.770
Km (µM)	0.033
fuinc	1.000
Placental-permeability limited model	

CL_{PDM} (L/h/mL of placenta volume) scaled from ex-vivo experiments	0.003
CL_{PDF} (L/h/mL of placenta volume) scaled from ex-vivo experiments	0.003
Organ/Tissue	Placenta
Transporter	Uptake (Maternal-Placenta)
Location	Apical
Function	Influx
CLint.T (µL/min/mL placenta) scaled from ex-vivo experiments	6738.000

Table S2 Estimation of the population parameters from ex-vivo experiments

	Estimate	*Relative standard error (%)*
CLPD (l/h/cotyledon)	0.0791	17
Meff (l/h/cotyledon)	28.3	0.249
Clpl (l/h/cotyledon)	4.65	0.116

Figure S3. Results of letermovir concentration assays (maternal blood plasma. amniotic fluid and lung tissues) carried out *in vivo* (white dots) and obtained by simulation (PBPK modelling) according to the dose of letermovir taken during the 3 days prior to TOP (240 or 480 mg once daily).

The shadded area correspond to the 5th and 95th simulated percentiles.

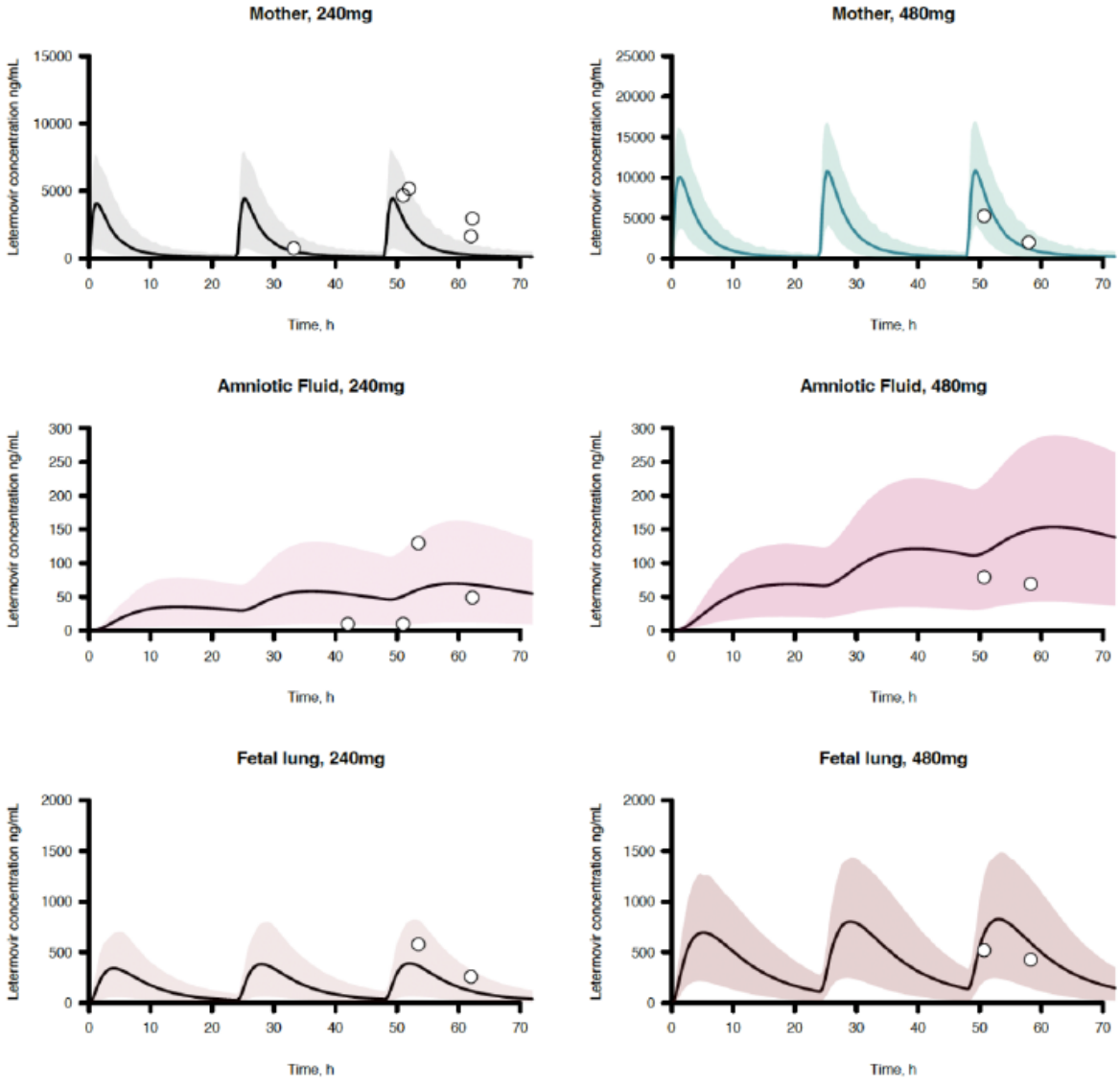
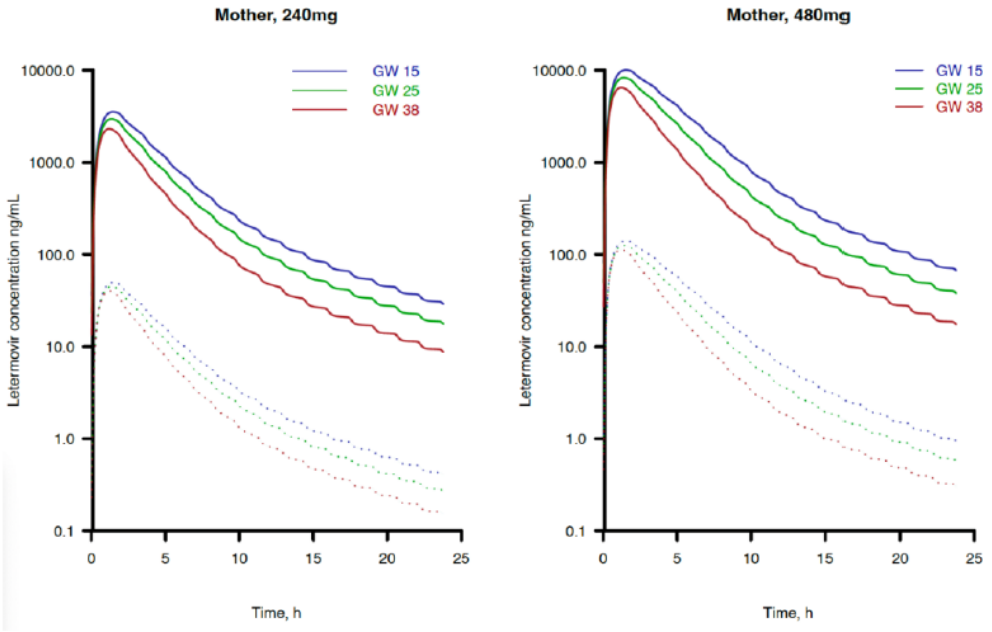


Figure S4 .Simulation of maternal blood plasma concentrations obtained after daily intake of 240 or 480 mg/day of letermovir at different stages of pregnancy (15, 25 and 38 weeks'). Simulation results are given here for the free (dotted lines) and total (solid line) fraction of letermovir.



Abbreviations : GW : weeks of gestation

Table S3 : Maternal fetal and tissue concentrations (ng/mL) according to letermovir dosages for each case. The time interval (in hours) between the last letermovir dose and the maternal and fetal blood sample is also indicated.

Daily Dosages	Pregnant Women	Maternal Blood		Fetal Blood		Amniotic Fluid	Placenta	Fetal Brain	Fetal Liver	Fetal Kidney	Fetal Lung
		(c)	Time	(c)	Time	(c)	(c)	(c)	(c)	(c)	(c)
240 mg	**Case 1**	820	9.3	270	18.0	10	140	NA	NA	NA	NA
	Case 2	5200	4.0	1800	5.5	130	1180	NA	NA	NA	580
	Case 3	4730	3.0	2720	3.0	10	380	NA	NA	NA	NA
	Case 4	3000	14.3	1660	14.3	50	290	NA	NA	NA	NA
	Case 5	1670	14.0	720	14.0	NA*	450	320	760	310	260
	Total (median value)	**3000**	**9.3**	**1660**	**14.0**	**50**	**380**	**320**	**760**	**310**	**420**
480 mg	**Case 6**	2100	10.0	1430	10.3	70	870	880	1700	990	430
	Case 7	5270	2.8	1170	2.8	80	940	100	NA	530	520
	Total (median value)	**3685**	**6.4**	**1300**	**6.5**	**75**	**905**	**490**	**1700**	**760**	**475**

Abbreviation : (c): concentration. NA: Not available (autopsy and/or assay of letermovir concentration in fetal tissue have not been performed)

*this sample could not be analyzed due to blood contamination reported by the laboratory.

4. Analyse des risques liés à l'exposition *in utero* au VACV à haute dose (*projet en cours*).

a. Contexte général du projet

Depuis **fin 2019** – date à laquelle les résultats préliminaires de Shahar Nissan ont été présentés [65] – le **VACV à forte dose (8 g/jour) est utilisé en France de manière encadrée**, mais hors recommandations officielles, pour réduire le risque de transmission materno-foetale du CMV. Il est initié en cas de séroconversion maternelle identifiée par dépistage sérologique et maintenu jusqu'à la réalisation du diagnostic fœtal obtenu par amniocentèse. Face à ces résultats, **plusieurs pays européens ont déjà intégré cette approche à leurs politiques de santé publique** et l'Initiative Européenne sur le Cytomégalovirus Congénital (ECCI) a aussi émis des recommandations dans ce sens en 2024[66]. En France, en l'absence de cadre national formalisé, certains Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal (CPDPN) prescrivent le VACV dans cette indication, tandis que d'autres préfèrent attendre un positionnement institutionnel, du fait notamment du **dosage élevé et du manque de données consolidées sur son innocuité** à cette posologie et sur une durée prolongée pendant la grossesse qui intègre l'organogènese.

Aussi, depuis 2012, certains CPDPN français recommandent d'initier – ou de poursuivre - le traitement par VACV 8g/j en cas d'infection fœtale prouvée par amniocentèse forts des résultats de l'étude de phase 2 précédemment mentionnée[38]. Dans ce contexte d'infection congénitale le traitement est alors poursuivi jusqu'à l'accouchement, l'objectif étant de réduire le risque de symptômes chez le fœtus atteint et donc de séquelles chez l'enfant en devenir.

b. Enjeux de sécurité d'emploi

Le **VACV est considéré comme sûr pendant la grossesse**, notamment dans les indications à faibles doses comme dans l'herpès[67]. En effet, plus de 1 500 grossesses exposées en premier trimestre n'ont montré aucune augmentation des malformations , et une grande étude

danoise (n = 229 expositions) rapporte un taux de malformations similaire à la population générale (POR = 1,21 ; IC95 % 0,56–2,62) [59,68].

En revanche, **aucune étude n'a évalué la sécurité d'emploi à forte dose (8 g/jour) sur des durées prolongées**. En effet , dans l'indication de prévention de la transmission fœtale du CMV la durée moyenne de traitement est de 60 jours [69] (correspondant à une **dose cumulée d'environ 480 g)** et essentiellement au premier trimestre de la grossesse correspondant à l'organogénèse. Dans l'indication de prévention du risque de séquelles chez le fœtus infecté la durée moyenne de traitement est d'environ 89 jours (**dose cumulée 712g**)[38] mais cette exposition est encore plus longue et couvre les 3 trimestres de la grossesse chez les femmes enceintes qui ont transmis le virus malgré la prise précoce de VACV 8g/J (environ 10%[69]) .

c. Questions de recherche

Les questions de recherche qui ont motivé l'élaboration de ce projet sont les suivantes :

- Quels sont les **risques tératogènes et foetotoxique**s chez les nourrissons exposés *in utero* au VACV 8 g/jour pour le CMV, par rapport aux nourrissons non exposés, compte tenu du moment de l'exposition (1er, 2e/3e trimestre) ?

- Quels sont les risques d'autres **effets indésirables** de la grossesse, de la période périnatale et postnatale (jusqu'à 2 ans, par exemple : perte auditive, problèmes de développement neurologique) associés à une exposition *in utero* au VACV à 8 g/jour pour le CMV ?

- Pouvons-nous **différencier les résultats** potentiellement attribuables au **VACV** de ceux attribuables à **l'infection congénitale à CMV** elle-même ?

- Quel est le **profil des femmes** recevant du VACV 8g/jour pour le CMV pendant la grossesse en France ?

d. Travail (4). Étude en cours : Analyse des risques tératogènes, fœtotoxiques et maternels liés à l'exposition *in utero* au VACV à haute dose pendant la grossesse dans le contexte du CMV congénital dans une étude pharmaco-épidémiologique basée sur les données du SNDS avec chaînage mère-enfant.

L'objectif principal du projet est d'évaluer le risque de malformations congénitales majeures après exposition *in utero* au VACV à forte dose. Les **objectifs secondaires** incluent l'analyse des complications maternelles et obstétricales, l'évaluation des complications néonatales et du suivi à 2 ans (notamment sur le plan neuro-auditif), l'étude de la prévalence de l'infection congénitale à CMV, ainsi que l'établissement de données épidémiologiques sur les pratiques de dépistage et de prescription en France.

L'étude reposera sur **l'exploitation du SNDS,** permettant une analyse exhaustive à l'échelle de la population française. Le groupe d'exposition sera constitué des femmes enceintes ayant reçu du VACV à forte dose, comparé à un **groupe contrôle** non-exposé à des traitements tératogènes connus et non concerné par l'infection congénitale à CMV. Le **critère principal d'évaluation** sera la prévalence des malformations congénitales chez les enfants exposés *in utero* versus non exposés selon la classification EUROCAT (European Surveillance of Congenital Anomalies).

Les résultats attendus fourniront des **données inédites sur la sécurité du VACV** à forte dose pendant les trois trimestres de la grossesse, dans des **conditions réelles d'utilisation**. Ces éléments seront essentiels pour **informer les autorités sanitaires** (HAS, ANSM…) dans le cadre de l'évaluation d'une politique de dépistage systématique nationale du CMV et de traitement antiviral préventif. Ce d'autant que la HAS a émis, par un communiqué de presse le 17 juin 2025, une recommandation de dépistage systématique pour les femmes enceintes, décision qui sera réévaluée après 3 ans de mise en œuvre.

Le projet vient ainsi répondre à un besoin critique de données en vie réelle de pharmacoépidémiologie pour guider les pratiques et sécuriser l'usage d'un antiviral en voie de diffusion croissante dans une population sensible. **En cas de résultats rassurants, cette étude pourrait contribuer à l'intégration de cette stratégie** dans les recommandations nationales,

avec un impact direct sur la prévention des séquelles auditives et neurologiques liées au CMV congénital. À l'inverse, tout signal de risque permettrait une révision rapide des pratiques actuelles.

e. État des lieux du projet

La gestion et coordination du projet ainsi que les procédures réglementaires ont été établis. Le projet est actuellement à l'étape de la **définition exacte de la cohorte et de l'extraction des données.** L'analyse statistique devrait être réalisée d'ici la fin 2025.

.

C. Achondroplasie fœtale : histoire naturelle et perspectives de traitement *in utero* pour correction du phénotype

1. Histoire naturelle

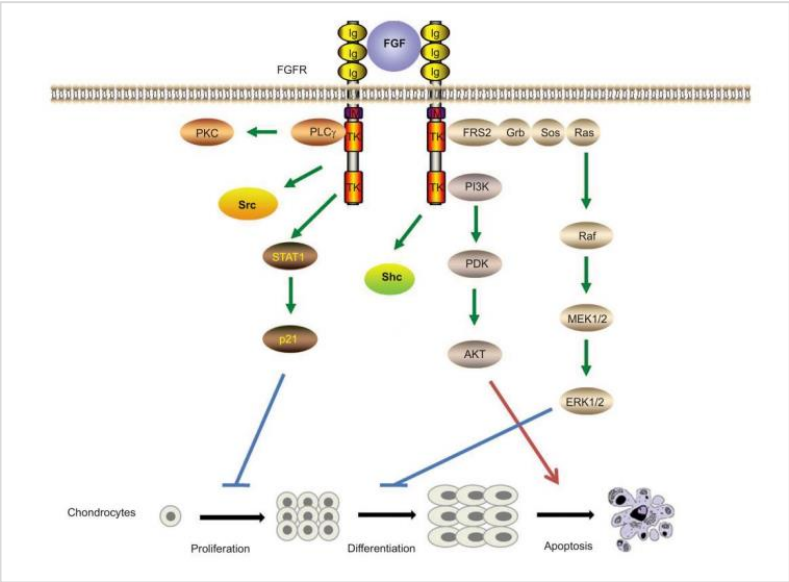
a. Physiopathologie et épidémiologie

L'ACH est une dysplasie squelettique viable et est la forme la plus courante de nanisme. Son incidence est d'environ une personne sur 25 000 et touche environ 250 000 personnes dans le monde [71]. Elle est due à une mutation du gène du récepteur 3 du facteur de croissance des fibroblastes (FGFR3). Dans 99 % des cas, l' ACH est causée par une **mutation ponctuelle récurrente du gène FGFR3**, localisé dans la région télomérique du chromosome 4 (4p 16.3) , correspondant à une mutation faux-sens : une substitution de guanine (G) par adénine (A) en position **c.1138G>A** sur l'exon 10 (3,4). Cette mutation entraîne le remplacement de la glycine par une arginine au codon 380 de la protéine (**p. Gly380Arg**). Elle induit une activation constitutive du récepteur FGFR3, perturbant ainsi les mécanismes de régulation de la croissance osseuse. Dans environ 80 % des cas, cette mutation survient de novo, le plus souvent au cours de la spermatogenèse, avec une incidence augmentant avec l'âge paternel [74]. **L'hyperactivité de FGFR3 altère la croissance du cartilage de conjugaison en inhibant la prolifération et la différenciation des chondrocytes**, ce qui compromet le processus d'ossification endochondrale et conduit au phénotype caractéristique de l'ACH.

b. Cascade de FGFR3

La mutation gain de fonction du gène FGFR3 entraîne une activation constitutive du récepteur, indépendamment de la fixation de son ligand FGF (Figure 8).

Figure 8 représentation des différentes voies de signalisation activés par la liaison du ligand FGF à son récepteur le FGFR3 dans les cellules chondrocytaires [75,76]



Cette activation anormale déclenche une cascade intracellulaire déséquilibrée, principalement via **la voie MAPK** (Mitogen-Activated Protein Kinase) (Ras–Raf–MEK–ERK1/2), qui inhibe la prolifération et la différenciation des chondrocytes. Plus précisément, la cascade MAPK **retarde la transition des chondrocytes prolifératifs vers les chondrocytes hypertrophiques**, essentiels à l'ossification endochondrale, perturbant ainsi la progression normale du cartilage de croissance.

Parallèlement, **la voie STAT1** (Signal Transducer and Activator of Transcription 1) est activée, induisant l'expression de la protéine p21, un inhibiteur du cycle cellulaire, ce qui renforce encore **la réduction de la prolifération cellulaire**.

La **voie PI3K/AKT** (Phosphoinositide 3-kinase/ Protein kinase B), qui est normalement impliquée dans la survie des chondrocytes en inhibant l'apoptose, est également affectée. Bien que cette voie soit activée par FGFR3, son fonctionnement est perturbé dans l'ACH, probablement en raison d'une interférence négative de la voie MAPK ou d'un déséquilibre global de la signalisation intracellulaire. Il en résulte une diminution de l'activité d'AKT, **affaiblissant sa capacité à prévenir l'apoptose**. Ce mécanisme contribue ainsi à une perte excessive de chondrocytes dans le cartilage de croissance, en plus du ralentissement de leur renouvellement. D'autres voies, telles que PLCγ/PKC (Phospholipase C gamma / Protein

kinase C) , peuvent aussi être mobilisées, mais leur implication reste secondaire dans ce contexte.

L'ensemble de ces dérèglements — entre **prolifération freinée, différenciation altérée et apoptose accrue** — conduit à une **inhibition marquée de l'ossification** endochondrale, à l'origine du raccourcissement disproportionné des os longs et des autres manifestations squelettiques de l'ACH[75,76].

2. Évolution post-natale

a. Complications post natales

Le phénotype de cette maladie est hautement variable. La taille adulte moyenne attendue est d'environ **130 cm chez les hommes** (fourchette : 120–145 cm) et **125 cm chez les femmes** (fourchette : 115–137 cm), selon des courbes de croissance spécifiques à la pathologie [77]. Les autres signes cliniques majeurs incluent un raccourcissement rhizomélique des membres, une macrocrânie, un bombement frontal, une hypoplasie du massif facial moyen, un thorax étroit et des mains en trident avec des doigts courts [71,74].

Ces anomalies osseuses peuvent entraîner des **complications sévères** chez l'enfant, telles qu'une cyphose thoraco-lombaire, des troubles respiratoires du sommeil ou encore une compression médullaire au niveau du foramen magnum, potentiellement mortelle [78].

Toutes ces complications médicales graves s'ajoutent à la petite taille disproportionnée qui caractérise l'ACH, et qui constitue en elle-même une source de **limitations fonctionnelles** importantes ainsi que **d'impacts psychologiques** significatifs sur la qualité de vie. Une étude américaine a notamment montré que **56 % des adultes** ACH présentaient un **trouble psychiatrique** diagnostiqué, et affichaient des scores de bien-être physique et mental significativement inférieurs à ceux observés dans la population générale [79,80].

Il est désormais recommandé de dépister systématiquement l'ensemble de ces complications dès les premiers mois de vie, afin de les prévenir et de les prendre en charge précocement par des aides adaptées, ainsi que par des traitements médicaux et/ou chirurgicaux[11,81].

b. Sténose du foramen magnum dans l'ACH : enjeux pronostiques, recommandations actuelles et place de l'IRM dans le dépistage

iv. Enjeux pronostiques et recommandations actuelles de dépistage

Chez les patients atteints d'ACH, la région de **la charnière occipito-cervicale** représente un site critique sur le plan du pronostic. En raison d'une ossification endochondrale anormale, le foramen magnum présente fréquemment une **dysplasie** responsable d'une sténose du canal osseux. Cette anomalie anatomique peut conduire à une **compression cervico-médullaire sévère**, source de complications engageant le pronostic vital, telles que l'insuffisance respiratoire centrale ou la mort subite du nourrisson. **L'âge moyen d'apparition** des premiers symptômes est d'environ **six mois**[77,82].

Face à ces risques, les recommandations cliniques ont évolué. Alors qu'auparavant l'approche reposait sur la polysomnographie associée à un examen neurologique et, éventuellement, une imagerie ciblée, les dernières directives préconisent désormais la réalisation d'une IRM cérébro-médullaire systématique chez les nourrissons atteints d'ACH. Cette recommandation est notamment soutenue par l'European Society of Pediatric Radiology et l'American Academy of Pediatrics[83,84]. Bien qu'aucun consensus ne soit encore établi concernant l'âge exact de réalisation, la plupart des études suggèrent une fenêtre autour de six mois [11,81].

Ces nouvelles orientations soulignent l'importance d'une **démarche proactive de dépistage systématique** de la sténose du foramen magnum afin d'en prévenir les conséquences neurologiques et respiratoires les plus graves.

v. Place de l'IRM dans le dépistage

L'IRM est aujourd'hui considérée comme **l'examen de dépistage de référence** en postnatal pour évaluer la sténose du foramen magnum chez les nourrissons [11,81]. Toutefois, cet examen présente **plusieurs limites pratiques et cliniques chez le nourrisson** : l'acquisition d'images de qualité nécessite souvent une sédation, ce qui soulève des contraintes logistiques et éthiques. De plus, de nombreux enfants sont perdus de vue avant que le dépistage ne soit réalisé. Enfin, en l'absence de signes cliniques évocateurs, il n'existe actuellement aucune

recommandation officielle établissant une **corrélation entre le degré de sténose à l'IRM et l'indication neurochirurgicale de décompression.**

Face à cette incertitude, la décision d'intervention chirurgicale repose le plus souvent sur l'évaluation par un staff multidisciplinaire associant pédiatres, radiologues, neurologues et neurochirurgiens. Dans ce contexte, une étude prospective menée par Cheung et al. a proposé une échelle de stadification radiologique : **l'Achondroplasia Foramen Magnum Score** (AFMS) [85,86]. Cette classification repose sur l'analyse IRM de 36 nourrissons âgés en moyenne de 7 mois (± 4 mois). Chez 50 % des nourrissons, une compression médullaire a été objectivée, alors même que 94 % d'entre eux (9 sur 36) présentaient un examen neurologique clinique normal. Parmi eux, 25 % de la cohorte totale ont bénéficié d'une décompression chirurgicale du foramen magnum, notamment 44 % des patients classés AFMS3 ou AFMS4, stades correspondant à une réduction marquée de l'espace du Liquide Céphalo Rachidien (LCR) ou à des signes de compression médullaire.

Ces données soulignent l'importance d'un dépistage systématique et standardisé, et appellent à affiner les critères d'indication opératoire sur la base de l'imagerie, même en l'absence de signes neurologiques manifestes. Dans ce contexte, **la question de la faisabilité d'un dépistage anténatal** par imagerie fœtale se pose. Une telle évaluation précoce permettrait potentiellement d'anticiper les prises en charge spécialisées, et d'optimiser le parcours de soins postnatal, en contournant certaines des limites rencontrées avec l'IRM chez le nourrisson.

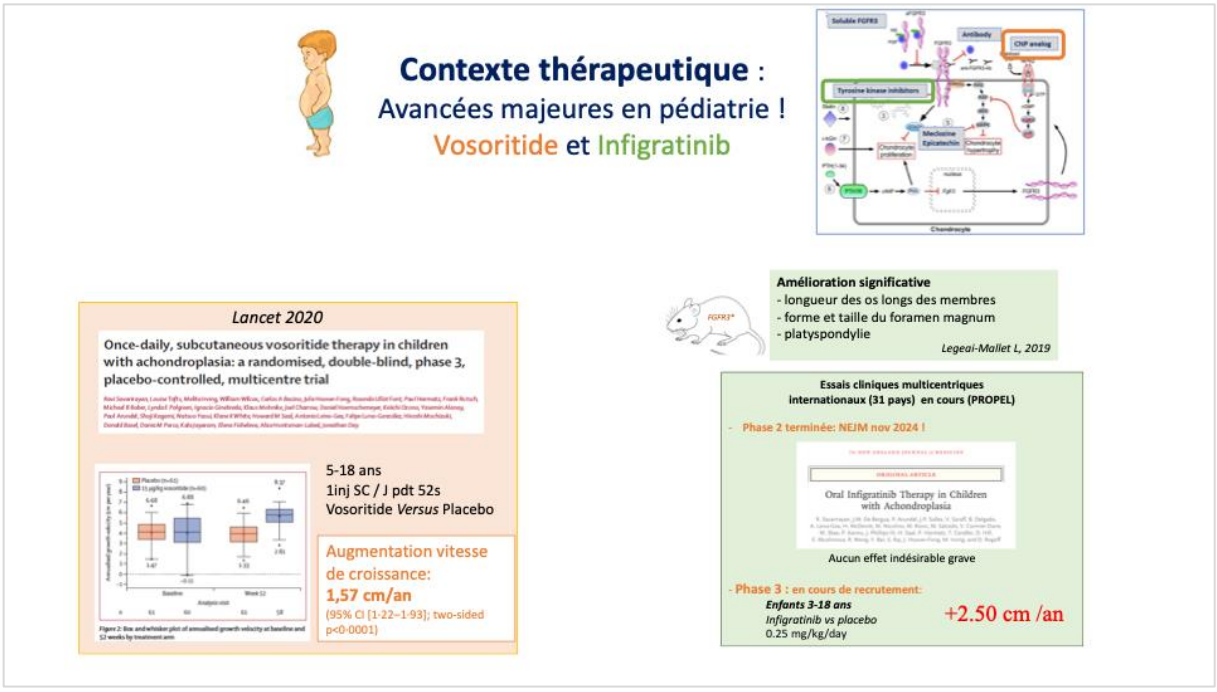
c. Traitement de l'enfant atteint

i. Stratégies thérapeutiques

Différentes stratégies thérapeutiques potentielles sont apparues ces dernières années pour l'ACH [87]. Elles ont pour but de **réduire l'activité excessive du FGFR3 et de ses voies de signalisation, de restaurer la croissance des os longs et de limiter la survenue d'autres complications osseuses comme la sténose du foramen magnum.** Ces traitements sont initiés, dans les études actuelles, chez l'enfant très jeune, dès les premiers mois de vie.

Deux molécules sont notamment avancées en terme de recherche chez le jeune enfant : l'infigratinib et le vosoritide chacun agissant à des niveaux distincts de la cascade de signalisation du FGFR3[16,88–90].

Figure 9 : Résultats des études cliniques montrant l'efficacité du vosoritide et de l'infigratinib en pédiatrie



ii. Infigratinib

L'infigratinib est un inhibiteur sélectif de l'activité tyrosine kinase des récepteurs FGFR1 à FGFR3 [91 92]. Il bloque la phosphorylation de FGFR et atténue l'activation de ses voies de signalisation **en aval**, offrant ainsi une option thérapeutique ciblée contre l'hyperactivité de FGFR3 dans l'ACH [87].

Des études de preuve de concept menées chez des modèles murins d'ACH ont démontré qu'une faible dose d'infigratinib inhibe l'activation de FGFR3, restaure la prolifération des chondrocytes, et favorise la croissance des os aussi bien appendiculaires qu'axiaux. Ces effets s'accompagnent également d'une amélioration du développement crâniofacial et d'un élargissement significatif du foramen magnum [93].

Plus récemment, en novembre 2024, un essai clinique de phase 2 (PROPEL 2) mené chez des enfants atteints d'ACH âgés **de 3 à 11 ans** a montré qu'une administration orale quotidienne d'infigratinib à la dose de 0,25 mg/kg/jour entraînait une **augmentation de la vitesse de croissance annuelle, avec une hausse moyenne de +2,5 cm/an** entre le début du traitement et le suivi à 18 mois. L'étude a également rapporté une diminution du ratio segment supérieur/segment inférieur du corps, sans effets indésirables graves observés chez les enfants traités [88]. Un essai clinique de phase 3 est actuellement en cours de recrutement (clinicaltrials.gov, NCT06164951) [94(p3)].

L'infigratinib a reçu l'agrément de l'European Medicines Agency en août 2021 pour une population d'enfants atteints d'ACH depuis la naissance jusqu'à l'âge de 18 ans [95].

iii. Vosoritide

Le vosoritide est un peptide natriurétique de type C modifié (CNP). La liaison à son récepteur antagonise la **signalisation en aval** du FGFR3 en inhibant les kinases 1 et 2. Il agit ainsi comme un régulateur positif de la croissance osseuse endochondrale en favorisant la prolifération et la différentiation des chondrocytes [96].

Des études menées sur des souris et des singes ont montré une augmentation de la croissance du squelette axial et appendiculaire, des os longs ainsi qu'une dilatation du canal vertébral lombaire [97]. Chez les souris, une améliorations des caractéristiques cliniques du nanisme ont aussi été retrouvées [98].

Chez l'Homme, **un essai clinique de phase 3** a comparé des injections sous-cutanées de vosoritide (15 µg/kg) une fois par jour à un placebo chez 121 patients âgés de 5 à 18 ans pendant 52 semaines [99]. La vitesse de croissance moyenne dans le groupe vosoritide était de 1,71 cm par an en comparaison avec un gain de 0,13 cm par an dans le groupe placebo, avec une différence significative de **+ 1,57 cm par an** en faveur du vosoritide. L'effet sur la taille finale à l'âge adulte est en cours d'évaluation (NCT03424018). D'autres études sont aussi en cours notamment pour évaluer l'efficacité du vosoritide dans la réduction de la sténose du foramen magnum (NCT0455494).

Le vosoritide est actuellement la seule thérapie à avoir obtenu l'autorisation de mise sur le marché (AMM) en 2021 comme traitement de première intention chez les patients ≥ 2 ans atteints d'ACH et encore plus récemment pour les nourrissons de plus de 3 mois (dès la naissance aux Etats-Unis) [90,96,100,101] .

3. Travaux de thèse réalisés en collaboration avec les équipes de l'Institut Imagine (Paris), pionnières au niveau international dans le domaine de la recherche fondamentale sur l'ACH.

a. Partenariat avec le laboratoire « Bases moléculaires et physiopathologiques des ostéochondrodysplasies » (Inserm / Université Paris Cité),

Depuis la mise en évidence de l'implication du gène FGFR3 dans l'ACH en 1994, les avancées en génétique moléculaire ont permis de mieux comprendre les mécanismes physiopathologiques à l'origine de cette dysplasie osseuse. Cette découverte majeure, à laquelle a contribué le Dr Laurence Legeai-Mallet, marque un tournant dans la recherche sur les ostéochondrodysplasies.

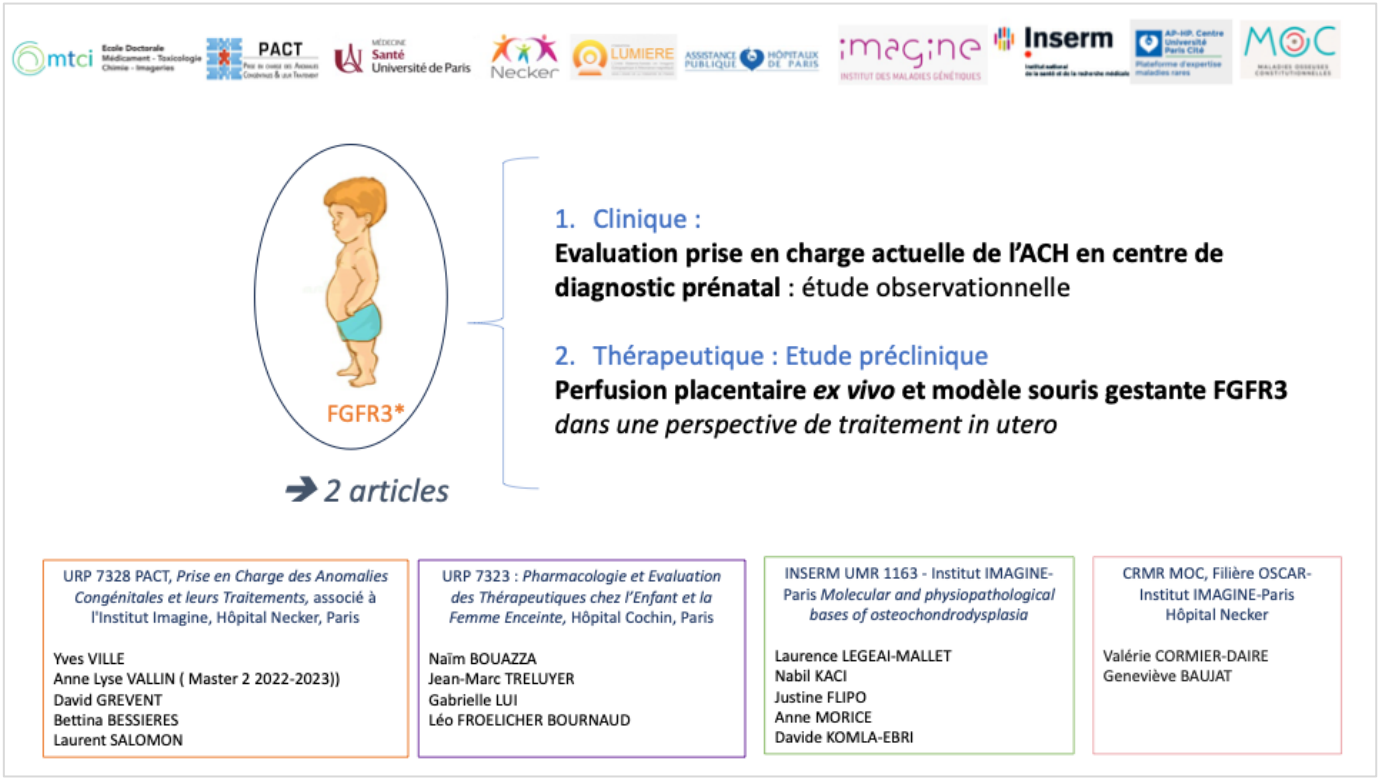
Le Dr Legeai-Mallet dirige aujourd'hui le laboratoire « Bases moléculaires et physiopathologiques des ostéochondrodysplasies » (Inserm / Université Paris Cité), rattaché à l'Institut Imagine. Ce laboratoire, cofondé avec la Professeure Valérie Cormier-Daire, est reconnu pour son rôle pionnier dans l'étude des anomalies du développement osseux d'origine génétique[102].

Les travaux menés par cette équipe ont permis de décrypter en profondeur les cascades de signalisation altérées par l'hyperactivation de FGFR3, et de développer des modèles expérimentaux (cellulaires et animaux) pertinents pour tester des approches thérapeutiques innovantes, y compris des molécules ciblant la signalisation anormale en aval du récepteur [102].

b. Synthèse sur les travaux de thèse réalisés sur l'ACH fœtale

C'est dans ce contexte de recherche translationnelle que s'inscrivent les travaux de thèse présentés ici, réalisés en étroite collaboration avec ce laboratoire. Ils visent notamment à **explorer la faisabilité d'une approche thérapeutique *in utero*** de l'ACH, dans l'objectif de corriger précocement les conséquences du dérèglement moléculaire associé à la mutation FGFR3.

Figure 10: Synthèse sur les travaux réalisés sur l'ACH prénatale



4. Prise en charge prénatale

a. Diagnostic prénatal

Environ **80 à 90 %** des cas d'ACH sont suspectés puis diagnostiqués **avant la naissance**, avec un âge gestationnel médian situé entre 29 et 32 semaines [103,104]. Les premiers **signes échographiques** évocateurs sont l'apparition d'un raccourcissement des os longs et une augmentation des biométries crâniennes [71,74]. On peut également observer, dès l'échographie du deuxième trimestre, un élargissement de l'angle diaphyso-métaphysaire fémoral supérieur à 130°, notamment si le diagnostic est déjà suspecté – en cas de parent ACH notamment [105].

Le **diagnostic prénatal** peut être **confirmé** par des procédures invasives (amniocentèse, biopsie de villosités choriales) ou, dans certains centres et sous conditions spécifiques, par un diagnostic prénatal moléculaire non invasif (DPNI) à partir du sang maternel [106,107]. En période prénatale, et en particulier dans le contexte d'une anomalie fœtale à apparition tardive, un scanner osseux fœtal permettant d'identifier les signes spécifiques de l'ACH peut également permettre d'établir le diagnostic prénatal, en éliminant les autres causes d'os longs[108].

b. Issues de grossesses

L'annonce du diagnostic à un stade tardif de la grossesse est délicate. Une rencontre avec un pédiatre ou un généticien expert dans les maladies osseuses constitutionnelles doit être organisée afin d'informer les couples sur l'histoire naturelle de la maladie. Après une information pluridisciplinaire prénatale détaillée, certains couples peuvent, en France, demander une IMG.

Pour les couples choisissant de poursuivre la grossesse, un plan de soins détaillé néonatal puis pédiatrique est préconisé [104].

c. Place de l'IRM cérébrale fœtale : étude de faisabilité.

i. Rationnel

L'utilisation de l'IRM fœtale est actuellement standardisée pour l'évaluation de nombreuses malformations fœtales, mais **son utilisation chez le fœtus atteint d'ACH n'a pas encore fait l'objet d'une publication**.

Compte tenu de la précocité des complications médullaires chez le nourrisson, il serait intéressant d'évaluer l'apport diagnostique de cet examen non irradiant dans l'évaluation du risque de compression médullaire dans les premiers mois de vie. Cela permettrait d'orienter la prise en charge de ces enfants de façon plus précoce et plus spécifique.

ii. IRM de recherche : protocole

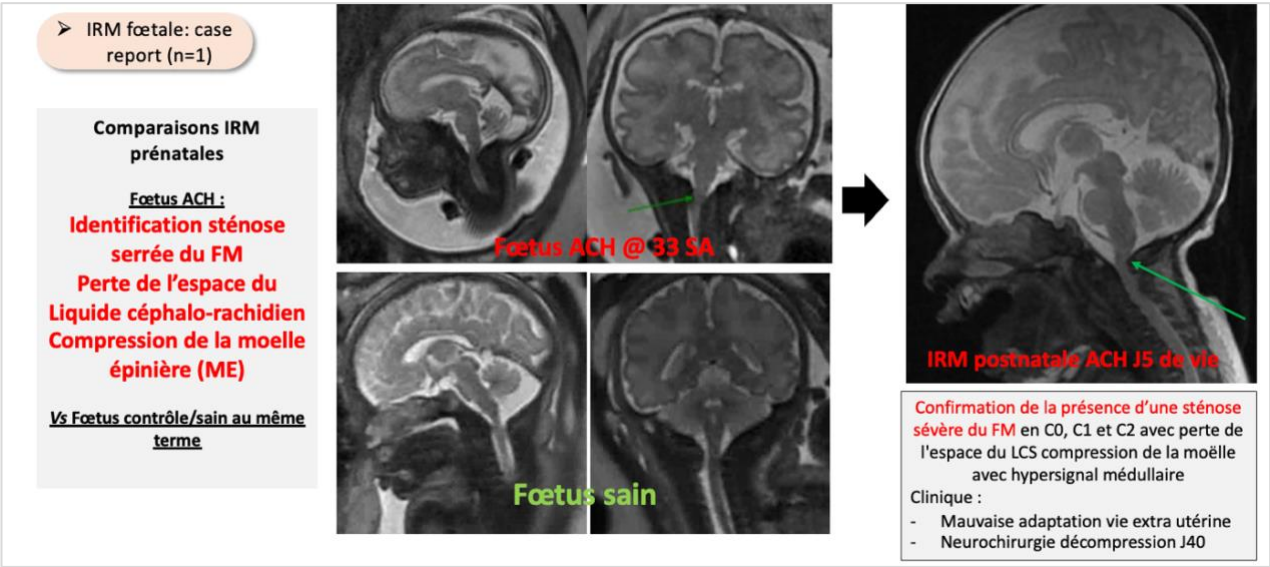
Nous avons mis en place un protocole d'IRM de recherche au sein de la fondation LUMIERE, qui est une plateforme intégrée de recherche clinique et d'enseignement en imagerie médicale de la femme enceinte, du fœtus et du placenta. L'objectif était d'identifier la présence ou non, dès la vie fœtale, d'une sténose du foramen magnum. Cette IRM de recherche était proposée à toutes les patientes dont le diagnostic d'ACH fœtale avait été fait et dont le terme était compris entre 18 et 36 SA.

L'examen était réalisé sans injection de produit de contraste ni sédation fœtale ou maternelle au sein d'une IRM 1,5 tesla. Les patientes étaient installées en décubitus dorsal. Des acquisitions en T2 dans les trois plans de l'espace étaient réalisées avec des coupes de 2 mm d'épaisseur. Des acquisitions supplémentaires centrées sur la charnière cervico-occipitale (contraste de phase 2D, notamment) étaient également réalisées.

Une seule IRM fœtale de recherche a pu être réalisée au terme de 33 SA + 5 jours. Pour ce fœtus, il a été retrouvé une **sténose serrée du foramen magnum** avec une perte de l'espace du LCR et une **compression de la moëlle épinière**, sans anomalie de signal. Au niveau cérébral, il n'y avait pas de dilatation ventriculaire ni d'anomalie du parenchyme cérébral. Le thorax était étroit et nous avons constaté une réduction du volume pulmonaire total de 26 % en calculant le volume pulmonaire total observé par rapport au volume pulmonaire total attendu. Après la naissance, une IRM cérébrale a été réalisée à 23 jours de vie et a retrouvé l'anomalie

décrite en anténatal : une sténose sévère de la charnière cervico-occipitale en C0, C1 et C2 avec perte de l'espace du LCR et compression médullaire (Figure 11). Il n'y avait pas d'anomalie malformative de la charnière cervico-occipitale ni de dilatation du système ventriculaire au niveau supra-tentoriel. En raison d'apnées centrales, de la sévérité de la sténose et du risque important de mort subite, une neurochirurgie de décompression a été réalisée.

Figure 11 Comparaison des images IRM pré et post natale du foramen magnum chez un fœtus/enfant ACH. L'IRM prénatale du fœtus atteint est aussi comparée à celle d'un fœtus sain au même âge gestationnel (33 SA)



Nous avons donc montré qu'il était **possible d'identifier** dès la vie fœtale la survenue de la complication la plus sévère de l'ACH : la sténose du foramen magnum et d'en apprécier son degré. Cette observation n'était pas accessible par l'échographie. La présence de ces anomalies a été confirmée par une IRM post natale ce qui montre qu'il existe une corrélation entre les images IRM prénatales et postnatales. Comme cette sténose a pu être diagnostiquée dès la vie fœtale, la nécessité d'une telle chirurgie a pu être anticipée et le parcours de soin de cet enfant amélioré. De plus, nous avons montré dans ce cas une réduction du volume pulmonaire attendu pour l'âge gestationnel de 26%. A notre connaissance, la réduction du volume pulmonaire n'a jamais été décrite dans cette pathologie. Dans notre cas, il semble que cette réduction du volume pulmonaire soit en lien avec l'étroitesse du thorax. Les conséquences fonctionnelles de cette réduction sont encore à définir.

Grâce à l'IRM, nous pensons qu'il est possible d'identifier avant la naissance les cas présentant le risque le plus élevé de sténose sévère de la charnière cervico-occipitale, avec un risque de complications postnatales et un besoin accru de neurochirurgie. Il s'agit d'une information importante pour les couples dont le fœtus est atteint qui vient **préciser un pronostic difficile à établir.**

d. Étude rétrospective observationnelle dans l'unité de médecine fœtale de l'hôpital Necker des cas ACH diagnostiqués entre 2009 et 2022

L'objectif de cette étude était de décrire l'imagerie fœtale ainsi que la prise en charge anténatale et postnatale des grossesses compliquées par un diagnostic d'ACH fœtale. Par l'analyse des différents phénotypes cliniques des fœtus atteints nous avons cherché à identifier des leviers d'action possibles en prénatal, en termes de traitement et d'évaluation pronostique.

Une étude **rétrospective et descriptive** incluant toutes les femmes enceintes ayant eu un diagnostic prénatal d'ACH a été menée dans l'unité prénatale de l'hôpital Necker (Paris, France) entre 2009 et 2022. Les caractéristiques maternelles et obstétricales ainsi que les données d'imagerie fœtale (échographie et scanner osseux) ont été recueillies. Les issues de grossesse, le suivi pédiatrique en cas de naissances vivantes, et les données d'examen post-mortem réalisés dans le cadre d'IMG ont été rapportés.

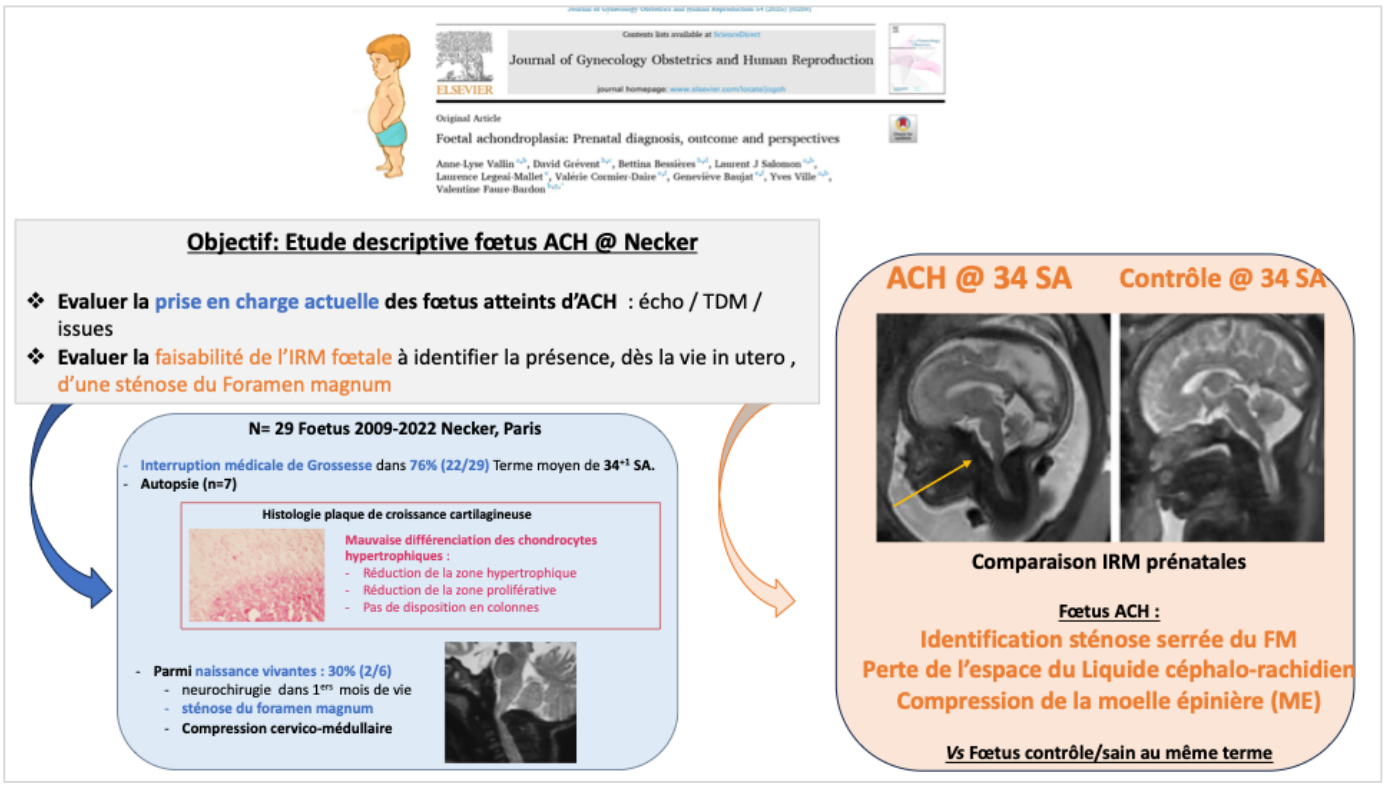
Le case report d'IRM fœtale précédemment décrit a été inclus dans cet article.

Au total **29 cas d'ACH** ont été inclus. L'âge gestationnel médian au moment de l'orientation à Necker était de 31 semaines et 2 jours, soit environ une semaine après le diagnostic suspecté lors de l'échographie de dépistage. **Le raccourcissement du fémur et des autres os longs, la macrocéphalie, les anomalies faciales, l'augmentation de l'angle métaphyso-diaphysaire et l'affinement du fémur proximal étaient les cinq signes échographiques les plus fréquents.** Le diagnostic fœtal a été confirmé par l'identification de la mutation FGFR3 fœtale et/ou par le scanner osseux (n=15), qui montrait dans 100 % des cas des anomalies spécifiques des os longs, une platyspondylie et un profil anormal. L'examen post-mortem a montré i) à l'examen externe (n=7), que tous les fœtus présentaient

des os longs très courts, une platyspondylie modérée, de petites ailes iliaques avec épines internes, une macrocrânie et un thorax étroit ; ii) à l'examen interne (n=5), tous présentaient des **anomalies sévères des cartilages de croissance** ainsi que des particularités au niveau du cortex temporal et de la région hippocampique. Parmi les nourrissons nés vivants avec un suivi connu (n=6), 2 sur 6 ont nécessité une intervention neurochirurgicale dans les premiers mois de vie pour une compression médullaire liée à une sténose sévère du foramen magnum.

En conclusion, cette étude a fourni une **cartographie complète des caractéristiques phénotypiques** observées chez les fœtus atteints d'ACH, permettant une meilleure compréhension de la physiopathologie de cette condition. L'identification précoce des formes les plus sévères est importante car elle peut modifier la prise en charge après la naissance : mise en place d'une surveillance néonatale et pédiatrique rapprochée et détection précoce des autres complications. Les données obtenues sur les examens post-mortem sont aussi uniques, quasiment non rapportées dans la littérature. Elles mettent en évidence que ces fœtus atteints présentent **dès la vie *in utero* des modifications significatives au niveau du cartilage** qui pourraient potentiellement être prévenues par un traitement fœtal adéquat.

Figure 12 : Résumé graphique de l'article publié : Foetal achondroplasia : Prenatal diagnosis, outcome and perspectives.



e. Travail (5) Article publié : Vallin AL, Grévent D, Bessières B, Salomon LJ, Legeai-Mallet L, Cormier-Daire V, Baujat G, Ville Y, Faure-Bardon V. Foetal achondroplasia : Prenatal diagnosis, outcome and perspectives. J Gynecol Obstet Hum Reprod. 2025 Feb ;54(2) :102891. doi : 10.1016/j.jogoh.2024.102891. Epub 2024 Dec 5. PMID : 39643117.

Journal of Gynecology Obstetrics and Human Reproduction 54 (2025) 102891

Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Gynecology Obstetrics and Human Reproduction

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jogoh

Original Article

Foetal achondroplasia: Prenatal diagnosis, outcome and perspectives

Anne-Lyse Vallin [a,b], David Grévent [b,c], Bettina Bessières [b,d], Laurent J Salomon [a,b], Laurence Legeai-Mallet [e], Valérie Cormier-Daire [e,f], Geneviève Baujat [e,f], Yves Ville [a,b], Valentine Faure-Bardon [b,g,*]

[a] Department of Obstetrics, Foetal Medicine and Surgery, Necker-Enfants Malades Hospital, APHP, University Paris Cité, Paris, France
[b] URP FETUS 7328, Federation for Research into Innovative Explorations and Therapeutics in Utero, and LUMIERE Platform, University of Paris Cité, Paris, France
[c] Department of Paediatric Radiology, Necker-Enfants Malades Hospital, APHP, University Paris Cité, Paris, France
[d] Department of anatomical pathology, Necker-Enfants Malades Hospital, APHP, University Paris Cité, Paris, France
[e] INSERM UMR 1163, Molecular and physiopathological bases of osteochondrodysplasia, Institut IMAGINE, Paris, France
[f] Université Paris Cité, Centre Référence des Maladies Osseuses Constitutionnelles, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
[g] Department of Obstetrics and Gynecology, Pitié-Salpètrière Hospital, APHP, Sorbonne University, Paris, France

ARTICLE INFO

Keywords:
Foetal Achondroplasia/ Prenatal diagnosis
Outcome
FGFR3
vosoritide

ABSTRACT

Background: Achondroplasia, due to a specific pathogenic variant in FGFR3, is the most common viable skeletal dysplasia and the diagnosis is mostly done in the prenatal period. Since 2021, the use of Vosoritide, a specific treatment for achondroplasia, validated in phase 3 placebo-controlled trials, has been recommended to significantly increase the height of children and infants. In the light of these new therapeutic prospects, a complete understanding of the pathophysiology of skeletal damages occurring from foetal life is required.
Objectives: To describe foetal imaging and the antenatal and postnatal management of pregnancies complicated by a diagnosis of foetal achondroplasia.
Methods: A retrospective and descriptive study, including all pregnant women with a prenatal diagnosis of achondroplasia, was conducted in the prenatal unit of Necker Hospital (Paris, France) between 2009 and 2022. Maternal and obstetric characteristics and foetal imaging (ultrasound and bone CT) were collected. Pregnancy outcomes, paediatric follow-up in the case of live births, and post-mortem examination (PME) data in the case of termination of pregnancy were reported. In addition, we have prospectively developed a specific research protocol using foetal brain MRI to assess the anatomy of the foramen magnum, following the same approach currently recommended in the postnatal period.
Results: 29 cases of achondroplasia were included. Median gestational age at referral was 31^{+2} weeks', about 1 week after the suspected diagnosis on routine ultrasound. Shortening of the femoral length and of all the other long bones, macrocephaly, facial abnormalities, increased metaphyseal-diaphyseal angle and tapering of the proximal femoral bone were the five most prevalent ultrasound signs. Foetal diagnosis was done by the identification of the foetal FGFR3 mutation and/or by CT scans ($n = 15$) where specific abnormalities of the long bones, platyspondyly and abnormal profile have been described in 100 % of cases. PME revealed: i) on external examinations ($n = 7$) that all fetuses had very short long bones, moderate platyspondyly, small iliac wings with internal spines, macrocrania, and narrow thorax, ii) on internal examination ($n = 5$) all had severe abnormalities in the growth plate and particularities in the temporal cortex and hippocampal region. One foetal MRI was performed at 33 weeks' and revealed tight stenosis of the foramen magnum and compression of the spinal cord. Of the live-born infants for whom follow-up was known ($n = 6$), 2/6 (including the case who had a foetal MRI) required neurosurgical intervention in the first few months of life for spinal cord compression due to severe stenosis of the foramen magnum.
Conclusion: A complete mapping of the skeletal features present in foetuses with achondroplasia is reported here, providing a better understanding of the pathophysiology of this condition. New tools such as foetal MRI, to assess the risk of postnatal severe neurological complications, could help improve the care pathway of the affected neonates.

* Correspondence author at. URP FETUS 7328, Federation for Research into Innovative Explorations and Therapeutics in Utero, and LUMIERE Platform, University of Paris Cité, Paris, France.
E-mail address: valentine.faure@aphp.fr (V. Faure-Bardon).

https://doi.org/10.1016/j.jogoh.2024.102891
Received 16 July 2024; Received in revised form 3 December 2024; Accepted 4 December 2024
Available online 5 December 2024
2468-7847/© 2024 Published by Elsevier Masson SAS.

Introduction

Achondroplasia is the most common form of human dwarfism and is part of non-lethal skeletal dysplasia. It is caused by a specific pathogenic variant in the FGFR3 gene and almost all affected cases have the same amino acid substitution: Gly380Arg [1]. It is an autosomal-dominant disorder and >80 % of these mutations are *de novo* [2]. FGFR3 is a regulator of linear bone growth and normally acts as an inhibitor on both proliferation and terminal differentiation of growth plate chondrocytes [1]. Mutations in the FGFR3 gene are activating ones, responsible for a gain of function.

The phenotype of this disease is highly variable. The average expected adult height is of 130 cm (range 120–145) in men and 125 cm (115–137 cm) in women, based on specific standard growth curves [3,4]. The other major clinical signs include rhizomelic shortening of the limbs, macrocephaly, frontal bossing, midface hypoplasia, narrow thorax and trident-shaped hands with short fingers [1,2]. These bone injuries can lead to serious complications in children, including thoracolumbar kyphosis, sleep-disordered breathing and life-threatening compression of the spinal cord at the foramen magnum level [1,5]. It is now recommended that all these complications should be systematically screened in the first months of life so that they can be prevented and treated through appropriate aids and medical and/or surgical treatments [6,7].

About 80–90 % cases of achondroplasia are suspected and diagnosed before birth at a median gestational age of 29–32 weeks' [7,8]. The first ultrasound findings suggestive of the disease to appear are short long bones and increased cephalic biometrics [1,2]. There is also a widening of the femoral diaphysis-metaphysis angle >130° that may be seen at the second trimester ultrasound if the diagnosis is already suspected [9]. Prenatal diagnosis can be confirmed by invasive prenatal procedures (amniocentesis, chorionic villus sampling) or, in certain centres and under specific conditions, by non-invasive molecular prenatal diagnosis (NIPD) in the mother's blood [10,11]. In the prenatal period and particularly because it is a situation of late-onset foetal anomaly, a foetal bone CT-scan allowing the identification of specific signs of achondroplasia could also enable the prenatal diagnosis to be made, ruling out the other causes of short long bones with or without macrocephaly [12]. For children born with this condition, the use of a first specific treatment of achondroplasia, vosoritide, was authorised in France in December 2021 to increase the growth velocity [13,14]. European recommendations have been recently published in order to support prenatal and postnatal healthcare providers in their management [7].

The aim of our study was to describe foetal imaging and the antenatal and postnatal management of pregnancies complicated by a diagnosis of foetal achondroplasia in a retrospective single-centre cohort. In addition, we developed a research foetal MRI protocol with prospective inclusion of cases to evaluate the feasibility of identifying any spinal cord abnormalities of the cervical-occipital hinge during foetal life.

Methods

We conducted a retrospective, descriptive and monocentric study in the maternal-foetal medicine unit at Necker Hospital (Paris). All pregnancies for which a prenatal diagnosis of achondroplasia was established in this prenatal unit, between 2009 and 2022, were included. Other osteochondrodysplasias were excluded.

Medical records of the pregnant women concerned were reviewed to collect the following data: maternal and obstetric characteristics, conditions of the prenatal diagnosis, prenatal imaging results (ultrasound, bone CT scan, MRI) and pregnancy outcomes. In the case of live births, pediatric records were consulted if available. If pregnancy was terminated and the couple requested a post-mortem fetoplacental examination (PME), the pathology file was consulted.

Conditions of the prenatal screening and diagnosis

There were two scenarios that lead to the prenatal diagnosis of achondroplasia in the foetus.

Either the couple was at risk of transmission to their offspring and i) early prenatal diagnosis was offered by a CVS between the 11th and 14th weeks' ii) prenatal diagnosis was not wished, a close ultrasound monitoring was set up and then ultrasound signs suggestive of foetal achondroplasia were detected.

Alternatively, the couple had no previous history and ultrasound anomalies suggestive of constitutional bone disease in the foetus were discovered during pregnancy monitoring (*de novo* cases). In these circumstances, the patient was referred to our prenatal diagnosis unit to i) have an expert ultrasound scan which suggested the specific diagnostic of foetal achondroplasia ii) discuss the way to have a confirmed prenatal diagnosis iii) meet all the multidisciplinary team (geneticist, pediatrician, radiologist, obstetrician). The prenatal diagnosis could be achieved in two ways possibly combined: 1) by amniocentesis to detect the FGFR3 mutation in the foetus in the amniotic fluid 2) by foetal bone CT scan to identify highly specific signs of achondroplasia. This last option was mainly offered to couples wishing to terminate the pregnancy if the diagnosis was confirmed, in order to limit any risk of foetal exposure to radiation. The advantage of this diagnosis procedure was that the diagnosis was rapidly done (large availability of the CT scan in the hospital). From 2021, a molecular NIPD in maternal blood was offered in our prenatal unit under certain conditions but, in the event of a positive result, this test was always confirmed by an invasive sample (amniocentesis or CVS) according to the unit's protocol.

Prenatal imaging

Ultrasound scans. All scans were performed using Voluson 8 or 10 machines with 3D ultrasound bones' reconstruction and performed by referent ultrasonographers in the foetal medicine unit. Systematic data were collected and reported: estimated foetal weight by using the Hadlock's 3-parameters formula, femoral length, widening of the metaphyseal-diaphyseal angle (>130°), appearance of the proximal end of the femoral metaphysis, femoral curvature, shortening of the other long bones, measurement of biparietal diameter and head circumference, presence or absence of ventricular dilatation, profile abnormalities, possible narrow thorax with short ribs, appearance of the spine and pelvis, and amount of amniotic fluid.

Prenatal bone CT scans. The indication for this diagnostic procedure was always discussed and validated by the prenatal multidisciplinary committee before it was carried out. Pregnant women were placed in the dorsal or left lateral decubitus position. A scan view of the abdomen of the mother was obtained to localise the foetus and analyse its position. The part of the skeleton to be visualised was then selected. Typical settings were 120 KV, 80 mas. The scans acquired were then transferred to a workstation for 3D reconstruction which enabled precise measurements of bone length and assessment of its morphological characteristics. These data were collected and reported here.

Foetal MRI. In 2022, a specific research MRI procedure was carried out at the LUMIERE Foundation, an integrated clinical research and teaching platform for medical imaging of pregnant women, fetuses and placentas at Necker Hospital. The procedure was performed on 1.5-Tesla Optima MR450 w GEM MRI scanner (GE Healthcare, Chicago, IL, USA) and without sedation or breath-holding. T2 acquisitions in all three spatial planes were performed with 2 mm thick slices. The objective was to evaluate the feasibility of identifying any abnormalities of the cervico-occipital hinge during foetal life. All subjects provided written informed consent approved by the institutional review board (2019-A01498–49).

Pregnancy outcomes

In case of termination of pregnancy (TOP) if a PME was performed, the results of external examination characteristics, biometrics, x-ray, visceral examination and histological analysis were reported. All PME were carried out with the signed, written agreement of the pregnant women.

In case of live-birth, paediatric data collected included: neonatal biometrics (percentiles were calculated with the audipog postnatal growth curves [15]), results of the various assessment (including MRI and polysomnography) performed in the first year of life, need for medical or surgical treatment for specific complications of achondroplasia, and duration of available follow-up.

Results

Between 2009 and 2022, 38 cases of osteochondrodysplasias were referred to our prenatal unit. We excluded 8 pregnancies for which a diagnosis other than achondroplasia was established (hypochondropasia ($n = 2$), osteogenesis imperfecta ($n = 1$), homozygous achondroplasia ($n = 1$), thanatophoric dysplasia ($n = 2$) and others unclassified severe chondrodysplasia ($n = 2$)). One case was also excluded because of lost medical file. Finally, we included 29 cases of ACH over a 13-years period (Fig. 1). Maternal and obstetrical characteristics of these 29 cases are shown in Table 1.

Conditions of the prenatal screening and diagnosis

Conditions under which the prenatal diagnosis of achondroplasia was made in the prenatal unit are summarized in Table 2.

In 4 cases, one of the two parents was affected by achondroplasia. Two cases wished an early prenatal diagnosis and the mutation in the FGFR3 gene was identified following a CVS. In one of these two cases, the father was affected and NIPD was carried out in the mother's blood and the positive result led to the CVS. In the other case, the mother was affected by achondroplasia, so NIPD could not be performed.

Table 1
Maternal and obstetrical characteristics.

Mean maternel Age (years)		34 ± 5
Mean father's age for de novo cases (years)		39 ± 7
Spontaneous pregnancy		27 (93 %)
De novo cases		25 (86 %)
Familial cases		4 (14 %) including 2 affected fathers and 2 affected mothers
Foreigners pregnant women		6
Mean GA at suspected diagnosis		29^{+5} weeks (range: 21–33 weeks)
Live births	Number of cases	7 (24 %)
	Gestational age at birth	39^{+3} weeks [37^{+4} – 40^{+2}]
	Mode of delivery	Vaginal delivery $n = 2$ (29 %) C-section $n = 5$ (71 %)
TOP	Number of cases	22 (76 %)
	Mean GA at TOP	34 (±18 days)
	Mode of delivery	Vaginal delivery $n = 22$ (100 %)

Abbreviations: GA: gestational age, TOP: termination of pregnancy.

In the two other cases, early prenatal diagnosis was not wished. The diagnostic was suspected at 21^{+4} and 22^{+5} weeks' based on the identification of a femoral length <3rd percentile on ultrasound scans for both cases. No foetal bone CT scan was performed for these cases and genetic diagnosis was done in the postnatal period.

In 25 cases there was no family history of achondroplasia (*de novo* cases). In all cases the suggestive ultrasound sign was a femoral length <3rd percentile in a screening ultrasound scan. The median gestational age at the time of suspected diagnosis was 29^{+5} weeks (range: 21–33 weeks). Pregnant women were referred to the prenatal unit at a median term of 31^{+2} weeks. Prenatal diagnosis was established based on the results of the i) amniocentesis alone ($n = 9$ cases) ii) FGFR3-NIPD + amniocentesis ($n = 1$), iii) foetal bone CT scan + amniocentesis ($n = 10$

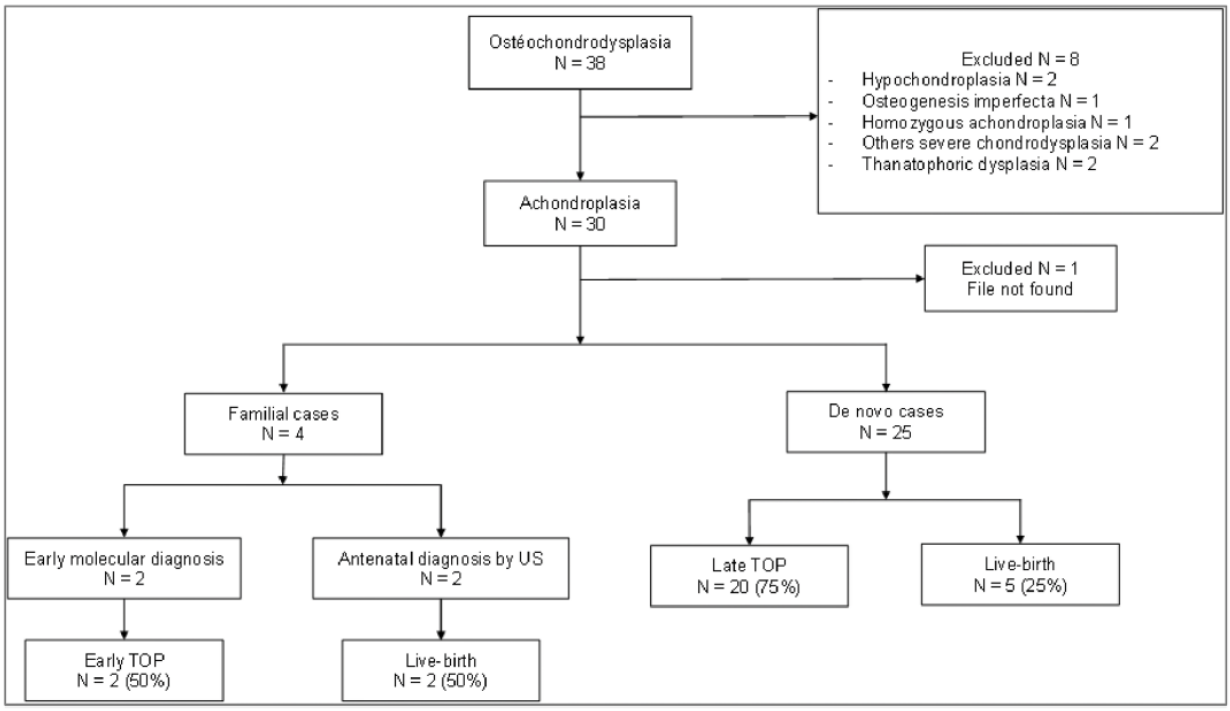


Fig. 1. Flowchart
Abbreviation: TOP: termination of pregnancy
Early and late TOP are defined as TOP in the 1st and in the 3rd trimesters respectively.

Table 2
Conditions under which the prenatal diagnosis of achondroplasia was made (n = 29 cases).

Initial situation	Prenatal diagnosis		Outcomes
Suggestive ultrasound signs	+ amniocentesis alone	N = 9	- TOP, N = 6 - Alive, N = 3
	+ bone CT scan+ amniocentesis	N = 10	- TOP, N = 9 - Alive, N = 1
	+ bone CT scan + postnatal genetics	N = 5	- TOP, N = 4 - Alive, N = 1
	+ maternal history of ACH	N = 1	- Alive, N = 1 (postnatal diagnosis)
	+ paternal history of ACH	N = 1	- Alive, N = 1 (postnatal diagnosis)
	+ NIPD FGFR3 + amniocentesis to confirm	N = 1	- TOP, N = 1
1st trimester of pregnancy and paternal history of ACH	+ NIPD FGFR3 + CVS to confirm	N = 1	- Early TOP, N = 1
1st trimester of pregnancy and maternal history of ACH	CVS	N = 1	- Early TOP, N = 1

Abbreviations: ACH: achondroplasia, NIPD: Non invasive prenatal diagnosis, CVS: chorionic villus sampling, TOP: termination of pregnancy.

cases) iv) bone CT scan alone (n = 5).

Prenatal imaging

Ultrasound scans. The ultrasound signs found during the assessment carried out in Necker are illustrated and detailed in Fig. 2. Shortening of the femoral length and of all the other long bones, macrocephaly, facial abnormalities, increased metaphyseal-diaphyseal angle were the five most prevalent ultrasound signs and tapering of the proximal femoral bone (with transparent appearance) (33 %−100 % of affected fetuses).

Foetal bone CT scans. Among *de novo* cases, 15 CT scans with 3D reconstruction were performed at a median gestational age of 33 weeks' [range: 32–33^{+6}]. Characteristics reported in 100 % of cases were: rhizomelic shortening of all the long bones, anomalies of the proximal femoral metaphysis, platyspondyly and profile abnormalities with frontal bossing and depressed nasal bridge. A narrow thorax with short ribs was reported in 11 cases (73 %). The hands were short and stubby in 14 cases (73 %). Femoral curvature was found in 3 cases (20 %). No study of the cervico-occipital hinge was done. Anomalies found on the CT scan are illustrated and detailed in Fig. 3.

Foetal MRI. To date, one foetal MRI was performed at 33 weeks and 5 days as part of the new research program and the results were compared to an MRI of an healthy fetus at the same gestational age (Fig. 4). A marked stenosis of foramen magnum was found with loss of cerebrospinal fluid space with cord compression. There was no cord signal abnormality. At the brain level, there was no ventricular dilatation and no abnormality of the brain parenchyma. Besides, we also observed a narrow thorax and a reduction of total lung volume with a ratio of observed-to-expected total lung volume at 74 %.

Pregnancy outcomes (Fig. 1 and table 2)

Termination of pregnancy

Among the familial cases, the two cases who requested a prenatal diagnosis by CVS asked for TOP after the unfavourable diagnosis was announced. It was performed by uterine aspiration at the end of the first trimester.

Among *de novo* cases, there were 20 TOPs (75 %) at a median gestational age of 34 weeks' [33^{+1} – 35^{+3}], all by vaginal delivery. In our cohort, 6 women came from abroad (Europe) with the aim of terminating their pregnancy after a positive diagnosis had been made in the 3rd trimester of their pregnancy because, in their country, the law prohibits TOP at this stage of pregnancy. Cases who only had a bone CT scan for the prenatal diagnosis had a search for FGFR3 mutation in their fetus after birth. Genetic diagnosis was confirmed for all of them.

Seven cases accepted PME to be carried out.

On external examination, the following were found: macrocrania in seven fetuses (100 %), narrow thorax in seven fetuses (100 %), facial dysmorphia in six fetuses (85 %), and stubby trident-shaped hands in five fetuses (71 %).

On radiographs, all fetuses had very short long bones, moderate platyspondyly and small iliac wings with internal spines. Anomalies of the upper metaphysis of the femur were seen in six fetuses (85 %) and short ribs in three fetuses (43 %).

On internal examination (agreed by 5 couples), no macroscopic visceral anomalies were found. Histological examinations of the bones and cartilages were assessed, and abnormalities were found: growth plate abnormalities with short hypertrophic chondrocyte zone due to a lack of differentiation of hypertrophic chondrocytes (Fig. 5A). Five neuropathological examinations were conducted and particularities in the temporal cortex and hippocampal region were reported in all cases: temporal lobe hypertrophy and cytoarchitectonic atypia (Fig. 5B). No cervical-occipital hinge study was performed.

Live-births and paediatric follow-up

In our cohort, there were 7 live births: 2 cases from a familial form of achondroplasia and 5 from *de novo* cases. The median gestational age at birth was 39^{+3} weeks, [37^{+4} – 40^{+2}] and no prematurity occurred. Two cases delivered vaginally and five by C-section: 3 in emergency (abnormal foetal heart rate and breech presentation, n = 2 and 1 respectively) and two were scheduled due to suspected cephalopelvic disproportion.

At birth, they all had normal birth weights (Table 3). Severe neonatal complications occurred in only one baby (case 7 in Table 3). This neonate presented a severe respiratory distress and hypotonia. He required transfer to intensive care, and non-invasive CPAP (Continuous Positive Airway Pressure) ventilation was set up for weeks. Due to persistent sucking difficulties, multiple episodes of central apnea identified on polysomnography and respiratory insufficiency, an MRI was requested on day 23. The cerebral MRI revealed marked stenosis of the cervical-occipital hinge at C0, C1 and C2, with loss of cerebrospinal fluid space and medullary hypersignal at this level. Given the severe symptoms, decompression neurosurgery was performed at 40 days of life. In this case, the tight foramen magnum stenosis and cord compression had been identified prenatally on the foetal MRI.

Regarding the pediatric follow-up, one child was lost immediately after birth and for the 6 others the median length of follow-up available was 24 months (some are still being monitored today). Details are reported in Table 3. They were all managed by a multidisciplinary team and potential postnatal complications of achondroplasia have been screened.

Apart from the case described above, which presented with severe symptomatic marked neonatal stenosis of the cervical-occipital hinge, the other five children (cases 1–5) underwent screening brain MRI at the age of 6 months, in accordance with current guidelines. Four MRIs were normal, but one showed a severe stenosis of the cervical-occipital hinge/foramen magnum. Based on these results and the risk of sudden death, this child underwent neurosurgical decompression of the cervical-occipital hinge at the age of 7 months (case n°2).

Concerning the other medical and surgical complications detected in these children, two underwent oral surgery (turbinectomy and adenoidectomy) for the management of sleep apnea syndrome at the age of 7 months (cases n°3 and 4). Two children had an orthopedic treatment with a corset (cases n° 2 and 3).

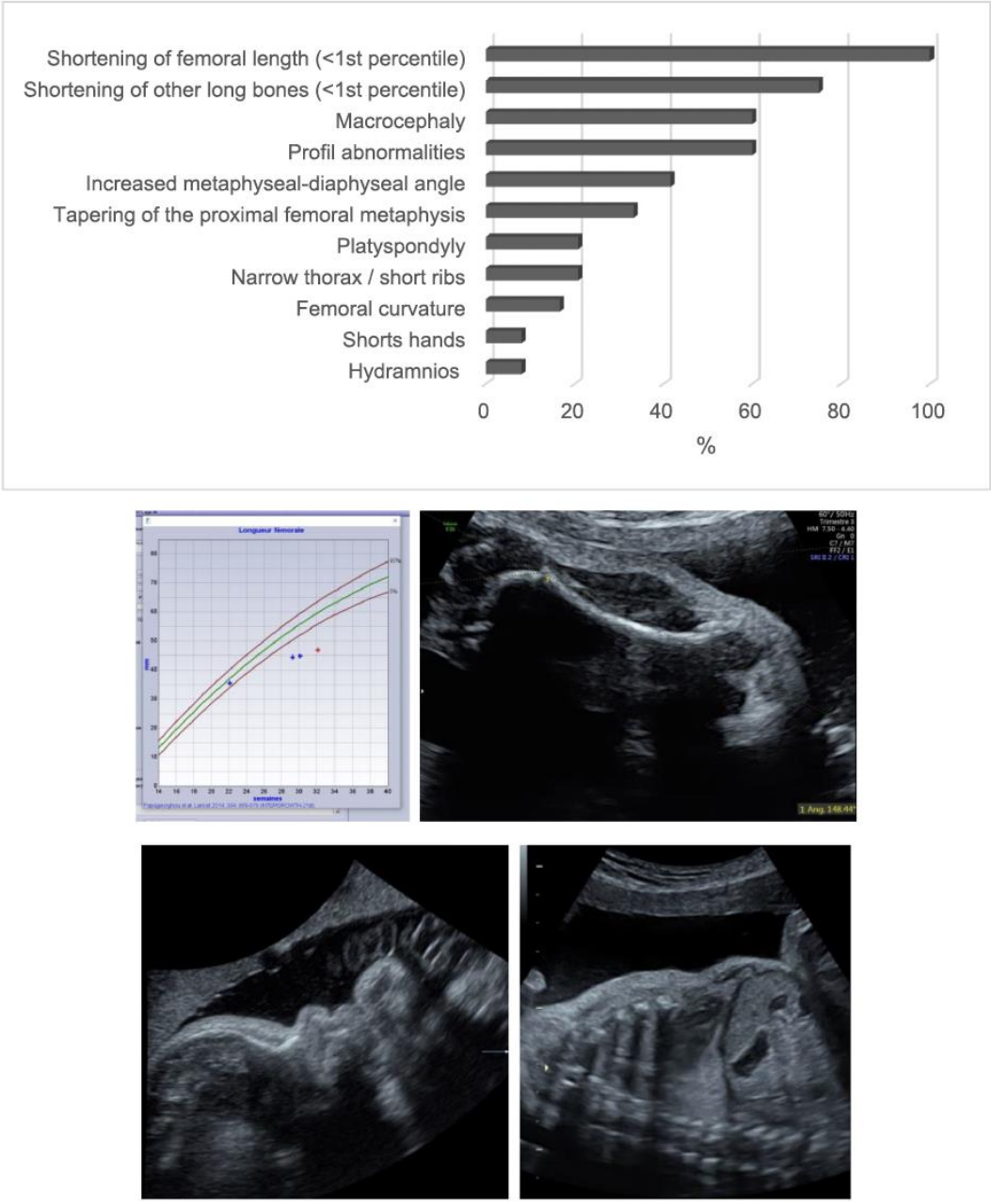


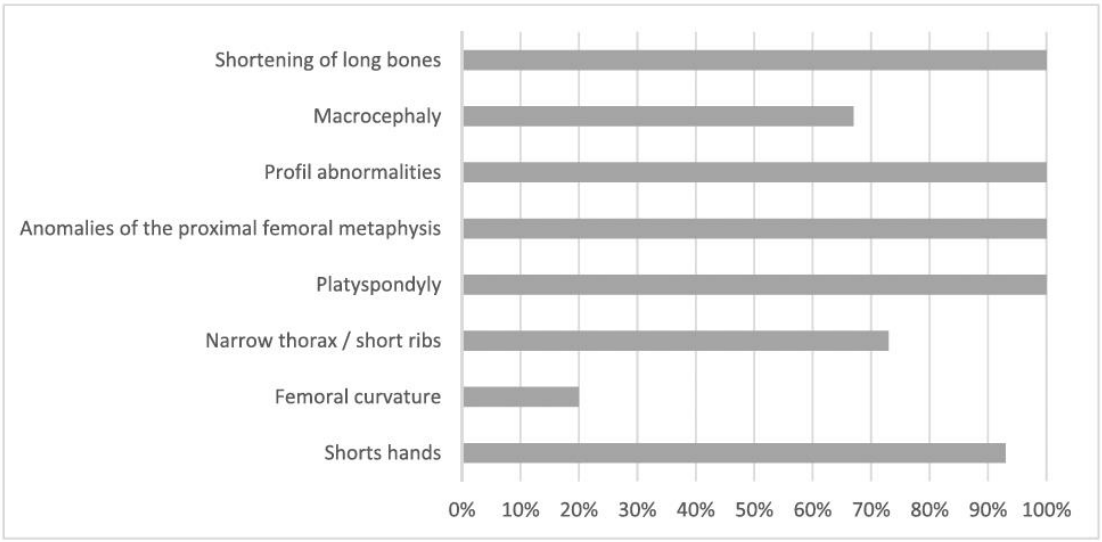
Fig. 2. a. Anomalies found on third trimester ultrasound scans ($N = 27$ cases)
2b: ACH fetus at 32 weeks: ultrasonographic features at diagnosis.
Top left: slower growth in femoral length
Top right: tapering tip of upper femoral metaphysis, increased diaphyseal-metaphyseal angle >130° (= 148°) and femoral curvature
Bottom left: profile anomaly with frontal bossing
Bottom right: narrow thorax.

Discussion

Principal findings

The median gestational age at the time of suspected diagnosis was late, 29+5 weeks (range: 21–33 weeks), but pregnant women were referred to our prenatal unit within a very short period of time, less than a week, allowing an optimal management by a multidisciplinary prenatal team. Bone CT-scan was conclusive to confirm rapidly the highly suspected diagnosis of achondroplasia with a combination of specific signs found in 100 % of cases. Prenatal diagnosis of achondroplasia, in our cohort of *de novo* cases, was correlated with a high rate of TOP (75 %), performed late in pregnancy. Growth plate damages were described as severe on PME.

Among live births, 4/6 children needed orthopaedic treatment, oral surgery or neurosurgery. Indeed, 2/6 (including the case who had a foetal MRI) required neurosurgical intervention in the first few months of life for spinal cord compression due to severe stenosis of the foramen



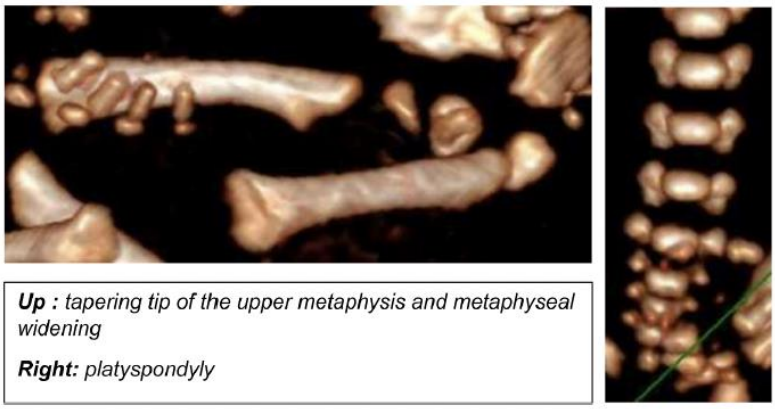


Fig. 3. a. Features found in CT scans in de novo cases ($n = 15$)
3b. CT-scans signs in a fetus at 33 weeks, confirming the diagnosis.

magnum.

Clinical implications

We observed a high accuracy of the CT scans to confirm the suspected diagnosis. This basic exam is available in the entire national territory and appears to be a good option for the confirmation of the diagnosis especially in the places where foetal genetic exams are long to obtain.

Early routine post-natal cerebral MRI is now recommended at 6 months of life in the affected children in order to screen for foramen magnum stenosis [6,7]. In our cohort we observed that 2/6 of the infants requested neurosurgery in the first months of life. In one of these two cases this severe foramen stenosis was not associated with clinical symptoms and was identified during a screening brain MRI. This discrepancy between clinical symptoms and the image of spinal cord injury had already been described in Cheung's cohort, where spinal cord compression was present in 50 % of infants, whereas the neurological clinical examination was considered normal in 94 % of them [5]. We have also shown, in the second infant, that foetal brain MRI can provide a precise diagnosis of spinal cord compression present from foetal life. This compression was confirmed postnatally by early MRI, and neurosurgical treatment was applied. Performing this MRI in the prenatal period for achondroplastic fetuses could lead to better management in the postnatal period. For example, it could be advisable to carry out a postnatal MRI in the first 3 months of life instead of 6 months if spinal cord damage is suspected during foetal life.

In the group of pregnant women with de novo cases who requested TOP, 30 % (6/20) have travelled from a foreign country to request a termination of pregnancy. This can have a major psychological impact on these women, who, beyond the trauma of having their pregnancy terminated, return to their country of origin without being able to receive long-term care from a structure adapted to their specific situation. The impact of perinatal grief in such circumstances should be assessed.

In addition, we report here a high rate of TOP compared with another French cohort from the French Centre of Reference for skeletal dysplasia (32 %) [8]. The cases reported in this cohort were women from foetal medicine units throughout France, seen antenatally during a dedicated consultation by paediatricians or clinical geneticists specialising in paediatric achondroplasia. The women included in our cohort, from the Necker foetal medicine unit only, did not all wish to benefit from this consultation during their prenatal course. The difference between the inclusion criteria for these cases of achondroplasia, i.e. the route of recruitment, may explain the discrepancy observed between the rates of TOP.

In our cohort, the mean father's age for *de novo* cases was 39 (+/−7) years old. All the specific risk factors for achondroplasia are not well defined, but some studies have already suggested that advanced paternal age increases the incidence of de novo mutations and could

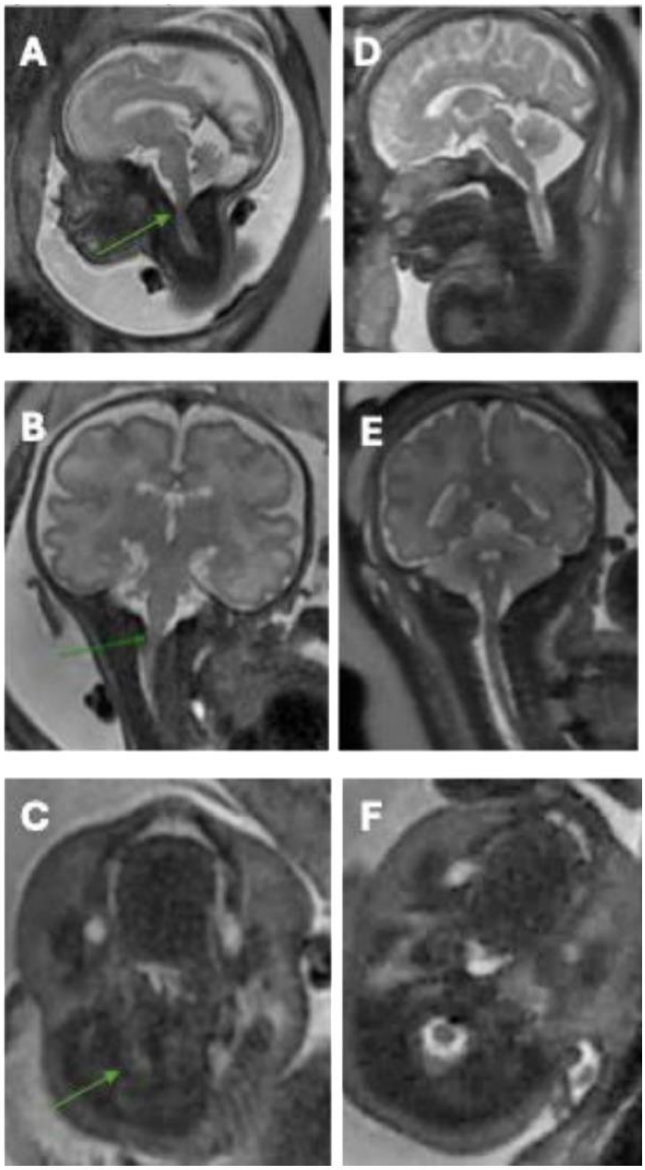


Fig. 4. Fetal MRI: Comparison of the foramen magnum at 33 weeks and 5 days between a case of achondroplasia (on the left) and a healthy fetus at same gestational age (on the right)
(A)(B) Sagittal and coronal T2-weighted MR image shows a marked stenosis of the cervico-occipital hinge with a diameter measured at 4 mm, with loss of CSF space surrounding the cord and evidence of cord compression at FM but without cord signal changes.(C) Axial section showing loss of CSF signal around the spinal cord in the FM.

therefore favour the occurrence of achondroplasia in the offspring [2, 16]. Our data are supporting this hypothesis.

Research implications and currents treatments

Based on our data, the role of foetal MRI in achondroplasia should be in assessing the prognosis of the affected fetuses. However, our data are limited to only one case and more studies are needed to evaluate correctly the performance of the MRI for this indication. A recent radiopediatrics study has defined an MRI score to predict postnatally the need for neurosurgery, the same could be done in the prenatal period [5]. In addition, we demonstrated a 26 % reduction in expected lung volume for gestational age on MRI. To our knowledge, the reduction in lung volume has never been quantified in previous studies analysing the contribution of foetal MRI in achondroplasia [17,18]. In our case, it appeared to be related to the narrowness of the thorax. Paradoxically, PME did not revealed lung hypoplasia in those cases who underwent TOP. The functional consequences of this 26 % reduction in lung volume identified on MRI remain to be defined.

Foetal pathology data for achondroplasia are very limited. Only a few studies, investigating the diagnostic performance of foetal CT, have reported the results of some PME but no thorough studies have been published [12,19]. Here we report abnormalities in all neuropathological examinations. To date, no clinical correlation of these disorders has

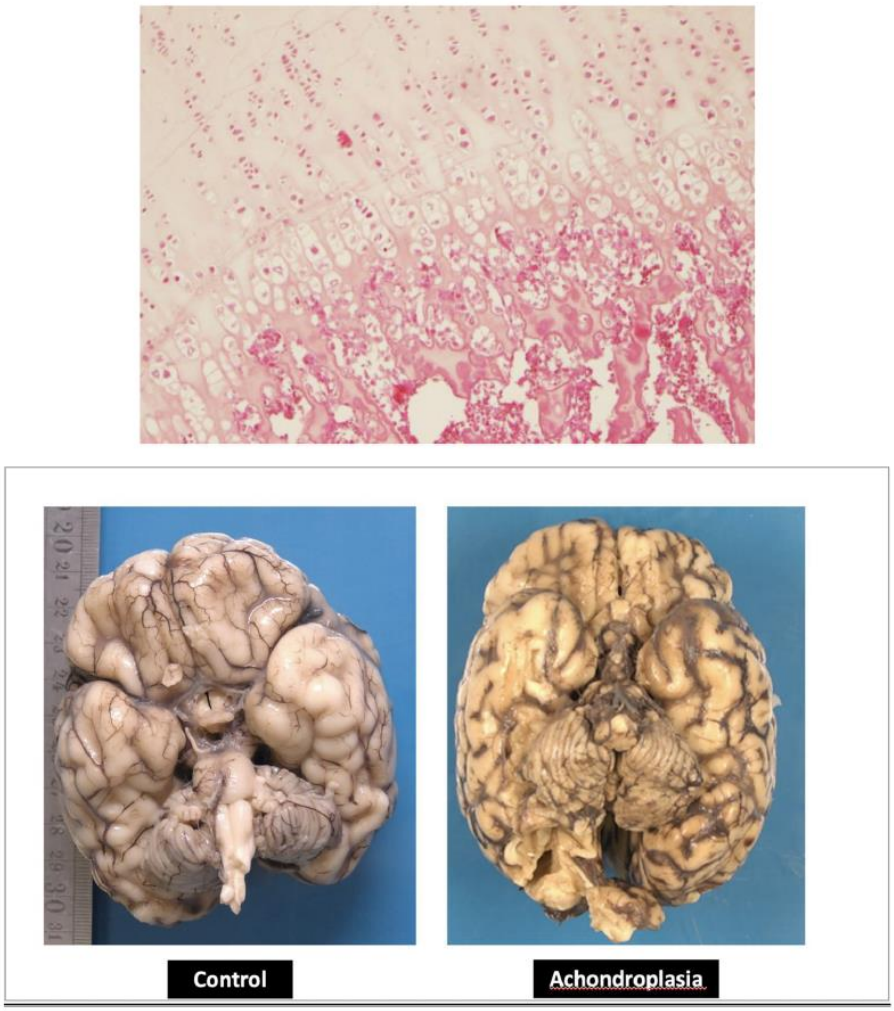


Fig. 5. Post mortem examinations
a. Histology of a growth plate: short hypertrophic chondrocyte zone due to a lack of differentiation of hypertrophic chondrocytes.
In this case, termination of pregnancy occurred at 37 weeks'.
b. Macroscopical examination of the brain of a fetus with achondroplasia compared to a control one.
Particularities in the temporal cortex and hippocampal region were noted : temporal lobe hypertrophy and cyto-architectonic atypia
Both termination of pregnancy occurred at 34 weeks.
For the control brain, the indication for termination of pregnancy was a cardiopathy.

Table 3
Live births : neonatal data and peadiatric follow-up ($N = 7$).

	GA (weeks)	Birth weight g (perc.)	High cm (perc.)	Head circumference cm (perc.)	Age at 1st MRI (mois)	Foramen magnum surgery	Oral surgery	Orthopedic treatment	Lenght of follow-up (months)
Case 1	41^{+6}	3725 (81)	NA	NA	6				19
Case 2	39^{+3}	3100 (27)	NA	36,5 (43)	6	7 months		1 year	30
Case 3	38^{+1}	3562 (88)	46 (11)	40 (100)	7		7 months	1 year	14
Case 4	34^{+3}	2060 (46)	NA	33 (85)	6		7 months		72
Case 5	41^{+0}	3225 (17)	47 (1)	35 (41)	6				144
Case 6	39^{+4}	3165 (32)	47 (6)	34 (30)	Lost of follow-up				
Case 7	37	2550 (17)	41 (<1)	38 (>99)	1	40 days			15

been shown and people with achondroplasia are usually known to have a normal cognitive development [1]. Further studies are required to better explain the clinical implications of these findings.

In terms of therapeutic prospects, vosoritide is currently the only approved and effective treatment for significantly increasing growth in children with achondroplasia and in October 2023 the FDA decided to authorise its prescription from birth [13,20,21]. Others postnatal clinical trials are ongoing with different objectives: to test the efficacy of vosoritide in reducing foramen magnum stenosis and spinal cord compression [22], and to test the efficacy of other molecules such as infigratinib [23–25]. In this era of new trials evaluating all the therapeutic options, foetuses should not be forgotten, as the introduction of a very early treatment, in the prenatal period, could prevent severe sequelae to appear. Preclinical studies are currently underway to assess the possibility of in utero treatment and the results are awaited [26]. Pregnant women should also be informed prenatally of these therapeutic alternatives and new research protocols since it could help them decide whether or not to continue the pregnancy.

Strengths and limitations

Necker Hospital is one of the centres that recruits the most cases of foetal achondroplasia in France. In this study, we have reported a large cohort of affected cases, including pre- and post-natal follow-up and extensive anatomopathological data. We were able to perform a complete cartography of the lesions present in fetuses affected with achondroplasia. Ultrasound reports, CT scans, foetal MRI, and PME reports have brough a lot of descriptive information that could help to better understand the physiopathology of this genetic condition. We have reported here one of the largest cohorts of prenatal 3D-CT scans performed in achondroplasia.

However, this was a retrospective study based on medical and pathological records with several missing data especially for pediatric follow-up. Concerning foetal MRI, only one was performed, so there is insufficient data to assess the exact diagnosis performance of this exam to identify foramen magnum stenosis and cord compression. Also, in this article, we have not analysed the application of NIPD in the prenatal diagnosis of achondroplasia. Its clinical application for achondroplasia (under certain conditions) is organised in other centres, with excellent diagnostic performance reported and results delivered in 6 days [10,27]. Some teams have proposed a prenatal management algorithm for prescribing this examination [11]. However, it was not offered as a first-line procedure in the foetal medicine unit at Necker during the inclusion period of this study.

Conclusion

Describing and better understanding the symptomatology of a foetus with achondroplasia is at the heart of the new challenges in foetal medicine: improving our prenatal advice in the light of conclusive postnatal therapeutic studies, but also better describing and considering an individual foetal prognosis that is not limited to an isolated genetic diagnosis.

Funding

Data have been generated as part of the routine work up of the URP FETUS 7328. This study was supported by internal funding.

Declaration of competing interest

The authors have no competing interests inside this work to declare

Acknowledgements

We would like to thank Joana BENGOA and Roxana BORGHESE, genetic counsellors, for their work with pregnant women referred to the Department of Molecular Genetics in Necker Hospital, Paris.

References

[1] Baujat G, Legeai-Mallet L, Finidori G, Cormier-Daire V, Le Merrer M. Achondroplasia. Best Pract Res Clin Rheumatol 2008;22:3–18. https://doi.org/10.1016/j.berh.2007.12.008.
[2] Horton WA, Hall JG, Hecht JT. Achondroplasia. Lancet Lond Engl 2007;370:162–72. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)61090-3.
[3] Neumeyer L, Merker A, Hagenäs L. Clinical charts for surveillance of growth and body proportion development in achondroplasia and examples of their use. Am J Med Genet A 2021;185:401–12. https://doi.org/10.1002/ajmg.a.61974.
[4] Hoover-Fong JE, Schulze KJ, Alade AY, Bober MB, Gough E, Hashmi SS, et al. Growth in achondroplasia including stature, weight, weight-for-height and head circumference from CLARITY: achondroplasia natural history study—A multicenter retrospective cohort study of achondroplasia in the US. Orphanet J Rare Dis 2021;16:1–19. https://doi.org/10.1186/s13023-021-02141-4.
[5] Cheung MS, Irving M, Cocca A, Santos R, Shaunak M, Dougherty H, et al. Achondroplasia foramen magnum score: screening infants for stenosis. Arch Dis Child 2021;106:180–4. https://doi.org/10.1136/archdischild-2020-319625.
[6] Hoover-Fong J, Scott CI, Jones MC. Committee on genetics. Health supervision for people with achondroplasia. Pediatrics 2020;145:e20201010. https://doi.org/10.1542/peds.2020-1010.
[7] Cormier-Daire V, AlSayed M, Alves I, Bengoa J, Ben-Omran T, Boero S, et al. Optimising the diagnosis and referral of achondroplasia in Europe: european Achondroplasia Forum best practice recommendations. Orphanet J Rare Dis 2022;17:293. https://doi.org/10.1186/s13023-022-02442-2.
[8] Genevieve Baujat, Roxana Borghese, Pascale Sonigo, Séverine Bacrot, Joana Bengoa, Caroline Michot, Anne-Elodie Millischer, Sophie Rondeau, Beatrice Childs, Tania Attié-Bittach, Bettina Bessieres, Laurent Salomon, Yves Ville, Jean-Paul Bonnefont, Julie Steffann & Valerie Cormier-Daire Bone Abstracts (2019) 7 P99 DOI: 10.1530/boneabs.7.P99ICCBH2019 Poster Presentations (1) (226 abstracts) Pre and post-natal achondroplasia, retrospective series of 64 consecutives cases with analyze of the diagnostic methods and timing issues.
[9] Khalil A, Morales-Roselló J, Morlando M, Bhide A, Papageorghiou A, Thilaganathan B. Widening of the femoral proximal diaphysis–metaphysis angle in fetuses with achondroplasia. Ultrasound Obstet Gynecol 2014;44:69–75. https://doi.org/10.1002/uog.13339.
[10] Pacault M, Verebi C, Lopez M, Vaucouleur N, Orhant L, Deburgrave N, et al. Non-invasive prenatal diagnosis of single gene disorders by paternal mutation exclusion: 3 years of clinical experience. BJOG Int J Obstet Gynaecol 2022;129:1879–86. https://doi.org/10.1111/1471-0528.17201.
[11] Vivanti AJ, Costa J-M, Rosefort A, Kleinfinger P, Lohmann L, Cordier A-G, et al. Optimal non-invasive diagnosis of fetal achondroplasia combining ultrasonography with circulating cell-free fetal DNA analysis. Ultrasound Obstet Gynecol 2019;53:87–94. https://doi.org/10.1002/uog.19018.
[12] Ruano R, Molho M, Roume J, Ville Y. Prenatal diagnosis of fetal skeletal dysplasias by combining two-dimensional and three-dimensional ultrasound and intrauterine three-dimensional helical computer tomography. Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol 2004;24:134–40. https://doi.org/10.1002/uog.1113.
[13] Savarirayan R, Tofts L, Irving M, Wilcox W, Bacino CA, Hoover-Fong J, et al. Once-daily, subcutaneous vosoritide therapy in children with achondroplasia: a randomised, double-blind, phase 3, placebo-controlled, multicentre trial. Lancet Lond Engl 2020;396:684–92. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31541-5.
[14] VOXZOGO 0,4 - 0,56 - 1,2 mg (vosoritide) - Achondroplasie. Haute Aut Santé 2021. https://www.has-sante.fr/jcms/p_3304519/fr/voxzogo-0-4-0-56-1-2-mg-vosoritide-achondroplasie (accessed July 14, 2024).
[15] Mamelle N, Munoz F, Grandjean H. Croissance foetale à partir de l'étude AUDIPOG. I. Etablissement de courbes de référence [Fetal growth from the AUDIPOG study. I. Establishment of reference curves]. J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris) 1996;25(1):61–70. French. PMID: 8901304.
[16] Girard SL, Bourassa CV, Perreault L-PL, Legault M-A, Barhdadi A, Ambalavanan A, et al. Paternal age explains a major portion of de novo germline mutation rate variability in healthy individuals. PLOS ONE 2016;11:e0164212. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0164212.
[17] Berceanu C, Gheonea IA, Vlădăreanu S, Cîrstoiu MM, Vlădăreanu R, Mehedinţu C, et al. Ultrasound and MRI comprehensive approach in prenatal diagnosis of fetal osteochondrodysplasias. Cases series. Med Ultrason 2017;19:66–72. https://doi.org/10.11152/mu-922.
[18] Gilligan LA, Calvo-Garcia MA, Weaver KN, Kline-Fath BM. Fetal magnetic resonance imaging of skeletal dysplasias. Pediatr Radiol 2020;50:224–33. https://doi.org/10.1007/s00247-019-04537-8.
[19] Macé G, Sonigo P, Cormier-Daire V, Aubry M-C, Martinovic J, Elie C, et al. Three-dimensional helical computed tomography in prenatal diagnosis of fetal skeletal dysplasia. Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol 2013;42:161–8. https://doi.org/10.1002/uog.12298.
[20] Savarirayan R, Wilcox WR, Harmatz P, Phillips J, Polgreen LE, Tofts L, et al. Vosoritide therapy in children with achondroplasia aged 3–59 months: a multinational, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. Lancet Child Adolesc Health 2024;8:40–50. https://doi.org/10.1016/S2352-4642(23)00265-1.

[21] FDA Approves Vosoritide for Achondroplasia in Children Under 5 Years. HCP Live 2023. https://www.hcplive.com/view/fda-approves-vosoritide-achondroplasia-children-under-5-years (accessed December 3, 2024).
[22] Savarirayan R, Irving M, Maixner W, Thompson D, Offiah AC, Connolly DJ, et al. Rationale, design, and methods of a randomized, controlled, open-label clinical trial with open-label extension to investigate the safety of vosoritide in infants, and young children with achondroplasia at risk of requiring cervicomedullary decompression surgery. Sci Prog 2021;104:368504211003782. https://doi.org/10.1177/00368504211003782.
[23] Komla-Ebri D, Dambroise E, Kramer I, Benoist-Lasselin C, Kaci N, Le Gall C, et al. Tyrosine kinase inhibitor NVP-BGJ398 functionally improves FGFR3-related dwarfism in mouse model. J Clin Invest 2016;126:1871–84. https://doi.org/10.1172/JCI83926.
[24] Savarirayan R, De Bergua JM, Arundel P, McDevitt H, Cormier-Daire V, Saraff V, et al. Infigratinib in children with achondroplasia: the PROPEL and PROPEL 2 studies. Ther Adv Musculoskelet Dis 2022;14. https://doi.org/10.1177/1759720X221084848. 1759720×2210848.
[25] Legeai-Mallet L, Savarirayan R. Novel therapeutic approaches for the treatment of achondroplasia. Bone 2020;141:115579.
[26] Nabil Kaci, Justine Flipo, Anne Morice, Davide Komla-Ebri, Valentine Faure Bardon, Laurence Legeai-Mallet. Achondroplasie : le traitement in utero par infigratinib permet de corriger significativement le phénotype de nanisme des embryons murins Fgfr3Y367C/+. 2024.
[27] Orhant L, Anselem O, Fradin M, Becker PH, Beugnet C, Deburgrave N, et al. Droplet digital PCR combined with minisequencing, a new approach to analyze fetal DNA from maternal blood: application to the non-invasive prenatal diagnosis of achondroplasia. Prenat Diagn 2016;36:397–406. https://doi.org/10.1002/pd.4790.

5. Perspectives de thérapie fœtale de l'ACH

a. Rationnel

À la lumière des avancées récentes, l'idée d'initier le traitement le plus précocement possible suscite un intérêt croissant au sein des équipes médicales spécialisées dans les maladies constitutionnelles de l'os. Ceci est illustré par les nouvelles autorisations permettant d'initier – pour plus d'efficacité - le vosoritide **dès la naissance**, alors qu'il n'était jusqu'ici indiqué qu'à partir de l'âge de cinq ans [90].

L'introduction de l'infigratinib ou du vosoritide, au cours de la petite enfance , a déjà permis de modifier significativement l'évolution naturelle de la croissance chez les enfants atteints d'ACH(19,20). Étant donné que les anomalies squelettiques liées à l'ACH débutent dès la vie fœtale et que leur **détection prénatale est aujourd'hui possible** avec une sensibilité élevée, l'idée d'une intervention thérapeutique pendant le développement fœtal suscite un intérêt grandissant.

Dans ce contexte, les médicaments actuellement utilisés en pédiatrie - l'infigratinib été le vosoritide - devraient être envisagés pour une administration encore plus précoce, c'est-à-dire au cours de la vie fœtale, par voie maternelle, à condition qu'ils soient **capables de traverser le placenta** en concentrations suffisantes pour cibler efficacement le tissu osseux fœtal en développement. Nous avons donc mené ces travaux de recherche.

b. Travail (6) : Étude préclinique évaluant le passage transplacentaire de l'infigratinib, à l'aide du modèle de perfusion *ex vivo* du cotylédon humain, et son efficacité à réduire le phénotype ACH chez le fœtus dans un modèle murin.

Dans une perspective clinique de thérapie fœtale, le **traitement par infigratinib** serait administré de manière indirecte au fœtus, via la mère, qui recevrait une prise orale quotidienne d'infigratinib à partir du diagnostic prénatal jusqu'à l'accouchement. Afin d'évaluer la faisabilité et l'efficacité d'une telle approche, nous avons mené, en partenariat avec l'équipe de

recherche du Dr Legeai Mallet, une **étude préclinique complémentaire en trois volets,** combinant des approches pharmacologiques, anatomiques et *in vivo*.

iii. Méthodes

Premièrement, pour déterminer si l'infigratinib peut atteindre le compartiment fœtal, son **transfert transplacentaire a été quantifié** à l'aide du modèle *ex vivo* de perfusion placentaire humaine (circuit ouvert, 180 minutes ; n = 11 placentas du troisième trimestre issus de grossesses non compliquées). La solution maternelle contenait le médicament à une concentration cible égale à la concentration maximale utilisée en clinique, une solution de Earle, de l'albumine en conditions physiologiques pour un fœtus du 3ème trimestre de grossesse soit 30 g/L et une molécule témoin : l'antipyrine à 20g/L. Des prélèvements maternels et fœtaux étaient réalisés à intervalles réguliers pendant 180 minutes. Les concentrations étaient mesurées par chromatographie en phase liquide à haute performance. Les paramètres mesurés étaient : les concentrations maternelles (CM) et fœtales (CF), le taux de transfert materno-fœtal (TMF) (rapport de la CF sur la CM, rapportés aux volumes des compartiments maternel et fœtal).

Deuxièmement, nous avons évalué si le **placenta des mères portant un fœtus atteint d'ACH** présentait des altérations, certaines conditions materno-fœtales d'origine génétique ou métabolique pouvant en effet modifier la **taille**, la **maturation villeuse** ou la **vascularisation placentaire**, entraînant des perturbations des échanges [109,110] Nous avons conduit une analyse macroscopique et histologique de **21 placentas** issus de grossesses avec fœtus ACH.

Troisièmement, l'efficacité *in vivo* a été évaluée par l'administration quotidienne d'infigratinib à des **souris femelles gestantes porteuses de la mutation** *Fgfr3*$^{Y367C/+}$ (n = 7), du jour embryonnaire 14,5 (E14.5) – correspondant au début de l'ossification - jusqu'à la naissance. Les nouveau-nés ont été sacrifiés au premier jour postnatal (J1). Les effets du traitement *in utero* par infigratinib sur le cartilage de croissance et le développement du squelette ont été évalués chez les **souriceaux mutants traités** (n = 6) et comparés à des **témoins sauvages (***Fgfr3*$^{+/+}$, n = 11) et **mutants non traités** (*Fgfr3*$^{Y367C/+}$, n = 10), par analyses histologiques, immunohistochimiques et en micro-CT (µCT).

iv. Résultats

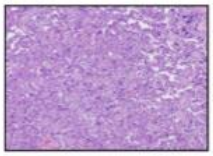
Nous avons montré que :

- **L'infigratinib traverse la barrière placentaire humaine** avec un taux de transfert médian de 34 %, atteignant des concentrations compatibles avec une efficacité thérapeutique potentielle.
- La **structure placentaire** observée chez les fœtus humains atteints d'ACH était **normale,** soutenant la transposabilité de nos résultats *ex vivo* à cette population cible.

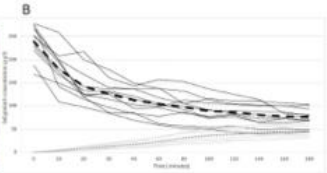
Figure 13: résultats du passage transplacentaire de l'infigratinib et de l'analyse des placentas issus de fœtus ACH

➢ **Partie 1 : Etude du passage transplacentaire de l'infigratinib**
➢ **Partie 2 : Etude histologique de placentas de fœtus humains nés ACH**

A



B



C

Time	Mean MC	SD	Mean FC	SD	Mean MV	Mean FV	Mean FTR (%)	SD	Ratio
0	239.41	36.38	0.00	0.00	246.82	250.00			
10	180.29	39.50	3.37	1.39	235.91	250.00	2.00	0.89	2%
20	141.99	37.38	8.07	3.54	236.82	249.09	5.84	2.71	6%
30	125.68	29.39	12.86	4.88	236.82	247.27	9.92	4.12	10%
40	112.57	27.33	17.10	6.04	236.82	243.64	13.90	5.40	15%
60	104.39	31.53	22.97	8.16	235.45	238.64	18.74	6.43	22%
80	97.74	29.39	31.31	9.78	234.55	232.27	24.62	6.65	32%
100	89.37	26.91	35.94	11.63	234.55	225.00	28.38	8.40	40%
120	86.88	23.74	39.30	10.66	235.45	212.73	29.61	8.43	45%
140	80.54	24.68	43.21	13.03	235.45	207.27	32.66	9.32	54%
160	77.58	20.56	44.52	12.14	234.09	200.00	33.33	8.90	57%
180	75.89	19.01	46.24	12.58	235.00	195.00	33.93	9.22	61%

N= 11 perfusions validées

- TMF moyen en fin de perfusion (180min) = **34 %** ± 9 %
- (C) Fœtale à T180 = 46,24 ± 12,58 µg/L

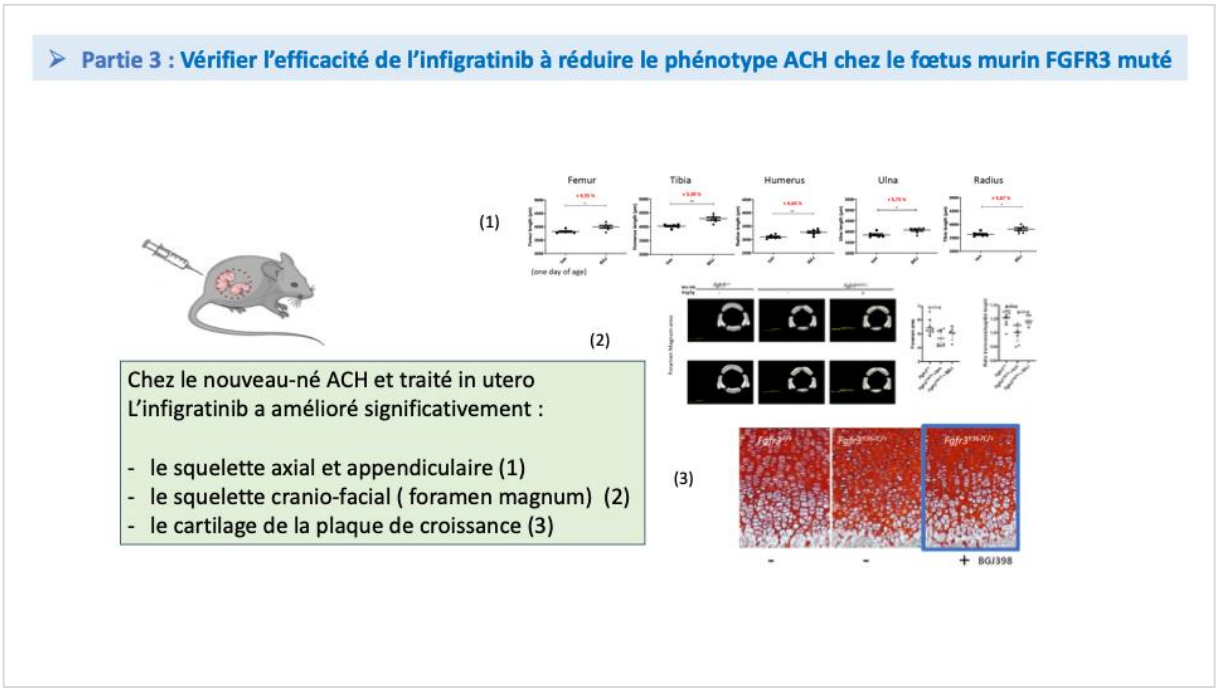
IC50 pour FGFR3 = 3,57 µg/L

Infigratinib passe la barrière placentaire humaine
La $C_{foetale}$ serait efficace dans le traitement de l'ACH

20 placentas de fœtus ACH nés à Necker :
➔ Histologie : placenta normal
➔ Pas de modification du taux de transfert attendu en population cible

– Les **souriceaux** mutants traités *in utero* présentaient une **amélioration statistiquement significative** du cartilage de la plaque de croissance, ainsi qu'un développement accru du squelette axial, appendiculaire et crâniofacial, comparativement aux témoins.

Figure 14: résultats de l'efficacité de l'infigratinib chez le souriceau traité in utero



v. *Conclusion*

Ces résultats précliniques constituent la **première preuve de concept de la faisabilité et de l'efficacité d'un traitement prénatal de l'ACH par administration maternelle d'infigratinib.**

La voie orale confère à ce traitement un avantage pratique par rapport aux thérapies injectables pendant la grossesse. L'instauration d'un traitement dès la vie fœtale, plutôt qu'en période postnatale, pourrait permettre de prévenir précocement les anomalies squelettiques, réduisant ainsi les complications à long terme et améliorant la qualité de vie. D'après les données de la littérature, le profil de tolérance maternelle semble bon mais les données de toxicité fœtale nécessitent d'être explorées.

c. Étude du passage transplacentaire du vosoritide.

Nous avons souhaité analyser le **transfert placentaire du vosoritide**, puisqu'il s'agit actuellement de la seule molécule approuvée par les autorités de santé. Nous avons formulé l'hypothèse que, en raison de ses propriétés pharmacologiques, et notamment de sa taille moléculaire élevée (4102,73 daltons), le **vosoritide ne franchirait pas la barrière placentaire.** Pour le vosoritide, six placentas ont été validés à l'aide de l'antipyrine (FTR moyen de l'antipyrine à T180 = 34 % ± 7 %).

Le dosage de la concentration du vosoritide dans ces perfusions validées nécessitaient une expertise pharmacologique non disponible dans notre laboratoire. Nous avons donc adressé ces prélèvements au laboratoire Bioagylitics (USA) en juin 2025, **les résultats des dosages seront bientôt disponibles.**

d. Article " In-Utero Therapy for Achondroplasia : Proof-of-Concept for Placental Transfer & Phenotype Rescue"

L'article " In-Utero Therapy for Achondroplasia : Proof-of-Concept for Placental Transfer & Phenotype Rescue" intégrant les résultats de ces études précliniques est en cours de rédaction. Nous attendons notamment les résultats du dosage des perfusions avec le vosoritide pour accompagner ceux obtenus avec l'infigratinib.

Discussion

1. Infection materno-fœtale à CMV.

a. Principaux résultats

Pour le **traitement de la PIM maternelle à CMV**, nos travaux ont permis :

- De confirmer que le VACV oral à forte dose (8 g/jour) constituait une stratégie efficace et bien tolérée pour réduire le risque de transmission verticale du CMV en cas de PIM en début de grossesse.

- D'établir, à partir de données cliniques *in vivo*, les profils pharmacocinétiques maternel et fœtal du VACV à forte dose.

Pour le **traitement du fœtus infecté par le CMV**, nos résultats d'exposition materno-fœtale au letermovir *in vivo*, nouvel antiviral jamais encore utilisé chez la femme enceinte, ont montré que :

- Le letermovir passe la barrière placentaire et atteint des concentrations thérapeutiques dans les organes fœtaux cibles du CMV, notamment le cerveau

- Une dose orale journalière de letermovir 240 mg permettrait d'obtenir des concentrations fœtales suffisantes pour contrôler une forte réplication virale en cas de maladie fœtale à CMV.

Pour le **traitement de l'infection maternelle et fœtale par VACV**, l'étude de **pharmacovigilance sur son usage à forte dose** permettra de répondre à un besoin critique de données en vie réelle de pharmaco- épidémiologie sur les risques maternels et fœtaux du VACV afin de guider les pratiques et sécuriser son usage.

b. Implications cliniques et de recherche

Les résultats de nos études pharmacologiques sur le VACV et le letermovir ont permis une **meilleure compréhension** du fonctionnement de ces approches thérapeutiques innovantes.

Nos résultats ont aussi permis :

- Pour le VACV, **d'éclairer les autorités sanitaires** compétentes sur son efficacité en cas de séroconversion maternelle à CMV identifiée en début de grossesse et **de les aider dans leur prise de décision** – en juin 2025 - de mettre en place un dépistage systématique du CMV pendant la grossesse pour toutes les femmes enceintes en France[40]. Cette stratégie de dépistage recommandée par la HAS étant réévaluée d'ici trois ans cela a motivé la mise en œuvre de notre étude de pharmaco-épidémiologie. **En cas de résultats rassurants, notre étude pourrait contribuer à la poursuite de cette stratégie** thérapeutique, avec un impact direct sur la prévention de la transmission mais aussi sur les séquelles auditives et neurologiques liées au CMV congénital. À l'inverse, tout signal de risque permettrait une révision rapide des pratiques actuelles.

- Pour le letermovir, d**'établir une base pharmacologique solide** en faveur de son utilisation dans le traitement du fœtus infecté. Son administration orale une fois par jour représente un avantage majeur par rapport au VACV qui nécessite la prise de seize comprimés de 500 mg par jour en France. Afin de confirmer l'efficacité réelle du letermovir en population cible – fœtus infecté- nous avons lancé un second essai clinique. **Cette deuxième phase** consiste en une étude randomisée, contrôlée par placebo, comparant l'efficacité du letermovir 240 mg/24h à celle du VACV 8 g/jour dans le traitement des fœtus infectés par le CMV. Le r**ecrutement est en cours**. Un enjeu majeur à considérer pour l'usage thérapeutique du letermovir est le risque de résistance, observé dans 10 à 20 % des cas chez des patients immunodéprimés avec infection active à CMV. Cette problématique devra être explorée dans les études futures.

2. Achondroplasie

a. Principaux résultats

Notre étude observationnelle descriptive des cas d'ACH a montré que le diagnostic prénatal de l'ACH était associé à un **taux élevé de demande d'IMG** survenues au troisième trimestre de la grossesse ; que **l'atteinte ostéo-cartilagineuse fœtale est sévère et précoce** et que **l'IRM fœtale était performante** pour dépister une sténose du foramen magnum ayant nécessité une chirurgie néonatale de décompression médullaire.

Notre étude préclinique est la première à explorer le **potentiel de l'infigratinib dans le traitement des fœtus atteints d'ACH.** Nos résultats indiquent que l'infigratinib traverse la barrière placentaire humaine, que la structure placentaire dans l'ACH fœtale est normale — et donc peu susceptible de modifier ce transfert —, et que les concentrations fœtales obtenues seraient efficaces pour traiter le fœtus. Nos résultats chez la souris gestante mutée montrent que l'administration *in utero* de l'infigratinib corrige significativement le phénotype d'ACH chez le nouveau-né. Au-delà du nanisme, le traitement réduit aussi le risque de sténose du foramen magnum, et donc de compression médullaire — une complication potentiellement létale.

b. Implications cliniques et de recherche

L'infigratinib présente un profil de transfert placentaire favorable et une efficacité prometteuse pour traiter l'ACH fœtale. Ces résultats précliniques constituent un **fondement pharmacologique et clinique** solide avant toute étude *in vivo.*

Pour toutes les patientes concernées par un diagnostic d'ACH chez leurs fœtus, une information claire et intelligible sur les possibilités thérapeutiques postnatales et les travaux de recherche en cours, devrait être systématiquement délivrée car cela pourrait contribuer à leur prise de décision de poursuivre ou non la grossesse. Pour les patientes souhaitant poursuivre la grossesse, **intégrer la réalisation d'une IRM fœtale cérébrale dans le parcours de soin** - afin d'évaluer le risque de complications neurologiques sévères - pourrait contribuer à améliorer la prise en charge des nouveau-nés ACH. Cependant, il serait intéressant d'évaluer la performance diagnostique de l'IRM dans cette indication à plus grande échelle.

Conclusion

Ce travail de thèse a cherché à évaluer l'efficacité et la sécurité des antiviraux dans le CMV congénital et d'explorer de nouvelles stratégies thérapeutiques prénatales pour l'ACH.

Ces travaux de recherche s'inscrivent au **carrefour de la pharmacologie médicale appliquée et de la médecine fœtale,** avec pour ambition de fonder, sur des preuves robustes, des stratégies thérapeutiques innovantes pour ces pathologies graves du fœtus. Qu'il s'agisse de l'infection à CMV ou de l'ACH, chaque projet mené reposait sur une démarche scientifique rigoureuse, mêlant études *in vivo*, approches *ex vivo*, données de pharmacocinétique materno-fœtale, modèles animaux, et essais cliniques précoces. **L'originalité de ces approches** réside dans l'application concrète de principes pharmacologiques à la dyade mère–fœtus, une entité unique et dynamique, nécessitant des outils méthodologiques spécifiques pour garantir à la fois efficacité, sécurité et pertinence clinique.

Mener des études thérapeutiques chez le fœtus reste un **défi majeur**. Les maladies ciblées sont souvent rares, ce qui limite le recrutement et complique la construction de cohortes statistiquement robustes. À cela s'ajoutent des **contraintes réglementaires** strictes encadrant toute intervention durant la grossesse, avec des **exigences éthiques** renforcées face à un double enjeu de sécurité maternelle et fœtale. L'accès direct au compartiment fœtal est extrêmement limité, rendant difficile l'évaluation des concentrations médicamenteuses fœtales et des effets biologiques *in utero*. De plus, la dynamique propre au développement fœtal complexifie encore l'interprétation des réponses thérapeutiques. Ces obstacles exigent des **méthodologies spécifiques et intégrées,** combinant données *in vivo* et modélisations pharmacocinétiques ou physiologiquement basées non seulement pour valider ces modèles, mais aussi pour extrapoler les résultats et en garantir la validité externe.

Face à ces enjeux, replacer le fœtus malade au cœur de la réflexion éthique apparaît fondamental, non comme un sujet isolé, mais au sein d'une relation indissociable avec sa mère. C'est en reconnaissant pleinement l'autonomie décisionnelle des femmes enceintes, tout en leur offrant des données fiables, transparentes et actuelles, que la recherche thérapeutique peut véritablement servir une médecine fœtale éthique, éclairée, et résolument tournée vers l'avenir.

Annexes

1. Annexe 1 : Présentations aux congrès

a. Travaux sur l'infection congénitale à CMV

Ces travaux ont été présentés aux congrès suivants :

- **CMV 2023, 3rd Congress on Congenital Cytomegalovirus**. From Pregnancy to Infancy: Let's face it ; 23-24 novembre 2023 , Naples , Italie.
  Communication orale: *CMV : Intrauterine Treatments Pharmacological Updates*

- **Club Francophone de Médecine Fœtale**; Journées annuelles des Centres Pluridisciplinaires de Diagnostic Prénatal Français ; 14-16 mai 2025, Annecy, France.
  Communication orale : *Pharmacologie des traitements innovants de l'infection cCMV : vers une meilleure compréhension de l'efficacité thérapeutique*

- **Fetal Medicine Foundation** , 22nd World Congress in Fetal Medicine ; 29 juin- 3 juillet 2025, Prague, République Tchèque
  Poster : *Quantification of maternal and fetal valacyclovir exposure in a pharmacokinetic study of CMV infected pregnant women treated to prevent vertical transmission*
  Poster : *In Vivo Quantification of Maternal and Fetal Exposure to Letermovir: Building a Pharmacological Rationale for Congenital CMV Therapy*

c. Travaux sur l'achondroplasie

Ces travaux ont été présentées aux **congrès** suivants :

- **Paris Santé Femme**, congrès du Collège National des Gynécologues Obstétriciens Français , janvier 2024 , Paris, France
  Poster : *Achondroplasie en période prénatale : Apport de l'IRM fœtale et Evaluation du Passage Transplacentaire de Traitement Candidat*

- **Journées de l'imagerie de la femme et du fœtus**, (JIFF) 29-30 novembre 2024, Paris, France
  Communication orale : *« Achondroplasie Fœtale : Diagnostic prénatal, Pronostic et Perspectives »*

- **Fetal Medicine Foundation**, 22nd World Congress in Fetal Medicine ; 29 juin- 3 juillet 2025, Prague, République Tchèque
  Poster : *Towards In Utero Therapy for Achondroplasia : Proof of Concept for Transplacental Passage and Foetal Efficacy of Infigratinib*

- **30ème Journée de Médecine Fœtale**, 25-27 septembre 2025, Aix en Provence, France
  Communication orale : *« Innovations thérapeutiques et achondroplasie : quels impacts sur le discours prénatal ?»*

2. Annexe 2 : Liste des figures du manuscrit

Figure 1 . Fiche pratique proposée par l'ANSM concernant les risques embryologique et fœtaux des médicaments pris pendant la grossesse[21]. 17
Figure 2 Contraintes et enjeux d'un traitement prénatal 19
Figure 3: Schéma de la chaine de perfusion de cotylédon en circuit fermé 24
Figure 4. Synthèse des études menées dans la thèse sur l'infection congénitale à CMV. En violet les outils et méthodes pharmacologiques utilisés pour mener à bien ces travaux de recherche. 29
Figure 5: Résumé graphique de l'article visant à évaluer la pharmacocinétique maternelle et fœtale du VACV 8g/ j donné dans le cadre d'une PIM à CMV 45
Figure 6: Physiopathologie de l'infection congénitale à CMV en cas de PIM du début de grossesse : symptomes/ signes échographiques d'atteinte fœtale conduisant au handicap neuro-sensoriel. 58
Figure 7: Résumé graphique de l'article évaluant l'exposition maternelle et foetale au letermovir 62
Figure 8 représentation des différentes voies de signalisation activés par la liaison du ligand FGF à son récepteur le FGFR3 dans les cellules chondrocytaires [75,76] 102

Figure 9 : Résultats des études cliniques montrant l'efficacité du vosoritide et de l'infigratinib en pédiatrie 106
Figure 10: Synthèse sur les travaux réalisés sur l'ACH prénatale 109
Figure 11 Comparaison des images IRM pré et post natale du foramen magnum chez un fœtus/enfant ACH. L'IRM prénatale du fœtus atteint est aussi comparée à celle d'un fœtus sain au même âge gestationnel (33 SA) 112
Figure 12 : Résumé graphique de l'article publié : Foetal achondroplasia : Prenatal diagnosis, outcome and perspectives. 115
Figure 13: résultats du passage transplacentaire de l'infigratinib et de l'analyse des placentas issus de fœtus ACH 128
Figure 14: résultats de l'efficacité de l'infigratinib chez le souriceau traité in utero 129

3. Annexe 3 : Liste des tableaux du manuscrit

Tableau 1. Paramètres modifiant le transfert placentaire des médicaments 16
Tableau 2 Le SNDS : caractéristiques, apports et limites en périnatalité 28

Références

1. CDC. About Birth Defects. Birth Defects. February 25, 2025. Accessed July 17, 2025. https://www.cdc.gov/birth-defects/about/index.html
2. European Platform on Rare Disease Registration. Accessed February 2, 2024. https://eu-rd-platform.jrc.ec.europa.eu
3. Leruez-Ville M, Magny JF, Couderc S, Pichon C, Parodi M, Bussières L, Guilleminot T, Ghout I, Ville Y. Risk Factors for Congenital Cytomegalovirus Infection Following Primary and Nonprimary Maternal Infection: A Prospective Neonatal Screening Study Using Polymerase Chain Reaction in Saliva. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2017;65(3):398-404. doi:10.1093/cid/cix337
4. Leruez-Ville M, Foulon I, Pass R, Ville Y. Cytomegalovirus infection during pregnancy: state of the science. *Am J Obstet Gynecol*. Published online February 24, 2020. doi:10.1016/j.ajog.2020.02.018
5. Faure-Bardon V, Millischer AE, Deloison B, Sonigo P, Grévent D, Salomon L, Stirnemann J, Nicloux M, Magny JF, Leruez-Ville M, Ville Y. Refining the prognosis of fetuses infected with Cytomegalovirus in the first trimester of pregnancy by serial prenatal assessment: a single-centre retrospective study. *BJOG Int J Obstet Gynaecol*. 2020;127(3):355-362. doi:10.1111/1471-0528.15935
6. Chatzakis C, Ville Y, Makrydimas G, Dinas K, Zavlanos A, Sotiriadis A. Timing of primary maternal cytomegalovirus infection and rates of vertical transmission and fetal consequences. *Am J Obstet Gynecol*. 2020;223(6):870-883.e11. doi:10.1016/j.ajog.2020.05.038
7. Guerra B, Simonazzi G, Puccetti C, Lanari M, Farina A, Lazzarotto T, Rizzo N. Ultrasound prediction of symptomatic congenital cytomegalovirus infection. *Am J Obstet Gynecol*. 2008;198(4):380.e1-380.e7. doi:10.1016/j.ajog.2007.09.052
8. Picone O, Vauloup-Fellous C, Cordier AG, Guitton S, Senat MV, Fuchs F, Ayoubi JM, Grangeot Keros L, Benachi A. A series of 238 cytomegalovirus primary infections during pregnancy: description and outcome. *Prenat Diagn*. 2013;33(8):751-758. doi:10.1002/pd.4118
9. Pass RF, Fowler KB, Boppana SB, Britt WJ, Stagno S. Congenital cytomegalovirus infection following first trimester maternal infection: symptoms at birth and outcome. *J Clin Virol Off Publ Pan Am Soc Clin Virol*. 2006;35(2):216-220. doi:10.1016/j.jcv.2005.09.015
10. Faure-Bardon V, Magny JF, Parodi M, Couderc S, Garcia P, Maillotte AM, Benard M, Pinquier D, Astruc D, Patural H, Pladys P, Parat S, Guillois B, Garenne A, Bussières L, Guilleminot T, Stirnemann J, Ghout I, Ville Y, Leruez-Ville M. Sequelae of congenital cytomegalovirus (cCMV) following maternal primary infection are limited to those acquired in the first trimester of pregnancy. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. Published online December 31, 2018. doi:10.1093/cid/ciy1128
11. Cormier-Daire V, AlSayed M, Alves I, Bengoa J, Ben-Omran T, Boero S, Fredwall S, Garel C, Guillen-Navarro E, Irving M, Lampe C, Maghnie M, Mortier G, Sousa SB, Mohnike K. Optimising the diagnosis and referral of achondroplasia in Europe: European Achondroplasia Forum best practice recommendations. *Orphanet J Rare Dis*. 2022;17(1):293. doi:10.1186/s13023-022-02442-2
12. Vallin AL, Grévent D, Bessières B, Salomon LJ, Legeai-Mallet L, Cormier-Daire V, Baujat G, Ville Y, Faure-Bardon V. Foetal achondroplasia: Prenatal diagnosis, outcome and perspectives. *J Gynecol Obstet Hum Reprod*. 2025;54(2):102891. doi:10.1016/j.jogoh.2024.102891

13. Boulet S, Althuser M, Nugues F, Schaal JP, Jouk PS. Prenatal diagnosis of achondroplasia: new specific signs. *Prenat Diagn*. 2009;29(7):697-702. doi:10.1002/pd.2280
14. Berceanu C, Gheonea IA, Vlădăreanu S, Cîrstoiu MM, Vlădăreanu R, Mehedinţu C, Berceanu S, Ciortea R, Brătilă E. Ultrasound and MRI comprehensive approach in prenatal diagnosis of fetal osteochondrodysplasias. Cases series. *Med Ultrason*. 2017;19(1):66-72. doi:10.11152/mu-922
15. Wrobel W, Pach E, Ben-Skowronek I. Advantages and Disadvantages of Different Treatment Methods in Achondroplasia: A Review. *Int J Mol Sci*. 2021;22(11):5573. doi:10.3390/ijms22115573
16. Savarirayan R, Tofts L, Irving M, Wilcox W, Bacino CA, Hoover-Fong J, Ullot Font R, Harmatz P, Rutsch F, Bober MB, Polgreen LE, Ginebreda I, Mohnike K, Charrow J, Hoernschemeyer D, Ozono K, Alanay Y, Arundel P, Kagami S, Yasui N, White KK, Saal HM, Leiva-Gea A, Luna-González F, Mochizuki H, Basel D, Porco DM, Jayaram K, Fisheleva E, Huntsman-Labed A, Day J. Once-daily, subcutaneous vosoritide therapy in children with achondroplasia: a randomised, double-blind, phase 3, placebo-controlled, multicentre trial. *The Lancet*. 2020;396(10252):684-692. doi:10.1016/S0140-6736(20)31541-5
17. Savarirayan R, De Bergua JM, Arundel P, McDevitt H, Cormier-Daire V, Saraff V, Skae M, Delgado B, Leiva-Gea A, Santos-Simarro F, Salles JP, Nicolino M, Rossi M, Kannu P, Bober MB, Phillips J, Saal H, Harmatz P, Burren C, Gotway G, Cho T, Muslimova E, Weng R, Rogoff D, Hoover-Fong J, Irving M. Infigratinib in children with achondroplasia: the PROPEL and PROPEL 2 studies. *Ther Adv Musculoskelet Dis*. 2022;14:1759720X2210848. doi:10.1177/1759720X221084848
18. Evain-Brion D, Berveiller P, Gil S. [Placental transfer of drugs]. *Therapie*. 2014;69(1):3-11. doi:10.2515/therapie/2014002
19. Bouazza N, Foissac F, Hirt D, Urien S, Benaboud S, Lui G, Treluyer JM. Methodological Approaches to Evaluate Fetal Drug Exposure. *Curr Pharm Des*. 2019;25(5):496-504. doi:10.2174/1381612825666190319102812
20. Krauer B, Dayer P, Anner R. Changes in serum albumin and alpha 1-acid glycoprotein concentrations during pregnancy: an analysis of fetal-maternal pairs. *Br J Obstet Gynaecol*. 1984;91(9):875-881.
21. ANSM_Dossier thématique - Médicaments et grossesse. ANSM. Accessed July 9, 2025. https://ansm.sante.fr/dossiers-thematiques/medicaments-et-grossesse
22. Heijden JEMVD, Hove HV, Elst NMV, Broek PVD, Drongelen JV, Scheepers HCJ, Wildt SND, Greupink R. Optimization of the betamethasone and dexamethasone dosing regimen during pregnancy: a combined placenta perfusion and pregnancy physiologically based pharmacokinetic modeling approach. *Am J Obstet Gynecol*. 2024;0(0). doi:10.1016/j.ajog.2024.05.012
23. Abduljalil K, Jamei M, Johnson TN. Fetal Physiologically Based Pharmacokinetic Models: Systems Information on the Growth and Composition of Fetal Organs. *Clin Pharmacokinet*. 2019;58(2):235-262. doi:10.1007/s40262-018-0685-y
24. Dallmann A, Solodenko J, Ince I, Eissing T. Applied Concepts in PBPK Modeling: How to Extend an Open Systems Pharmacology Model to the Special Population of Pregnant Women. *CPT Pharmacomet Syst Pharmacol*. 2018;7(7):419-431. doi:10.1002/psp4.12300
25. Ezuruike U, Zhang M, Pansari A, De Sousa Mendes M, Pan X, Neuhoff S, Gardner I. Guide to development of compound files for PBPK modeling in the Simcyp population-based simulator. *CPT Pharmacomet Syst Pharmacol*. 2022;11(7):805-821. doi:10.1002/psp4.12791
26. Abduljalil K, Furness P, Johnson TN, Rostami-Hodjegan A, Soltani H. Anatomical, Physiological and Metabolic Changes with Gestational Age during Normal Pregnancy. *Clin Pharmacokinet*. 2012;51(6):365-396. doi:10.2165/11597440-000000000-00000

27. Jr H, F GB, A D, G K. The human placental perfusion model: a systematic review and development of a model to predict in vivo transfer of therapeutic drugs. *Clin Pharmacol Ther*. 2011;90(1). doi:10.1038/clpt.2011.66
28. Kumar AR, Benson LS, Wymore EM, Phipers JE, Dempsey JC, Cort LA, Unadkat JD. Quantification and prediction of human fetal (-)-Δ9-tetrahydrocannabinol/(±)-11-OH-Δ9-tetrahydrocannabinol exposure during pregnancy to inform fetal cannabis toxicity. *Nat Commun*. 2025;16(1):824. doi:10.1038/s41467-025-55863-5
29. Schneider H, Panigel M, Dancis J. Transfer across the perfused human placenta of antipyrine, sodium and leucine. *Am J Obstet Gynecol*. 1972;114(6):822-828. doi:10.1016/0002-9378(72)90909-x
30. Pf C, L M, R F, F F, S G. [Contributions of the ex vivo human perfused placenta in the study of placental transfer of drugs]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*. 2010;39(8). doi:10.1016/j.jgyn.2010.06.010
31. De Sousa Mendes M, Hirt D, Vinot C, Valade E, Lui G, Pressiat C, Bouazza N, Foissac F, Blanche S, Lê MP, Peytavin G, Treluyer JM, Urien S, Benaboud S. Prediction of human fetal pharmacokinetics using ex vivo human placenta perfusion studies and physiologically based models. *Br J Clin Pharmacol*. 2016;81(4):646-657. doi:10.1111/bcp.12815
32. Huang H, Wang J, Li Q, Duan J, Yao Q, Zheng Q, Wang J, Wu D, Zhou Q, Tian Y, Zhang J. Transplacental transfer of oseltamivir phosphate and its metabolite oseltamivir carboxylate using the ex vivo human placenta perfusion model in Chinese Hans population. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2017;30(11):1288-1292. doi:10.1080/14767058.2016.1211634
33. Schneider H, Albrecht C, Ahmed MS, Broekhuizen M, Aengenheister L, Buerki-Thurnherr T, Danser AHJ, Gil S, Hansson SR, Greupink R, Lewis RM, Markert UR, Mathiesen L, Powles-Glover N, Wadsack C, Brownbill P. Ex vivo dual perfusion of an isolated human placenta cotyledon: Towards protocol standardization and improved inter-centre comparability. *Placenta*. 2022;126:83-89. doi:10.1016/j.placenta.2022.05.003
34. Berveiller P. *Cancer du sein pendant la grossesse : interactions des taxanes avec le trophoblaste humain par une approche ex vivo et in vitro*. phdthesis. Université René Descartes - Paris V; 2014. Accessed June 2, 2023. https://theses.hal.science/tel-01165040
35. Challier JC. Criteria for evaluating perfusion experiments and presentation of results. *Contrib Gynecol Obstet*. 1985;13:32-39.
36. Evain-Brion D, Berveiller P, Gil S. [Placental transfer of drugs]. *Therapie*. 2014;69(1):3-11. doi:10.2515/therapie/2014002
37. Alsaied T, Baskar S, Fares M, Alahdab F, Czosek RJ, Murad MH, Prokop LJ, Divanovic AA. First-Line Antiarrhythmic Transplacental Treatment for Fetal Tachyarrhythmia: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Am Heart Assoc*. 2017;6(12):e007164. doi:10.1161/JAHA.117.007164
38. Leruez-Ville M, Ghout I, Bussières L, Stirnemann J, Magny JF, Couderc S, Salomon LJ, Guilleminot T, Aegerter P, Benoist G, Winer N, Picone O, Jacquemard F, Ville Y. In utero treatment of congenital cytomegalovirus infection with valacyclovir in a multicenter, open-label, phase II study. *Am J Obstet Gynecol*. 2016;215(4):462.e1-462.e10. doi:10.1016/j.ajog.2016.04.003
39. Shahar-Nissan K, Pardo J, Peled O, Krause I, Bilavsky E, Wiznitzer A, Hadar E, Amir J. Valaciclovir to prevent vertical transmission of cytomegalovirus after maternal primary infection during pregnancy: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *The Lancet*. 2020;396(10253):779-785. doi:10.1016/S0140-6736(20)31868-7
40. Cytomégalovirus (CMV) chez la femme enceinte : la HAS recommande un dépistage systématique pour toutes à réévaluer après 3 ans de mise en œuvre. Haute Autorité de Santé. Accessed June 18, 2025. https://www.has-sante.fr/jcms/p_3610208/fr/cytomegalovirus-cmv-

chez-la-femme-enceinte-la-has-recommande-un-depistage-systematique-pour-toutes-a-reevaluer-apres-3-ans-de-mise-en-oeuvre
41. 2. Le SNDS en bref | Documentation du SNDS & SNDS OMOP. Accessed July 23, 2025. https://documentation-snds.health-data-hub.fr/snds/formation_snds/initiation/snds_en_bref.html
42. Blotière PO, Damase-Michel C, Weill A, Maura G. Dispensing of Potentially Harmful Prescription Drugs in 1.8 Million Pregnant Women in France: A Nationwide Study Based on Two Risk Classification Systems. *Drug Saf*. 2021;44(12):1323-1339. doi:10.1007/s40264-021-01117-4
43. Louchet M, Collier M, Beeker N, Mandelbrot L, Sibiude J, Chouchana L, Treluyer JM. Trends in harmful drug exposure during pregnancy in France between 2013 and 2019: A nationwide cohort study. *PloS One*. 2024;19(1):e0295897. doi:10.1371/journal.pone.0295897
44. Lacroix I, Hurault C, Sarramon MF, Guitard C, Berrebi A, Grau M, Albouy-Cossard C, Bourrel R, Elefant E, Montastruc JL, Damase-Michel C. Prescription of drugs during pregnancy: a study using EFEMERIS, the new French database. *Eur J Clin Pharmacol*. 2009;65(8):839-846. doi:10.1007/s00228-009-0647-2
45. Ferrer E, Delteil L, Caillet A, Karam F, Lacroix I. Tramadol During Pregnancy: Risk of Adverse Pregnancy Outcome and Major Congenital Anomalies. A Comparative Study in the EFEMERIS Database. *Pharmacoepidemiol Drug Saf*. 2025;34(4):e70143. doi:10.1002/pds.70143
46. Tran ATQ. *In-utero exposure to antibiotics and risk of major congenital malformations : analysis from the French Health Data System (SNDS)*. thesis. Université Paris Cité; 2024. Accessed July 18, 2025.
47. Faure-Bardon V, Fourgeaud J, Stirnemann J, Leruez-Ville M, Ville Y. Secondary prevention of congenital cytomegalovirus infection with valacyclovir following maternal primary infection in early pregnancy. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2021;58(4):576-581. doi:10.1002/uog.23685
48. Egloff C, Sibiude J, Vauloup-Fellous C, Benachi A, Bouthry E, Biquard F, Hawkins-Villarreal A, Houhou-Fidouh N, Mandelbrot L, Vivanti AJ, Picone O. New data on efficacy of valacyclovir in secondary prevention of maternal-fetal transmission of cytomegalovirus. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol*. 2023;61(1):59-66. doi:10.1002/uog.26039
49. Leruez-Ville M, Ville Y. Fetal cytomegalovirus infection. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2017;38:97-107. doi:10.1016/j.bpobgyn.2016.10.005
50. Gabrielli L, Bonasoni MP, Santini D, Piccirilli G, Chiereghin A, Petrisli E, Dolcetti R, Guerra B, Piccioli M, Lanari M, Landini MP, Lazzarotto T. Congenital cytomegalovirus infection: patterns of fetal brain damage. *Clin Microbiol Infect*. 2012;18(10):E419-E427. doi:10.1111/j.1469-0691.2012.03983.x
51. Leruez-Ville M, Stirnemann J, Sellier Y, Guilleminot T, Dejean A, Magny JF, Couderc S, Jacquemard F, Ville Y. Feasibility of predicting the outcome of fetal infection with cytomegalovirus at the time of prenatal diagnosis. *Am J Obstet Gynecol*. 2016;215(3):342.e1-9. doi:10.1016/j.ajog.2016.03.052
52. Sellier Y, Marliot F, Bessières B, Stirnemann J, Encha-Razavi F, Guilleminot T, Haicheur N, Pages F, Ville Y, Leruez-Ville M. Adaptive and Innate Immune Cells in Fetal Human Cytomegalovirus-Infected Brains. *Microorganisms*. 2020;8(2):176. doi:10.3390/microorganisms8020176
53. Kimberlin DW, Jester PM, Sánchez PJ, Ahmed A, Arav-Boger R, Michaels MG, Ashouri N, Englund JA, Estrada B, Jacobs RF, Romero JR, Sood SK, Whitworth MS, Abzug MJ, Caserta MT, Fowler S, Lujan-Zilbermann J, Storch GA, DeBiasi RL, Han JY, Palmer A, Weiner LB, Bocchini JA, Dennehy PH, Finn A, Griffiths PD, Luck S, Gutierrez K, Halasa N,

Homans J, Shane AL, Sharland M, Simonsen K, Vanchiere JA, Woods CR, Sabo DL, Aban I, Kuo H, James SH, Prichard MN, Griffin J, Giles D, Acosta EP, Whitley RJ. Valganciclovir for Symptomatic Congenital Cytomegalovirus Disease. *N Engl J Med*. 2015;372(10):933-943. doi:10.1056/NEJMoa1404599
54. Contejean A, Leruez-Ville M, Treluyer JM, Tsatsaris V, Ville Y, Charlier C, Chouchana L. Assessing the risk of adverse pregnancy outcomes and birth defects reporting in women exposed to ganciclovir or valganciclovir during pregnancy: a pharmacovigilance study. *J Antimicrob Chemother*. 2023;78(5):1265-1269. doi:10.1093/jac/dkad087
55. Bourgon N, Lopez R, Fourgeaud J, Guilleminot T, Bussières L, Magny JF, Ville Y, Leruez Ville M. In utero treatment of congenital cytomegalovirus infection with valganciclovir: an observational study on safety and effectiveness. *J Antimicrob Chemother*. 2024;79(10):2500-2508. doi:10.1093/jac/dkae247
56. Lowance D, Neumayer HH, Legendre CM, Squifflet JP, Kovarik J, Brennan PJ, Norman D, Mendez R, Keating MR, Coggon GL, Crisp A, Lee IC. Valacyclovir for the Prevention of Cytomegalovirus Disease after Renal Transplantation. http://dx.doi.org.sirius.parisdescartes.fr/10.1056/NEJM199905133401903. doi:10.1056/NEJM199905133401903
57. Jacquemard F, Yamamoto M, Costa JM, Romand S, Jaqz-Aigrain E, Dejean A, Daffos F, Ville Y. Maternal administration of valaciclovir in symptomatic intrauterine cytomegalovirus infection. *BJOG Int J Obstet Gynaecol*. 2007;114(9):1113-1121. doi:10.1111/j.1471-0528.2007.01308.x
58. Faure-Bardon V, Bouazza N, Benaboud S, Foissac F, Rouillon S, Froelicher-Bournaud L, Leruez-Ville M, Guilleminot T, Lui G, Tréluyer JM, Ville Y. Quantification of maternal and fetal valaciclovir exposure in a pharmacokinetic study of cytomegalovirus-infected pregnant women treated to prevent vertical transmission. *J Antimicrob Chemother*. Published online January 15, 2025:dkae470. doi:10.1093/jac/dkae470
59. Pasternak B, Hviid A. Use of acyclovir, valacyclovir, and famciclovir in the first trimester of pregnancy and the risk of birth defects. *JAMA*. 2010;304(8):859-866. doi:10.1001/jama.2010.1206
60. Stoelben S, Arns W, Renders L, Hummel J, Mühlfeld A, Stangl M, Fischereder M, Gwinner W, Suwelack B, Witzke O, Dürr M, Beelen DW, Michel D, Lischka P, Zimmermann H, Rübsamen-Schaeff H, Budde K. Preemptive treatment of Cytomegalovirus infection in kidney transplant recipients with letermovir: results of a Phase 2a study. *Transpl Int*. 2014;27(1):77-86. doi:10.1111/tri.12225
61. Marty FM, Ljungman P, Chemaly RF, Maertens J, Dadwal SS, Duarte RF, Haider S, Ullmann AJ, Katayama Y, Brown J, Mullane KM, Boeckh M, Blumberg EA, Einsele H, Snydman DR, Kanda Y, DiNubile MJ, Teal VL, Wan H, Murata Y, Kartsonis NA, Leavitt RY, Badshah C. Letermovir Prophylaxis for Cytomegalovirus in Hematopoietic-Cell Transplantation. *N Engl J Med*. 2017;377(25):2433-2444. doi:10.1056/NEJMoa1706640
62. PREVYMIS (letermovir) Tablets and PREVYMIS (letermovir) Injection. Accessed May 29, 2018. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2017/209939Orig1s000,209940Orig1s000TOC.cfm
63. Bardon VF, Peytavin G, Lê MP, Guilleminot T, Elefant E, Stirnemann J, Leruez-Ville M, Ville Y. Placental transfer of Letermovir & Maribavir in the ex vivo human cotyledon perfusion model. New perspectives for in utero treatment of congenital cytomegalovirus infection. *PLOS ONE*. 2020;15(4):e0232140. doi:10.1371/journal.pone.0232140
64. Assistance Publique - Hôpitaux de Paris. *Prenatal Treatment of Congenital Cytomegalovirus Infection With Letermovir Randomized Against Valaciclovir (Step 2)*. clinicaltrials.gov; 2023. Accessed January 1, 2023.

https://clinicaltrials.gov/study/NCT05446571
65. Shahar-Nissan K, Pardo J, Peled O, Krause I, Bilavsky E, Bilavsky E, Wiznitzer A, Hadar E, Amir J. LB20. Valacyclovir to Prevent Vertical Transmission of Cytomegalovirus After Maternal Primary Infection During Pregnancy. *Open Forum Infect Dis*. 2019;6(Suppl 2):S1002. doi:10.1093/ofid/ofz415.2503
66. Leruez-Ville M, Chatzakis C, Lilleri D, Blazquez-Gamero D, Alarcon A, Bourgon N, Foulon I, Fourgeaud J, Gonce A, Jones CE, Klapper P, Krom A, Lazzarotto T, Lyall H, Paixao P, Papaevangelou V, Puchhammer E, Sourvinos G, Vallely P, Ville Y, Vossen A. Consensus recommendation for prenatal, neonatal and postnatal management of congenital cytomegalovirus infection from the European congenital infection initiative (ECCI). *Lancet Reg Health – Eur*. 2024;40. doi:10.1016/j.lanepe.2024.100892
67. Valaciclovir – Grossesse – Le CRAT. March 15, 2024. Accessed June 18, 2025. https://www.lecrat.fr/8595/
68. Acyclovir (Zovirax®) / Valacyclovir (Valtrex®). In: *MotherToBaby | Fact Sheets*. Organization of Teratology Information Specialists (OTIS); 1994. Accessed June 16, 2025. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK582557/
69. Chatzakis C, Shahar-nissan K, Faure-bardon V, Picone O, Hadar E, Amir J, Egloff C, Vivanti A, Sotiriadis A, Leruez-ville M, Ville Y. The effect of valacyclovir on secondary prevention of congenital cytomegalovirus infection, following primary maternal infection acquired periconceptionally or in the first trimester of pregnancy. An individual patient data meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol*. Published online July 18, 2023. doi:10.1016/j.ajog.2023.07.022
70. Appel à projets 2025 - études de pharmaco-épidémiologie. EPI-PHARE. Accessed July 23, 2025. https://www.epi-phare.fr/appel-a-projets-2025/
71. Horton WA, Hall JG, Hecht JT. Achondroplasia. *Lancet Lond Engl*. 2007;370(9582):162-172. doi:10.1016/S0140-6736(07)61090-3
72. Dakouane Giudicelli M, Serazin V, Le Sciellour CR, Albert M, Selva J, Giudicelli Y. Increased achondroplasia mutation frequency with advanced age and evidence for G1138A mosaicism in human testis biopsies. *Fertil Steril*. 2008;89(6):1651-1656. doi:10.1016/j.fertnstert.2007.04.037
73. Velinov M, Slaugenhaupt SA, Stoilov I, Scott CI, Gusella JF, Tsipouras P. The gene for achondroplasia maps to the telomeric region of chromosome 4p. *Nat Genet*. 1994;6(3):314-317. doi:10.1038/ng0394-314
74. Baujat G, Legeai-Mallet L, Finidori G, Cormier-Daire V, Le Merrer M. Achondroplasia. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2008;22(1):3-18. doi:10.1016/j.berh.2007.12.008
75. Mahé Mélanie. *Caractérisation Des Voies de Signalisation Des Oncogènes FGFR3 Muté et FGFR3-TACC3 Dans Les Carcinomes de Vessie*. Université Paris-Sud, école doctorale de cancérologie; 2015.
76. Fafilek B, Bosakova M, Krejci P. Expanding horizons of achondroplasia treatment: current options and future developments. *Osteoarthritis Cartilage*. 2022;30(4):535-544. doi:10.1016/j.joca.2021.11.017
77. Pauli RM. Achondroplasia: a comprehensive clinical review. *Orphanet J Rare Dis*. 2019;14(1):1. doi:10.1186/s13023-018-0972-6
78. Wrobel W, Pach E, Ben-Skowronek I. Advantages and Disadvantages of Different Treatment Methods in Achondroplasia: A Review. *Int J Mol Sci*. 2021;22(11):5573. doi:10.3390/ijms22115573
79. Constantinides C, Landis SH, Jarrett J, Quinn J, Ireland PJ. Quality of life, physical functioning, and psychosocial function among patients with achondroplasia: a targeted literature review. *Disabil Rehabil*. 2022;44(21):6166-6178.

doi:10.1080/09638288.2021.1963853
80. Yonko EA, Emanuel JS, Carter EM, Raggio CL. Quality of life in adults with achondroplasia in the United States. *Am J Med Genet A*. 2021;185(3):695-701. doi:10.1002/ajmg.a.62018
81. Savarirayan R, Ireland P, Irving M, Thompson D, Alves I, Baratela WAR, Betts J, Bober MB, Boero S, Briddell J, Campbell J, Campeau PM, Carl-Innig P, Cheung MS, Cobourne M, Cormier-Daire V, Deladure-Molla M, Del Pino M, Elphick H, Fano V, Fauroux B, Gibbins J, Groves ML, Hagenäs L, Hannon T, Hoover-Fong J, Kaisermann M, Leiva-Gea A, Llerena J, Mackenzie W, Martin K, Mazzoleni F, McDonnell S, Meazzini MC, Milerad J, Mohnike K, Mortier GR, Offiah A, Ozono K, Phillips JA, Powell S, Prasad Y, Raggio C, Rosselli P, Rossiter J, Selicorni A, Sessa M, Theroux M, Thomas M, Trespedi L, Tunkel D, Wallis C, Wright M, Yasui N, Fredwall SO. International Consensus Statement on the diagnosis, multidisciplinary management and lifelong care of individuals with achondroplasia. Published online November 26, 2021. Accessed November 25, 2024. http://hdl.handle.net/10668/19565
82. Cebeci AN, Hebert S, Reutter H, Rompel O, Woelfle J. SIADH as a Rare Complication of Foramen Magnum Stenosis in an Infant With Achondroplasia. *JCEM Case Rep*. 2024;2(8):luae144. doi:10.1210/jcemcr/luae144
83. Wright J, Cheung M, Siddiqui A, Lucas J, Calder A, Argyropoulou MI, Arthurs OJ, Caro-Dominguez P, Thompson D, Severino M, D'Arco F, members of the ESPR Neuroradiology Taskforce, members of the ESNR Pediatric Subcommittee. Recommendations for neuroradiological examinations in children living with achondroplasia: a European Society of Pediatric Radiology and European Society of Neuroradiology opinion paper. *Pediatr Radiol*. 2023;53(12):2323-2344. doi:10.1007/s00247-023-05728-0
84. Trotter TL, Hall JG, American Academy of Pediatrics Committee on Genetics. Health supervision for children with achondroplasia. *Pediatrics*. 2005;116(3):771-783. doi:10.1542/peds.2005-1440
85. Cheung MS, Irving M, Cocca A, Santos R, Shaunak M, Dougherty H, Siddiqui A, Gringras P, Thompson D. Achondroplasia Foramen Magnum Score: screening infants for stenosis. *Arch Dis Child*. 2021;106(2):180-184. doi:10.1136/archdischild-2020-319625
86. Cheung MSM, Cocca A, Harvey CH, Brett CSS, Offiah AC, Borg S, Jenko N, D'Arco F, Thompson D. Natural history of spinal cord compression stage AFMS3 in infants with achondroplasia: retrospective cohort study. *Arch Dis Child*. 2024;109(12):1025-1028. doi:10.1136/archdischild-2024-327035
87. Legeai-Mallet L, Savarirayan R. Novel therapeutic approaches for the treatment of achondroplasia. *Bone*. 2020;141:115579. doi:leruez
88. Savarirayan Ravi, De Bergua Josep Maria, Arundel Paul, Salles Jean Pierre, Saraff Vrinda, Delgado Borja, Leiva-Gea Antonio, McDevitt Helen, Nicolino Marc, Rossi Massimiliano, Salcedo Maria, Cormier-Daire Valerie, Skae Mars, Kannu Peter, Phillips John, Saal Howard, Harmatz Paul, Candler Toby, Hill Dawn, Muslimova Elena, Weng Richard, Bai Yun, Raj Supriya, Hoover-Fong Julie, Irving Melita, Rogoff Daniela. Oral Infigratinib Therapy in Children with Achondroplasia. *N Engl J Med*. 0(0). doi:10.1056/NEJMoa2411790
89. Savarirayan R, Wilcox WR, Harmatz P, Phillips J, Polgreen LE, Tofts L, Ozono K, Arundel P, Irving M, Bacino CA, Basel D, Bober MB, Charrow J, Mochizuki H, Kotani Y, Saal HM, Army C, Jeha G, Qi Y, Han L, Fisheleva E, Huntsman-Labed A, Day J. Vosoritide therapy in children with achondroplasia aged 3−59 months: a multinational, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet Child Adolesc Health*. 2024;8(1):40-50. doi:10.1016/S2352-4642(23)00265-1
90. FDA Approves Vosoritide for Achondroplasia in Children Under 5 Years. HCP Live. October 20, 2023. Accessed December 3, 2024. https://www.hcplive.com/view/fda-approves-

vosoritide-achondroplasia-children-under-5-years
91. Research C for DE and. FDA D.I.S.C.O. Burst Edition: FDA approvals of Lumakras (sotorasib) for patients with KRAS G12C mutated locally advanced or metastatic non-small cell lung cancer, and Truseltiq (infigratinib) for unresectable locally advanced or metastatic cholangiocarcinoma with a fibroblast growth factor receptor 2 fusion or other rearrangement. *FDA*. Published online September 8, 2024. Accessed February 24, 2025. https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-disco-burst-edition-fda-approvals-lumakras-sotorasib-patients-kras-g12c-mutated-locally-advanced
92. FDA Approved Drug Products: TRUSELTIQ (infigratinib) capsules, for oral use. Accessed August 28, 2023. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2021/214622s000lbl.pdf
93. Komla-Ebri D, Dambroise E, Kramer I, Benoist-Lasselin C, Kaci N, Le Gall C, Martin L, Busca P, Barbault F, Graus-Porta D, Munnich A, Kneissel M, Di Rocco F, Biosse-Duplan M, Legeai-Mallet L. Tyrosine kinase inhibitor NVP-BGJ398 functionally improves FGFR3-related dwarfism in mouse model. *J Clin Invest*. 2016;126(5):1871-1884. doi:10.1172/JCI83926
94. QED Therapeutics, Inc. *A Phase 3, Multicenter, Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Study to Evaluate the Efficacy and Safety of Infigratinib in Children 3 to <18 Years of Age with Achondroplasia: PROPEL 3*. clinicaltrials.gov; 2024. Accessed January 17, 2025. https://clinicaltrials.gov/study/NCT06164951
95. European Medicines Agency decision P/0331/2021 of 13 August 2021 on the agreement of a paediatric investigation plan and on the granting of a deferral for infigratinib, (EMEA-002594-PIP02-20).
96. Vosoritide (VOXZOGO) : premier principe actif indiqué dans l'achondroplasie. VIDAL. Accessed August 29, 2023. https://www.vidal.fr/actualites/30028-vosoritide-voxzogo-premier-principe-actif-indique-dans-l-39-achondroplasie.html
97. Wendt DJ, Dvorak-Ewell M, Bullens S, Lorget F, Bell SM, Peng J, Castillo S, Aoyagi-Scharber M, O'Neill CA, Krejci P, Wilcox WR, Rimoin DL, Bunting S. Neutral endopeptidase-resistant C-type natriuretic peptide variant represents a new therapeutic approach for treatment of fibroblast growth factor receptor 3-related dwarfism. *J Pharmacol Exp Ther*. 2015;353(1):132-149. doi:10.1124/jpet.114.218560
98. Lorget F, Kaci N, Peng J, Benoist-Lasselin C, Mugniery E, Oppeneer T, Wendt DJ, Bell SM, Bullens S, Bunting S, Tsuruda LS, O'Neill CA, Di Rocco F, Munnich A, Legeai-Mallet L. Evaluation of the Therapeutic Potential of a CNP Analog in a Fgfr3 Mouse Model Recapitulating Achondroplasia. *Am J Hum Genet*. 2012;91(6):1108-1114. doi:10.1016/j.ajhg.2012.10.014
99. Savarirayan R, Tofts L, Irving M, Wilcox W, Bacino CA, Hoover-Fong J, Ullot Font R, Harmatz P, Rutsch F, Bober MB, Polgreen LE, Ginebreda I, Mohnike K, Charrow J, Hoernschemeyer D, Ozono K, Alanay Y, Arundel P, Kagami S, Yasui N, White KK, Saal HM, Leiva-Gea A, Luna-González F, Mochizuki H, Basel D, Porco DM, Jayaram K, Fisheleva E, Huntsman-Labed A, Day J. Once-daily, subcutaneous vosoritide therapy in children with achondroplasia: a randomised, double-blind, phase 3, placebo-controlled, multicentre trial. *Lancet Lond Engl*. 2020;396(10252):684-692. doi:10.1016/S0140-6736(20)31541-5
100. Poskanzer SA, Peña LDM, Niu Z. Vosoritide approved for treatment of linear growth in pediatric patients with achondroplasia: A therapeutics bulletin of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genet Med Open*. 2023;1(1):100771. doi:10.1016/j.gimo.2023.100771
101. Voxzogo | European Medicines Agency (EMA). June 23, 2021. Accessed July 1, 2025. https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/voxzogo

102. Achondroplasie : un pas de plus pour des traitements innovants. Institut Imagine. Accessed July 24, 2025. https://www.institutimagine.org/fr/achondroplasie-un-pas-de-plus-pour-des-traitements-innovants-959
103. Baujat G, Cormier-Daire V, Borghese R, Sonigo P. Pre and post-natal achondroplasia, retrospective series of 64 consecutives cases with analyze of the diagnostic methods and timing issues.
104. Cormier-Daire V, AlSayed M, Alves I, Bengoa J, Ben-Omran T, Boero S, Fredwall S, Garel C, Guillen-Navarro E, Irving M, Lampe C, Maghnie M, Mortier G, Sousa SB, Mohnike K. Optimising the diagnosis and referral of achondroplasia in Europe: European Achondroplasia Forum best practice recommendations. *Orphanet J Rare Dis*. 2022;17(1):293. doi:10.1186/s13023-022-02442-2
105. Khalil A, Morales-Roselló J, Morlando M, Bhide A, Papageorghiou A, Thilaganathan B. Widening of the femoral proximal diaphysis–metaphysis angle in fetuses with achondroplasia. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2014;44(1):69-75. doi:10.1002/uog.13339
106. Pacault M, Verebi C, Lopez M, Vaucouleur N, Orhant L, Deburgrave N, Leturcq F, Vidaud D, Girodon E, Bienvenu T, Nectoux J. Non-invasive prenatal diagnosis of single gene disorders by paternal mutation exclusion: 3 years of clinical experience. *BJOG Int J Obstet Gynaecol*. 2022;129(11):1879-1886. doi:10.1111/1471-0528.17201
107. Vivanti AJ, Costa JM, Rosefort A, Kleinfinger P, Lohmann L, Cordier AG, Benachi A. Optimal non-invasive diagnosis of fetal achondroplasia combining ultrasonography with circulating cell-free fetal DNA analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2019;53(1):87-94. doi:10.1002/uog.19018
108. Ruano R, Molho M, Roume J, Ville Y. Prenatal diagnosis of fetal skeletal dysplasias by combining two-dimensional and three-dimensional ultrasound and intrauterine three-dimensional helical computer tomography. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol*. 2004;24(2):134-140. doi:10.1002/uog.1113
109. Torres BV, Díaz IA, Acevedo-Gallegos S, Valdespino Y, Cabrera DMC, Gaona JG, Ríos MA, Ramirez-Calvo J, Mendoza YC, Rodriguez-Sibaja MJ. EP21.01: Histopathologic features in placentas from fetuses with Trisomy 13, 18, and 21 in accordance with Amsterdam Placental Workshop Group criteria. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2023;62(S1):239-239. doi:10.1002/uog.27023
110. Huynh J, Dawson D, Roberts D, Bentley-Lewis R. A SYSTEMATIC REVIEW OF PLACENTAL PATHOLOGY IN MATERNAL DIABETES MELLITUS. *Placenta*. 2015;36(2):101-114. doi:10.1016/j.placenta.2014.11.021