



**HAL**  
open science

# Evaluation du dépistage néonatal de la mucoviscidose 3 ans et demi après sa mise en place en région Lorraine

Sarah Clavier

► **To cite this version:**

Sarah Clavier. Evaluation du dépistage néonatal de la mucoviscidose 3 ans et demi après sa mise en place en région Lorraine. Sciences du Vivant [q-bio]. 2006. hal-01733997

**HAL Id: hal-01733997**

**<https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01733997v1>**

Submitted on 14 Mar 2018

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

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



## AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : [ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr](mailto:ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr)

## LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

[http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg\\_droi.php](http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php)

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>



## **THESE**

pour obtenir le grade de  
**DOCTEUR EN MEDECINE**

Présentée et soutenue publiquement  
Dans le cadre du troisième cycle de Médecine Spécialisée

Par

**Sarah CLAVIER**

Le 12 avril 2006

# **EVALUATION DU DEPISTAGE NEONATAL DE LA MUCOVISCIDOSE 3 ANS ET DEMI APRES SA MISE EN PLACE EN REGION LORRAINE**

### **Examineurs de la thèse :**

M. M. Vidailhet	Professeur	Président
M. P. Monin	Professeur	Juge
M. B. Leheup	Professeur	Juge
Mme J. Derelle	Docteur	Juge

UNIVERSITÉ HENRI POINCARÉ, NANCY 1

FACULTÉ DE MÉDECINE DE NANCY

-----  
Président de l'Université : Professeur Jean-Pierre FINANCE

Doyen de la Faculté de Médecine : Professeur Patrick NETTER

Vice-Doyen de la Faculté de Médecine : Professeur Henry COUDANE

Asseseurs :

du 1<sup>er</sup> Cycle :

du 2<sup>ème</sup> Cycle :

du 3<sup>ème</sup> Cycle :

de la Vie Facultaire :

M. le Docteur François ALLA

M. le Professeur Jean-Pierre BRONOWICKI

M. le Professeur Marc BRAUN

M. le Professeur Bruno LEHEUP

DOYENS HONORAIRES

Professeur Adrien DUPREZ – Professeur Jean-Bernard DUREUX

Professeur Jacques ROLAND

=====

PROFESSEURS HONORAIRES

Louis PIERQUIN – Jean LOCHARD – René HERBEUVAL – Gabriel FAIVRE – Jean-Marie FOLIGUET

Guy RAUBER – Paul SADOUL – Raoul SENAULT

Jacques LACOSTE – Jean BEUREY – Jean SOMMELET – Pierre HARTEMANN – Emile de LAVERGNE

Augusta TREHEUX – Michel MANCIAUX – Paul GUILLEMIN – Pierre PAYSANT

Jean-Claude BURDIN – Claude CHARDOT – Jean-Bernard DUREUX – Jean DUHEILLE – Jean-Pierre GRILLIAT

Pierre LAMY – Jean-Marie GILGENKRANTZ – Simone GILGENKRANTZ

Pierre ALEXANDRE – Robert FRISCH – Michel PIERSON – Jacques ROBERT

Gérard DEBRY – Pierre TRIDON – Michel WAYOFF – François CHERRIER – Oliéro GUERCI

Gilbert PERCEBOIS – Claude PERRIN – Jean PREVOT – Jean FLOQUET

Alain GAUCHER – Michel LAXENAIRE – Michel BOULANGE – Michel DUC – Claude HURIET – Pierre LANDES

Alain LARCAN – Gérard VAILLANT – Daniel ANTHOINE – Pierre GAUCHER – René-Jean ROYER

Hubert UFFHOLTZ – Jacques LECLERE – Francine NABET – Jacques BORRELLY

Michel RENARD – Jean-Pierre DESCHAMPS – Pierre NABET – Marie-Claire LAXENAIRE – Adrien DUPREZ – Paul VERT

Philippe CANTON – Bernard LEGRAS – Pierre MATHIEU – Jean-Marie POLU – Antoine RASPILLER – Gilbert THIBAUT

Michel WEBER – Gérard FIEVE – Daniel SCHMITT – Colette VIDAILHET – Alain BERTRAND – Hubert GERARD

Jean-Pierre NICOLAS – Francis PENIN – Michel STRICKER – Daniel BURNEL – Michel VIDAILHET – Claude BURLET

=====

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS  
PRATICIENS HOSPITALIERS

(Disciplines du Conseil National des Universités)

42<sup>ème</sup> Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGENÈSE

1<sup>ère</sup> sous-section : (*Anatomie*)

Professeur Jacques ROLAND – Professeur Gilles GROSDIDIER

Professeur Pierre LASCOMBES – Professeur Marc BRAUN

2<sup>ème</sup> sous-section : (*Cytologie et histologie*)

Professeur Bernard FOLIGUET

3<sup>ème</sup> sous-section : (*Anatomie et cytologie pathologiques*)

Professeur François PLENAT – Professeur Jean-Michel VIGNAUD

-----

43<sup>ème</sup> Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDICALE

1<sup>ère</sup> sous-section : (*Biophysique et médecine nucléaire*)

Professeur Gilles KARCHER – Professeur Pierre-Yves MARIE – Professeur Pierre OLIVIER

2<sup>ème</sup> sous-section : (*Radiologie et imagerie médicale*)

Professeur Luc PICARD – Professeur Denis REGENT – Professeur Michel CLAUDON

Professeur Serge BRACARD – Professeur Alain BLUM – Professeur Jacques FELBLINGER

Professeur René ANXIONNAT

-----

**44<sup>ème</sup> Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE, PHYSIOLOGIE ET NUTRITION**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (Biochimie et biologie moléculaire)**

Professeur Jean-Louis GUÉANT – Professeur Jean-Luc OLIVIER

**2<sup>ème</sup> sous-section : (Physiologie)**

Professeur Jean-Pierre CRANCE – Professeur Jean-Pierre MALLIE

Professeur François MARCHAL – Professeur Philippe HAOUZI

**4<sup>ème</sup> sous-section : (Nutrition)**

Professeur Olivier ZIEGLER

-----

**45<sup>ème</sup> Section : MICROBIOLOGIE, MALADIES TRANSMISSIBLES ET HYGIÈNE**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (Bactériologie – virologie ; hygiène hospitalière)**

Professeur Alain LOZNIIEWSKI

**2<sup>ème</sup> sous-section : (Parasitologie et mycologie)**

Professeur Bernard FORTIER

**3<sup>ème</sup> sous-section : (Maladies infectieuses ; maladies tropicales)**

Professeur Thierry MAY – Professeur Christian RABAUD

-----

**46<sup>ème</sup> Section : SANTÉ PUBLIQUE, ENVIRONNEMENT ET SOCIÉTÉ**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (Épidémiologie, économie de la santé et prévention)**

Professeur Philippe HARTEMANN – Professeur Serge BRIANÇON

Professeur Francis GUILLEMIN – Professeur Denis ZMIROU-NAVIER

**2<sup>ème</sup> sous-section : (Médecine et santé au travail)**

Professeur Guy PETIET – Professeur Christophe PARIS

**3<sup>ème</sup> sous-section : (Médecine légale et droit de la santé)**

Professeur Henry COUDANE

**4<sup>ème</sup> sous-section : (Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication)**

Professeur François KOHLER – Professeur Éliane ALBUISSON

-----

**47<sup>ème</sup> Section : CANCÉROLOGIE, GÉNÉTIQUE, HÉMATOLOGIE, IMMUNOLOGIE**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (Hématologie ; transfusion)**

Professeur Christian JANOT – Professeur Thomas LECOMPTE – Professeur Pierre BORDIGONI

Professeur Pierre LEDERLIN – Professeur Jean-François STOLTZ

**2<sup>ème</sup> sous-section : (Cancérologie ; radiothérapie)**

Professeur François GUILLEMIN – Professeur Thierry CONROY

Professeur Pierre BEY – Professeur Didier PEIFFERT

**3<sup>ème</sup> sous-section : (Immunologie)**

Professeur Gilbert FAURE – Professeur Marie-Christine BENE

**4<sup>ème</sup> sous-section : (Génétique)**

Professeur Philippe JONVEAUX – Professeur Bruno LEHEUP

-----

**48<sup>ème</sup> Section : ANESTHÉSIOLOGIE, RÉANIMATION, MÉDECINE D'URGENCE,  
PHARMACOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (Anesthésiologie et réanimation chirurgicale)**

Professeur Claude MEISTELMAN – Professeur Dan LONGROIS – Professeur Hervé BOUAZIZ

Professeur Paul-Michel MERTES

**2<sup>ème</sup> sous-section : (Réanimation médicale)**

Professeur Henri LAMBERT – Professeur Alain GERARD

Professeur Pierre-Édouard BOLLAERT – Professeur Bruno LÉVY

**3<sup>ème</sup> sous-section : (Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique)**

Professeur Patrick NETTER – Professeur Pierre GILLET

**4<sup>ème</sup> sous-section : (Thérapeutique)**

Professeur François PAILLE – Professeur Gérard GAY – Professeur Faiez ZANNAD

-----

**49<sup>ème</sup> Section : PATHOLOGIE NERVEUSE ET MUSCULAIRE, PATHOLOGIE MENTALE, HANDICAP et RÉÉDUCATION**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (Neurologie)**

Professeur Gérard BARROCHE – Professeur Hervé VESPIGNANI

Professeur Xavier DUCROCQ

**2<sup>ème</sup> sous-section : (Neurochirurgie)**

Professeur Jean-Claude MARCHAL – Professeur Jean AUQUE

Professeur Thierry CIVIT

**3<sup>ème</sup> sous-section : (Psychiatrie d'adultes)**

Professeur Jean-Pierre KAHN

**4<sup>ème</sup> sous-section : (Pédopsychiatrie)**

Professeur Daniel SIBERTIN-BLANC

**5<sup>ème</sup> sous-section : (Médecine physique et de réadaptation)**

Professeur Jean-Marie ANDRE

-----

**50<sup>ème</sup> Section : PATHOLOGIE OSTÉO-ARTICULAIRE, DERMATOLOGIE et CHIRURGIE PLASTIQUE**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (Rhumatologie)**

Professeur Jacques POUREL – Professeur Isabelle VALCKENAERE – Professeur Damien LOEUILLE

**2<sup>ème</sup> sous-section : (Chirurgie orthopédique et traumatologique)**

Professeur Jean-Pierre DELAGOUTTE – Professeur Daniel MOLE

Professeur Didier MAINARD – Professeur François SIRVEAUX

**3<sup>ème</sup> sous-section : (Dermato-vénérologie)**

Professeur Jean-Luc SCHMUTZ – Professeur Annick BARBAUD

**4<sup>ème</sup> sous-section : (Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique)**

Professeur François DAP

-----

**51<sup>ème</sup> Section : PATHOLOGIE CARDIORESPIRATOIRE et VASCULAIRE**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (Pneumologie)**

Professeur Yves MARTINET – Professeur Jean-François CHABOT

**2<sup>ème</sup> sous-section : (Cardiologie)**

Professeur Etienne ALIOT – Professeur Yves JUILLIERE – Professeur Nicolas SADOUL

Professeur Christian de CHILLOU

**3<sup>ème</sup> sous-section : (Chirurgie thoracique et cardiovasculaire)**

Professeur Jean-Pierre VILLEMOT

Professeur Jean-Pierre CARTEAUX – Professeur Loïc MACE

**4<sup>ème</sup> sous-section : (Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire)**

-----

**52<sup>ème</sup> Section : MALADIES DES APPAREILS DIGESTIF et URINAIRE**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (Gastroentérologie ; hépatologie)**

Professeur Marc-André BIGARD

Professeur Jean-Pierre BRONOWICKI

**2<sup>ème</sup> sous-section : (Chirurgie digestive)**

**3<sup>ème</sup> sous-section : (Néphrologie)**

Professeur Michèle KESSLER – Professeur Dominique HESTIN (Mme) – Professeur Luc FRIMAT

**4<sup>ème</sup> sous-section : (Urologie)**

Professeur Philippe MANGIN – Professeur Jacques HUBERT – Professeur Luc CORMIER

-----

**53<sup>ème</sup> Section : MÉDECINE INTERNE, GÉRIATRIE et CHIRURGIE GÉNÉRALE**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (Médecine interne)**

Professeur Denise MONERET-VAUTRIN – Professeur Denis WAHL

Professeur Jean-Dominique DE KORWIN – Professeur Pierre KAMINSKY

Professeur Athanase BENETOS - Professeur Gisèle KANNY – Professeur Abdelouahab BELLOU

**2<sup>ème</sup> sous-section : (Chirurgie générale)**

Professeur Patrick BOISSEL – Professeur Laurent BRESLER

Professeur Laurent BRUNAUD

-----

**54<sup>ème</sup> Section : DÉVELOPPEMENT ET PATHOLOGIE DE L'ENFANT, GYNÉCOLOGIE-OBSTÉTRIQUE, ENDOCRINOLOGIE ET REPRODUCTION**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (Pédiatrie)**

Professeur Danièle SOMMELET – Professeur Pierre MONIN  
Professeur Jean-Michel HASCOET – Professeur Pascal CHASTAGNER – Professeur François FEILLET

**2<sup>ème</sup> sous-section : (Chirurgie infantile)**

Professeur Michel SCHMITT – Professeur Gilles DAUTEL – Professeur Pierre JOURNEAU

**3<sup>ème</sup> sous-section : (Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale)**

Professeur Michel SCHWEITZER – Professeur Jean-Louis BOUTROY  
Professeur Philippe JUDLIN – Professeur Patricia BARBARINO – Professeur Bruno DEVAL

**4<sup>ème</sup> sous-section : (Endocrinologie et maladies métaboliques)**

Professeur Georges WERYHA – Professeur Marc KLEIN – Professeur Bruno GUERCI

-----

**55<sup>ème</sup> Section : PATHOLOGIE DE LA TÊTE ET DU COU**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (Oto-rhino-laryngologie)**

Professeur Claude SIMON – Professeur Roger JANKOWSKI

**2<sup>ème</sup> sous-section : (Ophtalmologie)**

Professeur Jean-Luc GEORGE – Professeur Jean-Paul BERROD – Professeur Karine ANGIOI-DUPREZ

**3<sup>ème</sup> sous-section : (Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie)**

Professeur Jean-François CHASSAGNE

=====

**PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS**

**64<sup>ème</sup> Section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE**

Professeur Sandrine BOSCHI-MULLER

=====

**MAÎTRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS**

**42<sup>ème</sup> Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGENÈSE**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (Anatomie)**

Docteur Bruno GRIGNON

**2<sup>ème</sup> sous-section : (Cytologie et histologie)**

Docteur Edouard BARRAT

Docteur Françoise TOUATI – Docteur Chantal KOHLER

**3<sup>ème</sup> sous-section : (Anatomie et cytologie pathologiques)**

Docteur Béatrice MARIE

Docteur Laurent ANTUNES

-----

**43<sup>ème</sup> Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDICALE**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (Biophysique et médecine nucléaire)**

Docteur Marie-Hélène LAURENS – Docteur Jean-Claude MAYER

Docteur Pierre THOUVENOT – Docteur Jean-Marie ESCANYE – Docteur Amar NAOUN

-----

**44<sup>ème</sup> Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE, PHYSIOLOGIE ET NUTRITION**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (Biochimie et biologie moléculaire)**

Docteur Jean STRACZEK – Docteur Sophie FREMONT

Docteur Isabelle GASTIN – Docteur Bernard NAMOUR – Docteur Marc MERTEN

**2<sup>ème</sup> sous-section : (Physiologie)**

Docteur Gérard ETHEVENOT – Docteur Nicole LEMAU de TALANCE – Docteur Christian BEYAERT

Docteur Bruno CHENUÉL

**4<sup>ème</sup> sous-section : (Nutrition)**

Docteur Didier QUILLIOT

-----

**45<sup>ème</sup> Section : MICROBIOLOGIE, MALADIES TRANSMISSIBLES ET HYGIÈNE**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (*Bactériologie – Virologie ; hygiène hospitalière*)**

Docteur Francine MORY – Docteur Christine LION

Docteur Michèle DAILLOUX – Docteur Véronique VENARD

**2<sup>ème</sup> sous-section : (*Parasitologie et mycologie*)**

Docteur Marie-France BIAVA – Docteur Nelly CONTET-AUDONNEAU

-----

**46<sup>ème</sup> Section : SANTÉ PUBLIQUE, ENVIRONNEMENT ET SOCIÉTÉ**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (*Epidémiologie, économie de la santé et prévention*)**

Docteur François ALLA

**4<sup>ème</sup> sous-section : (*Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication*)**

Docteur Pierre GILLOIS

-----

**47<sup>ème</sup> Section : CANCÉROLOGIE, GÉNÉTIQUE, HÉMATOLOGIE, IMMUNOLOGIE**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (*Hématologie ; transfusion*)**

Docteur François SCHOONEMAN

**3<sup>ème</sup> sous-section : (*Immunologie*)**

Docteur Anne KENNEL

**4<sup>ème</sup> sous-section : (*Génétique*)**

Docteur Christophe PHILIPPE

-----

**48<sup>ème</sup> Section : ANESTHÉSIOLOGIE, RÉANIMATION, MÉDECINE D'URGENCE,  
PHARMACOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (*Anesthésiologie et réanimation chirurgicale*)**

Docteur Jacqueline HELMER – Docteur Gérard AUDIBERT

**3<sup>ème</sup> sous-section : (*Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique*)**

Docteur Françoise LAPICQUE – Docteur Marie-José ROYER-MORROT

-----

**49<sup>ème</sup> Section : PATHOLOGIE NERVEUSE ET MUSCULAIRE, PATHOLOGIE MENTALE, HANDICAP ET  
RÉÉDUCATION**

**5<sup>ème</sup> sous-section : (*Médecine physique et de réadaptation*)**

Docteur Jean PAYSANT

-----

**54<sup>ème</sup> Section : DÉVELOPPEMENT ET PATHOLOGIE DE L'ENFANT, GYNÉCOLOGIE-OBSTÉTRIQUE,  
ENDOCRINOLOGIE ET REPRODUCTION**

**5<sup>ème</sup> sous-section : (*Biologie et médecine du développement et de la reproduction*)**

Docteur Jean-Louis CORDONNIER

=====

**MAÎTRES DE CONFÉRENCES**

**5<sup>ème</sup> section : SCIENCE ÉCONOMIE GÉNÉRALE**

Monsieur Vincent LHUILLIER

-----

**40<sup>ème</sup> section : SCIENCES DU MÉDICAMENT**

Monsieur Jean-François COLLIN

-----

**60<sup>ème</sup> section : MÉCANIQUE, GÉNIE MÉCANIQUE ET GÉNIE CIVILE**

Monsieur Alain DURAND

-----

**61<sup>ème</sup> section : GÉNIE INFORMATIQUE, AUTOMATIQUE ET TRAITEMENT DU SIGNAL**

Monsieur Jean REBSTOCK – Monsieur Walter BLONDEL

-----

**64<sup>ème</sup> section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE**

Mademoiselle Marie-Claire LANHERS  
Monsieur Franck DALIGAULT

-----

**65<sup>ème</sup> section : BIOLOGIE CELLULAIRE**

Mademoiselle Françoise DREYFUSS – Monsieur Jean-Louis GELLY  
Madame Ketsia HESS – Monsieur Pierre TANKOSIC – Monsieur Hervé MEMBRE

-----

**67<sup>ème</sup> section : BIOLOGIE DES POPULATIONS ET ÉCOLOGIE**

Madame Nadine MUSSE

-----

**68<sup>ème</sup> section : BIOLOGIE DES ORGANISMES**

Madame Tao XU-JIANG

=====

**MAÎTRES DE CONFÉRENCES ASSOCIÉS**

**Médecine Générale**

Docteur Alain AUBREGE  
Docteur Francis RAPHAEL  
Docteur Jean-Marc BOIVIN

=====

**PROFESSEURS ÉMÉRITES**

Professeur Michel BOULANGE – Professeur Alain LARCAN – Professeur Michel WAYOFF – Professeur Daniel ANTHOINE  
Professeur Hubert UFFHOLTZ – Professeur Adrien DUPREZ – Professeur Paul VERT  
Professeur Jean PREVOT – Professeur Jean-Pierre GRILLIAT - Professeur Philippe CANTON – Professeur Pierre MATHIEU  
Professeur Gilbert THIBAUT – Professeur Daniel SCHMITT – Mme le Professeur Colette VIDAILHET  
Professeur Jean FLOQUET – Professeur Claude CHARDOT – Professeur Michel PIERSON – Professeur Alain BERTRAND  
Professeur Daniel BURNEL – Professeur Jean-Pierre NICOLAS – Professeur Michel VIDAILHET

=====

**DOCTEURS HONORIS CAUSA**

Professeur Norman SHUMWAY (1972)  
*Université de Stanford, Californie (U.S.A)*  
Professeur Paul MICHIELSEN (1979)  
*Université Catholique, Louvain (Belgique)*  
Professeur Charles A. BERRY (1982)  
*Centre de Médecine Préventive, Houston (U.S.A)*  
Professeur Pierre-Marie GALETTI (1982)  
*Brown University, Providence (U.S.A)*  
Professeur Mamish Nisbet MUNRO (1982)  
*Massachusetts Institute of Technology (U.S.A)*  
Professeur Mildred T. STAHLMAN (1982)  
*Wanderbilt University, Nashville (U.S.A)*  
Harry J. BUNCKE (1989)  
*Université de Californie, San Francisco (U.S.A)*

Professeur Théodore H. SCHIEBLER (1989)  
*Institut d'Anatomie de Würzburg (R.F.A)*  
Professeur Maria DELIVORIA-PAPADOPOULOS (1996)  
*Université de Pennsylvanie (U.S.A)*  
Professeur Mashaki KASHIWARA (1996)  
*Research Institute for Mathematical Sciences de Kyoto (JAPON)*  
Professeur Ralph GRÄSBECK (1996)  
*Université d'Helsinki (FINLANDE)*  
Professeur James STEICHEN (1997)  
*Université d'Indianapolis (U.S.A)*  
Professeur Duong Quang TRUNG (1997)  
*Centre Universitaire de Formation et de Perfectionnement des  
Professionnels de Santé d'Hô Chi Minh-Ville (VIËTNAM)*

**A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DE THESE,**

Monsieur le Professeur Michel VIDAILHET  
Professeur de Pédiatrie  
Officier de l'Ordre des Palmes Académiques

*Vous avez fait parti du Comité National de la mise en place du dépistage de la Mucoviscidose en France. Permettez-nous de vous témoigner notre profond respect et notre vive reconnaissance pour le grand honneur que vous nous faites en acceptant la présidence de cette thèse. Nous vous remercions pour votre soutien et vos conseils pour la réalisation de ce travail.*

*Nous avons eu le plaisir de pratiquer l'art de la pédiatrie dans votre service et vous avez su nous communiquer votre passion de cette discipline.*

*En hommage respectueux et reconnaissant pour l'enseignement que vous nous avez prodigué tout au long de nos études, nous vous adressons ici notre profonde gratitude et nos remerciements les plus sincères.*

## A NOTRE MAITRE ET JUGE

Monsieur le Professeur Pierre MONIN  
Professeur de Pédiatrie

*Nous vous remercions d'avoir accepté de juger notre travail.*

*En nous accueillant dans votre service au cours de notre internat, vous nous avez permis de nous former à la pédiatrie et vous avez su nous partager vos connaissances ainsi que votre sens critique.*

*C'est dans votre service que nous avons exercé, sous votre bienveillance et votre confiance, nos premières responsabilités médicales.*

*Pour cela, nous tenons à vous exprimer notre profond respect et notre vive reconnaissance; le souvenir et le bénéfice que nous en gardons resteront présents à notre esprit pour notre travail à venir.*

## A NOTRE MAITRE ET JUGE

Monsieur le Professeur Bruno LEHEUP

Professeur d'Histologie Embryologie et Cytogénétique (option clinique)

*Nous vous remercions pour l'honneur que vous nous faites de juger ce travail.*

*Vous nous avez initié à votre spécialité et guidé de votre précieuse expérience de la génétique en pédiatrie.*

*Au cours de notre internat, nous avons été sensibles à vos connaissances, votre sens clinique et vos grandes qualités humaines envers les malades et nous avons bénéficié de la qualité de vos enseignements.*

*Nous vous adressons notre gratitude et de notre profond respect.*

## A NOTRE MAITRE ET JUGE

Madame le Docteur Jocelyne DERELLE  
Praticien Hospitalier de Pneumologie Pédiatrique

*Nous vous sommes profondément reconnaissante de nous avoir confié ce sujet de thèse, de la confiance dont vous nous avez témoigné et de nous avoir guidée et conseillée tout au long de ces mois en mettant à notre disposition les moyens pour la réalisation de ce travail.*

*Nous avons eu la chance de travailler avec vous au cours de ces derniers mois et nous avons apprécié votre intégrité, votre sens profondément humain de la médecine et l'amour que vous portez à votre travail quotidien auprès des malades.*

*Vous nous avez fait découvrir et aimer cette spécialité qu'est la pneumologie pédiatrique.*

*Pour cela, nous tenons à vous exprimer notre profonde reconnaissance et nos remerciements les plus sincères.*

**A MADAME LE DOCTEUR A. MUNCK**

*Nous vous remercions pour les informations précieuses que vous avez accepté de nous transmettre concernant les résultats nationaux du dépistage néonatal de la mucoviscidose, à partir des données de l'AFDPHE.*

*Soyez aussi remerciée, au nom des malades et de leurs familles, pour tout le travail réalisé avec le comité national de l'AFDPHE dans le seul but d'améliorer leurs conditions de vie.*

**A TOUTES LES PERSONNES QUI ONT COLLABORE A LA  
REALISATION DE CE TRAVAIL**

- ✓ *Madame Lorentz, du laboratoire de dépistage de l'hôpital d'enfants, pour votre soutien dans le recueil des données et les informations précieuses concernant la pratique quotidienne du dépistage*
- ✓ *Madame Corvi, du laboratoire de dépistage de l'hôpital d'enfant, grâce à vous, j'ai pu compléter mon étude*
- ✓ *Monsieur le Docteur Alzahouri du DIM, pour votre aimable collaboration dans l'exploitation des données et la mise en page des résultats*
- ✓ *Madame le Docteur Barbe du laboratoire de biochimie*
- ✓ *Madame Brigitte Recroix, infirmière coordinatrice du CRCM, pour l'aide que vous m'avez apporté*
- ✓ *Mesdames les infirmières de la consultation de pédiatrie, pour votre travail quotidien et vos conseils*
- ✓ *Madame Nadine Faulnier, secrétaire du CRCM, pour votre gentillesse et votre aide dans la recherche des dossiers.*

## A TOUTES LES PERSONNES QUI ONT CONTRIBUE A MA FORMATION AU COURS DE MES ETUDES MEDICALES

- ✓ Monsieur le Professeur Ginies  
Service de Réanimation Médicale Adulte, CHU Bretonneau de Tours

*Vous m'avez appris la persévérance, la rigueur et le respect du malade.*

- ✓ Monsieur le Docteur Despert,  
Service de pédiatrie, CHU Clocheville de Tours

*Vous m'avez, très tôt au cours de mes études, transmis votre amour de la pédiatrie et appris beaucoup de la sémiologie spécifique de cette discipline.*

- ✓ Les médecins et infirmières du service de pédiatrie du CH de Thionville,
- ✓ Les médecins, infirmières et auxiliaires de puériculture de la Maternité Régionale de Nancy,
- ✓ Les médecins, infirmières et auxiliaires de puériculture de l'hôpital d'enfant de Nancy : du service de cardiologie pédiatrique, du service d'oncologie pédiatrique, des services de pédiatrie générale I et III, du service des urgences pédiatriques et des consultations pédiatriques, du service de réanimation pédiatrique,
- ✓ Les médecins, infirmières et promoteurs de santé du Salvador,

*J'ai travaillé avec plaisir au sein de vos équipes et vous remercie pour ce que vous m'avez appris et pour la confiance et la sympathie dont vous m'avez témoigné.*

*Puissions-nous toujours collaborer ensemble du mieux qu'il soit pour le bien de nos petits malades...*

*A mes parents qui sont pour moi un exemple de droiture et de persévérance ;  
ils ont toujours été là et savent combien je leur dois,*

*A mes sœurs et mon beau-frère en témoignage de mon affection,*

*A ma grand-mère,*

*A mes grand-parents qui nous veillent,*

*A toute ma famille,*

*A tous mes amis, de France et d'ailleurs*

*A mes camarades d'études médicales, de Tours et de Nancy,*

*Enfin, à tous les enfants qui nous sont confiés et aux parents qui nous donnent leur  
confiance...*

## SERMENT

"Au moment d'être admise à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité. Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux. Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité. J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences. Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admise dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me sont confiés. Reçue à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs. Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonorée et méprisée si j'y manque".

# Tables des matières



I. INTRODUCTION .....	25
A. RAPPELS GENERAUX SUR LA MUCOVISCIDOSE .....	29
1. Mécanismes physiopathologiques .....	29
2. Génétique .....	29
3. Diagnostic positif .....	34
4. Evolution.....	35
5. Traitement .....	35
B. INTERET D'UN DEPISTAGE NEONATAL POUR LA MUCOVISCIDOSE.....	36
1. Définition d'un dépistage néonatal.....	36
2. Particularités du dépistage de la mucoviscidose .....	37
3. Arguments CONTRE le dépistage.....	40
3.1 Risque de colonisation prématurée .....	40
3.2 Faux positifs et implications psychologiques .....	41
3.3 Révélation des formes frontières .....	41
3.4 Y-a t'il un bénéfice réel pour le patient ? .....	42
4. Arguments POUR le dépistage.....	42
4.1 Bénéfices généraux.....	43
4.2 Bénéfices nutritionnels et prévention de la morbidité carencielle .....	45
4.3 Bénéfices respiratoires .....	47
4.4 Bénéfices en terme de survie .....	49
4.5 Qualité de vie et recours aux soins.....	50
4.6 Conseil génétique.....	51
5. Résultats des autres pays et autres régions de France.....	51
6. Résultats globaux attendus en France .....	53
C. INTERET D'UN CENTRE DE RESSOURCES ET DE COMPETENCES POUR LA MUCOVISCIDOSE .....	53
1. Caractéristiques de la maladie à prendre en compte pour répondre aux besoins des patients. ....	55
2. Qu'est-ce qu'un centre de soins pour personnes atteintes de mucoviscidose ? .....	55
3. Mode de fonctionnement des centres de soins et plateau technique .....	56
4. Rôle du clinicien .....	57

5.	La fédération française des Centres de Ressources et de Compétences pour la Mucoviscidose .....	57
6.	La contribution des familles et des associations .....	58
II.	DEPISTAGE NEONATAL : GENERALITES ET PRATIQUE QUOTIDIENNE ...	60
A.	Généralités .....	60
1.	L'information .....	60
2.	Le consentement des parents .....	61
B.	Méthodologie du dépistage de la mucoviscidose avec l'organigramme (voir annexe n°3 : organigramme, modifié depuis le 2 <sup>ème</sup> trimestre 2003).....	63
1.	Généralités .....	63
2.	Modifications de l'organigramme .....	64
C.	Pratique quotidienne.....	65
1.	Rappel : mécanisme physiologique de l'augmentation de la TIR .....	65
2.	Trypsine immunoréactive.....	67
2.1	Technique.....	67
2.2	Risque de faux négatifs ou d'enfants non dépistés .....	67
3.	Test de la sueur .....	68
3.1	Historique .....	68
3.2	Description de la technique .....	70
3.2.1	Technique de Gibson et Cooke .....	70
3.2.2	Méthodes semi-quantitatives : .....	71
3.3	Résultats .....	72
3.3.1	En fonction de l'âge : .....	72
3.3.2	En fonction du génotype : .....	72
3.3.3	Causes d'erreur.....	72
4.	Biologie moléculaire.....	73
5.	Le coût du dépistage .....	74
III.	METHODOLOGIE DU DEPISTAGE .....	75
1.	Pratique quotidienne.....	75
2.	Terminologie .....	76
	RESULTATS EN REGION LORRAINE .....	78
B.	Particularités de la région Lorraine.....	78
C.	Résultats globaux .....	78
1.	Nombre d'enfants testés.....	79
2.	Nombre d'enfants suspects .....	79

3.	Enfants ayant eu une étude en biologie moléculaire .....	81
4.	Enfants convoqués d'emblée dans un CRCM .....	81
5.	Nombre de faux négatifs.....	82
6.	Enfants sans aucune des 30 mutations recherchées .....	82
7.	Les mutations trouvées : 1 <sup>ère</sup> mutation trouvée par le Kit .....	83
8.	Conclusions du dépistage pour les enfants suspects .....	85
9.	Délai d'établissement du diagnostic.....	85
D.	Les enfants examinés au CRCM .....	86
1.	Délai entre le premier appel et le jour de la consultation .....	86
2.	Age de l'enfant.....	86
3.	Localisation de l'enfant lors de l'appel .....	86
4.	Motifs des hospitalisations.....	86
5.	Nouvelle convocation au CRCM.....	87
E.	Les malades dépistés.....	88
1.	Données globales .....	88
1.1	Nombre d'enfants malades.....	88
1.2	Fréquence de la maladie en Lorraine .....	90
1.3	Répartition géographique au sein de la région Lorraine .....	90
1.3.1	Selon les départements de naissance.....	90
1.3.2	Selon les maternités de naissance.....	91
1.4	Répartition selon origine géographique familiale .....	91
2.	Description de la population des nouveau-nés malades.....	93
2.1	Selon le sexe : .....	93
2.2	Selon le poids de naissance : .....	93
2.3	Selon la taille de naissance : .....	94
2.4	Selon les antécédents : .....	94
2.5	Valeur de la TIR à J3.....	94
3.	Caractéristiques des enfants malades au premier contact dans le CRCM .	96
3.1	Délai entre la naissance et la date du premier appel aux parents .....	96
3.2	Délai entre la naissance et la date de la première consultation.....	96
3.3	Poids de l'enfant.....	96
3.4	Taille de l'enfant .....	96
3.5	BMI de l'enfant.....	96
3.6	Prise de poids depuis la naissance .....	97
3.7	Examen clinique des enfants malades .....	97

3.8	Résultats du test de la sueur par méthode semi-quantitative .....	99
3.9	Réalisation du test de la sueur par titrimétrie .....	100
3.10	Examens complémentaires réalisés: .....	101
3.11	valeur de la TIR à J21 .....	102
4.	Deuxième consultation au CRCM.....	103
4.1	Age de l'enfant.....	103
4.2	Enfants convoqués pour la réalisation d'un test de la sueur.....	103
5.	Résultats de l'étude génétique .....	104
5.1	Les mutations observées.....	105
5.1.1	Mutation $\Delta F508$ .....	105
5.1.2	Mutation R117H .....	105
5.1.3	Mutations trouvées chez les enfants avec 2 mutations d'emblée 106	
5.1.4	Mutations découvertes à posteriori par l'étude exhaustive du gène CFTR 106	
5.1.5	Mutations trouvées, tout enfant malade confondu.....	107
6.	Problèmes rencontrés avec les formes frontières.....	108
7.	Durée écoulée pour le diagnostic de la maladie .....	111
7.1	Tous malades confondus (iléus méconiaux exclus) .....	111
7.2	Iléus méconiaux et formes frontières exclus.....	111
7.3	Délai diagnostique pour les formes frontières de mucoviscidose .....	111
8.	Evaluation génétique familiale .....	112
9.	Fratrie diagnostiquée après le dépistage d'un nouveau-né .....	113
10.	Aspect psychologique à l'annonce du diagnostic : exemple d'un cas ...	114
F.	Les hétérozygotes.....	115
1.	Caractéristiques des enfants hétérozygotes.....	115
1.1	Répartition annuelle.....	115
1.2	Origines familiales par pays .....	116
1.3	Départements de naissance .....	117
1.4	Caractéristiques néonatales des hétérozygotes .....	117
2.	Valeurs TIR J3 et « J21 » .....	117
2.1	TIR à J3.....	117
2.2	TIR au contrôle dit de J21 .....	118
3.	Test de la sueur à la consultation .....	118
4.	Temps pour l'affirmation du diagnostic .....	119

5.	Les mutations observées.....	120
G.	Récapitulatif des résultats du dépistage.....	121
IV.	DISCUSSION.....	122
A.	Comparaison avec les résultats nationaux.....	122
1.	Résultats globaux.....	124
1.1	Enfants suspects.....	124
1.2	Enfants ayant eu une étude en biologie moléculaire.....	124
1.3	Enfants convoqués « d'emblée » dans un CRCM.....	124
1.4	Enfants devant avoir un contrôle de la TIR.....	124
2.	Les malades dépistés.....	125
2.1	Enfants ayant une mucoviscidose.....	125
2.2	Les mutations observées.....	125
2.3	Caractéristiques cliniques des malades dépistés.....	126
3.	Autres points importants.....	126
B.	Interprétation de nos résultats.....	126
C.	Interprétation des résultats et information au patient.....	127
D.	Problèmes posés par les hétérozygotes.....	128
E.	Difficultés dues aux faux positifs et impact psychologique.....	130
F.	Problèmes rencontrés avec les formes frontières.....	131
1.	Dans la littérature.....	132
2.	Les mutations modérées et décisions difficiles.....	136
3.	Les différentes classes de mutation.....	138
G.	Minimiser les risques/ améliorer les bénéfices.....	139
H.	Compréhension de l'information par les parents.....	140
I.	Problème du consentement parental.....	141
J.	L'avenir du dépistage.....	142
V.	CONCLUSION.....	145
VI.	BIBLIOGRAPHIE.....	147
VII.	ANNEXES.....	162



## LISTE DES ABREVIATIONS

CFTR : Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator

DNA : Acide Désoxyribonucléique

TIR : Trypsine immunoréactive

IRT : Immunoreactive Trypsin

AFDPHE : Association Française pour le Dépistage et la Prévention des Handicaps de l'Enfant

CF : Cystic Fibrosis = mucoviscidose

CRCM : Centre de Ressources et de Compétences pour la Mucoviscidose

CNAMTS : Caisse Nationale d'Assurance Maladie des Travailleurs Salariés

CDC : Center for Disease Control and Prevention

SORT: Strength Recommendation Taxonomy

VEMS : Volume Expiré Maximal Seconde

CRF : Capacité Respiratoire Fonctionnelle

BM : Biologie moléculaire

DDP : Différence de Potentiel transépithélial

GAP : Génotype à Problème

PAP : Protéine Associée aux Pancréatites



# LISTE DES TABLEAUX



**Tableau 1** : Résultats globaux du dépistage

**Tableau 2** : Répartition des départements de naissance des enfants ayant une TIR positive

**Tableau 3** : Répartition des enfants suspects selon les années et évolution des chiffres après le changement du seuil d'action de la TIR à J3

**Tableau 4** : Statut des enfants suspects

**Tableau 5** : Mutations trouvées chez les enfants suspects à la première étude en BM

**Tableau 6** : Répartition annuelle des enfants malades

**Tableau 7** : Répartition des naissances des enfants malades en fonction des maternités

**Tableau 8** : Origines familiales par région ou département des enfants malades d'origine française

**Tableau 9** : Statut biologique des enfants atteints de mucoviscidose à J3

**Tableau 10** : Caractéristiques des 4 enfants convoqués au CRCM pour la réalisation d'un deuxième test de la sueur

**Tableau 11** : Mutations retrouvées selon les Kit

**Tableau 12** : Caractéristiques clinico-biologiques des enfants porteurs de la mutation R117H

**Tableau 13** : Mutations retrouvées chez les enfants avec 2 mutations d'emblée

**Tableau 14** : Mutations retrouvées chez les enfants malades

**Tableau 15** : Mutations des formes frontières

**Tableau 16** : Enfants ayant bénéficié d'une évaluation génétique avec leurs parents auprès d'un médecin généticien

**Tableau 17** : Statut génétique des parents d'enfants malades ou hétérozygotes

**Tableau 18** : Distribution des hétérozygotes selon les années

**Tableau 19** : Répartition des origines familiales précises et mutations retrouvées

**Tableau 20** : Caractéristiques des enfants hétérozygotes ayant des résultats du TS douteux

**Tableau 21** : Mutations des enfants hétérozygotes

## LISTE DES DIAGRAMMES

- Diagramme 1** : Conclusions du dépistage chez les enfants suspects
- Diagramme 2** : Causes des hospitalisations en période néonatale chez les enfants suspects
- Diagramme 3** : Nouvelle convocation au CRCM pour un test de la sueur : conclusion du TS
- Diagramme 4** : Répartition géographique départementale des enfants malades
- Diagramme 5** : Origines familiales par pays des enfants malades
- Diagramme 6** : Répartition des poids de naissance chez les enfants malades
- Diagramme 7** : Enfants malades symptomatiques au diagnostic
- Diagramme 8** : Symptomatologie au diagnostic des enfants malades
- Diagramme 9** : Symptomatologie digestive des enfants malades
- Diagramme 10** : Répartition des valeurs du test de la sueur par iontophorèse chez les enfants malades, formes frontières exclues
- Diagramme 11** : Répartition des valeurs du test de la sueur par titrimétrie chez les enfants malades, formes frontières exclues
- Diagramme 12** : Répartition des valeurs du chlore sudoral chez les enfants présentant une forme classique de mucoviscidose
- Diagramme 13** : Répartition des valeurs des tests de la sueur chez les enfants présentant une forme frontière de mucoviscidose



# I. INTRODUCTION

La mucoviscidose est une maladie grave, chronique et incurable. C'est la maladie génétique récessive autosomique sévère la plus fréquente de la population blanche.

Cette affection résulte d'un gène CFTR anormal situé sur la bras long du chromosome 7 ; plus de 1400 mutations ont été identifiées. Les anomalies de la protéine CFTR, qui constitue un canal chlore AMP cyclique-dépendant et contribue aussi à la régulation d'autres canaux ioniques, provoquent des perturbations du transport membranaire de l'eau, du chlore et du sodium, dont la principale conséquence est la production d'un mucus bronchique et intestinal anormalement visqueux, d'où le nom français de cette maladie. Pour l'arbre bronchique, les complications sont complexes car elles résultent, en plus d'une déshydratation du mucus, d'anomalies inflammatoires caractérisées par un déséquilibre entre les cytokines pro- et anti-inflammatoires conduisant à un recrutement et une activation de polynucléaires. Ceux-ci vont libérer du DNA responsable de l'hyperviscosité du mucus ainsi que des protéases et des oxydants responsables d'une destruction broncho-pulmonaire. L'inflammation et l'anomalie des sécrétions ioniques entretiennent en plus une infection chronique respiratoire. Cette protéine CFTR étant présente à la membrane apicale des cellules épithéliales des différentes structures canalaire, les anomalies ou l'absence de la protéine entraînent l'atteinte de nombreux appareils : broncho-pulmonaire, pancréatique exocrine et secondairement endocrine, hépato-biliaire, ORL, génital. L'évolution est surtout marquée par la dégradation de la fonction pulmonaire entraînant une insuffisance respiratoire chronique irréversible. Il n'existe actuellement aucun traitement curatif de cette maladie.

La mucoviscidose est la plus fréquente des génopathies récessives autosomiques en Europe du Nord, aux Etats Unis d'Amérique et au Canada (dans les populations de souche européenne). La fréquence moyenne de la mucoviscidose en France est de 1/4591. Le nombre de patients atteints de mucoviscidose est de l'ordre de 5000, et environ 180 nouveaux cas sont diagnostiqués chaque année. Elle

se transmet sur le mode autosomique récessif ; la première mutation  $\Delta F508$  a été identifiée en 1989 par Tsui, Riordan et Collins (1).

L'incidence de la maladie est estimée à 0,3/1000 naissances (soit 1/3333) dans les populations blanches alors qu'elle est de 0,01/1000 naissances dans les populations afro-américaines et asiatiques. La fréquence retrouvée en France (1/4591) est inférieure à celle estimée dans les populations blanches en raison du nombre important des populations immigrées africaines qui vivent en France. De plus, il faut noter qu'il existe en Europe, un gradient de fréquence Nord-Ouest / Sud-Est.

C'est en 1979 que Crossley (2) met en évidence que la trypsine immunoréactive (TIR) des nouveau-nés atteints de mucoviscidose est élevée et propose un dépistage néonatal par un dosage de cette protéine à partir d'une goutte de sang séchée.

De là, des programmes pilotes de dépistage sont mis en place dans plusieurs centres et a lieu la première journée internationale consacrée au dépistage néonatal de la mucoviscidose, à Caen, en 1980.

Suite au clonage du gène CFTR en 1989, la plupart des protocoles de dépistage néonatal comprend un test combiné TIR/mutation. En effet, il a été prouvé que ce test combiné associant dosage de la TIR et recherche des mutations en biologie moléculaire était beaucoup plus sensible et spécifique que le dosage de la TIR à deux reprises, à quelques semaines d'intervalle (3). En utilisant des protocoles optimisés, la sensibilité du test est aux alentours de 95%, pour une spécificité de 99,4%. Néanmoins, le dépistage de la mucoviscidose n'a pas reçu l'approbation universelle en raison des doutes sur ses avantages et ses difficultés.

Après de nombreuses années marquées par les incertitudes et les controverses sur la faisabilité et les bénéfices cliniques du dépistage néonatal de la mucoviscidose, plusieurs éléments sont aujourd'hui communément admis :

- ✓ le dosage de la trypsine immunoréactive, couplé à l'analyse génétique des échantillons positifs, est un test de dépistage fiable.
- ✓ Le diagnostic clinique est trop souvent tardif, malgré la présence de symptômes précoces.

- ✓ Les bénéfices à court terme et à moyen terme d'une prise en charge précoce sont maintenant prouvés, tant sur le plan nutritionnel que sur le plan pulmonaire.

En effet depuis une dizaine d'années, plusieurs équipes américaines, australiennes et européennes pratiquent ce dépistage et ont publié leurs résultats, comparant l'évolution des enfants dépistés à la naissance à celle des sujets diagnostiqués de façon traditionnelle. Le gain, en termes de paramètres nutritionnels, apparaît évident dans la plupart de ces études et persiste, même après rattrapage chez les non-dépistés et traités avec retard. Il y a un avantage à court terme, avec une morbidité réduite pour les deux premières années. Il semble aussi y avoir des avantages nutritionnels jusqu'à l'âge de 10 ans. L'influence du dépistage sur l'amélioration des paramètres fonctionnels respiratoires et la prévention de la colonisation bactérienne des voies respiratoires semble moins évidentes. En effet, le développement de broncheectasies étendues et surtout l'évolution vers l'insuffisance respiratoire chronique, qui conditionnent généralement le pronostic vital, apparaissent le plus souvent dans la deuxième décennie. On sait aussi les liens qui unissent le statut nutritionnel et les anomalies du métabolisme des acides gras à l'inflammation et à la colonisation bactérienne chez les patients atteints de mucoviscidose. Tous ces arguments permettent de penser qu'une prise en charge précoce et exemplaire dans des centres de référence devrait améliorer la médiane de survie en amenant un bénéfice pour le malade, ceci devant être encore plus marqué si l'application est réalisée aussi précocement que possible. Enfin, il est peu probable qu'un diagnostic anticipé puisse avoir des effets psychologiques préjudiciables sur le patient atteint de mucoviscidose.

Pour cela, l'Association Française pour le Dépistage et la Prévention des Handicaps de l'Enfant (AFDPHE), sur l'avis positif d'un groupe d'experts, a proposé fin 1999 la mise en place d'un dépistage néonatal systématique de la mucoviscidose (CF). Le dépistage s'est généralisé en France à l'ensemble du territoire au cours de l'année 2002 (4, 5). La France a été le premier pays (et est encore le seul) à mettre en place le dépistage néonatal de la mucoviscidose à l'échelon d'une nation entière. Cette décision est le résultat de plusieurs années de discussion entre la Caisse Nationale d'Assurance Maladie pour les Travailleurs Salariés (CNAMTS), qui finance le dépistage, l'AFDPHE, qui a en charge tous les dépistages néonataux, le ministère de la Santé, qui a créé les Centres de Ressources et de Compétences pour la Mucoviscidose (CRCM), les médecins spécialistes et les associations de

patients, qui ont dynamisé l'ensemble. Ce programme aura un réel effet positif , à la condition qu'il soit obligatoirement couplé avec une prise en charge experte et protocolée de tous les malades.

Pour cela, il était primordial de mettre en place un réseau de soins et des centres de référence régionaux, les CRCM, basés sur les éléments suivants :

- ✓ une compétence reconnue en mucoviscidose assurée par une équipe multidisciplinaire couvrant tous les aspects de la maladie et assurant le suivi d'une file active d'au moins 50 malades ;
- ✓ la responsabilité médicale de la prise en charge du malade organisée, non seulement avec l'équipe du centre, mais de façon plus générale, en collaboration avec un réseau régional spécifique.

Le dépistage de la mucoviscidose est mis en place en région Lorraine depuis juin 2002. Nous avons actuellement un recul de 3 ans et demi, permettant de donner la fréquence plus précise de la maladie dans la région, d'étudier les mutations les plus fréquentes et de mettre en évidence les difficultés rencontrées au cours du dépistage.

En effet, ce dépistage n'est pas simple, et nous sommes confrontés à 2 types de problèmes : les faux positifs, avec les répercussions psychologiques que cela provoque et les formes frontières, qui posent des problèmes diagnostiques et nous amènent à nous poser la question : qu'est-ce que la mucoviscidose ?

# ***A. RAPPELS GENERAUX SUR LA MUCOVISCIDOSE***

## **1. Mécanismes physiopathologiques**

L'atteinte des glandes séro-muqueuses à sécrétion exocrine aboutit au niveau respiratoire à la production d'un mucus visqueux, épais, déshydraté et au niveau digestif, à une insuffisance pancréatique externe et une atteinte hépatique avec la sécrétion d'une bile épaisse, lithogène. Nous ne développons pas ici le mécanisme qui conduit, du défaut de transport du chlore à la déshydratation des sécrétions bronchiques, mécanisme qui est encore l'objet de discussions.

Ces troubles de la sécrétion exocrine sont dus à des anomalies d'échange ioniques par les canaux excréteurs. Cette imperméabilité de l'épithélium aux ions chlores explique le caractère « salé » de la sueur des malades à l'origine du test de la sueur mis au point par Di Sant'Agnese en 1953.

## **2. Génétique**

En 1985, est localisé le locus CF sur le long bras du chromosome 7, entre q21 et q31 (6). En 1989, Tsui, Riordan et Collins localisent précisément et identifient le gène (1), établissent sa structure et identifient son produit, la protéine CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator) ; ils détectent dans le même temps la première mutation du gène ( $\Delta F508$ ), responsable de la maladie.

La protéine CFTR est constituée de 1480 acides aminés ; elle code pour une protéine transmembranaire appartenant à la famille des protéines ABC (ATP binding cassette). Il s'agit d'un gène de grande taille, dont la séquence codante est composée de 27 exons répartis sur un territoire d'environ 180000 paires de bases. Les séquences qui contrôlent la transcription et l'expression du gène restent mystérieuses, et les caractéristiques structurales de la région promotrice connues à ce jour ne permettent pas d'expliquer l'atteinte spécifique de certains tissus dans la

mucoviscidose. Le gène est exprimé principalement dans certaines cellules épithéliales situées au niveau des canalicules pancréatiques et hépato-biliaires, des glandes sudoripares, de l'intestin, de l'arbre trachéo-bronchique et du tractus génital. La principale fonction de la protéine CFTR est le transport AMPc-régulé du chlore à la membrane apicale des cellules épithéliales, mais elle est impliquée dans divers processus intracellulaires : régulation d'autres types de canaux ioniques, trafic et recyclage des membranes, régulation du pH intracellulaire.

La mucoviscidose survient chez des enfants ayant hérité de deux gènes CFTR mutés. L'altération la plus fréquente consiste en une délétion de trois paires de bases (un codon) dans l'exon 10, qui respecte le cadre de lecture naturel de l'ARNm CFTR mais induit la perte d'une phénylalanine en position 508 de la protéine. Cette perte d'un seul des 1480 acides aminés de CFTR induit une instabilité du précurseur qui ne peut, de ce fait, être correctement inséré dans la membrane apicale des cellules épithéliales. La délétion  $\Delta F508$  ( $\Delta$  pour délétion ; F pour « phénylalanine ») représente environ 66% des gènes CF mutants; sa fréquence varie selon l'origine géographique ou ethnique des individus ; ainsi, elle s'observe dans 70 à 75% des cas de mucoviscidose aux USA et en Europe Occidentale, dans 80 à 90% des cas dans les pays scandinaves, 40% des cas sur le pourtour méditerranéen et seulement 22 % des chromosomes mutés chez les juifs ashkénases.

Au sein de l'Europe, il existe gradient de fréquence de la mutation  $\Delta F508$ , allant de Nord-Ouest au Sud-Est, avec la fréquence la plus haute au Danemark (90 %) et la plus faible, en Turquie (18,8 %).

En France, la fréquence de  $\Delta F508$  est de 67 % en moyenne, allant de plus de 80 % en Bretagne à 64 % dans le Sud-Ouest. Les études d'haplotypes suggèrent l'existence d'un effet fondateur intervenu au Moyen-Orient il y a de cela 65 000 à 200 000 ans, suivi d'une distribution de cette mutation lors des vagues successives de migration vers l'Europe occidentale.

L'identification d'autres mutations ne cesse de se poursuivre : on en connaît actuellement plus de 1400, dues essentiellement à des altérations d'un très petit nombre de nucléotides, le plus souvent un seul (mutations ponctuelles). Tous les types de mutation sont représentés, et sont distribués sur l'ensemble des 27 exons. En plus de la mutation  $\Delta F508$  qui représente 71,9% de toutes les mutations, seulement 4 mutations ont, en France, une fréquence qui dépasse 1% : G542X,

G551D, N1303K, W1282X. Chacune de ces mutations est retrouvée préférentiellement dans certains groupes ethniques, telle W1282X présente surtout dans les populations d'origine juive ashkénaze, ou G551D dans les populations d'origine celte (Bretons, Irlandais). A la Réunion, les familles originaires du Cirque de Salazie ont un nombre élevé d'enfants atteints de mucoviscidose. La mutation réunionnaise la plus typique est la Y122X. Il y a également de façon assez fréquente la mutation dite « bantoue », la 3120+1G->A. En Italie, après la mutation  $\Delta F508$ , les autres mutations communes sont : G542X qui est particulièrement commune dans le sud de l'Italie, N1303K et R117H détectées seulement dans les centres du Nord du pays (7).

En France, cinq génotypes sont responsables de 57,30% des cas de mucoviscidose :  $\Delta F508/\Delta F508$  (47,75%),  $\Delta F508/G542X$  (3,4%),  $\Delta F508/N1303K$  (2,7%),  $\Delta F508/1717-IG \rightarrow A$  (2,02%) et  $\Delta F508/2789+5G \rightarrow A$  (1,43%). Les 42,7% restants comprennent des hétérozygotes composites pour la  $\Delta F508$  et une autre mutation (32,89%), des homozygotes ou des hétérozygotes composites pour des mutations rares (9,81%).

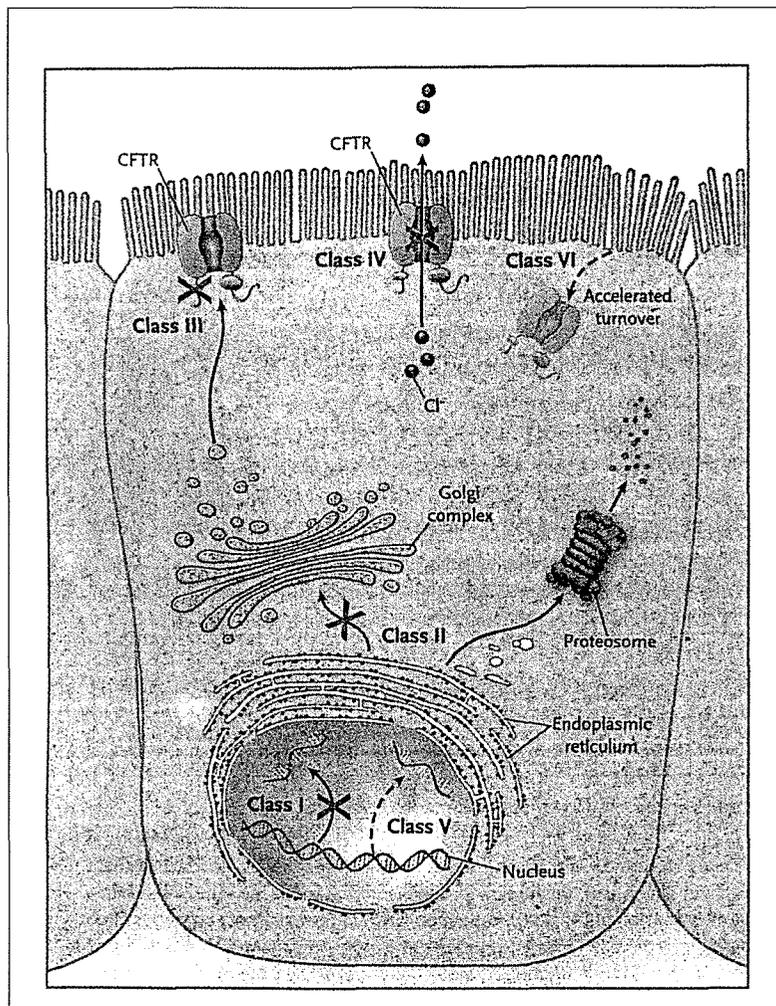
Les mutations du gène CFTR peuvent perturber la fonction de la protéine par différents mécanismes selon la nature de la mutation et le domaine sur lequel ces altérations surviennent. A partir de ces observations, les mutations du gène CFTR ont été distinguées en 6 classes (8, 9) :

- ✓ **Classe I** : (5 à 10 %) **défaut de production** du à un codon stop prématuré (dit « non sens »), entraînant une absence de synthèse de la protéine. (exemple : G542X)
- ✓ **Classe II** : (70 à 90 ) **défaut de maturation et dégradation prématurée** de la protéine. (exemple :  $\Delta F508$ )
- ✓ **Classe III** : **défaut de régulation** du à une anomalie du domaine liant l'ATP, au niveau de la membrane apicale des cellules. (exemple : G551D)
- ✓ **Classe IV** : **défaut de conduction** du à une anomalie du canal ionique situé dans la zone transmembranaire des cellules. (exemple : A455E)

- ✓ **Classe V** : défaut d'épissage des transcrits entraînant une diminution significative de la production et de la quantité de protéine CFTR à son site d'action.
  
- ✓ **Classe VI** : production d'une protéine instable dues à des mutations affectant les propriétés régulatrices de la protéine CFTR et accélérant son « turnover » .

Pour Welsh (9), les mutations de classe V seraient une sous classe des mutations de classe I.

**Catégories des mutations CFTR (8) :**



Les mutations de classe I, II et III sont invariablement associées à une insuffisance pancréatique externe (10) ; elles sont appelées « mutations sévères » et sont responsables de formes phénotypiques graves : la maladie est diagnostiquée avant l'âge de 1 an, le chlore sudoral est élevé (> 80 mmol/l), 20 % ont un iléus méconial. A l'opposé, les mutations de classe IV et V sont toujours associées à une fonction pancréatique suffisante (11) ; elles sont appelées « mutations modérées » car elles n'empêchent pas une petite production de CFTR fonctionnelle, et sont responsables de formes phénotypiques peu sévères : révélation tardive (après l'âge de 10 ans), chlore sudoral peu élevé, pas d'iléus méconial et atteinte pulmonaire modérée (12) . Une étude rétrospective récente, menée sur une cohorte de plus de 10 000 patients appartenant à la fondation du registre national américains des mucoviscidoses a montré un taux de mortalité significativement plus bas chez les patients avec des mutations de classe IV et V, en comparaison avec ceux de classe II (13). Les patients de mutation de classe IV et V montraient également un débit expiratoire de pointe et une capacité vitale meilleurs, des poids et tailles plus satisfaisants et une colonisation à *Pseudomonas aeruginosa* moins fréquente. Cependant, bien que les patients portant les mutations de classe IV et V aient un phénotype moins sévère et un taux de mortalité significativement moins élevé, les variations de sévérité de la maladie semblaient n'être que partiellement en rapport avec la variation allélique du gène CFTR. En effet, il existe des variations phénotypiques entre des patients ayant les mêmes classes de mutation CFTR et parfois même, les mêmes mutations. Ainsi, d'autres facteurs pouvant modifier le phénotype ont été recherchés. Un certain nombre de facteurs environnementaux ont été retrouvés, comme la colonisation à *Pseudomonas aeruginosa* ou à *B. cepacia*, le support nutritionnel, les traitements antibiotiques précoces, le tabagisme et le milieu socio-économique. Mais ces facteurs ne sont pas seuls responsables des variabilités observées chez les individus avec des génotypes identiques. En effet, chez des frères et sœurs ou des jumeaux dizygotes avec le même génotype et le même environnement, nous pouvons retrouver des maladies de sévérité différente comme le montre l'étude de Mekus (14). Cette étude montre aussi que les jumeaux monozygotes ont une concordance significativement meilleure entre le statut nutritionnel et la sévérité de la maladie pulmonaire par rapport aux jumeaux dizygotes, ce qui suggère que la sévérité de la mucoviscidose est également due à des facteurs génétiques secondaires outre le gène CFTR lui-même ; ces facteurs génétiques secondaires sont appelés gènes modificateurs (15, 16, 17, 18). Ils ont été

découverts récemment et seraient responsables des variations d'expression d'une maladie. Concernant la mucoviscidose, ils auraient une influence sur la sévérité des phénotypes de la maladie à travers une multitude de mécanismes, sur la susceptibilité aux infections et sur la réponse inflammatoire.

### **3. Diagnostic positif**

Les critères permettant de faire le diagnostic de la mucoviscidose ont été clairement définis lors d'une conférence de consensus américaine (19).

Il faut réunir : un des signes cliniques évocateurs, ou un cas dans la fratrie, ou un test de dépistage néonatal positif ; et la démonstration d'une anomalie liée au dysfonctionnement de la protéine CFTR : test de la sueur positif au moins à deux reprises, ou présence de deux mutations du gène CFTR, ou différence de potentiel transépithéliale nasale positive (DDP).

En pratique, le diagnostic la mucoviscidose repose encore aujourd'hui sur le test de la sueur, mais il faut garder à l'esprit que 1% des mucoviscidoses ont un chlore sudoral normal. Dans 98% des cas, il montre un taux de chlore dans la sueur supérieur à 60 mEq/l. Les dosages normaux montrent des chiffres inférieurs à 40 mEq/l. Dans tous les cas, le test de la sueur par la technique d'iontophorèse ou semi-quantitative (Exsudose™) doit être confirmé par une technique quantitative titrimétrique, dite de Gibson et Cooke , exigeant un poids de sueur au moins égal à 100 mg. Les résultats positifs le restent toute la vie (l'inverse n'est pas vrai). Il n'existe aucune relation entre le taux de chlore dans la sueur et le niveau de gravité de la maladie. Chez les hétérozygotes, les tests de la sueur sont constamment normaux. Chez l'enfant de moins de 3 mois, il ne faut pas hésiter à contrôler le test de la sueur et à prendre en compte la clinique et les autres résultats biologiques ; en effet, il arrive que les résultats du test de la sueur soient difficiles à interpréter car le laboratoire ne dispose de valeur de référence, qu'au delà de 3 mois ; en dessous de cet âge, les recommandations demandent d'être prudents pour les valeurs supérieures à 30 mEq/l et de les considérer comme positives.

Une fois le diagnostic posé, le conseil génétique doit être proposé aux parents. Les couples ayant déjà un enfant atteint doivent être informés du risque encouru pour leurs enfants à naître, mais également de la possibilité d'un diagnostic anténatal

par étude des produits de la biopsie de trophoblaste en biologie moléculaire (10<sup>ème</sup> semaine).

## **4. Evolution**

Dans sa forme classique, il s'agit d'une maladie pédiatrique qui associe une insuffisance pancréatique et une grave atteinte pulmonaire.

Les problèmes respiratoires, dont l'évolution conditionne aujourd'hui le pronostic vital, mais aussi la qualité de vie, résultent de l'obstruction des bronches, de l'inflammation et de l'infection. La colonisation des poumons par des bactéries pathogènes aboutit à des lésions irréversibles et à une insuffisance respiratoire chronique. L'infection à *bacille Pyocyanique* marque un tournant évolutif dans la maladie. Elle survient en moyenne vers l'âge de 10 ans, après les infections à *Haemophilus influenzae* et *Staphylococcus aureus*, mais elle peut apparaître très tôt chez le nourrisson.

L'aspect nutritionnel joue un rôle important dans l'évolution générale de l'affection comme l'a démontré l'étude comparative de Corey en 1988 (20) qui, en étudiant les populations de deux centres (Boston : n = 499 et Toronto : n = 534), a montré que le taux de survie des malades était meilleur lorsque l'état nutritionnel était optimal, en particulier lorsque les jeunes n'étaient pas sous régime pauvre en graisse. On a pu secondairement démontrer que l'apport énergétique nécessaire à un sujet mucoviscidosique était de 20% supérieur à celui d'un sujet comparable de même âge. En 2000, l'équipe canadienne de Toronto (21) montrait qu'une alimentation riche en graisses (35 à 40 % de l'énergie totale) favorisait un meilleur taux de survie et qu'en cas de balance énergétique négative, il était légitime d'introduire une supplémentation nutritive nocturne par gastrostomie.

Il n'existe, actuellement, aucun traitement curatif de cette maladie.

## **5. Traitement**

Il est important qu'il soit intégré dans une prise en charge pluridisciplinaire.

- ✓ **La kinésithérapie respiratoire** est un élément essentiel du traitement. Elle vise à faciliter le drainage et l'évacuation des sécrétions bronchiques

anormalement visqueuses et compactes. Elle doit être réalisée quotidiennement.

- ✓ **L'antibiothérapie** est également un élément majeur du traitement au cours de la mucoviscidose. Son objet est l'éradication des bactéries infectantes sur ce terrain : *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* ; au début de la maladie, on parvient souvent à éradiquer les deux premiers, puis, au cours de l'évolution, les patients deviennent inéluctablement des porteurs chroniques notamment de pyocyanique.
- ✓ **La prévention de la malnutrition** par une alimentation hypercalorique; utilisation des extraits pancréatiques, présentés en microsphères gastroprotégées, hautement concentrées en lipase ; la supplémentation systématique en vitamines liposolubles (ADEK).
- ✓ **La prise en charge** thérapeutique de la mucoviscidose nécessite des compétences diverses et met à contribution de nombreuses personnes : parents, médecins, infirmières, diététiciennes, kinésithérapeutes, psychologues, assistantes sociales. La mise en place de structures de soins à domicile est essentielle dans cette prise en charge. C'est par une prise en charge précoce et grâce à une continuité de soins que l'on peut espérer améliorer le pronostic global de la maladie.

## ***B. INTERET D'UN DEPISTAGE NEONATAL POUR LA MUCOVISCIDOSE***

### **1. Définition d'un dépistage néonatal**

Les critères de dépistage néonatal ont été définis dès 1968 par Wilson et Jungner (22) et repris par une conférence de consensus nord-américaine en 1988. Le dépistage néonatal est une action de santé publique visant à reconnaître et à traiter dès la naissance des affections congénitales graves. Les maladies qui en font l'objet, doivent répondre à des critères stricts et son organisation, du prélèvement à la confirmation du résultat, ne peut admettre l'approximation. Tous les nouveau-nés de France et des départements et territoires d'outre-mer y sont soumis ce qui représente environ 800 000 dépistages par an. Les laboratoires représentent un

maillon essentiel de cette action. Les critères à satisfaire pour qu'une maladie puisse bénéficier d'un dépistage néonatal de masse sont les suivants:

- ✓ Elle doit être **diagnosticable** à la période néonatale avant que la séméiologie ne soit cliniquement apparente.
- ✓ Son pronostic doit être **grave** lorsqu'elle n'est pas traitée précocement.
- ✓ Elle doit être **traitable** avec d'autant plus d'efficacité que le traitement est débuté tôt.
- ✓ Sa **fréquence** ne doit pas être trop faible dans la population générale (> 1/15000 naissances).
- ✓ Elle doit être identifiable par un **marqueur** suffisamment spécifique dont la méthode de dosage soit simple, sensible et applicable aux grands nombres.
- ✓ La méthode de dépistage doit être d'un **coût** global compatible avec les ressources et la politique de santé publique du pays.

A côté de ces critères « de base » de la stratégie de dépistage, il ne faut pas perdre de vue que, une fois le diagnostic confirmé, l'objectif essentiel est de traiter et de suivre les enfants dépistés pour évaluer son opportunité. Pour que la stratégie de dépistage soit efficace, il faut avoir un **taux de couverture** d'au moins 98%. En France, le taux de couverture est vérifié en temps réel par le nombre d'accouchement.

## **2. Particularités du dépistage de la mucoviscidose**

Le dépistage néonatal de la mucoviscidose a été suggéré pour la première fois en 1979 aux Etats-Unis, mais n'a pas été développé car les bénéfices d'un diagnostic précoce n'étaient pas clairs. Il était basé initialement sur le dosage unique de la TIR, couplé ou non au dosage de l' $\alpha$ -chymotrypsine fécale. Puis, l'étude en biologie moléculaire du gène CFTR, en 1990, avec initialement la recherche unique de la mutation  $\Delta F508$ , a permis d'améliorer la sensibilité du dépistage et de diminuer le nombre de faux positifs, comme l'a publié en 1993 l'équipe de Farrell dans le Wisconsin (23) puis en 1995 et en 2000 l'équipe de Glazner en Australie (24, 25). A la fin de l'année 1997, 3 des 50 états d'Amérique proposaient un dépistage néonatal de la mucoviscidose.

La mucoviscidose est une maladie particulière pour un dépistage de masse car elle ne répond pas totalement aux critères requis pour un dépistage néonatal . En

effet, si elle est bien fréquente, grave, dépistable, il lui manque le critère essentiel d'un traitement efficace qui génère pour le malade dépisté un bénéfice individuel indiscutable.

La mucoviscidose est l'affection génétique sévère la plus fréquente de la population blanche. Elle se transmet selon le mode autosomique récessif . En France, un enfant sur 4591 est atteint, avec des variations régionales. Le taux d'hétérozygotes peut donc être estimé à 1/33. Cette fréquence élevée pour cette affection rend donc important la discussion sur l'intérêt de son dépistage par rapport aux autres affections dépistées : 1/16000 pour la phénylcétonurie, 1/3000 pour l'hypothyroïdie congénitale, 1/15000 pour l'hyperplasie congénitale des surrénales. D'autres éléments laissent penser que ce dépistage a tout son intérêt, dans le but d'améliorer la qualité de vie ainsi que la médiane de survie des malades. En effet, avant la mise en place du dépistage, le diagnostic clinique de la mucoviscidose, si l'on excepte le cas caricatural de l'iléus méconial, restait tardif, et en France, seulement 50% des malades étaient reconnus avant l'âge de 6 mois, avec un délai pouvant aller jusqu'à 5 ans (90% des diagnostics) et plus. D'après les données de 2003 de l'Observatoire National de la Mucoviscidose (26) portant sur plus de 4000 patients en France, l'âge moyen au diagnostic était de 37 mois (avec une médiane à 4 mois). De manière plus détaillée, le diagnostic était posé dans 70% des cas avant l'âge de 1 an, 86% avant l'âge de 5 ans et dans 7% des cas à 10 ans ou plus tard encore (3% à l'âge adulte). La mucoviscidose est une maladie incurable, mais il faut souligner une augmentation de la durée médiane de survie pour ces patients. Elle passe de 5 ans en 1950 à 18 ans en 1976, 30 ans en 1995 et pourrait être espérée à 45 ans pour les enfants nés en 2002. Dès avant la mise en route du dépistage, une prise en charge protocolée et compétente avait permis d'améliorer très fortement la qualité de vie du malade, donc nous pouvons espérer une amélioration encore plus forte avec le dépistage.

Une bonne prise en charge autorise une durée médiane de vie très améliorée ; les expériences des pays nordiques et du Canada sont à cet égard exemplaires et fournissent des données bien différentes de celles de la France ; nous parlons chez eux de 30 à 40 ans de survie, alors que dans notre pays, nous sommes à un âge moyen de décès de 24 ans et à une vie médiane de 36,5 ans, avec cependant une nette amélioration qui ne cesse d'augmenter d'années en années depuis 1994 (Observatoire National de la Mucoviscidose 2003), (26).

Par ailleurs, les jeunes nourrissons atteints de mucoviscidose ont des troubles nutritionnels importants qu'il est facile de traiter, pouvant leur permettre ainsi une meilleure résistance aux autres effets néfastes de morbidité. Mais pour être tout à fait objectif, il faut reconnaître que ces éléments positifs sont simplement des arguments forts pour une bonne prise en charge, mais pas obligatoirement pour un dépistage systématique, car ces bons résultats sur la durée de vie proviennent surtout de pays qui n'ont pas de programme de dépistage, mais qui ont mis en place une prise en charge précoce très stricte du malade.

La durée de vie de la mucoviscidose a augmenté, en rapport avec une amélioration des connaissances physiopathologiques et à une meilleure utilisation des médicaments disponibles. Cependant, l'augmentation de durée de vie s'accompagne d'une augmentation de l'agressivité des traitements et c'est actuellement une des affections qui nécessite le plus de traitements de haute technicité dans des domaines variés, assurés en partie à domicile.

Un autre argument important pour le dépistage néonatal de la mucoviscidose est qu'il est techniquement faisable et fiable. Enfin, le programme du dépistage impose d'autres obligations particulières impératives : l'information et le consentement des parents, puis la prise en charge organisée du malade.

Concernant l'information et le consentement des parents, ceux-ci sont nécessaires car le dépistage comporte une méthodologie qui inclut un génotypage ; pour cela, la loi de bioéthique de 1995 impose le recueil d'un consentement signé, ce qui a été précisé de façon très claire dans le décret du 23 juin 2000 (27) : on ne peut réaliser une étude de l'ADN d'un sujet mineur que si une information personnalisée a été donnée et une autorisation a été recueillie. Les dispositions pour les mineurs impliquent également qu'une étude génétique ne peut être réalisée qu'en cas de bénéfice immédiat attendu pour la prise en charge. Dans le cas particulier de la mucoviscidose, ce dépistage systématique qui touche 800 000 personnes par an, la réalisation pratique de cette obligation est complexe et soulève le problème des moyens nécessaires pour ce qui consomme et du temps et de la compétence. On aurait pu se contenter de ne demander l'étude génotypique que secondairement, pour les seuls enfants dont la TIR est positive, mais alors, on aurait « gommé » totalement le bénéfice du dépistage en deux étapes sur un même prélèvement qui vise justement à n'aborder les parents que quand la suspicion de mucoviscidose est très forte, afin d'éviter de multiples alertes inutiles. En définitive, après avis de la Commission d'Ethique de l'AFDPHE, il a été décidé de demander ce consentement

« a priori » à tous les parents au moment de la réalisation du prélèvement de sang au bébé en maternité, avec la double justification que sa systématisation le « banalisait » et que son recueil à priori permettait d'accélérer l'obtention du résultat final.

L'expérience acquise par l'AFDPHE, lors de l'essai expérimental de dépistage conduit en 1989-1990 sur 725 000 nouveau-nés, les données de la littérature et la comparaison des résultats obtenus selon la taille des centres assurant la prise en charge thérapeutique, amène à retenir les principes suivants (28):

- ✓ le test de dépistage doit être effectué par un laboratoire habilité pour le dépistage néonatal au moyen d'une des deux méthodes validées, en respectant scrupuleusement la méthodologie éprouvée et le seuil de positivité retenu.
- ✓ l'étude complémentaire par biologie moléculaire doit être réalisée par un laboratoire spécialisé capable d'effectuer la recherche de toutes les mutations retenues, à partir du prélèvement de sang sur le carton de dépistage.
- ✓ les enfants dépistés doivent être pris en charge par un centre régional de référence accrédité travaillant en réseau avec les pédiatres libéraux ou hospitaliers ou les médecins généralistes de proximité, selon des dispositions contractuelles fixées par l'autorité de tutelle.
- ✓ la prise en charge organisée du malade est considérée par l'AFDPHE comme une obligation liée à l'action de dépistage. Ce concept a été concrétisé sous la forme des CRCM.

Enfin, il est certain qu'un dépistage précoce de la mucoviscidose va conduire à une information génétique afin de permettre à des parents de connaître l'anomalie génétique dont ils sont atteints et de pouvoir bénéficier d'une information génétique pour les grossesses ultérieures. L'extension du conseil génétique à la famille proche est également très importante.

### **3. Arguments CONTRE le dépistage**

#### **3.1 Risque de colonisation prématurée**

Le dépistage est susceptible de générer des effets délétères qui grèvent le pronostic en l'absence d'organisation adaptée et de moyens suffisants pour la prise en charge des patients. Un des risques est la colonisation prématurée par

*Pseudomonas aeruginosa* qui, a fortiori si les souches sont multi-résistantes aux antibiotiques, peut assombrir le pronostic et alourdir considérablement la charge de soins. Une étude multicentrique, menée dans le Wisconsin, a retrouvé que les enfants diagnostiqués par le dépistage néonatal étaient plus à risque d'une contamination précoce à *Pseudomonas aeruginosa* (29). Cependant, cette étude a été secondairement très contestée car les résultats avaient été faussés par un des centres qui avait un taux de contamination bactérienne beaucoup plus élevé que les autres centres car ils mettaient en contact étroit les nourrissons dépistés et les patients adultes.

### **3.2 Faux positifs et implications psychologiques**

Le risque majeur du dépistage néonatal de la mucoviscidose est la présence des faux-positifs. En effet, il faut prendre en compte que le dosage de la TIR est une technique non spécifique, difficile, entraînant des risques de résultats faussement positifs, et que ce dosage a une valeur prédictive positive très mauvaise. Les faux positifs devront être contrôlés par un test de la sueur, impliquant une convocation du nouveau-né et de sa famille dans un CRCM pour la réalisation de ce test, démarche génératrice d'angoisse et parfois vécue comme un choc psychologique important pour les parents. En ce qui concerne les porteurs sains, nous nous interrogeons sur le vécu des familles et plus tard, de l'enfant qui aura été dépisté comme hétérozygote. Une étude française à ce sujet est en cours.

### **3.3 Révélation des formes frontières**

Une autre conséquence du dépistage néonatal est la révélation des enfants positifs qui ont un test de la sueur limite ou de ceux qui ont 2 mutations et un test de la sueur normal. Ce sont les formes très modérées de mucoviscidose (formes dites « frontières »). Pour ceux-là, le diagnostic de mucoviscidose est incertain et engendre une anxiété chez les parents de l'enfant pour qui les symptômes classiques de mucoviscidose pourront se développer ou non. Certaines de ces formes frontières resteront indéfiniment asymptomatiques alors que le diagnostic aura été porté très précocement dans la vie de la personne concernée.

### **3.4 Y-a t'il un bénéfice réel pour le patient ?**

Certains ajoutent, comme Wald en 1998 (30), qu'une prise en charge plus précoce n'influe pas sur le pronostic, puisque la maladie est de toutes façons incurable et que le bénéfice médical réel du dépistage n'a pas été démontré. Dans son étude randomisée portant sur deux groupes de 325 000 nouveau-nés ayant tous bénéficié du dépistage, Wald compare un groupe de nouveau-nés pris en charge dès la naissance en cas de positivité du test (74 enfants malades), avec un autre groupe (dit « contrôle ») chez qui les résultats du dépistage n'ont été examinés que lorsque les enfants étaient âgés de 4 ans (67 enfants malades) et souvent déjà diagnostiqués par les symptômes cliniques. Il montre que l'âge médian au diagnostic est de 23 semaines dans le groupe non dépisté, c'est-à-dire, seulement 16 semaines de plus que pour les enfants du groupe dépisté. Concernant le poids et la taille des enfants, il met en évidence une petite différence non significative entre les deux groupes au profit des enfants ayant été dépistés à la naissance et conclut de son étude qu'elle ne met en évidence aucun bénéfice à réaliser le dépistage néonatal de la mucoviscidose. Cependant cette étude porte sur un faible effectif d'enfants malades, ce qui rend difficile la possibilité de mettre en évidence des différences significatives entre les deux groupes.

Enfin, depuis la mise en place du dépistage, il est possible que les faux-négatifs soient diagnostiqués avec un retard plus important que lorsque le dépistage n'existait pas, un résultat négatif pouvant faire penser à tort que le diagnostic est forcément exclu. En fait, il est admis que tout examen de dépistage peut être faussement négatif, d'autant plus dans le cadre de la mucoviscidose où les patients à TIR normale sont obligatoirement méconnus (10 à 15 % des malades).

En dernier lieu, les faux négatifs exposent au risque de confrontation médico-légale.

## **4. Arguments POUR le dépistage**

La question posée est de savoir si un traitement très précoce peut améliorer le pronostic ? (31). La réponse à cette question peut être en partie abordée par les résultats du dépistage déjà mené dans les Etats du Colorado et du Wisconsin aux Etats-Unis, en Angleterre, en Australie, en Nouvelle Zélande, en Hollande ainsi qu'au

niveau de notre pays en Bretagne et en Normandie. L'intérêt d'un traitement est avant-tout d'offrir l'opportunité au patient et sa famille, de débiter précocement un programme de traitement dans le but de maintenir en bonne santé plutôt que de traiter des symptômes.

## **4.1 Bénéfices généraux**

Depuis plusieurs années maintenant, il est évident que le dépistage produit des bénéfices précoces. Plusieurs équipes ont mis en évidence une nette diminution de la durée d'hospitalisation au cours des deux premières années de vie, chez les bébés dépistés, et ceci a été confirmé par deux études randomisées menées par Wilcken en 1985 (32) et 1993 (33).

Le travail de l'équipe du West Midlands (34), menée de 1985 à 1990, compare aussi deux populations d'enfants dépistés et non dépistés et étudie l'âge au diagnostic ainsi que les paramètres cliniques, anthropométriques et biochimiques. Ils montrent que le délai diagnostique et la durée d'hospitalisation au cours de la première année est significativement plus courte dans le groupe d'enfants dépistés que pour l'autre groupe. Cependant, ils ne mettent pas en évidence de différence en ce qui concerne les autres paramètres étudiés et leur étude ne porte que sur une durée de 5 ans.

Il y a aussi un intérêt évident à prévenir les complications précoces de l'hyponatrémie et de l'hypochlorémie lors d'une déshydratation par canicule ou gastro-entérite, de la malnutrition sévère et de l'atteinte pulmonaire précoce retrouvées chez certains bébés au moment du diagnostic par le dépistage (35).

En 1998, l'australienne Wilcken B (36) recommandait fortement de suivre les derniers conseils du Center for Disease Control and Prevention (CDC) qui incitait la généralisation de ce dépistage aux états qui ne le pratiquaient pas encore, reprenant comme arguments les bénéfices directs pour les malades, démontrés par les différentes études menées par les équipes Américaines et Européennes, ainsi que les bénéfices secondaires des parents (réduction de l'anxiété par réduction du délai diagnostique, information génétique). Dans la même année, Dodge (37) affirmait que les enfants qui étaient les plus bénéficiaires du dépistage étaient ceux pour qui le traitement pouvait être débuté avant que l'atteinte pulmonaire ne soit symptomatique mais aussi que la différence entre les enfants dépistés et les non-dépistés était faible en terme de croissance pendant les dix premières années. Une étude de l'équipe

d'Amsterdam montrait en 2000 que le risque d'avoir un poids et une taille inférieur au 5<sup>ème</sup> percentile au cours de la première décennie, était plus faible lorsque le malade avait été dépisté en période néonatale (38).

Le CDC des Etats-Unis a publié en octobre 2004 les recommandations pour le dépistage néonatal de la mucoviscidose (39). Dans ce rapport, le CDC conclut que ce dépistage est justifié, basé sur l'évidence de bénéfices modérés et peu de risques d'effets néfastes. Actuellement, aux Etats-Unis, dix Etats réalisent le dépistage néonatal de la mucoviscidose. Le groupe de travail pour le CDC a utilisé le « Strength Recommendation Taxonomy » (SORT), approuvé par « The American Family Physician » sur la base des recommandations sous-tendues par des preuves (« evidence-based recommandations »). Selon les critères SORT, le dépistage néonatal de la mucoviscidose est considéré comme de recommandation modérée (grade 2). Les recommandations du CDC pour le dépistage néonatal rapportent : « Sur la base de l'évidence d'un bénéfice modéré et du faible risque d'être néfaste, le CDC pense que le dépistage néonatal de la mucoviscidose est justifié » (40). Les études du dépistage néonatal pour la mucoviscidose se sont concentrées sur le devenir des patients atteints, spécifiquement sur le statut pulmonaire et nutritionnel. Les bénéfices nutritionnels sont évidents en cas de diagnostic précoce. En revanche, les avis concernant les bénéfices pulmonaires sont partagés. Pour confirmer que le dépistage néonatal de la mucoviscidose a plus de bénéfices que de désavantages, le CDC recommande à ses Etats qui le réalisent, de suivre une procédure délibérée et d'assurer un suivi strict de ses malades.

Si la première étude de Dankert-Roelse en 1989 (41) signale une amélioration nutritionnelle et respiratoire pour un travail mené entre 1980 et 1988, les travaux ultérieurs sont certainement plus représentatifs. En 1997, le même auteur incitait vivement à la généralisation du dépistage (42). En 1999, l'équipe australienne de Wilcken (43) parlait de bénéfices certains à court terme du dépistage avec une réduction de la morbidité au cours des 2 premières années, des bénéfices nutritionnels évidents après l'âge de 10 ans et des bénéfices respiratoires probables. Elle restait cependant prudente en ce qui concerne l'amélioration de l'espérance de vie. Les études de Konstan et al (44) et Zemel et al (45) retrouvent une association significative entre le poids aux âges de 3 à 8 ans, et la fonction pulmonaire évaluée dans les 2 à 4 années suivantes, ceci appuyant l'hypothèse que l'amélioration nutritionnelle dans la petite enfance peut améliorer la fonction respiratoire.

Dans un rapport récent paru en septembre 2005 dans « The Journal of Pediatrics » (46), les auteurs rappellent les données récentes en faveur du dépistage, comparant avec les enfants non dépistés. Ainsi, l'âge médian de diagnostic par le dépistage est de 0,5 mois alors qu'il est de 14,5 mois en cas de diagnostic conventionnel, en excluant les cas d'iléus méconial ou de cas familial rapporté. Un diagnostic fondé sur les symptômes est associé à un risque 2 fois plus élevé de complications médicales avant le diagnostic par rapport à un diagnostic fondé sur le dépistage néonatal. Au cours de la première année de vie, les enfants dont la mucoviscidose est diagnostiquée de façon conventionnelle ont plus souvent une taille et un poids inférieurs au 3<sup>ème</sup> percentile, des oedèmes par hypoprotidémie, une colonisation des voies aériennes au *Pseudomonas aeruginosa*, et des hospitalisations fréquentes pour complications. Plusieurs d'entre eux ont déjà une malnutrition ou une atteinte pulmonaire au moment du diagnostic. En plus de cela, un délai diagnostique important et l'errance diagnostique contribuent toujours à l'installation d'une anxiété parentale et de certaines rancœurs vis-à-vis du corps médical. Lors d'un diagnostic précoce, une meilleure observance familiale et une plus grande confiance dans le milieu médical sont notées.

Enfin, une dernière étude anglaise ? celle de Sims (47), également publiée en 2005, compare un groupe d'enfants dépistés avec un groupe d'enfants non dépistés. Elle retrouve qu'à l'âge de 6 ans, les patients qui avaient bénéficié du dépistage en période néonatale, ont de meilleurs scores en terme de taille, de radiographie pulmonaire, de score de Shwachman et sont moins souvent atteints d'infection chronique à *Pseudomonas aeruginosa*. Les bénéfices nutritionnels sont également prouvés.

## **4.2 Bénéfices nutritionnels et prévention de la morbidité carentielle**

Le dépistage néonatal offre une opportunité pour intervenir précocement. Les bénéfices nutritionnels du dépistage ont été rapportés par la majorité des auteurs tant dans les études randomisées qu'observationnelles ou celles issues des registres ; ils se maintiennent à long terme.

L'étude la plus évidente concernant les bénéfices nutritionnels du dépistage néonatal de la mucoviscidose est celle conduite au Wisconsin aux USA, contrôlée randomisée, menée depuis Farrell en 1997 (48). Elle étudie deux populations de nourrissons durant la même période (nombre total de nourrissons : 650 341), un

groupe diagnostiqué par le dépistage néonatal, avec une prise en charge précoce en cas de maladie (74 enfants) ; un second groupe diagnostiqué uniquement sur les symptômes cliniques (40 enfants), les résultats du dépistage néonatal n'étant révélés que lorsque l'enfant est âgé de 4 ans. Les enfants malades de chacun des deux groupes ont été suivis de près sur une période de 10 ans, avec des évaluations du statu nutritionnel à partir des courbes de croissance et des méthodes anthropométriques et biochimiques. Le résultat de l'étude montre un gain nutritionnel d'autant plus marqué qu'une insuffisance pancréatique exocrine a été découverte et que l'enfant est homozygote pour la mutation  $\Delta F508$ . L'étude conclut que le dépistage néonatal donne l'opportunité de prévenir la malnutrition chez les enfants atteints de mucoviscidose, et d'améliorer ainsi les fonctions cognitives et la lutte contre les infections.

Une autre étude randomisée du Wisconsin (49) montre que les carences nutritionnelles présentes lors du diagnostic initial peuvent être corrigées dans le groupe dépisté ; que ces enfants grandissent significativement mieux durant les dix années de suivi, l'avantage pondéral paraissant disparaître à l'âge de quatre ans avec cependant, dans le groupe dépisté, entre quatre et cinq fois moins d'enfants dénutris durant les treize années de suivi. Cette étude démontre qu'une amélioration des fonctions cognitives est liée à un bon état nutritionnel, peut-être par la correction rapide d'un déficit en vitamine E. Cette dernière notion a été récemment étudiée spécifiquement dans un autre travail de la même équipe de Farrell (50) et il a pu être prouvé qu'un déficit prolongé en vitamine E dans l'enfance était associé à des performances cognitives plus faibles. Ainsi, le diagnostic de mucoviscidose via le dépistage néonatal devrait améliorer le développement cognitif de l'enfant malade, et plus particulièrement chez celui susceptible d'avoir un déficit en vitamine E dans l'enfance.

De plus, le retard de croissance est un des problèmes majeur dans la mucoviscidose ; des observations épidémiologiques ont suggérées qu'une croissance normale dans l'enfance était associée à une meilleure espérance de vie (15) et une meilleure préservation de la fonction respiratoire (51).

La dernière étude publiée par Farrell en 2005 (52) confirme, après une évaluation menée pendant 16 ans, le bénéfice nutritionnel certain, et persistant à long terme, en terme de poids et de taille, chez l'enfant ayant bénéficié du dépistage.

### 4.3 Bénéfices respiratoires

Les améliorations observées sur le poids et la taille de l'enfant sont connues pour être associées avec une amélioration du pronostic pulmonaire. Les bénéfices respiratoires sont cependant plus difficiles à démontrer en raison du manque de sensibilité des outils de mesure.

L'équipe australienne de Waters publie en 1999 (53) le résultat du suivi pendant 10 ans de deux populations pédiatriques : une née avant le dépistage en 1981 et une après le dépistage de 1981 à 1984. Ce travail signale un gain nutritionnel et un intérêt respiratoire avec amélioration du Volume Expiré Maximal Seconde (VEMS) et de la Capacité Respiratoire Fonctionnelle (CRF).

L'étude randomisée du Wisconsin (49) montre que les scores radiologiques initiaux sont meilleurs chez les enfants dépistés tandis qu'à l'âge de deux ans, la moitié des enfants du groupe témoin développe des anomalies quantifiables, soit deux fois plus que le groupe dépisté. Or, l'existence de ces anomalies à l'âge de deux ans est irréversible. Cependant, après dix années de suivi, cette différence s'inverse ; la dernière étude publiée par Farrell en 2005 (52) confirme aussi que les patients dépistés ont de meilleurs scores radiologiques au diagnostic que ceux diagnostiqués par les méthodes standards et que la détérioration pulmonaire, accélérée en cas d'infection à *Pseudomonas aeruginosa* (54), s'observe surtout après l'âge de 10 ans, sans qu'aucune différence significative n'ai été mise en évidence entre les deux groupes (dépistés/non dépistés) ; ces données ont également été constatées par l'équipe française normande lors de l'étude de cohorte publiée en 2001 (55). Bien que l'étude de Farrell dans le Wisconsin ne démontre pas de bénéfice pulmonaire clinique à long terme, les études observationnelles ont démontré des avantages respiratoires avec comme méthode d'évaluation, les scores de radiographie pulmonaire et la fonction respiratoire.

Ainsi, au niveau européen, l'observatoire de la mucoviscidose permet de mettre en évidence une amélioration d'un paramètre fonctionnel respiratoire, le VEMS et la diminution d'infections à *pyocyanique* dans le groupe dépisté. Le résultat de l'enquête bretonne fait état d'une amélioration des scores cliniques de Shwachman et radiologique de Brasfield mais un taux identique de colonisation à *pyocyanique* (56). De même, le rapport de l'étude des enfants dépistés en Bretagne et en Normandie par rapport à l'Observatoire National Français montre une moins grande fréquence de colonisation à *pyocyanique* et une amélioration du VEMS. Concernant les épreuves fonctionnelles respiratoires de ces patients, les études

randomisées (49, 34) et observationnelles (57, 58) n'ont pas démontré de différence spirométrique significative entre les enfants dépistés ou non, avec cependant toujours des résultats en faveur du dépistage. La récente étude australienne publiée en 2005 (59) montre un avantage significatif dans le groupe dépistés aux échéances de 5, 10 et 15 ans par rapport à la cohorte d'enfants non dépistés, tant pour les scores cliniques et radiologiques que pour la fonction respiratoire ; la différence du VEMS est de 12,3% lors de la dernière évaluation et de 12,6% pour la capacité vitale. Des résultats similaires de VEMS ont été publiés à partir de données comparant les enfants dépistés en France en 1989-1990 à ceux diagnostiqués sur des symptômes durant la même période (VEMS à 92% des valeurs prédites versus 86%).

Selon le dernier rapport émis par le CDC en 2005, la colonisation précoce à *Pseudomonas aeruginosa* n'est pas un risque inhérent au dépistage néonatal car les analyses du registre de données des Etats-Unis montrent que les enfants ayant bénéficié du dépistage néonatal de mucoviscidose ne sont pas plus à risque d'une colonisation précoce par ce germe (39, 60), ce qui était encore controversé dans l'étude de Farrell publiée en 2003 (61) mais cette étude avait été faussée par des mauvaises conditions de travail dans un des centres impliqués. Déjà, en 2001, l'équipe de Wang (62) avait montré que le risque d'acquisition de ce germe n'était pas plus important en cas de dépistage précoce.

En principe, le dépistage néonatal permet une prise en charge précoce lors du premier isolement de *Pseudomonas aeruginosa* et ainsi de retarder la colonisation chronique. Selon de récentes données issues du registre américain, l'isolement de *Pseudomonas aeruginosa* est effectif durant l'année suivant le diagnostic chez 28% des nourrissons diagnostiqués par la symptomatologie clinique et 12% chez ceux ayant bénéficié du dépistage néonatal. Le *Pseudomonas* a huit fois plus de risque de devenir mucoïde chez les enfants non dépistés.

Des travaux récents, publiés en 2005 (63), ont étudié l'inflammation des voies aériennes inférieures chez les enfants ayant bénéficié du dépistage : il a été démontré que chez les enfants atteints de mucoviscidose, c'est l'infection (quel que soit l'agent infectieux) qui initie et entretient et majore l'inflammation des voies aériennes ; cependant, ces données sont discutables car il a été montré antérieurement qu'au contraire, l'inflammation était précoce, sévère, chronique, et qu'elle débutait avant l'infection (64) .

Enfin, l'étude menée par Johnson (65) aux Etats-Unis à partir des données du « Groupe Scientifique et de l'Etude Epidémiologique de la Mucoviscidose », montre qu'une surveillance rapprochée de ces malades et une utilisation optimale des traitements à visée pulmonaire sont associées à une amélioration du devenir de leur fonction respiratoire de ces malades.

#### **4.4 Bénéfices en terme de survie**

Une réduction de la mortalité est méthodologiquement difficile à démontrer en raison de la rareté de l'événement durant l'enfance, de facteurs de confusion et des décès non liés à la mucoviscidose. L'étude randomisée britannique menée en 1991 a montré l'absence de mort précoce dans le groupe dépisté (34) (hors iléus), contrairement au groupe témoin. Une autre étude, menée au Pays de Galle (66), est intéressante même si elle porte sur un faible nombre de malades, car elle retrouve que 29% des décès d'enfants porteurs de mucoviscidose et âgés de moins de 5 ans étaient survenus chez des enfants qui n'avaient pas bénéficié du dépistage néonatal et chez qui le diagnostic avait été porté après le décès par l'autopsie. Aucun article issu de l'étude randomisée du Wisconsin ne fournit de données de survie. Les études observationnelles retrouvent, au sein des populations bénéficiant du dépistage, constamment une mortalité plus faible (57, 58, 56, 67). En revanche, aucune différence de courbes de survie, entre les enfants, dépistés ou non, nés après 1986 et suivis 14 années, ne semble exister dans le registre américain. Ce même registre, par une analyse multivariée, montre que le statut nutritionnel est prédictif de la survie : c'est une évaluation indirecte du bénéfice du dépistage. Pour exemple, l'exploitation des résultats entre 1980 et 1993 fournit l'estimation qu'un garçon porteur de la mucoviscidose âgé de sept ans, présentant une taille inférieure au 5<sup>ème</sup> percentile, a un risque relatif de 6,3 de décéder durant l'enfance et l'adolescence (68).

Récemment, une étude américaine (69) a mis en évidence les avantages en terme de survie des patients diagnostiqués par le dépistage néonatal, en montrant qu'un diagnostic précoce est associé à une meilleure espérance de vie, en comparaison à celle des patients dont le diagnostic a été porté après l'âge de 1 mois.

## 4.5 Qualité de vie et recours aux soins

Les études utilisant des échelles d'évaluation de la qualité de vie chez les sujets atteints de mucoviscidose, retrouvent une corrélation inverse avec des indicateurs de morbidité récente mais pas avec le statut nutritionnel ou la fonction respiratoire. Ces échelles manquent de sensibilité et des indicateurs spécifiques ont été développés. L'évaluation du nombre d'hospitalisations et de la charge thérapeutique permet d'estimer non seulement les coûts mais aussi le bien-être de la famille. Les études randomisées ont montré chez les nourrissons dépistés, une utilisation hospitalière plus restreinte pour l'une et des durées d'hospitalisation plus courtes pour la deuxième, durant la première année de vie (70, 34) ; trois études observationnelles le notent également (56, 71, 72). Les données du registre américain entre 2000 et 2002, pour les nourrissons de moins de 12 mois, rapportent que 22% des nourrissons dépistés ont été hospitalisés, versus 64% chez les nourrissons diagnostiqués sur les symptômes cliniques. Le registre britannique indique une diminution significative du recours à des traitements lourds de l'ordre de 20% chez les enfants dépistés ; cette différence se maintient jusqu'à l'âge de six ans puis diminue (73). Des études américaines de cohorte, comme celle de Wagener dans le Colorado (74), ont montré la réduction de la fréquence des hospitalisations et de l'utilisation de traitement lourds mais ceci n'a pas été confirmé par l'étude réalisée dans le Wisconsin.

L'étude la plus récemment publiée est celle menée par l'équipe de Sims en Angleterre (75) qui montre également une réduction significative des traitements lourds chez les enfants ayant bénéficié du dépistage : elle étudie les traitements de deux populations d'enfants de 1 à 9 ans chez qui le diagnostic de mucoviscidose a été porté soit par le dépistage néonatal (184 enfants) soit par les symptômes cliniques (950 enfants). Les auteurs précisent que tous les enfants inclus dans l'étude sont porteurs de la même double mutation  $\Delta F508/\Delta F508$ . L'étude retrouve que les enfants ayant été dépistés et âgés de moins de 6 ans, ont reçu significativement moins de traitements ; chez les enfants âgés entre 7 et 9 ans, ceux qui ont été dépistés ont reçu moins d'antibiotiques par voie intraveineuse ; et les enfants dépistés et non contaminés par *Pseudomonas aeruginosa* ont également reçu moins de traitements. Par contre, aucune différence n'a été mise en évidence entre les deux groupes lorsqu'ils étaient infectés de façon chronique à *Pseudomonas aeruginosa*. Cette étude est cependant à interpréter prudemment car les deux populations ne sont pas équivalentes en nombre.

Enfin, en ce qui concerne les aspects psychologiques du dépistage, plusieurs études ont démontré les bénéfices de celui-ci pour les familles (76, 77).

#### **4.6 Conseil génétique**

Le dépistage néonatal permet, par le conseil génétique, une information sur les risques des grossesses ultérieures y compris chez les apparentés. Les interruptions de grossesse si le fœtus est atteint, auraient un impact sur la fréquence globale de la maladie. Ainsi, certaines équipes avancent une diminution de 30% de l'incidence des enfants atteints sur une période de dix ans dans les régions où existe le dépistage néonatal systématique, comme celle de Cambridge en Angleterre (78).

### **5. Résultats des autres pays et autres régions de France**

Le dépistage néonatal a été instauré dans plusieurs pays à haute incidence de mucoviscidose comme la Nouvelle Zélande, l'Australie, la France, l'Irlande du nord, l'Ecosse, le Pays de Galles, quelques régions d'Angleterre et certains états des Etats-Unis. Cependant, la France est le seul pays où le dépistage est systématisé à tout le pays ; ailleurs, le dépistage n'est réalisé que dans certaines régions ou états...même en Australie, tous les états ne font pas le dépistage.

Aux Etats-Unis, ce dépistage systématique existe officiellement depuis 1997 au Colorado, dans le Wisconsin et le Wyoming, tandis que le Massachusset, le Mississippi et l'Etat de New York et du New Jersey ne le pratiquent que depuis avril 2004. Des protocoles de dépistage, mais qui ne constituent pas une règle fédérale sont également prévus au Montana, dans le Connecticut et en Pennsylvanie et deux nouveaux états pourraient prochainement s'ajouter à cette liste : l'Oklahoma et la Caroline du Sud.

Fort de ces expériences nationales et internationales multiples, le CDC a évalué les risques et les bénéfices associés au dépistage généralisé de la mucoviscidose au cours d'une réunion qui s'est tenue en novembre dernier et dont les conclusions sont intéressantes : le plus évident bénéfice du dépistage néonatal de la mucoviscidose concerne la nutrition. Partout la mise en place immédiate d'un

régime adapté à la maladie de l'enfant a permis de favoriser sa croissance, voire son développement cognitif. Le programme de dépistage néonatal de la mucoviscidose dans le Wisconsin révèle que les enfants dont la maladie a été diagnostiquée dès la naissance sont au même âge significativement plus grands ( $p < 0,01$ ) et plus gros ( $p = 0,06$ ) que ceux qui n'ont pas bénéficié du diagnostic néonatal. Il apparaît également que les hospitalisations des patients ayant bénéficié du dépistage néonatal sont moins nombreuses.

Une étude française (70) prouvant la faisabilité du test a été réalisée de 1989 à 1998 en Bretagne et a permis de comparer une population d'enfants dépistés en Bretagne avec une population d'enfants non dépistés de la région voisine, la Loire Atlantique. Elle a également permis d'établir une cartographie des différentes mutations du gène CFTR existant dans la région et s'est intéressée au diagnostic prénatal. Ainsi, sur 10 ans, 118 enfants atteints de mucoviscidose ont été dépistés, 34 mutations différentes ont été mises en évidence et 39 familles dont un enfant était malade, ont choisi le diagnostic prénatal. Cette étude et les autres rapports écrits par les équipes bretonnes et normandes ont contribué à la décision de la généralisation du dépistage à tous les départements de France débutée en 2002.

Dernièrement, l'équipe du Wisconsin a publié son rapport de 9 ans de dépistage néonatal de la mucoviscidose utilisant conjointement le dosage de la TIR et la biologie moléculaire. Cet Etat a commencé le dépistage dès juillet 1994, avec initialement, la recherche de la mutation  $\Delta F508$  uniquement, jusqu'en février 2002, puis l'extension à la recherche des 25 mutations CF les plus fréquentes. Ils retrouvent une incidence de la mucoviscidose de 1/3983. L'extension à la recherche de 25 autres mutations CF leur a permis d'améliorer la sensibilité du test à 99% (79).

Dans un travail récent, l'équipe américaine du Massachusetts (80) a rapporté les éléments qui lui paraissaient essentiels à la réussite du dépistage néonatal de la mucoviscidose, incluant des centres référents pour la maladie, le choix d'un organigramme décisionnel de dépistage cohérent et pratique, la prise en compte des besoins médicaux à partir d'un organigramme spécifique, la modification des pratiques en fonction des critiques formulées et la prise en charge de l'éducation des malades et leurs familles.

## **6. Résultats globaux attendus en France**

98% des mucoviscidoses avec atteinte pancréatique devraient être repérées avant l'âge de 1 mois ; les « faux positifs » n'excédant pas 0,5% et les « faux négatifs » étant exceptionnels mais attendus, comme dans tout dépistage. D'un point de vue pratique, si l'on retient une fréquence moyenne de la mucoviscidose à 1/4591, on peut compter sur environ 230 nouveaux cas par an en France ; si on excepte les iléus méconiaux (10%) qui sont diagnostiqués à partir de la clinique, cela fait environ 205 cas à repérer.

## ***C. INTERET D'UN CENTRE DE RESSOURCES ET DE COMPETENCES POUR LA MUCOVISCIDOSE***

Les besoins de santé de la population de patients atteints de mucoviscidose ont considérablement évolué consécutivement à l'amélioration de la survie et à l'augmentation du nombre de patients adultes ; l'évolution de la médiane de vie suggère qu'un gain de santé notable pourrait être obtenu grâce à une politique d'amélioration de la qualité de soins incluant une meilleure organisation des centres de soins ; une généralisation du dépistage néonatal suggère une prise en charge optimale après le diagnostic précoce... il était nécessaire, pour cela d'adapter l'offre de soins aux besoins des patients.

La bonne utilisation des traitements symptomatiques a apporté et doit continuer d'apporter une contribution déterminante à l'augmentation de la durée de vie des patients et à l'amélioration de leur qualité de vie. Le développement en parallèle de la recherche et de la qualité des soins est donc plus que jamais nécessaire, tant il est vrai que plus les soins seront de qualité, plus les patients seront nombreux à bénéficier de manière optimale des thérapeutiques à venir.

Si les patients atteints de mucoviscidose ne peuvent encore accéder à un traitement curatif, les traitements symptomatiques ont permis des progrès spectaculaires dans les dernières décennies. Ainsi, la médiane de vie, qui était de l'ordre de 2 ans dans les années 1950 et de 5 ans dans les années 1960, dépasse-t-elle actuellement les 30 ans dans les pays d'Amérique du Nord, pour approcher voire

dépasser les 40 ans en Suède et au Danemark. L'apparition de registres internationaux, européens et nord-américain, a permis d'objectiver l'augmentation spectaculaire de la médiane de vie mais aussi de mettre en évidence des différences notables d'un pays à l'autre. Ainsi, le registre international de la mucoviscidose (81) montrait, en 1998, que l'âge moyen du décès était plus bas en France que dans la plupart des autres pays d'Europe : de l'ordre de 20 ans en France et au Royaume-Uni, de 23 ans en Allemagne et de 31 ans au Danemark. Dans le rapport de l'Observatoire National de la Mucoviscidose de 2002-2003, l'âge moyen du décès était de 23,7 ans en France, 22,6 ans en Allemagne, 25 ans au Danemark et 26,2 aux Etats-Unis (26).

Cette situation dans un pays comme la France, qui bénéficie d'un système de santé souvent considéré comme l'un des meilleurs au monde, soulève la question des causes.

Le Danemark et la Suède font état de résultats tout à fait remarquables et de niveau comparables en terme de médiane de survie. Ces deux pays ont en commun une organisation des soins particulièrement rigoureuse : suivi fréquent et régulier dans des centres de soins spécialisés ayant en charge un grand nombre de patients, application rigoureuse de protocoles de soins soumis à évaluation. L'analyse des données internationales met ainsi en évidence une médiane de vie plus élevée pour les patients suivis dans des centres de soins spécialisés.

De telles constatations dans le domaine de la mucoviscidose suggèrent un rôle déterminant de l'organisation des soins et, par conséquent, de la politique de santé.

C'est dans ce contexte que l'AFDPHE a proposé que la décision de généraliser le dépistage néonatal de la mucoviscidose soit subordonnée à la nécessité d'un suivi par des centres spécialisés offrant les meilleurs garanties d'efficacité. Ainsi, la création des CRCM (82) était elle un préalable indispensable à la généralisation du dépistage néonatal décidé par la caisse nationale d'assurance maladie en octobre 2000.

## **1. Caractéristiques de la maladie à prendre en compte pour répondre aux besoins des patients.**

La mucoviscidose est une maladie de longue durée, contraignante et à l'issue incertaine dans laquelle la famille est, en général, plongée dès le plus jeune âge de l'enfant.

Par ailleurs, c'est une maladie évolutive, mais pour laquelle les traitements symptomatiques ont fait gagner des années de survie, si bien qu'aujourd'hui les médecins sont en présence de patients ayant une grande connaissance de leur maladie.

Enfin, dans cette pathologie, le rôle du patient lui-même (et/ou de sa famille) dans les soins est primordial, ce qui souligne l'importance de la formation et de l'éducation à une prise de responsabilité et à l'acquisition d'une autonomie (prise de médicaments régulière et continue, séances de kinésithérapie respiratoire, séances d'aérosols, attention particulière vis-à-vis de l'alimentation).

## **2. Qu'est-ce qu'un centre de soins pour personnes atteintes de mucoviscidose ?**

Le CRCM est, pour les enfants dépistés, le lieu où le diagnostic est confirmé et annoncé à la famille ; c'est pour tous les patients, le lieu de surveillance régulière (au moins trimestrielle à partir de l'âge de un an, plus rapprochée au cours de la première année).

Il peut être défini comme un regroupement de compétences en matière de mucoviscidose, pour soigner au mieux, de manière globale et continue, les personnes atteintes de la maladie. C'est le lieu où les examens sont faits périodiquement et où les options et décisions importantes sont prises. C'est le centre de coordination de tous les intervenants et soignants, quels que soient les lieux de réalisation des soins.

L'existence d'une équipe pluridisciplinaire est un élément important. L'équipe pluridisciplinaire doit, par la diversité des qualifications, le nombre et les compétences de ses membres, répondre aux besoins spécifiques de soins des patients atteints de mucoviscidose. Les membres de l'équipe pluridisciplinaire doivent avoir la capacité de générer la confiance et d'apporter un soutien

psychologique au patient et à sa famille en démontrant une bonne connaissance de la maladie et des patients, une rigueur constante dans l'application des procédures de soins et de prévention des infections nosocomiales, une aptitude à l'écoute et une parfaite cohérence dans la transmission de l'information. L'équipe pluridisciplinaire est constituée d'un noyau de base composé d'un médecin assurant la responsabilité médicale du centre de soins, d'un médecin qui assiste le responsable médical, d'un(e) infirmier(ère) puériculteur (trice), d'un kinésithérapeute, d'un psychologue, d'une diététicienne. Ce noyau de base comprend aussi un coordinateur paramédical, le plus souvent un(e) infirmier(ère). Apporter aux autorités administratives les connaissances essentielles pour adapter la politique sanitaire dans le domaine ; être l'interlocuteur des associations de malades pour travailler avec elles à l'amélioration de la prise en charge et de la qualité de vie des patients.

D'autres engagements sont nécessaires au CRCM : participer à l'amélioration des connaissances et des pratiques professionnelles ; développer les outils de la coordination entre les différentes structures et acteurs prenant en charge la maladie.

### **3. Mode de fonctionnement des centres de soins et plateau technique**

Le CRCM doit être ouvert toute l'année, avec la possibilité de contacter un médecin du centre et d'une prise en charge en urgence si nécessaire. Une visite médicale trimestrielle systématique est habituellement admise comme la fréquence minimale recommandée du suivi. Elle est organisée au mieux sous forme d'une consultation pluridisciplinaire.

Le plateau technique permet la réalisation des examens indispensables : test sudoral, explorations fonctionnelles respiratoires et digestives, radiographie et tomographie thoraciques, échographie abdominale, bactériologie des crachats, biologie courante, scintigraphie pulmonaire, endoscopie bronchique et digestive. Les locaux sont adaptés en conséquence, en particulier pour éviter la transmission de germes entre patients.

L'objectif de coordonner les soins est de développer au maximum la confiance entre le patient, sa famille et l'équipe soignante, de promouvoir l'autonomie du patient et de sa famille, dans les limites de leurs possibilités, enfin, d'améliorer l'observance des traitements et par conséquent, les résultats à long terme.

## **4. Rôle du clinicien**

Le clinicien prend en charge les suspects et s'il a ainsi la possibilité de rassurer les parents pour un faux-positif, il a aussi la lourde charge d'annoncer un diagnostic non attendu et d'organiser une prise en charge thérapeutique souvent lourde, détruisant de toute façon un peu, au moins dans les premiers mois, l'image de « l'enfant idéal » que tout parent construit pour son nouveau-né avant même sa naissance ; mais le dialogue qu'il instaure patiemment avec la famille, permet progressivement de reconstruire une image positive de l'enfant. Le clinicien prend en charge l'enfant tant sur le plan médical que dans sa situation sociale (et celle de sa famille) afin que les traitements soient suivis le mieux possible tout au long de la maladie.

## **5. La fédération française des Centres de Ressources et de Compétences pour la Mucoviscidose**

En mars 2004, a été créée la Fédération française des CRCM (Journal officiel n° 28 du 10 juillet 2004). L'objet est de contribuer à l'amélioration de la vie des patients, en favorisant les échanges entre professionnels, en collaborant avec les associations de parents et de patients, en établissant des référentiels pour les pratiques et la démarche d'évaluation, en participant à la mise en place d'un registre, en facilitant la recherche clinique au niveau national et international, en représentant les CRCM auprès de tutelles pour l'obtention des moyens adaptés à leur missions. La fédération est une structure de réflexion, de concertation et de proposition concernant l'organisation des soins en matière de mucoviscidose : elle s'est rapidement imposée comme une interlocutrice incontournable du fait de l'adhésion de la très grande majorité des CRCM. Elle travaille à faire reconnaître la place particulière de la mucoviscidose au sein des maladies rares (du fait de sa prévalence, de ses particularités cliniques, de la complexité de sa prise en charge et de la problématique du dépistage).

Elle est aussi une société savante (Société française de la mucoviscidose), ce qui renforce sa légitimité dans sa vocation administrative et politique (ces deux volets en font une entité unique en France et probablement en Europe). Sa commission

scientifique a dans ses attributions l'organisation d'une réunion scientifique annuelle, l'animation de groupes de travail, la mise en place et la gestion scientifique de la base de données phénotypiques et génotypique nationale. L'objectif est de faire vivre une base de données très riche, sinon exhaustive, qui, alimentée de façon régulière par les cliniciens, puisse servir, en fonction de règles validées par tous, aussi bien à une utilisation locale qu'à des projets de recherche régionaux, interrégionaux, nationaux ou internationaux, et bien sûr à la tenue de l'Observatoire National (aujourd'hui propriété de l'association « Vaincre la mucoviscidose »), que l'on souhaite voir évoluer vers un registre national exhaustif ; cela en excluant les saisies multiples actuelles.

Enfin, la fédération se doit de développer des relations internationales, européennes notamment. (83)

## **6. La contribution des familles et des associations**

Les étapes clés dans l'organisation des soins de la mucoviscidose sont le fruit de la volonté synergique des familles au sein des associations et des professionnels impliqués. L'association « Vaincre la mucoviscidose » est une association loi 1901, créée en 1965, reconnue d'utilité publique. Pour atteindre son objectif, elle s'est fixé quatre missions : guérir demain en finançant la recherche, soigner aujourd'hui en améliorant la qualité des soins, améliorer la qualité de vie au quotidien, sensibiliser et informer. Elle regroupe parents, patients, soignants, chercheurs et sympathisants. Elle considère que l'amélioration de la qualité des soins passe notamment par la valorisation de la parole des parents et des patients. Dans ce sens, « Vaincre la mucoviscidose » encourage, depuis 2002 la mise en place, partout en France, de collectifs de parents et patients animés par les parents et patients référents des CRCM comme interlocuteurs représentant les usagers dans les réseaux.

La légitimité des parents et patients à participer aux décisions est évidente pour la définition et le suivi de la qualité de vie, en accord avec la qualité des soins. Cette légitimité s'appuie sur l'implication des patients et des parents dans les soins et le suivi, notamment à domicile, dont la réalisation pratique reconnue par les professionnels doit être prise en compte, de même que leur expérience dans la coordination et le transfert des soins de l'hôpital au domicile.

De fait les parents et patients référents des CRCM sont des partenaires reconnus des réseaux de soins (84).

Ainsi, les structures à trois niveaux (fédération, CRCM, réseaux de soins régionaux) qui se sont mis en place en France devraient permettre une prise en charge optimale de l'ensemble des patients atteints de mucoviscidose autour de référentiels de soins harmonisés, une évaluation régulière et rapide des pratiques cliniques, une meilleure connaissance épidémiologique de la maladie et la mise en place de projets de recherche de grande envergure.

# I. DEPISTAGE NEONATAL : GENERALITES ET PRATIQUE QUOTIDIENNE

Actuellement, le dépistage néonatal de la mucoviscidose est basé sur le dosage de la TIR chez tous les nouveau-nés au 4ème jour de vie (3 jours pleins de vie, appelé J3), couplé à une étude en biologie moléculaire (BM). Cette méthode est techniquement faisable et fiable. L'AFDPHE, qui assure la responsabilité de la mise en place des actions de dépistage néonatal du programme national, a , avec des experts regroupés en commissions, défini un organigramme dont l'objectif est, entre autres, d'offrir à tous les bébés, quelle que soit leur origine géographique, un dépistage identique et efficace, avec une prise en charge et un suivi des malades pertinents.

## ***A. Généralités***

### **1. L'information**

Elle s'adresse à la fois aux parents et aux professionnels de santé. Les parents ont à disposition un fascicule « 3 jours, l'âge du dépistage », présentant les grandes lignes du programme (voir en annexe n°1) et remis à tous les parents en maternité ; ce dépliant précise aux familles :

- ✓ « si les résultats sont normaux, ils ne seront pas rendus directement mais seront à votre disposition dans la maternité ou le service de pédiatrie où a été effectué le prélèvement » ;
- ✓ « si un des tests montre un résultat anormal, vous serez rapidement informés. Un contrôle réalisé dans les meilleurs délais, permettra de savoir si votre enfant a réellement besoin d'être traité ».

Ce dépliant a été réalisé afin que les parents aient une approche générale des différentes maladies recherchées par le dépistage et présente ces tests comme des dosages de routine pour minimiser l'anxiété parentale.

Le personnel soignant est aussi informé par un « guide professionnel » qui envisage les différents aspects de l'action et leur permet d'engager au mieux le dialogue avec les parents et de participer avec efficacité au dépistage. L'AFDPHE reconnaît que l'information n'est pas donnée au meilleur moment...elle devrait être donnée en prénatal dans le 3<sup>ème</sup> trimestre de la grossesse, à un moment où la future maman est très réceptive et disponible ; donnée en post-natal, au moment de la réalisation du prélèvement, elle perd beaucoup de son efficacité, alors que tous les professionnels reconnaissent que la clé de l'acceptabilité du programme par la famille repose sur une bonne compréhension de sa finalité. Des progrès sont à faire.

## **2. Le consentement des parents**

L'introduction des techniques de BM dans l'organigramme du dépistage demandait d'adapter les procédures afin d'être conformes aux lois françaises de bioéthique. Différents décrets et lois ont régulé l'étude du génome humain et la communication des résultats. La loi de 1996 (85) couvre plusieurs aspects en rapport avec l'utilisation du DNA , essentiellement basé sur « les droits fondamentaux de l'individu », et introduit l'obligation d'avoir le consentement de la personne concernée avant toute étude de matériel génétique. En 2000, un décret (86) concernant les éléments requis pour la réalisation d'études sur le DNA et la communication des résultats, a été publié. Les points essentiels étaient les suivants : l'analyse du DNA peut être réalisée si les résultats entraînent une action médicale dans le but de fournir un bénéfice direct au patient ; le consentement éclairé doit être donné par le patient, ses parents ou le tuteur légal de la personne; seul un médecin peut prescrire une étude de biologie moléculaire ; les laboratoires réalisant ces études du DNA doivent avoir l'accord du Ministère de la Santé ; les résultats ne sont envoyés qu'au médecin qui a prescrit l'étude. Ainsi, selon ces textes législatifs « *la prescription du test doit être faite par un médecin après recueil d'un consentement écrit qui doit être transmis au laboratoire* ».

C'est donc dans ce contexte qu'il a été décidé que le consentement écrit serait recueilli pour l'ensemble des parents alors que l'étude de l'ADN ne serait faite que chez une petite partie des enfants (moins de 1%) et que le Président de l'Association Régionale, habituellement un médecin, serait responsable de la prescription de la BM chez les enfants dont la TIR serait supérieure ou égale au seuil d'action.

Le consentement des parents, spécifique au génotypage CFTR, est recueilli en maternité au dos du carton de prélèvement, avec la formule « Après avoir été informés, nous soussignés (nom, prénoms)....., mère, père de l'enfant....., né(e) le....., autorisons, n'autorisons pas , les médecins responsables du dépistage néonatal à réaliser, si besoin, un test génétique pour le dépistage de la mucoviscidose » (voir annexe n°2).

Ce texte pour le recueil du consentement parental a été établi en accord avec les recommandations du Comité d'Ethique de l'AFDPHE. Il est exigé pour tout génotypage et doit être archivé pendant 30 ans. Si aucune mutation n'est retrouvée ou si l'étude en biologie moléculaire n'a pu être réalisée faute de consentement parental, un second prélèvement sera réalisé à trois semaines de vie pour un contrôle du dosage de la TIR.

Le prélèvement de sang, réalisé en maternité (éventuellement dans les services de néonatalogie ou par la PMI), se fait par le recueil, au talon de l'enfant, de gouttes de sang sur un « carton buvard » (papier aux propriétés physiques parfaitement calibrées et constantes, de type papier de chromatographie), couplé au prélèvement sanguin réalisé pour les autres dépistage néonataux au quatrième jour de vie (phénylcétonurie, hypothyroïdie congénitale, hyperplasie congénitale des surrénales, drépanocytose) (voir annexe n°2). Après séchage à la température ambiante, le carton est adressé, par voie postale (enveloppe pré-imprimée, envoi gratuit), à l'Association Régionale puis transmis au laboratoire régional de dépistage néonatal, qui réalise systématiquement un dosage de la TIR et, si nécessaire, le génotypage selon un arbre décisionnel précis.

## ***B. Méthodologie du dépistage de la mucoviscidose avec l'organigramme (voir annexe n°3 : organigramme, modifié depuis le 2<sup>ème</sup> trimestre 2003)***

### **1. Généralités**

Le dépistage repose sur le dosage de la TIR sur un prélèvement de sang au 4<sup>ème</sup> jour de vie . En cas d'élévation de celle-ci, une étude en biologie moléculaire est effectuée, à la recherche des principales mutations : examen non exhaustif puisque plus de 1400 mutations ont été découvertes.

- ✓ Si le résultat de la TIR est normal, le processus est stoppé et seule la maternité est informée du test négatif sous forme d'un listing hebdomadaire ;
- ✓ Si la valeur de la TIR dépasse le « seuil d'action », le dosage est complété par la recherche de mutations du gène CFTR si le consentement des parents a été préalablement recueilli à la maternité. Le génotypage est réalisé dans un laboratoire accrédité interrégional à la demande du médecin prescripteur de l'Association Régionale. L'étude du génotype CFTR est également réalisée à partir du sang séché et comporte actuellement la recherche de 30 mutations (kit 30), alors que seulement 20 mutations (kit 20) étaient recherchées au début du dépistage et jusqu'en octobre 2004 (voir annexe n°4 et 5). Depuis quelques mois, le Kit 30 est élargi dans certains laboratoire avec la recherche de 3 voire 6 autres mutations.

Les résultats sont transmis au médecin prescripteur de l'association régionale qui agira différemment selon les situations :

- ✓ Si une anomalie du génotype est trouvée, le bébé est confié au CRCM qui confirmera avec le test de la sueur son statut « malade » ou « hétérozygote » et informera les parents du diagnostic et des traitement nécessaires pour le malade.
- ✓ Si aucune mutation n'est identifiée, on demandera un deuxième prélèvement de sang pour contrôle de la TIR, théoriquement à J21, si la TIR à J3 était

supérieure à 100 µg/l. De même, si les parents n'ont pas donné leur consentement au génotypage et si la TIR à J3 est positive, on les recontactera pour savoir s'ils maintiennent leur refus et il sera également demandé un prélèvement de contrôle à J21.

- ✓ Si, après une TIR à J3 positive, on ne décèle pas de mutation et que la TIR à J21 est normale, un compte-rendu détaillé des résultats est adressé au médecin traitant qui est chargé de le transmettre et de l'expliquer aux parents.

Chaque région a un laboratoire de biologie référent qui exécute le dosage de la TIR (11 laboratoires par la méthode « Cisbio » radio-immuno ; 12 laboratoires par la méthode « delfia » immunofluorescence). Neuf laboratoires de biologie moléculaire gèrent l'étude des mutations dans le cadre du dépistage. L'association régionale est responsable, au niveau de sa région, du bon fonctionnement des différentes étapes.

Pour parfaire cette organisation, des experts ont, à la demande de l'AFDPHE, fourni des protocoles qui précisent aussi bien les méthodologies techniques de dosage (TIR et génotypage) que les principes généraux du traitement « systématique » de tous les malades.

## **2. Modifications de l'organigramme**

En raison d'un grand nombre de faux positifs, l'organigramme de dépistage a été modifié afin de limiter le nombre de demandes de BM et de diminuer le nombre d'enfants sains convoqués dans un CRCM.

La situation antérieure : Dans un premier temps, le « seuil d'action » a été fixé à 60 µg/l. Ce « seuil d'action » est égal à la moyenne du résultat du dosage fait en double sur le prélèvement de J3 quand le premier résultat est au dessus du « seuil d'alerte » (qui reste interne au laboratoire), qui avait été fixé à 45 µg/l.

De même, si un contrôle de la TIR était nécessaire à « J21 » (BM négative), l'enfant était convoqué au CRCM si les résultats biologiques étaient supérieurs ou égaux à 30 µg/l.

La situation actuelle : A la suite d'une expérience de 2 ans, le protocole a été modifié. Ainsi, à partir du deuxième trimestre 2003, après avis auprès de la Commission Technique (AFDPHE), le « seuil d'action » est passé à 65 µg/l (tandis que le seuil d'alerte est passé à 55 µg/l), en raison du nombre trop élevé d'enfants considérés comme suspects sur la TIR et devant de ce fait avoir un test ADN, notamment au premier trimestre 2003 (0,97% des enfants testés). Dans le même temps, le taux de TIR sur le prélèvement de contrôle conduisant à convoquer un enfant sans mutation dans un CRCM est passé de 30 µg/l à 40 µg/l.

Comme ce contrôle de la TIR est à la source d'une inquiétude inutile pour les familles, il a été décidé que le contrôle de la TIR à J 21 serait réservé aux enfants dont la TIR à J 3 était supérieure à 100 µg/l (et aux enfants sans BM quel que soit le taux de la TIR à J 3) ; cette modification de l'organigramme a permis de diminuer nettement le nombre d'enfants convoqués dans un CRCM. (Voir tableau annexe n°3: organigramme du dépistage de la mucoviscidose).

## ***C. Pratique quotidienne***

### **1. Rappel : mécanisme physiologique de l'augmentation de la TIR**

La trypsine est l'un des principal produit de sécrétion du pancréas humain, faisant de son taux sanguin un marqueur spécifique de la fonction pancréatique. Des enzymes pancréatiques, la trypsine est la seule secrétée uniquement par cet organe. Le pancréas humain produit plusieurs trypsinogènes dont les plus importants sont Tg1 et Tg2 ; ils sont activés en trypsine après clivage d'un hexapeptide. La trypsine alors active est transportée par  $\alpha$ 1-antitrypsine,  $\alpha$ 2-macroglobuline et inter- $\alpha$ -trypsine inhibiteur et leur répartition n'est pas la même chez le nouveau-né atteint de mucoviscidose et celui qui ne l'est pas. Cette répartition varie d'un enfant à l'autre. L'augmentation de la trypsine immunoréactive et des autres enzymes pancréatiques, dans le sang des nouveau-nés atteints de mucoviscidose est probablement due à l'obstruction des conduits de sécrétion dans le pancréas : le suc pancréatique visqueux provoque une augmentation de la pression dans les canaux pancréatiques et un passage accru des protéines pancréatiques dans le sang. Les cellules des

acini pancréatiques produisent une quantité normale de zymogène. Le taux de TIR diminuent après la période néonatale, en rapport avec une atrophie progressive des acinis et leur remplacement par un tissu fibreux, du à la dysfonction pancréatique.

C'est en 1979 que J. Crossley publie dans « The Lancet » que les nouveau-nés atteints de mucoviscidose ont une trypsine plus élevée dans le sang (2). D'autres travaux montrent plus tard que l'élévation de la trypsine dans le sang des nouveau-nés mucoviscidosiques persiste plusieurs semaines après la naissance. Il est constaté que 15% des nouveau-nés (tous confondus) ont une trypsine élevée mais chez le nouveau-né sain, elle se normalise au cours des deux premières semaines de vie (87).

Ce dosage n'a de valeur qu'au tout début de la vie où la destruction pancréatique n'est pas encore totale.

Le dosage de la TIR repose sur la mise en évidence radio-immunologique de trypsine et de trypsinogène dans le sérum des nouveau-nés, dont le taux maximal au deuxième trimestre de la vie foetale décroît rapidement après la naissance. Il est plus élevé chez l'enfant porteur d'une mucoviscidose. La destruction progressive du pancréas exocrine au cours des premiers mois de vie fait que ce test perd toute sa valeur au delà de 6 mois. Ce test ne peut être utilisé seul comme moyen de dépistage systématique en raison des faux positifs (hypertrypsinémie transitoire) touchant 1 à 2% des nouveau-nés (notamment en cas de stress néonatal), et des résultats normaux chez les enfants malades suffisants pancréatiques (5 à 10%). Sa sensibilité est de 95 à 98% (hors iléus méconial) et sa spécificité est très médiocre à 3 jours de vie, d'où la nécessité de réaliser d'autres examens pour le dépistage.

En 2005, Ogino et son équipe (88) évaluent les caractéristiques de la TIR en utilisant les données déjà publiées : la probabilité d'avoir une TIR augmentée si le nouveau-né est affecté est approximativement de 1 ; de 0,041 si le nouveau-né est porteur sain ; et de 0,011 si le nouveau-né n'est pas porteur du gène de la mucoviscidose.

Les travaux de Hammond KB (89) ont montré que 95,2% des nouveau-nés atteints de mucoviscidose (à l'exclusion des iléus méconiaux) pouvait être identifiés par le dosage de la TIR.

Lecoq et al.(90) ont suggéré que les concentrations néonatales de TIR étaient en partie génétiquement déterminées.

Chez un enfant né prématurément, la valeur de la TIR garde la même valeur pour le dépistage.

Seule la TIR dosée dans un centre de dépistage est validée. Il ne faut pas confondre avec les valeurs de plusieurs autres techniques.

En cas d'iléus méconial à la naissance, la TIR n'a aucune valeur prédictive négative.

## **2. Trypsine immunoréactive**

### **2.1 Technique**

Le dosage de la trypsine immunoréactive se réalise soit par radioréaction, soit par immunofluorescence et peut être effectué par les méthodes CIS Bio, Autodelfia ou Delfia. Les résultats sont exprimés par rapport à une valeur seuil. La commission de contrôle de l'AFDPHE organise le contrôle de qualité auprès de l'ensemble des laboratoires.

Dans notre centre de dépistage, la méthode de dosage utilisée est la méthode Delfia® par immunofluorescence. Les principes de cette méthode de dosage sont basés sur la fluorométrie, utilisant des anticorps monoclonaux (voir annexe n°6). La fluorescence de chaque échantillon est proportionnelle à sa concentration en TIR. En cas de valeur supérieure ou égale à 45 µg/l, le dosage est réalisé une seconde fois. S'il reste supérieur au seuil autorisé (60 µg/l initialement, aujourd'hui 65 µg/l), le prélèvement est envoyé dans un laboratoire de biologie moléculaire pour que soit réalisée une analyse génétique, si l'accord a été signé par le ou les parents.

### **2.2 Risque de faux négatifs ou d'enfants non dépistés**

Il faut savoir qu'avec ce dépistage, les formes de mucoviscidose initialement sans atteinte pancréatique ou avec atteinte de gravité modérée ou faible, ne sont pas dépistées car leur TIR peut être normale. Ces formes concernent 10 % des enfants atteints par la maladie. Dans ce cas, on ne peut pas réellement parler de faux-négatifs.

Par ailleurs, il faudra penser à faire un test de la sueur en cas d'iléus méconial, chez les enfants maghrébins ou turques avec retard de croissance intra-utérin car ces enfants sont moins souvent insuffisants pancréatiques et leur TIR peut être normale ; de même en cas d'iléus méconial, car la TIR n'a aucune valeur prédictive négative.

### **3. Test de la sueur**

#### **3.1 Historique**

Dans un article publié en 1951, Kessler et Anderson (91) rapportent que 5 des 10 enfants admis au "Babies Hospital in New York", au cours d'une période de fortes chaleurs en août 1948, étaient des enfants atteints de mucoviscidose. Ces enfants souffraient de forte déshydratation, de fièvre, de signes de collapsus circulatoire et deux d'entre eux sont décédés (les 2 avaient la mucoviscidose). Leur hypothèse était de dire que, soit les glandes sudoripares de ces enfants ne fonctionnaient pas bien, soit qu'une petite infection associée à un hypermétabolisme rendaient les enfants atteints de mucoviscidose plus susceptibles aux fortes chaleurs. La première hypothèse fut abandonnée après avoir observé un enfant qui avait une sudation profuse.

Cette observation a conduit à l'hypothèse qu'il devait y avoir une anomalie de la composition en électrolytes de la sueur des patients atteints de mucoviscidose, et les mêmes auteurs publiaient deux articles à ce sujet en 1953.

\* Le premier était une communication préliminaire (92), dans lequel les auteurs montraient que les patients atteints de mucoviscidose excrétaient quatre à cinq fois plus de sodium et de chlore dans la sueur que les sujets sains.

\* Dans le second article, Di Sant'Agnese et al (93) publient la technique de mesure du chlore et du sodium dans la sueur et démontrent que la concentration en électrolytes dans celle-ci est augmentée en cas de mucoviscidose, ce qui est confirmé par les travaux de Finch en 1957 (94).

Suite à cette découverte, le test de la sueur était réalisé en plaçant le patient dans un sac en plastic jusqu'aux épaules, avec ou sans bouteilles d'eau chaude, pour stimuler la sudation. Puis les patients étaient placés dans une pièce chaude et

humide (32°C, 50% d'humidité). Mais ces méthodes n'étaient pas satisfaisantes en raison de la survenue de complications telles que l'hyperthermie et les coups de chaleur. L'injection directe d'un agent cholinergique par voie intradermique était trop douloureuse et non réalisable.

En 1959, Gibson et Cooke (95) améliorèrent le test en utilisant la iontophorèse à la pilocarpine pour stimuler la production de sueur. Un rhéostat avait été adapté pour permettre une iontophorèse de la pilocarpine dans la peau, utilisant une électrode positive et une électrode négative. L'électrode positive était placée sur la face antérieure du bras, sur un papier filtre imbibé de 0,2 mL de pilocarpine à 0,2%. Un courant à 0,2 mA était appliqué pendant 5 minutes, puis la sueur était recueillie sur un papier filtre prépesé, pendant 30 minutes. Le chlore sudoral était mesuré par la méthode de polarographie. Les tests de la sueur réalisés par cette méthode avaient été performants chez 25 patients atteints de mucoviscidose et 27 patients contrôles. Les patients atteints de mucoviscidose avaient tous un chlore sudoral >80 mEq/L ; les sujets contrôles avaient des valeurs moyennes de 21,1 mEq/L (le plus élevé à 60 mEq/L). Les auteurs, affirment par cette étude, que la iontophorèse par la pilocarpine est une technique rapide, indolore, sûre et fiable pour stimuler la sudation et faciliter le dosage de la concentration du chlore sudoral, ce qui est confirmé en 1967 par Shwachman (96) qui publie les résultats de 7 années d'expérience d'utilisation du test de la sueur après stimulation à la pilocarpine.

Cette méthode de stimulation de la sudation reste la base pour la méthode standard de recueil de sueur qui est aujourd'hui toujours utilisée, plus de 40 ans après sa découverte pour le diagnostic de la mucoviscidose.

Le chlore est l'électrolyte de la sueur le plus sensible pour le diagnostic, bien que la concentration de l'ion sodium soit aussi une valeur fiable ; les deux valeurs sont en général similaires (97). L'utilité du rapport entre chlore et sodium n'est pas claire. En ce sens, l'équipe australienne de Massie et al a retrouvé dans une étude sur le test de la sueur, réalisée entre 1993 et 1996, une valeur prédictive positive du rapport Cl/Na de 37%, rendant ce rapport peu fiable pour affirmer un diagnostic de mucoviscidose.

Farrell (98), en 1996, a étudié les concentrations du chlore sudoral chez les enfants de moins de 6 semaines, hétérozygotes et homozygotes pour la mutation

$\Delta F508$ , incluant les porteurs sains du gène de la mucoviscidose. Il a ainsi pu mettre en évidence que le test de la sueur par iontophorèse à la pilocarpine pouvait être utilisée avec succès chez les enfants de moins de 6 semaines (99,3% de tests réalisés avec succès chez les nourrissons testés). Il propose de fixer la limite supérieure de la normale, pour le chlore sudoral chez les enfants, à 40 mEq/L. Par ailleurs, il met en évidence que les porteurs sains de l'allèle muté  $\Delta F508$  ont une élévation modérée, mais significative, de la valeur du chlore sudoral ( $14,9 \pm 8,4$  mEq/L) par rapport à la population d'enfants sains et non porteurs du gène ( $10,6 \pm 6,2$  mEq/L). Il est démontré qu'il faut au moins recueillir 75 mg de sueur pour que la valeur du chlore sudoral soit interprétable.

Récemment, Parad et son équipe (99) a publié en 2005 une étude visant à déterminer les limites du test de la sueur réalisé très précocement chez le nouveau-né après un dépistage néonatal positif pour la mucoviscidose. Il montre que la raison la plus fréquente d'un résultat ininterprétable, quand il est réalisé trop précocement, est une quantité insuffisante de sueur et qu'un test trop précoce augmente la probabilité d'obtenir un résultat borderline. Cette étude montre que le test de la sueur peut être performant à partir de 2 semaines de vie.

Le test de la sueur reste aujourd'hui l'examen de première intention pour le diagnostic de mucoviscidose. La technique est délicate et nécessite une méthodologie stricte. Trois étapes sont bien individualisées : stimulation de la sudation par iontophorèse à la pilocarpine, recueil de la sueur et analyse qualitative ou quantitative de la sueur.

## **3.2 Description de la technique**

### **3.2.1 *Technique de Gibson et Cooke***

La technique de Gibson et Cooke reste la méthode de référence.

- ✓ stimulation de la sudation : la sueur est obtenue après iontophorèse à la pilocarpine, drogue cholinergique qui stimule les glandes sudoripares. Comme celle-ci ne traverse pas la barrière cutanée, l'iontophorèse va permettre sa pénétration de la peau vers les glandes sudoripares. Cette iontophorèse est réalisée à l'aide d'un ampèremètre à ionisation muni de deux électrodes (voir photo en annexe n°7). Le bras droit ou gauche est généralement utilisé. La

peau devra être indemne de toute altération (eczéma, écorchure) et débarrassée, par un lavage soigneux, des chlorures physiologiques résiduels. La jonction électrique est réalisée par des compresses imprégnées d'une solution d'acide sulfurique pour la cathode et d'une solution de sulfate de pilocarpine à l'anode. Les électrodes sont fixées à l'aide de bandes de caoutchouc sur la face antérieure de l'avant-bras, préalablement nettoyée. Un courant de 1,5 à 4 mA est appliqué pendant 6 minutes. La peau est ensuite lavée à l'eau distillée et séchée.

- ✓ Recueil de la sueur : on utilise un papier filtre préalablement pesé à 0,1 mg près. Celui-ci sera appliqué sur la surface stimulée, recouvert d'un film plastique collé hermétiquement à la peau pour éviter tout risque d'évaporation. Après 30 à 60 minutes de sudation, le papier filtre est retiré à l'aide d'une pince, et pesé immédiatement. Le poids de sueur minimal pour que le test soit fiable doit être de 100 mg.
- ✓ Dosage des ions chlorures dans la sueur : il s'agit de la méthode de Schales ; elle est quantitative puisqu'elle tient compte du volume de sueur. Après extraction des chlorures du papier filtre avec 5 ml d'eau distillée, le dosage se fait par titrimétrie avec une solution de nitrate mercurique (voir photo en annexe n°8). Les précautions doivent être nombreuses pour éviter toute erreur : la pesée doit être extrêmement précise, le risque de contamination chlorée par la verrerie doit être évitée, de même que la contamination de l'échantillon par les mains de l'opérateur. Il est donc nécessaire que le test soit réalisé de façon courante au niveau d'un laboratoire et par une personne expérimentée. C'est alors un test fiable mais qui ne peut être réalisé au lit du malade.

### **3.2.2 Méthodes semi-quantitatives :**

Ce test de la sueur utilise une électrode spécifique (technique utilisée à Nancy) : le dosage des ions chlorures dans la sueur est fait directement sur la peau, après iontophorèse à la pilocarpine, à l'aide d'électrode spécifiques commercialisées sous le nom d'Exsudose™ (voir photos en annexes n°9 et 10). Pour cette dernière la collection de la sueur est améliorée par l'utilisation d'une cupule, Exsupatch™, qui permet la diffusion de la sueur à l'endroit où est appliquée l'électrode. L'estimation de la quantité de sueur émise est impossible et il y a un risque d'évaporation. C'est la

méthode dite « par iontophorèse ». L'autre méthode est le test de la sueur par mesure de la conductivité électrique (Wescor™). Enfin, il existe une méthode de mesure qualitative, par CF Indicator™.

### **3.3 Résultats**

La technique de Gibson et Cooke reste la méthode de référence, les autres techniques sont intéressantes comme test de dépistage. La technique de Gibson et Cooke et la technique utilisant une électrode spécifique donnent des résultats concordants : lorsque la valeur de la concentration en chlore est inférieure à 40 mmol/L, le test est normal ; entre 40 et 60 mmol/L, il est douteux ; supérieur à 60 mmol/L, le test est positif (valeurs valables pour les enfants au delà de 3 mois). La sensibilité du test de Gibson et Cooke est de 98% , la spécificité est de 83%, et la valeur prédictive de 99,5%.

#### **3.3.1 En fonction de l'âge :**

Dans les 48 premières heures de vie, il existe chez environ 25% des nouveau-nés une augmentation transitoire de la concentration de chlore. Le test de la sueur peut être réalisé même chez des enfants jeunes. En effet, Farrell et Kosciak (98) ont réalisé, dans le cadre du dépistage néonatal, des tests de la sueur à des enfants âgés de 6 semaines (par la technique de Gibson et Cooke) : le pourcentage d'échec était identique , que l'enfant soit âgé de plus ou moins 6 semaines. Le taux de chlore est déjà retrouvé élevé pour ces enfants, à 100 mmol/L. Farrell évoque une positivité pour des valeurs  $\geq 40$  mmol/l et l'AFDPHE pour un taux  $\geq 30$  mmol/l.

#### **3.3.2 En fonction du génotype :**

Chez les enfants atteints de mucoviscidose, le résultat du test de la sueur est indépendant du génotype : que l'enfant soit  $\Delta F508$  homozygote ou  $\Delta F508$  hétérozygote, ou non porteur de la mutation  $\Delta F508$ . Le test de la sueur ne permet pas d'identifier les hétérozygotes, bien que les concentrations de chlore soient un peu supérieures à la moyenne.

#### **3.3.3 Causes d'erreur**

- ✓ faux positifs : en dehors des erreurs techniques, les situations pathologiques suivantes peuvent donner un test de la sueur faussement positif : malnutrition, étiologies endocriniennes (pseudo-hypoaldostéronisme, hypothyroïdie,

hypoparathyroïdie, panhypopituitarisme, insuffisance surrénalienne), étiologies métaboliques (fucosidose, glycogénose type I, mucopolysaccharidose type I), hypogammaglobulinémie, syndrome néphrotique, diabète insipide néphrogénique, cholestase familiale, syndrome de Klinefelter, anorexie mentale, nanisme psychosocial, dermatite atopique, dysplasie ectodermique, maladie caeliaque, déficit en G6PD.

- ✓ cas douteux : en cas de test douteux, il est nécessaire de refaire un test avec la méthode de référence.
- ✓ faux négatifs : les causes sont les erreurs techniques, la présence d'un œdème, un traitement minéralocorticoïde en cours. Dans ces cas, il faudra rechercher des arguments cliniques et paracliniques (Différence De Potentiel transépithélial ou DDP, biologie moléculaire) en faveur du diagnostic.

#### **4. Biologie moléculaire**

Actuellement, nous connaissons plus de 1400 mutations possibles du gène CFTR, codant pour un canal chlore défectueux. Il est, techniquement et économiquement parlant, impossible de les rechercher toutes pour un diagnostic rapide, mais nous retrouvons dans une région donnée, une fréquence particulière pour quelques unes d'entre elles. En France l'étude des mutations du gène CFTR, toutes régions confondues, permet de mettre en évidence les mutations les plus fréquentes et montre ainsi que la mutation  $\Delta F508$  est retrouvée dans 75% des cas, la G452X dans 3,3% des cas, la N1303K dans 2,4% des cas et la 1717-1G>A dans 1,31% des cas (100). Les génotypes sont très variables et peuvent associer deux mutations sévères ou une mutation sévère et une mutation moins sévère, pouvant ainsi modifier le phénotype. Les kits de laboratoire utilisés en première intention recherchent un panel de 20 à 30 mutations (voir annexes n°4 et 5) les plus fréquentes sous nos latitudes. Le kit 30, spécialement conçu pour le dépistage effectué en France, couvre plus de 80% des mutations responsables de mucoviscidose. Lorsque le kit ne permet pas d'identifier les deux mutations, un criblage systématique de tout le gène permet d'identifier des mutations rares. De plus, depuis 2004, plusieurs laboratoires ont mis en place la recherche de grandes délétions. L'ensemble de ces recherches permet d'identifier plus de 97% des mutations responsables de mucoviscidose.

## **5. Le coût du dépistage**

Le programme national de dépistage néonatal de la mucoviscidose présente un coût direct de 1,54€ par dosage de trypsine et 122€ par examen en BM ; globalement, le coût est estimé à 2,4€ par nouveau-né testé ; 7500 à 10000€ sont investis pour repérer un enfant porteur de l'affection. Le coût lié au diagnostic d'un cas de mucoviscidose, réparti sur l'ensemble des naissances, serait de 3,82€ en l'absence de programme de dépistage, tandis qu'il est de 3,52€ par nouveau-né en cas de dépistage (31).

Des résultats similaires ont été retrouvés par l'étude menée par l'équipe du Wisconsin (101). Elle montre que le coût annuel estimé pour le dépistage et le diagnostic d'un enfant porteur de la mucoviscidose est de 4,58\$ par nouveau-né alors que, lorsqu'il n'existe pas de dépistage néonatal, les différentes hospitalisations et traitement instaurés pendant la période qui a précédé le diagnostic coûtent 4,97\$ par nouveau-né.

# III. METHODOLOGIE DU DEPISTAGE

## 1. Pratique quotidienne

En région Lorraine, le dépistage est réalisé selon l'organigramme de dépistage national établi d'après les modifications débutées au 2<sup>ème</sup> trimestre 2003 (voir annexe n°3). Ce dépistage est en place depuis juin 2002 dans notre région.

Nous avons réalisé une étude rétrospective des enfants dépistés et nés durant le période de début juin 2002 à fin novembre 2005 par l'étude des dossiers des nouveau-nés. Tous les enfants de la région Lorraine qui ont nécessité un test de la sueur, ont été vus dans le CRCM de Nancy.

Le prélèvement sanguin initial est réalisé au 4<sup>ème</sup> jour de vie dans la maternité de naissance, et est appelé par convention « J3 ». Le carton de dépistage est envoyé par courrier postal au laboratoire de dépistage de l'hôpital d'enfants de Nancy où est dosée la TIR par la méthode Delfia™.

Quand le taux de TIR est supérieur au seuil d'action, le dosage est complété par la recherche de mutations dans le gène CFTR si le consentement écrit des parents a été préalablement recueilli. En cas d'absence de signature sur le carton de dépistage, les parents du nouveau-né sont contactés dans la maternité où a eu lieu l'accouchement, pour la demande d'une signature. En cas de refus de consentement, seul un prélèvement à J21 est réalisé.

L'étude en BM a été réalisée par le laboratoire de génétique du CHU de Reims. Le Kit 20 (Kit Orchid-Tepnel à 20 mutations) a été utilisé jusqu'en octobre 2004, puis a été remplacé par le Kit 30. Actuellement depuis 1 an, le Kit 30 est complété par la recherche de 9 autres mutations, dans les exons 7, 10, 11 et 20 et dans les introns 12 et 19.

Si le nouveau-né est porteur d'une ou deux mutation(s), il est convoqué dans le CRCM. Si aucune mutation n'est découverte, un nouveau prélèvement de sang sur papier est demandé pour contrôle de la TIR (J21) : si une hypertrypsinémie persiste, l'enfant est vu dans le CRCM.

Dans un premier temps, et jusqu'à la fin du premier trimestre 2003, le seuil d'action était fixé à 60 µg/l. En cas de dépassement du seuil, une BM était réalisée ; si celle-ci revenait négative, le nouveau-né était convoqué pour la réalisation d'un contrôle de la TIR à J21.

En raison d'un grand nombre d'enfants considérés comme suspects sur la TIR, à partir du 2<sup>ème</sup> trimestre 2003, il a été décidé de passer le seuil d'action à 65 µg/l et de ne réaliser un dosage de la TIR à J21 lorsque la BM était négative, que si la TIR à J3 était supérieure à 100 µg/l. Dans le même temps, le taux de TIR sur le prélèvement de contrôle conduisant à convoquer un enfant sans mutation dans le CRCM est passé de 30 à 40 µg/l.

Ces modifications de l'organigramme de dépistage auront permis de diminuer les demandes de biologie moléculaire et les faux positifs.

Il est important de signaler qu'en réalité, le 2<sup>ème</sup> prélèvement, réalisé théoriquement à J21, est plus souvent effectué plus tard : après avoir reçu les résultats de BM et avoir convoqué le nouveau-né dans le CRCM ou la maternité selon les cas. La date du prélèvement de ce 2<sup>ème</sup> dosage varie entre 3 semaines et 2 mois de vie de l'enfant selon que les résultats de BM ont été plus long à revenir ou que la famille a été difficile à contacter. Cependant, nous appelons ce deuxième prélèvement « J21 » pour des questions de facilité.

Lorsque qu'une seule mutation a été retrouvée par le Kit de dépistage, et quand l'enfant est très suspect de mucoviscidose, la recherche d'une deuxième mutation est réalisée par le laboratoire de génétique du CHU de Nancy ou le laboratoire de génétique moléculaire de l'hôpital Henri Mondor à Créteil.

## **2. Terminologie**

- ✓ Nous parlons de nouveau-né « suspect » lorsque le dosage de la TIR à J3 est supérieur au seuil d'action défini par l'AFDPHE (60 µg/l jusqu'en mars 2003, puis 65 µg/l).
- ✓ Nous appelons «hétérozygotes » les enfants chez qui n'a été découverte qu'une seule mutation par le Kit 20 ou 30 et chez qui le test de la sueur était négatif.

- ✓ Nous appelons « formes frontières » les formes de mucoviscidose avec des mutations modérées de la protéine CFTR et chez qui le test de la sueur était initialement douteux, voire normal, et qui, après quelques mois, est devenu anormal. Pour ces enfants, il n'y a en général pas d'insuffisance pancréatique et le suivi médical est moins fréquent que pour les formes classiques de la maladie. Il s'agit de maladies du gène CFTR ou « CFTR-opathies ».
- ✓ Nous parlons de « faux-négatifs » lorsqu'un enfant porteur de la mucoviscidose n'a pas été dépisté à la naissance mais révélé secondairement par un diagnostic clinique. Ces cas concernent surtout les enfants ayant une forme sans insuffisance pancréatique qui sont le plus souvent des formes modérées de la maladie. Le terme de « faux-négatif » est en fait incorrect dans ces cas puisque nous savons que ces formes ne seront pas mises en évidence par le dépistage. Cependant, de réels faux-négatifs peuvent s'observer chez des enfants porteurs de formes sévères de la maladie lorsque l'atteinte pancréatique est tellement importante que la TIR est quasi-absente.
- ✓ Nous parlons de « faux-positifs » lorsque la TIR est augmentée à J3, qu'aucune mutation n'a été retrouvée à la BM et que le taux de TIR se normalise au dosage de contrôle à J21.
- ✓ Nous appelons « mutations modérées » des mutations du gène de la protéine CFTR qui entraînent une forme modérée de mucoviscidose.
- ✓ Nous parlons de biologie moléculaire positive au dépistage (BM +) lorsqu'une ou deux mutations a (ont) été retrouvée(s) à l'étude initiale du gène (Kit 20 ou 30).
- ✓ Pour l'évaluation du dépistage en ce qui concerne les délais diagnostics et les délais de consultation, nous avons exclu les diagnostics fondés sur une démarche clinique directe (iléus méconial) afin de donner une meilleure idée de la prise en charge des patients qui n'avaient pas de signes d'appels cliniques.

# RESULTATS EN REGION LORRAINE

## *B. Particularités de la région Lorraine*

En région Lorraine, les dosages biochimiques de tous les nouveau-nés sont réalisés au laboratoire de dépistage de l'hôpital d'enfants de Nancy, où sont également recherchées les autres maladies du dépistage néonatal (à l'exception de la drépanocytose pour laquelle l'étude de l'hémoglobine est faite par le laboratoire de Lille). S'il est nécessaire que soit réalisée une étude génétique, le prélèvement est envoyé au laboratoire de biologie moléculaire du CHU de Reims.

Cependant, certains nouveau-nés nés en Lorraine sont dépistés par d'autres centres de dépistage que Nancy : la région Nord-Est de la Moselle (Saint Avold, Forbach et Sarrebourg) est rattachée au centre de dépistage de Strasbourg ; de même, en raison d'un nombre insuffisant d'obstétriciens en Meuse, les femmes de ce département accouchent plus souvent à St Dizier : ces nouveau-nés bénéficient alors du dépistage réalisé par le CHU de Reims.

## *C. Résultats globaux*

Un enfant « suspect » sur cinq (105/508) est convoqué dans un CRCM : 78 % d'emblée sur une ou deux mutations détectées, 22 % devant la persistance d'une hypertrypsiniémie au prélèvement dit de J21.

Les résultats généraux du dépistage sont résumés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 1: Résultats globaux du dépistage.

	Nnés testés	Test suspects	BM +	Mucoviscidose		Hétéro-zygotes	
				Nbr	Fréq	Nbr	fréq
2002	13453*	79	14	7	1/1921	7	1/11
2003	22869	116	17	7	1/3267	10	1/11
2004	23191	157	24	9	1/2576	15	1/10
2005	21229	156	28	8	1/2653	20	1/8
Totaux	80742	508	83***	31	1/2604	52	1/10**

\* Le nombre de test effectués en 2002 est plus faible car le dépistage a été débuté en juin ;  
\*\* la fréquence des hétérozygotes est calculée sur les nouveau-nés ayant eu une BM (52/508) ; \*\*\* 83 enfants ont eu une BM + : 1 ou 2 mutation(s).

La fréquence des enfants malades est calculée par rapport à la population d'enfants nés durant l'année. La fréquence des hétérozygotes identifiés est calculée par rapport aux enfants hypertrypsinémiques pendant l'année.

## **1. Nombre d'enfants testés**

Entre 2002 et 2005, 80742 enfants ont bénéficié du dépistage de la mucoviscidose, dont 13453 en 2002, 22869 en 2003, 23191 en 2004 et 21229 de janvier à fin novembre 2005 (voir tableau 1).

## **2. Nombre d'enfants suspects**

Les enfants dits « suspects » sont ceux dont le dosage de la trypsine à J3 était supérieur au « seuil d'action ». Ces enfants ont tous bénéficié d'une étude en biologie moléculaire. Au total, 508 nouveau-nés ont été suspects de mucoviscidose, soit 0,62 % des naissances, proche de l'objectif fixé à priori au niveau national (0,5 %). Entre 2002 et 2005, 508 enfants ont eu une test de dépistage positif ayant nécessité une étude en biologie moléculaire : 79 en 2002, 116 en 2003, 157 en 2004 et 156 en 2005.

Cette population d'enfants est répartie selon un sex ratio égal à 1.

La distribution selon le département de naissance est représentée dans le tableau 2.

**Tableau 2 : Répartition des départements de naissance des enfants ayant une TIR positive.**

<b>Lieu de naissance</b>	<b>Nbr d'enfants</b>	<b>Pourcentage</b>
<b>52</b>	1	0,20 %
<b>54</b>	186	36,76 %
<b>55</b>	22	4,35 %
<b>57</b>	225	44,47 %
<b>88</b>	72	14,23 %

Les valeurs de la TIR supérieur au seuil d'action à J3 vont d'un minima de 60 µg/l à un maxima de 320 µg/l.

En raison du changement du « seuil d'action » de 60 à 65 µg/l, une baisse du nombre de demandes de BM était attendue à partir du début du 2<sup>ème</sup> trimestre 2003. En ce qui concerne la population Lorraine, cette modification du seuil d'action semble avoir fait diminuer le nombre de demandes de 0,58 à 0,50 % de 2002 à 2003, mais à partir de 2004, proportion de demande d'examens génétiques était à 0,67 % comme le montre le tableau 3.

Avant la modification du seuil d'action (début avril 2003), 7 enfants avaient été dits « suspects » en raison d'une TIR à J3 élevée entre 60 et 64 µg/l : tous ont normalisé la valeur de la TIR à J21 et l'un d'eux était hétérozygote porteur sain de la mutation ΔF508.

**Tableau 3 : Répartition des enfants suspects selon les années et évolution des chiffres après le changement du seuil d'action de la TIR à J3.**

Années	Total des naissances	Enfants suspects	% demandes BM	Enfants vus au CRCM
2002	13453	79	0,58 %	21
2003	22869	116	0,50 %	22
2004	23191	157	0,67 %	34
2005	21229	156	0,73 %	28
<b>TOTAUX</b>	80742	508	0,62 %	105
** 06/02 au 31/03/2003	19225	104	0,54 %	27
*A partir du 01/04/2003	61517	404	0,65 %	78

\*\* De juin 2002 au 31/03/2003, la valeur seuil de la TIR à J3 était à 60 µg/l ;

\*A partir du 01/04/2003, la valeur seuil de la TIR à J3 est à 65 µg/l.

### **3. Enfants ayant eu une étude en biologie moléculaire**

Le nombre d'enfants ayant bénéficié d'une étude en biologie moléculaire est égal au nombre d'enfants suspects car aucun refus de consentement parental n'a été observé. En effet, lorsque la signature parentale était absente du carton de dépistage, il s'agissait d'un oubli ; un deuxième carton de dépistage (sans nouveau prélèvement) était alors demandé avec la signature afin de pouvoir réaliser l'étude génétique nécessaire à la poursuite du dépistage. Par contre, deux enfants n'ont eu aucun dépistage néonatal car les parents ont refusé tout prélèvement sanguin à leur bébé, (toutes maladies confondues).

En ce qui concerne les résultats de la BM, sur les 508 enfants ayant eu une étude génétique, 83,8% (n = 426) n'avaient pas de mutation, 16,14% (n = 82) avaient 1 ou 2 mutations trouvées par les kit20 ou 30, dont 12 % (n = 61) avaient 1 mutation et 4,1 % (n = 21) avaient d'emblée 2 mutations. (voir tableau 4)

Un enfant a bénéficié de l'étude moléculaire en période anténatale car il existait une suspicion de mucoviscidose sur des anomalies intestinales à l'échographie.

### **4. Enfants convoqués d'emblée dans un CRCM**

Ainsi, 82 enfants (soit 16,1 % des enfants « suspects ») ont été convoqués d'emblée dans un CRCM en raison de la présence d'une ou deux mutations du kit 20 ou 30 : 21 d'entre eux (soit 3,94%) avaient deux mutations d'emblée, et très vraisemblablement une mucoviscidose ; 61 (soit 12,2%) n'avaient qu'une mutation et peut-être une mucoviscidose ; le diagnostic de mucoviscidose a été confirmé chez 9 d'entre eux (16%). Chez 1 enfant sans aucune mutation trouvée (analyse par le Kit20), la mucoviscidose a été diagnostiquée secondairement à la suite d'une « TIR à J21 » élevée (l'une des deux mutations aurait pu être dépistée par le Kit 30 si celui-ci avait déjà été mis en place). Le statut de 6 enfants n'est pas connu : 3 perdus de vue (dont 1 qui a eu le prélèvement de la TIR à J21 et nécessitait un test de la sueur, et 2 qui n'ont pas eu de deuxième prélèvement) et 3 enfants décédés (tous de grande prématurité ; deux ont pu être prélevés à J21) ; ils n'avaient pas de mutation retrouvée.

Le kit 20 a permis de retrouver une ou deux mutations chez 15,4% des enfants suspects pendant la période durant laquelle il a été utilisé ; puis, le kit 30, qui a

remplacé le kit 20 à partir d'octobre 2004, a permis de retrouver une biologie moléculaire positive chez 17,89% des enfants suspects.

Le statut des enfants suspects est précisé dans le tableau 4 ci-dessous.

**Tableau 4 : Statut des enfants suspects**

Biologie moléculaire	Total	Décédé*	Perdu de vue**	CF	TS Normal	Contrôle TIR	TIR J21>40	TIR J21<40
2 mutations d'emblée	20			21				
1 mutation	62			9	52			
0 mutation	426	3	3	1	22	283	23	260
<b>Total</b>	<b>508</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>31</b>	<b>74</b>	<b>283</b>	<b>23</b>	<b>260</b>

\* 3 décès par grande prématurité

\*\* 1 seul perdu de vue a eu un prélèvement à J21, il était anormal

## **5. Nombre de faux négatifs**

Actuellement, avec le faible recul dont nous disposons, nous n'avons observé aucun faux-négatif parmi les enfants nés en Lorraine. Cependant, nous pouvons nous attendre, compte tenu du fait que l'atteinte pancréatique n'existerait à la naissance que dans 90 % des cas, qu'un certain nombre de formes modérées se révèlent plus tard.

## **6. Enfants sans aucune des 30 mutations recherchées**

Une TIR de contrôle à J21 a été nécessaire pour 288 enfants « suspects ». Ces enfants sont ceux chez qui aucune mutation n'a été retrouvée à la BM et, à partir du deuxième trimestre 2003, ceux qui n'avaient aucune mutation avec cependant une

TIR à J3 supérieure à 100 µg/l. Parmi ces enfants, 3 n'ont pu avoir leur contrôle de TIR à J21 (1 décédé, 2 perdus de vue) ; 283 ont pu être prélevés pour le dosage sanguin donc 96,3 % des enfants sans mutation ont eu leur contrôle de TIR.

La TIR était normalisée chez 260 enfants (91 %) mais pour 23 (8 %), la TIR restait au dessus du seuil (fixé dans un premier temps à 30 µg/l puis à 40 µg/l). Ces enfants ont été convoqués au CRCM pour un test de la sueur. Le diagnostic de mucoviscidose a été posé pour un seul d'entre eux, soit 0,34 % des enfants sans mutation, et 4,34 % des 23 enfants dont la TIR à J21 restait élevée. Chez un enfant, le test de la sueur n'a pu être réalisé car le petit est décédé, le décès étant survenu entre le prélèvement de J21 et le test de la sueur ; les 21 autres enfants avaient un test de la sueur normal et ont donc été déclarés indemnes de mucoviscidose.

En réalité, le dossier de 396 enfants a été conclu « TIR normalisée », comprenant 260 enfants ayant réellement eu un contrôle de la TIR et celui-ci était normal, et 137 enfants qui n'ont pas eu de contrôle car la TIR à J3 était inférieure à 100 µg/l et ils n'avaient pas de mutation.

## **7. Les mutations trouvées : 1<sup>ère</sup> mutation trouvée par le Kit**

Chez 82 enfants, il a été trouvé initialement une ou deux mutation(s) : 21 enfants avaient d'emblée deux mutations, et 61 n'avaient qu'une mutation. Chez 48 enfants, l'étude a été réalisée par le Kit 20 et chez 34 enfants, par le Kit 30. Il s'agissait de la mutation  $\Delta F508$  pour 50 enfants (61 % des mutations) et de R117H pour 11 enfants (13,4 %). Les autres mutations mises en évidence sont rapportées dans le tableau ci-dessous.

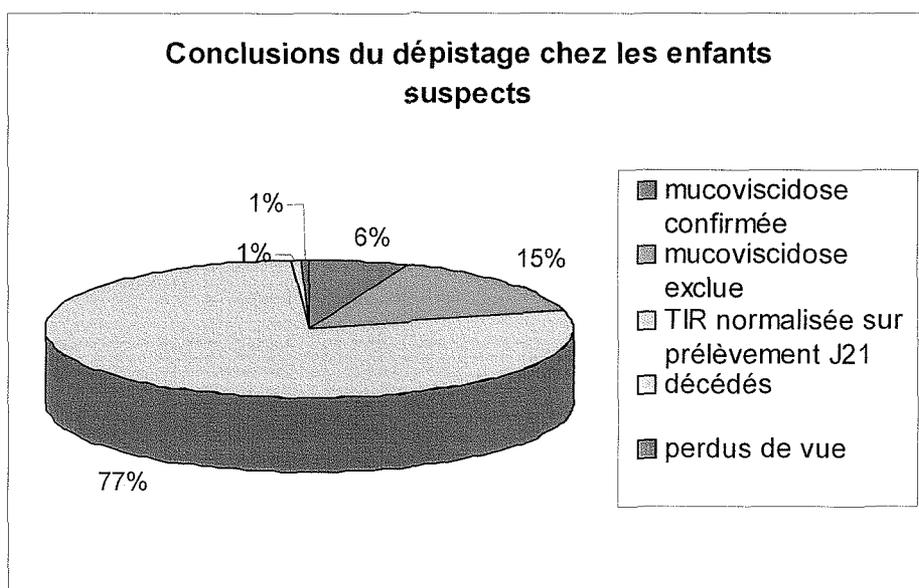
**Tableau 5 : Mutations trouvées chez les enfants suspects à la première étude  
en BM**

MUTATION	Nombre d'enfants porteurs	Proportion
$\Delta$ F508	50	9,8 %
R117H	11	2,16 %
G542X	4	0,78 %
R1162X	2	0,4 %
R553X	2	0,4 %
1717/1G>A	1	0,2 %
2183/AAG	1	0,2 %
3272-26	1	0,2 %
349TT	1	0,2 %
3659delC	1	0,2 %
3849+10kbC>T	1	0,2 %
621+1G/T	1	0,2 %
N1303K	1	0,2 %
R117P	1	0,2 %
R334W	1	0,2 %
R347P	1	0,2 %
R1251N	1	0,2 %
W1282X	1	0,2 %
<b>TOTAL</b>	<b>82</b>	<b>16,14 %</b>

## **8. Conclusions du dépistage pour les enfants suspects**

Pour tous les enfants « suspects », le dépistage néonatal a permis de dépister 31 enfants atteints de mucoviscidose (6,10 %) dont 4 formes frontalières ; 75 enfants (14,76 %) ont eu un diagnostic de mucoviscidose exclu après un test de la sueur négatif et un examen clinique normal au CRCM ; 396 enfants ont eu une TIR normalisée à J21 (77,95 %) ; 3 enfants sont décédés (0,59 %) et 3 enfants ont été perdus de vue (0,59 %).

**Diagramme 1 : Conclusions du dépistage chez les enfants suspects**



## **9. Délai d'établissement du diagnostic**

La durée moyenne pour établir la conclusion finale du dépistage après la naissance, en dehors des iléus méconiaux, est évaluée à 56 jours, avec un délai maximal de 270 jours (9 mois) et un délai minimal de 6 jours. 50 % des enfants ont eu leur diagnostic posé en 1 mois environ et 75 % à l'âge de 1 mois et demi.

## ***D. Les enfants examinés au CRCM***

Au total, 105 enfants ont été examinés au CRCM de Nancy depuis le début du dépistage, dont 82 pour une ou deux mutations retrouvées à l'étude génétique et 23 pour une TIR au prélèvement de J21 supérieure au seuil (30 µg/l puis 40 µg/l).

### **1. Délai entre le premier appel et le jour de la consultation**

L'appel téléphonique de la famille était réalisé par le médecin référent du CRCM ou un médecin pédiatre de la maternité dans laquelle était né l'enfant. Le délai entre le premier appel et le jour de la consultation était en moyenne de 12 jours (0-33), mais cette valeur est faussée par de rares cas qui ont été difficiles à contacter (jusqu'à 2 mois). La durée médiane de 5 jours et 25 % des enfants sont venus au CRCM dans le jour suivant la convocation téléphonique.

### **2. Age de l'enfant**

L'âge de l'enfant au moment de la convocation téléphonique était en moyenne de 35 jours, l'enfant convoqué le plus tardivement avait déjà 2 mois de vie.

L'âge de l'enfant au moment de la consultation au CRCM était en moyenne de 41 jours, l'enfant le plus âgé avait 3 mois.

### **3. Localisation de l'enfant lors de l'appel**

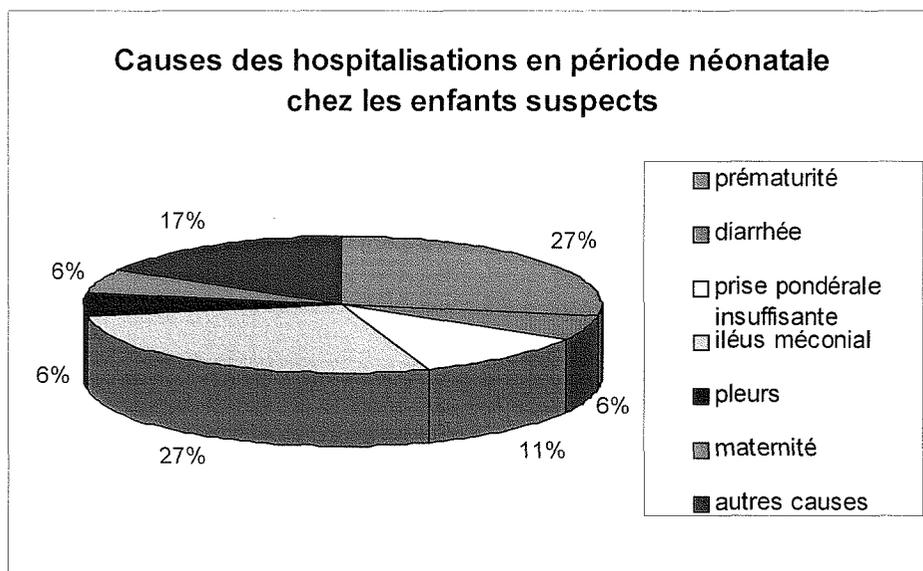
Au moment de l'appel, 18 enfants étaient hospitalisés, les 87 autres étaient au domicile de leurs parents.

### **4. Motifs des hospitalisations**

Les enfants hospitalisés étaient pris en charge pour une prématurité, une diarrhée, des problèmes de prise de poids depuis la naissance, un iléus méconial, des douleurs abdominales ou d'autres raisons (laparoschisis, retard de croissance intra-utérin, myopathie). Un enfant était encore à la maternité auprès de sa maman, à 3 jours de vie...le diagnostic de mucoviscidose avait été suspecté en période néonatale motivant la recherche des différentes mutations ; les résultats de la biologie moléculaire, alors positifs, étaient revenus du laboratoire 3 jours après la naissance de l'enfant. Celui-ci était asymptomatique.

La répartition des causes d'hospitalisation en période néonatale est représentée dans le diagramme ci-dessous.

**Diagramme 2 : Causes des hospitalisations en période néonatale chez les enfants suspects**

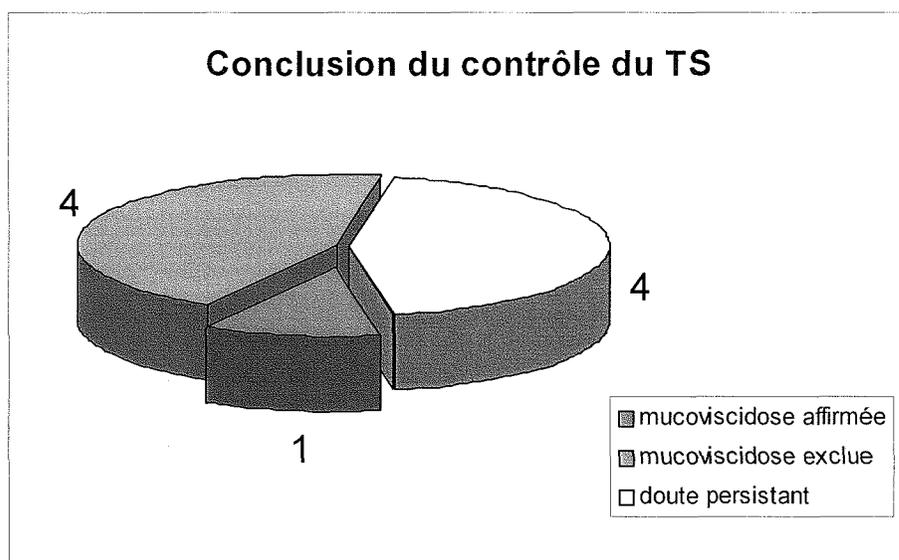


## **5. Nouvelle convocation au CRCM**

Parmi les 105 enfants examinés au CRCM, 9 (8,5 %) ont du être vus une seconde fois pour contrôler le test de la sueur car celui-ci était douteux ; le diagnostic de mucoviscidose a alors été exclu pour 4 enfants, il été confirmé pour 1 enfant (qui en fait, avait été convoqué en raison d'un taux de vitamine E basse), et le doute a persisté pour 4 enfants chez qui il a été nécessaire de réaliser un nouveau test de la sueur 2 mois plus tard : 3 d'entre eux avaient une forme frontière de mucoviscidose, le quatrième enfant était sain. L'âge moyen au moment de la nouvelle convocation au CRCM était de 3 mois.

La conclusion du test de la sueur réalisé lors de la nouvelle consultation dans le CRCM est résumée dans le diagramme ci-après.

Diagramme 3 : Nouvelle convocation au CRCM pour un test de la sueur :  
conclusion du TS



## E. Les malades dépistés

### 1. Données globales

#### 1.1 Nombre d'enfants malades

Parmi les 106 nouveau-nés vus au CRCM, 31 ont été diagnostiqués positifs pour la mucoviscidose (29,2%). Ce diagnostic a été porté en raison :

- ✓ soit de la présence de deux mutations d'emblée retrouvées après l'analyse initiale du prélèvement de J3 (20 enfants) et le dosage du chlore sudoral a toujours confirmé le diagnostic.
- ✓ soit d'un taux de chlore sudoral élevé chez des enfants ayant une seule mutation trouvée par le Kit 20 ou 30 (10 enfants) ou aucune mutation trouvée mais une hypertrypsiniémie persistante sur le prélèvement de contrôle dit de « J21 » (1 enfant).

Chez aucun de ces enfants le diagnostic de mucoviscidose n'avait été réalisé en période prénatale, mais chez l'un d'eux, il était fortement suspecté en raison d'un

aspect de « torsion du colon » à l'échographie fœtale du deuxième trimestre. Pour cela, une amniocentèse avait été réalisée pour rechercher les mutations du gène CFTR en période anténatale. Les résultats de l'analyse génétique sont revenus positifs ( $\Delta F508/K710X$ ) quelques jours après la naissance de l'enfant ; à noter que la mutation K710X ne fait pas partie de la liste des mutations communes du Kit 30.

Chez 5 d'entre eux, le diagnostic était suspecté avant le résultat du dépistage en raison d'un iléus méconial. La présence d'un iléus méconial parmi les malades avec une hypertrypsinémie à J3 représente 16 % des patients. Les valeurs de la TIR à J3 pour ces enfants ayant présenté un iléus se répartissent entre 56 et 147  $\mu\text{g/l}$  (56 ; 90 ; 95 ; 110 et 147  $\mu\text{g/l}$ ). Quatre de ces valeurs sont supérieures au seuil d'action du dépistage. Nous ne sommes pas étonnés de trouver une valeur inférieure au seuil d'action car les enfants présentant un iléus méconial ont souvent une TIR normale à J3.

La répartition des enfants diagnostiqués selon les années est représentée dans le tableau ci-après :

**Tableau 6 : Répartition annuelle des enfants malades**

<b>Années</b>	<b>Enfant diagnostiqués *</b>	<b>Fréquence de la maladie **</b>
<b>2002</b>	7	1/1921
<b>2003</b>	7	1/3267
<b>2004</b>	9	1/2576
<b>2005</b>	8	1/2653
<b>TOTAL</b>	<b>31</b>	<b>1/2604</b>

\* Nombre d'enfants malades par rapport aux enfants nés vivants durant la même période

\*\* Fréquence de la maladie par rapport à la population d'enfants nés vivants durant la même période ; pour le calcul de cette fréquence, nous avons inclus les formes frontières (4/31)

## 1.2 Fréquence de la maladie en Lorraine

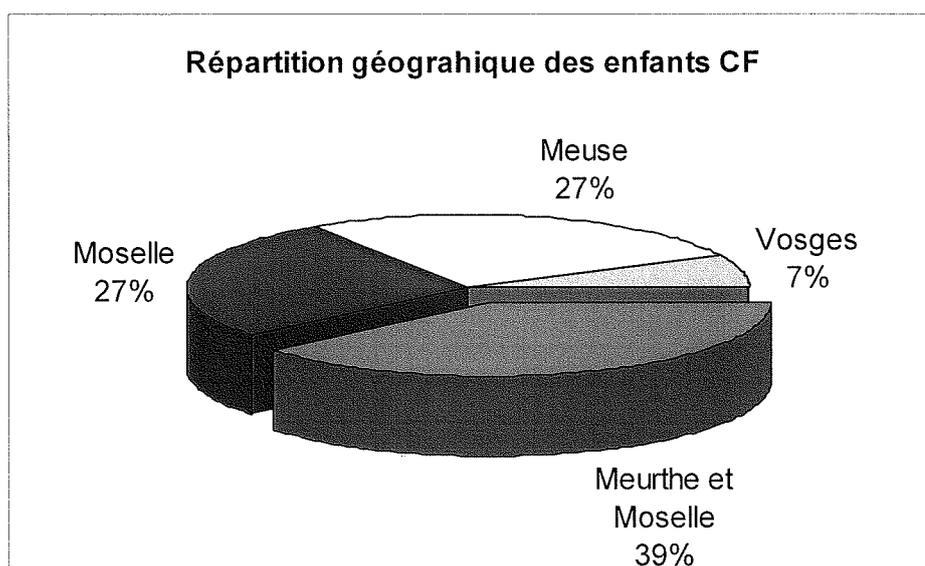
Nous avons calculé cette fréquence par rapport à la population d'enfants nés vivants, relevée à partir du nombre de prélèvements parvenus au laboratoire de dépistage. Si nous excluons les 4 formes frontières retrouvées, la fréquence de la mucoviscidose est en moyenne de 1/2990 sur l'ensemble de la région Lorraine étudiée (27/80742), ce qui est moins important que la fréquence qui avait été calculée initialement du début du dépistage à la fin de l'année 2003 (1/2815). Si nous incluons les formes frontières, la fréquence devient égale à 1/2604 naissances depuis le début du dépistage.

## 1.3 Répartition géographique au sein de la région Lorraine

### 1.3.1 Selon les départements de naissance

Les départements de naissance sont en majorité la Meurthe et Moselle et la Moselle en raison de la forte densité de population de ces deux départements ; la Meuse est très faiblement représentée car la population y est beaucoup plus faible mais également parce que beaucoup de mères vont accoucher dans des maternités de la région voisine (en particulier St Dizier) qui dépendent du centre de dépistage de Reims. La répartition des départements de naissance est décrite ci-dessous.

Diagramme 4 : Répartition géographique départementale des enfants malades



### **1.3.2 Selon les maternités de naissance**

Les maternités de naissance des nouveau-nés ayant la mucoviscidose se répartissent selon le tableau ci-dessous.

38 % des enfants sont nés à la Maternité Régionale de Nancy.

**Tableau 7 : Répartition des naissances des enfants malades en fonction des maternités**

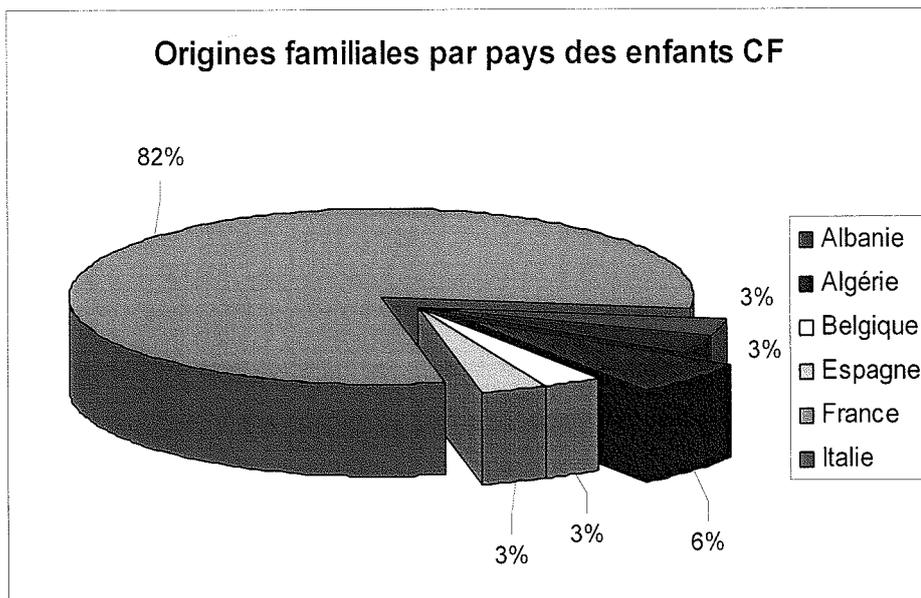
Lieu de naissance	Nombre d'enfants
MRAP	12
Clinique de Majorelle	1
Mont Saint Martin	1
Lunéville	1
Toul	1
Metz Claude Bernard	3
Metz Bon Secours	1
Metz Sainte Croix	2
Thionville	4
Forbach	1
Epinal	1
Neufchâteau	2
Verdun	1
TOTAL	31

### **1.4 Répartition selon origine géographique familiale**

Indépendamment de la nationalité et selon le pays, 82 % des enfants malades ont des origines familiales françaises ; le deuxième pays le plus représenté est l'Algérie (2 malades). Un enfant est d'origine albanaise.

La répartition des familles selon le pays d'origine est ainsi représentée :

**Diagramme 5 : Origines familiales par pays des enfants malades**



La répartition selon les régions d'origine est représentée dans le tableau ci-dessous. Nous précisons cependant que pour 23 enfants atteints de la maladie, l'origine familiale précise n'était pas rapportée .

**Tableau 8 : Origines familiales par région ou département des enfants malades d'origine française**

Régions	Nombre d'enfants
La Réunion	1
Bretagne	1
Meurthe et Moselle	1
Moselle	1
Vosges	3
Massif central	1

## 2. Description de la population des nouveau-nés malades

### 2.1 Selon le sexe :

La répartition selon le sexe est inégale, elle est de une fille pour deux garçons dans notre groupe d'enfants dépistés (11 filles / 20 garçons). Mais dans cet échantillon de 31 enfants atteints, le sex ratio n'est pas différent de 1 ( $p= 0,1060$ ). D'après l'échantillon d'enfants suspects ( $n=508$ ), il n'existe pas d'association entre le sexe et la maladie ( $p= 0,13$ ).

### 2.2 Selon le poids de naissance :

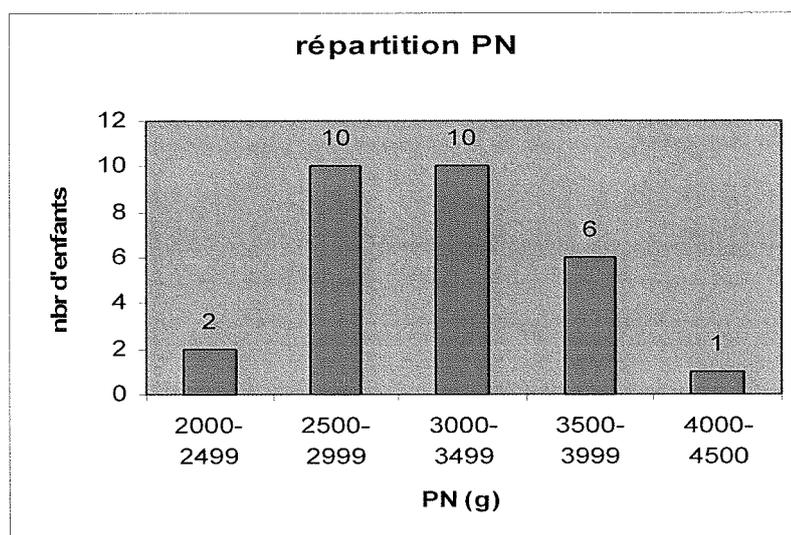
Le poids de naissance des nouveau-nés était rapporté pour 29 d'entre eux. Le poids de naissance moyen est de 3144 grammes et la médiane, de 3170 g. En comparaison avec les enfants sains examinés dans le CRCM, la moyenne de ces poids de naissance n'est pas significativement plus basse que celle des enfants de la population générale.

Le poids de naissance le plus faible est de 2160 g, le plus élevé est de 4150 g.

50 % des enfants ont un poids de naissance inférieur ou égal à 3170 g. Un poids de naissance  $<$  à 2500 g est retrouvé pour 9,67 % des enfants malades dépistés (versus 7,2 % dans la population générale).

La répartition des poids de naissance est représentée dans le diagramme ci-dessous :

**Diagramme 6 : Répartition des poids de naissance chez les enfants malades**



### **2.3 Selon la taille de naissance :**

La taille de naissance des nouveau-nés est rapportée pour 27 d'entre eux. La moyenne est de 48,7 cm et la médiane de 49 cm.

Par rapport à la population générale, la taille de naissance des enfants atteints de mucoviscidose n'est pas significativement plus faible.

La taille de naissance la plus faible est de 45 cm, la plus grande est de 53 cm.

### **2.4 Selon les antécédents :**

- ✓ 29 enfants avaient des échographies anténatales dites « normales », mais le médecin pédiatre n'a pu vérifier celles-ci que dans un seul cas. Un seul enfant avait des échographies anormales pendant la grossesse (échographie du deuxième trimestre) avec des hyperéchogénicités digestives et un aspect de « torsion colique ». Il a été réalisé une amniocentèse pour la recherche des mutations du gène CFTR qui s'est avérée positive pour  $\Delta F508 / K710X$ .
- ✓ Une autre mère a subi une amniocentèse pendant sa grossesse pour la réalisation d'un caryotype en raison d'un risque élevé de trisomie 21 à la prise de sang (dosage des marqueurs sériques : HCG,  $\alpha$ Foeto-Protéine et Oestriol). Celui-ci était normal.
- ✓ 4 enfants ont des antécédents familiaux de mucoviscidose. L'un d'eux aurait pu être dépisté en période anténatale car sa sœur aînée était connue comme atteinte de la maladie, mais le dépistage anténatal n'a pas été réalisé ; il a été induit en erreur car la mère ne savait plus qui était le père ; un autre enfant a un antécédent familial éloigné mais les mutations ne sont pas les mêmes que celles de cet enfant.
- ✓ 3 enfants ont des antécédents familiaux autres que la mucoviscidose ; l'étiologie précise n'est précisée que pour l'un d'eux (neuroblastome chez le frère).

### **2.5 Valeur de la TIR à J3**

Parmi les 31 enfants malades, 21 ont un taux de TIR à J3 supérieur ou égal à 100  $\mu\text{g/l}$  (67,74 %) ; 8 ont un taux de TIR entre 80 et 99  $\mu\text{g/l}$  (25,81 %) et 2 ont une TIR entre 65 et 79  $\mu\text{g/l}$  (6,45 %). La valeur de TIR de ces deux derniers enfants est

égale à 78 µg/l ; ce sont des formes frontières de la maladie ; aucun enfant malade n'a de valeur de TIR à J3 comprise entre 65 et 70 µg/l.

Parmi ceux ayant deux mutations d'emblée (21), 16 ont une TIR supérieur ou égale à 100 µg/l (76 %) et les 4 restant ont une TIR entre 88 et 98 µg/l.

La proportion d'enfants ayant une seule mutation à l'analyse initiale du gène (9) et un taux de TIR supérieur ou égal à 100 µg/l est de 44 % (4). Les 5 autres enfants ont une TIR entre 78 et 88 µg/l et 3 d'entre eux ont une forme frontière de mucoviscidose.

L'enfant qui n'avait aucune mutation retrouvée initialement (au Kit 20), avait une TIR à 163 µg/l. Les mutations de cet enfant sont Y1092X / Q1100P.

Tous les enfants atteints de mucoviscidose confondus, la valeur de TIR à J3 la plus basse est de 78 µg/l (2 enfants), et la valeur la plus élevée est de 293 µg/l (1 enfant). Les deux enfants ayant une valeur de TIR égale à 78 µg/l sont tous deux porteurs d'une forme frontière de mucoviscidose ; pour ces enfants, la première mutation retrouvée est ΔF508 et la deuxième mutation ne fait pas partie du Kit 30 (respectivement IVS8-T et TG(13)-T5).

Dans notre population d'enfants malades, nous pouvons dire que les enfants ayant forme « classique » de la maladie ont une TIR à J3 supérieure à 80 µg/l.

**Tableau 9 : Statut biologique des enfants atteints de mucoviscidose**

TIR à J3	Enfants malades *	2 mut d'emblée	1 mutation	0 mutation
> 99 µg/l	21	16	4	1**
80-99 µg/l	8	5	3	0
65-79 µg/l	2	0	2	0
<b>Totaux</b>	<b>31</b>	<b>21</b>	<b>9</b>	<b>1</b>

\* formes frontières comprises

\*\*au Kit 20

### **3. Caractéristiques des enfants malades au premier contact dans le CRCM**

#### **3.1 Délai entre la naissance et la date du premier appel aux parents**

Ce délai n'est rapporté que pour 9 des 26 enfants diagnostiqués par le dépistage (nous excluons ici les 4 enfants chez qui la maladie s'est révélée par un iléus méconial). Ces délais sont en moyenne de 30 jours (19-41). La durée la plus courte est alors de 7 jours, la plus longue, de 46 jours.

#### **3.2 Délai entre la naissance et la date de la première consultation**

L'âge médian à la première consultation au CRCM (sans considérer les cas d'iléus méconial) est de 33 jours (21-45). Deux enfants ont été vus tardivement, à l'âge de 2 mois en raison de difficultés pour prendre contact avec la famille (absence de coordonnées ou coordonnées fausses).

#### **3.3 Poids de l'enfant**

Le poids à la consultation était rapporté pour 27 enfants sur 31. Il est en moyenne de 3860 g et la médiane est à 3660 g. Le plus petit poids est de 2460 g, le poids le plus élevé est de 5860 g.

50 % des enfants ont un poids inférieur ou égal à 3660 g.

#### **3.4 Taille de l'enfant**

Celle-ci était rapportée pour 23 d'entre eux. Elle est en moyenne de 52 cm avec des valeurs extrêmes entre 45 et 59 cm.

#### **3.5 BMI de l'enfant**

Celui-ci a été calculé pour 23 enfants malades. Sa valeur moyenne est de 13,84 kg/m<sup>2</sup> et la médiane est de 14 kg/m<sup>2</sup>. Les valeurs extrêmes sont comprises entre 11 et 17,75 kg/m<sup>2</sup> ; 4 enfants ont un BMI compris entre 11 et 12,3. 25 % des enfants malades ont un BMI inférieur à 12,6 kg/m<sup>2</sup>.

Le BMI des enfants malades lors de la première consultation au CRCM est significativement plus faible que celui des enfants convoqués et déclarés sains ( $p < 0,01$ ).

### 3.6 Prise de poids depuis la naissance

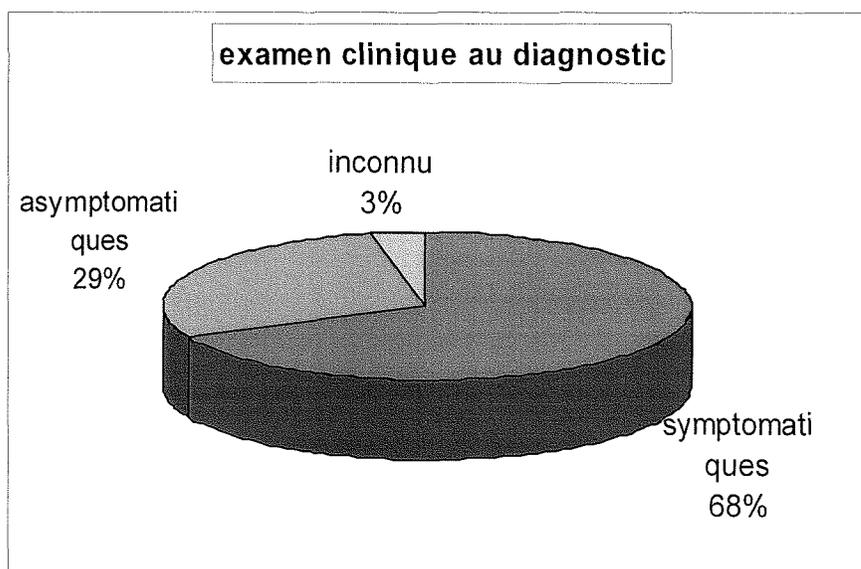
La prise de poids entre la naissance (en grammes par semaine) et la date de la première consultation au CRCM a pu être calculée pour 26 enfants. Elle est en moyenne de + 145 grammes par semaine, avec une valeur minimale de - 100 grammes par semaine à une valeur maximale de + 325 gr/semaine. 25 % des enfants n'avaient pris que 85 grammes par semaine depuis la naissance.

Cette prise de poids est également significativement plus faible que celle des enfants sains vus au CRCM ( $p < 0,01$ ).

### 3.7 Examen clinique des enfants malades

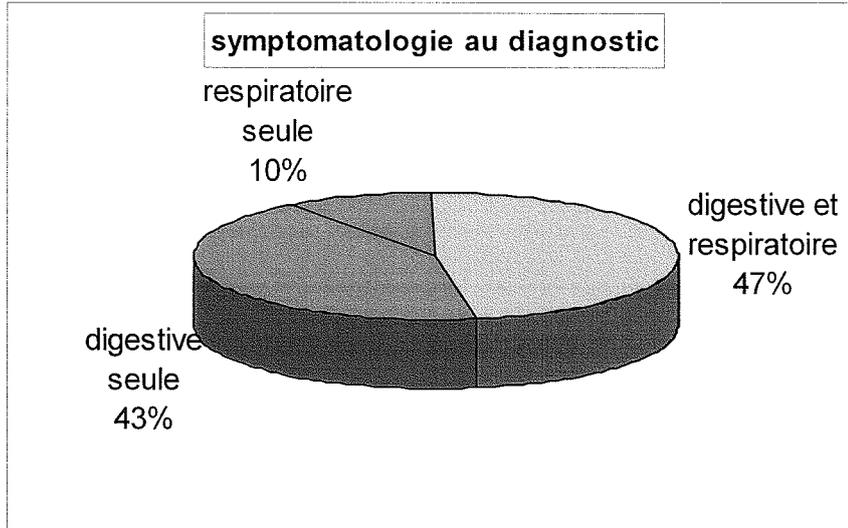
Parmi les 31 enfants malades, 68 % ( $n = 21$ ) étaient symptomatiques au moment du diagnostic, dont 61,3 % ( $n = 19$ ) avaient une symptomatologie digestive, 38,7 % ( $n = 12$ ) une symptomatologie respiratoire, et 25 % étaient hypotrophes. Tous les enfants hypotrophes étaient symptomatiques sur le plan digestif. Par ailleurs, 9 enfants (29 %) étaient asymptomatiques dont 4 se sont révélés être une forme frontière ; pour 1 enfant, le statut n'est pas connu car le diagnostic a été réalisé par un autre centre pédiatrique hors de France. (Voir diagramme 7)

**Diagramme 7 : Enfants malades symptomatiques au diagnostic**



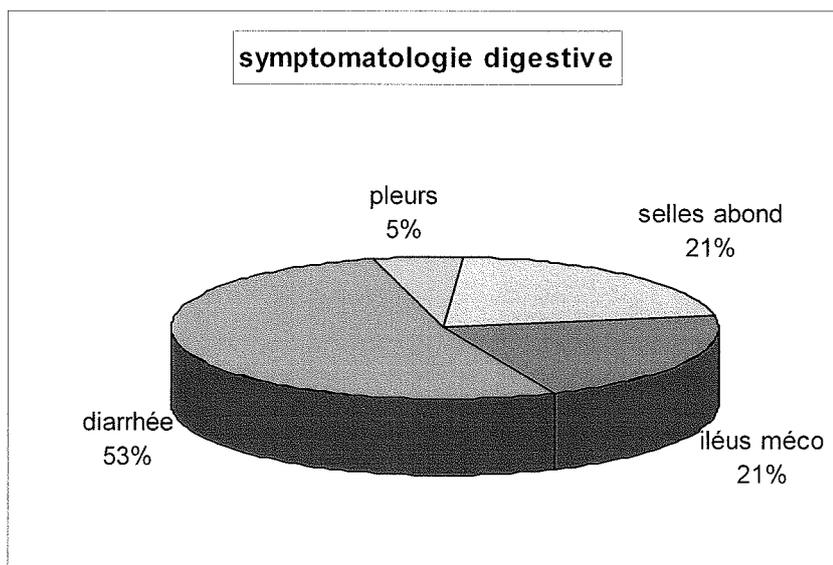
Parmi ces mêmes enfants malades, 10 présentaient une symptomatologie à la fois digestive et respiratoire, 9 une symptomatologie uniquement digestive et 2 uniquement respiratoire. (voir diagramme 8)

**Diagramme 8 : Symptomatologie au diagnostic des enfants malades**



Lorsque la symptomatologie était digestive, 4 avaient un iléus méconial (21 %), 10 avaient un syndrome diarrhéique (52,6 %), 1 enfant présentait des pleurs inexplicables (5,2 %) et 4 avaient des selles très abondantes (21 %) ; (voir diagramme 9). Parmi ces enfants symptomatiques, 10 enfants avaient un ballonnement abdominal.

**Diagramme 9 : Symptomatologie digestive des enfants malades**



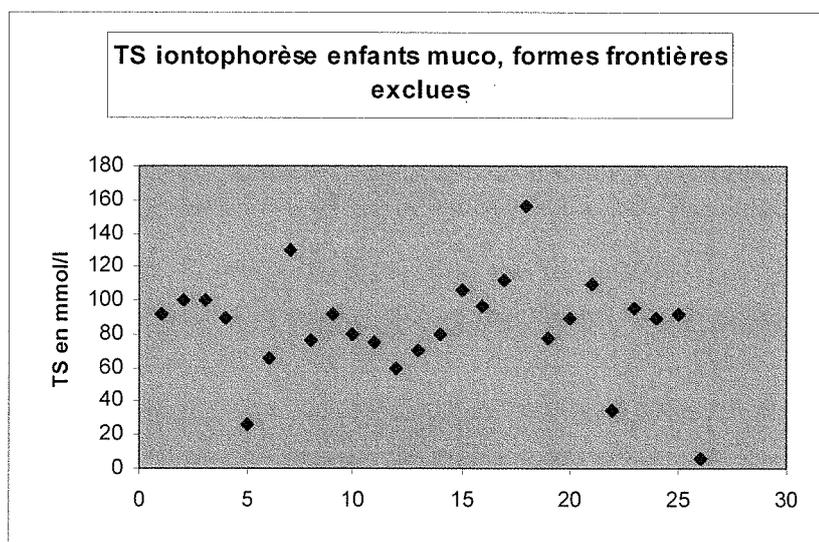
Pour les 12 enfants qui manifestaient une symptomatologie respiratoire, 11 d'entre eux avaient une toux et 1 seul présentait une pneumopathie. L'auscultation était anormale chez 4 des enfants malades ; 1 enfant avait déjà un hippocratisme digital ; 3 avaient une distension thoracique.

### 3.8 Résultats du test de la sueur par méthode semi-quantitative

Tous les enfants malades ont bénéficié d'un test de la sueur par méthode semi-quantitative. Les valeurs extrêmes retrouvées étaient comprises entre 6,41 mmol/l et 307 mmol/l. L'enfant avec le test de la sueur à 6,41 avait en réalité un résultat discordant avec le test de la sueur réalisé par la méthode de référence de Gibson et Cooke qui était à 44 mmol/l ; c'était une forme classique de mucoviscidose avec 2 mutations retrouvées d'emblée par le Kit 30 (G542X / R117H). En revanche, les 4 formes frontières de mucoviscidose avaient des résultats compris entre 10 et 40 mmol/l.

Les valeurs du test de la sueur par méthode semi-quantitative des enfants malades (formes frontières exclues) se répartissent selon le diagramme ci-dessous :

**Diagramme 10 : Répartition des valeurs du test de la sueur par méthode semi-quantitative chez les enfants malades, formes frontières exclues \***



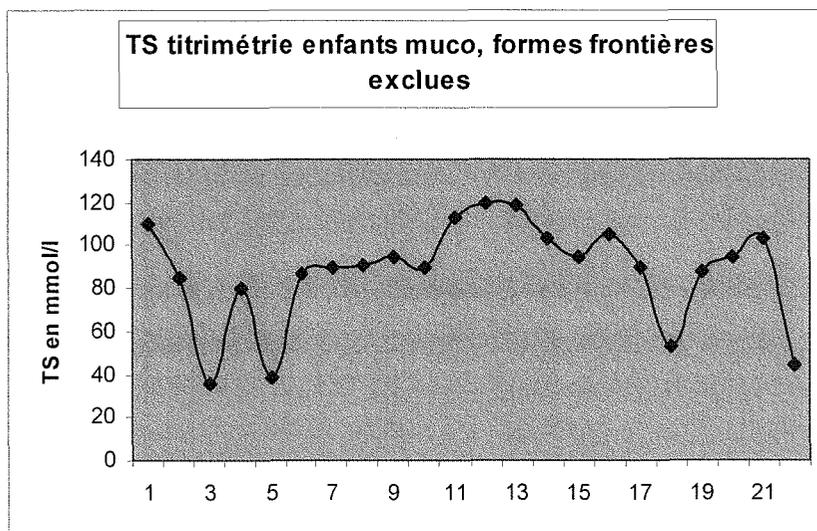
\* la valeur à 307 mmol/l a été exclue du diagramme pour une raison d'échelle

### 3.9 Réalisation du test de la sueur par titrimétrie

Tous les enfants ont bénéficié du test de la sueur par titrimétrie. Les valeurs extrêmes retrouvées étaient comprises entre 20 et 120 mmol/l ; les formes frontières avaient des valeurs comprises entre 20 et 43 mmol/l ; deux enfants atteints d'une forme classique de mucoviscidose avaient des valeurs limites basses à 39 mmol/l pour l'un et 44 mmol/l pour l'autre (les mutations de ces enfants sont  $\Delta F508 / R117H$  pour l'un et  $G542X / R117H$  pour l'autre).

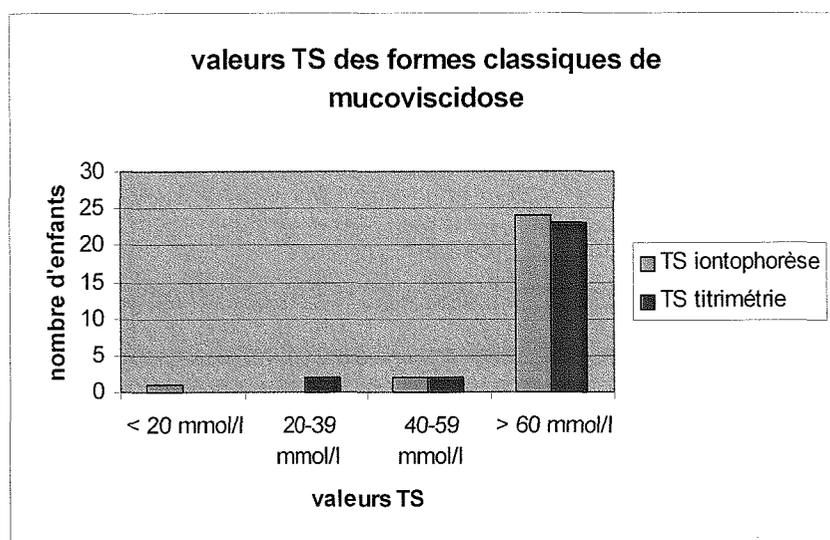
Les valeurs du test de la sueur par titrimétrie des enfants malades (hors formes frontières) se répartissent selon le diagramme ci-dessous :

**Diagramme 11 : Répartition des valeurs du test de la sueur par titrimétrie chez les enfants malades, formes frontières exclues**

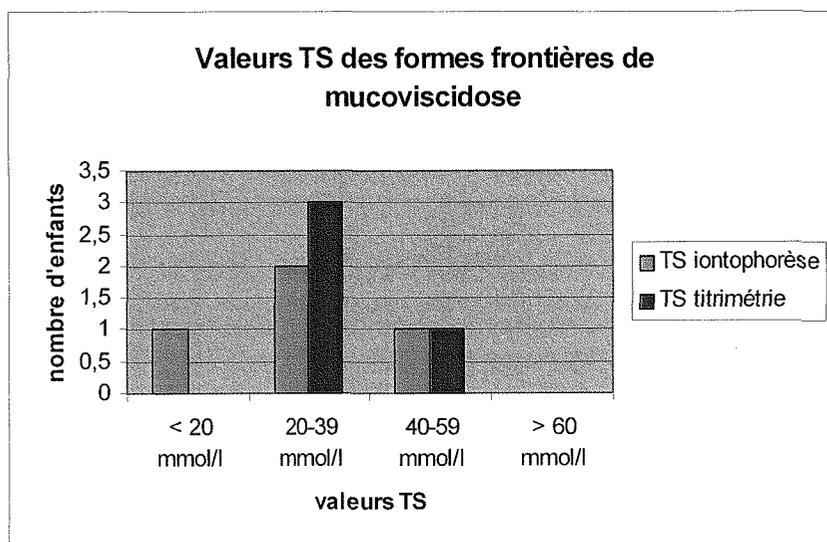


Les valeurs des test de la sueur (par méthode semi-quantitative et par titrimétrie) chez les enfants présentant une forme classique de mucoviscidose, et chez les enfants présentant une forme frontière, se répartissent selon les diagrammes ci-dessous.

**Diagramme 12 : Répartition des valeurs du chlore sudoral chez les enfants présentant une forme classique de mucoviscidose**



**Diagramme 13 : Répartition des valeurs des tests de la sueur chez les enfants présentant une forme frontière de mucoviscidose**



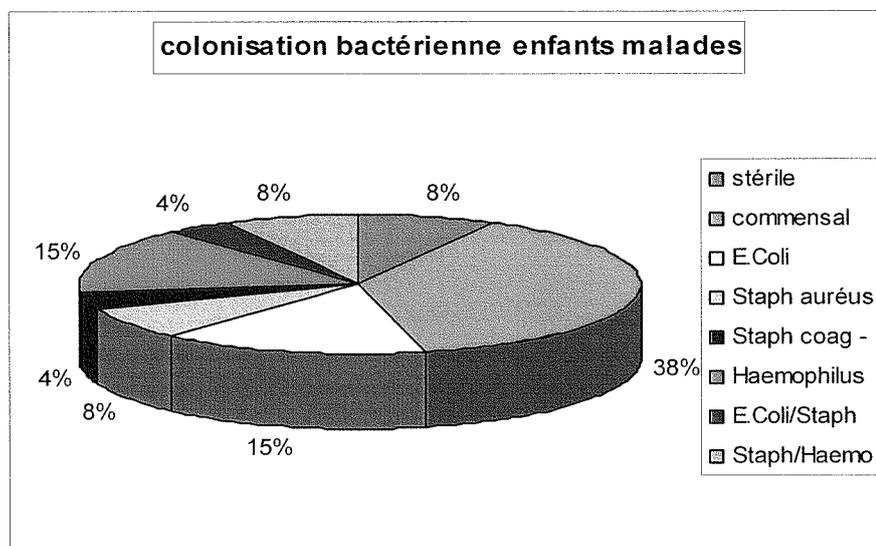
### 3.10 Examens complémentaires réalisés:

Nous parlons ici des examens complémentaires réalisés dans les 15 jours suivant le diagnostic de la maladie. Ceux-ci comprenaient :

- ✓ Une radiographie pulmonaire, réalisée chez 25 enfants ; elle était anormale pour 10 d'entre eux (32 % de tous les enfants malades).

- ✓ Une échographie abdominale, réalisée chez 23 enfants ; elle était anormale pour 3 d'entre eux (9,6 % des enfants malades). Les anomalies retrouvées étaient un calcul biliaire pour l'un d'eux et des parois vésiculaires épaissies pour les 2 autres enfants.
- ✓ Tous ont bénéficié d'une prise de sang à la recherche de signes biologiques d'atteinte hépatique ou pancréatique. 7 enfants avaient des signes biologiques d'atteinte hépatique avec des transaminases élevées, (soit 22,6 % des enfants malades); 26 enfants avaient des signes témoignant d'une insuffisance pancréatique exocrine, (soit 83,8 % des enfants malades).
- ✓ Un examen cytobactériologique des crachats (recueillis par expectoration provoquée par la toux et par manœuvre de kinésithérapie) a été réalisé précocement peu de temps après le diagnostic et révélait le statut bactériologique de chaque enfant. Pour 5 enfants, cet examen n'a pas été réalisé (4 formes frontières, un enfant suivi dans un autre centre). Les résultats sont représentés dans le diagramme ci-dessous.

**Diagramme 14 : Distribution de la colonisation bactérienne des enfants malades au diagnostic**



### 3.11 valeur de la TIR à J21

Parmi les 31 enfants malades, seulement 2 ont une valeur de TIR à J21 inférieure à 40 µg/l et ces enfants ont une forme frontière de mucoviscidose. Les valeurs de TIR se répartissent entre 10 et 721 µg/l ; 95 % des enfants ont une valeur supérieure à 40 µg/l.

## **4. Deuxième consultation au CRCM**

Tous les enfants ont été reconvoqués dans le CRCM : 4 pour la réalisation d'un nouveau test de la sueur et tous pour une consultation de génétique.

### **4.1 Age de l'enfant**

La moyenne d'âge est de 66,5 jours, mais avec des extrêmes allant de 6 jours à 150 jours. La médiane est située à 60 jours.

### **4.2 Enfants convoqués pour la réalisation d'un test de la sueur**

4 enfants ont été convoqués pour réaliser un contrôle du test de la sueur (TS n°2) car celui qui avait été réalisé au cours de la première consultation au CRCM (TS n°1) avait des valeurs limites. Les caractéristiques de ces 4 enfants sont résumées dans le tableau ci-dessous.

**Tableau 10 : Caractéristiques des 4 enfants convoqués au CRCM pour la réalisation d'un deuxième test de la sueur \*\***

<b>Enfants</b>	<b>Age</b>	<b>TS n°1</b>	<b>TS n°2</b>	<b>Conclusion TS n°2</b>	<b>Mutations***</b>	<b>Conclusion finale</b>
<b>Cas n°1</b>	3 mois ½	40/43	25/39	Valeurs limites	$\Delta$ F508/variant d'épissage TG(13)-T5	Forme frontière
<b>Cas n°2 *</b>	3 mois	26/36	36/42	Valeurs limites	$\Delta$ F508/R117C	Malade
<b>Cas n°3</b>	2 mois	23/21	40/21	Valeurs limites	L997F/3849+10kbC>T	Forme frontière
<b>Cas n°4</b>	4 mois	27/37	24/51	Valeurs limites	$\Delta$ F508/variant d'épissage TG(13)-T5	Forme frontière

\* Chez cet enfant, une seule mutation avait été initialement trouvée par le Kit 20 ; cependant, en raison de deux séries de test de la sueur avec des valeurs limites, un dosage de la

vitamine E avait été réalisé et retrouvait alors une valeur effondrée, témoignant d'une insuffisance pancréatique et motivant la recherche d'une 2<sup>ème</sup> mutation par séquençage du gène. Celui-ci a permis de trouver la mutation R117C. L'enfant a donc été déclarée atteinte de la mucoviscidose... il aura fallu 9 mois pour poser le diagnostic.

\*\* Dans ce dernier tableau, seulement 3 des 4 formes frontières sont représentées car, pour le 4<sup>ème</sup> enfant atteint d'une forme frontière, il n'a pas été nécessaire de réaliser un test de la sueur de contrôle, ceux qui avaient été réalisés à la première consultation au CRCM étant strictement normaux ; la deuxième mutation avait été trouvée secondairement (S1251N / variation de séquence S1235R).

\*\*\* Pour les formes frontières, les données de la littérature concernant les mutations modérées sont abordées page 108.

## **5. Résultats de l'étude génétique**

Les mutations sont recherchées par le Kit 20 (de juin 2002 à octobre 2004) puis par le Kit 30 (à partir de novembre 2004) de la Société Orchid-Tepnel sur le prélèvement de J3 des enfants ayant une hypertrypsiniémie. En cas de test de la sueur positif, chez les enfants n'ayant qu'une mutation ou l'absence de mutation associée à une hypertrypsiniémie persistante au prélèvement de « J21 », la recherche d'autres mutations, éventuellement par un séquençage exhaustif du gène, est entrepris au niveau du laboratoire de génétique qui prend en charge l'enfant malade.

- ✓ Parmi les 31 enfants malades (formes classiques et formes frontières), 13 sont homozygotes (41,9 %), essentiellement  $\Delta F508 / \Delta F508$ , les mutations de 9 d'entre eux ont été mises en évidence par le Kit 20, de 4 d'entre eux par le Kit 30 ; et 18 enfants malades sont hétérozygotes composites (58,1 %), 12 par le Kit 20, 6 par le Kit 30 .
- ✓ 21 ont deux mutations d'emblée à la première étude génétique, dont 14 par le Kit 20 (4,4 % de tous les enfants testés) et 7 par le Kit30 (3,6 %) soit 4,13 % des enfants ayant bénéficié d'une étude génétique et 67,7 % des enfants ayant la mucoviscidose. Parmi ces 21 enfants, 13 étaient homozygotes et 8 sont hétérozygotes composites (voir détails mutations ci-après).
- ✓ 9 enfants n'ont qu'une seule mutation après l'étude initiale du gène.
- ✓ 1 seule enfant n'a aucune mutation après l'étude initiale du gène ; elle a été réalisée à l'aide du Kit 20 ; cette mutation est présente dans le Kit 30.

Donc le pourcentage de mutations trouvées avec le Kit 20 est proche de 95 % des mucoviscidoses repérées à J3, avec un enfant n'ayant aucune mutation ; ce pourcentage passe à 100 % avec le Kit 30.

Le tableau ci-après représente la proportion d'enfants chez qui a été trouvé 2 mutations d'emblée ou 1 mutation en fonction du Kit.

**Tableau 11 : Mutations retrouvées selon les Kit**

	Kit 20	Kit 30
<b>2 mutations d'emblée</b>	14 (66,6 %)	7 (70 %)
<b>1 mutation</b>	6 (28,6 %)	3 (30 %)
<b>0 mutation</b>	1 (4,8 %)	0

## 5.1 Les mutations observées

### 5.1.1 Mutation $\Delta F508$

La mutation  $\Delta F508$  est trouvée chez 23 des 31 enfants déclarés malades, formes frontières incluses, (donc 74 % des enfants malades l'ont au moins en un exemplaire) et chez 17 des 21 enfants ayant 2 mutations d'emblée à J3 (81 %). Elle est à l'état homozygote pour 13 enfants (62 % des enfants ayant 2 mutations d'emblée et 42 % des enfants malades), associée à R117H pour 1 enfant. On retrouve  $\Delta F508$  pour 6 des 9 enfants malades n'ayant qu'une mutation à J3 (66 %).

### 5.1.2 Mutation R117H

Le diagnostic de mucoviscidose a été retenu chez 2 enfants ayant une mutation R117H à l'état hétérozygote composite (6,45 % des enfants malades). Aucun enfant n'avait cette mutation à l'état homozygote ; chez les 2 enfants, les 2 mutations ont été trouvées d'emblée sur le prélèvement de J3. L'étude du variant de poly T dans l'intron 8 a permis de montrer, chez les deux enfants, la présence des allèles 7T et 9T. Les deux enfants sont symptomatiques. Les caractéristiques cliniques et biologiques de ces enfants sont résumées dans le tableau ci-dessous :

**Tableau 12 : Caractéristiques clinico-biologiques des enfants porteurs de la mutation R117H**

	TIR à J3	1 <sup>ère</sup> mutation	2 <sup>ème</sup> mutation	Valeur TS	TIR à J21	Clinique	Sexe	Délai diagnostic
Cas n°1	147	ΔF508	R117H	76/39	49	Diarrhée/toux	F	38 jours
Cas n°2	144	G542X	R117H	6,4/44	65	Diarrhée	F	60 jours

### **5.1.3 Mutations trouvées chez les enfants avec 2 mutations d'emblée**

Les mutations retrouvées chez les enfants avec 2 mutations d'emblée se répartissent selon le tableau ci-dessous.

**Tableau 13 : Mutations retrouvées chez les 21 enfants avec 2 mutations d'emblée**

1 <sup>ère</sup> mutation	Nombre d'enfants	2 <sup>ème</sup> mutation	Nombre d'enfants
ΔF508	17	ΔF508	13
G542X	2	R117H	2
R334W	1	K710X	2
621+1G/T	1	R347F	1
		R347H	1
		R347P	1
		R553X	1

### **5.1.4 Mutations découvertes à posteriori par l'étude exhaustive du gène CFTR**

Chez les 9 enfants porteurs d'une seule mutation découverte d'emblée, la seconde mutation a été trouvée chez 8 d'entre eux (le neuvième enfant ayant quitté le pays avant qu'il soit examiné au CRCM), soit chez 88,8 % d'entre eux.

Chez l'enfant sans mutation trouvée au prélèvement de J3, les deux mutations ont été retrouvées secondairement : il s'agit de Y1092X / Q1100P. Ces mutations n'avaient pas été mises en évidence lors de la première évaluation car le Kit utilisé était encore le Kit 20 ; l'une de ces mutations (Y1092X) aurait été retrouvée si le Kit 30 avait pu être utilisé.

### 5.1.5 Mutations trouvées, tout enfant malade confondu

Tableau 14 : Mutations trouvées chez les enfants malades

1 <sup>ère</sup> mutation	nombre	%	2 <sup>ème</sup> mutation	nombre	%
ΔF508	23	74,2%	ΔF508	13	41,94%
G542X	2	6,45 %	R117H	2	6,45 %
R334W	1	3,23 %	K710X	2	6,45 %
S1251N	1	3,23 %	R347F	1	3,23 %
Y1092X	1	3,23 %	R347H	1	3,23 %
621+1G/T	1	3,23 %	R347P	1	3,23 %
1717/1G>A	1	3,23 %	R553X	1	3,23 %
3849+10kbC>T	1	3,23 %	L997F	1	3,23 %
			Q220X	1	3,23 %
			R117C	1	3,23 %
			Q1100P	1	3,23 %
			2747delC	1	3,23 %
			2184insA	1	3,23 %
			TG(13)-T5	2	6,45 %
			S1235R	1	3,23 %

L'association de mutations la plus fréquente est ΔF508/ ΔF508 (13 enfants porteurs). Toutes les autres associations ne sont retrouvées qu'une seule fois dans notre groupe de malades.

## **6. Problèmes rencontrés avec les formes frontières**

Dans notre groupe d'enfants malades, 4 formes frontières ont été individualisées et ont posé des difficultés pour la confirmation du diagnostic. Nous reprendrons chaque cas individuellement en décrivant les problèmes rencontrés.

Les mutations retrouvées chez les enfants atteints d'une forme frontière sont décrites dans le tableau ci-dessous. Pour chaque enfant, l'analyse génétique parentale a retrouvé que les deux mutations n'étaient pas situées sur le même haplotype, mais héritées l'une du père et l'autre de la mère.

**Tableau 15 : Mutations des formes frontières**

	1 <sup>ère</sup> mutation	2 <sup>ème</sup> mutation
Cas n°1	$\Delta F508$	TG(13)-T5
Cas n°2	S1251N	S1235R
Cas n°3	3849+10kbC>T	L997F
Cas n°4	$\Delta F508$	TG(13)-T5

### ✓ **Cas n°1 :**

Il s'agit d'un enfant de sexe masculin, né à terme, sans antécédent particulier. Le dosage de la TIR à J3 est à 78  $\mu\text{g/l}$  ; il est donc réalisé une étude génétique qui retrouve une seule mutation (Kit 20) :  $\Delta F508$ . L'enfant est alors convoqué au CRCM, il est alors âgé de 1 mois. L'examen clinique retrouve un enfant en très bon état général et asymptomatique. Le test de la sueur retrouve des valeurs limites, à 40 mmol/l par la méthode semi-quantitative, et 43 mmol/l par la méthode de Gibson et Cooke. Le diagnostic de mucoviscidose ne peut être écarté, ni affirmé. La valeur de la TIR de contrôle est à 21  $\mu\text{g/l}$ . Une étude exhaustive du gène CFTR est demandé au laboratoire de génétique.

L'enfant est revu en consultation à l'âge de 3 mois ; il est toujours asymptomatique et le contrôle du test de la sueur retrouve à nouveau une valeur normale et une valeur limite, respectivement à 25 mmol/l par la méthode semi-quantitative et 39 mmol/l par la méthode de référence. Aucun nouveau résultat génétique n'a encore été rendu. L'enfant est à nouveau revu en consultation à 9 mois de vie ; l'examen clinique est

normal et le test de la sueur est à 49 mmol/l. La deuxième mutation mise en évidence après 6 mois de recherche est un variant d'épissage 5T de l'intron 8 dans le contexte haplotypique TG(13)-T5, présent chez 5 à 10 % de la population générale à l'état hétérozygote. Pour cet enfant, aucun traitement n'est débuté et un suivi annuel est proposé.

Un tel génotype ( $\Delta F508$ / TG(13)-T5) est classiquement identifié chez les patients infertiles par absence des canaux déférents ou chez des patients présentant une forme monosymptomatique à l'âge adulte.

Pour la mutation TG(13)-T5 de l'intron 8, une association avec un codon stop S1206X(C>A) est rapportée comme associée, chez un adulte, à un tableau pulmonaire de type bronchectasies avec greffe de pseudomonas et sinusite (102).

### ✓ Cas n°2 :

Ce cas concerne un garçon, né à terme sans antécédents anténataux et néonataux particuliers pour lequel la TIR à J3 était à 80  $\mu\text{g/l}$  et chez qui une première mutation du gène CFTR a été retrouvée par le Kit 30 (mutation S1251N). L'enfant est convoqué au CRCM à 1 mois de vie : il est asymptomatique et en très bon état général. Le test de la sueur trouve des valeurs normales, à 10 mmol/l par la méthode semi-quantitative, et 20 mmol/l par la méthode de Gibson et Cooke. A 4 mois de vie, un résultat de biologie moléculaire informe que l'analyse de l'ensemble des régions codantes pour le gène CFTR ainsi que la recherche de remaniements étendus du gène a permis d'identifier la variation de séquence S1235R, située dans l'exon 19 à l'état hétérozygote chez l'enfant.

La mutation S1251N est une mutation associée à des formes classiques de mucoviscidose, mais la variation S1235R n'est pas considérée comme une mutation pathogène ; cette association génétique S1235R / S1251N n'est pas habituellement associée avec la mucoviscidose. Cependant, elle a été rapportée chez des sujets normaux à l'âge adulte mais aussi chez des sujets qui présentaient une pancréatite chronique idiopathique (103, 104), une cholangite sclérosante (105) ainsi qu'une dilatation des bronches (106).

Le suivi clinique proposé pour cet enfant est une visite médicale annuelle ; il ne prend aucun traitement.

✓ **Cas n°3 :**

Il s'agit également d'un enfant de sexe masculin, sans antécédents particuliers en période anténatale ou néonatale, convoqué au CRCM à l'âge de 1 mois ½ en raison de la découverte de la mutation 3849+10kbC>T sur le prélèvement sanguin de J3 (TIR à 115 µg/l). L'enfant est asymptomatique et le test de la sueur réalisé est normal, avec des valeurs à 23 mmol/l par la méthode classique et 21 mmol/l par la méthode de référence Gibson et Cooke. Compte tenu que cette mutation peut s'accompagner des tests de la sueur négatifs, une recherche d'autres mutations est réalisée.

L'enfant a été revu à 3 mois de vie ; il est toujours asymptomatique et le test de la sueur est à 40 mmol/l. Classiquement, ce résultat est négatif, mais compte tenu de l'âge du patient, il est considéré comme douteux ; le diagnostic de mucoviscidose ne peut être totalement écarté.

A 9 mois de vie, une seconde mutation est retrouvée : L997F. Les mutations ont été retrouvées chez les parents (le père est porteur de la mutation L997F, la mère est porteuse de la mutation 3849+10kbC>T) ; le diagnostic de maladie de la protéine CFTR a été retenu ; un suivi médical annuel est proposé pour l'enfant.

La mutation L997F n'est théoriquement pas identifiée pour la mucoviscidose mais elle a été retrouvée chez des patients adultes atteints de dilatation des bronches, de pancréatite chronique (107, 104) et de cholangite sclérosante (105). Chez l'enfant, la mutation L997F a été rapportée dans une observation pédiatrique avec signes cliniques de mucoviscidose ( maladie pulmonaire sévère, test de la sueur à 94 mmol/l), mais la deuxième mutation n'est malheureusement pas précisée ; l'enfant était hétérozygote composite pour la maladie (102). Par ailleurs, la mutation L997F à l'état homozygote a été récemment décrite, sans aucune anomalie clinique (108).

Concernant la mutation 3849+10kbC>T, sa valeur pathogène est discutable car, lorsqu'elle est présente à l'état homozygote, elle est associée à un tableau pulmonaire modéré, sans atteinte pancréatique et avec un test de la sueur normal (109).

✓ **Cas n°4 :**

Un garçon de 2 mois est convoqué au CRCM en raison de la découverte d'une mutation ΔF508 sur le prélèvement de J3 (la TIR était à 78 µg/l). L'examen clinique retrouve un enfant asymptomatique, en bon état général et le test de la sueur réalisé

par les deux méthodes retrouve des valeurs douteuses pour la méthode de Gibson et Cooke (37 mmol/l). Le contrôle de la TIR est à 55 µg/l. Une étude complète du gène est demandée. L'enfant est revu en consultation à l'âge de 3 mois, il est toujours asymptomatique et le test de la sueur est à nouveau douteux (51 mmol/l par la méthode de référence). L'enfant est à nouveau revu à 6 mois et demi et le test de la sueur est cette fois-ci normal (40mmol/l par méthode semi-quantitative). Mais à 8 mois, une deuxième mutation est retrouvée : présence à l'état hétérozygote du variant d'épissage 5T de l'intron 8 dans le contexte haplotypique TG(13)-T5. le génotype de cet enfant est le même que celui de l'enfant appelé cas n°1. L'enfant reste asymptomatique et le test de la sueur est toujours normal. Le diagnostic de « maladie de la CFTR » est retenu avec la proposition d'un suivi annuel.

## **7. Durée écoulée pour le diagnostic de la maladie**

### **7.1 Tous malades confondus (iléus méconiaux exclus)**

Le délai médian écoulé pour affirmer le diagnostic final aux familles est de 34 jours, mais le délai moyen est de 70 jours en raison des cas difficiles qui ont pu durer jusqu'à 9 mois (formes frontières). Le délai le plus bref est de 7 jours.

### **7.2 Iléus méconiaux et formes frontières exclus**

Il concerne 22 enfants malades : le délai médian est de 32 jours, avec un délai moyen de 30 jours. Le délai le plus important est de 60 jours, le plus bref, de 7 jours (enfant ayant eu une recherche des mutations du gène CFTR avant la naissance, les résultats ont été connus au septième jour de vie).

### **7.3 Délai diagnostique pour les formes frontières de mucoviscidose**

Il concerne 4 enfants du groupe d'enfants malades : le délai médian est de 255 jours et le délai moyen est de 232 jours. le plus bref délai aura été de 150 jours (5 mois) et le plus long, de 270 jours (9 mois).

## **8. Evaluation génétique familiale**

L'évaluation génétique est faite pour la première fois, par le médecin pédiatre qui voit l'enfant, puis dans un deuxième temps dans le cadre d'une consultation avec le clinicien généticien. Elle est réalisée dans le service de pédiatrie.

A Nancy, aucun parent n'a refusé l'analyse génétique pour lui-même.

Le conseil génétique se déroule le plus souvent dans un bureau de consultation, et dans certains cas, dans une chambre de patients hospitalisés.

Le résultat du test génétique de dépistage néonatal est communiqué aux parents, en cas de positivité (une ou deux mutations détectées) par le pédiatre au moment de la consultation dans le CRCM pour la réalisation du test de la sueur. Le délai entre l'annonce du diagnostic de la mucoviscidose et le conseil génétique est le plus souvent compris entre 1 et 4 semaines (de même pour l'hétérozygotie). Rarement, pour ce deuxième avis spécialisé, le délai peut atteindre 3 mois.

Pour la remise des résultats génétiques, que ce soit ceux des parents ou ceux du bébé, les parents sont systématiquement revus en cas de mutation détectée secondairement. Les résultats génétiques ne sont jamais communiqués par téléphone si ceux-ci sont positifs. Parfois des difficultés sont rencontrées lorsqu'il s'agit de mutation rare ou que la 2<sup>ème</sup> mutation n'est pas retrouvée chez le père. En cas de discordance, la plus grande prudence s'impose, d'autant qu'une disomie maternelle a déjà été décrite pour un enfant homozygote  $\Delta F508$  où les gènes anormaux étaient d'origine maternelle.

Parmi les 83 enfants chez qui avait été retrouvée une ou deux mutations, tous ont été convoqués une seconde fois au CRCM pour la réalisation d'une évaluation génétique familiale auprès d'un médecin généticien.

En ce qui concerne les 52 enfants hétérozygotes, les parents de 22 enfants seulement se sont présentés à la consultation ; en ce qui concerne les 31 enfants malades, 20 se sont rendus au rendez-vous qui leur avait été conseillé de prendre.

Le tableau suivant le nombre d'enfants ayant bénéficié d'une évaluation génétique auprès d'un médecin généticien :

**Tableau 16 : Enfants ayant bénéficié d'une évaluation génétique avec leurs parents auprès d'un médecin généticien**

Consultation génétique	Enfants malades		Enfants hétérozygotes	
	OUI	20	64,5 %	30
NON	11	35,5 %	22	42,3 %
TOTAL	31		52	

Les résultats de l'étude génétique familiale sont rapportés dans le tableau ci-dessous, aucune disomie maternelle n'a été retrouvée dans notre groupe d'enfants malades.

**Tableau 17 : Statut génétique des parents d'enfants malades ou hétérozygotes**

Parents enfant	Père et mère porteurs	Père porteur / mère non porteuse de la mutation	Père non porteur / mère porteuse de la mutation	Aucun parent	inconnu
Mucoviscidose	31				
hétérozygote		17	13	0	22

## **9. Fratrie diagnostiquée après le dépistage d'un nouveau-né**

Après avoir fait le diagnostic de la maladie chez les 27 nouveau-nés atteints, nous avons réalisé un test de la sueur aux membres de la fratrie et avons ainsi diagnostiqué la mucoviscidose chez la sœur de l'enfant porteur des mutations  $\Delta F508$  / R117C (alors âgée de 16 mois), et chez la sœur de l'enfant porteur des mutations 621+1G/T / R347P (alors âgée de 28 mois).

## **10. Aspect psychologique à l'annonce du diagnostic : exemple d'un cas**

A titre d'exemple, nous rapportons le cas d'une annonce diagnostique de mucoviscidose chez une petite fille de 1 mois pour laquelle la TIR à J3 était à 211 µg/l et la BM mettait en évidence les 2 mutations  $\Delta F508$  /  $\Delta F508$ .

Les parents ont été convoqués la veille de la consultation par un appel téléphonique leur demandant de venir ensemble avec leur enfant, à l'hôpital pédiatrique en raison d'un résultat anormal du dépistage néonatal, pour effectuer un contrôle nécessaire ; le mot « mucoviscidose » n'a pas été prononcé au téléphone, la personne contactée (la mère) n'a pas posé de question sur les raisons exactes de la convocation.

La petite est donc amenée au CRCM par ses 2 parents. Ceux-ci ne sont pas consanguins. ils sont très jeunes : le papa a 17 ans, est en apprentissage professionnel; la maman a 20 ans. Ils sont accompagnés par la grand-mère paternelle du bébé.

Dès l'entrée dans la salle de consultation, nous pouvons ressentir une tension, avec une anxiété surtout exprimée par le regard de la grand-mère de l'enfant et un comportement fuyant du papa ; la maman semble peu inquiète.

L'examen clinique du nourrisson montre une hypotrophie pondérale (prise de poids depuis la naissance de seulement 60 grammes par semaine) et un syndrome diarrhéique (plus de 5 selles liquides par jour, vertes glaireuses ; elle n'est pas nourrie au sein); elle est asymptomatique sur le plan respiratoire.

Le test de la sueur est réalisé et le résultat est d'emblée anormal à 110 mmol/l.

Le diagnostic de mucoviscidose est annoncé aux parents et à la grand-mère...le père de l'enfant présente alors un comportement de déni très violent avec une agressivité verbale et physique difficile à calmer...il veut prendre son enfant et partir avec, sa compagne l'en empêche ; il fini par sortir de la pièce en claquant la porte.

Le dialogue est repris plus calmement avec la maman et la grand-mère, choquées de l'annonce diagnostique, et honteuses du comportement du papa. La grand-mère dit avoir compris avant même l'annonce diagnostique qu'il s'agissait de la mucoviscidose et avoir été recueillir des informations sur internet la veille de la consultation. Elle nous parle aussi de son fils a qui a souvent des comportements imprévisibles, en raison d'une enfance difficile.

Les deux femmes sont toutes deux effondrées.

Le père revient, plus calme et le dialogue peut reprendre...un climat de confiance semble s'installer avec l'annonce des aides fournies tout au long de la maladie, des traitements, d'un suivi médical et pluridisciplinaire strict et d'un accompagnement personnalisé de chaque malade.

## ***F. Les hétérozygotes dépistés***

Si nous excluons des nouveau-nés porteurs d'une mutation à J3 (n = 82) ceux reconnus atteints de mucoviscidose (30, et non 31 car l'un d'eux n'avait pas de mutation retrouvée à la première analyse génétique), le nombre d'hétérozygotes simples dépistés à la naissance est de 52. Ces hétérozygotes ne représentent qu'une partie des enfants hétérozygotes de la population générale. Parmi les enfants ayant eu une étude génétique (n = 508), la fréquence d'hétérozygotie est de 1/10 pour les enfants hypertrypsinémiques.

Dans la population générale, la fréquence des hétérozygotes, calculée à partir de la fréquence de la mucoviscidose dans la région Lorraine (1/2990) selon la loi de Hardy et Weinberg (\*), est de 1/27.

### **1. Caractéristiques des enfants hétérozygotes**

#### **1.1 Répartition annuelle**

52 enfants hétérozygotes ont été diagnostiqués par le dépistage ; leur test de la sueur était normal et les enfants asymptomatiques.

La répartition selon les années est représentée dans le tableau ci-dessous :

---

\* Loi de Hardy et Weinberg :  $1 = q^2 + 2qp + p^2$  sachant que  $1 = AA + Aa + aa$  (avec A= sain ; a= malade ; AA= homozygote sain ; aa= homozygote malade ; q= probabilité d'être A ; p= probabilité d'être a ; p<sup>2</sup>=fréquence de la maladie)

**Tableau 18 : Distribution des hétérozygotes selon les années**

Année	Nombre d'hétérozygotes	Fréquence par rapports aux hypertrypsinémies à J3
2002	7	1/11
2003	10	1/11
2004	15	1/10
2005	20	1/8

## 1.2 Origines familiales par pays

Parmi les enfants hétérozygotes, 92 % des enfants sont originaires de France ; les autres pays représentés sont l'Algérie (4 %), la Belgique (2 %) et la Turquie (2 %).

Le tableau ci-dessous représente les mutations génétiques retrouvées en rapport avec l'origine géographique précise de chaque famille.

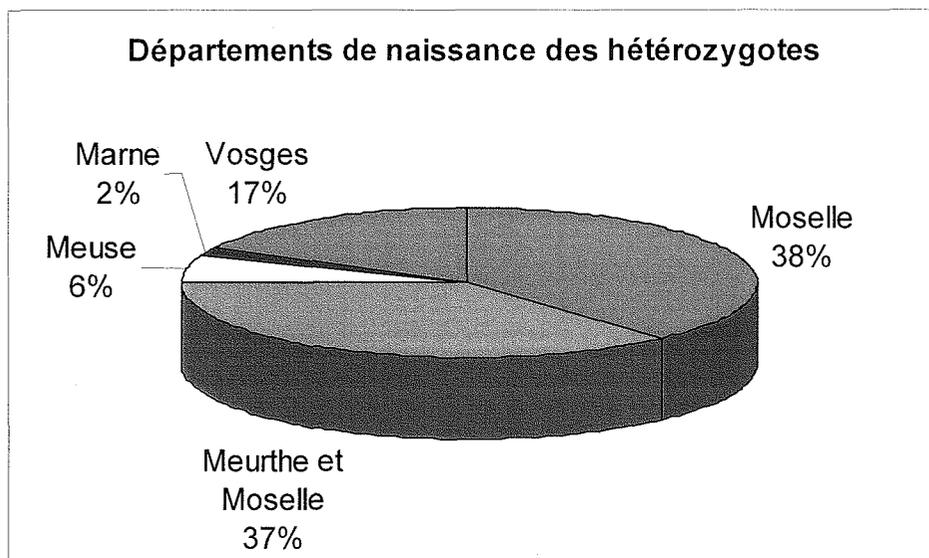
**Tableau 19 : Répartition des origines familiales précises et mutations retrouvées**

Région d'origine	Nombre d'enfants	Mutations
Alger	1	$\Delta F508$
Est de l'Algérie	1	$\Delta F508$
Espagne	1	$\Delta F508$
Italie sans précision	2	N1303K ; $\Delta F508$
Italie du Nord	2	R117H ; G542X
Martinique	1	R117P
Meurthe et Moselle	2	G542X ; $\Delta F508$
Meuse	1	R1162X
Moselle	2	R117H ; $\Delta F508$
Vosges	3	$\Delta F508$ ; 349 TT

### 1.3 Départements de naissance

La majorité des enfants est née en Meurthe et Moselle comme le montre le diagramme ci-joint.

Diagramme 15 : Répartition des hétérozygotes selon leur département de naissance



### 1.4 Caractéristiques néonatales des hétérozygotes

Parmi les enfants hétérozygotes, un enfant avait un antécédent familial de mucoviscidose (cousine du père de l'enfant).

Le poids de naissance moyen est de 3190 g ; tous sont asymptomatiques à la consultation du CRCM avec un poids moyen à 3197 g, une taille moyenne à 49,8 cm et un BMI moyen à 14,9 kg/m<sup>2</sup>.

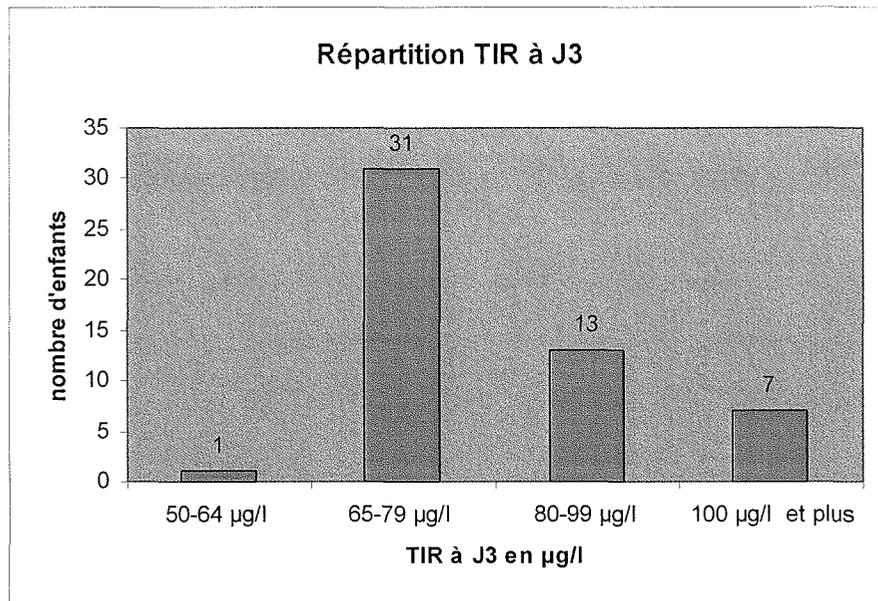
## 2. Valeurs TIR J3 et « J21 »

### 2.1 TIR à J3

Les valeurs de trypsine immunoréactive sur le prélèvement du quatrième jour de vie vont de 64 à 215 µg/l et la valeur médiane est de 77 µg/l (avec seuil d'action initial à 60 µg/l puis 65 µg/l).

Le diagramme ci-dessous représente la répartition des TIR à J3 selon des fourchettes de valeur entre 60 µg/l à 100 µg/l et plus.

**Diagramme 16 : répartition des TIR à J3 chez les hétérozygotes**



## **2.2 TIR au contrôle dit de J21**

Seulement 29 enfants hétérozygotes ont eu un contrôle de la TIR lors de la consultation au CRCM. Les valeurs de trypsine immunoréactive varient de 12 à 53 µg/l et la valeur médiane est de 19 µg/l. Seulement 3 enfants ont une valeur supérieure à 40 µg/l (valeur du seuil de la TIR à J21 dans l'organigramme). Les valeurs les plus élevées concernent des enfants porteurs de la mutation ΔF508.

## **3. Test de la sueur à la consultation**

Les valeurs du test de la sueur par méthode semi-quantitative sont comprises entre 2,3 et 54 mmol/l. Deux enfants ont des valeurs douteuses par cette méthode de dosage, respectivement à 44 mmol/l et 54 mmol/l. Ces enfants ont été revus pour un contrôle du test de la sueur.

Les valeurs du test de la sueur par la méthode de référence (titrimétrie), sont comprises entre 6 et 41 mmol/l. Deux autres enfants ont également des valeurs à la limite supérieur de la normale avec cette méthode de référence, à 40 et 41 mmol/l et ont été convoqués pour un contrôle du test de la sueur à distance.

Les quatre enfants ayant nécessité une nouvelle convocation pour un contrôle du test de la sueur sont décrits dans le tableau ci-dessous.

**Tableau 20 : Caractéristiques des enfants hétérozygotes ayant des résultats du TS douteux**

	TIR à J3	Mutation	CI par semi-quantitative	CI par titrim	TIR à J21	Age reconvoction	Valeurs TS
<b>Cas n°1</b>	79	R117H	<b>44</b>	34	13	5 mois	12
<b>Cas n°2</b>	110	$\Delta$ F508	<b>54</b>	33	Non faite	4 mois	1 et 13
<b>Cas n°3</b>	94	$\Delta$ F508	17	<b>40</b>	18	1 mois 1/2	13 et <b>35</b>
<b>Cas n°4</b>	78	$\Delta$ F508	7	<b>41</b>	Non faite	3 mois	20 et 25

Le cas n°3 avait encore une valeur douteuse du test de la sueur au contrôle à 1 mois et demi; il a du être convoqué une nouvelle fois au CRCM, à l'âge de 5 mois ; le test de la sueur était cette fois-ci normal à 19 mmol/l.

Tous ont finalement normalisé leur test de la sueur et ont été déclarés porteurs sains.

#### **4. Temps pour l'affirmation du diagnostic**

La durée diagnostique moyenne est de 49 jours et la durée médiane, de 41 jours. La durée la plus brève est de 17 jours. Pour deux enfants, 5 mois ont été nécessaires pour infirmer une mucoviscidose et rassurer complètement les parents sur le statut simplement hétérozygote et porteur sain de leur enfant.

## **5. Les mutations observées**

Le Kit 20 aura permis de mettre en évidence 28 enfants hétérozygotes, soit 8,8 % des 318 enfants qui ont eu une étude génétique par ce Kit sur le prélèvement de J3 ;

Le Kit 30 aura permis de mettre en évidence 24 enfants hétérozygotes, soit 12,6 % des 190 enfants ayant bénéficié d'une étude génétique par ce Kit sur le prélèvement de J3.

Parmi les enfants porteurs sains, 51 % ont la mutation  $\Delta F508$  ; 20 % ont la mutation R117H. 13 mutations différentes ont été retrouvées dans la population d'enfants hétérozygotes.

Ces mutations sont rapportées dans le tableau ci-dessous :

**Tableau 21 : Mutations des enfants hétérozygotes**

<b>Mutations retrouvées</b>	<b>Nombre d'enfants porteurs</b>	<b>Proportion</b>
<b><math>\Delta F508</math></b>	27	51 %
<b>R117H</b>	11	20,75 %
<b>G542X</b>	2	3,7 %
<b>R1162X</b>	2	3,7 %
<b>R553X</b>	2	3,7 %
<b>R117P</b>	1	1,89 %
<b>R347P</b>	1	1,89 %
<b>W1282X</b>	1	1,89 %
<b>N1303K</b>	1	1,89 %
<b>3659delC</b>	1	1,89 %
<b>349TT</b>	1	1,89 %
<b>3272-26</b>	1	1,89 %
<b>2183/AAG</b>	1	1,89 %

## ***G. Récapitulatif des résultats du dépistage***

Le récapitulatif résumant les différentes situations du dépistage avec les effectifs retrouvés est représenté à l'annexe n°11.

## IV. DISCUSSION

### ***A. Comparaison avec les résultats nationaux***

En 1980, début de l'expérience normande du dépistage de la mucoviscidose, les précis pédiatriques de référence rapportaient une prévalence de la mucoviscidose à 1/2500 naissances ; la mise en place du dépistage progressivement étendu à l'ouest de la France a abaissé ce chiffre à 1/4591 naissances. Cette diminution notable a initialement pu être perçue comme une insuffisance de la performance analytique de l'organigramme proposé. Depuis, le dépistage néonatal systématique de la mucoviscidose a permis de mieux connaître la fréquence des différentes mutations en cause et les variations de la prévalence néonatale de la maladie selon les origines ethniques. Le programme national du dépistage est complètement effectif depuis janvier 2003.

Les résultats qui suivent proviennent du dernier rapport de l'AFDPHE (octobre 2005).

Les résultats initiaux du bilan national des années 2002, 2003 et 2004 rapportent une prévalence nationale de la mucoviscidose de 1/4590 et soulignent les différences régionales dues à l'hétérogénéité des populations. En effet, la fréquence de la maladie varie beaucoup selon les régions : de 1/16477 en Aquitaine et 1/15941 en Ile-de-France à 1/2150 en Champagne-Ardenne et 1/2849 à la Réunion.

Le tableau ci-joint montre les différentes fréquences de la maladie selon les régions de France.

Tableau 22 : Fréquence de la mucoviscidose en France, région par région au bilan du dépistage en 2004

Région	Fréquence de la maladie
Nord Pas de Calais	1/4425
Picardie	1/3351
Champagne-Ardenne	1/2150
Lorraine	1/2815
Alsace	1/4110
Franche comté	1/4900
Bourgogne	1/2987
Rhone-Alpes (Lyon)	1/4267
Rhone-Alpes (Grenoble)	1/3403
PACA	1/7501
Languedoc-Roussillon	1/6975
Midi-Pyrénées	1/4825
Aquitaine	1/16477
Pays de Loire (Angers)	1/4441
Pays de Loire (Nantes)	1/6621
Bretagne	1/3084
Normandie	1/3086
Ile de France (Necker)	1/6473
Ile de France (R.Debré)	1/15941
Centre	1/6503
Limousin	1/3906
Auvergne	1/3582
La Réunion	1/2849
Fréquence globale	1/4591

# **1. Résultats globaux**

## **1.1 Enfants suspects**

La proportion d'enfants ayant une TIR supérieure au « seuil d'action » est en moyenne de 0,72 % (0,62 % en région Lorraine).

## **1.2 Enfants ayant eu une étude en biologie moléculaire**

En raison du changement du seuil d'action, une baisse du nombre de demandes de biologie moléculaire a été enregistrée : 0,55 % contre 0,82 % avant le changement de seuil. Cependant, au cours de l'année 2004, a été observée une nouvelle élévation du nombre de biologie moléculaire à 0,77 %.

## **1.3 Enfants convoqués « d'emblée » dans un CRCM**

Parmi les enfants suspects, 11 % ont été convoqués dans un CRCM (16 % dans notre population Lorraine); 20 % des enfants convoqués avaient 2 mutations d'emblée au prélèvement de J3 (25 % en Lorraine) ; 30 % des enfants convoqués pour une ou deux mutations avaient une mucoviscidose (36 % dans notre population Lorraine).

## **1.4 Enfants devant avoir un contrôle de la TIR**

Parmi les enfants suspects, 89 % ont nécessité un contrôle de la TIR à J21 dont 87 % en raison d'une biologie moléculaire négative (83 % en Lorraine) et 2 % car la biologie moléculaire n'avait pu être réalisée faute de consentement parental (aucun cas en Lorraine).

- ✓ Parmi les 87 % d'enfants sans mutation, 5,4 % n'ont pas eu leur TIR de contrôle en raison de décès (1,4 %), perdus de vue (3,5 %) ou dossier encore « en attente » (0,5 %). Dans notre population régionale, 1,17 % n'ont pas eu

de contrôle de la TIR (0,47 % de décès, 0,7 % de perdus de vue, aucun dossier en attente). Ainsi, pour les enfants ayant eu un contrôle de la TIR, la valeur de la trypsine à J21 s'est normalisée chez 88 % (94 % en Lorraine), mais elle est restée au dessus du seuil fixé chez 11,4 % des enfants qui ont alors été convoqués dans un CRCM pour la réalisation d'un test de la sueur (5,7 % en Lorraine). Parmi ces enfants attendus au CRCM, le diagnostic de mucoviscidose a été retenu chez 1 % , (1 enfant en Lorraine, représentant 4 % des enfants vus au CRCM en raison d'une TIR à J21 élevée).

- ✓ Parmi les enfants sans biologie moléculaire, 15 % sont décédés et 22 % ont été perdus de vue avant que soit réalisé le contrôle de la trypsine. Sur les 62 % restant, ayant eu un contrôle de la TIR, 20 % avaient des valeurs au dessus du seuil et ont été convoqués dans un CRCM. Le diagnostic de mucoviscidose a été retenu chez 20 % de ces enfants vus au CRCM pour TIR à J21 élevée.

## **2. Les malades dépistés**

### **2.1 Enfants ayant une mucoviscidose**

Parmi les enfants vus dans un CRCM, 15 % ont une mucoviscidose (29 % en Lorraine). Chez 14 % considérés comme malades, le diagnostic était connu avant le dépistage (3 % par le diagnostic prénatal, 11 % en raison d'un iléus méconial). La présence d'un iléus méconial parmi les enfants malades avec une hypertrypsinémie à J3 représente 11,4 % des patients (16 % en Lorraine).

### **2.2 Les mutations observées**

Parmi les enfants qui avaient 2 mutations d'emblée au prélèvement de J3, 92 % avaient une mutation  $\Delta F508$  (81 % en Lorraine), dont 58 % à l'état homozygote (62 %). Parmi les enfants malades ayant une seule mutation identifiée à J3, 79 % avaient  $\Delta F508$ . Parmi les enfants malades, 84 % sont homozygotes ou hétérozygotes composites pour cette mutation (74 % en Lorraine). Le diagnostic de mucoviscidose a été retenu chez 8,5 % des enfants ayant la mutation R117H (6,45 % en Lorraine).

## 2.3 Caractéristiques cliniques des malades dépistés

L'âge médian à la première consultation, sans considérer les cas d'iléus méconial, est de 34 jours et déjà 54 % des enfants sont symptomatiques (68 % en Lorraine), dont 32 % sur le plan digestif, 20 % sur le plan trophique et 30 % sur le plan respiratoire. La fréquence de la prématurité est de 8,6 % ; un poids de naissance < 2500 g est retrouvé pour 9,6 % des dépistés.

Ceci est aussi retrouvé dans la littérature : en effet, une étude menée en Italie (110), comparant un groupe d'enfants porteurs de mucoviscidose (n = 70) et un groupe d'enfants sains de la population générale (n = 290 059), montre que les nouveau-nés porteurs de mucoviscidose ont un plus grand risque de naître avant terme et avec un faible poids de naissance.

## 3. Autres points importants

- ✓ Le dossier des enfants ayant nécessité un contrôle de la TIR à J21 a pu être conclu normalisé pour 83 % d'entre eux sans passer dans un CRCM (79 % en Lorraine).
- ✓ La fréquence des hétérozygotes « porteurs sains » parmi les hypertrypsinémiques à J3 est de 1/13 soit deux fois plus élevée qu'habituellement admis dans la population générale. En Lorraine, la fréquence des hétérozygotes parmi les enfants hypertrypsinémiques est encore plus élevée : elle est de 1/10 (52/508).
- ✓ Fin 2004, 13 faux négatifs avaient été recensés en France (AFDPHE).

## ***B. Interprétation de nos résultats***

Nos résultats sont globalement superposables aux résultats nationaux, avec cependant une fréquence plus élevée de la maladie, calculée à 1/2604. Nous dépistons en moyenne un peu moins d'un enfant porteur de la mucoviscidose par mois.

Nous n'avons observé, depuis le début du dépistage, aucun faux négatif, en appelant faux-négatifs les enfants porteurs d'une forme classique de mucoviscidose et qui n'auraient pas été dépistés en période néonatale. Cependant, nous précisons que le recul par rapport au début du dépistage est encore court.

Dans notre groupe d'enfants malades, un seul a eu un dépistage anténatal de la maladie ; les résultats génétiques sont parvenus après la naissance.

Nous sommes surpris par la forte proportion d'enfants avec une TIR très élevée à J3 et qui se normalise à « J21 » et avons par ailleurs remarqué que ces enfants étaient souvent d'origine maghrébine ou des pays de l'Est. Il serait par ailleurs intéressant d'étudier le score d'Apgar de ces enfants car une souffrance foetale aigüe peut être la cause d'une élévation transitoire de la TIR chez un enfant sain. De même, le poids de naissance pourrait intervenir dans l'élévation transitoire de la TIR.

## ***C. Interprétation des résultats et information au patient***

Pour les enfants ayant une TIR < 100 µg/l à J 3 et une étude de BM négative, et en conséquence pas de contrôle à J 21, la question se pose de savoir s'il faut considérer ces enfants comme ceux ayant une TIR à J 3 inférieure au seuil d'action (65 µg/l) (et donc pas d'analyse en biologie moléculaire) et donc comme ayant un test de dépistage négatif.

Dans cette seconde situation, la BM n'étant pas faite, la question de rendre un résultat individuel aux parents et aux professionnels ne se pose pas. Mais s'il est fait une étude d'ADN, doit-on rendre un résultat individuel aux parents par l'intermédiaire d'un médecin quand il n'est pas trouvé de mutation ?

A qui appartient le résultat ? doit-on donner ce résultat aux parents qui risquent d'oublier de transmettre cette information à leur enfant 15 ans plus tard ?

Dans les textes, le résultat du test « doit être adressé par le laboratoire exclusivement au praticien prescripteur », en l'occurrence le président de l'Association Régionale. Celui-ci « ne doit communiquer les résultats de l'examen des caractéristiques génétiques qu'à la personne concernée ou à celle titulaire de l'autorité parentale... ». En outre, « la communication des résultats doit se faire dans le cadre d'une consultation médicale individuelle, sous forme claire et appropriée ».

En toute rigueur réglementaire et éthique, le résultat n'appartient pas aux parents et ne doit pas leur être donné. Mais en pratique, cette information leur est malgré tout fournie en espérant qu'ils en informeront leur enfant lorsqu'il aura atteint la majorité.

## ***D. Problèmes posés par les hétérozygotes***

La gestion et l'impact du diagnostic des hétérozygotes est un problème délicat dont il faut apprécier le retentissement sur le vécu au sein des familles et sur l'information auprès de l'hétérozygote au début de l'âge adulte.

En effet, le prélèvement de sang à J3 est destiné à dépister la maladie et non à rechercher une caractéristique génétique chez une personne afin de lui dire si elle est porteuse d'une mutation, ce qui pourrait orienter différemment son existence. Il faut rappeler que la situation d'hétérozygotie n'est pas une situation anormale et que tout individu est certainement porteur hétérozygote de mutations qui, en cas d'homozygotie ou d'hétérozygotie composite, donneraient une pathologie. Les informations données aux parents concernent l'objectif du dépistage et non les conséquences de l'absence d'une des trente mutations éventuellement recherchées chez un enfant qui sera considéré comme n'ayant pas une mucoviscidose après le test de dépistage.

Le dépistage néonatal de la mucoviscidose est un dépistage qui, du fait des techniques de biologie moléculaires employées, conduit à révéler des statuts génétiques qui ne sont pas ceux d'enfants malades mais ceux d'enfants hétérozygotes, c'est-à-dire seulement porteurs de caractéristiques génétiques particulières (c'est également le cas du dépistage néonatal de la drépanocytose). Aussi est-il légitime de poser, entre autres, la question de l'intérêt pour ces enfants d'une telle démarche.

Classiquement, le dépistage des hétérozygotes s'effectue dans le cadre du conseil génétique par un dépistage familial en cascade. On cherche à caractériser, dans les familles ayant un enfant atteint de mucoviscidose, les personnes porteuses d'une mutation à l'état hétérozygote et ce, dans l'objectif d'effectuer un diagnostic prénatal chez les couples qui ont un risque élevé de donner naissance à un enfant atteint de mucoviscidose.

Dans le cadre du dépistage néonatal de la mucoviscidose, la découverte des hétérozygotes pose la question de fournir les résultats à la famille, d'autant que les parents ne donnent leur accord écrit que pour obtenir le dépistage d'une maladie chez leur enfant.

En faveur de cette démarche du dépistage, il faut noter qu'en Grande-Bretagne, depuis 10 ans que le dépistage néonatal a été mis en place, on a assisté à une

diminution de 30% de la prévalence de la maladie (78). Par ailleurs, si les résultats ne sont pas rendus, il existe un risque de perte de l'information.

A l'inverse, ceux qui s'opposent à cette démarche indiquent que les critères d'un dépistage ne sont pas ici respectés : on ne dépiste pas une maladie, le dépistage ne permet pas de proposer un traitement et il n'y a pas de bénéfice direct pour l'enfant de savoir qu'il est porteur d'une mutation génétique à l'état hétérozygote. De plus, on peut considérer que le fait de révéler le statut hétérozygote chez un mineur n'est pas conforme à la législation française (111, \*).

Sur ce point, l'AFDPHE considère d'une part que la question peut se poser de savoir si le résultat doit être communiqué aux parents, mais que, si l'information est donnée, elle doit être claire. D'autre part, même si l'objectif du dépistage n'est pas de dépister des hétérozygotes, les parents doivent avoir connaissance de cette information.

La question est délicate pour les états d'hétérozygotie qui ne sont pas pathologiques comme le dit bien la dénomination de « porteur sain », mais la déontologie médicale (et la Loi) n'autorisent pas la rétention d'un résultat « anormal » et l'attestation du rendu de résultat est réglementaire depuis octobre 2004. Il faut donc informer les parents, ce qui engage un discours difficile à comprendre pour ces derniers et dont l'utilité immédiate est discutable, sans compter la grande consommation de temps de professionnels qu'elle requiert. Nous ne devons pas oublier que l'un des critères fondamentaux du dépistage est le bénéfice immédiat rendu à l'individu malade ; est-ce le cas de l'hétérozygote ?

Enfin, chez un couple dont l'un des conjoints est connu comme étant hétérozygote, si la recherche des mutations communes est négative chez l'autre conjoint, se pose la question de modifier l'organigramme pour le dépistage du nouveau-né à naître. En effet, si la TIR à J3 est augmentée et que la BM retrouve la mutation du parent hétérozygote, en cas de TS anormal et de TIR à J21 augmentée,

---

\* **Code de la Santé Publique** (extraits de l'Art. R1131-5)

- Lorsque l'examen des caractéristiques génétiques d'une personne est effectué sur un mineur, il ne peut être prescrit que si celui-ci peut personnellement en bénéficier dans sa prise en charge ou si des mesures préventives ou curatives peuvent être prises pour sa famille.
- Les examens ne peuvent être réalisés chez un mineur que si ce dernier ou sa famille peuvent personnellement bénéficier de mesures préventives ou curatives immédiates.

il faudra rechercher les mutations rares qui ne font pas partie du Kit de dépistage. Une autre stratégie possible serait, pour éviter deux études en BM, de noter sur le carton de dépistage envoyé au laboratoire, la notion d'hétérozygotie d'un des conjoints, afin que soit réalisée directement la recherche des mutations rares si la TIR à J3 est élevée.

En conclusion, le dépistage des hétérozygotes pose de multiples questions, avant tout d'ordre réglementaire et éthique. Cependant, le problème est relativement circonscrit dans la mesure où l'on ne dépiste qu'un faible taux d'hétérozygotes et que peu de familles se trouvent concernées.

## ***E. Difficultés dues aux faux positifs et impact psychologique***

L'association TIR/biologie moléculaire a une sensibilité autour de 95% et une bonne spécificité, et dans son ensemble, une valeur prédictive positive entre 15 et 37%. Le problème majeur de ce dépistage est du aux faux-positifs. Même s'ils sont peu fréquents (0,1%), les familles, souvent inquiètes, vont nécessiter une information génétique lorsqu'il y a une hétérozygotie, incluant une recherche génétique chez les parents et la fratrie. Les faux-positifs déclenchent souvent chez les mamans un vécu psychologique difficile qui peut durer plusieurs années et le mode de communication d'un résultat anormal (téléphone ou conversation personnalisée) est un facteur important pour les parents (112), dont l'impact psychologique est difficile à évaluer. Chez certaines familles, on assiste à un véritable « syndrome de l'enfant vulnérable » avec un enfant sain, ayant eu un résultat faussement positif au dépistage et dont les parents gardent une anxiété résiduelle (113). Bien que de tels problèmes n'arrivent que dans une faible proportion de familles, ils sont cependant préoccupants et doivent être pris en compte dans les réflexions des groupes d'experts.

La trypsine immunoréactive cible une population à risque de mucoviscidose mais il y a un nombre élevé de faux positifs. Quelle est la signification de cette hypertrypsinémie ?

Dans différentes études utilisant la TIR comme test de dépistage, l'incidence de faux-positifs varie de 0,18 à 0,97%. Rock et son équipe du Wisconsin (114), en

1989, ont essayé de déterminer les caractéristiques des nouveau-nés présentant une TIR faussement positive. Dans leur étude, sur les 92 enfants avec une TIR élevée, seulement 14,1% avaient un diagnostic de mucoviscidose confirmé par un test de la sueur positif, et 85,9% avaient un test de la sueur négatif. Ils ont pu mettre en évidence que la survenue d'une asphyxie périnatale était un facteur associé à une TIR faussement positive au quatrième jour de vie. Par contre, la prématurité ne semblait pas être associée avec une élévation de la TIR. Dans d'autres travaux, Kuzemko (115) montrait que l'asphyxie néonatale, l'hypoglycémie ou l'anomalie congénitale pouvaient être des facteurs responsables d'une TIR anormalement élevée.

Beaucoup ont tenté de comprendre le vécu des parents lors du dépistage néonatal, par des tests psychologiques pour étudier l'anxiété et la relation parents-enfant. L'étude de l'équipe de Comeau au Massachusetts (116) retrouve que sur les 83 parents dont l'enfant avait un test faussement-positif pour la mucoviscidose et qui, plus tard, ont donné naissance à un autre enfant, l'anxiété ou les réactions négatives qu'ils avaient pu rapporter au moment du dépistage du premier nouveau-né n'étaient pas suffisantes pour les empêcher d'accepter un dépistage néonatal de la mucoviscidose pour leur plus jeune enfant.

Actuellement en France, « l'impact psychologique des faux positifs du dépistage néonatal » est en cours d'étude. En toute première analyse, il semble qu'il n'y ait quasiment pas d'anxiété parentale manifeste 3 mois après la consultation, mais l'originalité de l'étude est de vérifier si cet acquis se maintient au bout de 1 et 2 ans lorsque l'enfant aura véritablement quelques petites maladies qui pourraient réactiver une anxiété.

## ***F. Problèmes rencontrés avec les formes frontières***

Le dépistage néonatal de la mucoviscidose entre dans le cadre d'une médecine qui vise à prendre en charge précocement la maladie et à éviter ou à retarder une évolution grave. Cependant, la biologie moléculaire permet d'identifier d'une part des formes appelées « frontières », d'autre part des formes modérées de la maladie, mais aussi des « génotypes à problème » ou GAP, c'est à dire des

mutations nouvelles dont on ne connaît pas la pathogénicité. On entre ici dans le cadre d'une médecine prédictive sans que pour autant l'on connaisse l'évolution de ces formes, la meilleure façon de les prendre en charge, s'il est bien licite de faire le diagnostic chez le nouveau-né et le type de conseil génétique que l'on peut proposer.

Plusieurs situations de complexités différentes peuvent se présenter :

- ✓ 2 mutations mais avec un test de la sueur négatif ( $< 40$  mmol/l pour les nourrissons de plus de 3 mois ;  $< 30$  mmol/l pour les nourrissons de moins de 3 mois), ou intermédiaire (entre 40 et 59 mmol/l) ;
- ✓ 2 mutations avec au moins une mutation modérée et un test de la sueur positif ( $\geq 60$  mmol/l pour les nourrissons de plus de 3 mois ; ou  $\geq 30$  mmol/l chez les moins de 3 mois), (forme classique de la maladie), ou intermédiaire ou négatif (forme frontière);
- ✓ 0 ou 1 mutation avec un test de la sueur intermédiaire ou entre 30 et 40 mmol/l pour les nourrissons de plus de 3 mois;
- ✓ mise en évidence d'une mutation nouvelle associé à une mutation classique : GAP ou polymorphisme ?

## **1. Dans la littérature**

Le devenir des formes modérées a été étudié en France dans le Grand Ouest, sur une période moyenne de 4 ans et 7 mois. Elle a porté sur 14 filles et 12 garçons, âgés de 3 mois à 20 ans, recrutés par les 6 CRCM de Bretagne, Pays de Loire et Basse-Normandie. Le profil génétique de ces patients est le suivant :

- ✓ un patient ayant 2 mutations modérées avec un test de la sueur à 37 mmol/l, puis à 60 mmol/l à 7 mois ;
- ✓ 25 patients hétérozygotes composites avec une mutation sévère et une mutation modérée.

Ces enfants ont eu en moyenne 3,5 tests de la sueur. A l'âge d'un mois, ces tests étaient négatifs dans un quart des cas, intermédiaires dans un quart des cas et positifs une fois sur deux. En revanche, après 6 ans de recul au moins, le test de la sueur est devenu positif dans 42% des cas.

Ces enfants sont tous suffisants pancréatiques et en bon état nutritionnel. Sur le plan du statut respiratoire, 8 enfants ont des signes respiratoires, mais le VEMS est de 101% en moyenne. Un seul enfant de 13 ans ( $\Delta F508/S945L$ ) a un VEMS à 48%, un

score de Shwachman à 65 (moyenne à 96,7) et un score de Brasfield à 15 (moyenne à 22,8). Sur 13 enfants qui ont fait l'objet d'une étude bactériologique, 2 ont été infectés par *Pseudomonas aeruginosa* et 9 par *Staphylococcus aureus* (dont 4 colonisations chroniques).

La prise en charge de ces patients a été effectuée 25 fois sur 26 par un CRCM avec une consultation 3 fois par an dans 22 cas, et 1 fois par an dans 3 cas. Quinze enfants ont bénéficié de kinésithérapie respiratoire deux fois par semaine, sept ont un traitement anti-asthmatique et un seul a une antibiothérapie au long cours.

Parmi les cas avec phénotype modéré, le diagnostic d'anomalie du gène de la CFTR a été porté chez l'un d'entre eux grâce à la découverte d'une agénésie bilatérale des canaux déférents lors d'une cure de hernie inguinale ; il était asymptomatique sur le plan respiratoire. Par ailleurs, dans 4 cas, le diagnostic a été effectué sur la base d'infections respiratoires récidivantes. Six « GAP » ont été suivis pendant 3 ans et 3 mois en moyenne. Leur croissance staturo-pondérale et leurs fonctions pancréatique et hépatique sont normale. Un enfant présente une toux chronique. Sur le plan infectieux, l'un d'entre eux a été colonisé par *Pseudomonas aeruginosa*. Au total, l'atteinte de ces enfants non dépistés et dépistés apparaît nettement moins sévère que dans les formes classiques, mais avec un phénotype assez hétérogène.

Le test de la sueur reste le test diagnostique de référence mais, lorsqu'il donne un résultat équivoque, il complique la démarche diagnostique provoquant anxiété, incompréhension et stress qui doivent être correctement pris en compte. Il doit être effectué avec la technique de référence de Gibson et Cooke mais on sait depuis longtemps qu'il y a d'authentiques CF qui gardent des TS normaux et d'autres qui verront leur concentration sudorale de Cl augmenter avec l'âge avec un tableau clinique pathologique associé; cependant, nous savons que le chlore sudoral augmente physiologiquement avec l'âge.

Avec la découverte de la 1<sup>ère</sup> mutation  $\Delta F508$  publiée en même temps que celle du gène CFTR, il est apparu rapidement que le taux de TIR était significativement plus élevé chez les patients hétérozygotes, tout en restant dans les valeurs limites de la normale. Or, parmi ceux-ci, on a pu découvrir par la suite une deuxième mutation lorsqu'on fait une étude exhaustive du gène, mais ce sont alors des mutations modérées (R117H, A455E, 3849 + 10 kbC>T, D1152H ou ISV8,5T) voire de simples polymorphismes.

L'étude de la cohorte de la *Cystic Fibrosis Foundation* (117) sur 17853 CF génotypées montre que le taux de mortalité est significativement plus bas chez les hétérozygotes composites  $\Delta F508/3849 + 10 \text{ kbC>T}$  ou R117H ou 2789 + 5G>A que chez les homozygotes  $\Delta F508$  ou hétérozygotes composites à mutations sévères (comme les mutations non-sens). Cependant, comme pour les mutations classiques, la corrélation génotype-phénotype est compliquée par l'existence de gènes CFTR polyvariants et de gènes modificateurs et, dans la littérature, sont décrites des évolutions classiques chez des sujets porteurs d'une mutation modérée avec persistance d'un test de la sueur normal.

En Australie, Massie et al (118) identifient 1,6 fois plus d'hétérozygotes  $\Delta F508$  à partir de la TIR du dépistage néonatal que dans la population générale (ce dépistage ne recherche que la mutation  $\Delta F508$ ). Parmi eux, les auteurs ont repris l'analyse du gène CFTR chez 57 enfants :

- ✓ Quatre enfants avaient un test de la sueur compris entre 40 et 60 mmol/l.
- ✓ Cinq enfants (8,8%) avaient une deuxième mutation, R117H toujours associée à IVS8, 7 ou 9T, soit une fréquence significativement plus élevée que dans la population générale australienne (1%).
- ✓ Onze enfants (20%) avaient par ailleurs l'allèle 5T de l'intron 8 sur leur deuxième chromosome.

Aucun de ces 5 + 11 enfants n'a développé de signe clinique de CF à 12 mois. Les quatre enfants ayant des tests de la sueur initiaux intermédiaires n'avaient pas de deuxième mutation ou ne possédaient pas l'allèle 5T (mais possèdent l'allèle 7T ou 9T). Pourtant, deux d'entre eux ont développé des signes cliniques authentiques de CF à l'âge de 12 mois avec des tests de la sueur devenus positifs. Il en est de même pour un troisième enfant qui avait un chlore sudoral initial à 32 mmol/l puis 54 mmol/l à 12 mois ; tous ces enfants étaient suffisants pancréatiques (voir « mutations modérées p136).

Il ne s'agissait pas de faux-négatifs des tests de dépistage puisque leur TIR était élevée mais de faux-négatifs des tests diagnostiques.

Quand nous voyons l'évolution rapide de ces trois enfants (sur une population initiale de 57 présumés hétérozygotes), il paraît pourtant important d'en faire rapidement le diagnostic pour les prendre en charge plus tôt. Les enfants qui avaient

un Cl sudoral inférieur à 40 mmol/l n'ont pas développé de signes cliniques particuliers et restent avec des tests de la sueur bas.

L'équipe du Massachusetts (119) a également étudié les nouveau-nés ayant un diagnostic de mucoviscidose difficile à affirmer. Elle retrouve que, chez les enfants ayant un résultat positif au dépistage néonatal, avec une mutation détectée (ils recherchent la mutation  $\Delta F508$  et d'autres mutations) et un TS limite (chlore sudoral compris entre 30 et 60 mmol/l), 20% ont une deuxième mutation retrouvée secondairement. Par ailleurs, sur tous les enfants dont le diagnostic néonatal était positif pour la mucoviscidose, 11% ont finalement une forme frontière de mucoviscidose. Ils proposent un organigramme pour la réalisation des tests de la sueur qu'il ne faut pas hésiter à répéter lorsque le diagnostic est difficile à établir. (voir tableau annexe n° 12: organigramme du TS quand forme frontière)

Une étude anglaise publiée en 2000 (120) montre que la présence d'une mutation  $\Delta F508$ , associée à l'existence d'une hypertrypsiniémie modérée chez le nouveau-né est souvent en rapport avec la présence d'une seconde mutation, parfois bénigne. Par exemple, l'association  $\Delta F508/R117H$  entraîne un phénotype sans insuffisance pancréatique exocrine. De même, le variant 7T et la mutation R117H, combinées à  $\Delta F508$ , ne sont associés qu'à une agénésie bilatérale congénitale des canaux déférents, et, dans certains cas, à une atteinte pulmonaire discrète. Les femmes comportant ce génotype sont complètement asymptomatiques. Dans cette même étude, Boyne et al. trouvent secondairement 20 hétérozygotes composites chez les 88 hétérozygotes  $\Delta F508$  initialement identifiés par le diagnostic néonatal avec test de la sueur normal. Neuf fois (45% des cas) il s'agit d'une mutation R117H toujours associée au variant 7T de l'intron 8, deux fois de la mutation 3849 + 10 kbC>T. Tous les enfants sont suffisants pancréatiques, néanmoins six, dont trois R117H, développent des symptômes respiratoires sans précision d'âge.

Selon les critères actuels, tous les enfants décrits dans ces publications ont bien une anomalie du gène CFTR, mais avec une symptomatologie clinique extrêmement variable, d'où les termes utilisés pour les désigner : mucoviscidose, formes atypiques (CF pulmonaire modérée), formes infracliniques ou « pré-CF », CFTR related disease, CFTR-like ou maladies associées à CFTR (atrésie bilatérale

des canaux déférents, pancréatite chronique idiopathique, sinusite chronique, aspergillose bronchopulmonaire allergique, asthme), CFTR-opathie. Ces situations posent donc le problème de la relation phénotype/génotype. De façon générale, à une mutation modérée correspond une insuffisance pancréatique et une atteinte respiratoire modérée.

La situation se complique avec des patients porteurs de gènes polyvariants et de gènes modificateurs qui développent une mucoviscidose, malgré une mutation modérée et/ou un test de la sueur normal.

Ainsi, ces études montrent que nous devons être prudents quant à l'affirmation de l'absence de mucoviscidose chez ces enfants ; or si nous ne voulons pas provoquer d'anxiété pathogène résiduelle chez les parents, il faut pouvoir les rassurer quand ils quittent le CRCM une fois effectué un TS normal. Même si le professionnel sait qu'il peut y avoir de très rares exceptions, il doit tenir un discours totalement rassurant lorsque le TS est inférieur à 40 mmol/l, mais se montrer plus prudent lorsqu'il est compris entre 40 et 60, savoir le répéter ultérieurement et faire une étude exhaustive du gène (121).

## **2. Les mutations modérées et décisions difficiles**

Les mutations modérées sont incluses dans le kit 30 du dépistage néonatal de la mucoviscidose en France. La plus fréquente d'entre elles est la mutation faux-sens R117H, dont l'interprétation est difficile. En effet, selon qu'elle est associée à une répétition de 5 ou 7 thymines dans l'intron 8, elle entraîne ou n'entraîne pas un phénotype de mucoviscidose.

Ainsi, son expression phénotypique, lorsqu'il existe une mutation délétère sur le deuxième allèle de l'autre chromosome, est dépendante du variant polythymidique de l'intron 8 sur le même allèle (122). En présence de l'allèle 5T, elle est typiquement associée à une mucoviscidose sans insuffisance pancréatique initiale ; avec l'allèle 7T ou 9T, elle est soit asymptomatique, soit associée chez l'homme à une stérilité par atrésie des canaux déférents. En réalité, l'allèle 7T est associé à un épissage normal de l'exon 9, ce qui n'entraîne pas de variation de la quantité d'ARNm de la protéine CFTR ; l'individu R117H-7T produit une quantité normale d'une CFTR partiellement fonctionnelle, entraînant un phénotype modérément sévère. A l'opposé, l'individu R117H-5T produit un ARNm en quantité réduite, ce qui induit un phénotype

plus sévère en raison d'une diminution de la quantité de la CFTR au niveau de la membrane cellulaire. C'est donc bien l'allèle 5T qui se comporte alors comme une véritable mutation délétère (12).

Cette mutation, présente dans tous les kits actuellement commercialisés et dans les Kits 20 et 30 utilisés en France, est retrouvée, associée dans la grande majorité des cas à l'allèle 7T, à une fréquence élevée inattendue chez les enfants dans le cadre du dépistage néonatal. Ces enfants ne devraient pas développer de mucoviscidose sévère, mais il paraît important de les suivre afin de prévenir l'apparition de tout problème pulmonaire ou digestif et de progresser dans la connaissance de la pathogénicité de cette altération, tout en sachant que ce processus est très anxiogène pour les parents (123).

On retrouve le même type de problème lors du dépistage de conjoints de malades ou d'hétérozygotes dans le cadre d'un projet parental. Chez les conjoints de malades, on propose une étude complète du gène CFTR. Chez les conjoints d'hétérozygotes, on utilise le kit, complété par la recherche de certaines mutations selon les origines ethniques ou géographiques de la famille. Mais lorsque l'on identifie des mutations de type R117H ou des faux sens mal étiquetés, est-il justifié de proposer un diagnostic prénatal avec une possible interruption médicale de grossesse à la clé?

Une bonne gestion du résultat est capitale, car elle débouche directement sur l'acceptabilité par les parents et leur participation à la prise en charge du traitement à long terme du bébé. Une circulaire ministérielle (124), relative à l'accompagnement des parents et à l'accueil de l'enfant lors de l'annonce pré et post-natale d'une maladie ou d'une malformation, a donné des directives en ce domaine. Mais la réalité sur le terrain est parfois difficile, surtout quand le clinicien se pose la question essentielle de savoir si le résultat biologique peut être formellement relié à un état morbide ou s'il ne se trouve pas devant une forme frontière dont le retentissement clinique à moyen terme et à long terme est discuté. Pour certaines mutations, certains parlent de la maladie du gène CFTR, sans prononcer le mot de mucoviscidose.

Il est aussi difficile d'annoncer des problèmes futurs de fertilité aux parents d'un nouveau-né masculin quand on n'en a pas la certitude et qu'aucun traitement n'est disponible. C'est pourquoi, certains pensent que l'identification des formes frontières ne devrait pas être incluse dans les protocoles de dépistage néonatal de routine (surtout vrai pour la mutation R117H).

On peut identifier d'autres mutations « modérés » avec phénotypes peu sévères : R347H, R347P, R334W, R117C et L206W, n'entraînant pas d'insuffisance pancréatique.

Ainsi, il semble logique de proposer à ces enfants un bilan clinique et paraclinique annuel dans un CRCM. En cas de test de la sueur intermédiaire ou négatif, quel doit être le rythme des contrôles à proposer : 3-6-12 mois, puis une fois par an ? Faut-il faire une étude exhaustive du gène ? Faut-il s'acharner à trouver des hétérozygotes composites ? Quel discours tenir aux parents ? Quant au conseil génétique, il doit être multidisciplinaire, modeste, prudent et adapté à la situation clinique.

### **3. Les différentes classes de mutation**

Sur le plan de la biologie moléculaire, il existe d'une part les mutations non pathogènes qui, à priori, n'entraînent pas d'altération, et des mutations causales qui sont soit sévères, soit modérées. Théoriquement, pour qu'une forme sévère de la maladie se déclare, le patient doit avoir hérité de 2 mutations sévères. Les formes modérées, « frontières », voire asymptomatiques n'apparaissent que si le patient est porteur d'une mutation sévère et d'une mutation modérée, ou de deux mutations modérées.

En pratique, le diagnostic est complexe puisque le gène CFTR est responsable, non seulement de mucoviscidose classique mais aussi de « CFTR-opathies » qui sont des pathologies mono ou pauci-symptomatiques, avec des tests de la sueur souvent difficiles à interpréter et deux mutations en trans (sévère/modérée ou modérée/modérée). Nous trouvons dans ce groupe des patients infertiles par atrésie bilatérale des canaux déférents, pathologie bien identifiée du gène CFTR, mais aussi des sujets qui consultent pour une dilatation des bronches, certaines polyposes naso-sinusiennes ou des pancréatites aiguës. Ces dernières pathologies sont plus difficiles à caractériser cliniquement et donc à rattacher aux maladies de la CFTR.

En fait, la mucoviscidose serait relativement facile à définir si l'on pouvait classer les mutations du gène CFTR selon leur pathogénicité. Un des premiers éléments pris en compte pour établir cette classification est la nature de la mutation.

Si les mutations non-sens et celles qui entraînent un décalage du cadre de lecture peuvent être classées parmi les mutations sévères, il est plus difficile de se prononcer sur certaines mutations d'épissage et sur les faux-sens.

Pour évaluer leur pathogénicité, toute une palette d'outils peut être utilisée. Il est actuellement mis en place des études de corrélation génotype-phénotype, mais du fait du très grand nombre de mutations, il est difficile d'établir des cohortes comparables de patients ayant des génotypes identiques, la situation étant expliquée par l'interférence possible d'un gène modificateur.

Si la biologie moléculaire permet de confirmer le diagnostic de mucoviscidose dans un grand nombre de cas, il existe des mutations à « large spectre » pour lesquelles il est difficile de faire un pronostic car elles sont à l'origine de phénotypes différents d'un sujet à l'autre, voire dans une même fratrie.

Ces mutations font l'objet d'études collaboratives qui, dans certains cas, ont permis de mettre en évidence l'existence d'allèles complexes. Des études montrent que, parfois, deux mutations, selon qu'elles sont portées sur le même allèle ou non, sont à l'origine d'un phénotype sévère ou modéré. Cela montre clairement l'intérêt d'effectuer systématiquement une étude de ségrégation familiale afin de s'assurer que deux mutations sont portées par des allèles différents (trans) ou par un même allèle (cis).

Pour expliquer des différences phénotypiques dans une même fratrie, chez des enfants porteurs des mêmes mutations, l'implication de gènes modificateurs est évoquée, mais les études de liaison ne sont pas encore concluantes. Nous rappelons aussi que les facteurs environnementaux peuvent également influencer sur l'évolution de la maladie.

## ***G. Minimiser les risques/ améliorer les bénéfices***

Une stratégie pour diminuer les risques serait de ne pas détecter les formes frontières de mucoviscidose. La meilleure approche aujourd'hui serait d'exclure la mutation R117H dont la fréquence est à l'origine des problèmes rencontrés. Une seconde approche possible serait de sélectionner les mutations du gène CFTR en excluant les mutations de classe IV et V qui sont associées à une fonction pancréatique normale. Les patients ayant une fonction pancréatique normale, qui ont

une mutation bénigne et une mutation sévère seraient détectés si la mutation sévère était dans le Kit de dépistage. Par contre, les individus avec 2 mutations bénignes ne seraient pas détectés. Ainsi, beaucoup des bénéficiaires nutritionnels du dépistage seraient conservés tout en diminuant le nombre de résultats faussement positifs et la révélation des formes frontalières de mucoviscidose.

## ***H. Compréhension de l'information par les parents***

Trois études américaines ont été menées pour évaluer la compréhension de l'information par les parents d'enfants atteints de mucoviscidose ou étant faux-positif au dépistage. La plus ancienne d'entre elles, celle de Tluczek en 1992 (125), montrait une méconnaissance importante des parents des différents aspects du dépistage néonatal. Sur les 104 familles dont l'enfant s'était avéré faux-positif, 14% n'étaient pas rassurés par le test de la sueur normal et 22% ne savaient pas s'ils allaient continuer à avoir des enfants à cause de leur mauvaise expérience du dépistage néonatal. En 1991, quand le programme de dépistage néonatal de la mucoviscidose du Wisconsin a introduit l'association TIR-biologie moléculaire (recherche de la seule mutation  $\Delta F508$ ) pour le dépistage, les parents bénéficiaient du conseil génétique au moment même où leur enfant avait le test de la sueur. Une année plus tard, un entretien avec 63 parents dont l'enfant avait un résultat faussement positif, retrouvait que plus de la moitié de ces parents n'avaient pas compris qu'ils gardaient un risque plus élevé que la population générale de concevoir un enfant atteint de mucoviscidose (126). Une troisième étude de 138 familles (127) a montré également une compréhension incomplète chez les parents d'enfants qui étaient faux-positifs et avaient une mutation: 88% savaient que leur enfant était porteur sain pour la mucoviscidose, 15% ne savaient pas bien si le statut de porteur sain pouvait ou non entraîner une maladie, 11% ne savaient pas si leur enfant était porteur du gène de la mucoviscidose et 12% des parents ne savaient plus bien si finalement, l'un d'entre eux était porteur. Enfin, seulement 57% des parents savaient qu'il existait un risque sur quatre que leur enfant puisse, à l'âge adulte, avoir un enfant atteint de mucoviscidose si son conjoint était aussi porteur d'une mutation. Cette étude montrait que les parents qui avaient bénéficié d'un conseil génétique

avaient significativement mieux compris les risques de transmission de la maladie par rapport à ceux qui n'avaient pas été à la consultation spécialisée de génétique.

Une étude récente menée par l'équipe du Massachusetts (116) montre que la consultation spécialisée de génétique est mieux comprise et suivie lorsqu'une première information génétique a été donnée par le pédiatre au décours immédiat de la réalisation du test de la sueur. Cela peut s'expliquer par le fait que les parents, revenant plus tard à la consultation de génétique, sont plus disponibles pour entendre les informations concernant les résultats de biologie moléculaire, ainsi que les différentes possibilités de conception futures, car ils ont eu le temps de laisser passer les angoisses du test de la sueur.

Ainsi, il paraît évident que le conseil génétique est important pour l'éducation des familles, à condition qu'il soit réalisé dans de bonnes conditions et que le médecin s'assure de la bonne compréhension du statut de chaque membre de la famille concernée au terme de l'entretien. Le conseil génétique paraît impératif pour le succès du dépistage néonatal de la mucoviscidose et des autres maladies héréditaires dépistées. Des efforts doivent être faits afin de fournir aux équipes médicales tous les moyens nécessaires à la bonne information des familles.

## ***I. Problème du consentement parental***

Récemment, l'équipe française de Lille (128) a évalué la proportion de parents ayant refusé de donner leur consentement pour le dépistage néonatal de la mucoviscidose avec l'utilisation de la BM, sur une période de 18 mois. Elle retrouve un taux de 0,8% au début de la mise en place du dépistage en France, puis une diminution à 0,2% après une année de dépistage, ceci montrant que les efforts fournis pour informer les parents et les professionnels de santé sur l'intérêt du dépistage de cette maladie entraînent une diminution significative du nombre de refus de consentement parental. Pour rappel, à Nancy, nous n'avons eu aucun refus de signature ; par contre, pour 2 enfants, les prélèvements sanguins à J3 (pour tous les dépistages) ont été refusés par les parents.

Par ailleurs, les résultats génétiques sont remis aux parents qui s'engagent à en informer leur enfant lorsqu'il sera majeur ; en effet, il est généralement supposé que les enfants porteurs sains seront informés de leur statut lorsqu'ils auront atteint l'âge de procréer. La meilleure méthode pour cela serait probablement de revoir l'enfant et sa famille lorsqu'il sera en âge de comprendre. Cependant, nous ne

savons pas quels retentissements psychologiques aura cette information sur le développement psychosocial de l'enfant et sur la qualité des relations parents-enfant.

## ***J. L'avenir du dépistage...***

Actuellement, un sujet de réflexion actuelle au niveau de l'AFDPHE est : « faut-il maintenir le dépistage dans ses modalités actuelles? » avec en particulier la discussion d'un autre marqueur biochimique couplé à la TIR et qui remplacerait la BM.

Si le test de la sueur reste toujours le test diagnostique de référence, il est parfois mis en défaut avec l'analyse plus précise du gène CFTR.

La DDP pourrait se révéler un bon complément mais l'interprétation de cette technique n'est pas toujours aisée et sa réalisation très difficile chez le nourrisson. En attendant d'avoir des réponses plus précises sur l'intérêt de repérer dès la naissance les formes frontières, un dépistage néonatal de la mucoviscidose sans utiliser la BM aurait sans doute son utilité ; une étude en cours utilisant un deuxième marqueur biologique, la Protéine Associée aux Pancréatites (PAP), couplé à la TIR, est l'objet d'une discussion ; en effet, utiliser un 2<sup>ème</sup> marqueur biochimique qui éviterait le recours à la biologie moléculaire est un objectif intéressant, car outre que la biologie moléculaire est une méthodologie lourde et très onéreuse, elle présente le problème de l'hétérozygotie et du rendu de ce résultat aux parents.

Les études effectuées sur la PAP, montrent qu'il est possible d'envisager une autre stratégie de dépistage de la mucoviscidose que celle utilisée actuellement (129).

La PAP, découverte en 1992 à Marseille (130), est un marqueur de la souffrance pancréatique : elle est absente du pancréas normal et fortement exprimée en cas d'agression du pancréas (pancréatite, sepsis...). Sa signification physiologique est différente de celle de la TIR. Son taux est élevé chez tous les patients atteints de mucoviscidose et d'autant plus que les sujets sont plus jeunes.

Dans une première étude, la PAP a été dosée chez 200 000 nouveau-nés (131). Les résultats ont montré que tous les enfants atteints de mucoviscidose avaient une PAP élevée, mais des nouveau-nés non atteints avaient également une

PAP élevée : la sensibilité était de 100% (n'étaient considérées que les formes de mucoviscidose avec atteinte pancréatique) mais la spécificité n'était que de 99,24%. Mais tous les nouveau-nés atteints de mucoviscidose étaient à la fois positifs pour les deux marqueurs (TIR et PAP).

Une seconde étude, portant sur 47 000 nouveau-nés (132), a consisté à utiliser la PAP comme premier marqueur, puis, si elle était positive, à réaliser une TIR puis un test de la sueur. Elle a permis d'identifier 5 cas de mucoviscidose.

Une troisième étude (133) a porté sur un échantillon de 200 000 nouveau-nés recrutés dans 5 centres où les cas de mucoviscidose étaient identifiés par le dépistage actuel (TIR/recherche de mutations) ; chez tous les nouveau-nés, le dosage de la PAP a été associé à celui de la TIR. Les résultats ont montré que tous les enfants ayant une mucoviscidose ont à la fois une PAP et une TIR élevées alors que les enfants n'ayant pas la maladie pouvaient avoir une augmentation isolée de la TIR ou de la PAP mais pas les deux en même temps. Ainsi, il a été proposé, au décours de cette étude, une stratégie (voir annexe n°13 : Organigramme de dépistage par TIR et PAP) qui pourrait détecter les nouveau-nés devant bénéficier d'un test de la sueur, de telle façon que les formes frontières de mucoviscidose ne soient pas révélées. L'analyse des résultats a permis de proposer comme « seuil » de convocation au CRCM pour un test de la sueur les nouveau-nés qui ont la fois une PAP  $\geq 1,8$  ng/mL et une TIR  $\geq 50$   $\mu$ g/L ou une PAP  $\geq 1$  ng/mL et TIR  $\geq 100$   $\mu$ g/L ; les formes frontières ayant majoritairement des taux de TIR et de PAP plus bas. Dans ces conditions, cette stratégie aurait une sensibilité de 100% pour le diagnostic exclusif des formes classiques de mucoviscidose ; par contre, si le but du dépistage était de dépister également les formes frontières, la sensibilité de cette stratégie ne serait plus que de 94%. Le taux de faux positif serait de 0,25%. Dans cette même étude, si seule la PAP est utilisée (seuil à 1,8 ng/mL), sans contrôle de la TIR, 0,24% de la population est amenée à effectuer un test de la sueur, en revanche, si ce contrôle est réalisé, le taux passe à 0,16%. Sur le plan du coût, la stratégie TIR/PAP revient au tiers du prix de la stratégie actuelle (0,7 € d'économie pour chaque nouveau-né dépisté). Les dosages de la TIR et de la PAP pourraient être effectués simultanément sur un même éluat et sur une même machine par méthode immunofluorométrique, avec un calcul automatique des seuils mais ceci nécessiterait d'abandonner la technique du dosage radio-immunologique de la TIR actuellement utilisée dans de nombreux laboratoires.

En conclusion, les résultats satisfaisants obtenus avec l'association TIR-PAP permettent d'envisager une stratégie alternative au dépistage actuel, évitant de recourir à la biologie moléculaire, technique qui gardera tout son intérêt pour caractériser les patients sur le plan génotypique quand les résultats du test de la sueur sont difficiles à interpréter. Cette stratégie a par ailleurs plusieurs avantages : elle permet d'utiliser un seuil de TIR relativement bas (50 µg/L), la technique est réalisable dans les mêmes laboratoires que ceux des autres dépistages néonataux, elle est plus simple que la biologie moléculaire et son coût est réduit.

Une expérimentation à grande échelle de l'organigramme « TIR+PAP » sera vraisemblablement lancée prochainement par l'AFDPHE afin de s'assurer que la stratégie alternative est au moins aussi performante.

# V. CONCLUSION

Le dépistage néonatal de la mucoviscidose est un sujet très actuel et délicat comme nous avons pu le constater.

En région Lorraine, depuis son introduction en juin 2002, nous avons diagnostiqué 31 enfants atteints dont 4 formes frontières, ce qui porte la fréquence de la maladie dans notre région, à 1/2604.

Notre population est homogène et nos résultats sont assez bien corrélés aux résultats nationaux publiés en 2005, avec cependant une fréquence de la maladie plus élevée que la fréquence nationale (1/4591).

En conclusion, nous pouvons redire que les points positifs du dépistage sont :

- ✓ De permettre des diagnostics plus précoces, en particulier en France, avec une meilleure prise en charge permettant d'obtenir des bénéfices nutritionnels, aussi probablement respiratoires, ainsi qu'une amélioration de la durée de vie à la condition d'avoir un suivi strict des malades dans les CRCM.
- ✓ D'informer plus précocement les familles par rapport à une nouvelle grossesse éventuelle.
- ✓ D'améliorer la qualité de vie des malades.

Les points négatifs de ce dépistage restent cependant importants à prendre en compte :

- ✓ Les problèmes liés aux défauts de sensibilité, et surtout de spécificité avec la révélation des formes sans atteinte pancréatique.
- ✓ La révélation des formes frontières ou « CFTR-pathies », déjà connues avant la mise en place du dépistage mais qui ont une fréquence plus élevée qu'attendue nous amenant à nous demander s'il faut encore garder la mutation R117H dans le Kit 30.
- ✓ Les problèmes posés par les faux-positifs, responsables d'une inquiétude parentale et révélant les hétérozygotes sains.

Nous avons vu que retenir le diagnostic de mucoviscidose chez un certain nombre d'enfants présentant une forme frontière est discutable en théorie mais qu'il est difficile actuellement de prédire leur évolution clinique et de proposer un conseil génétique satisfaisant à la famille. Dans ces situations d'hétérozygotie composite, avec la présence de mutations modérées, le test de la sueur peut être difficile à interpréter. Pour ces enfants, il conviendra de rester très prudent car on ne connaît pas leur avenir exact et il sera essentiel de garder la confiance parentale afin que l'enfant soit vu rapidement dès que des signes évocateurs apparaissent et, si les tests de la sueur deviennent franchement positifs, de leur proposer une prise en charge thérapeutique plus classique.

Le dépistage permet certainement une amélioration du devenir des patients mais il faut garder à l'esprit qu'il existera toujours une discussion entre ce qui revient à l'introduction du dépistage et ce qui est dû aux nouveaux traitements et leur meilleure application (par exemple du fait de la mise en place des CRCM). En effet, nous ne pouvons pas attribuer au dépistage seul l'amélioration nutritionnelle et respiratoire car les traitements ont évolué et il est difficile de savoir quelle est la part de l'un ou de l'autre dans l'amélioration clinique des patients à long terme.

Il serait intéressant de développer dans notre région, une étude au long cours afin d'évaluer l'évolution de l'état nutritionnel des malades dépistés, la fonction respiratoire, les colonisations bactériennes, la prise en charge globale...

Enfin, l'avenir du dépistage est actuellement incertain en raison de toutes ces difficultés...un dépistage basé uniquement sur des dosages biologiques, comme l'association de la TIR et de la PAP, serait une alternative au dépistage actuel sans qu'il soit nécessaire de recourir à la biologie moléculaire pour tout nouveau-né suspect.





## VI. BIBLIOGRAPHIE

1. Collins FS, Riordan JR, Tsui LC. The cystic fibrosis gene : isolation and significance. *Hosp Pract*. 1990;25:47-57.
2. Crossley JR, Elliott RB, Smith PA. Dried blood spot screening for cystic fibrosis in the newborn. *Lancet*. 1979; 3: 472-4.
3. Narzi L, Lucarelli M, Ielli A, Grandoni F, Lo Cicero S, Ferraro A, Matarazzo P, Delaroche I, et al. Comparison of two different protocols of neonatal screening for cystic fibrosis. *Clin Genet* 2002;62:245-9.
4. Grosskopf C, Farriaux JP, Vidailhet M, Briard ML, Navarro J, Turck D, Travert G, Belot V, Bloch J, Roussel P. Programme de dépistage néonatal de la mucoviscidose: gestion et organisation. *Arch Pediatr* 2003;10:364s-369s.
5. Farriaux JP, Vidailhet M, Briard ML, Belot V, Dhondt JL. Neonatal screening for cystic fibrosis : France rises to the challenge. *J Inherit Metab Dis*. 2003;26:729-44.
6. White R, Woodward S, Leppert M, O'Connell P, Hoff M, Herbst J, Lalouel JM, Dean M, Vande Woude G. A closely linked genetic marker for cystic fibrosis. *Nature*. 1985;318:382-4.
7. Gasparini P, Arbustini E, Restagno G, Zelante L, Stanziale P, Gatta L, et al. Analysis of 31 CFTR mutations by polymerase chain reaction/oligonucleotide ligation assay in a pilot screening of 4,476 newborns for cystic fibrosis. *J Med Screen*. 1999;6:67-9.
8. Rowe SM, Miller S, Sorscher EJ. Mechanisms of disease cystic fibrosis. *N Engl J Med* 2005; 352:1992-2001.

9. Welsh M, Ramsey BW, Accurso, F, Cutting GR. Cystic Fibrosis. In *The Molecular and Metabolic Basis of Inherited Disease*. 2001; Ed A. B. CL Scriver, W.S. Sly and D. Valle, McGraw-Hill, New York; 2001. p 5121-88.
10. Zielenski J. Genotype and phenotype in cystic fibrosis. *Respiration* 2000;67:117-33.
11. Koch C, Cuppens H, Rainisio M, Madessani U, Harms H, Hodson M, et al. European Epidemiologic Registry of Cystic Fibrosis (ERCF) : Comparison of major disease manifestations between patients with different classes of mutations. *Pediatr Pulmonol* 2001 ;31:1-12.
12. Rowntree RK, Harris A. The Phenotypic Consequences of CFTR Mutations. *Annals of Human Genetics* 2003;67:471-85.
13. Mckone EF, Emerson SS, Edwards KL, Aitken ML. Effects of genotype on phenotype and mortality in cystic fibrosis: a retrospective cohort study. *Lancet* 2003;361:1671-6.
14. Mekus F, Ballmann M, Bronsveld I, Bijman J, Veeze H, Tummler B. Categories of  $\Delta F508$  homozygous cystic fibrosis twin and sibling pairs with distinct phenotypic characteristics. *Twin Res* 2000;3:277-93.
15. Slieker MG, Sanders EAM, Rijkers GT, Ruven HJT, Van der ENT CK. Disease modifying genes in cystic fibrosis. *Journal of Cystic Fibrosis*. 2005;4:7-13.
16. Drumm ML, Koustan MW, Schluchler MD, Handler A, Pace R, Zon F, Zariwala M, Fargu D, Xu A, Dunn JM, Darrah RJ, Dorfman R, Sandford AJ, Corey M, Zielenski J, Durie P, Goddard K, Yankaskas JR, Wright FA, Knowles MR, Gene Modifier Study Group. Genetic modifiers of lung disease in cystic fibrosis. *N Engl J Med* 2005;353:1443-53.
17. Haston CK, Hudson TJ. Finding genetic modifiers of cystic fibrosis. *N Engl J Med* 2005;353:1509-11.

18. Rossi G, Rossi V. Genetic modifiers in cystic fibrosis. *N Engl J Med* 2006;354:88-90.
19. Rosenstein BJ, Cutting GR. The diagnosis of cystic fibrosis : a consensus statement. *J Pediatr* 1998; 132: 589-95.
20. Corey M, McLaughlin FJ, Williams M, Levison H. A comparison of survival, growth, and pulmonary function in patients with cystic fibrosis in Boston and Toronto. *J Clin Epidemiol.* 1988 ;41:583-91.
21. Pencharz PB, Durie PR. Pathogenesis of malnutrition in cystic fibrosis, and its treatment. *Clin Nutr* 2000;19:387-394.
22. Wilson JM, Jungner YG. Principles and practice of mass screening for disease. *Bol Oficina Sanit Panam.* 1968 ;65:281-393.
23. Farrell PM, Aronson RA, Hoffman G, Laessig RH. Newborn screening for cystic fibrosis in Wisconsin: first application of population-based molecular genetics testing. *Wis Med J.* 1994 ;93:415-21.
24. Balnaves ME, Bonacquisti L, Francis I, Glazner J, Forrest S. The impact of newborn screening on cystic fibrosis testing in Victoria, Australia. *J Med Genet.* 1995;32:537-42.
25. Massie RJ, Olsen M, Glazner J, Robertson CF, Francis I. Newborn screening for cystic fibrosis in Victoria: 10 years experience (1989-1998). *Med J Aust.* 2000;172:584-7.
26. Rapport sur la situation de la mucoviscidose en France en 2002-2003. Observatoire National de la Mucoviscidose.
27. Décret 2000-570, 23 juin 2000, J.O.R.F., lois et décrets, 27 juin 2000, 9652.
28. Guillot M, Travert G, Roussey M, Figarella C, Vidailhet M. Dépistage néonatal systématique. *Arch Pédiatr* 2001 :8 suppl 5 :833-7.

29. Farrell PM, Shen G, Splaingard M, Colby CE, Laxova A, Kosorok MR, Rock MJ, Mischler EH. Acquisition of *Pseudomonas aeruginosa* in children with cystic fibrosis. *Pediatrics* 1997;100:E2.
30. Wald NJ, Morris JK, Neonatal screening for cystic fibrosis, no evidence yet of any benefit. *Brit Med J* 1998;316:404-405.
31. Brouard J, Laurans M, Arion A, Kauffmann D, Sevin I, Laroche D, Travert G, Duhamel JF. Dépistage néonatal de la mucoviscidose: pour quels bénéfices ? *Arch Pediatr*. 2005; 12:643-5.
32. Wilcken B, Chalmers G. Reduces morbidity in patients with cystic fibrosis detected by neonatal screening. *Lancet*. 1985;2: 8468.
33. Wilcken B. Newborn screening for cystic fibrosis: its evolution and a review of the current situation. *Screening*. 1993; 2: 43-62.
34. Chatfield S, Owen G, Ryley HC, Williams J, Alfaham M, Goodchild MC, Weller P. Neonatal screening for cystic fibrosis in Wales and the West Midlands: clinical assessment after five years of screening. *Arch Dis Child*. 1991;66:29-33.
35. Abman SH, Ogle JW, Harbeck RJ, Butler-Simon N, Hammond KB, Accurso FJ. Early bacteriologic, immunologic and clinical course of young infants with cystic fibrosis identified by neonatal screening. *J Pediatr*. 1991; 119: 211-217.
36. Wilcken B. Neonatal screening for cystic fibrosis: it is time. *Pediatric Pulmonol*. 1998;26:219-21.
37. Dodge JA. Neonatal Screening for cystic fibrosis. Cystic fibrosis should added to diseases sought in all newborn babies. *Brit Med J*. 1998;317:411.
38. Merelle ME, Nagelkerke AF, Lees CM, Dezateux C. Newborn screening for cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2001;(3)CD001402.

39. Grosse SD, Boyle CA, Cordero JF. Newborn screening for cystic fibrosis: recommendations from the centers for disease control and prevention. *Am Fam physician*. 2005; 71:1482-7.
40. Grosse SD, Boyle CA, Botkin JR, Comeau AM, Kharrazi M, Rosenfeld M, CDC. Newborn screening for cystic fibrosis: evaluation of benefits and risks and recommendations for states newborn screening programs. *MMWR Recomm Rep*. 2004; 53:1-36.
41. Dankert-Roelse JE, Meerman GJ, Martijn A, Kate LP, Knol K. Survival and clinical outcome in patients with cystic fibrosis, with or without neonatal screening. *J Pediatr*. 1989;114:362-7.
42. Dankert-Roelse MD. Screening for cystic fibrosis-Time to change our position? *N Engl J Med*. 1997;14:997-9.
43. Wilcken B, Travert G. Neonatal screening for cystic fibrosis: present and future. *Acta Paediatr Suppl*. 1999;88:33-5.
44. Konstan MW, Butler SM, Wohl MEB, Stoddard M, Matouse R, Wagener JS, et al. Growth and nutritional indexes in early life predict pulmonary function in cystic fibrosis. *J Pediatr* 2003;142:624-30.
45. Zemel BS, Jawad AF, FitzSimmons S, Stallings VA. Longitudinal relationship among growth, nutritional status, and pulmonary function in children with cystic fibrosis: analysis of the Cystic Foundation National CF Patients Registry. *J Pediatr* 2000;137:374-80.
46. Campbell PW, White TB. Newborn screening for cystic fibrosis: an opportunity to improve care and outcomes. *J Pediatr* 2005;147:S2-S5.
47. Sims EJ, McCormick J, Mehta G, Mehta A. Neonatal screening for cystic fibrosis is beneficial even in the context of modern treatment. *J Pediatr* 2005;147:S42-S46.

48. Farrell PM, Kosorok MR, Laxova A, Guanghong S, Koscik RE, et al. Nutritional benefits of neonatal screening for cystic fibrosis. *N Engl J Med* 1997; 337:963-9.
49. Farrell PM, Kosorok MR, Rock MJ, Laxova A, Zeng L, Lai HC, et al. Early diagnosis of cystic fibrosis through neonatal screening prevents severe malnutrition and improves long-term growth. *Pediatrics* 2001;107:1-13.
50. Koscik RL, Lai HJ, Laxova A, Zaremba KM, Kosorok MR, Douglas JA, Rock MJ, Splaingard ML, Farrell PM. Preventing early, prolonged vitamin E deficiency: an opportunity for better cognitive outcomes via early diagnosis through neonatal screening. *J Pediatr* 2005;147:S51-6.
51. Zemel BS, Jawad A, Stallings VA. Longitudinal patterns of growth and pulmonary function in 6 to 8 year old children with cystic fibrosis from the cystic fibrosis foundation patient registry. *Pediatr Pulmonol Suppl* 1996; 13:102-3.
52. Farrell PM, Lai HJ, Li Z, Kosorok MR, Laxova A, Green CG, Collins J, Hoffman G, Laessig R, Rock MJ, Splaingard ML. Evidence on improved outcomes with early diagnosis of cystic fibrosis through neonatal screening: enough is enough! *J Pediatr* 2005;147:S30-S36.
53. Waters DL, Wilcken B, Irwig L, Van Asperen P, Mellis C, Simpson JM, Brown J, Gaskin KJ. Clinical outcomes of newborn screening for cystic fibrosis. *Arch Dis Child Fetal Neonatal* 1999;80:1-7.
54. Emerson J, Rosenfeld M, Mc Namara S, Ramsey B, Gibson RL. *Pseudomonas aeruginosa* and other predictors of mortality and morbidity in young children with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 2002;34:91-100.
55. Brouard J, Lecoq I, Viel JF, Guillot M, Laurans , Laroche D, Travert G, Duhamel JF. Evaluation du diagnostic et du suivi de la cohorte normande d'enfants dépistés atteints de mucoviscidose. *Arch Pediatr*. 2001; 8 suppl 3: 603-9.

56. Siret D, Bretaudeau G, Branger B, Dabadie A, Dagorne M, David V, de Braekeleer M, Moisan-Petit V, Picherot G, Rault G, Storni V, Roussey M. Comparing the clinical evolution of cystic fibrosis screened neonatally to that of cystic fibrosis diagnosed from clinical symptoms: a 10-years retrospective study in a French region (Brittany). *Pediatr Pulmonol*. 2003; 35:342-9.
57. Mastella G, Zanolla L, Castellani C, Altieri S, Furnari M, Giglio L, et al. Neonatal screening for cystic fibrosis: long term clinical balance. *Pancreatol*. 2001;5:531-7.
58. Merelle ME, Schouten JP, Gerritsen J, Dankert-Roelse JE. Influence of neonatal screening and centralized treatment on long-term clinical outcome and survival of CF patients. *Eur Respir J*. 2001;18:306-15.
59. McKay KO, Waters DL, Gaskin KJ. The influence of newborn screening for cystic fibrosis on pulmonary outcomes in New South Wales. *J Pediatr* 2005;147:S47-S50.
60. Accurso FJ, Sontag MS, Wagener JS. Complications associated with symptomatic diagnosis in infants with cystic fibrosis. *J Pediatr* 2005;147:S37-41.
61. Farrell PM, Zhanhai L, Kosorok R, Laxova A, Green CG, Collins J, et al. Bronchopulmonary disease in children with cystic fibrosis after early or delayed diagnosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003; 168: 1100-8.
62. Wang S, Stacey S, FitzSimmons, O'Leary LA, Rock MJ, Gwinn ML. Early diagnosis of cystic fibrosis in the newborn period and risk of *Pseudomonas aeruginosa* acquisition in the first 10 years of life: a registry-based longitudinal study. *Pediatrics*. 2001;107:274-8.
63. Armstrong DS, Hook SM, Jansen KM, Nixon GM, Carzino R, Carlin JB, Robertson CF, Grimwood K. Lower airway inflammation in infants with cystic fibrosis detected by newborn screening. *Pediatr Pulmonol* 2005; 40: 500-10.
64. Cantin AM. Novel approaches to inflammation and infection in the cystic fibrosis lung. *Pediatr Pulmonol*. 2001;23:94-6.

65. Johnson C, Butler SM, Konstan MW, Wohl EB. Factors influencing outcome in cystic fibrosis: a center-based analysis. *Chest* 2003;123:20-7.
66. Doull IJ, Ryley HC, Weller P, Goodchild MC. Cystic fibrosis-related deaths in infancy and the effect of newborn screening. *Pediatr Pulmonol* 2001;31:363-6.
67. Dankert-Roelse JE, Merelle ME. Review of outcomes of neonatal screening for cystic fibrosis versus non-screening in Europe. *J Pediatr*. 2005;147:S15-20.
68. Lai HJ, Cheng Y, Cho H, Kosorok MR, Farrell PM. Association between initial disease presentation, lung disease outcomes, and survival in patients with cystic fibrosis. *Am J Epidemiol* 2004; 159; 537-46.
69. Lai HJ, Cheng Y, Farrell PM. The survival advantage of patients with cystic fibrosis diagnosed through neonatal screening: evidence from the United States cystic fibrosis foundation registry data. *J Pediatr* 2005;147:S57-S63.
70. Scotet V, de Braekeleer M, Roussey M, Rault G, Parent P, Dagonne M, Journel H et al. Neonatal screening for cystic fibrosis in Brittany, France: assessment of 10 years' experience and impact on prenatal diagnosis. *The Lancet*, 2000; 356:789-94.
71. Waters DL, Wilcken B, Irwig I, Van Asperen P, Mellis C, Simpson JM et al. Clinical outcomes of newborn screening for cystic fibrosis. *Arch Dis Child Fetal Neonatal*. 1990;80:F1-F7.
72. Wilcken B, Chalmers G. Reduced morbidity in patients with cystic fibrosis detected by neonatal screening. *Lancet*. 1985;2:1319-21.
73. Mehta G, Sims EJ, Culross F, McCormick JD, Mehta A. Potential benefits of the UK Cystic Fibrosis Database. *J R Soc Med* 2004; 97:60-71.
74. Wagener JS, Sontag MK, Sagel SD, Accurso FJ. Update on newborn screening for cystic fibrosis. *Curr Opin Pulm med*. 2004;10:500-4.

75. Sims EJ, McCormick J, Mehta G, Mehta A. Newborn screening for cystic fibrosis is associated with reduced treatment intensity. *J Pediatr* 2005;147:306-11.
76. Kharrazi M, Kharrazi LD. Delayed diagnosis of cystic fibrosis and the family perspective. *J Pediatr* 2005;147:S21-5.
77. Merelle ME, Huisman J, Alderden-van der Vecht A, Taat F, Bezemer D, Griffioen RW, et al. Early versus late diagnosis: psychological impact on parents of children with cystic fibrosis. *Pediatrics* 2003;111:346-50.
78. Green MR, Weaven LT, Heeley AF, Nicholson K, Kuzemko JA, Barton DE, et al. Cystic fibrosis identified by neonatal screening: incidence, genotype and early natural history. *Arch Dis Child*. 1993 Oct;69(4):464-7.
79. Rock MJ, Hoffman G, Laessig RH, Kopish GJ, Litsheim TJ, Farrell PM. Newborn screening for cystic fibrosis in Wisconsin: nine-year experience with routine trypsinogen/DNA testing. *J Pediatr* 2005; 147: S73-S77.
80. Comeau AM, Parad R, Gerstle R, O'Sullivan BP, Dorkin HL, Dovey M, Haver K, Martin T, Eaton RB. Challenges in implementing a successful newborn cystic fibrosis screening program. *J Pediatr* 2005;147:S89-S93.
81. Delaisi B, Grosskopf C, Reignault E, Goehrs JM, Navarro J. Registre international sur la mucoviscidose : comparaison des données françaises avec les données européennes pour 1995. *Arch Pédiatr* 1998;5:384-8.
82. Circulaire DHOS/O/DGS/SD5/2001 n°502 du 22 octobre 2001 relative à l'organisation des soins pour la prise en charge des patients atteints de mucoviscidose.
83. Bellon G. Centres de ressources et de compétence de la mucoviscidose et réseaux de soins: le rôle des différents acteurs. *Arch pediater* 2005; 12:654-7.

84. Ravilly S, Wolfrom MC, Lazarevitch A, Marot C, Lafond J. Centres de ressources et de compétence de la mucoviscidose et réseaux de soins: la contribution des familles et des associations. *Arch Pediatr*. 2005; 12: 658-60.
85. Loi 96-452, 28 mai 1996, J.O.R.F., lois et décrets, 29 mai 1996, à 7915.
86. 17. Décret 2000-570, 23 juin 2000, J.O.R.F., lois et décrets, 27 juin 2000, 9652.
87. Travers G, Duhamel JF. Dépistage néonatal systématique de la mucoviscidose par dosage de la trypsine immunoréactive. Evaluation de 80000 tests. *Arch Fr Pediatr*. 1983;40:29568.
88. Ogino S, Flodman P, Wilson RB, Gold B, Grody WW. Risk calculations for cystic fibrosis in neonatal screening by immunoreactive trypsinogen and CFTR mutation tests. *Genet Med*. 2005;7:460.
89. Hammond KB, Abman SH, Sokol RJ, Accurso FJ. Efficacy of statewide neonatal screening for cystic fibrosis by assay of trypsinogen concentrations. *N Engl J Med*. 1991;325:769-74.
90. Lecoq I, Brouard J, Laroche D, Ferec C, Travert G. Blood immunoreactive trypsinogen concentrations are genetically determined in healthy and cystic fibrosis newborns. *Acta Pediat* 1999;88: 338-341.
91. Kessler WR, Anderson DH. Heat prostration in fibrocystic disease of the pancreas and other conditions. *Pediatrics*. 1951; 8:648-656.
92. Darling RC, Di Sant'Agnese PA, Perera GA, Anderson DH. Electrolyte abnormalities of sweat in fibrocystic disease of pancreas. *Am J Med Sci*. 1953;225:67-70.
93. Di Sant'Agnese PA, Darling RC, Perera GA, Shea E. Abnormal electrolyte composition of sweat in cystic fibrosis of the pancreas : Clinical significance and relationship to the disease. *Pediatrics* 1953; 12:549-63.

94. Finch E. The sweat test in the diagnosis of fibrocystic disease of the pancreas. *J. Clin. Path.* 1957;10:270.
95. Lewis E, Gibson and Robert E, Cooke RE. A test for concentration of electrolytes in sweat in cystic fibrosis of the pancreas utilizing pilocarpine by iontophoresis. *Pediatrics* 1959;23:545-9.
96. Shwachman H, Mahmoudian A. Pilocarpine iontophoresis sweat testing results of seven years' experience. *Bibl Paediatr.* 1967;86:158-82.
97. Di Sant'Agnese PA, Davis PB. Research in cystic fibrosis. *N Engl J Med* 1976;295:481-5.
98. Farrell PM, Kosciak RE. Sweat chloride concentrations in infants homozygous or heterozygous for  $\Delta F508$  cystic fibrosis. *Pediatrics.* 1996;97:524-8.
99. Parad RB, Comeau AM, Henry L, Dorkin, Dovey M, Gerstle R, Martin T and O'Sullivan BP. Sweat testing infants detected by cystic fibrosis newborn screening. *J Pediatr* 2005;147:S69-S72.
100. Claustres M, Guittard C, Bozon D, Chevalier F, Verlingue C, Ferec C, et al. Spectrum of CFTR mutations in cystic fibrosis and in congenital absence of the vas deferens in France. *Hum Mutat.* 2000;16:143-56.
101. Lee DS, Rosenberg MA, Peterson A, Makhholm L, Hoffman G, Laesig RH, Farrell PM. Analysis of the cost of diagnosing cystic fibrosis with a newborn screening program. *J Pediatr* 2003;142:617-23.
102. <http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/>
103. Reboul MP, Laharie D, Amouretti M, Lacombe D, Iron A. Isolated idiopathic chronic pancreatitis associated with a compound heterozygosity for two mutations of the CFTR gene. *Gastroenterol Clin Biol* 2003;27:821-4.

104. Castellani C, Gomez Lira M, Frulloni L, Delmarco A, Marzari M, Bonizzato A, Cavallini G, Pignatti P, Mastella G. Analysis of the entire coding region of the cystic fibrosis transmembrane regulator gene in idiopathic pancreatitis. *Hum Mutat* 2001;18:166.
105. Girodon E, Sternberg D, Chazouilleres O, Cazeneuve C, Huot D, Calmus Y, Poupou R, Goossens M, Housset C. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene defects in patients with primary sclerosing cholangitis. *J Hepatol* 2002 ;37 :192-7.
106. Girodon E, Cazeneuve C, Lebargy F, Chinet T, Costes B, Ghanem N, Martin J, Lemay S, Scheid P, Housset B, Bignon J, Goossens M. CFTR gene mutations in adults with disseminated bronchiectasis. *Eur J Hum Genet* 1997;5:149-55.
107. Maire F, Bienvenu T, Ngukam A, Hammel P, Ruszniewski P, Levy P. Frequency of CFTR gene mutations in idiopathic pancreatitis. *Gastroenterol Clin Biol* 2003;27:398-402.
108. Derichs N, Schuster A, Grund I, Ernsting A, Stolpe C, Kortge-Jung S, Gallati S, Stuhmann M, Kozlowski P, Ballmann M. Homozygosity for L997F in a child with normal clinical and chloride secretory phenotype provides evidence that this cystic fibrosis transmembrane conductance regulator mutation does not cause cystic fibrosis. *Clin Genet* 2005;67:529-31.
109. Dreyfus DH, Bethel R, Gelfand EW. Cystic fibrosis 3849+10kbC>T mutation associated with severe pulmonary disease and male fertility. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;153:858-60.
110. Festini F, Taccetti G, Repetto T, Reali MF, Campana S, Mergni G, Marianelli L, de Martino M. Gestational and neonatal characteristics of children with cystic fibrosis: a cohort study. *J Pediatr* 2005;147:316-20.
111. Code de la Santé Publique Art.R1131-5 (extraits)

112. Tlucezk A, Mischler EH, Bowers B et al. Psychological impact of false-positive results when screening for cystic fibrosis. *Pediatric Pulmonology*. 1991, suppl 7: 29-37.
113. Wilfond BS, Parad RB, Fost N. Balancing benefits and risks for cystic fibrosis newborn screening: implications for policy decisions. *J Pediatr* 2005;147:S109-S113.
114. Rock MJ, Mischler EH, Farrell PM, Bruns WT, Hassemer DJ, Laessig RH. Immunoreactive trypsinogen screening for cystic fibrosis : characterization of infants with a false-positive screening test. *Pediatr Pulmonol* 1989;6:42-48.
115. Kuzembo JA. Screening, early neonatal and prenatal diagnosis. *J R Soc Med*. 1986;79:2-5.
116. Comeau AM, Parad R, Gerstle R, O'Sullivan BP, Dorkin HL, Dovey M, Haver K, Martin T, Eaton RB. Communications systems and their models: Massachusetts parent compliance with recommended specialty care after positive cystic fibrosis newborn screening result. *J Pediatr* 2005;147:S98-S100.
117. Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry ; 2002 Annual Report to the Center Directors. 2003. Bethesda, Md: Cystic Fibrosis Foundation; 2002.
118. Massie RJ, Wilcken B, Van Asperen P, Dorney S, Gruca M, Wiley V, et al. Pancreatic function and extended mutation analysis in  $\Delta F508$  heterozygous infants with an elevated immunoreactive trypsinogen but normal sweat electrolyte levels. *J Pediatr* 2000 ;137 :214-20.
119. Parad RB, Comeau AM. Diagnostic dilemmas resulting from the immunoreactive trypsinogen/DNA cystic fibrosis newborn screening algorithm. *J Pediatr* 2005;147:S78-82.
120. Boyne J, Evans S, Pollitt R, Taylor C, Dalton A. Many  $\Delta F508$  heterozygote neonates with transient hypertrypsinemia have a second, mild CFTR mutation. *J Med Genet*. 2000;37:543-7.

121. Roussey M, Le Bihannic A, Audrezet MP, Blayau M, Dagorne M, Deneuille E, Férec C, Journal H, Moisan-Petit V, Rault G, Scotet V, Storni V, Vigneron P. Dépistage néonatal de la mucoviscidose: diagnostic et problèmes éthiques posés par le mutations légères. *Arch Pediatr*. 2005;12:650-3.
122. Kiewewetter S, Macek M, Davis CJ, Curristin SM, Chu CS, Graham C, Shrimpton AE, Cashman SM, Tsui LC, Mickle J. A mutation in CFTR produces different phenotypes depending on chromosomal background. *Nat Genet*. 1993 ;5:274-8.
123. Castellani C, Benetazzo MG, Bonizzato A, Pignatti PF, Mastella G. Cystic fibrosis mutations in heterozygous newborns with hypertrypsinemia and low sweat chloride. *Am J Hum Genet*. 1999;64:303-4.
124. Circulaire n°2002/269 du 18/04/2002.
125. Tluczek A, Mischler EH, Farrell PM, Fost N, Peterson NM, Carey P, Bruns WT, McCarthy C. Parents' knowledge of neonatal screening and response to false-positive cystic fibrosis testing. *J Dev Behav Pediatr*. 1992;13:181-6.
126. Mischler EH, Wilfond BS, Fost N, Laxona A, Reiser C, Sauer CM, Makhohn LM, Shen G, Feenan L, McCarthy C, Farrell PM. Cystic fibrosis newborn screening: impact on reproductive behavior and implications for genetic counseling. *Pediatrics*. 1998;102:44-52.
127. Ciske DJ, Haavisto A, Laxova A, Rock LZ, Farrell PM. Genetic counseling and neonatal screening for cystic fibrosis: an assessment of the communication process. *Pediatrics* 2001;107:699-705.
128. Dhondt JL. Implementation of informed consent for a cystic fibrosis newborn screening program in France: low refusal rates for optional testing. *J Pediatr* 2005;147:S106-8.

129. Iovanna JL, Férec C, Sarles J, Dagorn JC. La Protéine Associée au Pancréas (PAP) : une nouvelle candidate pour le dépistage néonatal de la mucoviscidose. CR Acad Sci III. 1994;317:561-4.

130. Keim V, Willemer S, Iovanna J, Adler G, Dagorn JC. Rat pancreatitis-associated protein is expressed in relation to the severity of experimental pancreatitis. Pancreas 1994;9:606-12.

131. Sarles J, Bathellemy S, Férec C, Iovanna J, Roussey M, Farriaux JP, Toutain A, Berthelot J, Maurin N, Codet JP, Berthézène P, Dagorn JC. Blood concentrations of pancreatitis associated protein in neonates: relevance to neonatal screening for cystic fibrosis. Arch Dis Child 1999;80:118-22.

132. Bathellemy S, Maurin N, Roussey M, Férec C, Murolo S, Berthézène P, et al. Evaluation de 47213 enfants ayant bénéficié du dépistage néonatal de la mucoviscidose, utilisant le dosage de la Protéine Associée au Pancréas et de la Trypsine Immunoréactive. Arch Pediatr 2001;8:275-81.

133. Sarles J, Berthézène P, Le Louarn C, Somma C, Perini JM, Catheline M, Mirallié S, Luzet K, Roussey M, Farriaux JP, Berthelot J, Dagorn JC. Combining immunoreactive trypsinogen and pancreatitis-associated protein assays, a method of newborn screening for cystic fibrosis that avoid DNA analysis. J Pediatr 2005;147:302-5.



# VII.ANNEXES



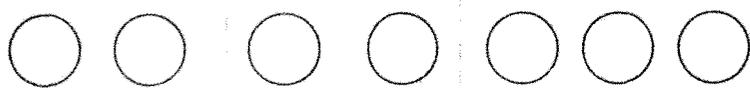
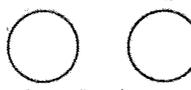
Annexe°1: Dépliant informatif donné aux parents



LES CINQ TROUBLES DÉPISTÉS  
DÉPISTAGE mode d'emploi



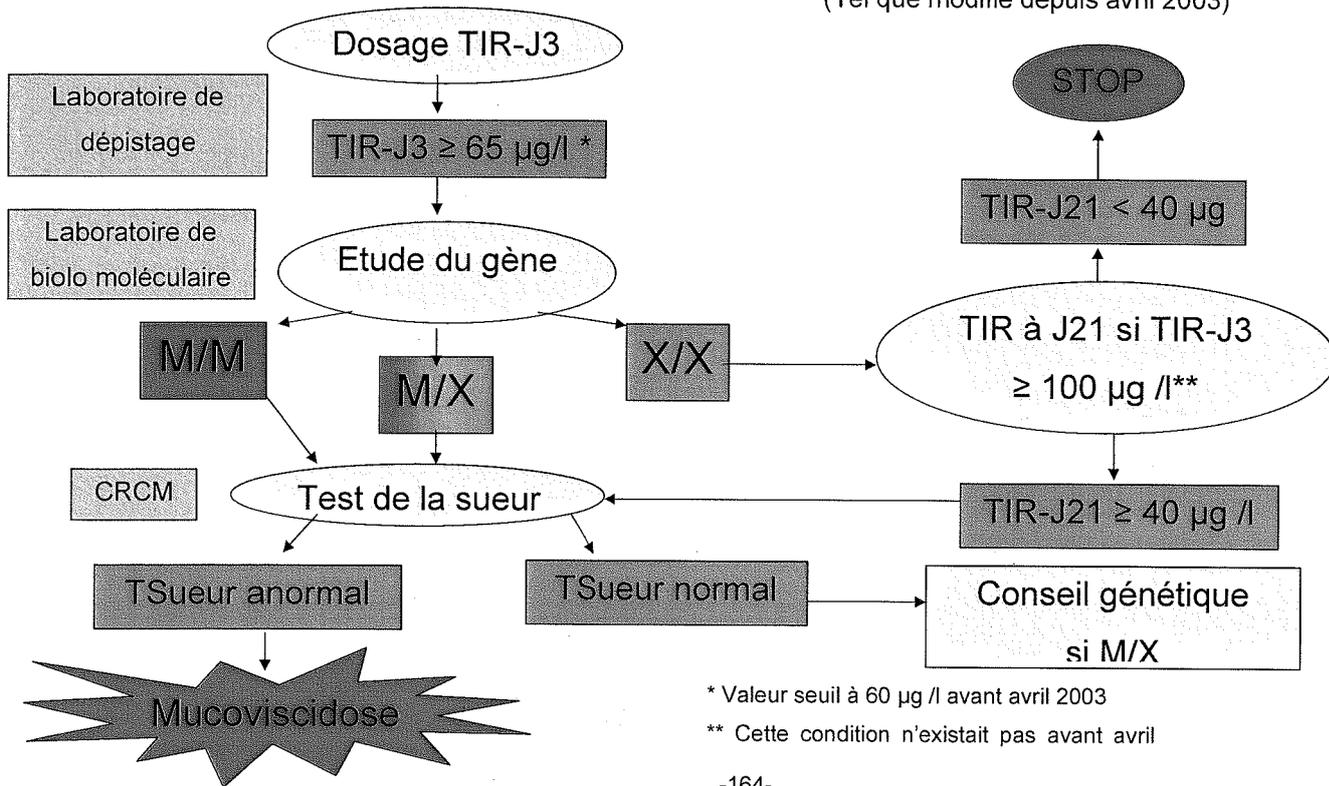
**Annexe n°2 : Carton de dépistage**

 <p align="center">Remplir les 7 cercles</p>							 <p align="center">A remplir uniquement si N-Né à risque de Drépano.</p>	
1		2		3		4		
NOM : .....				Né(e) le : .....		N-Né à risque de Drépanocytose : OUI <input type="checkbox"/>		
Prénom : .....				Prélevé(e) le : .....		NON <input type="checkbox"/>		
Sexe : M <input type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/>		Nom J.F. Mère : .....		Terme (SA) : .....		Poids (g) : .....		
				Transfusé ? Oui <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/>				
Lieu d'accouchement et Code : .....								
N° d'accouchement : .....								
Lieu (si différent) du prélèvement et Code : .....								
Adresse des parents : .....				Médecin à contacter si nécessaire : .....				
Tél : .....								
Ville : .....								
<p>S&amp;S 903®                  LOT # W-031    12/2005 <span style="float:right">L-6144903</span></p>								
<b>AUTORISATION</b>								
Après avoir été informés, nous soussignés (noms, prénoms)								
mère, père de l'enfant, ..... né(e) le .....								
autorisons <input type="checkbox"/>				n'autorisons pas <input type="checkbox"/>				
les médecins responsables du dépistage néonatal à réaliser, si besoin, un test génétique pour le								
dépistage de la mucoviscidose.								
Fait le .....						<p align="center" style="font-size: 24px; font-weight: bold;">N° 145596</p>		
Signatures: .....								

Annexe n°3 :

# ORGANIGRAMME DE DEPISTAGE DE LA MUCOVISCIDOSE

(Tel que modifié depuis avril 2003)



#### Annexe n°4 : MUTATIONS RECHERCHEES DANS LE KIT 20

EXON 3	E60X
EXON 4	R117H
INTRON 4	621+1G/T
EXON 7	R334W
	R347P
	1078 del T
EXON 9	A455E
EXON 10	<b>ΔF508</b>
	ΔI507
INTRON 10	1717-1G/A
EXON 11	G542X
	G551D
	R553X
EXON 13	2183 AA/G
EXON 19	R1162X
	3659 del C
INTRON 19	3849+10kb C/T
EXON 20	W1282X
	S1251N
EXON 21	N1303K

## Annexe n°5: MUTATIONS RECHERCHEES DANS LE KIT 30

EXON 3	E60X G85E 394 del TT
EXON 4	R117H Y122X
INTRON 4	621+1G/T
INTRON 5	711+1G/T
EXON 7	R334W R347P 1078 del T
EXON 9	A455E
EXON 10	<b>ΔF508</b> ΔI507
INTRON 10	1717-1G/A
EXON 11	G542X G551D R553X
INTRON 11	1811+1,6kb A/G
EXON 13	2183 AA/G
EXON 14a	W846X
EXON 14b	2789+5G/A
INTRON 16	3120+1 G/A
INTRON 17a	3272-26 A/G
EXON 17b	Y1092X
EXON 19	R1162X 3659 del C
INTRON 19	3849+10kb C/T
EXON 20	W1282X S1251N
EXON 21	N1303K

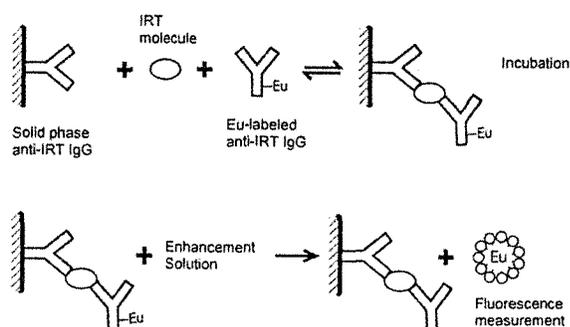
## Annexe n°6 : MESURE DE LA TIR (ou IRT) SELON LA METHODE Delfia®

### Principes du dosage :

La méthode Delfia IRT-Néonatale est un dosage immunofluorimétrique deux-sites fondé sur le principe du « sandwich » direct dans lequel deux anticorps monoclonaux (provenant de la souris) sont dirigés contre deux déterminants antigéniques distincts de la molécule de TIR. L'un des anticorps est fixé sur une phase solide, l'autre est marqué à l'Europium (Eu). La TIR des échantillons réagit simultanément avec les deux anticorps monoclonaux.

La fluorescence de chaque échantillon est proportionnelle à la concentration de trypsine immunoréactive dans l'échantillon.

### Schéma :



**Limite de détection :** 4 µg/l.

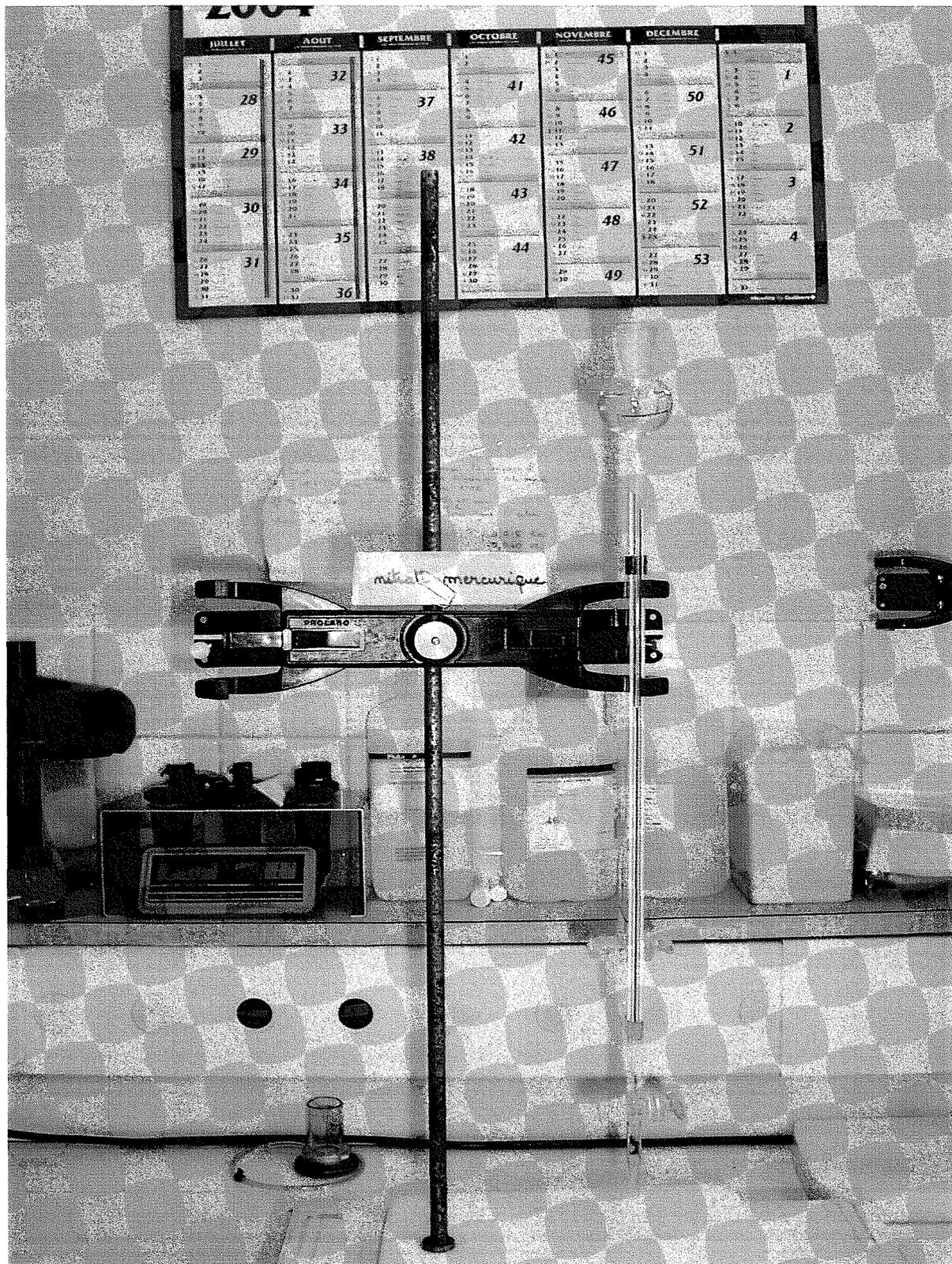
**Réactivité croisée :** la réactivité croisée de la trousse Delfia-IRT Néonatale avec d'autres protéines est présentée ci-après.

Molécule	addition	Equivalent IRT
α2-macroglobuline	5 mg/ml sang	< 4 ng/ml
α1-antitrypsine	2 mg/ml	< 4 ng/ml
Phospholipase PLA2	500 ng/ml	< 4 ng/ml
Chymotrypsine	800 ng/ml	< 4 ng/ml
IgG	15 mg/ml	< 4 ng/ml
Uropepsinogène	150 ng/ml	< 4 ng/ml

Annexe n°7 : test de la sueur : iontophorèse à la pilocarpine



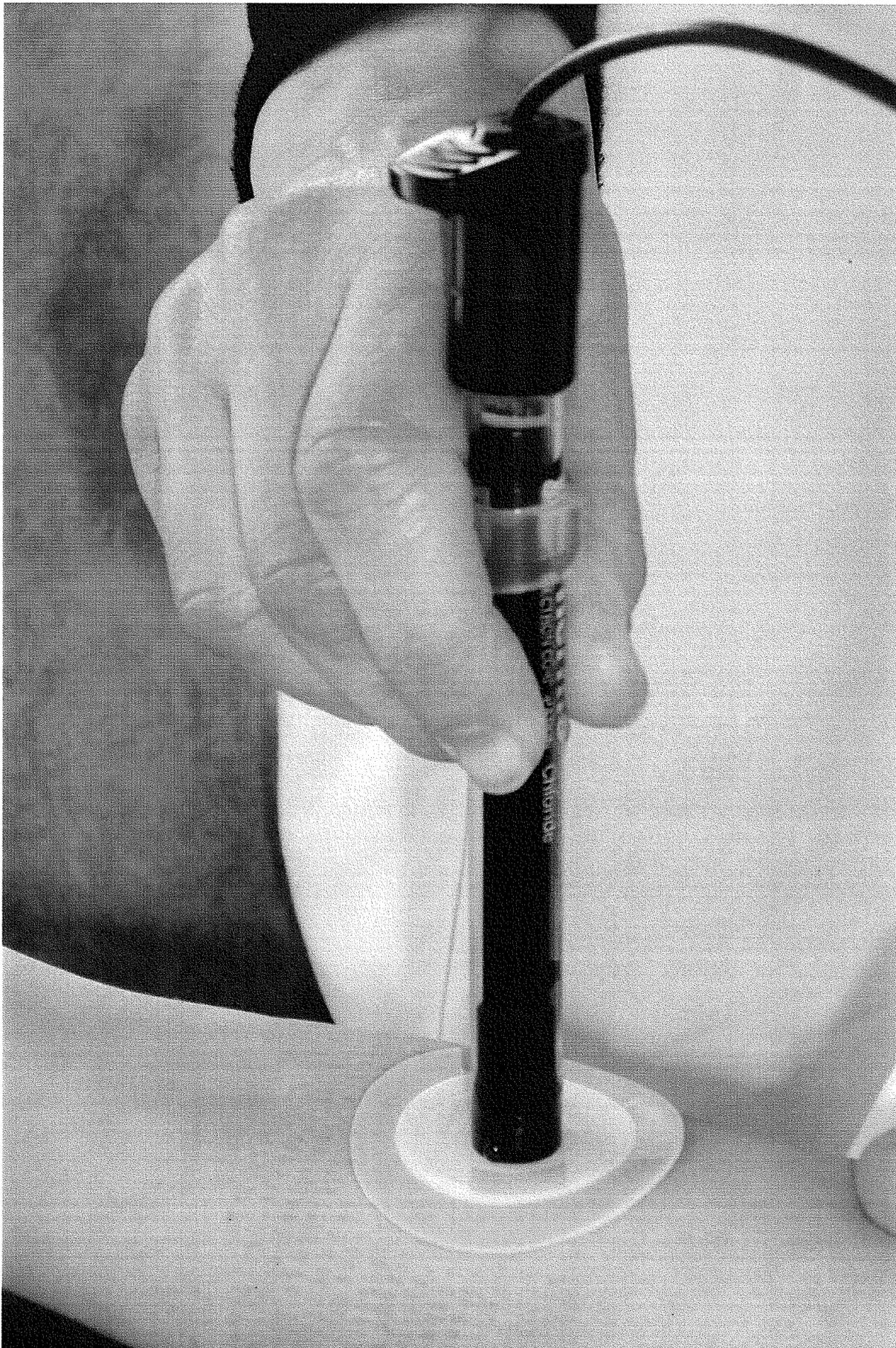
Annexe n°8: test de la sueur par titrimétrie : méthode de référence de Gibson et Cooke



**Annexe n°9 : test de la sueur par la technique semi-quantitative avec  
l'Exsudose™**

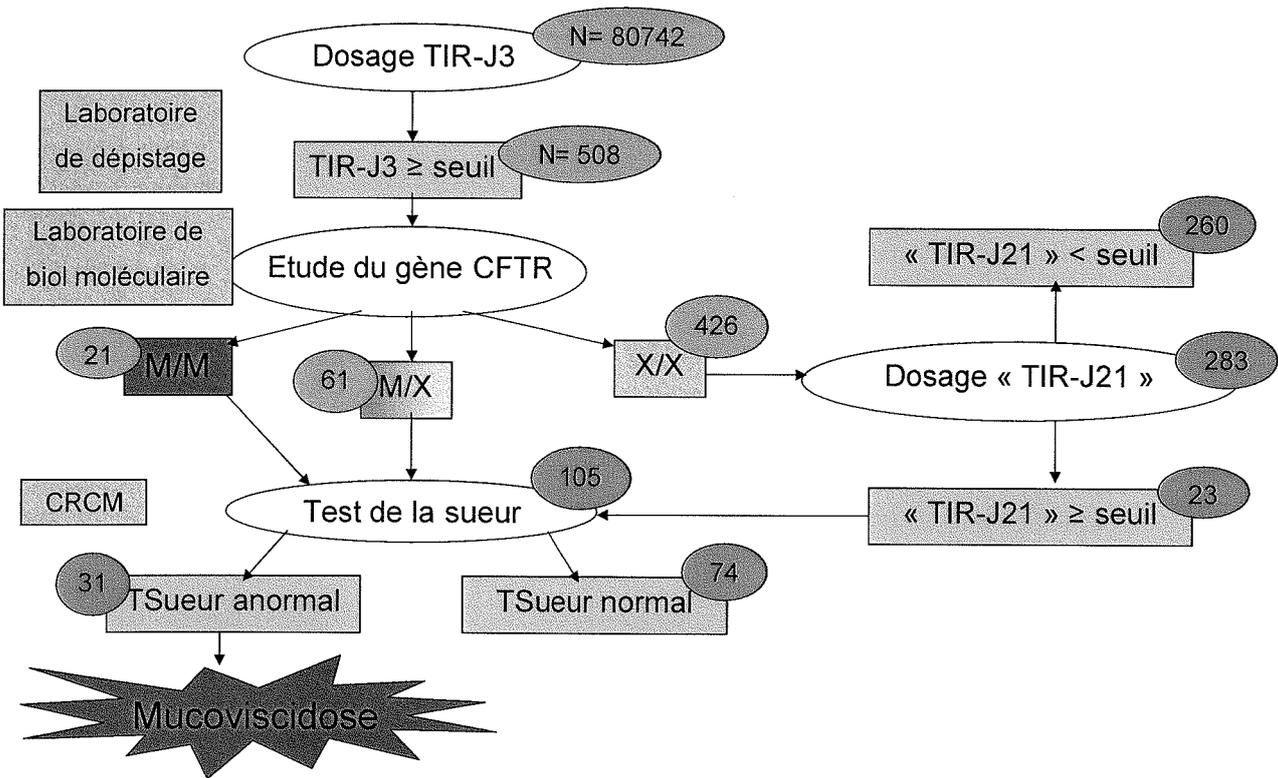


Annexe n°10 : test de la sueur par la technique semi-quantitative : mesure



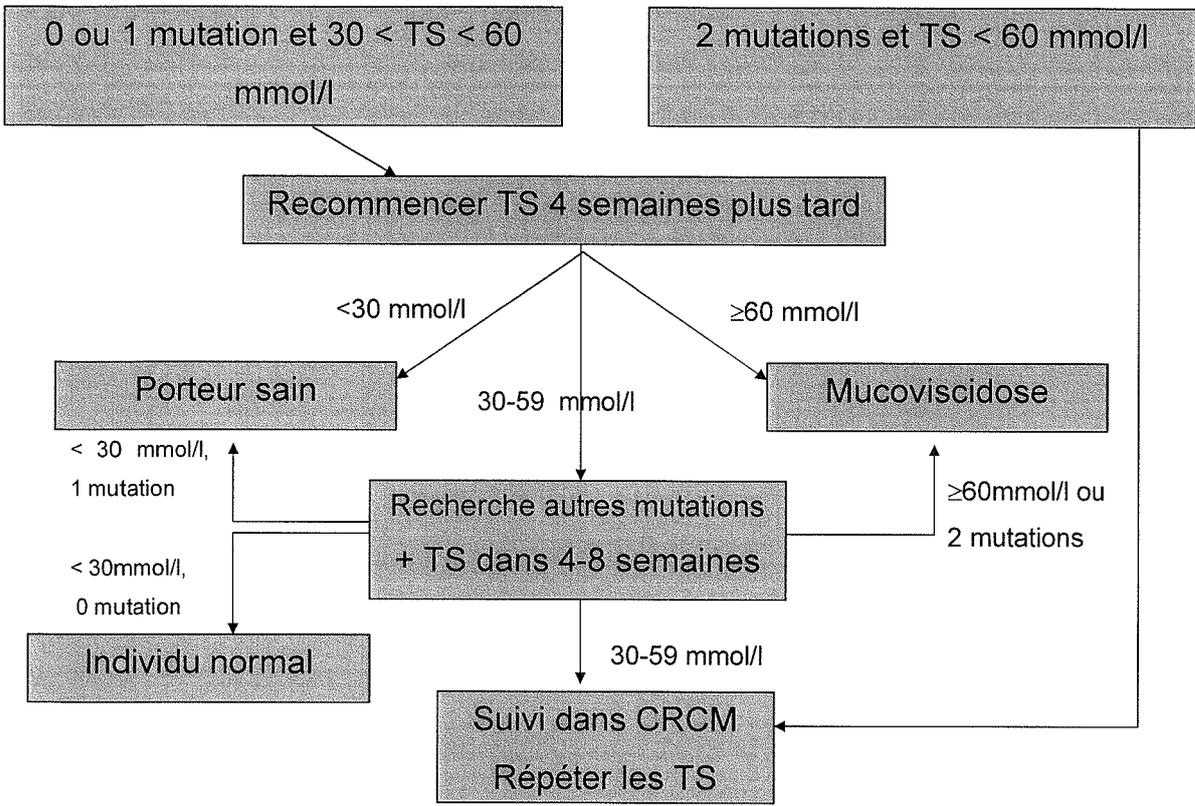
Annexe n°11 :

# RECAPITULATIF DU DEPISTAGE DE LA MUCOVISCIDOSE EN LORRAINE



# Test de la sueur et problèmes diagnostiques

Annexe n°12 :

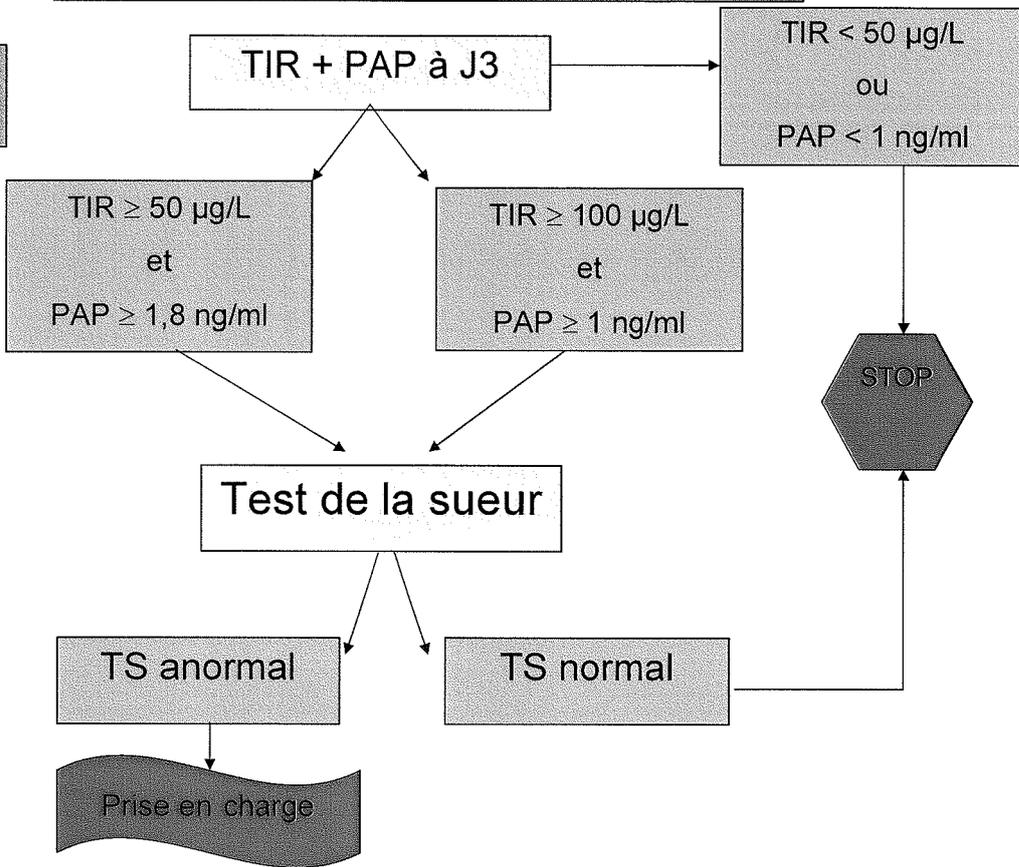


# Protocole de dépistage TIR + PAP

Annexe n°13 :

Laboratoire de dépistage

Centre de référence



VU

NANCY, le 3 mars 2006

Le Président de Thèse

**Professeur M. VIDAILHET**

NANCY, le 17 mars 2006

Le Doyen de la Faculté de Médecine

**Professeur P. NETTER**

AUTORISE À SOUTENIR ET À IMPRIMER LA THÈSE

NANCY, le 20 mars 2006

LE PRÉSIDENT DE L'UNIVERSITÉ DE NANCY 1

**Professeur J.P. FINANCE**

## RESUME

Le dépistage néonatal de la mucoviscidose est instauré en France depuis 2002, et en région Lorraine depuis le mois de juin de cette même année. Il a été prouvé qu'un suivi régulier et rigoureux des malades conditionnait les bons résultats du dépistage, raison pour laquelle ont été créés les CRCM (Centre de Ressources et de Compétence pour la Mucoviscidose).

A Nancy, nous avons étudié rétrospectivement la population testée selon l'organigramme proposé par l'AFDPHE ; les résultats obtenus 3 ans et demi après la mise en place du dépistage sont concordants avec les résultats nationaux. Parmi les 80742 nouveau-nés testés, 508 avaient une TIR supérieure au seuil fixé et ont nécessité une étude génétique ; parmi ces enfants dits « suspects », 83 ont eu une ou deux mutation(s) retrouvée(s) ; le dépistage a permis de dépister 27 enfants atteints de mucoviscidose (fréquence de 1/2990), 4 formes frontières de la maladie, et 52 enfants hétérozygotes. Cette étude nous permet également d'étudier les différentes mutations du gène CFTR présentes dans la population Lorraine.

Cependant, ce dépistage n'est pas simple, car nous sommes confrontés à 2 types de problèmes : les faux positifs, avec les répercussions psychologiques que cela provoque et les formes frontières, qui posent des problèmes diagnostiques et nous amènent à nous poser la question : qu'est-ce que la mucoviscidose ?

**Assessment of neonatal screening for cystic fibrosis 3 and an half years after its initial setting up in the Lorraine region.**

**Thèse de médecine Spécialisée. Année 2006**



**Mots clés :** dépistage néonatal, mucoviscidose, hétérozygotes, mutations, formes frontières.

**Faculté de Médecine de Nancy**

9 Avenue de la Forêt de Haye

54500 VANDOEUVRE LES NANCY Cedex