

**THESE**  
**pour le**  
**DIPLÔME D'ETAT**  
**DE DOCTEUR EN PHARMACIE**  
**par**  
**Maud MAQUIGNEAU**

**Présentée et soutenue publiquement le : 14 Mai 2003**



**Président :** *Madame A. ALLIOT, Maître de conférence de parasitologie*

**Membres du jury :** Madame N. GRIMAUD, Maître de conférence de pharmacologie  
Madame MF. DUBIN, Pharmacien biologiste, ANDEMEGEN

Je remercie, Madame ALLIOT,

qui me fait l'honneur de présider cette thèse.

Je remercie, Madame GRIMAUD,

pour avoir accepté de m'épauler dans ce travail,  
pour sa grande disponibilité et ses précieux conseils,

Je remercie, Madame DUBIN,

pour m'avoir permis de réaliser ce travail,  
pour son aide et ses compétences,  
Merci pour votre disponibilité.

Je remercie, Bernadette, Jacqueline, Véronique, Nathalie et Sandrine,

secrétaire et techniciennes au laboratoire de l'ANDEMEGEN,  
pour leurs explications et surtout pour leur accueil chaleureux.

A ma famille, tout particulièrement à mes parents,

pour leur soutien durant toutes ces années d'études,  
leurs encouragements,  
et les grands moments de bonheur passés et à venir,  
Merci.

A Antoine,

pour son aide spontanée.

A Fabien,

pour son aide à la réalisation de ce travail,  
pour son soutien de tous les instants,  
Merci pour tout.

---

# SOMMAIRE

---

|                                                                 |    |
|-----------------------------------------------------------------|----|
| <b><i>LISTE DES ABREVIATIONS</i></b> .....                      | 6  |
| <b><i>INTRODUCTION</i></b> .....                                | 8  |
| <b><i>PARTIE 1 : Généralités sur la mucoviscidose</i></b> ..... | 9  |
| <b>I- Epidémiologie</b> .....                                   | 10 |
| <b>II- La génétique</b> .....                                   | 11 |
| 1- Le gène                                                      | 11 |
| 2- La protéine CFTR                                             | 11 |
| 3- Génétique de la mucoviscidose                                | 14 |
| <b>III- Physiopathologie de la mucoviscidose</b> .....          | 17 |
| 1- L'atteinte pulmonaire                                        | 17 |
| 2- L'atteinte digestive                                         | 26 |
| 3- Les difficultés nutritionnelles                              | 28 |
| <b>IV- Prise en charge</b> .....                                | 31 |
| 1- Prise en charge de l'atteinte respiratoire                   | 31 |
| 2- Prise en charge des manifestations gastro-intestinales       | 41 |
| 3- Prise en charge hépatique                                    | 42 |
| 4- Prise en charge nutritionnelle                               | 42 |

***PARTIE 2 : Le dépistage néonatal systématique de la mucoviscidose ; mise en place en Loire-Atlantique et Vendée.....45***

**I- Critères de choix d'un dépistage néonatal systématique. Application à la mucoviscidose.....46**

- 1- Indications pour un dépistage de masse 46
- 2- Les critères de choix d'un dépistage systématique néonatal 47

**II- Mise en place du dépistage néonatal de la mucoviscidose.....53**

- 1- Vers un dépistage systématique de la mucoviscidose 53
- 2- L'ANDEMEGEN 56
- 3- Le dépistage systématique néonatal de la mucoviscidose 59

**III- Réalisation pratique du dépistage de la mucoviscidose en Loire-Atlantique au laboratoire de l'ANDEMEGEN.....71**

- 1- Principe général du dépistage 71
- 2- Dosage de l'IRT 74
- 3- La biologie moléculaire 76
- 4- Les limites du dépistage IRT/ DNA 80
- 5- Test de la sueur 81
- 6- En pratique au laboratoire de l'ANDEMEGEN 87
- 7- Autres stratégies de dépistage 89

***PARTIE 3 : Bénéfices du dépistage néonatal systématique de la muocoviscidose ?.....93***

**I- Introduction.....94**

**II- Bénéfices cliniques.....94**

- 1- Description de quelques études 94
- 2- Les différents bénéfices cliniques 96

|                                                                                                                                                  |                |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|
| <b>III- Dépistage néonatal de la mucoviscidose et centres de soins ou Centres de Ressources et de compétences pour la Mucoviscidose (CRCM)..</b> | <b>110</b>     |
| 1- Le centre de soins                                                                                                                            | 110            |
| 2- Dépistage néonatal de la mucoviscidose et centres de soins ou CRCM                                                                            | 111            |
| <b>IV- Dépistage néonatal et impact sur les parents.....</b>                                                                                     | <b>111</b>     |
| 1- Impact du dépistage sur l'état psychologique des parents                                                                                      | 112            |
| 2- Impact du dépistage sur le comportement des parents dont le premier enfant a été déterminé comme hétérozygote                                 | 112            |
| 3- Impact du dépistage sur le comportement reproductif des parents dont l'enfant a été dépisté CF (influence du dépistage prénatal)              | 113            |
| <b>V- Dépistage néonatal et conseil génétique.....</b>                                                                                           | <b>116</b>     |
| 1- Le conseil génétique dans la mucoviscidose                                                                                                    | 116            |
| 2- Dépistage néonatal et conseil génétique                                                                                                       | 117            |
| <br><b>CONCLUSION.....</b>                                                                                                                       | <br><b>119</b> |
| <br><b>ANNEXES.....</b>                                                                                                                          | <br><b>121</b> |
| <br><b>LISTE DES FIGURES.....</b>                                                                                                                | <br><b>128</b> |
| <br><b>LISTE DES TABLEAUX.....</b>                                                                                                               | <br><b>130</b> |
| <br><b>TABLES DES MATIERES.....</b>                                                                                                              | <br><b>131</b> |
| <br><b>BIBLIOGRAPHIE.....</b>                                                                                                                    | <br><b>140</b> |

# LISTE DES ABREVIATIONS

---

|                    |                                                                                                                   |
|--------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>ABC :</b>       | ATP Binding Cassette                                                                                              |
| <b>ADN :</b>       | Acide désoxyribonucléique                                                                                         |
| <b>AFDPHE :</b>    | Association Française de Dépistage et de la Prévention des Handicaps de l'Enfant                                  |
| <b>AMPc :</b>      | Adénosine monophosphate cyclique                                                                                  |
| <b>ANDEMEGEN :</b> | Association Nantaise pour le Dépistage et l'Etude des Maladies de l'Enfant pendant la Grossesse Et à la Naissance |
| <b>ARDPHE :</b>    | Association Régionale du Dépistage et de la Prévention des Handicaps de l'Enfant                                  |
| <b>ATP :</b>       | Adénosine triphosphate                                                                                            |
| <b>CBV :</b>       | Cirrhose Biliaire Focale                                                                                          |
| <b>CF :</b>        | Cystique Fibrosis                                                                                                 |
| <b>CFTR :</b>      | Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator                                                               |
| <b>CHU :</b>       | Centre Hospitalier Universitaire                                                                                  |
| <b>CMI :</b>       | Concentration Minimale Inhibitrice                                                                                |
| <b>CML :</b>       | Cirrhose Multilobulaire                                                                                           |
| <b>CNAMTS :</b>    | Caisse Nationale d'Assurance Maladie des Travailleurs Salariés                                                    |
| <b>CRCM :</b>      | Centre de Ressources et de Compétences de la Mucoviscidose                                                        |
| <b>CV :</b>        | Capacité Vitale                                                                                                   |
| <b>DHOS :</b>      | Direction de l'Hospitalisation et de l'Organisation des Soins                                                     |
| <b>ECBC :</b>      | Examen Cytobactériologique des Crachats                                                                           |

|                    |                                                              |
|--------------------|--------------------------------------------------------------|
| <b>EFR :</b>       | Epreuves Fonctionnelles Respiratoire                         |
| <b>EPGP :</b>      | Extraits Pancréatiques Gastroprotégés                        |
| <b>FEV :</b>       | Force Expiratory Volume                                      |
| <b>FVC :</b>       | Force Vital Capacity                                         |
| <b>IRT : TIR :</b> | Trypsine Immunoréactive                                      |
| <b>NBF :</b>       | Nucleotide Binding Fold                                      |
| <b>NCCLS:</b>      | National Commitee for Clinical Laboratory Standard           |
| <b>NSC :</b>       | National Screening Commitee                                  |
| <b>PAP :</b>       | Pancreatitis–Associated protein                              |
| <b>PCU :</b>       | Phenylcétonurie                                              |
| <b>PMI :</b>       | Protection Maternelle et Infantile                           |
| <b>RDA :</b>       | Recommended Daily Allowance                                  |
| <b>RGO :</b>       | Reflux Gastro-oesophagien                                    |
| <b>RhDnase :</b>   | DNase recombinante : Désoxyribonucléase recombinante humaine |
| <b>SDS :</b>       | Standard Deviation Score                                     |
| <b>TSH :</b>       | Thyroid Stimulating Hormon                                   |
| <b>UV :</b>        | Ultra-Violet                                                 |
| <b>VEMS :</b>      | Volume Expiré Maximalen une Seconde                          |
| <b>VI :</b>        | Voie Intaveineuse                                            |
| <b>VO :</b>        | Voie Orale                                                   |

---

# INTRODUCTION

---

La mucoviscidose est la maladie autosomale récessive grave de l'enfant la plus fréquente dans les pays d'origine européenne.

De ce fait, il a paru important de l'inclure dans le programme de dépistage néonatal.

Ce programme comprend le dépistage de la phénylcétonurie (depuis 1972), de l'hypothyroïdie congénitale (depuis 1978), de l'hyperplasie des surrénales (depuis 1995), de la drépanocytose (depuis 1983 dans les Dom-Tom et 1995 en métropole) et connaît donc une nouvelle extension avec la mise en place du dépistage néonatal systématique de la mucoviscidose (35).

Il s'agit là d'un nouveau défi, puisque la mucoviscidose ne répond que partiellement aux critères d'un dépistage néonatal de masse. En effet, il n'existe pas de véritable traitement, et ce dépistage n'est pas des plus simples puisque le protocole choisi fait intervenir la recherche génétique. Cependant, la plupart des études ont démontré des intérêts à ce programme et pour cette raison, la CNAMTS à la demande de l'AFDPHE a décidé d'introduire ce dépistage dans son programme de prévention néonatale.

Après un rappel des généralités sur la mucoviscidose, nous nous intéresserons aux critères de choix d'un dépistage néonatal et à la mise en place du dépistage néonatal de la mucoviscidose en Loire-Atlantique et Vendée. Puis à travers différentes études, nous essaierons de mettre en évidence les bénéfices d'un tel dépistage pour les enfants et leur famille.

---

# ***PARTIE 1***

---

## ***Généralités sur la mucoviscidose***

## **I- Epidémiologie (37,38,60,67)**

La mucoviscidose ou fibrose kystique du pancréas (cystic fibrosis ou CF) est la plus fréquente des maladies autosomiques récessives graves des populations d'origine européenne. Elle touche environ 1 naissance sur 2500 en France et 1 personne sur 25 peut la transmettre à ses descendants. En effet les hétérozygotes, phénotypiquement normaux, représentent environ 4% de la population générale.

Cette affection a une évolution lente mais fatale, consécutive principalement, à l'atteinte pulmonaire et respiratoire. Cependant l'âge de la mort a reculé. Dans les années 50, 80% des enfants CF mouraient dans la première année, et l'iléus méconial qui représentait jusqu'aux années 70 une cause primordiale de mortalité précoce devient de plus en plus rare.

La médiane de survie a considérablement augmenté. Elle était de 15 ans aux USA en 1979, de 23 ans en 1991. Dans les années 30-40, il était rare pour un enfant CF de dépasser l'âge des 5 ans, actuellement plus de 50% survivent au-delà de l'âge de 20 ans. Les naissances excèdent les décès.

Cependant les données des observatoires nationaux montrent que les résultats français sont parmi les moins bons de la communauté européenne. La médiane de vie serait de 29,6 ans en 1997-99 alors qu'elle est de 32 ans dans le registre européen. En Norvège un nouveau-né aurait 50% de chances d'atteindre 40 ans ou plus, au Danemark, il aurait 80,4% de chances d'atteindre 45 ans. La comparaison des registres français, américain et allemand en 1999 montre que l'âge moyen des décès est plus jeune en France ; 20,5 ans contre 23 ans aux Etats-Unis et que la proportion d'adultes est plus faible ; 33%, alors qu'elle est de 38% aux Etats-Unis et de 42% en Allemagne. Au Royaume Uni, pour les enfants nés en 1990, l'espérance de vie attendue est de 40 ans.

En 1989, le clonage du gène codant la protéine CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator) a représenté une étape déterminante sur la voie de la compréhension du défaut biochimique et de ses conséquences cellulaires. L'analyse du gène et de ses mutations a permis de mieux appréhender les corrélations génotype-phénotype et de mettre en œuvre des moyens efficaces de diagnostic et de prévention de la maladie.

## **II- La génétique**

### **1- Le gène (17)**

C'est en 1989 qu'a été cloné le gène de la mucoviscidose par une démarche alors originale de génétique inverse. Ce gène est situé sur le bras long du chromosome 7 et il est constitué d'environ 230 000 paires de bases définissant 27 exons. Il code pour une protéine de 1480 acides aminés qui a été dénommée CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator ou régulateur de la conduction transmembranaire dans la mucoviscidose). L'identification du gène a été facilitée par la découverte chez près de 70% des malades, d'une délétion de 3 paires de bases correspondant au codon spécifiant la phénylalanine situé en position 508 de cette chaîne polypeptidique. Cette mutation est nommée: delta F508 ou  $\Delta F508$  (delta : délétion ; F : phénylalanine ; 508 : en position 508).

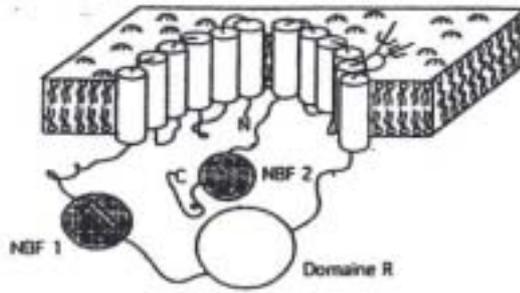
Le gène de la mucoviscidose est exprimé dans de nombreuses cellules épithéliales (pancréas, épидидyme, intestin, glandes sudoripares, glandes salivaires...). Au niveau de la muqueuse des voies aériennes, il s'exprime au niveau de l'épithélium de surface et surtout au niveau des glandes sous-muqueuses.

### **2- La protéine CFTR (17, 19, 64)**

#### **a- Structure**

La protéine CFTR est composée de deux domaines de 6 segments transmembranaires, de 2 motifs hydrophiles capables de fixer l'ATP (NBF1 et NBF2 : Nucleotide Binding Fold) reliés par un domaine régulateur (R) riche en site de phosphorylation qui lui est spécifique. Avec de telles caractéristiques structurales, cette protéine a été apparentée à une famille de transporteurs membranaires : les protéines ABC (ATP Binding Cassette) qui sont impliquées dans le transport de substances variées à travers les membranes cellulaires.

La protéine CFTR est surtout localisée dans la région apicale des cellules de plusieurs épithéliums de l'appareil pulmonaire et du tractus intestinal, mais également dans l'épithélium des canaux pancréatiques, des glandes salivaires et bronchiques.



*Figure 1 : Représentation schématique de la protéine CFTR (60).*

## **b- Fonction**

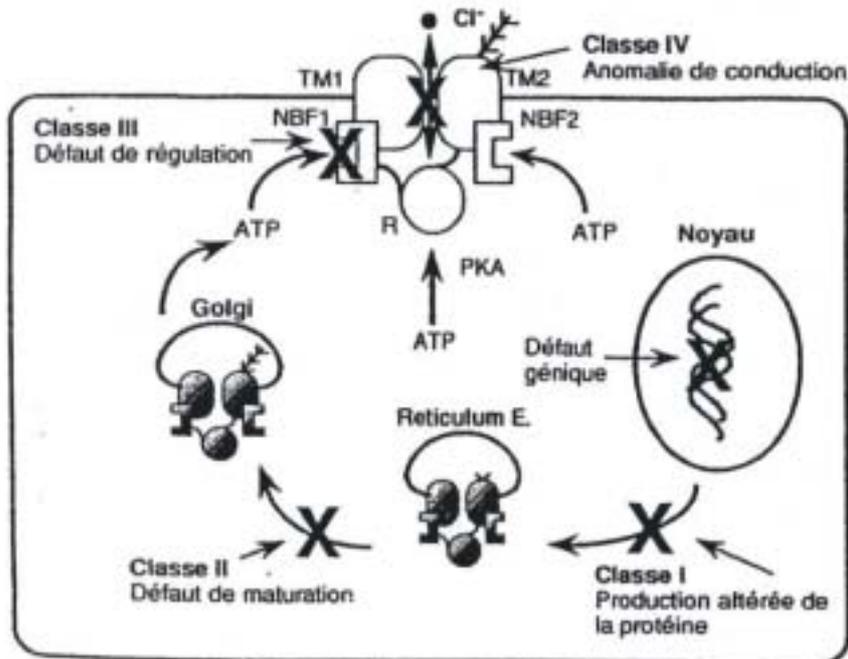
Il s'agit d'un canal ionique de faible conductance pour le passage des ions chlorures, qui pourrait être impliqué dans l'hydratation des fluides et en particulier ceux qui sont sécrétés par les glandes sous-muqueuses. Cette sécrétion de l'ion chlore est contrôlée par l'AMPc qui induit la phosphorylation du domaine R de la protéine CFTR par la protéine kinase A. De plus, la fixation de l'ATP sur les domaines NBF, et son hydrolyse semblent nécessaire à l'ouverture du canal.

Au niveau des cellules épithéliales respiratoires la protéine CFTR a différentes fonctions. Ainsi, elle joue un rôle sur la régulation des canaux ioniques, les caractéristiques du liquide de surface bronchique et le transport mucociliaire. Elle possède également des fonctions de défense anti-infectieuse de la muqueuse respiratoire. Les anomalies de CFTR joueraient également un rôle dans l'inflammation bronchique. Enfin, l'absence ou l'altération du canal chlore à la membrane apicale des cellules épithéliales des glandes sudoripares fait que la mucoviscidose est caractérisée dans 99% des cas par une augmentation de la concentration en chlore dans la sueur (supérieure à 60 Meq/L, la normale étant de 40 Meq /L).

## **c- Les anomalies moléculaires**

Plus de 950 altérations ont pu être identifiées. Les délétions, les mutations non-sens, ou celles qui décalent la phase de lecture du message sont à l'évidence délétères.

En fonction des mutations, 5 classes ont été individualisées :



**Figure 2 :** Les différentes classes de mutations altérant le fonctionnement de la protéine CFTR (60).

- Classe 1: Mutations altérant la production de la protéine ou entraînant l'absence de production de la protéine. On peut regrouper les mutations non-sens et celles qui décalent la phase de lecture.

- Classe 2: Mutations perturbant le processus de maturation cellulaire de la protéine. Elles entraînent une destruction de la protéine mal formée au sein du système réticulum endoplasmique- Golgi.

Ainsi on range dans cette classe la délétion Delta F508 ( $\Delta F508$ ) qui perturbe la maturation de la protéine CFTR en empêchant sa glycosylation et son routage vers la membrane cytoplasmique des cellules épithéliales.

- Classe 3: Mutations perturbant le contrôle de l'ouverture du canal chlore/CFTR. Il s'agit de mutations faux-sens, telle la G551D, localisée au niveau du site de fixation de l'ATP (NBF1, 2) et qui entraîneraient une diminution de la sensibilité de la cellule à détecter l'ATP intracellulaire d'où une absence de signal d'ouverture.

- Classe 4: Mutations altérant la conduction et la sélectivité ionique et principalement localisée dans les régions transmembranaires (R117H et R334W).

- Classe 5: Mutations qui diminuent la quantité de CFTR fabriquée.

### **3- Génétique de la mucoviscidose (17, 23, 37, 85)**

#### **a- Epidémiologie moléculaire**

La délétion  $\Delta F508$  est largement majoritaire chez les personnes atteintes de la mucoviscidose, cependant sa fréquence varie de 50% (sud de l'Europe) à 90% (nord de l'Europe). En France, selon les régions, elle touche 70 à 75% des personnes CF. Ceci mène à s'interroger sur l'existence d'un mécanisme de sélection des hétérozygotes ou d'un effet fondateur dans les populations nord-européennes.

Les autres mutations sont surtout des mutations ponctuelles ou de très courtes délétions-insertions, les grandes délétions ont été rarement observées. Il a été découvert plus de 900 anomalies depuis le clonage du gène cependant seulement une vingtaine est représentée dans la plupart des groupes d'origine européenne. Leur fréquence varie tout comme la  $\Delta F508$ , selon le groupe ethnique ou géographique. L'essentiel des mutations se répartie en faux-sens (45%), non-sens (18%), insertions-délétions dans les séquences exoniques entraînant un déphasage du cadre de lecture (23%), et des mutations affectant l'épissage (14%).

**Tableau 1 : Les mutations du gène CFTR les plus fréquentes (60).**

En France, le gène CFTR a été particulièrement étudié par de nombreux laboratoires et l'on dispose aujourd'hui de données précises sur la répartition des différentes mutations dans les diverses régions. Ces renseignements ont été obtenus entre autres, grâce à la compilation des analyses génotypiques réalisées chez les patients CF et colligées à partir des données fournies par les laboratoires français qui réalisent ces analyses. Ces données illustrent bien l'extrême diversité allélique de CFTR puisque plus de 300 mutations différentes ont été retrouvées dans notre pays, ce qui correspond à plus de 500 génotypes différents (*Tableau 1*).

On retiendra, les mutations G452X, G551D, N1303K, W1282K qui dépassent le seuil de 1% puis les mutations 1717-1G→A, R553X, 27789+5G→A, R117H, 2183AA→G... . Il existe certaines particularités régionales ainsi en Bretagne, la mutation 1078deltaT représente la deuxième mutation par ordre de fréquence (5%) après la ΔF508 (81%).

## **b- La corrélation génotype-phénotype**

La connaissance des différents types de mutations et leur classification selon le type de dysfonctionnement affectant la protéine CFTR a permis de mieux étayer les relations génotype-phénotype où l'extrême diversité allélique explique en partie la variabilité de l'expression clinique.

Les études de corrélation génotype-phénotype montrent que, en règle générale, les mutations de classe 3 et 4 ont des conséquences phénotypiquement moins sévères que les mutations de classe 1 et 2 et que la sévérité de l'expression clinique de la mucoviscidose serait grossièrement proportionnelle à la quantité de CFTR fonctionnelle produite.

### - Corrélation génotype-sévérité de la maladie

Parmi les mutations, certaines sont responsables d'un phénotype sévère comme  $\Delta F508$ , G542X, G551D, 1072delT, R553X..., d'autres d'un phénotype peu sévère comme R117H, 2589+5G→A, d'autres enfin d'un phénotype très variable comme R334W, G85, R385T et 5T. En fait, la combinaison chez un même individu de deux mutations différentes (sujet malade dit « double hétérozygote » ou « hétérozygote composite ») explique en partie, la sévérité très variable de la maladie, mais en partie seulement, car des sujets homozygotes pour une même mutation, la  $\Delta F508$  par exemple, peuvent avoir des tableaux cliniques de sévérité très variables.

### - Corrélation atteinte digestive-génotype

Il est bien montré aujourd'hui que l'insuffisance pancréatique est génétiquement déterminée, associée à des mutations de classe 4 et 5. Ces mutations qualifiées de « mild », ont un effet dominant par rapport aux mutations associées à un phénotype sévère et sont associées à une médiane de survie de 50 ans versus 30 ans chez les sujets porteurs de mutations sévères.

### - Corrélation atteinte respiratoire-génotype

La corrélation entre le génotype et la sévérité de l'atteinte pulmonaire est très controversée. Ainsi, la notion de sévérité s'applique surtout à l'atteinte pancréatique même si des mutations associées à une atteinte modérée du poumon ont été décrites.

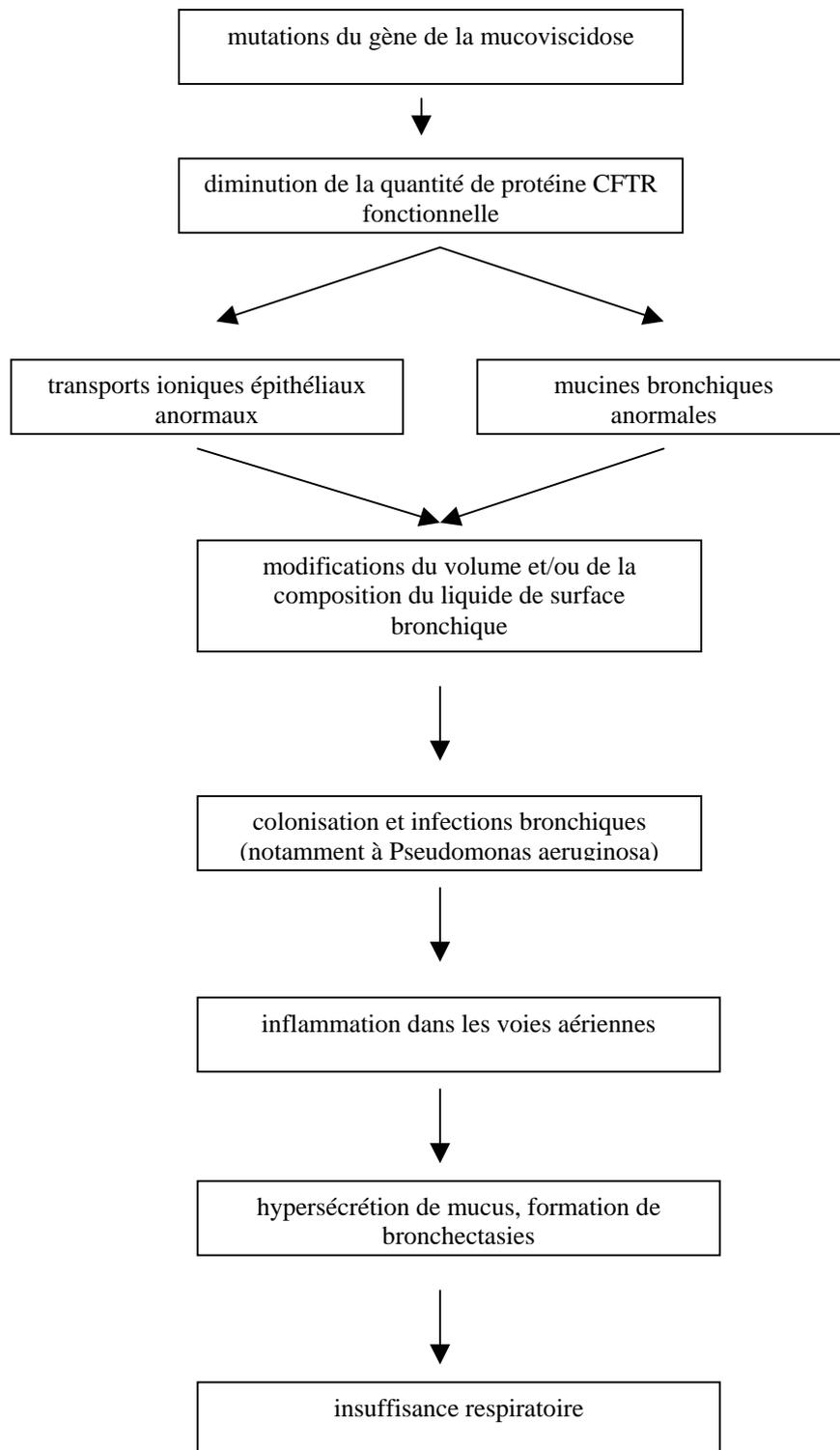
Dans le domaine des corrélations génotype-phénotype, de nombreuses zones d'ombre persistent et beaucoup de travail reste à faire.

### **III- Physiopathologie de la mucoviscidose (4,7,13,17,23,50,56,64,80)**

#### **1- L'atteinte pulmonaire**

Le pronostic de la mucoviscidose est largement dominé par l'atteinte respiratoire, qui se manifeste parfois très rapidement après la naissance, généralement au cours des premiers mois et, moins souvent beaucoup plus tard. Son évolution chronique est habituellement progressive.

Au départ, de l'atteinte pulmonaire, il existe des mutations dans le gène codant pour la protéine CFTR qui intervient dans les transports ioniques épithéliaux. Ces derniers sont donc altérés en particulier au niveau des voies aériennes. Il en résulte vraisemblablement 2 types d'anomalies : d'une part des modifications des propriétés biophysiques du liquide de surface bronchique, ce qui entraîne une altération de la clairance mucociliaire et d'autre part des modifications de la composition ionique de ce liquide qui sont responsables à leur tour d'une diminution des défenses naturelles antimicrobiennes de la muqueuse des voies aériennes. En outre, il pourrait exister des anomalies de la composition biochimique des mucines favorisant la fixation de certaines bactéries. Tout ceci a pour conséquence des infections microbiennes répétées, notamment à *Pseudomonas aeruginosa* et une réaction inflammatoire locale intense. Les conséquences en sont la destruction du poumon avec notamment formation de bronchectasies et l'insuffisance respiratoire.



**Figure 3 :** Mécanismes supposés de l'atteinte pulmonaire de la mucoviscidose (17).

## **a- Principales fonctions de la protéine CFTR au niveau respiratoire et anomalies dans la mucoviscidose**

### - Rôle de la protéine CFTR sur la régulation des canaux ioniques, les caractéristiques du liquide de surface bronchique et le transport mucociliaire

A l'état normal, l'épithélium de surface des voies aériennes absorbe le sodium de façon active. Cette absorption s'accompagne d'une absorption passive de chlorure. Il en résulte donc une absorption nette de sel qui s'accompagne d'une absorption d'eau. Dans certaines circonstances, il peut y avoir une sécrétion active de chlore qui s'oppose à l'absorption de sel et d'eau. Les transports ioniques de part et d'autre de l'épithélium des voies aériennes modulent le transport d'eau, en fonction de la pression osmotique ; ils régulent ainsi le volume de la couche liquidienne de surface qui paraît être un déterminant essentiel de la clairance mucociliaire. Ainsi la protéine CFTR de façon directe ou indirecte régule l'état d'hydratation et la composition ionique du liquide de surface bronchique.

Chez les sujets atteints de mucoviscidose, il existe une hyperabsorption de sodium et un défaut de sécrétion de chlore qui se traduisent par une augmentation de l'absorption de sel et donc d'eau. Ceci expliquerait la diminution de la clairance mucociliaire.

Le liquide de surface bronchique est classiquement décrit à l'état normal comme une biphasé composée d'une phase aqueuse dite périciliaire au sein de laquelle battent les cils et d'autre part d'une phase gel viscoélastique située à la partie apicale des cils.

Sa composition est faite d'eau et d'ions, de protéines plasmatiques, d'ADN, de surfactants et de mucines. Dans la mucoviscidose, les mucines de la phase gel sont plus sulfatées et plus visqueuses. Non seulement, les anomalies du transport ionique transépithélial dans la mucoviscidose s'accompagnent de modifications de la composition et du volume du liquide de surface, ce qui diminue l'épuration mucociliaire, mais elles seraient associées à une augmentation de son contenu en sodium et en chlore ce qui pourrait entraîner une diminution de l'activité anti-infectieuse naturelle de la muqueuse respiratoire.

*Figure 4 : Représentation schématique de la surface de l'épithélium respiratoire (60).*

- Anomalies de CFTR et fonctions de défenses anti-infectieuses

A l'état normal, le liquide de surface bronchique contient de nombreuses molécules présentant des propriétés antibactériennes parmi lesquelles figurent des protéines sécrétoires (Ig As, lysozymes, phospholipase A2 ; inhibiteurs bronchiques...) et des peptides antimicrobiens de type défensines.

Des différences de concentration en NaCl du liquide de surface bronchique peuvent modifier l'ensemble des activités antibactériennes des molécules qui y sont présentes. Or la relation entre le degré de salinité du liquide de surface bronchique et son activité antibactérienne a bien été démontrée.

- Anomalies de CFTR et inflammation bronchique

Généralement, l'inflammation bronchique est considérée comme la réponse au stimulus infectieux. Cependant, il est apparu récemment que chez les patients CF, la réaction inflammatoire de la muqueuse respiratoire peut être décelée précocement et précéder l'infection. Un mécanisme « endogène » mettant en jeu des anomalies intrinsèques de la protéine CFTR dans les cellules épithéliales pourrait intervenir dans l'initiation de l'inflammation.

Ainsi, initié par un dysfonctionnement du canal chlore, les anomalies de la composition et du volume du liquide de surface bronchique et la dérégulation de l'environnement immuno-inflammatoire créent rapidement un environnement permissif pour l'infection bactérienne se traduisant par le cercle vicieux inflammation-infection qui s'accompagne d'une obstruction bronchique, de bronchectasie et d'insuffisance respiratoire sévère.

## **b- Manifestations respiratoires**

La bronchopneumopathie obstructive est pratiquement constante au cours de l'évolution de la mucoviscidose.

La compréhension actuelle des mécanismes impliqués dans son développement retient deux facteurs essentiels : un processus inflammatoire majeur et excessif, et une colonisation microbienne. Les manifestations respiratoires sont présentes chez environ 75% des nourrissons dès la première année de vie. L'absence de manifestations n'exclut pas une apparition ultérieure.

### - Le syndrome respiratoire

Le syndrome respiratoire initial est peu spécifique : toux prolongée sèche ou productive, ou encore épisodes récidivants de bronchite ou de bronchiolite, avec parfois encombrement bronchique et expectoration muco-purulente persistante entre les épisodes aigus.

L'évolution de l'atteinte pulmonaire se fait par poussées aboutissant progressivement à l'installation d'une insuffisance respiratoire chronique avec hippocratisme digital et cyanose.

### - Les aspects radiologiques

Sur le plan radiologique les anomalies sont là encore non spécifiques. Leur apparition peut être plus ou moins précoce et leur étendue variable. Elles peuvent être caractérisées par une distension thoracique, un épaissement péribronchique, des opacités alvéolaires mal systématisées ou encore des opacités aréolaires évocatrices de dilatation des bronches. L'examen tomodensitométrique est important pour préciser l'étendue des lésions. Divers scores dont celui de Brasfield quantifient ces données radiologiques.

| <b>Score radiologique de Brasfield D</b>                                                   |                                                                                                       |                                                                              |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Anomalie</b>                                                                            |                                                                                                       | <b>Score</b>                                                                 |
| <b>Piégeage de l'air</b><br>(Surdistension)                                                | Hyperaération pulmonaire<br>- Saillie sternale<br>- Dépression diaphragmique<br>- Cyphose             | 0. Absent<br>1.2.3.4. Sévérité croissante                                    |
| <b>Opacités linéaires</b><br>(Bronchiques)                                                 | Epaississement des parois bronchiques :images en rail, opacités circulaires en anneau                 | 0. Absent<br>1.2.3.4. Sévérité croissante                                    |
| <b>Opacités modulaires et lésions kystiques</b><br>(impactions mucoïdes et bronchectasies) | Multiples opacités nodulaires de 0,5 cm ou plus                                                       | 0. Absent<br>1.2.3.4 pour l'atteinte de 1,2,3,4 quadrants pulmonaires        |
| <b>Lésions étendues</b><br>(Surinfection)                                                  | Atélectasies lobaires ou segmentaires<br>Foyer alvéolaire segmentaire ou lobaire<br>Foyer pneumonique | 0. Absent<br>3. Opacité segmentaire ou lobaire<br>5. Atélectasies multiples  |
| <b>Sévérité globale</b><br>(Impression générale)                                           | Impression de sévérité<br>Fibrose<br>Silhouette cardiomédiastinale                                    | 0. Normal<br>1.2.3.4 Sévérité croissante<br>5. Cardiomégalie ou pneumothorax |
| <b>Score inversé = 25-score</b>                                                            |                                                                                                       |                                                                              |

*Tableau 2 : Le score radiologique de Brasfield D (13).*

- Les explorations fonctionnelles respiratoires

L'exploration de la fonction pulmonaire apporte une aide au diagnostic de l'obstruction bronchique, en analysant de façon quantitative le degré d'obstruction bronchique, en estimant la localisation préférentielle de l'obstruction sur les bronches proximales et /ou distales, en appréciant la part réversible de l'obstruction par un test de bronchodilatation (la répétition des explorations fonctionnelles respiratoires ou EFR au cours de l'évolution permet de juger de l'efficacité des traitements).

L'atteinte pulmonaire avec l'obstruction qui la caractérise est évaluée par la mesure du VEMS (Volume Expiré Maximal en une Seconde) qui est le paramètre standard utilisé par toutes les équipes pour suivre la progression de la maladie respiratoire. Le VEMS et la Capacité Vitale (CV) plus ou moins rapidement altérés ne restent normaux que chez 10 à 15% des adultes atteints. Le VEMS est d'excellente valeur pronostic.

Les explorations fonctionnelles respiratoires sont également essentielles pour documenter la présence et/ou l'importance d'une hyperréactivité bronchique.

Cette hyperréactivité est retrouvée chez près d'un quart des patients. Elle peut s'exprimer cliniquement mais ceci n'est pas obligatoire. Les mécanismes de survenue sont en grande partie liés aux lésions des voies respiratoires qui caractérisent la maladie. Elle doit donc être systématiquement recherchée en testant la réversibilité des paramètres fonctionnels après inhalation de bronchodilatateurs ou encore en recherchant une bronchoconstriction normale après stimulation.

#### - Sémiologie infectieuse

La bactériologie de crachats est assez spécifique, les germes habituels responsables des épisodes de suppurations bronchiques sont le Staphylocoque doré (*S. aureus*), *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae* et plus rarement *Klebsiella pneumoniae*.

L'examen cytobactériologique de l'expectoration profonde ou ECBC quantitatif est un examen essentiel pour évaluer la colonisation bactérienne des voies respiratoires. Le *P.aeruginosa* est très spécifique de la mucoviscidose. Il apparaît en moyenne entre 8 et 10 ans, parfois beaucoup plus tôt, pour être pratiquement constant après 25 ans.

L'apparition de *P.aeruginosa* initialement intermittente devient chronique même avec une sensibilité in-vitro vis-à-vis des antibiotiques utilisés.

Donc en dépit d'une antibiothérapie bien conduite, *P.aeruginosa* ne peut être définitivement éradiqué.

L'infection chronique à *P.aeruginosa* constitue le principal problème infectieux et marque le plus souvent un tournant évolutif péjoratif de la maladie. *P.aeruginosa* possède des caractères particuliers ; en effet de manière quasi systématique et spécifique, les souches de *P.aeruginosa* présentes dans les bronches des sujets malades vont prendre un aspect particulier dit « mucoïde », par opposition aux deux autres formes morphologiques décrites pour cette bactérie : la colonie plate, lisse et la colonie sèche, rugueuse. Or, le caractère muqueux ou mucoïde est dû à la synthèse par l'agent bactérien lui-même, d'une substance gélatineuse ou « slime » qui est un exopolysaccharide (ou alginate). Il est probable que le slime augmente

l'adhésion des bactéries aux structures contaminées et gêne la pénétration des antibiotiques. La synthèse de ce slime est sous la dépendance d'un gène alginate qui peut être stimulé par un certain nombre de produits, dont la plupart proviennent de l'hôte ! Ainsi l'on peut considérer la présence de *P.aeruginosa* dans les bronches des sujets atteints, comme un parasitisme parfait, si ce n'était la conjonction des mécanismes des deux protagonistes, l'hôte et la bactérie pour activer une réaction inflammatoire chronique néfaste.

Il faut également noter que l'Aspergillose essentiellement *Aspergillus fumigatus* colonise fréquemment l'arbre respiratoire des patients atteints de mucoviscidose mais son rôle dans l'évolutivité de l'atteinte respiratoire est encore mal connue. Les tableaux cliniques réalisés sont divers : une aspergillose bronchopulmonaire allergique typique est rarement observée, le plus souvent il s'agit de formes atypiques de diagnostic mal aisé. L'asthme aspergillaire n'est pas exceptionnel, la bronchite aspergillaire est rare. Les indications et les modalités du traitement prêtent encore à discussion.

#### - L'évolution

L'évolution de l'atteinte pulmonaire se fait par poussées parfois déclenchées au début au moins par des infections virales. Chaque poussée aggrave l'état antérieur pour conduire souvent, dans des délais très variables allant de quelques mois à quelques années à l'insuffisance respiratoire chronique. Diverses complications peuvent apparaître au cours de cette évolution tels que le pneumothorax et pneumomédiastin qui touchent environ 1% des enfants avant 10 ans, 15% des malades après 15 ans.

Les hémoptysies déclenchées par une surinfection, parfois massives sont d'autant plus graves que l'âge avance.

Une pathologie rhinosinusienne peut également s'associer (sinusite chronique, polypose nasale...) et augmente avec l'âge.

L'appréciation du profil évolutif est facilitée par l'utilisation de scores globaux comme celui de Shwachman (*Tableau 3*).

Un score de Shwachman inférieur à 50, une réduction des tests spirométriques de plus de la moitié théorique, une hypoxémie inférieure à 55mmHg, une infection chronique à pyocyanique multirésistant sont de très fâcheux pronostics à l'échéance d'une année.

## Score global de Shwachman et Kulczycki

| Etat                                  | Nombre de points   | Activité générale                                                                              | Examen physique                                                                                                                                                        | Nutrition                                                                                                                                         | Radiographie                                                                                                 |
|---------------------------------------|--------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Excellent</b><br>(86 à 100 points) | 25 points par case | Activité normale<br>Joue<br>Scolarité régulière                                                | Ne tousse pas<br>Fréquence cardiaque et respiratoire normale                                                                                                           | Poids et taille $\geq 25^{\text{ème}}$ percentile<br>Selles normales                                                                              | Champs pulmonaires normaux                                                                                   |
| <b>Bon</b><br>(71 à 85 points)        | 20 points par case | Manque d'endurance<br>Fatigue en fin de journée<br>Scolarité satisfaisante                     | Toux rare<br>Fréquence cardiaque et respiratoire normale au repos<br>Auscultation normale<br>Emphysème minime<br>Pas d'hippocratisme                                   | Poids et taille $\geq 15^{\text{ème}}$ percentile<br>$< 25^{\text{ème}}$ percentile<br>Selles peu modifiées<br>Tonus et trophicité musculaire bon | Accentuation discrète de la trame broncho-vasculaire<br>Emphysème débutant                                   |
| <b>Moyen</b><br>(56 à 70 points)      | 15 points par case | Se repose au cours de la journée<br>Se fatigue facilement après exercice<br>Assiduité scolaire | Toux occasionnelle parfois au lever le matin<br>Discrète tachypnée<br>Emphysème modéré<br>Râles bronchiques                                                            | Poids et taille $\geq 3^{\text{ème}}$ percentile<br>Selles habituellement anormales<br>Discrète distension abdominale<br>Amyotrophie              | Emphysème modéré<br>Atélectasie en bande<br>Exagération nette de la trame broncho-vasculaire                 |
| <b>Mauvais</b><br>(41 à 55 points)    | 10 points par case | Etude au domicile<br>Dyspnée après une courte marche<br>Repos très fréquent                    | Toux fréquente et productive<br>Emphysème marqué<br>Râles pulmonaires nombreux<br>Hippocratisme de degré 2 ou 3                                                        | Poids et taille $< 3^{\text{ème}}$ percentile<br>Selles fétides<br>Amyotrophie<br>Distension abdominale nette                                     | Emphysème<br>Atélectasies étendues<br>Bronchectasies débutantes                                              |
| <b>Grave</b><br>( $< 40$ points)      | 5 points par case  | Orthopnéique<br>Confiné au lit ou au fauteuil                                                  | Quintes de toux sévères<br>Tachypnée et tachycardie<br>Râles bronchiques très nombreux<br>Possibilité de défaillance cardiaque droite<br>Hippocratisme de degré 3 ou 4 | Malnutrition grave<br>Abdomen large et distendu<br>Prolapsus rectal<br>Selles volumineuses fréquentes, graisseuses et fétides                     | Images anormales diffuses<br>Phénomènes obstructifs et infectieux<br>Atélectasies lobaires<br>Bronchectasies |

*Tableau 3 : Le score global de Shwachman et Kulczycki (13).*

## **2- L'atteinte digestive**

### **a- Physiologie des lésions du pancréas exocrine**

Initialement, la sécrétion bicarbonatée diminue suite à la réduction d'activité des échanges  $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$  au pôle apical de la cellule. Cet échange est sous le contrôle d'un canal chlore transmembranaire régulateur AMPc dépendant (CFTR). Ainsi les sécrétions pancréatiques sont faiblement alcalinisées et anormalement déshydratées. Dans un deuxième temps, on observe un déficit sécrétoire des enzymes pancréatiques.

### **b- Manifestations pancréatiques**

On estime la fréquence de l'insuffisance pancréatique à 85% des patients mucoviscidosiques. Les altérations du pancréas exocrine ont un début précoce, souvent anténatal. En effet, dès la vie anténatale, il y a une accumulation de bouchons muqueux au niveau des canaux pancréatiques aboutissant à une obstruction canalaire proximale et des lésions de dégénérescences du tissu pancréatique avec une atrophie des acini puis transformation grasseuse du pancréas. Les îlots de Langerhans restent longtemps épargnés.

Du point de vue clinique, l'atteinte du pancréas exocrine se manifeste par un syndrome de malabsorption des graisses et des protéines. Les malades présentent de fréquentes selles abondantes, grasseuses, pâles et malodorantes tandis que la croissance pondérale est médiocre. Chez le nourrisson un mode de représentation de la maladie est l'association diarrhée grasseuse, amaigrissement qui contraste avec un appétit vorace. De plus, la malabsorption est souvent majorée par l'apparition d'un déficit en sels biliaires. La carence en acides gras essentiels et en vitamines liposolubles (A, D, E, K) fait également partie du retentissement de l'insuffisance pancréatique.

Enfin, la malabsorption et la carence en enzymes protéolytiques entraînent une créatorrhée sans traduction clinique directe.

En cas de fonction (partiellement) conservée, la complication majeure est représentée par des poussées de pancréatites aiguës.

Le diabète sucré, tardif touche l'adolescent ou l'adulte (8 à 15%). Il est maîtrisé par des doses d'insuline.

## **c- Manifestations intestinales**

L'atteinte intestinale associe malabsorption et ralentissement du transit.

### - L'iléus méconial

L'iléus méconial est la première manifestation de la mucoviscidose dans 10% des cas. Il s'agit d'une occlusion aiguë néonatale par le méconium insuffisamment liquéfié du fait d'une sécrétion protéolytique insuffisante par le pancréas et les glandes intestinales. L'occlusion siège au niveau de l'iléon terminal avec apparition dès la 48<sup>ème</sup> heure de vomissements, de ballonnements sans émission de méconium. Dans la moitié des cas environ, cette occlusion est simple et peut être levée par des lavements évacuateurs et hyperosmolaires.

Parfois, cette occlusion peut conduire, en cas de volvulus associé, à la péritonite méconiale, parfois calcifiée. Cette complication impose le recours à la chirurgie.

### - Le prolapsus rectal

Le prolapsus rectal peut survenir chez près de 20% des malades au cours de la deuxième ou troisième année de vie. Il peut d'ailleurs révéler la maladie, ce qui justifie la réalisation d'un test à la sueur. La constatation d'un prolapsus récidivant doit amener à une réadaptation hygiéno-diététique. Le recours à la chirurgie doit être exceptionnel.

### - Le reflux gastro-oesophagien (RGO)

La fréquence du RGO est élevée dans la mucoviscidose. Cela a pu être évalué par des études pHmétriques. On ne peut pas savoir la fréquence avec laquelle le RGO aggrave la maladie pulmonaire ou vice versa mais il y a vraisemblablement une interaction entre ces deux pathologies. Les épisodes de RGO sont majorés par l'élévation de la pression thoracoabdominale liée aux efforts de toux, aux expirations prolongées de la kinésithérapie. La symptomatologie clinique, lorsqu'elle est présente, nécessite une prise en charge efficace.

### - Les pathologies gastro-entérologiques les plus fréquemment associées

- la maladie coeliaque
- l'intolérance aux protéines de lait de vache
- la maladie de Crohn

## **d- Manifestations hépatobiliaires**

L'atteinte hépatobiliaire est fréquente mais ne conduit à la cirrhose que dans 10 à 15% des cas. Elle augmente avec l'âge.

La lésion hépatique typique de la mucoviscidose est appelée cirrhose biliaire focale en raison de sa distribution focale. Elle se caractérise histologiquement par la présence d'un matériel granuleux éosinophile dans les canaux biliaires de certains espaces portes. Cette lésion est pathognomonique de la mucoviscidose puisqu'elle n'est retrouvée dans aucune autre maladie. Elle suggère une relation de cause à effet entre l'obstruction biliaire et l'hyperviscosité du mucus biliaire. De plus la localisation par Cohn de l'ARNm de la protéine CFTR au niveau du pôle apical des cellules épithéliales des canalicules biliaires permet, par analogie avec le pancréas et les bronches, d'attribuer l'atteinte hépatique de la mucoviscidose à une anomalie primitive des canalicules biliaires. L'absence de CFTR fonctionnel au niveau de l'épithélium biliaire pourrait altérer les sécrétions biliaires, réduire le transport du chlore, les échanges chlore/bicarbonate et la sécrétion de bicarbonate, de sodium et d'eau et entraînerait une hyperconcentration de la bile et des acides biliaires et peut-être une solubilisation anormale des composés organiques de la bile.

La cirrhose biliaire focale (CBF) résulte donc de l'accumulation de sécrétions hypervisqueuses à l'intérieur des canaux biliaires et constitue le stade initial de la maladie. Elle peut être asymptomatique mais peut évoluer vers une véritable cirrhose multilobulaire (CML) qui s'accompagne de nodules de régénération et d'une hypertension portale compliquée de varices œsophagiennes et d'hypersplénisme.

Il existe d'autres lésions hépatobiliaires telles que l'ictère cholestatique prolongé, typique de la période néonatale qui disparaît spontanément et ne prédispose pas à la CBF, ou encore la stéatose qui est notée à tous les âges.

Enfin, la vésicule biliaire présente des anomalies morphologiques ou fonctionnelles dans 30% des cas.

## **3- Les difficultés nutritionnelles**

Le maintien d'un bon état nutritionnel doit être un des objectifs principaux de la prise en charge d'un patient atteint de mucoviscidose. Le lien entre le degré de malnutrition et la

sévérité de la maladie est maintenant clairement établi. Les mécanismes de la malnutrition restent incomplètement compris : les besoins énergétiques sont supérieurs au RDA (Recommended Daily Allowance), les pertes digestives par maldigestion et malabsorption sont augmentées, le catabolisme est majoré par les infections pulmonaires avec la production de cytokines. Les carences secondaires à la pathologie digestive peuvent se traduire cliniquement : maigreur et fonte musculaire, œdèmes hypoprotidémiques, ostéoporose, retard statural et pubertaire... Le maintien d'une croissance staturo-pondéral normale et d'un bon état nutritionnel doit être un souci permanent du médecin. Chez le nourrisson l'état nutritionnel est essentiellement lié aux troubles digestifs, mais plus tard, la responsabilité réciproque des statuts respiratoires et digestifs est discutée. Les deux sont très étroitement liés dans le score de Shwachman.

Chez l'enfant et l'adolescent, le développement pondéral, puis statural et pubertaire est retardé parallèlement à la dégradation de l'état respiratoire, ou bien reste subnormal lorsque l'âge adulte est atteint avec une fonction respiratoire conservée.

La répercussion des déficits divers (acides gras, vitamines, oligo-éléments) au niveau des membranes cellulaires et des moyens locaux de défense contre l'infection reste d'appréciation difficile.

### **a- Carences en acides gras**

Des carences en acides gras essentiels ont été observées chez 70 à 80% des patients mucoviscidosiques.

La carence en acides gras essentiels dépend de l'insuffisance pancréatique bien qu'elle ait été trouvée chez des patients sans insuffisance pancréatique et qu'elle ne réponde qu'irrégulièrement à la prise d'enzymes pancréatiques gastroprotégées.

La carence en acides gras essentiels pourrait entraîner des troubles respiratoires comme cela a été constaté chez le poulet carencé qui présente des lésions de bronchiolite d'autant plus prononcées que le déficit a été sévère. L'atteinte pulmonaire ainsi observée dépendrait directement des altérations de la perméabilité des membranes cellulaires bronchiques, elle pourrait être également la conséquence de l'altération de la synthèse des prostaglandines.

Le déficit en acide linoléique inhibe en effet la synthèse des prostaglandines de type E à effet bronchodilatateur et vasodilatateur pulmonaire et favorise au contraire la synthèse des prostaglandines de type F qui ont un effet inverse.

La carence en acides gras essentiels pourrait également aggraver l'infection bronchique des mucoviscidosiques par son effet nocif sur les mécanismes immunitaires généraux et pulmonaires, et intervenir dans la composition du surfactant. Elle pourrait également induire une augmentation de la consommation en oxygène.

## **b- Carences en vitamines**

La malabsorption des vitamines liposolubles est secondaire à celle des lipides. Le déficit en vitamine A est repérable chez plus de 50% des malades dépistés systématiquement à la naissance. Ce déficit est lié à la malabsorption intestinale de la vitamine et à un déficit en ses protéines transporteuses.

La carence biologique en vitamine E est d'une grande fréquence. L'expression clinique de la carence en vitamine E chez le mucoviscidosique est plus rare : aréflexie tendineuse, ataxie cérébelleuse, ophtalmoplégie. La carence en vitamine E pourrait également avoir des conséquences immunitaires favorisant les infections pulmonaires.

Le déficit en vitamine K s'exprime rarement, en dehors des cirrhoses décompensées, mais on a pu toutefois rapporter des accidents sévères dans la première année de vie.

Le rachitisme carenciel est rarement décrit chez les mucoviscidosiques et les taux de vitamine D et de ses métabolites sont apparus le plus souvent normaux.

Le déficit pancréatique rend compte également de la malabsorption de la vitamine B12.

## **c- Carences en oligo-éléments**

L'absorption du fer pourrait être favorisée par le pH intestinal abaissé dans la mucoviscidose et faciliter, dès lors, le développement d'une hémossidérose qui a été décrite essentiellement dans la première année de vie des mucoviscidosiques.

Le déficit en zinc peut être fréquent en particulier chez les jeunes patients, il pourrait intervenir comme facteur de retard de croissance et concourir aux déficits en protéines de transport de la vitamine A.

## **IV- Prise en charge (7,8,11,13,49,59,63,77,80,91,94)**

### **1- Prise en charge de l'atteinte respiratoire**

Une fois le diagnostic porté, la prise en charge comporte tout d'abord un bilan complet pour évaluer le retentissement de la maladie sur les différents organes. Le suivi des patients doit être régulier. Il faut pouvoir prévenir et traiter le plus précocement possible les exacerbations de la maladie. La surveillance de la progression de la maladie est évaluée à l'aide du score de Schwachman-Kulczycki. Il est essentiel de préciser que le suivi doit impérativement être assuré par une équipe soignante coordonnée incluant médecin hospitalier, médecin de ville, infirmière, psychologue, kinésithérapeute, et diététicienne.

Enfin, la qualité de l'environnement familial est essentielle, particulièrement pour favoriser l'observance du traitement parfois difficile à obtenir chez l'adolescent.

#### **a- Kinésithérapie respiratoire**

Le rôle bénéfique de la kinésithérapie dans la mucoviscidose est bien établi. Elle a pour objectif le désencombrement des voies aériennes, il s'agit donc d'une kinésithérapie de drainage.

Elle vise en fait à préparer l'évacuation des sécrétions par la toux, de façon à rétablir au mieux et de façon aussi prolongée que possible la perméabilité des voies aériennes.

Pour liquéfier les sécrétions, on utilise des aérosols et des vibrations manuelles. Les aérosols peuvent être employés pour hydrater les sécrétions par simple humidification ou pour nébuliser des molécules mucolytiques qui peuvent être utiles lorsque, malgré un

encombrement manifeste, la toux est peu productive. Les vibrations manuelles appliquées sur la paroi thoracique ont pour but d'abaisser la viscosité des sécrétions en les fragmentant.

Cependant les techniques actives d'augmentation du flux respiratoire pour mobiliser les sécrétions (toux dirigée, expiration forcée...) ont supplanté les techniques purement passives associant percussions, vibrations et drainage de posture.

La kinésithérapie est au mieux effectuée par un professionnel qui suit l'enfant au quotidien.

La séance du matin au réveil est conseillée du fait de l'encombrement bronchique qui est maximal en fin de nuit. De plus la gymnastique et la rééducation respiratoire visent à éviter la dystrophie thoracique ; la pratique d'un exercice physique adapté aux épreuves d'effort et au goût du sujet est vivement conseillée.

Enfin, il paraît important d'organiser un suivi des pratiques de kinésithérapie par une consultation annuelle avec un kinésithérapeute travaillant dans le centre dans lequel l'enfant est suivi. Il est très important en pédiatrie, que, dès que possible l'enfant devienne autonome dans la gestion de sa kinésithérapie quotidienne. Ceci suppose une bonne coordination entre l'équipe soignante, la famille et le malade.

## **b- L'antibiothérapie**

### - Généralités

Il ne fait aucun doute que l'antibiothérapie a largement contribué à l'allongement de la durée médiane de survie et à l'amélioration du pronostic fonctionnel de la maladie. Jusqu'à présent, elle n'a jamais été remise en question, en particulier par les théories de l'inflammation précoce. Elle doit être adaptée individuellement à l'état clinique et fonctionnel du patient et à sa flore de colonisation bronchique. Sa cible essentielle est l'infection bronchique chronique à *Pseudomonas aeruginosa* et son objectif n'est pas l'éradication du germe mais la diminution de l'inoculum bactérien. Les critères d'évaluation sont essentiellement cliniques et fonctionnels. L'antibiothérapie ne se conçoit qu'en association aux autres grands axes thérapeutiques que sont la lutte contre l'obstruction bronchique et le maintien d'un bon état nutritionnel. Certains grands principes de l'antibiothérapie sont communs aux patients atteints de mucoviscidose. Il faut noter que dans la mucoviscidose, les recommandations en matière clinique reposent plus sur l'expérience acquise que sur des données objectives.

- Le choix du traitement est adapté aux résultats de l'ECBC (type de germes et antibiogramme).
- On utilise des associations de 2 antibiotiques de classes différentes voire de 3, afin de rechercher un effet synergique et de ralentir l'émergence de souches résistantes.
- L'antibiothérapie est prolongée au moins 15 jours.
- Une alternance des antibiotiques utilisés est conseillée quand elle est possible, mais il est souhaitable de débiter par la ticarcilline et la pipéracilline si les germes y sont sensibles et si ce traitement s'avère efficace.
- Les drogues sont prescrites en général à forte dose du fait des particularités pharmacocinétiques de ces patients : augmentation du volume de distribution, des clearances métaboliques et rénales (*Tableau 4 et 6*). Les posologies conseillées ont surtout été établies chez l'enfant.
- Il faut veiller aux interactions médicamenteuses.
- Pour des raisons humaines et économiques, le développement des cures d'antibiothérapies intraveineuses à domicile est en pleine expansion. De plus, elles ont l'avantage de diminuer les risques d'infections nosocomiales et de contaminations croisées.
- Les conséquences psychologiques de la lourdeur des traitements et des politiques de ségrégation des patients colonisés par des germes multirésistants sont à prendre en compte.

#### - Les difficultés du traitement antibiotique

L'action des antibiotiques est limitée par des obstacles à leur pénétration ainsi que des facteurs d'inhibitions propres à la mucoviscidose.

##### ❶ *Obstacles à la pénétration des antibiotiques*

La mucoviscidose est caractérisée par des sécrétions bronchiques anormalement épaisses qui sont mal évacuées par la clairance mucociliaire et qui s'accumulent, obstruent les petites voies aériennes et provoquent la formation de bronchectasies d'amont. De ce fait, on conçoit donc que la pénétration des antibiotiques soit difficile dans ces sécrétions déshydratées et stagnantes au sein des dilatations bronchiques, réalisant de véritables poches de rétention purulentes. L'enkystement des bactéries rend également difficile la pénétration des antibiotiques. En effet, plus de 95% des patients ayant une mucoviscidose sévère sont

contaminés par *P. aeruginosa* qui synthétise des exopolysaccharides notamment de l'alginate. Certaines souches dites « mucoïdes » en produisent des quantités importantes. La production d'une masse importante d'alginate à la surface de la bactérie aboutit à la formation de microcolonies enkystées au sein d'un biofilm ou « slime », véritable écran à la phagocytose et à la réponse immunitaire mais également à la pénétration des antibiotiques.

### ② *Diminution de l'activité intrinsèque des antibiotiques*

Le mucus des sujets atteints de mucoviscidose possède de puissants facteurs d'inhibition, notamment pour les aminosides. Seules des concentrations 25 fois supérieures à la CMI permettent de surmonter cet antagonisme. Plusieurs facteurs peuvent expliquer ce phénomène : acidité du pH des sécrétions bronchiques, présence de cations divalents (notamment le calcium) fixant les aminosides par l'intermédiaire des alginates, adsorption des aminosides sur l'ADN et les mucines.

L'activité des  $\beta$  lactamines, dont le point d'impact principal est l'inhibition de la synthèse de la paroi des bactéries en phase de multiplication, est également réduite du fait

- de la multiplication ralentie des bactéries « en dormance » au sein du slime, conséquence de l'anaérobiose locale et de la forte charge bactérienne,
- de la modification de l'enveloppe bactérienne en acides gras, phospholipides, protéines, exopolysaccharides et enzymes, conséquence de l'apport réduit de nutriments.

### ③ *Des cibles bactériennes incertaines*

Il faut également noter que l'inefficacité des antibiotiques peut parfois être expliquée par un mauvais diagnostic de la cible bactériologique. Il est en effet très difficile d'avoir une idée précise de la représentativité de la forme des crachats par rapport à celle développée au contact de l'épithélium bronchique. Il est impossible de savoir si les germes isolés dans les expectorations sont réellement à l'origine de la dégradation bronchopulmonaire observée au cours des poussées ou s'ils n'en sont que témoins.

De plus, l'infection est vraisemblablement hétérogène selon les territoires. Ainsi, dans des zones très détruites et mal ventilées se drainant mal, on peut méconnaître certains germes présents dans ces territoires quasi exclus du système bronchique. Enfin, des germes non recherchés de façon systématique (virus, mycobactéries atypiques, mycoplasmes, chlamydiae...) peuvent ne pas être identifiés.

#### ④ Une double conséquence pharmacodynamique

Tout ceci est responsable d'une double conséquence pharmacodynamique : nécessité d'une forte concentration d'antibiotiques in situ et implication en matière de stratégie d'antibiothérapie.

Ainsi, l'obtention de forte concentration in situ a un triple but :

- Favoriser la pénétration des antibiotiques : il est logique de penser que de fortes concentrations d'antibiotiques favorisent leur pénétration au sein du mucus et contrebalancent les puissants facteurs locaux d'inhibition des antibiotiques. On estime généralement qu'il faut avoir des concentrations de l'ordre de 5 à 10 fois la CMI dans les sécrétions bronchiques pour obtenir un effet bactéricide.
- Favoriser la persistance de la molécule dans les sécrétions bronchiques : l'appareil bronchopulmonaire semble se comporter comme un compartiment profond au sein duquel l'antibiotique s'accumule tout au long de la cure. De fortes doses unitaires permettent d'emblée des concentrations efficaces qui se maintiennent longtemps.
- Eviter l'émergence des mutants résistants : l'apparition des mutants résistants est directement liée à la charge bactérienne. De fortes concentrations bronchiques d'antibiotiques en association en limitent le risque.

#### - Les principaux antibiotiques utilisés (Tableau 5)

##### ① Les aminosides

Ce sont des antibiotiques concentration-dépendants, ce concept tend à favoriser leur administration en dose unique journalière. En effet, la concentration et la persistance de fortes doses in situ sont corrélées au pic sérique et donc à la dose unitaire. De plus, outre l'augmentation de l'efficacité bactériologique, la dose unique journalière a l'avantage d'un effet post-antibiotique accru et d'une moindre néphrotoxicité.

Les aminosides les plus utilisés sont : amikacine et surtout tobramycine.

##### ② les $\beta$ -lactamines

Ces antibiotiques ont une activité temps-dépendante et le temps au-dessus de la CMI est le meilleur facteur prédictif d'efficacité. Le régime d'administration continu favorise la rémanence de concentrations sériques en permanence au-dessus de la CMI, et de ce fait une meilleure activité bactéricide que le régime d'administration discontinu.

On emploie essentiellement les carboxypénicillines (ticarcilline), les uréidopénicillines (pipéracilline), et leur association aux inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases, mais également les céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération (ceftazidine, céfépime, cefpirome).

### ③ *Nécessité d'une bithérapie $\beta$ -lactamine-aminoside*

Le traitement de référence des poussées de surinfection bronchique à *P. aeruginosa* au cours de la mucoviscidose repose sur l'administration, par voie parentérale pendant deux à trois semaines, d'une  $\beta$ -lactamine associée à un aminoside. L'adjonction d'un aminoside potentialise l'action bactéricide relativement médiocre des  $\beta$ -lactamines vis-à-vis de *P. aeruginosa* et des germes apparentés. Cette synergie peut même être obtenue sur des souches résistantes aux  $\beta$ -lactamines, mais sensibles aux aminosides. Par ailleurs, le risque de sélection de mutants résistants aux antibiotiques étant majeur compte tenu de l'inoculum bactérien, l'association permet de s'opposer à leur apparition.

### ④ *Les fluoroquinolones*

Les fluoroquinolones, notamment la ciprofloxacine, même si leur autorisation de mise sur le marché est réservée aux patients de plus de 15 ans, sont une alternative dans le traitement du pyocyanique. De principe, la ciprofloxacine ne doit pas être utilisée seule, au risque de l'apparition rapide de résistances. On peut l'associer à des aérosols de colistine et/ou d'aminoside.

**Tableau 4 :** *Clairance rénale des antibiotiques au cours de la mucoviscidose (77).*

*Tableau 5 : Antibiotiques utilisés chez l'enfant (49).*

**Tableau 6 : Demi-vie de quelques antibiotiques utilisés dans la mucoviscidose (77).**

- Des stratégies thérapeutiques différentes selon l'infection

❶ *Staphylococcus aureus*

En première intention, on a recours à une monothérapie par voie orale (VO) pendant 14 jours. Si malgré le traitement une aggravation clinique, radiologique ou, biologique est constatée, on proposera une bithérapie. En cas d'échec la voie intraveineuse (IV) peut être utilisée. On utilise le plus souvent : ampicilline + acide clavulanique, oxacilline, sulfaméthoxazole/triméthoprime voire céphalosporines orales ou quinolones.

❷ *Haemophilus influenzae*

En général, on a recours à une monothérapie par voie orale pendant 14 jours avec souvent l'association amoxicilline + acide clavulanique.

❸ *Pseudomonas aeruginosa*

Traitement de la primo-infection par P.aeruginosa

L'antibiothérapie doit être immédiate dès l'identification du germe. Elle permet souvent une éradication généralement transitoire, du germe et retarde le passage à la chronicité de plusieurs mois à quelques années.

Deux modalités de traitement sont proposées :

- Association de deux antibiotiques par voie IV pendant 3 à 6 mois. Une surveillance mensuelle des ECBC dépistera la réapparition de P.aeruginosa pouvant indiquer rapidement une deuxième antibiothérapie par voie IV.

- Ciprofloxacine par VO pendant 2 à 3 semaines parfois d'avantage, associée à des aérosols de colistine pendant 3 mois.

#### Au stade de l'infection chronique par P. aeruginosa

La présence de P.aeruginosa dans 3 ECBC sur une durée de 6 mois définit la colonisation chronique.

Le débat porte essentiellement sur le rythme de réalisation des antibiothérapies par voie IV, à savoir, *traitements systématiques séquentiels* (14 jours de bithérapie 3 ou 4 fois par an) préconisé par l'école danoise ou *à la demande* en fonction de la dégradation clinique et fonctionnelle définissant *l'exacerbation aiguë* (il faut traiter sur des critères d'exacerbation minimales, ce qui aboutit à réaliser au moins 2 à 3 antibiothérapies IV annuelles).

Lorsque le patient s'aggrave ou que l'efficacité de l'antibiothérapie IV est moyenne, le traitement peut être prolongé par ciprofloxacine per os pendant 15 jours, associée à des aérosols de colistine ou tobramycine. Dans quelques cas, l'aérosol thérapie antibiotique peut être quasi continu dans l'année.

### **c- Autres traitements**

#### - Les bronchodilatateurs

L'utilisation régulière de bronchodilatateurs est indiquée chez les patients ayant une amélioration significative de leurs paramètres obstructifs lors de tests effectués au cours des explorations fonctionnelles respiratoires.

La réponse aux bronchodilatateurs augmente avec l'âge et le degré d'insuffisance respiratoire et les tests de bronchodilatation sont plus souvent positifs chez l'adulte que chez l'enfant. Ainsi, 40 à 70% des adultes sont dits répondeurs aux  $\beta$ 2-mimétiques ou aux anticholinergiques, 25 à 50% d'entre eux ont sous ces traitements une réversibilité de plus de 15% des valeurs fonctionnelles de bases. Les bronchodilatateurs apparaissent efficaces au cours des poussées d'exacerbation. Cependant peu d'études ont été publiées sur l'efficacité des traitements bronchodilatateurs au long cours.

## - Les modificateurs des sécrétions bronchiques

### ① *La DNase recombinante ( rh Dnase )*

La morbidité et la mortalité de la mucoviscidose dépendent essentiellement de l'atteinte respiratoire. Celle-ci se caractérise par une obstruction des voies aériennes due à l'accumulation d'un mucus visqueux, épais et déshydraté. L'inflammation et l'infection bronchiques chroniques qui en résultent, évoluent vers la détérioration progressive de la fonction respiratoire. La viscosité du mucus est en grande partie liée à l'abondance d'ADN issu des noyaux des polynucléaires neutrophiles en dégénérescence. La désoxyribonucléase recombinante humaine (rh Dnase) est une enzyme capable d'hydrolyser l'acide desoxyribonucléique extracellulaire produit par la lyse des cellules détruites et présent dans les expectorations épaisses et purulentes de l'enfant. Cette molécule permet donc, de fluidifier les sécrétions bronchiques et d'améliorer la fonction respiratoire des patients atteints de mucoviscidose. Ainsi, la dornase alfa ou Pulmozyme® disponible en France depuis 1994 (réservée à l'hôpital) correspond à une avancée thérapeutique significative dans le traitement de l'encombrement bronchique des patients atteints de mucoviscidose. Son efficacité et sa bonne tolérance ne sont plus à démontrer. De nombreuses équipes ont publié leur expérience et confirmé les résultats de l'étude américaine de référence montrant l'amélioration des paramètres fonctionnels respiratoires dès la première semaine de traitement.

### ② *Les autres modificateurs des sécrétions bronchiques*

- Les mucomodificateurs classiques (N acétylcystéine...) portent des groupements thiols capables de rompre les ponts disulfures au sein de la structure polymérique du mucus. Leur efficacité est variable, plus importante semble-t-il par voie inhalée que par voie orale, mais aucune preuve de leur efficacité n'a été faite dans la mucoviscidose. De plus, ils se sont vus retirer récemment l'autorisation de mise sur le marché pour leur utilisation en inhalation.
- Les solutions hypotoniques sont à proscrire car irritantes

## - Les anti-inflammatoires

L'existence d'une inflammation des voies aériennes marquée chez l'adulte atteint de mucoviscidose, y compris dans les formes peu sévères permet d'envisager l'utilisation des traitements anti-inflammatoires. Cependant leur place dans l'arsenal thérapeutique est encore à déterminer. D'ailleurs c'est probablement dans les formes précoces, et donc plutôt chez l'enfant que chez l'adulte, qu'elle est plus séduisante et prometteuse.

### ① *La corticothérapie systématique*

Les essais thérapeutiques de corticothérapie prolongée par voie orale à fortes doses dans une population pédiatrique ont montré une amélioration des paramètres respiratoires aux prix d'effets secondaires inacceptables. L'intérêt des corticoïdes en association aux traitements classiques, au cours des épisodes d'exacerbation, en particulier chez les patients les plus graves, n'est pas formellement démontré.

### ② *La corticothérapie inhalée*

L'utilisation des corticoïdes inhalés (budesonide et fluticasone) n'a pas été validée par les essais thérapeutiques. En effet, bien qu'ils améliorent les marqueurs biologiques de l'inflammation, ils ne modifient pas les paramètres fonctionnels de façon significative.

### ③ *Les anti-inflammatoires non stéroïdiens*

Aucune étude n'a démontré leur efficacité chez les patients adultes. Cependant il est couramment prescrit de l'ibuprofène.

## **d- La transplantation pulmonaire ou cardiopulmonaire**

La transplantation est l'ultime recours au stade de l'insuffisance respiratoire, lorsque le patient devient totalement dépend de l'oxygénothérapie, voire de l'assistance ventilatoire non invasive. Les résultats à moyen terme restent médiocres et la rareté des donneurs demeure un facteur limitant majeur.

## **2- Prise en charge des manifestations gastro-intestinales**

Le principal trouble à traiter est le RGO. Sa prise en charge est débutée dès l'identification du reflux qu'il soit symptomatique ou cliniquement parlant. Elle repose sur des mesures diététiques usuelles et l'utilisation de prokinétiques. Pour des reflux sévères avec oesophagite, il faut réduire la sécrétion d'acide gastrique par des anti-H<sub>2</sub> voire des inhibiteurs de la pompe à protons. Les formes rebelles au traitement médical relèvent de la chirurgie.

La constipation qui peut être banale dans la mucoviscidose est cependant fréquemment associée à une colopathie fonctionnelle et est sensible à des mesures hygiéno-diététiques simples. Dans le cas de constipation rebelle allant jusqu'à un trouble occlusif, on pourra avoir recours à des mucolytiques, à l'hydratation, à l'usage de prokinétique ou encore à des solutés hyperosmolaires.

### **3- Prise en charge hépatique**

En fonction de la surveillance biologique et échographique, on pourra être amené devant des perturbations confirmées à prescrire de l'acide ursodésoxycholique à des posologies élevées (20mg/kg).

### **4- Prise en charge nutritionnelle**

Un bon état nutritionnel des patients atteints de mucoviscidose doit être le souci permanent du médecin car cela participe à l'amélioration de leur espérance de vie. L'alimentation doit être libre, hypercalorique et normolipidique, adaptée aux goûts de l'enfant et à son âge. On y associe un supplément optimal en extraits pancréatiques, vitamines liposolubles et minéraux.

#### **a- Les extraits pancréatiques gastroprotégés (EPGP)**

Les EPGP (Alipase®, Créon®, Eurobiol ®) sont indiqués en cas d'insuffisance pancréatique exocrine. Ils sont à prendre en début et/ou en milieu du repas dès lors qu'il contient des graisses. On définit un extrait pancréatique par le nombre d'unités de lipase qui varie de 8 000 à 25 000 UI lipase/gélule. Selon la composition du repas et le degré de l'insuffisance pancréatique, les besoins sont variables. Il faut essayer de trouver le meilleur équilibre digestif possible. L'adjonction de bicarbonates ou la prescription d'anti-H<sub>2</sub> diminuant l'acidité gastrique peut être nécessaire chez certains enfants pour améliorer l'activité des EPGP.

## **b- L'alimentation**

Dès le plus jeune âge il est important de faire bénéficier l'enfant d'une alimentation hypercalorique. Le régime ne doit pas être restreint en lipides, ainsi l'apport lipidique représente 35 à 45%, celui des protéides 10 à 15% et celui des glucides 45 à 55%. Sur le plan qualitatif, l'apport en acides gras essentiels paraît nécessaire et pourrait jouer un rôle métabolique spécifique dans la mucoviscidose. Les apports hydriques doivent être suffisants pour permettre une bonne hydratation des sécrétions

Chez le nouveau-né l'allaitement maternel est largement conseillé. Cependant en complément ou en cas d'impossibilité d'allaitement on utilise les formules lactées habituelles que l'on enrichit en dextrine maltose, farine sans gluten, voire huile de tournesol ou de maïs dès la diversification. Le nombre de biberons est souvent majoré de un par rapport au nourrisson du même âge. L'insuffisance pancréatique justifie la prescription d'EPGP avec tous les types de laits y compris le lait maternel. La dose habituelle est de l'ordre d'un quart d'une gélule pour 120 ml de lait. Enfin, les étapes de la diversification sont identiques à celles des autres nourrissons. Si la courbe de croissance n'est pas satisfaisante malgré l'adaptation des EPGP, il faut réévaluer et adapter les apports. L'enrichissement calorique doit être adapté au cas par cas. Si la courbe de poids est satisfaisante, le régime normal doit être maintenu.

Au moment de la puberté, la croissance staturopondérale s'accélère et les besoins énergétiques sont donc accrus. Des carences nutritionnelles peuvent retarder la maturation pubertaire et favoriser les infections. L'équilibre alimentaire doit donc être maintenu et contenir un apport énergétique élevé auquel il faut associer des suppléments en vitamines et minéraux.

Enfin, c'est fréquemment à l'adolescence que les infections pulmonaires se multiplient aboutissant à une dégradation de la fonction respiratoire qui s'intrique avec une dénutrition d'installation insidieuse. Il faut alors souvent commencer une assistance nutritionnelle.

### **c- Les vitamines liposolubles**

Elles seront prescrites chez tous les patients insuffisants pancréatiques. L'administration doit se faire au cours des repas avec les extraits pancréatiques. La posologie sera adaptée aux dosages sériques annuels de surveillance.

Vit A            5000- 10000 UI/j

Vit D            400- 2000 UI/j

Vit E            50 UI à 400UI

Vit K            5 mg tous les 3 ou 7 jours jusqu'à l'âge d'un an, lors de cholestase ou en cas d'antibiothérapie continue.

### **d- Les minéraux et oligoéléments**

Les besoins en sodium sont plus élevés que pour tout autre nourrisson ou enfant surtout en période chaude, il est donc souhaitable de supplémenter les biberons puis les repas. Ceci peut se faire jusqu'à l'âge de 1 an sous la forme d'une solution de chlorure de sodium en ampoule, puis de 1 an à 5 ans sous forme de sachets de sel ou en salant l'alimentation. Après 5 ans, un supplément de 1,5 à 3 g de sel est conseillé.

L'apport supplémentaire de fer et d'oligoéléments demeure imprécis.

### **e- Assistance nutritionnelle**

Lorsque la supplémentation orale fractionnée ne permet pas la reprise pondérale, il devient alors nécessaire de débiter une assistance nutritionnelle la moins agressive possible. On a recours à la nutrition entérale nocturne par voie nasogastrique. Le choix du mélange nutritionnel est basé sur les principes classiques de la nutrition entérale et dépend des équipes. L'essentiel est que le mélange nutritif choisi soit équilibré en glucides, lipides, protides, électrolytes. Il n'y a pas de moyen pour assurer l'apport d'extraits pancréatiques pendant la nuit, il est conseillé de prendre des extraits pancréatiques au début de la nutrition entérale et au moment de se coucher.

---

## ***PARTIE 2***

---

***Le dépistage néonatal systématique de  
la mucoviscidose ;***

***Mise en place en Loire-Atlantique  
et Vendée.***

# **I- Critères de choix d'un dépistage néonatal systématique. Application à la mucoviscidose.**

## **1- Indications pour un dépistage de masse (68)**

La pratique du dépistage de masse doit être distinguée de la pratique du dépistage individuel. En effet, le dépistage de masse se caractérise par sa cible (une population) et par son contenu (structuration et standardisation stricte de la procédure de dépistage).

La mise en place d'un programme de dépistage de masse nécessite de s'assurer que ce programme sera bénéfique à la population cible, c'est-à-dire efficace en terme de modalité, de morbidité ou de qualité de vie et le plus efficient possible quant aux ressources engagées par rapport aux résultats obtenus. Ainsi l'indication d'un dépistage de masse repose sur un ensemble de connaissances concernant aussi bien la maladie ou « l'état à risque » que l'on cherche à dépister, le test que l'on souhaite employer et la population concernée.

### **a- La maladie**

Il est nécessaire de bien connaître la maladie et notamment les caractéristiques du stade pré-symptomatique puisqu'il s'agit de la période de la maladie sur laquelle repose le dépistage. Il faut s'assurer que la maladie est curable, fréquente et qu'un traitement précoce en diminuera les conséquences.

### **b- Le test**

Pour un dépistage de masse, le test doit avoir :

- une bonne valeur diagnostique, c'est-à-dire être sensible et spécifique

- des conséquences limitées en terme physique ou psychique pour la personne qui en « bénéficie »
- être simple, rapide dans sa réalisation et son interprétation
- présenter un coût limité

### **c- La population**

Il est nécessaire :

- de connaître la population cible (caractéristique, localisation...)
- de s'assurer que la maladie est socialement reconnue et acceptée
- de sensibiliser la population à la maladie et à l'intérêt de son dépistage
- de s'assurer que le test est acceptable physiquement et psychologiquement
- de prévoir l'accès aux structures de dépistage

En fait, un dépistage de masse est utile s'il permet d'améliorer l'état de santé de la population cible. Cela implique que l'ensemble de la population cible soit couverte par le dépistage de façon systématique et active (ce qui ne signifie pas obligatoire).

## **2- Les critères de choix d'un dépistage systématique néonatal**

### **a- Les critères de Wilson (93,95)**

C'est en 1968 que Wilson énonce dans son cahier des charges les principes qui doivent être retenus pour qu'une maladie soit dépistée en période néonatale. Ses critères sont les suivants :

- la maladie doit être un réel problème de santé publique mais également connue et comprise
- le dépistage doit être acceptable par la population
- il faut qu'il existe des possibilités thérapeutiques et que les tests soient simples et puissent s'inscrire dans une stratégie de dépistage néonatal
- la méthodologie doit être fiable
- il faut que le diagnostic puisse être réalisé en période pré-symptomatique

- il doit exister une continuité du programme de dépistage
- le rapport coût/efficacité doit être évalué

Ces critères peuvent donc être classés en 4 catégories : la maladie, le repérage des malades, l'information, le programme de prévention de la maladie.

#### - La maladie

Elle doit être :

- connue et bien décrite
- fréquente c'est à dire supérieure à 1/1 5000 naissances
- grave
- traitable

#### - Le repérage des malades

Il doit :

- se faire à un stade pré-symptomatique, c'est-à-dire avant l'existence de signes cliniques ou anatomiques sévères,
- utiliser un marqueur biologique dont le dosage est simple, fiable et suffisamment spécifique pour effectuer correctement le tri entre les sujets vraisemblablement normaux et les sujets vraisemblablement malades,
- être confirmé par des méthodes de certitudes, car le dépistage est une méthode de présomption et non de diagnostic.

- La population testée doit être informée du programme et donner son acceptation

#### - Le programme de prévention de la maladie

Il doit :

- être prévu à long terme, il s'agit d'une action de santé
- être efficace : repérer le maximum de malades
- être utile : le bébé doit en tirer un bénéfice direct
- avoir un avantage économique

## **b- Critères de choix décrits par Farriaux et Holtzman (72)**

Ils sont divisés en 3 catégories. La maladie doit avoir certaines caractéristiques qui rendent le dépistage utile, les tests doivent être disponibles afin de la détecter, et, enfin, le dépistage est conduit au sein d'un système qui gère celui-ci afin d'en contrôler l'efficacité.

### - Les caractéristiques de la maladie

La maladie doit :

- être caractérisée par un marqueur ayant une valeur prédictive ou diagnostique correcte
- être bien individualisée de façon à poser le diagnostic sans ambiguïté
- avoir une certaine prévalence que l'on estime à 1/15000

La maladie doit avoir des conséquences suffisamment graves mais doit en même temps pouvoir être dépistée avant l'installation des troubles sévères

Enfin, le dépistage doit avoir pour but un traitement qui a pour effet de modifier significativement le cours naturellement défavorable de la maladie.

*Tableau 7 : Les maladies dépistées au Centre de Biochimie du Service de Génétique du CHU au Sart Tilman et leurs caractéristiques principales (72).*

## - Les caractéristiques du test

### ❶ *La reproductibilité*

Le test doit pouvoir être réalisé dans différents laboratoires avec des résultats équivalents. Pour les dépistages de la mucoviscidose, de la phénylcétonurie, et de l'hypothyroïdie congénitale des contrôles de qualité existent à l'échelle mondiale et regroupent une trentaine de centres.

### ❷ *La validité*

Le test est plus ou moins valide selon la capacité à distinguer les individus atteints de la maladie du reste de la population dépistée. La validité dépend de certains paramètres tels que :

- La sensibilité ; c'est-à-dire que la capacité du test à fournir un résultat positif chez le sujet atteint doit être idéalement supérieure à 95%. Le nombre de faux-négatifs doit avoisiner le zéro.
- La spécificité ; c'est-à-dire la capacité du test à fournir un résultat négatif pour un sujet normal doit être idéalement supérieure à 99%. Pour cela, il est utile de pouvoir disposer d'un second test, différent du premier, plus spécifique même s'il est onéreux. Ainsi, pour la mucoviscidose une telle stratégie a été mise en place puisqu'en cas de test à la trypsine positif, la recherche de mutation est alors effectuée.

### ❸ *L'adaptabilité du test*

Ceci signifie que la mise en place d'un test à un large dépistage de masse suppose que la mise au point rende ce test simple dans son prélèvement et automatisable dans son dosage afin de diminuer le coût de la main d'œuvre.

**Tableau 8 : Les maladies dépistées et les diverses caractéristiques des tests utilisés (72).**

#### - Caractéristiques du système

- La récolte des échantillons, l'analyse et le traitement des résultats doivent pouvoir se faire dans les délais les plus brefs.
- L'information aux praticiens et aux patients est une donnée prenant toute son importance que le dépistage soit une obligation légale ou non.
- Le bénéfice économique pour la société doit être net. Théoriquement les coûts liés au dépistage et aux soins des patients diagnostiqués devraient être inférieurs à ceux du traitement médical des patients non dépistés

### **c- Les obstacles aux critères de choix du dépistage néonatal systématique de la mucoviscidose (92,97)**

#### - Faut-il élargir le dépistage ?

Si l'on suit les critères de Wilson, les maladies candidates sont :

- soit trop peu fréquentes : leucinose 1/200000  
galactosémie 1/60000
- soit peu graves : histidinémie (retard intellectuel par accumulation d'histidine dans le sang du fait d'un manque d'histidase)
- soit non traitables ou mal traitées : mucoviscidose  
myopathie
- soit difficile à repérer
- soit extrêmement chères

Cependant il est intéressant de se demander si les critères de Wilson ne devraient pas tenir compte des progrès technologiques (spectrométrie de masse, biologie moléculaire) et des acquisitions médicales ?

Ainsi, certains critères énoncés peuvent prêter à discussion lorsqu'on les applique au dépistage de la mucoviscidose. En effet même si la mucoviscidose est considérée comme l'affection grave la plus fréquente chez les enfants européens, elle ne répond pas aux deux autres critères qui sont : un procédé de dépistage fiable et sans faille et un traitement efficace. Cependant, il est tout de même difficile de retourner totalement ces deux critères contre le

dépistage de la mucoviscidose, car dès lors qu'un inconvénient est souligné, on peut le compenser par un avantage qui justifierait sa réalisation dans l'intérêt, même mineur, des enfants mucoviscidosiques et de leur famille.

#### - Quelles mesures thérapeutiques ?

Comme dans de très nombreux autres pays, ont été mis en place en France des programmes de dépistage néonatal pour la phénylcétonurie ou encore l'hypothyroïdie congénitale, grâce aux tests fiables disponibles (dosage sanguin de phénylalanine, de la TSH) car il existe un traitement (régime pauvre en phénylalanine, traitement substitutif par hormones thyroïdiennes) permettant de faire face aux conséquences de la maladie s'il est instauré précocement chez les nouveau-nés atteints, asymptomatiques à la naissance.

Pour la mucoviscidose, l'absence d'une réelle thérapeutique apparaît être un obstacle majeur à la diffusion de son dépistage. Néanmoins, ce point de vue doit être nuancé si l'on considère qu'une prise en charge précoce de l'enfant mucoviscidosique peut avoir un bénéfice sur l'évolution de la maladie et la qualité de vie. Or le diagnostic clinique de la mucoviscidose est rarement fait précocement alors que le retentissement de la maladie est précoce : 80% des enfants présentent des signes à 2 mois, 47% ont des symptômes pulmonaires et presque tous des anomalies nutritionnelles.

#### - Quel test de dépistage ?

De nombreux marqueurs ont été proposés mais du fait de leur manque de spécificité ne pouvaient pas rendre compte de façon universelle de toutes les formes de la mucoviscidose puisque son expression phénotypique est multiple.

La biologie moléculaire ne peut, à elle seule être considérée comme un test de dépistage au regard des nombreuses mutations qui peuvent affecter le gène. Elle peut cependant contribuer à améliorer la fiabilité d'un dépistage par un autre marqueur. Cela a donc conduit à développer des stratégies de dépistage plus complexes que pour les autres maladies : dosage à partir d'une goutte de sang séché du seul marqueur retenu ; la trypsine immunoréactive (TIR ou IRT) couplé à la recherche de mutations dans le gène CFTR à partir de la même tache de sang. Cependant ce protocole n'est pas aussi simple de réalisation qu'il en a l'air, et la présence de faux-positifs ou d'hétérozygotes composites ne le rend pas dans tous les cas fiables.

De plus l'introduction de la biologie moléculaire pour la recherche de mutations doit faire l'objet d'un consentement écrit par les parents et donc d'une réelle information par l'équipe médicale.

#### - La finalité du dépistage

Il est important de noter, même si les critères sont susceptibles de changer, qu'il faut insister sur le principe incontournable qu'un dépistage n'est concevable qu'en terme de « bénéfice ».

## **II- Mise en place du dépistage néonatal de la mucoviscidose.**

La France vient tout récemment de décider d'étendre le dépistage néonatal de la mucoviscidose déjà réalisé dans quelques régions, dont la Bretagne, à l'ensemble du pays. C'est en Australie que le dépistage était jusqu'à présent le plus pratiqué (dépistage de 92% des nouveau-nés). Le Royaume-Uni dépiste environ 22% des nouveau-nés et est en évolution enfin aux Etats-Unis le dépistage concerne environ 6% des nouveau-nés. Des expériences pilotes ont également été mises en place en Belgique, en Italie et aux Pays-Bas (73).

### **1- Vers un dépistage systématique de la mucoviscidose**

#### **a- En Angleterre**

Le ministre britannique chargé de la santé publique, Yvette Cooper a annoncé, le 4 mai 2001, la mise en place d'un programme de dépistage systématique de la mucoviscidose à la naissance. Elle a indiqué que le dépistage de la mucoviscidose apportera un bénéfice pour les malades dans le traitement et les soins qu'ils reçoivent et pourra « améliorer leur santé et leur développement ».

Le département de la santé a ajouté dans un communiqué que les familles auraient le choix de réaliser ou non ce diagnostic sur leurs nouveau-nés, selon les recommandations du National Screening Committee (NSC).

Cependant, les experts du ministre ne sont pas convaincus de l'utilité de cette démarche et les experts du NSC indiquent que les arguments pour ou contre le dépistage systématique sont «assez équilibrés » et que «ce programme néonatal devrait être actuellement rejeté en raison des incertitudes concernant les bénéfices à long terme pour les fonctions respiratoires, le manque d'accord sur les protocoles de dépistage, l'absence de consensus sur les soins prodigués aux patients présentant une forme de la maladie peu sévère ou l'absence de mise en place d'une organisation au niveau local ».

## **b- En France**

### - L'annonce du dépistage (2,67,96)

Sur proposition de l'Association Française de Dépistage et de la Prévention des Handicaps de l'Enfant (AFDPHE) et en fonction de l'expérience française, des travaux étrangers et des connaissances actuelles sur la mucoviscidose, le conseil d'administration de la CNAMTS (Caisse Nationale d'Assurance Maladie des Travailleurs Salariés) a accepté le financement du dépistage néonatal de la mucoviscidose. Ce nouveau dépistage est désormais inclus dans le programme national de prévention qui fait l'objet d'une convention entre la CNAMTS et l'AFDPHE.

Cette instauration progressive du dépistage néonatal systématique de la mucoviscidose en France à partir de 2001, a été annoncée le jeudi 7 décembre 2000 par M<sup>f</sup> Jean Marie Spaeth, le président de la CNAMTS. La mise en place du financement par la CNAMTS a été plus longue que prévu et ce n'est que depuis le 13 avril 2002 que l'assurance maladie finance le dépistage. En effet, il a fallu attendre la désignation des Centres de Ressources et de Compétences de la Mucoviscidose (CRCM) créés avec la circulaire du 22 octobre 2001 de la Direction de l'Hospitalisation et de l'Organisation des Soins (DHOS) pour que l'assurance maladie accepte la prise en charge. De ce fait le dépistage néonatal de la mucoviscidose a été généralisé à toute la France qu'en fin 2002.

Ainsi, après la phénylcétonurie, l'hypothyroïdie congénitale, la drépanocytose et l'hyperplasie congénitale des glandes surrénales, la mucoviscidose est donc la cinquième maladie dépistée en France dès la naissance.

Il est important de noter qu'en Loire-Atlantique et Vendée, le dépistage de la mucoviscidose par l'ANDEMEGEN existe depuis le 1<sup>er</sup> janvier 2000 grâce aux fonds privés apportés par le Conseil Général de Loire-Atlantique et Vendée, certaines mutuelles et l'association Anjou-Mucoviscidose.

Le laboratoire ANDEMEGEN dépend directement de deux CRCM (celui du CHU de Nantes pour la Loire-Atlantique et la Vendée, celui du CHU de Poitiers pour les Deux-Sèvres et la Charente Maritime).

#### - Place des différents acteurs (2,98)

##### ❶ *Rôle de l'état*

L'Etat « avalise » le programme de dépistage.

Dans le cadre de la mise en place de ce dépistage et en fonction des recommandations de l'AFDPHE, la Direction des Hôpitaux et de l'Organisation des Soins (DHOS) a fait paraître une circulaire sur l'organisation des soins pour les patients atteints de mucoviscidose. Cette circulaire permet de définir les Centres de Ressources et de Compétences pour la Mucoviscidose (CRCM) où seront adressés les enfants dépistés atteints de mucoviscidose.

En conformité avec le décret du 25 juin 2000, les laboratoires de biologie moléculaire habilités par la tutelle, réalisent en 1989 le dépistage avec l'objectif d'une efficacité maximale.

##### ❷ *Rôle de l'Assurance Maladie*

La CNAMTS assure le remboursement à l'AFDPHE des tests de dépistage, des dépenses relatives à l'information des familles et des professionnels de santé ainsi qu'à l'assurance du programme.

##### ❸ *Rôle de l'AFDPHE*

Elle a la responsabilité de l'établissement et de la gestion du programme national et travaille en étroite collaboration avec les ARDPHE. Elle a la charge d'évaluer et, si nécessaire, de

modifier les programmes de dépistage mis en place. Dans le cadre de la mise en place du dépistage de la mucoviscidose, l'AFDPHE a créé des Commissions d'Experts pour argumenter les différents problèmes inhérents à ce dépistage.

**④ Rôle de l'Association Régionale du Dépistage et de la Prévention des Handicaps de l'Enfant (ARDPHE)**

Elle a la responsabilité du programme de dépistage dans sa région dans le respect des recommandations nationales émises par l'AFDPHE. Comme pour les autres programmes, elle assure l'information des parents et des professionnels, tient les statistiques de sa région, s'assure de la bonne réalisation du programme et du respect du cahier des charges défini par l'AFDPHE.

## **2- L'ANDEMEGEN (21)**

### **a- Présentation**

L'ANDEMEGEN ou Association Nantaise pour le Dépistage et l'Etude des Maladies de l'Enfant pendant la Grossesse Et à la Naissance est une Association Régionale du Dépistage et de la Prévention des Handicaps de l'Enfant créée en 1975.

### **b- Historique**

En 1975, création de l'association grâce aux fonds apportés par un groupe de commerçants nantais lors d'une semaine commerciale. Le professeur Lerat, instigateur du projet au sein du CHU de Nantes devient président régional. L'association est alors créée au sein du service gynécologie obstétrique de la maternité du CHU de Nantes.

Ainsi depuis :

- 1975: dépistage de la phénylcétonurie
- 1979: dépistage de l'hypothyroïdie congénitale
- 1995: dépistage de l'hyperplasie congénitale des surrénales

- 1996: dépistage drépanocytose
- 2001: dépistage de la mucoviscidose sur 2 départements (Vendée, Loire-Atlantique)
- 2002: instauration du dépistage de la mucoviscidose sur les 4 départements.

### **c- Fonctions de l'ANDEMEGEN**

Depuis plus de 25 ans, l'ANDEMEGEN a en charge le dépistage systématique, chez les nouveau-nés, de 5 maladies rares et graves sans signes cliniques extérieurs à la naissance.

Le laboratoire de l'ANDEMEGEN assure le dépistage coordonné et systématique de 3 maladies: la phénylcétonurie, l'hypothyroïdie congénitale, l'hyperplasie congénitale des surrénales dans 4 départements: Loire-Atlantique, Vendée, Deux-Sèvres, Charente Maritime.

Le laboratoire assure également le dépistage néonatal systématique de la mucoviscidose depuis :

- janvier 2000, pour le département de la Loire-Atlantique
- janvier 2001, pour le département de la Vendée
- mai 2002, pour les deux autres départements.

Le regroupement de plusieurs départements permet d'avoir un assez grand nombre d'examens ce qui permet une bonne rentabilité.

### **d- Organisation de l'ANDEMEGEN**

#### - Le réseau professionnel

C'est grâce à un véritable réseau professionnel que l'ANDEMEGEN peut assurer un suivi régulier des enfants dépistés. Ce réseau est composé :

- des services d'accouchement publics et privés où sont réalisés les prélèvements et l'information des parents,
- des services de PMI (Protection Maternelle et Infantile), de pédiatrie et les médecins de ville dans le cas de naissance à domicile et pour les prélèvements de contrôle,

- d'un réseau de médecins spécialistes hospitaliers et privés dits « référents » qui assurent la prise en charge et le suivi des malades. Ils fournissent, de façon anonyme, les principales données évolutives.

Le regroupement de ce réseau dans une association nationale facilite les échanges d'informations et assure au programme une très grande souplesse sans cloisonnement des activités et des données utiles à tous.

#### - Le secrétariat

Le secrétariat de l'ANDEMEGEN est basé au CHU de Nantes. L'enregistrement de chaque prélèvement doit s'accompagner d'une numérotation par incrémentation automatique qui sera utilisée au laboratoire comme identification.

Toute maternité ou service de pédiatrie reçoit tous les mois le listing des enfants dépistés au laboratoire ainsi que les résultats. Ceci leur permet de vérifier que tous les enfants nés dans leur service ont été dépistés.

Le secrétariat gère les fichiers des prélèvements, des résultats, du suivi des résultats anormaux.

Il assure les contacts téléphoniques et écrits avec :

- les maternités pour les tests reçus et le rendu des résultats,
- le laboratoire pour les résultats normaux et anormaux et le suivi des tests de contrôle,
- les médecins traitants pour les demandes d'un prélèvement de contrôle et les demandes de convocation d'un bébé «suspect»,
- les médecins spécialistes.

Il transmet à l'AFDPHE:

- la fiche de déclaration individuelle de chaque malade comprenant la confirmation diagnostique, la prise en charge et le suivi du malade,
- les statistiques trimestrielles d'activité,
- la comptabilité en accord avec la CNAMTS selon les règles définies par l'AFDPHE,
- le bilan annuel d'activité.

### - Le laboratoire

Il est également basé au CHU de Nantes au sein du laboratoire de Biologie de la Reproduction (6ème étage HME). Le laboratoire réalise le dépistage des 4 maladies: phénylcétonurie, hypothyroïdie congénitale, hyperplasie des surrénales et mucoviscidose. En ce qui concerne la drépanocytose, il n'existe que 5 laboratoires habilités à la recherche: 1 en Guadeloupe, 2 à Paris, 1 à Lille et 1 à Marseille. Ainsi, l'ANDEMEGEN envoie sous enveloppe, chaque jour les prélèvements envoyés par les maternités à Lille.

Au laboratoire :

- les procédures doivent être précises et rigoureusement respectées,
- des contrôles internes sont régulièrement intercalés afin de déceler une éventuelle dérive technique,
- chaque résultat anormal doit être vérifié sur une autre pastille du même prélèvement,
- un cahier de paillasse doit comporter tous les incidents techniques éventuels,
- le résultat anormal doit être confié à un médecin référent nommément identifié. C'est à lui que revient la charge de joindre les parents du bébé dépisté pour confirmation du diagnostic et prise en charge thérapeutique par le spécialiste.

## **3- Le dépistage systématique néonatal de la mucoviscidose**

### **a- Historique des dépistages (25)**

En 1934, Folling, médecin norvégien, clinicien et biologiste reconnaît et décrit la phénylcétonurie. C'est l'une des plus fréquentes et des plus graves maladies métaboliques avec une évolution naturelle qui conduit inéluctablement à un retard important des acquisitions psychomotrices. L'idée de traiter les patients par un régime excluant l'acide aminé toxique (phénylalanine) s'impose.

Dès 1953, Horst Bickel, pédiatre allemand, qui peut utiliser les premiers hydrolysats de protéines appauvris en phénylalanine, publie des résultats montrant la correction de l'hyperphénylalaninémie par un tel régime et, surtout, une amélioration clinique notable, bien que limitée vue l'âge des premiers patients traités. Ainsi, se formule l'hypothèse que ce

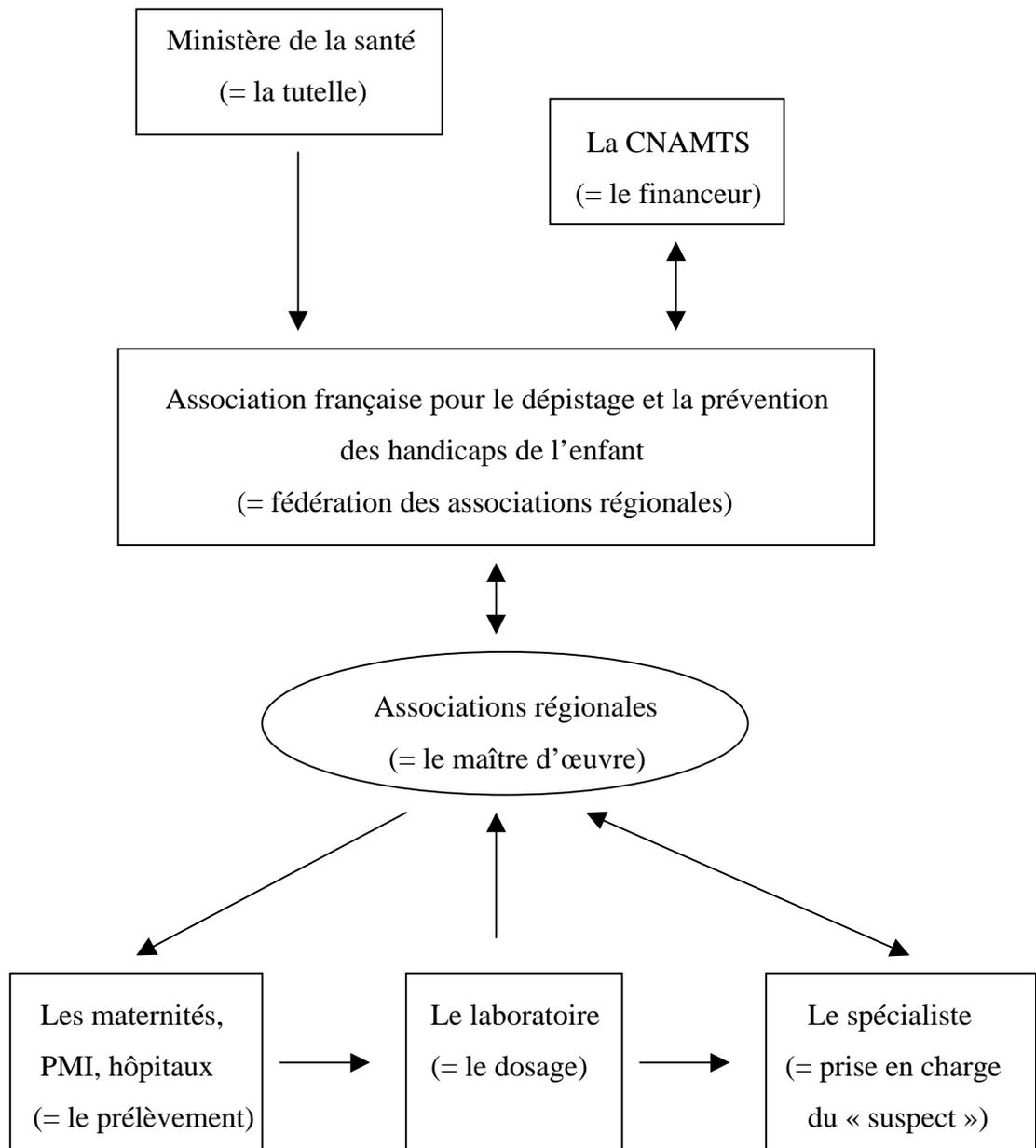
régime, à condition d'être administré très précocement, dès les premières semaines de vie serait susceptible de prévenir l'installation des dégâts neuro-anatomiques, responsables de la débilité mentale. La phénylcétonurie devenait alors la première arriération mentale évitable.

En 1963, Robert Guthrie, bactériologiste américain publie une méthode permettant d'envisager un dépistage néonatal systématique des maladies métaboliques. Cette méthode, associant un prélèvement de sang recueilli sur papier filtre et un test simple, bon marché, fut donc d'abord appliquée au dépistage néonatal de la phénylcétonurie, puis, selon les mêmes principes, a pu être rapidement proposé pour d'autres maladies métaboliques et endocriniennes.

C'est donc dès 1966, que divers centres à Paris, Lyon et Lille s'engagent dans le dépistage néonatal de la phénylcétonurie (PCU).

En 1972, l'AFDPHE, association de droit privé se crée pour mettre en place le premier programme de dépistage français et organiser dans l'ensemble des maternités françaises le dépistage de la PCU. Cette même année la CNAMTS accepte le remboursement de ce dépistage (*Figure 5*).

Ensuite vient le dépistage de l'hypothyroïdie congénitale en 1978, en 1989, le dépistage systématique de la drépanocytose dans les DOM-TOM et depuis 1985 en métropole. En 1995 débute le dépistage de l'hyperplasie congénitale des surrénales et enfin en 2000, celui de la mucoviscidose.



**Figure 5 : Réseau de dépistage néonatal en France (34).**

## b- Historique du dépistage de la mucoviscidose

### - Le BM-test méconium (41)

Dès 1950, il était remarqué que la teneur en protéine, et plus particulièrement en sérum-albumine du méconium des nouveau-nés atteints de mucoviscidose était anormale. Ceci fut confirmé en 1964. Les premiers tests de dépistage de la mucoviscidose débutèrent après la découverte de cette propriété. Ce furent des tests semi-quantitatifs utilisant des bandelettes réactives ou des méthodes immunochimiques. Cependant, il se posa rapidement le problème de nombreux faux-positifs dépistés car la mucoviscidose est l'une des causes mais pas la cause exclusive de la présence de protéine anormale dans le méconium. Il se posa également le problème, encore plus gênant, des faux-négatifs. De ce fait ce test est rapidement apparu comme un test loin d'être idéal et par la présence de ces nombreuses limites sa généralisation ne put être envisageable.

| Nombre de BM test<br>lus «+» ou «±» | Nombre de «muco»<br>dépistés | Faux-positifs | Faux-positifs<br>(Enquête<br>rétrospective) |
|-------------------------------------|------------------------------|---------------|---------------------------------------------|
| 586                                 | 27<br>13 avec iléus          | 4             | 559<br>= 0,66%                              |

**Tableau 9 :** Résultats des 83700 tests effectués entre le 1<sup>er</sup> janvier 1974 et le 31 décembre 1978 (41).

### - La trypsine immunoréactive (75)

En 1979, Crossley observa l'élévation de la concentration d'une enzyme pancréatique, la trypsine immunoréactive (TIR ou IRT), dans le sang des nouveau-nés atteints de mucoviscidose. Suite à cette observation, des protocoles de dépistage néonatal de la mucoviscidose reposant sur le dosage de la TIR furent instaurés dans certains pays. Cependant ce marqueur présentait une bonne sensibilité mais une spécificité qui était loin d'être satisfaisante. Ainsi, le manque de spécificité rendait compte d'un nombre élevé de faux-positifs, et d'autre part quelques rares faux-négatifs étaient observés.

De ce fait, les premières études pilotes évoluèrent rapidement vers une double détermination de la TIR, c'est-à-dire qu'un second dosage était réalisé 3 à 6 semaines après le premier chez tous les nouveau-nés ayant présentés une hypertrypsinémie en période néonatale.

### - Découverte du gène CFTR

En 1989, la découverte du gène et de ses nombreuses mutations a conduit à proposer dans les années 90 de coupler au dosage de la TIR la recherche de mutations du gène CFTR.

Ainsi, dans son étude RG. Gregg et ses collaborateurs (42), dans le Wisconsin, comparent le dosage de l'IRT seule et l'association dosage de l'IRT à l'analyse moléculaire du gène CFTR. Après 4 ans de dépistage utilisant un seul test d'IRT, une sensibilité de seulement 85% a été rapportée. Un abaissement du niveau seuil de l'IRT pour améliorer la sensibilité a été tenté, mais alors le nombre de faux-positifs a augmenté, requérant des tests à la sueur, ce qui a rendu cette stratégie inadaptée.

En conséquence, ils concluent que la stratégie pour le dépistage néonatal de la mucoviscidose a besoin d'évoluer vers un test de dépistage en 2 phases. De ce fait, après la découverte du gène et le développement des méthodes moléculaires pour l'analyse du gène et la recherche de la mutation delta F508 à partir de l'ADN extrait de sang séché des cartes de Guthrie, un protocole IRT associé à un test ADN fut mis en place, avec une valeur seuil d'IRT inférieure. Au bout de 9 ans, les résultats montrent un avantage du test IRT/DNA. En effet, ce protocole de dépistage a une grande spécificité et sensibilité. De plus, il y a une amélioration de la valeur positive prédictive, réduction du nombre d'enfants faux-positifs et un plus rapide diagnostic.

Dans une autre étude publiée en 1994 JL. Dhondt et JP. Farriaux (26) montrent l'existence de deux IRT différentes. Ainsi il existerait une IRT stable et spécifique de la maladie et une IRT instable et non spécifique de la maladie. Ceci explique la forte proportion d'enfants faux-positifs. De ce fait, il faudrait pouvoir différencier les enfants CF avec une forte concentration

d'IRT de ceux non CF mais ayant tout de même un taux élevé d'IRT. Dhondt et Farriaux concluent également qu'il faut associer la recherche de mutation au dosage de l'IRT quand celle-ci est élevée.

Il faut également noter que le diagnostic biologique de la mucoviscidose repose encore maintenant, sur la mise en évidence d'une élévation de chlore sudoral au moyen du test à la sueur décrit par Gilson et Cooke. Cependant le test à la sueur n'est pas interprétable dans la période néonatale et chez les prématurés. Une des explications en est un recueil de sueur insuffisant du fait de l'immaturation des transports intracellulaires au niveau des glandes sudoripares (83).

### **c- Réalisation du dépistage de la mucoviscidose**

#### - Le prélèvement (46)

C'est un prélèvement de sang réalisé par piqûre sur la face externe ou interne du talon du nouveau-né avec un vaccinostyle à pointe courte. Il doit alors se former spontanément des gouttes de sang que l'on dépose sur un carton de prélèvement en une fois pour remplir d'un coup un rond d'environ 10 mm de diamètre.

Il doit être fait dans les règles de l'art, sans surcharges (ce qui pourrait fausser le résultat puisque l'on va au laboratoire découper une pastille d'un diamètre déterminé contenant une quantité de sang précise et préalablement quantifiée). En cas de surcharge, le dosage sera surévalué et inversement minimisé en cas de prélèvement insuffisant.

L'identification nominale du nouveau-né doit être très précise et complète permettant une bonne traçabilité du suspect.

Le séchage des cartes se fait à température ambiante.

La désinfection de la peau à l'alcool ou l'alcool/éther doit être rigoureuse.

## La méthode

❶- Le prélèvement doit être réalisé à J3 soit 72 heures après la naissance (soit le quatrième jour de vie)

❷- Les parents doivent bénéficier d'une information sur les tests de dépistage. On leur remet un encart édité par l'association.

❸- Les informations nominatives demandées sur le carton de prélèvement sont capitales. Il faut remplir le carton au lit de l'enfant (pour éviter toute erreur d'identification nominale), sur une surface propre et avec un stylo bille. Il faut également s'assurer de bien remplir la carte de dépistage. Celle-ci doit comporter:

- nom + adresse de l'hôpital
- nom + adresse + numéro d'identification du patient
- sexe du nouveau-né
- nom + adresse + numéro de téléphone du médecin devant être ultérieurement informé
- heure et date de naissance
- heure et date de prélèvement
- poids du nouveau-né à la naissance
- s'il s'agit de jumeaux ou jumelles

❹- Il faut désinfecter la peau avec un mélange alcool/éther et toujours bien laisser sécher avant de piquer.

❺- Pour la piqûre, il faut utiliser un vaccinostyle, piquer à la face interne ou externe du talon et piquer franchement.

❻- il faut laisser la goutte se former spontanément, et la déposer en une fois dans le cercle pour obtenir une imprégnation identique recto-verso. Il est parfois nécessaire de réaliser plusieurs piqûres.

❼- Laisser sécher sur une surface propre non absorbante, à une température ambiante pendant 2 heures loin d'une source de chaleur.

❽- Dès que le prélèvement est sec, le mettre dans une enveloppe et la poster le jour même.

( voir figure 6 ci-joint après)

***Figure 6 : La méthode de prélèvement***

## - Le consentement (10)

### ❶ *Un consentement: pourquoi, à qui*

L'introduction de la biologie moléculaire pour diminuer le nombre de faux-positifs du dépistage induit par le dosage de la trypsine oblige à recueillir par écrit le consentement des parents comme l'exige la loi pour toute personne qui bénéficie de l'examen d'une caractéristique génétique (article L 145-15 du code de la santé publique introduit par la loi n°94-654 du 29 juillet 1994).

Il s'est alors posé la question de savoir à quels parents, il convenait de demander ce consentement écrit. Ainsi, après avis de la commission d'éthique de l'AFDPHE, le conseil d'administration de l'association a décidé que ce consentement ne pouvait qu'être demandé à l'ensemble des parents sur les 3 arguments suivants:

- Demander un consentement afin de poursuivre les analyses ne peut qu'être un facteur supplémentaire du choc psychologique secondaire à l'annonce d'une fausse nouvelle: l'enfant peut être atteint de mucoviscidose alors qu'il s'avère ne pas être malade;

- Recueillir le consentement des parents est un préalable au test de dépistage et à tout acte médical et de ce fait, il n'y a pas lieu de différencier la mucoviscidose des autres maladies dépistées;

- Le fait de recueillir un consentement écrit ne peut que favoriser l'information qui doit être donnée aux familles.

### ❷ *Recueil écrit du consentement*

Le consentement recueilli doit être:

- simple
- compréhensible de tous
- adapté au dépistage néonatal

Les parents doivent être informés de l'intérêt du test génétique qui pourrait être réalisé à distance du prélèvement. La signature d'un seul des parents est suffisante. Dans le cas de refus du consentement des parents l'étude du gène CFTR ne pourra pas être réalisée, cependant cette absence de consentement ne changera rien pour le dépistage des autres maladies (PCU, hypothyroïdie congénitale...). Le consentement est à remplir au dos du carton de prélèvement.

*(voir exemple ci-joint après)*

# **Le carton de prélèvement**

RECTO

VERSO

### - L'information (9)

C'est au médecin référent (pédiatre) de donner avant le test des informations de base aux parents leur permettant de comprendre l'acte de dépistage. Il faut toujours rappeler que les maladies dépistées sont peu fréquentes et que la probabilité à priori que l'enfant en soit atteint est faible.

Il est essentiel de présenter aux parents les bénéfices que leur enfant pourrait tirer du dépistage précoce s'il était atteint de l'une de ces maladies recherchées.

En fin de compte, l'information donnée aux parents doit comprendre:

- les principaux objectifs du programme de dépistage systématique
- les bénéfices pour les enfants atteints
- les 5 maladies dépistées: PCU, hypothyroïdie, hyperplasie des surrénales, mucoviscidose et drépanocytose (chez les enfants à risque)
- la pratique du prélèvement
- le recueil du consentement écrit, nécessaire que pour procéder, en cas de besoin, à une étude génétique par biologie moléculaire, sur le prélèvement
- le rendu du résultat: en cas de résultat positif ils seront contactés personnellement par le médecin référent.

Enfin, la remise systématique aux parents du dépliant d'informations « 3 jours, l'âge du dépistage » doit se faire en plus de l'information orale (*annexe 1*).

### - L'envoi au laboratoire (34)

L'envoi du prélèvement se fait par la poste sous enveloppe libre réponse. Il doit être quotidien pour réduire au minimum les délais de dosage et de résultat.

## **d- Aspect éthique (1)**

L'inviolabilité du corps humain est désormais inscrite dans le droit français. Elle est affirmée au titre premier de la loi relative au respect du corps humain. Le titre deux de la susdite loi précise, s'il en était besoin, que « l'étude génétique des caractéristiques d'une personne ne peut être entreprise qu'à des fins médicales ou de recherche scientifique. Le consentement de la personne doit être recueilli préalablement à la réalisation de l'étude. »

Nul ne peut donc procéder à une étude des caractéristiques génétiques d'un individu, à son insu ou, s'il s'agit d'un mineur, à l'insu des titulaires de l'exercice de l'autorité parentale. Ceci ne signifie pas pour autant que le consentement préalable, libre, éclairé, exprès et spécifique s'impose chaque fois que le dépistage néonatal d'une affection implique la mise en œuvre sur le prélèvement initial de techniques de biologie moléculaire. De manière plus générale, on pourrait dire que le consentement s'impose chaque fois que l'on traite des échantillons de sang dont on sait, au moment d'un prélèvement, qu'ils vont servir, à une recherche. Dans ce cas la personne intéressée «s'est prêtée à une recherche biomédicale », ainsi qu'il est précisé dans le titre même de la loi du 20 décembre 1988 sur la protection des personnes. Le consentement des titulaires de l'autorité parentale s'impose donc chaque fois qu'est mis en œuvre un programme expérimental de dépistage, c'est-à-dire tout programme qui n'a pas fait la preuve de sa fiabilité et dont on ne peut encore affirmer que l'on peut en attendre un bénéfice individuel direct ou indirect. Il y a encore un an le dépistage de la mucoviscidose entrait dans ce contexte et le consentement était donc indispensable. Cependant même après son lancement en test de routine, le consentement est toujours demandé puisqu'il diffère des autres dépistages de routine du fait de la recherche génétique.

Ce problème de consentement nous prouve tout simplement que nous sommes confrontés au délicat dilemme entre les droits de l'enfant, ceux des parents et ceux de la société.

De ce fait, il convient de réaffirmer que le dépistage néonatal est un acte de médecine préventive au bénéfice exclusif du nouveau-né testé. Il faut également insister sur la nécessité d'en préserver la confidentialité.

# III- Réalisation pratique du dépistage de la mucoviscidose en Loire-Atlantique au laboratoire de l'ANDEMEGEN.

## 1- Principe général du dépistage (82)

Au laboratoire de l'ANDEMEGEN a été retenu le protocole, proposé par le groupe de travail Trypsine (IRT) le 15 mai 2001.

Le protocole est le suivant :

Le dosage de la trypsine immunoréactive (IRT) est pratiqué en simple sur le prélèvement de sang séché du J3, par l'une ou l'autre des deux méthodes validées (RIA CIS bio et DELFIA Perkin Elmer) dans le respect strict des fiches techniques établies par la Commission Technique. La gestion des résultats est opérée de la manière suivante :

### ①- IRT-J3

- IRT-J3 < Seuil 1 (seuil technique ou de « retest ») : arrêt de la procédure et archivage
- IRT-J3 > Seuil 1 : vérification en double. La plus élevée des 3 valeurs obtenues guide la suite à donner (si elle est très différente des 2 autres, le dosage est répété en double et la moyenne de toutes les valeurs est prise en compte)
- IRT-J3 < Seuil 2 (seuil d'intervention à J3) : arrêt de la procédure et archivage
- IRT-J3 > Seuil 2 : le prélèvement est adressé pour biologie moléculaire et le laboratoire de dépistage avertit l'Association Régionale qui se prépare à demander un prélèvement de contrôle pour l'IRT à J21. Le seuil 2 doit être ajusté de façon à fournir un taux de positifs aussi proche que possible de 0,5%.

### ②- Biologie moléculaire

- Si une ou deux mutations parmi celles préconisées par la Commission « ADN » est (sont) trouvée(s) : l'Association Régionale avertit le médecin référent qui organise alors la

convocation de l'enfant et de la famille, selon les procédures préconisées, afin de pratiquer des tests de la sueur et contrôler l'IRT

- Si aucune mutation n'est trouvée : l'Association Régionale avertit le laboratoire IRT et envoie la demande de contrôle pour l'IRT à J21

### ③- IRT-J21

- IRT-J21 < Seuil 3 (seuil de convocation après J21) ; lettre à la famille excluant le diagnostic de mucoviscidose, arrêt de la procédure et archivage
- IRT-J21 > Seuil 3 : retour à la procédure mise en œuvre quand une ou deux mutations ont été trouvées.

|         |                                | RIA CIS bio | DELFI A PE |
|---------|--------------------------------|-------------|------------|
| Seuil 1 | Seuil technique                | 700 µg/l    | 45µg/l     |
| Seuil 2 | Seuil d'intervention à J3      | 900 µg/l    | 60 µg/l    |
| Seuil 3 | Seuil de convocation après J21 | 500 µg/l    | 30 µg/l    |

*Tableau 10 : Seuils proposés pour chaque méthodologie IRT (82).*

### ④- Suivi du protocole IRT

Chaque mois, chaque laboratoire de dépistage fera parvenir à la commission technique ses paramètres de distribution de l'IRT et le bilan réactualisé des enfants ayant été soumis à des tests de la sueur, quelle qu'en soit la raison et quels que soient les résultats (normaux ou pathologiques) de ces tests.

### ⑤- Résultats attendus

Ces commentaires chiffrés s'appuient sur une incidence de la mucoviscidose de 1/3 600, une fréquence de l'iléus méconial de 15% et une natalité annuelle de 800 000. Sur les 222 malades «attendus», 33 ont un iléus ; il reste donc 189 malades à dépister.

Si la sensibilité de l'IRT-J3 est de 98%, 185 ( $189 \times 0,98$ ) sont « dépistables », contre 4 faux-négatifs.

Avec une couverture de mutations de 80%, préconisée par la Commission « ADN », 96% des malades dépistables ont au moins une mutation ( $p=0,8$  ;  $q=0,2$  ;  $p^2+2pq=0,96$ ), soit 178 malades, dont 118 M/M (M : mutation recherchée) et 60 M/X (X : mutation non recherchée).

Par ailleurs, il faut prévoir qu'environ 10% des 4000 nouveau-nés IRT positifs sont des hétérozygotes sains, soit 400 patients M/N (N :allèle normale). Ainsi, il reste 3 422 nouveau-nés IRT positifs, sans mutation mise en évidence et parmi lesquels se trouvent 7 malades.

Ces enfants feront l'objet d'un contrôle de l'IRT à J21 et on peut estimer que 10% d'entre eux, soit 34, auront une IRT-J21 supérieure au seuil 3. Il est légitime de supposer que les 7 malades X/X seront dans ce groupe, car la probabilité qu'un malade ait une IRT-J3 positive et une IRT-J21 négative est inférieure à 1%.

| Indication du test de la sueur (TS)          | Nombre de TS | CF M/M | CF M/X | CF X/X | M/N | N/N |
|----------------------------------------------|--------------|--------|--------|--------|-----|-----|
| IRT-J3>Seuil 2 +1 ou 2 mutations             | 578          | 118    | 60     | 0      | 400 | 0   |
| IRT-J3>Seuil 2 +0 mutation + IRT-J21>Seuil 3 | 342          | 0      | 0      | 7      | 35  | 300 |

**Tableau 11 :** Nombre et résultats attendus des tests de la sueur suivant chaque indication (82).

## **2- Dosage de l'IRT (3,51)**

### **a- La trypsine immunoréactive ou immunoréactive trypsinogène (IRT ou TIR)**

Ce dosage mis au point par Crossley en 1979 est fondé sur le fait qu'une agression pancréatique induit des perturbations du mécanisme sécrétoire qui se traduisent par le déversement dans le sang d'une partie de la sécrétion. Comme le pancréas des fœtus atteints de mucoviscidose est déjà altéré, on retrouve dans leur sang, à la naissance, une certaine quantité d'enzymes.

Ainsi, le trypsinogène est l'un des principaux produits sécrétoires du pancréas humain, ce qui en fait un marqueur spécifique de la fonction pancréatique. Parmi les enzymes pancréatiques, la trypsine est la seule produite uniquement par le pancréas. Les cellules acinaires du pancréas sécrètent 2 isoenzymes majeures du trypsinogène enzymatiquement inactif, activées en trypsine lors du clivage de l'hexapeptide de l'extrémité N-terminale. La forme sanguine majeure est le trypsinogène

L'élévation des taux sanguins d'IRT et d'autres enzymes pancréatiques chez les nouveau-nés atteints de mucoviscidose est probablement due au blocage des sécrétions canalaire pancréatiques, les cellules acinaires produisant une quantité normale de proenzymes. Chez ces enfants, on a également constaté que les taux d'IRT diminuent avec l'âge, phénomène que l'on attribue à l'atrophie des acini et à leur remplacement par du tissu fibreux à l'origine du dysfonctionnement pancréatique.

### **b- L'appareillage**

Le laboratoire de l'ANDEMEGEN du CHU de Nantes est équipé d'un automate: le système automatique d'immunodosage 1235 AUTODELFIA.

Pour le dosage de l'IRT, le laboratoire commande des trousse autoDELFIA™ Néonatal IRT Kit. Chaque trousse contient des réactifs pour 1152 dosages et doit être stockée entre +2 et +8°C.

### **c- Principe du dosage**

La méthode autoDELFLIA™ IRT Néonatale est un dosage immunofluorimétrique à 2 sites sur phase solide fondé sur la technique « sandwich » directe, dans laquelle deux anticorps monoclonaux (provenant de souris) sont dirigés contre deux déterminants antigéniques distincts de la molécule IRT.

Des standards, des contrôles et des échantillons contenant de l'IRT réagissent simultanément avec les anticorps monoclonaux marqués à l'euporium (dirigés contre un site antigénique différent) dans la solution tampon. La solution tampon élué l'IRT des taches de sang séché sur le papier-filtre. Le dosage complet nécessite une seule étape d'incubation.

La solution de développement dissocie dans la solution les ions euporium de l'anticorps marqué, qui forment alors des chélates hautement fluorescents avec les composants de la solution de développement. La fluorescence est ensuite mesurée dans chaque puits. La fluorescence est proportionnelle à la concentration d'IRT présente dans l'échantillon.

*Figure 7 : Schéma de la réaction du dosage de l'IRT (3).*

### **3- La biologie moléculaire (99)**

Les cartes de Guthrie des nouveau-nés dont le taux d'IRT est supérieur au seuil 2 (seuil de retest) sont envoyées au laboratoire de biologie moléculaire de Brest, où à lieu la recherche génétique grâce au kit CF20 ELUCIGENE™.

Le kit CF20 ELUCIGENE™ permet de détecter simultanément la présence ou l'absence de 20 mutations du gène CFTR. Il s'agit donc d'un test multiplexe. Il permet également de faire la distinction entre les individus hétérozygotes et homozygotes par rapport à la mutation  $\Delta F508$ .

#### **a- Principe de la procédure**

##### - La technique ARMS™

La méthode employée par le kit CF20 ELUCIGENE™ fait appel à la technique d'amplification spécifique d'allèles ARMS™ qui détecte des mutations ponctuelles ou de petites délétions dans l'ADN. Cette technologie ARMS™ est basée sur le fait que les oligonucléotides présentant un résidu en 3' mal apparié ne fonctionneront pas comme amorces de la Polymérase Chain Reaction (PCR) dans les conditions spécifiées (*figure 8*). La sélection des oligonucléotides appropriés permet d'amplifier et de détecter des séquences d'ADN mutantes ou normales spécifiques.

##### - Principes du test

Chaque test CF20 ELUCIGENE™ comporte trois multiplexes. Le premier multiplexe identifie les gènes CFTR portant les mutations 1717-1G→A, G542X, W1282X, N1303K,  $\Delta F508$  et 3849+10kbC→T. Le second multiplexe permet d'identifier les gènes CFTR porteurs des mutations 621+1G→T, R553X, G551D, R117H, R1162X et R334W. Il permet également d'identifier les gènes ne présentant pas la mutation  $\Delta F508$ . Le troisième multiplexe permet d'identifier les gènes CFTR porteurs des mutations A455E, 2183AA→G, 3659delC, 1078delT,  $\Delta I507$ , R347P, S1251N et E60X.

L'amplification est effectuée à l'aide de l'ADN-polymérase AmpliTaq Gold™. Pour confirmer l'amplification les trois multiplexes contiennent des amorces de contrôle qui amplifient des régions spécifiques du gène B de l'apoprotéine humaine (contrôle supérieur) et

du gène de l'ornithine-décarboxylase (contrôle inférieur). La bande de contrôle supérieur pour chacun des trois multiplexes a une taille différente pour permettre une différenciation simple des multiplexes sur la photo gel.

La détection des produits créés par la procédure est effectuée par l'électrophorèse en gel et l'observation par transillumination sous UV. La comparaison visuelle de la position des bandes de produits de PCR par rapport à une traînée d'un marqueur voisin permet d'identifier la mutation.

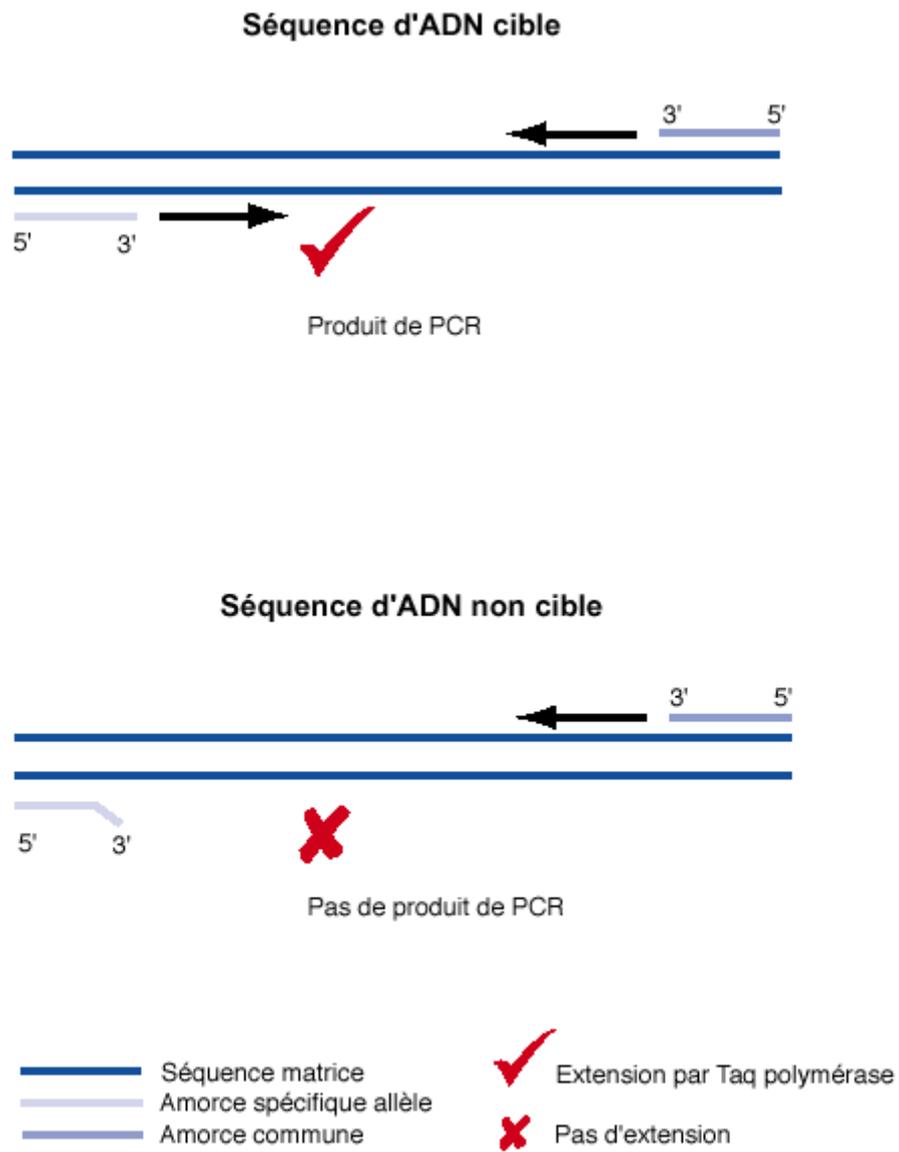
#### - Application au dépistage néonatal

La recherche génétique sur l'ADN isolé (selon un protocole très rigoureux) des tâches de sang se fait grâce au kit CF20 ELUCIGENE™. Il est important de noter que ce test ne recherche que 20 mutations, mais qu'un grand nombre des autres mutations du gène CFTR signalées jusqu'ici sont extrêmement rares et spécifiques à une population donnée. Ainsi, les mutations détectées par le kit CF20 ELUCIGENE™ ont été sélectionnées sur la base de leur prévalence publiée chez les populations caucasiennes européennes. Des mutations spécifiques à certains pays mais relativement communes ont été également sélectionnées.

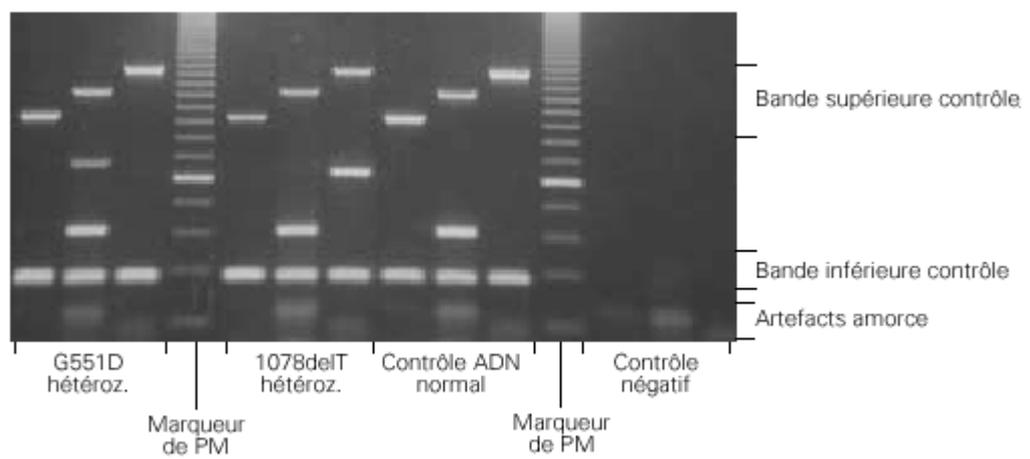
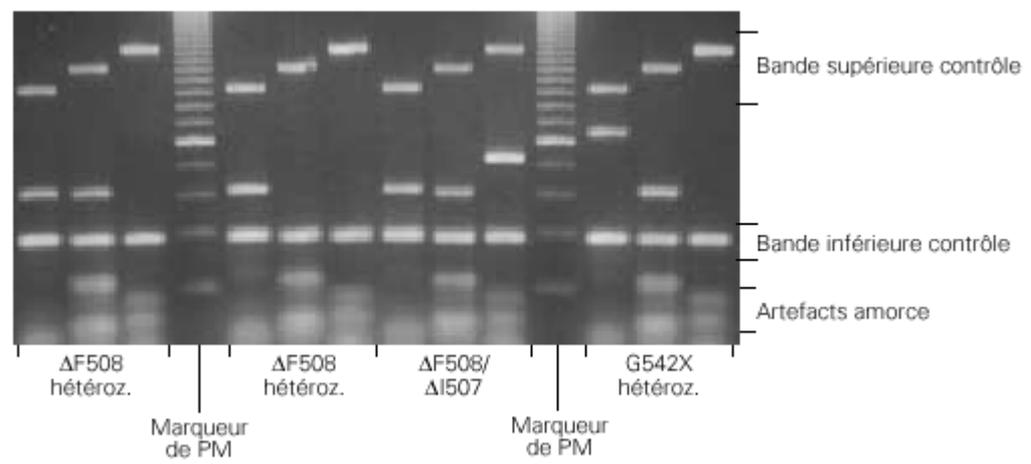
Les hétérozygotes composites du  $\Delta F508$  représentent le génotype le plus probable observé dans les populations couvertes. Le test donne également des informations sur les hétérozygotes composites potentiels des 19 autres mutations. De plus, la probabilité d'observation d'homozygotes pour les mutations autres que  $\Delta F508$  est extrêmement faible, et de nombreux homozygotes théoriques n'ont jamais été observés.

#### - Résultats types

Il s'agit là d'un exemple de résultats obtenus à l'aide du kit (*figure 9*).



*Figure 8 : Le principe de la technique ARMS™ (99).*



**Figure 9** : résultats types obtenus avec le kit CF20 ELUCIGENE™ (99).

## **4- Les limites du dépistage IRT/ DNA**

### **a- Evolution de la trypsine au cours des premières semaines de vie**

L'hypertrypsinémie n'est pas spécifique de la maladie. En effet, il existe parfois une hypertrypsinémie «normale» qui est transitoire alors que l'hypertrypsinémie associée à la mucoviscidose est beaucoup plus prolongée, débordant les trois premiers mois dans la plupart des cas (81).

C'est ce qu'observait Laroche dans son expérience de dépistage néonatal de la mucoviscidose dans la région bas-normande (47). Le dosage de la TIR avait lieu au cinquième jour de vie, et pour 0,31% des sujets le test était positif mais parmi ces nouveau-nés, 8,7% seulement étaient atteints de mucoviscidose. Les hypertrypsinémies néonatales faisaient l'objet d'un prélèvement de contrôle fait impérativement au-delà de 20 jours de vie. A cette date, la TIR est normale dans 88,8% des cas : ce sont des hypertrypsinémies transitoires fréquemment associées à une hypoxie ou une souffrance néonatale.

Les nourrissons présentant une hypertrypsinémie persistante étaient convoqués pour les tests à la sueur qui différenciaient les mucoviscidosiques (78,2% des cas) et les faux-positifs.

### **b- Problème des faux-positifs et des hétérozygotes composites**

L'apport de la biologie moléculaire devait donc réduire ces cas de figures. Or il est alors apparu un autre problème. En effet, les mutations rencontrées dans la mucoviscidose sont tellement nombreuses qu'il est impossible de les rechercher toutes. Ainsi, chaque laboratoire de biologie moléculaire en fonction de la région où il se situe ne recherche que les mutations les plus fréquentes. Ainsi lors d'une hypertrypsinémie apparaît un certain doute avec les hétérozygotes: ne seraient-ils pas porteur d'une mutation rare non recherchée qui les rendrait alors hétérozygotes composites. Dans ce cas, le laboratoire se voit alors obligé de convoquer l'enfant pour effectuer un prélèvement sanguin afin de doser l'IRT à J21.

Ceci engendre une grande appréhension et une grande angoisse chez les parents, alors que leur enfant est dans la grande majorité des cas un faux-positif.

### **c- Corrélation TIR/ $\Delta$ F508 et faux-positifs**

Dans leur étude Lecoq I. et ses collègues (48) ont remarqué que le statut génétique a une influence sur la concentration sanguine en IRT à la fois chez les nouveau-nés en bonne santé et ceux atteints de mucoviscidose. En effet, les nouveau-nés atteints de mucoviscidose ont une concentration élevée dans le sang de TIR. Lorsque l'on dépiste les nouveau-nés par dosage de la TIR, une proportion anormalement élevée de porteurs de la mutation  $\Delta$ F508 est trouvée parmi les faux positifs, ceci suggérant qu'une relation puisse exister entre la concentration dans le sang de la TIR à la naissance et le statut génétique. Ainsi, chez les nouveau-nés sains il existe une relation étroite entre la concentration néonatale de l'IRT et la fréquence des porteurs de la mutation  $\Delta$ F508. La distribution de la fréquence cumulée indique que les porteurs sains de la mutation  $\Delta$ F508 ont une concentration en IRT supérieure aux non-porteurs.

Par conséquent, le dépistage néonatal de la mucoviscidose, basé sur de forte concentration en IRT et la détermination de la mutation  $\Delta$ F508 est aussi responsable de la détection non voulue de quelques porteurs de la mutation  $\Delta$ F508 en bonne santé. Les résultats de cette étude confirment et expliquent les observations préalables d'une grande proportion de porteurs sains de la mutation  $\Delta$ F508 parmi les nouveau-nés faux-positifs détectés par dosage de la TIR.

## **5- Test de la sueur (52)**

Le test de la sueur reste le principal moyen d'investigation pour confirmer le diagnostic de la mucoviscidose après un dépistage systématique. Le test de la sueur est généralement effectué à la sixième semaine car alors à cet âge une quantité suffisante de sueur peut-être récoltée (53).

### **a- La sueur**

La sueur contient une certaine concentration de NaCl qu'il est possible de mesurer par différentes techniques. Chez les malades atteints de mucoviscidose, cette teneur est supérieure à la normale, par défaut de réabsorption, en raison d'une anomalie génétique dans la structure du canal chlore CFTR.

## **b- Réalisation du test**

Les techniques utilisées pour la réalisation du test de la sueur comportent trois temps opératoires principaux:

- obtention de la sueur
- recueil de la sueur
- détermination du taux de chlorures dans l'échantillon recueilli

### **①** *Obtention de la sueur*

Les glandes sudoripares sont stimulées pour émettre dans un temps relativement court une sueur ayant les mêmes qualités qu'une sueur émise physiologiquement. Pour cela, il faut :

- Choisir le site de stimulation : l'endroit le plus propice pour effectuer ce test se situe sur la face interne du bras, au-dessus du pli du coude. En effet, facilement accessible pour l'opérateur, la peau y est assez fine et glabre et de ce fait répond très bien à la stimulation. Ceci peut se faire aussi bien sur le bras droit ou gauche, sans aucun danger de fibrillation cardiaque. La peau doit être indemne de toutes altérations et débarrassée, par un lavage soigneux, des chlorures physiologiques résiduels. Pour cela, il est préférable d'utiliser l'eau distillée.
- Stimuler les glandes sudoripares : la meilleure technique retenue est l'iontophorèse à la pilocarpine. L'utilisation de la pilocarpine couplée à une iontophorèse permet sa pénétration dans la peau vers les glandes sudoripares. Les réactifs contenus dans différents supports (compresses ou tampons, gels d'agarose ou polymères) sont placés sur les électrodes: pilocarpine à l'anode et solution d' $\text{H}_2\text{SO}_4$  ou de  $\text{K}_2\text{SO}_4$  à la cathode. La pilocarpine sous forme cationique va migrer de l'anode positive vers la cathode négative, les deux électrodes étant appliquées sur la peau à faible distance. La pilocarpine va ainsi pénétrer sous une faible épaisseur de peau, atteindre les glandes sudoripares et stimuler la sécrétion de sueur.

## ② *Recueil de la sueur*

La sueur émise doit être recueillie, à des fins d'analyse, sans aucune altération de sa qualité.

La faible quantité recueillie rend la méthode d'autant plus délicate

La méthode de référence est le recueil sur papier filtre, décrite par Gibson et Cooke :

On pèse dans un erlenmeyer le papier filtre destiné à absorber la sueur. Puis on pose ce papier filtre sur la zone stimulée, on le maintient avec un pansement occlusif pendant 30 minutes à 2 heures. En fin de recueil, le papier filtre est à nouveau mis dans l'erlenmeyer et pesé. La différence entre les 2 pesées donne le poids de la sueur recueillie. Pour que le test soit valable, le poids de sueur obtenue doit être supérieur ou égal à 150 mg. Il faut ensuite éluer la sueur pour pouvoir déterminer la concentration en chlorure. Cette technique est difficile à bien réaliser et peut être source de nombreuses erreurs.

D'autres techniques utilisent des microcapillaires ou des cupules.

Enfin, il est possible de mesurer le taux de chlorures directement à l'endroit de l'émission sans recueil réel, par une électrode sélective posée à l'endroit de la stimulation.

C'est cette technique qui a été retenue au laboratoire de biochimie du CHU de Nantes. L'appareil utilisé pour réaliser le test de la sueur à Nantes est l' EXSUDOSE™. Ainsi on stimule les glandes sudoripares pendant une dizaine de minutes grâce à l'iontophorèse puis on place sur la zone stimulée un pansement occlusif possédant un opercule et on attend que la sécrétion de sueur se fasse. Au bout d'une dizaine de minutes, on peut soulever l'opercule et placer directement sur la peau l'électrode qui mesure le taux de chlorure dans la sueur émise. Ce test est totalement indolore et simple de réalisation.

## ③ *Détermination de la concentration en chlorures*

Il existe différentes méthodes pour déterminer la concentration en chlorures. Ces méthodes peuvent être classées en 3 catégories:

- les méthodes quantitatives (titrimétrie classique). Les résultats sont donnés en mmol de chlorures par litre de sueur.
- les méthodes semi-quantitatives (électrode sélective à chlorure, conductivité)
- les méthodes qualitatives

#### ④ Détermination de la concentration en sodium

Le dosage du sodium n'apporte pas de meilleurs résultats, les concentrations en sodium et chlorures étant proches. La concentration en  $\text{Na}^+$  est en générale plus faible et la séparation entre les deux populations (sujets normaux et malades) est moins franche.

#### ⑤ Les valeurs de références

Les valeurs de référence sont différentes selon la méthode de détermination de la concentration en  $\text{Cl}^-$  ou  $\text{Na}^+$  utilisée.

Ainsi, pour le dosage des chlorures par titrimétrie, coulométrie, électrode sélective, les valeurs chez l'enfant sont données pour un âge compris entre 5 semaines et 18 ans. Chez l'adulte, elles doivent être considérées comme indicatives :

| âge              | normale     | incertitude    | mucoviscidose |
|------------------|-------------|----------------|---------------|
| 1 mois à 18 mois | <45 mmol/l  | 45 à 60 mmol/l | >60 mmol/l    |
| adulte           | < 45 mmol/l | 45 à 70 mmol/l | >70 mmol/l    |

**Tableau 12 :** Valeurs de référence de la concentration en chlorures dans la sueur obtenue par titrimétrie, coulométrie, électrode sélective (52).

### c- Les limites du test de la sueur

Il faut noter que le test de la sueur est associé à un significatif taux de faux résultats qui ont un impact considérable dans l'implication clinique.

Il apparaît aujourd'hui que le dogme « test de la sueur normal : pas de mucoviscidose » doit être remis en question. Un test à la sueur normal n'exclut pas à chaque fois le diagnostic de mucoviscidose (76).

L'une des erreurs la plus commune est un recueil de sueur mal réalisé. Ainsi, par exemple Vicky et Le Grys, relèvent dans leur étude (84), que moins de la moitié des laboratoires participants, collectent la sueur dans le temps recommandé par le National Committee for Clinical Laboratory Standard (NCCLS). Leur étude montre également que moins de 20% des laboratoires savent que le test de la sueur ne peut se faire qu'à partir de la 48<sup>ème</sup> heure chez le nourrisson. En effet, il faut un minimum de 48 heures pour le passage des électrolytes dans la sueur après la naissance.

Cependant, le nouveau-né est un cas particulier et même si le test peut être fait dès les 48 heures il devra tout de même être refait après l'âge de 6 semaines, car à 48 heures l'obtention de sueur en quantité suffisante est difficile et le risque de faux-négatifs peut alors apparaître. C'est pourquoi, le test de la sueur n'est réalisé qu'après dosage de la TIR et recherche des mutations.

Il faut également noter qu'une source d'erreur de diagnostic peut aussi être secondaire à l'état clinique insatisfaisant du patient. Ainsi, les grandes déshydratations, les hyperthermies et les perfusions de NaCl sont connues pour donner des faux-positifs.

#### **d- Complexité de la maladie et donc du dépistage : quelques exemples**

1. En Pennsylvanie, Warren et son équipe ont rencontré un patient « atteint » d'une forme bien particulière de mucoviscidose (87).

Cet enfant avait été dépisté par le programme de dépistage néonatal, c'est à dire par dosage de l'IRT combiné à la recherche de mutation. Par ce biais, l'enfant avait été identifié initialement comme atteint de mucoviscidose. Le test de la sueur avait ensuite été effectué afin de confirmer le premier diagnostic or il s'était révélé normal, allant à l'encontre du test de dépistage.

En fait une erreur d'interprétation du diagnostic de la mutation était à l'origine du désaccord. L'enfant n'était pas homozygotes  $\Delta F508$  mais un hétérozygote composite  $\Delta F508/\Delta F508C$  correspondant à un polymorphisme non associé à la maladie. L'enfant n'était donc pas atteint.

2. En Italie, Castellani et ses collègues (16) ont étudié 2 enfants pour lesquels l'élévation de l'IRT lors du dépistage néonatal et encore 2 mois après laissait suggérer l'atteinte de CF mais

pour lesquels le test de la sueur était négatif. Cependant ces enfants étaient bel et bien atteints d'une forme atypique de mucoviscidose car les troubles de la fonction pulmonaire n'en laissaient aucun doute.

En effet, après une étude plus poussée de la séquence d'ADN, les 2 enfants sont apparus hétérozygotes composites. L'un étant R553X/D1152H et l'autre  $\Delta F508/3849+10KbC \rightarrow T$ .

Pour le second enfant, on sait désormais que la mutation  $3849+10KbC \rightarrow T$  est souvent associée à la CF et à un taux de chlore dans la sueur normal ou juste à la limite et également à une suffisance du pancréas.

3. Dans une autre étude, australienne (54) cette fois-ci, l'équipe du docteur Massie s'est posée la question de savoir pourquoi tant d'enfants avec une IRT élevée étaient détectés comme porteur d'une seule mutation  $\Delta F508$  et avaient des tests de la sueur négatifs. Il leur est alors apparu possible que quelques uns de ces enfants devaient être porteurs d'une seconde mutation qui affecterait moins sévèrement le résultat du test de la sueur. Ainsi, par exemple, les enfants hétérozygotes composites pour  $\Delta F508/R117H$  ou  $\Delta F508/5T$  ont un test de la sueur souvent négatif.

Il est donc très important de distinguer les tests de la sueur négatifs des vrais porteurs et des hétérozygotes composites car la prise en charge des enfants n'est pas du tout la même et il faut pouvoir rassurer les parents des porteurs et expliquer aux autres ce que signifie ce diagnostic qui peut paraître ambigu et peu clair.

## 6- En pratique au laboratoire de l' ANDEMEGEN

### a- Protocole suivi (*annexe2*)

Au laboratoire, si le dosage de la TIR est

- < à 45ng/ml (seuil 1) alors les nouveau-nés sont enregistrés comme négatifs.
- > à 45 ng/ml alors un second dosage est effectué à partir de la même carte de Guthrie pour vérification. C'est le retest. Dans ce cas, si le dosage est
  - < à 60 ng/ml (seuil 2) le nouveau-né est considéré comme négatif.
  - > à 60 ng/ml alors le prélèvement est envoyé en biologie moléculaire à Brest.

En biologie moléculaire, il peut se présenter trois cas de figure différents :

1/ La biologie moléculaire est positive : 2 mutations sont retrouvées. Le médecin référent est alors contacté.

2/ Une seule mutation est retrouvée en biologie moléculaire. Le médecin référent est alors contacté et les parents sont orientés vers le conseil génétique. L'enfant devra tout de même faire un test de la sueur afin de s'assurer qu'il est bien négatif et non, à tout hasard, positif ce qui pourrait signifier qu'il est porteur d'une seconde mutation rare.

3/ La biologie moléculaire est négative : aucune mutation n'est retrouvée. L'enfant devra alors subir un deuxième prélèvement sanguin afin de doser l'IRT à J21. A ce stade deux possibilités sont à envisager, selon le résultat du dosage de l'IRT :

- < à 30 ng/ml (seuil 3) alors le résultat est considéré comme négatif et le laboratoire envoie les résultats des IRT et de la biologie moléculaire au médecin traitant. Le nouveau-né n'est pas CF.
- > à 30 ng/ml alors le résultat est considéré comme positif et l'enfant doit réaliser un test de la sueur.

L'ANDEMEGEN doit remplir des fiches de suivi pour chaque nouveau cas et les faire parvenir à l'AFDPHE tous les trimestres (*annexe3*).

De plus, elle envoie à chaque maternité ses résultats sous forme de listing mensuel.

## **b- Résultats obtenus en Loire-Atlantique et Vendée depuis le lancement le 1<sup>er</sup> janvier 2000**

### - Année 2000

15 986 tests ont été réalisés.

56 cartes ont été envoyées en biologie moléculaire soit 0,35%.

7 enfants ont été détectés, ce qui revient à une incidence d'un enfant sur 2500.

Parmi les 7 enfants dépistés,

- 4 homozygotes :  $\Delta F508/\Delta F508$
- 1 hétérozygote composite :  $\Delta F508/6651D$
- 2 hétérozygotes :  $\Delta F508/?$  . Pour les 2 enfants le test de la sueur a été positif.

### - Année 2001

21 690 tests ont été réalisés.

85 cartes ont été envoyées en biologie moléculaire soit 0,4%.

7 enfants ont été détectés,

- 2 homozygotes :  $\Delta F508/\Delta F508$
- 3 hétérozygotes composites :  $\Delta F508/Y122X$   
 $\Delta F508/R117H$   
 $\Delta F508/1717-1G \rightarrow A$
- 1 hétérozygote :  $\Delta F508/?$  et le test de la sueur positif.

### - Année 2002

Le dépistage a été étendu à la Charente Maritime et au Deux Sèvres à partir du 1<sup>er</sup> mai.

28078 tests ont été réalisés.

113 cartes ont été envoyées en biologie moléculaire soit 0,4%.

6 enfants ont été dépistés,

- 4 homozygotes :  $\Delta F508/\Delta F508$
- 2 hétérozygotes composites :  $\Delta F508/R117H$ .

$\Delta F508/2184 \text{ del A}$

11 enfants n'avaient qu'une seule mutation et 96 aucune mutation.

## 7- Autres stratégies de dépistage

La stratégie actuelle de dépistage qui est celle réalisée par le laboratoire de l'ANDEMEGEN pose comme il a été vu auparavant quelques problèmes. Ainsi, le taux de faux positifs détecté par l'IRT reste relativement élevé et le recours à l'analyse génétique rend ce dépistage compliqué. En effet, il faut tenir compte :

- de la diversité des mutations génétiques qui est d'ailleurs variable selon les régions
- de la prise en charge des hétérozygotes et également des contraintes imposées par les lois sur la bioéthique

De ce fait, d'autres stratégies sont en cours d'étude. Ainsi, on peut citer l'expérience réalisée en Italie, et celle menée dans la région Provence-Alpes-Côte d'Azur qui apparaît comme la plus intéressante.

### a- Expérience réalisée à Vérone (Italie)

Dans cette expérience débutée en 1988, l'équipe italienne de Vérone, a lancé une autre technique de dépistage car Pederzini et ses collègues trouvaient le nombre de faux-positifs et de faux négatifs trop important par la mesure de l'IRT (61). Ainsi, ils ont décidé de coupler le dosage de l'IRT au dosage de l'activité de la méconium lactase (meconium lactase activity assay : LACT). Ceci signifiait que pour tous les enfants, il était effectué un prélèvement de sang à J3 et un prélèvement de méconium dès la naissance. Les deux prélèvements étant faits sur un même papier buvard et séchés comme pour le test de Guthrie. Si le taux d'IRT était supérieur à 30 µg/l, la LACT à partir du méconium séché était dosée. Plusieurs cas de figures apparaissaient alors :

- LACT > à 0,5 U/g alors un test de la sueur était effectué en moyenne au 22<sup>ème</sup> jour pour confirmer le diagnostic
- LACT négative alors un second échantillon de sang était redemandé pour redoser l'IRT. Si l'IRT était supérieure à 17µg/l alors un test de la sueur était réalisé au 40<sup>ème</sup> jour de vie en moyenne.

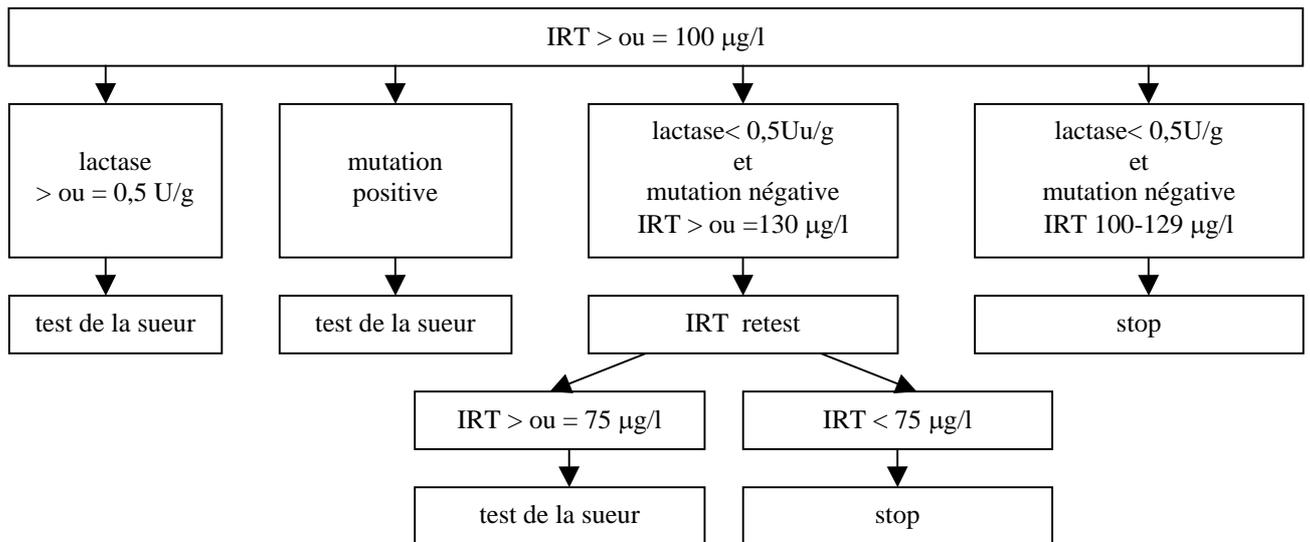
Cette étude a été réalisée sur 157 992 nouveau-nés. L'incidence retrouvée a été de 1/3510. Le seuil de valeur de la TIR à 30µg/l permettait de sélectionner 0,83% des enfants (1320 enfants)

comme potentiellement atteint de la mucoviscidose et l'association du dosage de la LACT permettait de diminuer le nombre de test de la sueur, mais aussi de rappels pour un autre échantillon de sang.

De plus, aucun faux-négatifs, 3 ans après n'a été découvert, et cette stratégie permettait de réduire la fréquence des faux-positifs.

En 1993, une étude quelque peu identique fut à nouveau menée, mais en associant cette fois-ci, la recherche de mutations au dosage de la TIR et de l'activité de la méconium lactase. Le test de la sueur étant toujours réalisé afin de confirmer le diagnostic. Castellani et ses collaborateurs (15) ont mené cette étude pendant deux ans (1993-1994) dans 95 centres hospitaliers dans deux régions du nord-est de l'Italie (*Figure 10*). Le programme a inclus 95 553 nouveau-nés et 34 enfants affectés ont été détectés par le dépistage et 1 par la présence d'un iléus méconial. La combinaison Trypsine/Lactase/Mutation a permis une meilleure sensibilité comparée aux deux autres combinaisons (Trypsine/Lactase/IRT retest ou IRT/Mutation). En effet, 34 enfants ont été dépistés versus 32 avec les deux autres stratégies. De plus, il est également apparu une plus grande spécificité avec cette méthode puisque seulement 42 faux-positifs ont été recensés versus 148. Ceci a donc permis de diminuer le nombre de rappels, cause d'une grande angoisse pour les parents.

Cette étude a également permis de voir que la fréquence des hétérozygotes porteurs d'une mutation du CFTR avec une TIR positive et un test de la sueur négatif ne cesse d'augmenter. Ceci peut suggérer l'existence d'un nombre plus important que prévu de porteurs dans la population générale ou que l'IRT peut indirectement détecter les hétérozygotes.



**Figure 10 :** dépistage néonatal de la mucoviscidose : protocole durant les années 1993-94 à Vérone (Italie) (15).

### **b- Expérience réalisée en Provence-Alpes-Côte d’Azur (France)**

La PAP (Pancreatitis-Associated Protein) est une protéine de stress pancréatique. Très peu exprimée en situation normale, sa synthèse est fortement induite au cours de la souffrance pancréatique et le niveau d’induction de synthèse reflète le degré d’atteinte de la glande. Comme la PAP se retrouve dans le sang avec les enzymes pancréatiques, ses caractéristiques d’expression originales en font un marqueur de la pancréatite plus performant que les marqueurs enzymatiques classiques (amylase, lipase ou trypsinogène).

Barthelémy et ses collègues (71) au cours de leur étude multicentrique portant sur plus de 200 000 naissances en France avaient montré que la PAP utilisée seule avait des performances comparables à la TIR utilisée seule. Ainsi, le test PAP aurait une sensibilité et une spécificité comparable à la TIR. A partir d’une telle donnée, ils ont mené une étude (6) prospective sur 47 213 nouveau-nés de la région Provence-Alpes Côte d’Azur. Parmi les enfants ayant une PAP supérieure au seuil fixé, 176 avaient également une TIR élevée. Dans cette population restreinte (0,37% du total), le test de la sueur a permis de détecter 5 enfants atteints. Depuis la clôture de l’étude (deux ans) aucun nouveau cas n’a été enregistré ce qui laisse à penser que la

sensibilité du dépistage était satisfaisante. L'ensemble des enfants dépistés par cette méthode a pu subir le test de la sueur sans sélection préalable par la biologie moléculaire, de ce fait la spécificité obtenue était suffisamment bonne. Il est donc apparu pour Barthelémy que le dépistage néonatal de la mucoviscidose par la stratégie associant les tests Pancreatitis-associated protein- TIR a des performances compatibles avec les exigences d'un dépistage de masse, sans les inconvénients de la stratégie TIR- génétique.

---

## ***PARTIE 3***

---

### ***Bénéfices du dépistage néonatal systématique de la mucoviscidose ?***

# **I- Introduction (14)**

Malgré les progrès quant au contrôle de l'état nutritionnel, de la prévention et de la prise en charge de l'atteinte respiratoire, la mucoviscidose reste une maladie incurable. Par l'analyse de sa mortalité entre 1959 et 1986, on estime que les enfants atteints nés en 1990 auront une médiane de vie de 40 ans, le double de celle des enfants nés en 1970. Grâce aux travaux originaux de Crossley et coll., la possibilité d'un dépistage néonatal systématique de la mucoviscidose existe : est-il potentiellement utile en l'absence de curabilité de l'affection ? Depuis une quinzaine d'années, des expériences régionales ont été mises en place dans différents pays : existe-t-il un bénéfice individuel réellement démontré depuis ?

## **II- Bénéfices cliniques**

### **1- Description de quelques études**

#### **a- Etude du Wisconsin (66)**

Il s'agit d'une étude prospective contrôlée, menée depuis 1985 par Farrell et al. qui devait se poursuivre jusqu'en 1999 pour le suivi respiratoire. Dans cette étude les nouveau-nés soit 650 341 enfants ont été dépistés entre 1985 et 1994 au cours de leur premier mois de vie. D'avril 1985 à juin 1991, ce dépistage de la mucoviscidose était effectué par le dosage du trypsinogène sur sang séché, puis de juillet 91 à juin 94, par association de ce dosage de TIR à l'analyse du gène CFTR, en cas de résultats anormaux. Les résultats de ces tests ont été examinés chez la moitié des enfants de façon aléatoire. En cas de résultats anormaux, les enfants étaient convoqués pour un test de la sueur : 56 enfants dont la maladie a ainsi été dépistée sont évalués dans l'étude et constituent le groupe « diagnostic précoce ».

Les enfants du groupe témoin étaient identifiés de façon classique sur la base d'une histoire familiale, de symptômes évocateurs de la maladie ou après l'examen à l'âge de 4 ans, du test effectué à la naissance; 40 enfants font partie de ce groupe.

Les enfants qui avaient un iléus méconial ont été exclus de l'étude du suivi.

Les enfants, une fois le diagnostic fait, ont été pris en charge et suivis de façon identique dans les deux centres spécialisés du Wisconsin. L'insuffisance pancréatique a été traitée par régime hypercalorique, enzymes pancréatiques et vitamines liposolubles. L'état nutritionnel a été évalué jusqu'à l'âge de 10 ans par des méthodes anthropométriques, biochimiques et l'analyse du score de Shawchman.

### **b- Etude australienne (88)**

57 enfants; « les non dépistés » atteints de mucoviscidose nés avant que le New South Wales Newborn Sreening Programme débute c'est-à-dire entre juillet 1978 et juillet 1981 ont été comparés à 60 enfants; « les dépistés » nés pendant les trois premières années de ce programme de dépistage soit de juillet 1981 à juillet 1984. Cette étude a comparé le statut clinique des 2 groupes pendant 10 ans.

### **c- Etude anglaise (27)**

Dans cette étude, menée dans le West Midland et Wales, Dodge et al. ont décidé de détecter les enfants par alternance de semaines (une semaine sur deux) jusqu'à avoir le même nombre d'enfants dépistés et non dépistés. Pour cette étude, ni le modèle ni l'emplacement du centre de soin de la mucoviscidose n'ont été modifiés. Le dépistage était fait par dosage de l'IRT à partir d'une tache de sang séché. Le prélèvement était fait dans les deux régions mais, le dosage réalisé dans un seul laboratoire, et les résultats communiqués au pédiatre responsable du bébé. Le transfert des échantillons au laboratoire impliquait un certain retard. Quand un test positif était trouvé, un nouvel échantillon était demandé et testé. Si ce second test était également positif alors un test à la sueur était effectué. Les bébés diagnostiqués soit par dépistage soit par la présence de signes cliniques continuent à être surveillés par des centres spécialisés de la mucoviscidose ou par des pédiatres selon les pratiques antérieures. De plus tous les enfants de chacune des deux cohortes étaient évalués chaque année. Ces enfants sont maintenant suivis depuis plus de 10 ans.

## **d- Etude bretonne (74)**

Pendant 10 ans, du 1<sup>er</sup> janvier 1989 au 31 décembre 1998, les enfants nés dans le Finistère, les Côtes d'Armor, le Morbihan et l'Île et Vilaine ont été dépistés pour la mucoviscidose.

Deux protocoles de dépistage ont été utilisés pendant ces 10 ans. Le premier protocole a eu lieu de 1989 à 1992 et faisait intervenir deux étapes: à J3 l'IRT était dosée à partir de sang séché par une méthode de radio-immunologie. En cas de valeur positive, un test à la sueur était réalisé à 3 mois pour confirmer. Puis en 1988, la découverte du gène CFTR a permis d'inclure dans le processus de dépistage l'analyse directe de la mutation. De ce fait un nouveau protocole a été mis en place à partir de 1992. Ainsi si le taux d'IRT était trop élevé, l'analyse des mutations génétiques était alors effectuée, par amplification directe des exons du gène CFTR.

Le test a donc évolué durant les 10 ans de l'étude, il s'est amélioré grâce à l'introduction d'anticorps, l'apparition de nouveaux kits de dépistage et au développement de la biologie moléculaire. Enfin les parents dont le nouveau-né était dépisté comme positif pouvaient alors bénéficier d'un diagnostic prénatal et d'un conseil génétique.

## **2- Les différents bénéfices cliniques**

Les premiers résultats décrits par les différentes études réalisées portent surtout sur des bénéfices à court terme et concernent essentiellement la nutrition, la croissance, les fonctions pulmonaires, la fréquence d'hospitalisation et donc la durée de survie. Cependant, il est important de noter que ces bénéfices sont dus au dépistage précoce et à l'instauration d'un traitement précoce avant même que les premiers signes de la maladie ne soient visibles car alors il est déjà trop tard.

### **a- Age au diagnostic (20)**

L'âge médian au diagnostic est beaucoup plus précoce pour les enfants dépistés. Il est inférieur à 2 mois pour les résultats des équipes pratiquant le dépistage, avec une moyenne de 4 à 6 semaines. Celui-ci serait de 7 mois en moyenne pour les enfants dont le diagnostic est

établi cliniquement, selon les données du registre américain, mais le 90<sup>ème</sup> percentile n'est atteint qu'à 12 ans. En Grande-Bretagne et en Irlande du Nord, les résultats sont similaires (respectivement 11 mois et 7 mois). Néanmoins, le fait d'établir une politique de dépistage dans une région, même si celui-ci ne concerne pas tous les enfants comme dans le Wisconsin, sensibilise les médecins au diagnostic de la maladie et favorise un diagnostic précoce.

## **b- Un traitement précoce**

Déjà en 1987, R. Gilly (40) avait constaté que très précocement, dès le diagnostic confirmé après dépistage néonatal, il existait très souvent des signes infra-cliniques (modification des acides gras sériques, altérations des compliances dynamiques et des résistances pulmonaires totales) ce qui était sans aucun doute à prendre en compte pour un traitement le plus précoce possible. Cependant même si son étude menée de 1974 à 1983 n'a pu apporter la preuve statistique du gain d'un dépistage précoce, il n'en restait pas moins convaincu qu'un traitement approprié, préventif ou curatif, même s'il n'est que symptomatique, appliqué précocement ne pouvait qu'améliorer l'état pulmonaire et nutritionnel des mucoviscidosiques. Plus récemment, Wilcken nous rappelle (89) que dans l'étude menée par son confrère dans le Wisconsin, les enfants non dépistés étaient en moyenne diagnostiqués vers l'âge de 72 semaines contre 12 semaines pour ceux dépistés. Les enfants diagnostiqués tardivement souffraient déjà d'anomalies significatives et traitables ce qui n'a rien d'étonnant puisque les enfants dépistés précocement ont souvent un statut nutritionnel anormal, une fonction pancréatique insatisfaisante et des infections pulmonaires. De ce fait, il apparaît clairement les avantages d'une intervention rapide. De plus Donna L. Waters et Wilcken, à la suite de leur étude (88), spéculent sur le fait qu'un dépistage rapide, un traitement précoce mais également la prévention des maladies engendrées par la mucoviscidose peut enrayer le cycle de l'infection. Wilcken insiste également (90) sur le fait que ce diagnostic représente une opportunité pour un traitement précoce correspondant réellement à la maladie de l'enfant. En effet, il n'est pas rare de voir des enfants recevoir pendant des années un traitement contre l'asthme. La méconnaissance des médecins face à cette maladie et les erreurs de diagnostic sont ainsi nettement diminuées et l'enfant est mieux et plus rapidement pris en charge. Cependant, toutes les études ne semblent pas aller dans le même sens ainsi même si certaines suggèrent qu'un retard de diagnostic est associé à une maladie plus grave représentée par une

malnutrition sévère et une atteinte pulmonaire irréversible, d'autres ne font pas de lien entre l'âge de diagnostic et le pronostic.

### **c- Diminution du taux de mortalité précoce**

Doull et ses collaborateurs (28) se sont attardés sur l'influence du dépistage néonatal de la mucoviscidose sur la mortalité infantile dans les premiers jours de vie. Leur étude a porté sur 230 076 enfants dépistés et 234 510 enfants non dépistés et en tout 173 enfants ont été diagnostiqués positifs. Sept enfants sont décédés dans les cinq premières années de vie dont 3 avaient un iléus méconial. Deux des enfants qui sont décédés avaient des symptômes dès les cinq premiers jours de vie, et chacun avait été diagnostiqué comme mucoviscidosique à sept semaines de vie. Comme l'âge médian au diagnostic dans le groupe des dépistés est de huit semaines, il aurait été improbable qu'ils aient été détectés aussi tôt s'ils avaient été randomisés pour le dépistage. Une enfant était en bonne santé jusqu'à ce qu'elle succombe rapidement d'un problème respiratoire à 22 mois. Elle avait été considérée comme asthmatique bien qu'elle ait eu un cousin mucoviscidosique. Le diagnostic de mucoviscidose n'a été fait qu'après sa mort. Un autre enfant est décédé à 3 mois après détérioration clinique rapide. Il est probable que le dépistage néonatal aurait empêché la mort précoce de ces deux derniers enfants et ce dépistage aurait dû être encore plus précoce pour influencer l'avenir des deux premiers (*Tableau 13*).

Ils en ont conclu que leurs résultats apportaient des preuves de l'évidence du bénéfice du dépistage néonatal. Le dépistage néonatal apparaît comme avoir le potentiel de diminuer la mortalité précoce des mucoviscidosiques. Cependant, Doull fait remarquer qu'il serait nécessaire d'apporter des améliorations aux futurs dépistages afin d'identifier et de traiter la mucoviscidose encore plus rapidement après la naissance, c'est à dire dans les 3 premières semaines de vie.

*Tableau 13 : Détails concernant 7 enfants CF décédés dans les 5 premières années de vie (28).*

#### **d- Fréquence d'hospitalisation**

Dans son étude comparative entre les dépistés de Bretagne et les non dépistés de Loire-Atlantique (79), Siret trouvait une fréquence d'hospitalisation deux fois plus élevée dans la population des enfants non dépistés de Loire-Atlantique, alors que l'organisation des soins à domicile et les critères d'hospitalisation sont comparables dans les deux cohortes. Cette notion était déjà rapportée dans de précédentes études. Wilcken signalait ainsi dès 1985 un nombre moyen d'hospitalisation cinq fois plus élevé et un nombre moyen de jours d'hospitalisation sept fois plus élevé, durant les 2 premières années de vie, chez les enfants

diagnostiqués par rapport aux dépistés. Elle l'a confirmé en 1998 (89) en affirmant qu'il y avait de réelles opportunités dans le traitement précoce et en insistant sur le fait que plusieurs groupes d'enfants dépistés avaient montré une réelle diminution des hospitalisations dans les 2 premières années de vie.

Ces résultats ont également été confirmés par Chatfield et al. en 1991. Ils trouvaient un nombre et une durée totale d'hospitalisation supérieurs chez les diagnostiqués par rapport à ceux dépistés pendant la première année de vie.

### **e- Rôle sur la fonction respiratoire (78)**

Dans la mucoviscidose, c'est l'atteinte pulmonaire qui fixe le pronostic de la maladie et ainsi la justification indiscutable du dépistage néonatal serait apportée par la démonstration de la possibilité d'une intervention thérapeutique précoce améliorant radicalement le pronostic pulmonaire. Plusieurs études ont tenté d'évaluer l'atteinte pulmonaire et son évolution grâce aux épreuves fonctionnelles respiratoires mais également en s'intéressant aux différents facteurs responsables de l'inflammation.

#### - Dépistage et épreuves fonctionnelles respiratoires

On sait que c'est pour les paramètres respiratoires qu'il est le plus difficile de mettre en évidence des différences significatives entre dépistés et non dépistés. C'est pourtant bien l'atteinte respiratoire qui porte le pronostic vital dans la majorité des cas de mucoviscidose, et c'est probablement pour cette raison que les bénéfices du dépistage néonatal ne sont pas unanimement reconnus. L'étude des paramètres respiratoires se heurte à deux problèmes majeurs: le premier est que l'âge minimal requis pour effectuer des épreuves fonctionnelles respiratoires correctes est de cinq ans, ce qui retarde d'autant le début de toute étude chez les enfants dépistés. Le deuxième est que les différences sont très longues à apparaître.

Pour illustrer ces propos, on peut tout d'abord prendre l'exemple de l'étude hollandaise (22). Dankert-Roelse et ses collaborateurs ont mené leur étude sur 3 cohortes différentes. Ainsi, la première cohorte représentait les nouveau-nés détectés par le dépistage néonatal (S), la seconde les enfants détectés par des signes cliniques (non-S) et la troisième ceux nés après la fin du programme de dépistage néonatal (post-S). Après 10 ans de suivi, la comparaison des VEMS a montré que le groupe des dépistés gardait une fonction pulmonaire quasiment stable

durant la période d'observation (coefficient de régression  $-0,24$ ) alors que les patients des deux autres cohortes montraient un déclin statiquement significatif de leur fonction pulmonaire avec l'âge (coefficient de régression  $-3,2$  pour les non-S et  $-2,9$  pour les post-S). Du fait de l'existence d'un biais dû aux différences d'âge entre les cohortes il a fallu faire des ajustements et après correction, il a été retrouvé une détérioration de ces paramètres respiratoires significativement plus rapide chez les enfants non dépistés: le volume expiré maximal à la seconde (VEMS) diminuait de 3,25% par an chez les enfants non dépistés et seulement de 1,2% par an chez les dépistés (22). Enfin en 2001, Merelle et al. retrouvaient une différence significative entre les dépistés et les non dépistés. Ainsi, les patients dépistés gardaient toujours une capacité vitale (CV) et un volume expiré maximal à la seconde supérieurs aux non dépistés. Pour le VEMS on pouvait noter une différence de 2,74% en faveur du groupe des dépistés. Cependant, là encore, ils insistent sur le fait que le VEMS ne cesse de diminuer au sein des deux groupes au cours des années mais que la différence semble persister (57).

Waters, dans son étude (88) est également arrivée à un constat similaire à celui de l'étude d'Amsterdam. Ainsi, tous les paramètres mesurés concernant la fonction pulmonaire sont significativement meilleurs dans la cohorte des dépistés de 5 ans à 10 ans. Il existe une différence de valeur de 9,4% pour la valeur prédictive du VEMS et de 8,4% pour la valeur prédictive de la CV en faveur du groupe des dépistés (*Figure 11*). Il faut, là encore noter que la CV et le VEMS ont décliné au cours des années dans les deux groupes mais que la différence est restée la même. Il est important de remarquer que cette étude australienne n'est pas un essai randomisé et que le groupe des non dépistés est issu d'anciens. De plus, au cours de cette étude, il y a eu une amélioration considérable des traitements et de prise en charge de la maladie qui rend encore plus difficile la comparaison des dépistés et des non dépistés. En effet, il s'agit de cohortes constituées avant et après le dépistage, ce qui introduit un biais en rapport avec l'amélioration thérapeutique historique.

Siret, en revanche ne trouve aucune différence entre les deux populations (Bretagne et Loire-Atlantique) pour les paramètres fonctionnels respiratoires (CVF, VEMS, et DEM) entre 5 et 9 ans (79).

Le groupe de Mastella à Vérone (Italie) observe également aucune différence pour le VEMS

**Figure 11** : Evaluation des scores cliniques (C ) (Shwachman et radiographie des poumons) et des valeurs prédictives (D) du VEMS (FEV : Force Expiratory Volume in one second) et de la CV (FVC : Force Vital Capacity) en fonction de l'âge des patients dépistés (à 1, 5 et 10 ans) (88).

- Score de Shwachman et Brasfield (27,88)

Le score de Shwachman apparaît dans de nombreuses études comme significativement différent entre les deux groupes.

Ainsi, pour l'étude australienne, il existe en moyenne une différence de 5,3 points en faveur des dépistés à 10 ans (*figure 11*).

Siret note également des différences significatives pour les scores de Shwachman et Brasfield même s'il reste plus prudent en faisant remarquer que ces différences sont au moins partiellement liées à un biais de cotations variables selon les examinateurs.

Dans les études hollandaise et italienne, les scores cliniques de Shwachman ont toujours montré une différence significative en faveur des dépistés.

En revanche, l'étude anglaise menée par Dodge ne révèle aucune différence significative concernant le score de Shwachman entre les deux groupes. Cependant il est important de

noter que cette étude présente un inconvénient majeur: l'organisation médiocre du dépistage. Il n'y a qu'un mois d'écart entre l'âge moyen du diagnostic des enfants dépistés et celui des non dépistés.

#### - Dépistage et risque d'acquisition du Pseudomonas aeruginosa

Une signifiante association entre la colonisation par le Pseudomonas aeruginosa et l'altération de la fonction pulmonaire mais également la mortalité des patients a été démontrée dans de nombreuses études (43).

Dans leur étude (85), Wang et ses collaborateurs se sont intéressés à l'atteinte pulmonaire due à Pseudomonas aeruginosa, l'affection pulmonaire représentant le principal facteur de morbidité dans la mucoviscidose. Leur étude se basait sur une classification en 4 catégories des enfants:

EAD (Early Asymptomatic Diagnosis)

ESD (Early Symptomatic Diagnosis)

LAD (Late Asymptomatic Diagnosis)

LSD (Late Symptomatique Diagnosis)

Il n'est alors apparu aucune différence significative entre les 4 groupes sur le risque d'acquisition d'un Pseudomonas aeruginosa même si les données suggéraient l'amélioration de la santé pour le groupe des dépistés.

Dans son étude de suivi sur 9 ans (32), Farrell (Wisconsin) ne retrouve pas de différences statistiquement significatives dans l'âge d'apparition du germe selon que les enfants ont été dépistés ou non: la prévalence à 9 ans est ainsi respectivement de 62,7% et de 53,6% et l'incidence de 0,3 et de 0,209 contamination par patient et par an. Par contre, il trouve une différence significative selon les centres, qu'il explique par une organisation différente de consultation. Ainsi, la durée moyenne sans Pseudomonas aeruginosa est de 289,43 semaines à Madison où les enfants dépistés sont vus séparément des autres alors qu'elle est de 126,29 semaines à Milwaukee où il n'y a pas de séparation des patients. Cela constitue un argument supplémentaire pour séparer les patients porteurs ou non du Pseudomonas aeruginosa comme cela est déjà fait au Danemark.

Siret qui a mené une étude comparative (78) à partir de 1989 entre les nouveau-nés dépistés en période néonatale en Bretagne et les nouveau-nés diagnostiqués sur symptômes en Loire-Atlantique s'est intéressé au délai de la première colonisation à Pseudomonas aeruginosa et au délai de la colonisation chronique à Pseudomonas aeruginosa. Il en a déduit qu'il n'existait pas de différences significatives pour la fréquence de la première colonisation à Pseudomonas aeruginosa ni pour la fréquence de la colonisation chronique à Pseudomonas aeruginosa,

mais, en revanche, il existait une différence significative entre son délai moyen d'apparition chez les enfants colonisés dans les populations de Bretagne ( $39,7 \pm 21,7$  mois) et de Loire-Atlantique ( $86,7 \pm 12,8$  mois).

En revanche, Dankert-Roelse (22) note que jusqu'à l'âge de 12 ans, les patients non dépistés sont plus atteints par une colonisation chronique à *Pseudomonas aeruginosa* que les dépistés. Dans cette même étude Dankert-Roelse ne relève aucune différence entre les 2 groupes concernant la colonisation chronique par le *Staphylococcus aureus*.

De plus, Brouard et al. qui ont mené leur étude sur la cohorte normande en France (35), affirment que le seul facteur de risque vraiment pertinent pour la précocité de la colonisation chronique à *P. aeruginosa*, quel que soit le statut génétique, est l'âge de l'enfant au moment du diagnostic (*Figure 12*). En effet, pour les 44 enfants, cible réelle du dépistage néonatal, la précocité de la survenue de la première infection à *P. aeruginosa* était liée à un délai de prise en charge supérieur à 40 jours, et à une diminution égale ou supérieure à une déviation standard du Z-score de la taille entre la naissance et le diagnostic. La précocité de la survenue de la colonisation chronique à *P. aeruginosa* était liée exclusivement à un délai de prise en charge supérieur à 40 jours.

.

*Figure 12 : Courbes de survenue de la première atteinte à P. aeruginosa chez les enfants sans iléus méconial, diagnostiqués avant 40 jours de vie (trait plein) ou après (pointillés) (n=44) (12).*

Cependant une publication récente du US National Cystic Fibrosis Patient Registry (24) indique que le risque d'acquérir du *Pseudomonas aeruginosa* dans les 10 premières années de vie ne diffère pas significativement entre les enfants diagnostiqués rapidement, avec du retard, les enfants symptomatiques et asymptomatiques. Ceci suggère encore qu'un diagnostic précoce de la mucoviscidose n'influence pas l'acquisition d'un *Pseudomonas aeruginosa*

#### - Impact du dépistage sur les marqueurs de l'inflammation

Seule l'étude hollandaise (57) s'y est intéressée et pourtant les Ig G peuvent être considérées comme des marqueurs du degré d'inflammation et peuvent de ce fait être utilisés comme des indicateurs de la sévérité de l'infection pulmonaire chronique. Il apparaît que le taux d'Ig G augmente avec l'âge dans chacun des groupes. Cependant son taux est inférieur chez les enfants dépistés et cette différence persiste au-delà de 12 ans.

### **f- Rôle sur la croissance et le statut nutritionnel**

On sait que les déficits nutritionnels sont précoces au cours de la mucoviscidose et peuvent être rapidement corrigés par une prise en charge adéquate en cas de dépistage néonatal.

#### - Les paramètres anthropométriques

Les paramètres anthropométriques permettent d'évaluer les déficits nutritionnels.

- ***Le Z-score***

On parle de Z-score pour le poids et la taille. Il correspond à une standardisation du poids ou de la taille en fonction de l'âge et du sexe selon les tables de Sempé. Il se calcule en partant de la mesure du sujet en retranchant la mesure moyenne pour l'âge et en divisant le résultat par l'écart type pour l'âge.

- ***Z-score pour le poids et Z-score pour la taille en fonction de l'âge***

Dans l'étude prospective randomisée du Wisconsin menée par Farrell, les résultats montraient en 1997 avec un recul de 10 ans des résultats globalement meilleurs chez les dépistés que les non dépistés (32). Ainsi les dépistés avaient un Z-score pour le poids ( $P=0,04$ ) et un Z-score pour la taille ( $P=0,02$ ) supérieurs aux non dépistés. Et même après ajustement du poids à la

naissance, le groupe des dépistés était plus lourd et plus grand que les non dépistés. Ceci était confirmé en 2001 (33), ce qui amenait à un recul de 13 ans et donc à une plus que réelle interprétation. De plus, il semble important de noter que dans cette étude, le groupe des dépistés avait un nombre plus élevé de patients insuffisants pancréatiques et que malgré ce nombre d'insuffisants l'indice de croissance de cette cohorte a été au cours des 13 ans significativement meilleur que celui de la cohorte des non dépistés.

L'étude australienne (88) a abouti également à une telle conclusion. Ainsi, Water et al. ont comparé la taille et le poids après ajustement de l'âge et du sexe (SDS) des enfants à 1 an, 5 ans et 10 ans (*Figure 13*). A 1 an, les patients dépistés avaient un poids supérieur aux non dépistés mais leur taille n'était pas significativement différente. A 5 ans, on observait un changement puisque les dépistés étaient significativement plus grands que les non dépistés, alors que la différence de poids n'est plus significative. Enfin à 10 ans, le groupe des dépistés garde un avantage sur la taille puisqu'en moyenne il existe une différence de 2,7 cm. Pour le poids il y a en moyenne une différence de 1,7 kg qui n'est pas suffisante pour être significative. Là encore, il faut noter l'importance de la fonction pancréatique. Ainsi, dans cette étude le nombre d'enfants insuffisants pancréatiques était supérieur dans le groupe des non dépistés. Cependant dans le groupe des dépistés, il n'est pas apparu de différence entre les insuffisants pancréatiques et les suffisants pancréatiques.

En revanche, dans le groupe des non dépistés, l'insuffisance pancréatique s'est faite fortement ressentir. Ainsi, 6 enfants suffisants pancréatiques avaient un poids nettement supérieur aux insuffisants pancréatiques.

**Figure 13 :** Evaluation des scores après standardisation (SD score) de la taille (A) et du poids (B) en fonction de l'âge des patients dépistés( à 1, 5 et 10 ans) (88).

Dans son étude comparative Siret (79) montre que le Z-score pour le poids est meilleur chez les dépistés à un an, puis qu'il existe un rattrapage entre 1 et 2 ans chez les non dépistés. Ceci aboutit à une absence de différence significative de 2 à 9 ans. Concernant le Z-score pour la taille, il montre également l'existence de différences significatives précoces, c'est-à-dire à 1 et 3 ans en faveur des dépistés. Il montre cependant que même si les différences ne sont plus significatives après le très jeune âge, les Z-scores pour le poids et la taille restent toujours supérieurs chez les dépistés et que les courbes ne se rejoignent jamais.

L'étude italienne rapportait des persistances de différence significative pour les Z-scores pour le poids et la taille jusqu'à 11 ans en faveur des dépistés. En effet, après 16 ans de suivi Mastella (55) notait que la cohorte de la région de Veneto qui a reçu le dépistage néonatal présentait un meilleur statut nutritionnel que celle de Sicile où le diagnostic est réalisé grâce à la découverte de signes cliniques évocateurs.

En revanche, les hollandais faisaient remarquer l'existence d'un réel rattrapage des déficits nutritionnels aboutissant à un statut nutritionnel identique des dépistés et des non dépistés.

Enfin, il est également intéressant de s'arrêter sur l'étude menée par Hui-Chuan Lai en association avec celle du Wisconsin (44). Hui-Chuan Lai a comparé 2 cohortes: des nouveau-nés atteints d'un iléus méconial et des nouveau-nés sans iléus méconial mais diagnostiqués après un dépistage néonatal. Les enfants souffrant d'iléus méconial à la naissance sont immédiatement pris en charge et reçoivent un traitement approprié. Ce sont donc les enfants diagnostiqués comme mucoviscidosiques les plus précoces en période néonatale d'où l'intérêt de comparer leur évolution à celle des enfants sans iléus méconial et dépistés. Cette étude qui a un recul de 13 ans a permis de constater que les enfants sans iléus méconial avaient une croissance pondérale et staturale supérieures aux enfants nés avec un iléus méconial.

#### - Les paramètres biochimiques

- ***Statut des vitamines liposolubles : A, D, E (36)***

Dans une étude du Colorado, Feranchak et al. ont étudié le statut vitaminique des enfants atteints de mucoviscidose identifiés par dépistage néonatal. La déficience en vitamines liposolubles a été flagrante. Ainsi, 44 des patients sur les 96 étudiés présentaient une déficience d'au moins une des vitamines liposolubles à l'âge de 4 à 8 semaines (vitamine A : 29,1% soit 27 patients sur 93, vitamine D 22,5% soit 16 sur 71, vitamine E 22,8% soit 21 sur 92). 63,6% des patients ne souffraient de la déficience que d'une seule vitamine alors que

36,4% avaient de multiples déficiences. Les enfants ont donc reçu immédiatement des traitements de supplémentation. La plupart des patients présentant une déficience en vitamines A et D ont réussi à être corrigé de façon à atteindre des taux corrects. En revanche ceux atteints d'une déficience en vitamine E sont restés ou sont retombés à de faibles taux. Il faut également noter que l'hypoalbuminémie était présente chez 29 des patients parmi les 113 à la première visite. L'hypoalbuminémie apparaît comme un facteur entrant en jeu dans la déficience en vitamines liposolubles. Toutes ces données permettent d'illustrer clairement que les problèmes nutritionnels sont présents dès le plus jeune âge chez les CF et même bien avant les signes cliniques. Cependant du fait que cette étude n'a pas utilisé de groupe témoin pour des raisons éthiques, il est difficile d'affirmer que le renversement des taux de vitamines liposolubles est dû à l'intervention précoce. De plus, les signes cliniques dus à l'absence de supplémentation en vitamines liposolubles lors de l'enfance n'ont pas été étudiés.

### **g- Rôle sur l'atteinte pancréatique (33,78,88)**

Farrell a comparé la consommation alimentaire des patients insuffisants pancréatiques. Il en a déduit qu'il n'existait aucune différence significative entre les deux groupes (dépistés insuffisants pancréatiques et non dépistés insuffisants pancréatiques) concernant leur consommation en aliments caloriques, énergétiques ou de matières grasses, afin de leur assurer la meilleure des croissances (*Figure 14*).

Cependant en 1997, il insistait sur le fait qu'un retard de diagnostic de la mucoviscidose augmentait le risque de malnutrition. De ce fait, il préconisait vivement d'instaurer un traitement nutritionnel afin de prévenir cette malnutrition et notamment pour les enfants insuffisants pancréatiques. Cet apport nutritionnel était basé sur la consommation d'aliments très caloriques suppléés par des enzymes pancréatiques et des vitamines liposolubles.

Siret, note que le délai de mise en route du traitement pancréatique est très différent entre les deux populations de Bretagne ( $1,5 \pm 2,9$  mois) et de Loire-Atlantique ( $14,3 \pm 19,9$  mois). Cependant il fait remarquer qu'il n'existe pas de différence significative pour la fréquence de l'insuffisance pancréatique. En revanche la courbe de survie pour l'événement « traitement pancréatique » confirme l'existence d'une différence significative entre les deux populations jusqu'à 30 mois.

Waters s'est également intéressé au statut pancréatique des nouveau-nés dépistés et des non dépistés. Le groupe des dépistés présentait un taux supérieur de suffisant pancréatique, ceci pouvant contribuer à un avenir meilleur pour ces enfants. Cependant, il fait remarquer que le nombre d'enfants suffisant pancréatique est supérieur dans le groupe des dépistés que dans celui des populations plus vieilles, ce qui peut laisser supposer que les enfants perdent leur fonction pancréatique durant les années pour aboutir à l'insuffisance pancréatique. C'est ce qui s'est passé dans son étude puisque à 10 ans, la proportion de patients suffisant pancréatique était la même dans les deux groupes.

*Figure 14 : Evaluation de la prise alimentaire de 91 patients sans iléus méconial (MI) en fonction du temps (33).*

## **h- Rôle sur l'atteinte hépatique**

Siret définit la fréquence de l'atteinte hépatique par la prise d'acide ursodésoxycholique. Il ne trouve pas de différence significative entre les deux groupes (79).

## **III- Dépistage néonatal de la mucoviscidose et centres de soins ou Centre de Ressources et de Compétences pour la Mucoviscidose (CRCM)**

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 meilleures garanties d'efficacité. Ceci est l'occasion de faire évoluer l'organisation des soins dans le but d'en améliorer l'efficacité tout en veillant à une maîtrise médicalisée des dépenses (65).

### **1- Le centre de soins (65)**

Un centre de soins est un regroupement de compétences en matière de mucoviscidose, pour soigner au mieux, de manière globale et continue, les personnes atteintes de cette maladie. C'est donc le lieu où le patient est régulièrement suivi, où les examens sont faits ou ordonnés 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.

Le centre de soins est responsable du suivi, du soutien et de la prise en charge médicale du patient. Il a donc pour objectif de répondre au mieux aux besoins de santé des patients atteints de mucoviscidose.

## **2- Dépistage néonatal de la mucoviscidose et centres de soins ou CRCM (22,67,69,85)**

En cas de mucoviscidose avérée, une relation personnalisée doit être établie d'emblée entre le pédiatre référent du CRCM et la famille du nouveau-né. Ce premier rendez-vous est fondateur, car il doit projeter les parents dans l'avenir en leur proposant une prise en charge immédiate, à moyen et à long terme, et un véritable projet thérapeutique.

Dankert-Roelse note que le traitement de la mucoviscidose dans les centres de soins a une influence sur l'évolution de la maladie. Ainsi, les enfants dépistés et pris en charge rapidement par un centre de soins ont une atteinte pulmonaire moins sévère et une croissance pondérale supérieure à ceux qui n'ont pas été suivis dans des centres spécialisés.

Certaines études montrent aussi que la taille des centres influe sur la qualité des résultats, les pentes de déclin de la VEMS étant plus rapides dans les petits centres (< 50 patients) que dans les centres plus importants (> 100) et le taux de survie moins bon (60 contre 84%).

Dans l'étude du Wisconsin, il a été remarqué que le risque de contacter du *Pseudomonas aeruginosa* dans les centres de soins pour les jeunes enfants était plus grand lorsque les enfants n'étaient pas séparés des malades adultes.

## **IV- Dépistage néonatal et impact sur les parents**

Lorsque l'on a commencé à parler du dépistage néonatal de la mucoviscidose, on s'interrogeait seulement sur les bénéfices cliniques au long terme qu'il pourrait peut-être engendrer. Ceux-ci, comme on l'a vu auparavant, n'ont pas encore été approuvés par tous du fait du manque de recul et de la présence de biais dans chacune des études. Cependant, il ne faut pas négliger également l'impact psychosocial du programme de dépistage qui peut aussi apporter des arguments pour ou contre ce dépistage.

## **1- Impact du dépistage sur l'état psychologique des parents (5,20,62)**

Avant l'introduction du dépistage, le plus souvent les parents étaient anxieux durant des mois voire des années au sujet de leur enfant. En effet, il n'était pas rare que les parents présentent leur enfant à de nombreux médecins incapables de donner une explication correcte aux symptômes chroniques respiratoires, à la mauvaise croissance et donc de poser un diagnostic. Ceci conduisait à la colère et la frustration des parents empêchant ensuite d'établir une bonne relation avec l'établissement compétent. L'élimination de ces mois d'anxiété et d'incertitude apparaît pour de nombreuses familles d'une importance majeure. De plus l'attitude familiale à une importance cruciale dans la prise en charge de la maladie chronique infantile. Avec l'apparition du dépistage, les parents semblent réellement accepter leur enfant comme un enfant « normal » avec un problème de santé qui pourra être amélioré par un traitement optimal. Ainsi l'enfant n'est plus considéré comme un enfant atteint d'une maladie chronique et qui devra de ce fait être surprotégé.

Dans le Milwaukee, aux USA, Baroni a mené une étude visant à analyser le taux de stress des parents des enfants. Ainsi, les parents d'enfants diagnostiqués CF à travers le dépistage néonatal ne laissent pas voir un taux de stress significativement supérieur à ceux dont les enfants sont en bonne santé ou à ceux dont les enfants ont été diagnostiqués CF par une méthode de diagnostic traditionnelle. En revanche, les parents d'enfants faux-positifs, même s'ils ont moins de stress, sont plus sur la défensive vis à vis des médecins.

Enfin, une majorité des parents se sentent plus proches de leur enfant et décrivent un resserrement des liens familiaux.

## **2- Impact du dépistage sur le comportement des parents dont le premier enfant a été déterminé comme hétérozygote**

Dans le Wisconsin, Mischler et ses collègues (58) ont mené une étude afin d'évaluer si la détection d'un enfant hétérozygote influence la compréhension et l'attitude reproductive de ces familles. Les parents dont l'enfant est hétérozygote reçoivent des explications et des renseignements par un conseil génétique et des tests génétiques leur sont proposés. Pour ce

qui concerne la compréhension de l'interprétation d'un tel résultat, seulement un petit nombre de familles ne parviennent pas à comprendre la signification du mot porteur et semblent toujours croire que leur enfant pourra un jour ou l'autre développer la maladie.

Il est important de remarquer que parmi les parents ayant reçu un conseil génétique et ensuite fait des tests génétiques afin de déterminer leur statut de porteur, 69% ne comprennent pas que le risque d'avoir un enfant CF reste supérieur à celui de la population générale. Ceci est d'autant plus troublant qu'ils sont demandeurs des tests génétiques afin d'avoir des informations plus précises sur le risque. Cependant, les familles d'enfants hétérozygotes affirment pour la plupart que cette expérience de dépistage a une influence sur leur envie d'avoir d'autres enfants. Sentiment qui s'estompe au bout d'un an.

### **3- Impact du dépistage sur le comportement reproductif des parents dont l'enfant a été dépisté CF (influence du dépistage prénatal) (29,30,58)**

Mischler s'est également intéressée dans son étude aux familles dont l'enfant était dépisté CF. Dans la majorité des cas, le dépistage néonatal de la mucoviscidose ne semble pas avoir été significatif sur l'attitude reproductive et le comportement des parents. Ainsi, même si la majorité des familles ont compris l'implication génétique pour leur futur enfant, la plupart des familles avec un premier enfant atteint ont continué à avoir des enfants et seulement quelques unes ont fait appel au diagnostic prénatal (*Figure 15*). La compréhension des familles avec un enfant CF est bonne puisque 95% comprennent qu'il y a un risque sur 4 pour les grossesses suivantes et cette information est encore présente dans les esprits 1 an plus tard. Cette étude a été menée de 1985 à 1994 et en 1994, 52% des familles n'avaient pas encore eu de nouvel enfant, mais 74% des familles avaient déjà des enfants. Parmi celles pour qui l'enfant mucoviscidosique était le premier enfant, 70% ont conçu un autre enfant. Sur 31 familles, il y a eu 43 grossesses et le diagnostic prénatal n'a été utilisé que par 26% des familles (8/13) et seulement pour 21% des grossesses (9/43). Trois grossesses ont été détectées CF et toutes ont été maintenues à terme.

*Figure 15 : Utilisation par les familles du diagnostic prénatal de la mucoviscidose lors des grossesses suivantes (58).*

Il faut également noter qu'il existe entre cette étude et celle de Evers-Kiebons en Belgique de grandes ressemblances puisque 35% des familles belges (20/56) dont le premier enfant est CF décidèrent d'avoir d'autre enfant.

Une autre étude menée en Californie, en 1984, révélait que sur 346 familles atteintes par la mucoviscidose, 78% pensait que le diagnostic prénatal serait important pour prendre une décision au sujet des grossesses suivantes.

Une autre étude prospective a été menée dans le New England et les résultats étaient similaires à ceux de Mischler. Ainsi, sur 37 familles avec le premier enfant CF seulement 51% ont présenté un intérêt au diagnostic prénatal pour les grossesses suivantes et seulement 22% l'ont utilisé durant la grossesse (4/18).

Toutes ces études suggèrent donc que les grossesses secondaires ne sont pas envisagées du fait de l'existence d'un diagnostic prénatal puisque la proportion de parents voyant un avantage dans ce diagnostic est faible. Enfin, pour Mischler le dépistage néonatal de la mucoviscidose ne semble pas avoir un impact significatif sur l'attitude reproductive des parents.

Cependant, ce résultat est en opposition à celui de l'étude menée par Dudding et ses collègues en Australie. En effet, pour Dudding le dépistage néonatal a un fort impact sur le choix d'une grossesse ultérieure (*Figure 16*).

Pour cette étude, il a été suivi 87 mères qui ont eu un enfant diagnostiqué CF par le dépistage néonatal de 1981 à 1996. Les femmes divorcées ou ayant changé de partenaires avaient été bien évidemment exclues. Au total 53/87 (61%) des femmes ont décidé une seconde grossesse et 35/53 (66%) ont choisi de faire un dépistage prénatal. 24/35 des femmes avaient indiqué que si le fœtus était dépisté CF, elles interrompraient leur grossesse. Ainsi, sur 12 grossesses dont le fœtus a été dépisté CF, 10 ont interrompu leurs grossesses et seulement 2 l'ont

poursuivie. Ainsi, pour Dudding, il ne fait aucun doute qu'avoir un enfant dépisté CF influence le choix des grossesses suivantes. Et de ce fait, il apparaît clairement qu'en plus d'un avantage médical, le dépistage néonatal permet d'informer les parents et de leur faire connaître toutes les conséquences d'une nouvelle grossesse. Ainsi, ils agissent en ayant toutes les données de leur côté, ce qui n'était pas le cas avant le dépistage néonatal. En effet, Dudding nous fait remarquer, qu'il existe en moyenne un écart de 75 semaines entre la première grossesse et la seconde, or comme le diagnostic clinique a souvent lieu vers la 72<sup>ème</sup> semaine, 50% des enfants nés d'une seconde grossesse seraient nés avant le diagnostic du premier enfant.

*Figure 16 : Répartition des décisions pour les grossesses suivantes (29).*

Dudding fait également remarquer qu'une autre étude, celle de Virginie Scotet menée en Bretagne va également dans son sens. Ainsi, en Bretagne, sur une période de 10 ans, 114 enfants ont été identifiés CF par le dépistage néonatal et 39 familles sur les 114 (34%) ont choisi à la grossesse suivante le recours au dépistage prénatal, et toutes les femmes dont le fœtus (18) a été identifié affecté ont avorté.

Scotet et ses collègues (74) confirment l'idée de Dudding, en affirmant que le dépistage néonatal ne se limite pas au traitement des enfants atteints mais qu'un diagnostic précoce permet un conseil génétique aux parents et leur permet d'avoir accès au dépistage prénatal sur le fœtus. Ainsi, dans son étude, 39 couples sur les 114 (soit 34%) dont un enfant atteint de mucoviscidose a été dépisté par le dépistage néonatal, ont eu recours au dépistage prénatal pour les grossesses suivantes. Parmi les 39 couples, 37 avaient déjà un enfant CF et 2 couples en avaient déjà 2. Le conseil génétique et la détection des porteurs par un dépistage en « cascade » a permis de détecter un autre couple avec 1 risque sur 4 d'avoir un enfant atteint. Le dépistage prénatal a identifié 18 fœtus atteints (29,5%), 25 fœtus hétérozygotes et 18 fœtus sains. De ce fait, 42 enfants en bonne santé sont nés et 18 grossesses ont été interrompues soit 100% du fait du résultat positif du dépistage prénatal.

Il est important de noter que 12 couples ont eu recours au dépistage prénatal avant que les signes cliniques de leur 1<sup>er</sup> enfant diagnostiqué CF après le dépistage néonatal n'apparaissent. Cette étude révèle clairement l'impact du dépistage néonatal sur les grossesses suivantes. Il permet aux parents de connaître immédiatement l'état de santé de leur enfant et ainsi d'être maître de leur avenir en leur permettant de choisir librement d'effectuer ou non un dépistage prénatal pour les grossesses ultérieures.

## **V- Dépistage néonatal et conseil génétique**

### **1- Le conseil génétique dans la mucoviscidose (45)**

Le conseil génétique est une étape obligatoire dans la prise en charge des patients atteints de mucoviscidose. Il vise essentiellement à délivrer des informations sur le caractère transmissible de la mucoviscidose et à évaluer les risques de récurrence. Ce dernier est précisé par des analyses de biologie moléculaire portant sur le gène CFTR. Le conseil génétique est

donc une consultation réalisée par un médecin. Il a pour but dans le cas de la mucoviscidose d'aider un couple ou une famille à résoudre des problèmes humains liés à la survenue ou au risque de survenue de la maladie.

## **2- Dépistage néonatal et conseil génétique (45,69)**

La découverte aléatoire d'hétérozygotes lors du dépistage néonatal de la mucoviscidose par la biologie moléculaire pose un problème. En effet, l'objet du dépistage néonatal n'est que le diagnostic et la prise en charge d'enfants malades et on aurait pu de ce fait ne pas lever l'anonymat du laboratoire sur les résultats des hétérozygotes. Cependant, ceci étant contraire à la loi qui précise que tout résultat d'étude génétique doit être rendu, c'est le médecin qui aura pour mission de donner les premières informations sur la signification du statut d'hétérozygotes et d'orienter les patients vers une consultation génétique. Le généticien pourra alors évaluer le risque de récurrence et tenter de confirmer ou d'infirmer sur le plan moléculaire le statut d'hétérozygote du conjoint à risque. Pour cela, le généticien propose un test génétique ciblé sur les mutations de l'enfant. Une fois que le statut d'hétérozygote du conjoint à risque est confirmé, le généticien propose à l'autre conjoint un test génétique visant à dépister un éventuel allèle CFTR muté.

Il faut également être conscient que le conseil génétique est une étape indispensable lors du dépistage néonatal. En effet, les parents doivent être informés et comprendre les modalités de transmission et d'expression de la maladie. Ainsi, Ciske et al. ont évalué dans leur étude (18) les liens existant entre le dépistage néonatal et le conseil génétique, et surtout si la compréhension et la conservation des informations étaient satisfaisantes. Ils se sont intéressés aux familles dont l'enfant dépisté était hétérozygote. Ils ont comparé 2 groupes : ceux ayant reçu un conseil génétique et ceux qui n'en ont pas bénéficié. Les résultats montrent une différence significative entre les 2 groupes. Ainsi, ceux ayant eu la chance de recevoir un conseil génétique ont un pourcentage supérieur de réponses correctes aux questions posées (*Figure 17*).

Ainsi, ce résultat démontre une nécessité absolue du conseil génétique en association au dépistage néonatal.

*Figure 17 : Comparaison du taux de réponses correctes à 7 questions posées à des parents ayant reçu un conseil génétique et à des parents n'ayant pas eu l'information sur le risque de transmission. Sur 136 parents ; 92 parents se souvenaient avoir reçu un conseil génétique et 44 ne l'avaient pas reçu (18).*

---

# CONCLUSION

---

L'association nationale de dépistage néonatal en faisant entrer dans son programme de dépistage néonatal, le dépistage de la mucoviscidose, maladie génétique autosomale fréquente et grave, a réussi à relever un nouveau défi.

La volonté d'augmenter l'espérance de vie de tous ces enfants malades et de pouvoir leur offrir une qualité de vie satisfaisante a été plus forte que tous les obstacles qui se présentaient aux partisans de ce dépistage. En effet, le dépistage néonatal de la mucoviscidose ne fait en aucun cas l'unanimité au sein de la communauté scientifique et médicale. Les opposants rappellent que ce dépistage pose le problème d'identification d'hétérozygotes et surtout que la mise en place d'un tel dépistage requiert l'existence d'un traitement spécifique de la maladie.

Cependant, je suis d'avis que la prise en charge de l'enfant dès son plus jeune âge, ne peut lui être que bénéfique, lui évitant ainsi des années de doute au sujet de sa maladie et ralentissant l'effet destructeur de la mucoviscidose sur sa fonction pulmonaire. En effet, une majorité des études prouvent une diminution des hospitalisations et surtout une fonction respiratoire (évaluée par le score de Shwachman et par l'atteinte à *P.aeruginosa*) préservée plus longtemps chez les enfants dépistés. Ceci semble être en corrélation directe avec une meilleure croissance due en partie à un statut nutritionnel bien adapté.

De plus, ce dépistage, bien mené, diminue l'angoisse des parents et leur méfiance vis-à-vis du corps médical.

Pour ceux qui pourraient encore penser que ce dépistage n'est qu'illusion, j'ajouterais que la mucoviscidose n'est pas une maladie sans espoir de nouveaux traitements. L'avenir ne serait-

il pas dans la possibilité de restituer aux cellules de l'épithélium bronchique un gène normal et donc des fonctions normales ?

C'est ce que la thérapie génique permettra peut-être de réaliser. Même s'il existe encore de nombreuses incertitudes concernant sa faisabilité et son efficacité, il apparaît clairement que ce traitement génétique bénéficiera essentiellement aux enfants dont le parenchyme pulmonaire aura conservé la meilleure fonction (30).

Dans cette situation, nous pouvons donc nous demander s'il n'est pas souhaitable que chaque nouveau-né ait les mêmes chances face à cette maladie redoutable, ce qui passe inévitablement par un diagnostic et une prise en charge précoce.

---

# ANNEXES

---

## **Annexe 1**





## **Annexe 2**

## **Annexe 3**



---

# LISTE DES FIGURES

---

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Figure 1 :</b> Représentation schématique de la protéine CFTR (60).....                                                                                                                                                                                                                           | 12  |
| <b>Figure 2 :</b> Les différentes classes de mutations altérant le fonctionnement de la protéine CFTR (60).....                                                                                                                                                                                      | 13  |
| <b>Figure 3 :</b> Mécanismes supposés de l'atteinte pulmonaire de la mucoviscidose (17).....                                                                                                                                                                                                         | 18  |
| <b>Figure 4 :</b> Représentation schématique de la surface de l'épithélium respiratoire (60).....                                                                                                                                                                                                    | 20  |
| <b>Figure 5 :</b> Réseau de dépistage néonatal en France (34).....                                                                                                                                                                                                                                   | 61  |
| <b>Figure 6 :</b> La méthode de prélèvement.....                                                                                                                                                                                                                                                     | 66  |
| <b>Figure 7 :</b> Schéma de la réaction du dosage de l'IRT (3).....                                                                                                                                                                                                                                  | 75  |
| <b>Figure 8 :</b> Le principe de la technique ARMS™ (99).....                                                                                                                                                                                                                                        | 78  |
| <b>Figure 9 :</b> Résultats types obtenus avec le kit CF20 ELUCIGENE™ (99).....                                                                                                                                                                                                                      | 79  |
| <b>Figure 10 :</b> Dépistage néonatal de la mucoviscidose : protocole durant les années 1993-94 à Vérone (Italie) (15).....                                                                                                                                                                          | 91  |
| <b>Figure 11 :</b> Evaluation des scores cliniques (C) (Shwachman et radiographie des poumons) et des valeurs prédictives (D) du VEMS (FEV : Force Expiratory Volume in one second) et de la CV (FVC : Force Vital Capacity) en fonction de l'âge des patients dépistés (à 1, 5 et 10 ans) (88)..... | 102 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Figure 12 :</b> Courbes de survenue de la première atteinte à <i>P. aeruginosa</i> chez les enfants sans iléus méconial, diagnostiqués avant 40 jours de vie (trait plein) ou après (pointillés) (n=44) (12).....                                                                                                           | 104 |
| <b>Figure 13 :</b> Evaluation des scores après standardisation (SD score) de la taille (A) et du poids (B) en fonction de l'âge des patients dépistés( à 1, 5 et 10 ans) (88).....                                                                                                                                             | 106 |
| <b>Figure 14 :</b> Evaluation de la prise alimentaire de 91 patients sans iléus méconial (MI) en fonction du temps (33).....                                                                                                                                                                                                   | 109 |
| <b>Figure 15 :</b> Utilisation par les familles du diagnostic prénatal de la mucoviscidose lors des grossesses suivantes (58).....                                                                                                                                                                                             | 114 |
| <b>Figure 16 :</b> Répartition des décisions pour les grossesses suivantes.....                                                                                                                                                                                                                                                | 115 |
| <b>Figure 17 :</b> Comparaison du taux de réponses correctes à 7 questions posées à des parents ayant reçu un conseil génétique et à des parents n'ayant pas eu l'information sur le risque de transmission. Sur 136 parents ; 92 parents se souvenaient avoir reçu un conseil génétique et 44 ne l'avaient pas reçu (18)..... | 118 |

---

# LISTE DES TABLEAUX

---

|                                                                                                                                                                |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tableau 1</b> : Les mutations du gène CFTR les plus fréquentes (60).....                                                                                    | 15 |
| <b>Tableau 2</b> : Le score radiologique de Brasfield D (13).....                                                                                              | 22 |
| <b>Tableau 3</b> : Le score global de Shwachman et Kulczycki (13).....                                                                                         | 25 |
| <b>Tableau 4</b> : Clairance rénale des antibiotiques au cours de ma mucoviscidose (77).....                                                                   | 36 |
| <b>Tableau 5</b> : Antibiotiques utilisés chez l'enfant (49).....                                                                                              | 37 |
| <b>Tableau 6</b> : Demi-vie de quelques antibiotiques utilisés dans la mucoviscidose (77).....                                                                 | 38 |
| <b>Tableau 7</b> : Les maladies dépistées au Centre de Biochimie du Service de Génétique du CHU au Sart Tilman et leurs caractéristiques principales (72)..... | 49 |
| <b>Tableau 8</b> : Les maladies dépistées et les diverses caractéristiques des tests utilisés (72)....                                                         | 50 |
| <b>Tableau 9</b> : Résultats des 83700 tests effectués entre le 1 <sup>er</sup> janvier 1974 et le 31 décembre 1978. (41).....                                 | 62 |
| <b>Tableau 10</b> : Seuils proposés pour chaque méthodologie IRT (82).....                                                                                     | 72 |
| <b>Tableau 11</b> : Nombre et résultats attendus des tests de la sueur suivant chaque indication (82).....                                                     | 73 |
| <b>Tableau 12</b> : Valeurs de référence de la concentration en chlorures dans la sueur obtenue par titrimétrie, coulométrie, électrode sélective. (52).....   | 84 |
| <b>Tableau 13</b> : Détails concernant 7 enfants CF décédés dans les 5 premières années de vie (28).....                                                       | 99 |

---

# TABLE DES MATIERES

---

|                                                                |                 |
|----------------------------------------------------------------|-----------------|
| <b>LISTE DES ABREVIATIONS.....</b>                             | <b>6</b>        |
| <b>INTRODUCTION.....</b>                                       | <b>8</b>        |
| <i><b>PARTIE 1 : Généralités sur la mucoviscidose.....</b></i> | <i><b>9</b></i> |
| <b>I- Epidémiologie.....</b>                                   | <b>10</b>       |
| <b>II- La génétique.....</b>                                   | <b>11</b>       |
| <b>1- Le gène.....</b>                                         | <b>11</b>       |
| <b>2- La protéine CFTR .....</b>                               | <b>11</b>       |
| a- Structure                                                   | 11              |
| b- Fonction                                                    | 12              |
| c- Les anomalies moléculaires                                  | 12              |
| <b>3- Génétique de la mucoviscidose .....</b>                  | <b>14</b>       |
| a- Epidémiologie moléculaire                                   | 14              |
| b- La corrélation génotype-phénotype                           | 16              |
| - <u>Corrélation génotype-sévérité de la maladie</u>           | 16              |
| - <u>Corrélation atteinte digestive-génotype</u>               | 16              |
| - <u>Corrélation atteinte respiratoire-génotype</u>            | 16              |
| <b>III- Physiopathologie de la mucoviscidose.....</b>          | <b>17</b>       |

|                                                                                                                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>1- L'atteinte pulmonaire</b> .....                                                                                                                       | 17 |
| a- Principales fonctions de la protéine CFTR au niveau respiratoire et anomalies dans la mucoviscidose                                                      | 19 |
| - <u>Rôle de la protéine CFTR sur la régulation des canaux ioniques, les caractéristiques du liquide de surface bronchique et le transport mucociliaire</u> | 19 |
| - <u>Anomalies de CFTR et fonctions de défenses anti-infectieuses</u>                                                                                       | 20 |
| - <u>Anomalies de CFTR et inflammation bronchique</u>                                                                                                       | 20 |
| b- Manifestations respiratoires                                                                                                                             | 21 |
| - <u>Le syndrome respiratoire</u>                                                                                                                           | 21 |
| - <u>Les aspects radiologiques</u>                                                                                                                          | 21 |
| - <u>Les explorations fonctionnelles respiratoires</u>                                                                                                      | 22 |
| - <u>Sémiologie infectieuse</u>                                                                                                                             | 23 |
| - <u>L'évolution</u>                                                                                                                                        | 24 |
| <b>2- L'atteinte digestive</b> .....                                                                                                                        | 26 |
| a- Physiologie des lésions du pancréas exocrine                                                                                                             | 26 |
| b- Manifestations pancréatiques                                                                                                                             | 26 |
| c- Manifestations intestinales                                                                                                                              | 27 |
| - <u>L'iléus méconial</u>                                                                                                                                   | 27 |
| - <u>Le prolapsus rectal</u>                                                                                                                                | 27 |
| - <u>Le reflux gastro- oesophagien (RGO)</u>                                                                                                                | 27 |
| - <u>Les pathologies gastro-entérologiques les plus fréquemment associées</u>                                                                               | 27 |
| d- Manifestations hépatobiliaires                                                                                                                           | 28 |
| <b>3- Les difficultés nutritionnelles</b> .....                                                                                                             | 28 |
| a- Carences en acides gras                                                                                                                                  | 29 |
| b- Carences en vitamines                                                                                                                                    | 30 |
| c- Carences en oligo-éléments                                                                                                                               | 30 |
| <b>IV- Prise en charge</b> .....                                                                                                                            | 31 |
| <b>1- Prise en charge de l'atteinte respiratoire</b> .....                                                                                                  | 31 |
| a- Kinésithérapie respiratoire                                                                                                                              | 31 |
| b- L'antibiothérapie                                                                                                                                        | 32 |
| - <u>Généralités</u>                                                                                                                                        | 32 |

|                                                                            |           |
|----------------------------------------------------------------------------|-----------|
| - <u>Les difficultés du traitement antibiotique</u>                        | 33        |
| ❶ <i>Obstacles à la pénétration des antibiotiques</i>                      | 33        |
| ❷ <i>Diminution de l'activité intrinsèque des antibiotiques</i>            | 34        |
| ❸ <i>Des cibles bactériennes incertaines</i>                               | 34        |
| ❹ <i>Une double conséquence pharmacodynamique</i>                          | 35        |
| - <u>Les principaux antibiotiques utilisés</u>                             | 35        |
| ❶ <i>Les aminosides</i>                                                    | 35        |
| ❷ <i>les <math>\beta</math>-lactamines</i>                                 | 35        |
| ❸ <i>Nécessité d'une bithérapie <math>\beta</math>-lactamine-aminoside</i> | 36        |
| ❹ <i>Les fluoroquinolones</i>                                              | 36        |
| - <u>Des stratégies thérapeutiques différentes selon l'infection</u>       | 38        |
| ❶ <i>Staphylococcus aureus</i>                                             | 38        |
| ❷ <i>Haemophilus influenzae</i>                                            | 38        |
| ❸ <i>Pseudomonas aeruginosa</i>                                            | 38        |
| c- Autres traitements                                                      | 39        |
| - <u>Les bronchodilatateurs</u>                                            | 39        |
| - <u>Les modificateurs des sécrétions bronchiques</u>                      | 40        |
| ❶ <i>La DNase recombinante ( rh Dnase )</i>                                | 40        |
| ❷ <i>Les autres modificateurs des sécrétions bronchique</i>                | 40        |
| - <u>Les anti-inflammatoires</u>                                           | 40        |
| ❶ <i>La corticothérapie systématique</i>                                   | 41        |
| ❷ <i>La corticothérapie inhalées</i>                                       | 41        |
| ❸ <i>Les anti-inflammatoires non stéroïdiens</i>                           | 41        |
| d- La transplantation pulmonaire ou cardiopulmonaire                       | 41        |
| <b>2- Prise en charge des manifestations gastro-intestinales.....</b>      | <b>41</b> |
| <b>3- Prise en charge hépatique.....</b>                                   | <b>42</b> |
| <b>4- Prise en charge nutritionnelle.....</b>                              | <b>42</b> |
| a- Les extraits pancréatiques gastroprotégés (EPGP)                        | 42        |
| b- L'alimentation                                                          | 43        |
| c- Les vitamines liposolubles                                              | 44        |
| d- Les minéraux et oligoéléments                                           | 44        |
| e- Assistance nutritionnelle                                               | 44        |

***PARTIE 2 : Le dépistage néonatal systématique de la mucoviscidose ;  
mise en place en Loire- Atlantique et Vendée.....45***

**I- Critères de choix d'un dépistage néonatal systématique.**

**Application à la mucoviscidose.....46**

**1- Indications pour un dépistage de masse.....46**

a- La maladie 46

b- Le test 46

c- La population 47

**2- Les critères de choix d'un dépistage systématique néonatal..... 47**

a- Les critères de Wilson 47

- La maladie 48

- Le repérage des malades 48

- La population testée doit être informée du programme et donner son  
acceptation 48

- Le programme de prévention de la maladie 48

b- Critères de choix décrits par Farriaux et Holtzman 49

- Les caractéristiques de la maladie 49

- Les caractéristiques du test 50

① *La reproductibilité* 50

② *La validité* 50

③ *L'adaptabilité du test* 50

- Caractéristiques du système 51

c- Les obstacles aux critères de choix du dépistage néonatal systématique  
de la mucoviscidose 51

- Faut-il élargir le dépistage ? 51

- Quelles mesures thérapeutiques ? 52

- Quel test de dépistage ? 52

- La finalité du dépistage 53

|                                                                                                              |           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>II- Mise en place du dépistage néonatal de la mucoviscidose.....</b>                                      | <b>53</b> |
| <b>1- Vers un dépistage systématique de la mucoviscidose.....</b>                                            | <b>53</b> |
| a- En Angleterre                                                                                             | 53        |
| b- En France                                                                                                 | 54        |
| - <u>L'annonce du dépistage</u>                                                                              | 54        |
| - <u>Place des différents acteurs</u>                                                                        | 55        |
| ❶ <i>Rôle de l'état</i>                                                                                      | 55        |
| ❷ <i>Rôle de l'Assurance Maladie</i>                                                                         | 55        |
| ❸ <i>Rôle de l'AFDPHE</i>                                                                                    | 55        |
| ❹ <i>Rôle de l'Association Régionale du Dépistage et de la Prévention des Handicaps de l'Enfant (ARDPHE)</i> | 56        |
| <b>2- L'ANDEMEGEN.....</b>                                                                                   | <b>56</b> |
| a- Présentation                                                                                              | 56        |
| b- Historique                                                                                                | 56        |
| c- Fonctions de l'ANDEMEGEN                                                                                  | 57        |
| d- Organisation de l'ANDEMEGEN                                                                               | 57        |
| - <u>Le réseau professionnel</u>                                                                             | 57        |
| - <u>Le secrétariat</u>                                                                                      | 58        |
| - <u>Le laboratoire</u>                                                                                      | 59        |
| <b>3- Généralités sur le dépistage systématique néonatal.....</b>                                            | <b>59</b> |
| a- Historique des dépistages                                                                                 | 59        |
| b- Historique du dépistage de la mucoviscidose                                                               | 62        |
| - <u>Le BM-test méconium</u>                                                                                 | 62        |
| - <u>La trypsine immunoréactive</u>                                                                          | 63        |
| - <u>Découverte du gène CFTR</u>                                                                             | 63        |
| c- Réalisation du dépistage de la mucoviscidose                                                              | 64        |
| - <u>Le prélèvement</u>                                                                                      | 64        |
| - <u>Le consentement</u>                                                                                     | 67        |
| ❶ <i>Un consentement: pourquoi, à qui</i>                                                                    | 67        |
| ❷ <i>Recueil écrit du consentement</i>                                                                       | 67        |

|                                                                                                                          |           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| - <u>L'information</u>                                                                                                   | 69        |
| - <u>L'envoi au laboratoire</u>                                                                                          | 69        |
| d- Aspect éthique                                                                                                        | 70        |
| <b>III- Réalisation pratique du dépistage de la mucoviscidose en Loire-Atlantique au laboratoire de l'ANDEMEGEN.....</b> | <b>71</b> |
| <b>1- Principe général du dépistage.....</b>                                                                             | <b>71</b> |
| - <u>IRT-J3</u>                                                                                                          | 71        |
| - <u>Biologie moléculaire</u>                                                                                            | 71        |
| - <u>IRT-J21</u>                                                                                                         | 72        |
| - <u>Suivi du protocole IRT</u>                                                                                          | 72        |
| - <u>Résultats attendus</u>                                                                                              | 72        |
| <b>2- Dosage de l'IRT.....</b>                                                                                           | <b>74</b> |
| a- La trypsine immunoréactive ou immunoréactive trypsinogène (IRT ou TIR)                                                | 74        |
| b- L'appareillage                                                                                                        | 74        |
| c- Principe du dosage                                                                                                    | 75        |
| <b>3- La biologie moléculaire.....</b>                                                                                   | <b>76</b> |
| a- Principe de la procédure                                                                                              | 76        |
| - <u>La technique ARMS™</u>                                                                                              | 76        |
| - <u>Principe du test</u>                                                                                                | 76        |
| b- Application au dépistage néonatal                                                                                     | 77        |
| - <u>Résultats types</u>                                                                                                 | 77        |
| <b>4- Les limites du dépistage IRT/ DNA.....</b>                                                                         | <b>80</b> |
| a- Evolution de la trypsine au cours des premières semaines de vie                                                       | 80        |
| b- Problème des faux positifs et des hétérozygotes composites                                                            | 80        |
| c- Corrélation TIR/ $\Delta$ F508 et faux positifs                                                                       | 81        |
| <b>5- Test de la sueur.....</b>                                                                                          | <b>81</b> |
| a- La sueur                                                                                                              | 81        |
| b- Réalisation du test                                                                                                   | 82        |
| ❶ <i>Obtention de la sueur</i>                                                                                           | 82        |

|                                                                                                           |           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| ❷ <i>Recueil de la sueur</i>                                                                              | 83        |
| ❸ <i>Détermination de la concentration en chlorures</i>                                                   | 83        |
| ❹ <i>Détermination de la concentration en Na</i>                                                          | 84        |
| ❺ <i>Les valeurs de références</i>                                                                        | 84        |
| c- Les limites du test de la sueur                                                                        | 84        |
| d- Complexité de la maladie et donc du dépistage : quelques<br>exemples                                   | 85        |
| <b>6- En pratique au laboratoire de l'ANDEMEGEN.....</b>                                                  | <b>87</b> |
| a- Protocole suivi ( <i>annexe 2</i> )                                                                    | 87        |
| b- Résultats obtenus en Loire-Atlantique et Vendée depuis le lancement le<br>1 <sup>er</sup> janvier 2000 | 88        |
| - <u>Année 2000</u>                                                                                       | 88        |
| - <u>Année 2001</u>                                                                                       | 88        |
| - <u>Année 2002</u>                                                                                       | 88        |
| <b>7- Autres stratégies de dépistage.....</b>                                                             | <b>89</b> |
| a- Expérience réalisée à Vérone (Italie)                                                                  | 89        |
| b- Expérience réalisée en Provence-Alpes-Côte d'Azur (France)                                             | 91        |

### ***PARTIE 3 : Bénéfices du dépistage néonatal systématique***

*de la muocoviscidose ?.....*93

**I- Introduction.....**94

**II- Bénéfices cliniques.....**94

**1- Description de quelques études.....**94

  a- Etude du Wisconsin
 94 |

b- Etude australienne
 95 |

c- Etude anglaise
 95 |

d- Etude bretonne
 96 |

**2- Les différents bénéfices cliniques.....**96

137

|                                                                                                                                                  |            |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| a- Age au diagnostic                                                                                                                             | 96         |
| b- Un traitement précoce                                                                                                                         | 97         |
| c- Diminution du taux de mortalité précoce                                                                                                       | 98         |
| d- Dépistés et fréquence d'hospitalisation                                                                                                       | 99         |
| e- Rôle sur la fonction respiratoire                                                                                                             | 100        |
| - <u>Dépistage et épreuves fonctionnelles respiratoires</u>                                                                                      | 100        |
| - <u>Score de Shwachman et Brasfield</u>                                                                                                         | 102        |
| - <u>Dépistage et risque d'acquisition du Pseudomonas aeruginosa</u>                                                                             | 103        |
| - <u>Impact du dépistage sur les marqueurs de l'inflammation</u>                                                                                 | 105        |
| f- Rôle sur la croissance et le statut nutritionnel                                                                                              | 105        |
| - <u>Les paramètres anthropométriques</u>                                                                                                        | 105        |
| • <i>Le Z-score</i>                                                                                                                              | 105        |
| • <i>Z-score pour le poids et Z-score pour la taille en fonction de l'âge</i>                                                                    | 105        |
| - <u>Les paramètres biochimiques</u>                                                                                                             | 107        |
| • <i>Statut des vitamines liposolubles : A, D, E</i>                                                                                             | 107        |
| g- Rôle sur l'atteinte pancréatique                                                                                                              | 108        |
| h- Rôle sur l'atteinte hépatique                                                                                                                 | 110        |
| <b>III- Dépistage néonatal de la mucoviscidose et centres de soins.....</b>                                                                      | <b>110</b> |
| <b>1- Le centre de soins.....</b>                                                                                                                | <b>110</b> |
| <b>2- Dépistage néonatal de la mucoviscidose et centres de soins.....</b>                                                                        | <b>111</b> |
| <b>IV- Dépistage néonatal et impact sur les parents.....</b>                                                                                     | <b>111</b> |
| <b>1- Impact du dépistage sur l'état psychologique des parents.....</b>                                                                          | <b>112</b> |
| <b>2- Impact du dépistage sur le comportement des parents dont le premier enfant a été déterminé comme hétérozygote.....</b>                     | <b>112</b> |
| <b>3- Impact du dépistage sur le comportement reproductif des parents dont l'enfant a été dépistés CF (influence du dépistage prénatal).....</b> | <b>113</b> |
| <b>V- Dépistage néonatal et conseil génétique.....</b>                                                                                           | <b>116</b> |
| <b>1- Le conseil génétique dans la mucoviscidose .....</b>                                                                                       | <b>116</b> |
| <b>2- Dépistage néonatal et conseil génétique.....</b>                                                                                           | <b>117</b> |

|                                 |     |
|---------------------------------|-----|
| <b>CONCLUSION</b> .....         | 119 |
| <b>ANNEXES</b> .....            | 121 |
| <b>LISTE DES FIGURES</b> .....  | 128 |
| <b>LISTE DES TABLEAUX</b> ..... | 130 |
| <b>BIBLIOGRAPHIE</b> .....      | 140 |

---

# BIBLIOGRAPHIE

---

**1- AFDPHE- Comité d'éthique.**

Les prélèvements de sang sur papier pour le dépistage néonatal. Recommandation pour leur collecte, leur traitement et leur conservation.

**2- AFDPHE : organisation du programme de dépistage néonatal de la mucoviscidose.**

**3- AutoDELFIATM Neonatal IRT.**

*PerkinElmerTM*

**4- Bacculard A, Tournier G.**

Aspergillose bronchopulmonaire et mucoviscidose.

*Rev Pulmonol Clin 1995 ; 51: 160-163.*

**5- Baroni MA, Anderson YE, Mischler E.**

Cystic fibrosis newborn screening : impact of early screening results on parenting stress.

*Pediatr Nurs 1997 ; 23 : 143-51.*

**6- Barthelémy S, Maurin N, Roussey M, Ferec C, Murolo S, Berthézène P, Lovanna JL, Dagorn JC, Sarles J.**

Evaluation sur 47 213 enfants d'une stratégie de dépistage néonatal de la mucoviscidose associant les dosages de *pancreatitis-associated protein* et de trypsinogène immunoréactive.

*Arch Pediatr 2001 ; 8 : 275-81.*

**7- Bellon G.**

Mucoviscidose (épidémiologie, diagnostic, évolution).

*Revue du Praticien (Paris) 1995 ; n° 45 : 2351-2360.*

**8- Bellon G, Derelle J.**

Protocole de prise en charge des enfants atteints de mucoviscidose dépistés à la naissance.

*Proposition du groupe de travail « protocole de prise en charge pour les enfants dépistés », organisé par l'AFDPHE.*

**9- Belot V, Briard ML, Frischmann M, Lebatard C, Vidailhet M.**

Dépistage néonatal de la mucoviscidose.

*Recommandation de l'AFDPHE en matière d'information des parents et des professionnels de santé.*

**10- Bonneau D, Briard ML, Feingold J, Nivelon A.**

*Recommandation du groupe « Ethique Muco ». Le dépistage néonatal de la mucoviscidose. Mai 2001.*

**11- Brémont F, Navarro J.**

Deux étapes significatives dans la prise en charge de la mucoviscidose : l'expérience française de la dornase alpha (Pulmozyme®) et l'impact du registre international.

*Arch Pediatr 1998 ;5 : 367-370.*

**12- Brouard J, Lecoq I, Viel JF, Guillot M, Laurans M, 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.*

**13- Brouard J, Travert G, Duhamel JF.**

Mucoviscidose (Génétique, diagnostic, évolution, principes de traitement).

*Rev Prat 1999 Jan 15 ;49 (2) :103-190.*

**14- Brouard J, Travert G, Laroche D, Duhamel J.F.**

Evolution des enfants mucoviscidosiques dépistés à la naissance.

*Rev Mal Resp 1996 ; 13 : 79-80.*

**15- Castellani C, Bonizzato A, Gabrini G, Mastella G.**

Newborn screening strategy for cystic fibrosis : a field study in an area with high allelic heterogeneity.

*Acta Paediatr* 1997 ; 86 : 497-502.

**16- Castellani, Tamanini A, Mastella G.**

Protected neonatal hypertrypsinogaemi, normal sweat chloride, and cystic fibrosis.

*Arch Dis Child* 2000 ; 82 : 481-482.

**17- Chinet T.**

Physiologie de l'atteinte pulmonaire de la mucoviscidose.

*Rev Mal Respi* 1999 ; 16 : 339-345

**18- Ciske DJ, Haavisto A, Laxova A, Rock M, Farrell PM.**

Genetic counseling and neonatal screening for cystic fibrosis : an assessment of the communication process.

*Pediatrics* 2001 ; 107 : 699-705.

**19- Clément A, Tamalet A, Fauroux B, Tournier G.**

Mucoviscidose: les stratégies se multiplient.

*Arch Pediatr* 1998 ;5 : 1246-52.

**20- Coeslier A.**

La mucoviscidose résultats du programme de dépistage néonatal systématique en Bretagne de 1988 à 1996.

*Thèse pour le diplôme d'état de docteur en médecine ; 1997(Brest).*

**21- Cunaud-Soulard C.**

Association ANDEMEGEN, 25 ans d'activité. Dépistage de la phénylcétonurie, l'hypothyroïdie congénitale et l'hyperplasie congénitale des surrénales.

*Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie ; 2000 (Nantes) (00NANT059T).*

**22- Dankert-Roelse JE, te Meerman GJ.**

Long term prognosis of patients with cystic fibrosis in relation to early detection by neonatal screening and treatment in a cystic fibrosis centre.

*Thorax 1995 ; 50 : 712-8.*

**23- Derelle J, Hubert D, Sheid P.**

La mucoviscidose de l'enfant à l'adulte.

*Ed : Montrouge : John Libbey Eurotext. 1998.*

**24- Dezateux C.**

Screening newborn infants for cystic fibrosis.

*J Med Screen 2001 ; 8 : 57-60.*

**25- Dhondt JL, Farriaux JP.**

La fabuleuse histoire du dépistage néonatal.

*Ann Biol Clin 2000 ; 58 : 267-76.*

**26- Dhondt JL, Farriaux JP.**

What do immunoreactive trypsin assays measure ?

*Screening 3 ; 1994 : 33-38.*

**27-Dodge JA.**

Why screen for cystic fibrosis ? A clinician's view.

*Acta Paediatr 1999 Suppl 432 :28-32.*

**28-Doull I, Ryley H, Weller P, Goodchild M.**

Cystic fibrosis-related deaths in infancy and the effect of newborn screening.

*Pediatr Pulmonol. 2001 ; 31 : 363-366.*

**29- Dudding T, Wilken B, Burgess B, Hambly J, Turner G.**

Reproductive decisions after neonatal screening identifies cystic fibrosis.

*Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed 2000 ; 82 : F124-F127.*

**30- Dudding T, Wilken B, Burgess B, Turner G.**

Neonatal screening for cystic fibrosis.

*The Lancet* 2000 ; 356 : 1930.

**31- Duhamel JF, Travert G, Brouard J.**

La perspective d'une thérapie génétique doit-elle modifier la stratégie de dépistage de la mucoviscidose.

*Arch Pediatr* 1995 ; 2 : 8-10.

**32- Farrell PM, Kosorok MR, Laxova A, Shen G, Koscik R et al .**

Nutritional benefits of neonatal screening for cystic fibrosis.

*N Engl J Med* 1997 ; 337 : 963-9.

**33- Farrell PM, Kosorok MR, Rock M, Laxova A, Zeng L et al.**

Early diagnosis of cystic fibrosis through neonatal screening prevents severe malnutrition and improves long-term growth.

*Pediatrics* 2001 ; 107 : 1-13.

**34- Farriaux JP.**

Diagnostic prénatal des maladies génétiques. Dépistage néonatal de la phénylcétonurie et de l'hypothyroïdie.

*Revue du Praticien* 1997 ; n°47 : 2159-2168.

**35- Farriaux JP.**

Le dépistage de la mucoviscidose : un nouveau dépistage et un nouveau défi.

*Ann Biol Clin* 2002, 6 ; 13-14.

**36- Feranchak AP, Sontag MK, Wagener JS, Hammond KB, Accurso FJ, Sokol RJ.**

Prospective long-term study of fat-soluble vitamin status in children with cystic fibrosis identified by newborn screen.

*J Pediatr* 1999 ; 135 : 601-10.

**37- Ferec C.**

Epidémiologie génétique de la mucoviscidose en France.

*Patho Bio 2001 ; 49 : 418-419.*

**38- Gauthier S.**

La mucoviscidose et les adolescents. A propos des adolescents porteurs de mucoviscidose en Loire-Atlantique.

*Thèse pour le diplôme d'état de docteur en médecine ; 1999 (Nantes) (99NANT049M).*

**39- Ghosal S, Taylor CJ, Pickering M, McGaw J.**

Head growth in cystic fibrosis following early diagnosis by neonatal screening.

*Arch Dis Child 1996 ; 75 : 191-193.*

**40- Gilly R, Barbier Y , Garcia I.**

Le dépistage néonatal de la mucoviscidose.

*Arch Fr Pediatr 1987 ; 44 : 731-4.*

**41- Gilly R, Revoi A, Garcia I, Periat D, Ducos C.**

Dépistage néonatal de la mucoviscidose. Expérience de cinq années.

*Ann Pediatr 1979; 26 ( n°10) : 663-668.*

**42- Gregg RG, Simantel A, Farrel PM, Koscik R et al.**

Newborn screening for cystic fibrosis in Wisconsin : comparison of biochemical and molecular methods.

*Pediatrics 1997 ; 99 : 819-824.*

**43- Hoiby N, Koch C.**

Cystic fibrosis. *Pseudomonas aeruginosa* infection in cystic fibrosis and its management.

*Thorax 1990 ; 45 : 881-884.*

**44- Hui-Chuan Lai, Kosorok MR, Laxova A, Davis LA, Fitzimmon SC, Farrell PM.**

Nutritional status of patients with cystic fibrosis with meconium ileus : a comparison with patients without meconium ileus and diagnosed early through neonatal screening.

*Pediatrics 2000 ; 105 :53-61.*

**45- Julia S, Bieth E.**

Le conseil génétique dans la mucoviscidose.

*Rev Mal Respir 2000 ; 17 : 807-11.*

**46- La Dépêche Avril 97 n°20 (AFDPHE).**

**47- Laroche D, Peres O, Briard ML, Lemonnier F, Pasquet-ferrec C, Blandin C et al.**

Vers une nouvelle stratégie de dépistage néonatal de la mucoviscidose. Association du dosage de la trypsine immunoréactive et de la biologie moléculaire dans le sang séché.

*Arch Fr Pediatr 1990 ; 47 : 251-3.*

**48- Lecoq I, Brouard J, Laroche D, Férec C, Travert G.**

Blood immunoreactive trypsinogen concentrations are genetically determined in healthy and cystic fibrosis newborns.

*Acta Paediatr 1999 ; 88 : 338-41.*

**49- Le Moniteur des Pharmaciens.**

La mucoviscidose

Cahier II du n°2340 du 19 fev 2000.

**50- Lenoir G.**

*Pseudomonas aeruginosa* et mucoviscidose.

*Rev Pneumol Clin 1995; 51: 151-159.*

**51- Le Poulenec JY.**

*Plaidoyer pour une action concertée visant au diagnostic précoce de la mucoviscidose dans le département de la Loire-Atlantique.*

**52- Marchand M, Jarreau C, Chauffert M et al.**

Le test à la sueur.

*Ann Biol Clin* 1998 ; 56 : 215-221.

**53- Massie RJ, Gaskin K, Van Asperen P, Wilken B.**

Sweat testing following newborn screening for cystic fibrosis.

*Pediatr Pulmonol* 2000 ; 29 : 452-456.

**54- Massie RJ, Wilken B, Van Asperen P, Dorney S, Gruca M, Wiley V, Gaskin K.**

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 : 314-20.

**55- Mastella G, Zanolla L, Castellani C, Altieri S, Furnari M, Giglio L, Lombardo M, Miano et al.**

Neonatal screening for cystic fibrosis : long-term clinical balance.

*Pancreatology* 2001 ; 1(5) : 531-7.

**56- Matran R, Neve V, Cixous E, Deschildre A.**

Les explorations fonctionnelles respiratoires dans la mucoviscidose.

*Arch pediatr* 1998 ;5 (suppl 2) : 132s-134s.

**57- 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 : 306-315.

**58- Mischler EH, Wilfond BS, Fost N, Laxova A, Reiser C et al.**

Cystic fibrosis newborn screening : impact on reproductive behavior and implications for genetic counseling.

*Pediatrics* 1998 ; 102 : 44-52.

**59- Munck A, Navarro J.**

Prise en charge nutritionnelle de la mucoviscidose à l'âge pédiatrique.

*Arch Pédiatr 2000 ; 7 : 396-401.*

**60- Navarro J, Bellon G.**

La mucoviscidose.

*Ed : Espace 34. 1996.*

**61- Pederzini F, Gabrini G, Faraguna D, Giglio L, Mengarda G, Pedrotti D, Mastella G.**

Neonatal screening for cystic fibrosis using blood trypsin with complementary meconium lactase : an advisable strategy for the population of southern Europe.

*Screening 3 ;1995 : 173- 179.*

**62- Phelan PD.**

Neonatal screening for cystic fibrosis.

*Thorax 1995 ; 50 : 705-6.*

**63- Pin I, Grenet D, Scheid P, Domblides P, Stern M, Hubert D.**

Spécificité de la prise en charge de l'atteinte pulmonaire au cours de la mucoviscidose à l'âge adulte.

*Rev Mal Respir 2000; 17: 758-778.*

**64- Puchelle E, Jacquot J, deBentzmann S, Hubeau C, Gaillard D.**

Rôles des anomalies de CFTR sur les fonctions des cellules épithéliales respiratoires dans la mucoviscidose.

*Arch Pédiatr 2000 ;7 (suppl 2) : 343-5.*

**65- Rault G, Roussey M, Desrues B, Turck D, Perez T et al.**

Mucoviscidose : recommandations pour l'organisation des centres et réseaux de soins.

*Arch Pediatr 2001 ; 8 (suppl 5) : 802-17.*

**66- Roussey M.**

Le dépistage néonatal.

*Référence mucoviscidose 1998 ; 3 : 21-3.*

**67- Roussey M.**

Pourquoi généraliser le dépistage néonatal de la mucoviscidose ?

*Revue du Praticien 2002 ;n°52 : 1049-1051.*

**68- Rusch E.**

Evaluation des procédures de diagnostic ou de dépistage.

*Rev Prat 1997 Dec 1 ;47 (19) :2189-93.*

**69- Sarles J.**

Dépistage néonatal de la mucoviscidose : un double pari sur l'avenir.

*Arch Pediatr 2002 ; 9 : 451-5.*

**70- Sarles J.**

Diagnostic et dépistage.

*Référence mucoviscidose 1996 ; 1 : 21-3.*

**71- Sarles J, Barthelémy S, Ferec C, Iovanna JL, Roussey M, Farriaux JP et al.**

Blood concentrations of pancreatitis-associated protein in neonates : relevance to neonatal screening for CF.

*Arch Dis Child 1999 ; 80 : F118-F22.*

**72- Schoos R, Verloes A, Bourguignon JP, Koulischer L.**

Les programmes de dépistage systématique en néonatalogie : aspects pharmacoéconomiques.

*Rev Med Liege1998 ; 5 : 311-315.*

**73- Scotet V, Audrezet MP, de Braekeleer M, Ferec C.**

Le dépistage néonatal de la mucoviscidose

*Pathol Biol 2001 ; 49 : 785-8.*

**74- Scotet V, de Braekeleer M, Roussey M, Rault G, Parent P, Dagome M, Journal H et al.**

Neonatal screening for cystic fibrosis in Brittany, France : assessment of 10 years' experience and impact on prenatal diagnosis.

*Lancet* 2000 ;356 : 789-94.

**75- Scotet V, Verlingue C, Audrezet M-P et al.**

Apport de la biologie moléculaire au dépistage néonatal de la mucoviscidose.

*Immunoanal Biol Spec* 2000 ; 15 : 7-13.

**76- Sermet-Gaudelus I, Bonnefon JP.**

Un test de la sueur n'exclut pas le diagnostic de la mucoviscidose.

*Arch Pediatr* 2000 ; 7 : 594-6.

**77- Sermet-Gaudelus I, Hulin A, Ferroni A, Silly C et al.**

L'antibiothérapie dans la mucoviscidose.

*Arch Pediatr* 2000 ; 7 : 519-528

**78- Siret D.**

Mucoviscidose dépistée en période néonatale en Bretagne versus diagnostiquée sur symptômes en Loire-Atlantique : étude comparative depuis 1989.

*Mémoire pour le diplôme d'études spécialisées en pédiatrie (02 avril 1999).*

**79- Siret D, Branger B, Storni V, Bretaudeau G, Dagherne M, Moisan-Petit V, David V, Picherot G, Rault G, Roussey M.**

Le dépistage néonatal systématique améliore-t-il le pronostic de la mucoviscidose ? Etude comparative de deux cohortes en Bretagne et en Loire-Atlantique avec un recul de dix ans.

*Arch Pédiatr* 2000 ; 7 : 1154-62.

**80- Tamalet A, Fauroux B, Clement A.**

Diagnostic et prise en charge de la mucoviscidose chez l'enfant.

*Rev Mal Respi* 2000; 17: 725-732.

**81- Travert G, Duhamel JF.**

Dépistage néonatal systématique de la mucoviscidose par dosage de la trypsine immunoréactive sanguine. Bilan de 80000 tests.

*Arch Fr Pediatr* 1983 ; 40 : 295-8.

**82- Travert G, Somma Delpero C, Dhondt JL, Dorche C, Grosskopf C.**

*Proposition du groupe de travail Trypsine (IRT) 15 mai 2001.*

**83- Vallat V, Pressac M, Morgant G, Aymard P, Feldmann D.**

Diagnostic néonatal de la mucoviscidose : intérêt de l'analyse moléculaire du gène CFTR couplée à la trypsine immunoréactive sur tâches de sang.

*Immunoanal Biol Spec* 1999 ; 14 : 240-248.

**84- LeGrys.VA.**

Sweat analysis proficiency testing for cystic fibrosis.

*Pediatr Pulmonol* 2000 ;30 : 476-480.

**85- Vidailhet M.**

Dépistage néonatal de la mucoviscidose: Actualité et enjeux.

*Réalité Pédiatrique* Fev 2001 ; n°58.

**86- Wang S, FitzSimmons S, O'Leary L, Rock M, Gwinn M, Khoury M.**

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 : 274-279.

**87- Warren WS, Hamosh A, Egan M, Rosenstein BJ.**

False-positive results of genetic testing in cystic fibrosis.

*J Pediatr* 1997 ; 130 : 658-60.

**88- Waters D, Bridget W, Irwig L, Van Asperen P, Mellis C, Simpson J, Brown J, Gaskin K.**

Clinical outcomes of newborn screening for cystic fibrosis.

*Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1999 ; 80 : F1-F7.

**89- Wilken B.**

Neonatal screening for cystic fibrosis : it is time.

*Pediatr Pulmonol* ; 1998 ; 26 : 219-221.

**90- Wilken B, Travert G.**

Neonatal screening for cystic fibrosis : present and future.

*Acta Paediatr* 1999 ; 88 (Suppl 432) :33-5.

**91- Wizla-Derambure N, Michaud L.**

Effets de la rhDnase sur la fonction respiratoire et le statut nutritionnel de l'enfant et de l'adolescent atteints de mucoviscidose.

*Arch Pediatr* 98 ; 5 : 378-383.

## Adresses INTERNET :

**92- Briard ML.**

Génétique : éléments contre le dépistage néonatal systématique de la mucoviscidose.

[www.sfmp.net/site/publications/génétique](http://www.sfmp.net/site/publications/génétique)

**93- Ferec C.**

Génétique : dépistage néonatal de la mucoviscidose.

[www.sfmp.net/site/publications/génétique/depmuco1.htm](http://www.sfmp.net/site/publications/génétique/depmuco1.htm)

**94- Roussey M.**

La mucoviscidose

[www.med.univ-rennes1.fr](http://www.med.univ-rennes1.fr)

95- Le dépistage néonatal

[www.afdphe.asso.fr](http://www.afdphe.asso.fr)

96- France- Vers un dépistage systématique de la mucoviscidose (08/12/2000)

[www.vaincrelamuco.org](http://www.vaincrelamuco.org)

97- Faut-il élargir le dépistage ?

[www.afdphe.asso.fr](http://www.afdphe.asso.fr)

98- <http://perso.wanado.fr/afdphe/french/organisation>

## **CD-ROM :**

99- **ELUCIGENE™ CF20**