

# Dépistage néonatal de la mucoviscidose en France : aspects pratiques et perspectives



## *Newborn screening for cystic fibrosis in France: Practical aspects and perspectives*

A. Munck<sup>a</sup>  
 D. Cheillan<sup>b</sup>  
 E. Girodon<sup>c</sup>  
 T. Nguyen Khoa<sup>d</sup>  
 N. Wizla<sup>e</sup>  
 M.-P. Audrezet<sup>f</sup>  
 S. Bui<sup>g</sup>  
 J. Brouard<sup>h,i</sup>  
 E. Deneuveille<sup>j</sup>  
 C. Llerena<sup>k</sup>  
 M. Mittaine<sup>l</sup>  
 C. Raynal<sup>m</sup>  
 N. Remus<sup>n</sup>  
 M. Rota<sup>n</sup>  
 M. Roussey<sup>a</sup>  
 I. Sermet-Gaudelus<sup>o</sup>  
 F. Huet<sup>p</sup>

<sup>a</sup>Association française pour le dépistage et la prévention des handicaps de l'enfant (AFDPHE), 38, rue Cauchy, 75015 Paris, France

<sup>b</sup>Service biochimie et biologie moléculaire Grand Est, UM pathologies métaboliques, érythrocytaires et dépistage périnatal, Centre de biologie et de pathologie Est, groupement hospitalier Est-Hospices Civils de Lyon, 59, boulevard Pinel, 69677 Bron cedex, France

<sup>c</sup>Service de génétique et biologie moléculaires, groupe hospitalier Cochin – Broca – Hôtel-Dieu, Bâtiment Jean Dausset, hôpital Cochin, HUPC, AP-HP, 27, rue du Faubourg Saint-Jacques, 75014 Paris, France

<sup>d</sup>Laboratoires de biochimie générale et du Centre régional du dépistage néonatal Île-de-France, HU Necker-Enfants Malades, 149, rue de Sèvres, 75743 Paris cedex 15, France

<sup>e</sup>CRCM pédiatrique, hôpital Jeanne de Flandre, CHU Lille, avenue Eugène Avinée, 59037 Lille cedex, France

<sup>f</sup>Inserm, U613, laboratoire de génétique moléculaire, CHRU Brest, 29200 Brest, France

<sup>g</sup>CRCM Pédiatrique, Centre d'investigation clinique (CIC 1401), hôpital Pellegrin-Enfants, CHU de Bordeaux, place Amélie Raba Léon, 33000 Bordeaux, France

<sup>h</sup>Service de pédiatrie médicale, CHU Caen Côte de Nacre, avenue Côte de Nacre, 14033 Caen cedex 9, France

<sup>i</sup>UNICAEN, EA2656 Groupe de recherche sur l'adaptation microbienne (GRAM), Normandie université, 14032 Caen, France

<sup>j</sup>CRCM pédiatrique – hôpital Sud, CHU de Rennes, 16, boulevard de Bulgarie, 35203 Rennes cedex, France

<sup>k</sup>Centre de références et de compétence de la mucoviscidose, hôpital de la Tronche, boulevard de la Chantourne, 38043 Grenoble, France

<sup>l</sup>Pneumo-allergologie et CRCM pédiatrique, hôpital des enfants, 330, avenue de Grande Bretagne, 31059 Toulouse cedex 09, France

<sup>m</sup>Laboratoire de génétique moléculaire, institut universitaire de recherche clinique, CHU de Montpellier, 641, avenue du Doyen Gaston Giraud, 34093 Montpellier cedex 5, France

<sup>n</sup>Centre hospitalier intercommunal, 40, avenue de Verdun, 94000 Créteil, France

<sup>o</sup>Inserm U1151, service de pneumologie et allergologie pédiatrique, Centre de référence maladies rares : mucoviscidose et affections liées à CFTR (site constitutif), institut Necker-Enfants-Malades, hôpital Necker-Enfants-Malades, 149, rue de Sèvres, 75743 Paris, France

<sup>p</sup>Service de pédiatrie 1 et génétique médicale, 14, rue Paul Gaffarel, BP 77908, 21079 Dijon cedex, France

## RÉSUMÉ

Le dépistage néonatal (DNN) de la mucoviscidose, grâce à une prise en charge multidisciplinaire très précoce des nourrissons, est optimal en termes de pronostic pour les patients. Depuis 20 ans, il a connu une expansion internationale spectaculaire. Les performances du DNN national français réalisé depuis 2002 sont en accord avec les standards européens pour la valeur prédictive positive (0,31 pour un minimum de 0,30) et la spécificité (0,95 pour un minimum de 0,95) ; nous soulignons le nombre très faible de cas non conclus, un pourcentage très élevé de test de la sueur réalisés (95,5 %) et d'identification des mutations (96,6 %), un ratio de cas de mucoviscidose par rapport aux cas de diagnostic incertain de 6,3:1, ainsi qu'une stratégie efficace pour repérer les faux négatifs. Une nouvelle organisation du DNN français vient de se mettre en place, il est capital de maintenir l'efficacité du processus, du nouveau-né en maternité jusqu'au diagnostic dans des centres de référence ou de compétences de la mucoviscidose avec un recueil exhaustif des données et leur validation. Par ailleurs, une proposition de changement d'algorithme introduisant le dosage du polypeptide d'activation pancréatique est soumise aux nouvelles instances du DNN. L'annonce d'un diagnostic positif reste difficile et peu standardisée, si bien qu'une plateforme de simulation est en cours de mise en place. Nous détaillons ici les bonnes pratiques et les difficultés de réalisation du test de la sueur, avec les seuils de chlorures récemment redéfinis, ainsi que les modalités du conseil génétique.

© 2019 Société Française de Pédiatrie (SFP). Publié par Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

## SUMMARY

Neonatal screening for cystic fibrosis has optimized the prognosis for patients by allowing very early multidisciplinary care. Over the past 20 years, screening programs have undergone major international expansion. The performance of the French neonatal cystic fibrosis screening program, established in 2002, has met European guideline standards, with a positive predictive value of 0.31 (versus a minimum of 0.30) and a specificity value of 0.95 (versus a minimum of 0.95). It is also important to highlight the very high percentage of sweat tests performed (95.5%), mutations identified (96.6%), a ratio of cystic fibrosis cases to cases of inconclusive diagnosis of 6.3:1, and the effectiveness of the strategy implemented for detection of false-negative cases. A new organization for cystic fibrosis neonatal screening has now been established in France and it is vital that effectiveness is maintained throughout the process, from newborn maternity care to diagnosis in cystic fibrosis reference centers, and further knowledge gained through exhaustive collection and validation of data. A change in the diagnostic algorithm has also been suggested, with the introduction of pancreatitis-associated protein testing for newly screened cases. The way in which positive diagnoses are announced remains problematic and requires further standardization, and training simulation platforms are being developed. Here, we describe good practice guidelines for sweat testing and recent changes in chloride cut-off values. We also provide information on genetic counseling approaches.

© 2019 Société Française de Pédiatrie (SFP). Published by Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

## MOTS CLÉS

Trypsine immunoréactive  
Polypeptide d'activation  
pancréatique  
Mutations CFTR  
Test de la sueur  
Conseil génétique

## KEYWORDS

*Immunoreactive trypsinogen*  
*Pancreatitis-associated*  
*protein*  
*CFTR mutations*  
*Sweat test*  
*Genetic counseling*

## Auteur correspondant :

**A. Munck,**

Société Française de Dépistage Néonatal, Association française pour le dépistage et la prévention des handicaps de l'enfant (AFDPHE), 38, rue Cauchy, 75015 Paris, France.

Adresse e-mail :

[anne.munck1@gmail.com](mailto:anne.munck1@gmail.com)

## INTRODUCTION : LE DÉPISTAGE NÉONATAL DE LA MUCOVISCIDOSE EN EUROPE

Le dépistage néonatal (DNN) permet un diagnostic précoce de la mucoviscidose (MV) avec la prise en charge de nourrissons pour la plupart peu ou pré-symptomatiques, améliorant ainsi le pronostic à long terme en comparaison à des cohortes repérées sur des signes cliniques [1–3], pour un rapport coût-bénéfice favorable [4]. Le DNN de la MV a connu une expansion spectaculaire au niveau international ces deux dernières décennies. Il s'est ainsi imposé en Australie en 2001, dans tous les États-Unis en 2010, au Canada en 2018 et dans de nombreux pays européens [5], avec une coordination nationale ou régionale, et des stratégies différentes selon les populations dépistées, les spécificités administratives des états et leurs moyens économiques. En Amérique du Sud et Centrale, un programme national a été initié au Brésil et en Uruguay, avec des initiatives régionales au Mexique, Costa Rica et Argentine. Préalablement à la mise en place d'un programme de DNN, des programmes pilotes permettent de s'assurer de son efficacité, caractérisée par une valeur prédictive positive (VPP) et une sensibilité satisfaisantes, c'est-à-dire, un nombre de faux positifs et faux négatifs réduits. La détection de cas d'hypertrypsiniémie pour lesquels le diagnostic est incertain (*CFTR*-related metabolic syndrome (CRMS) pour les américains [6], *Cystic fibrosis screened positive, inconclusive diagnosis* (CFSPID) pour les européens [7,8]) est à limiter car au-delà des objectifs du DNN.

## PERFORMANCES ET RESTRUCTURATION DU DNN EN FRANCE

La France a été précurseur en organisant dès 2002 un DNN national avec un algorithme unique (Métropole et La Réunion,

puis progressivement les autres départements d'Outre-Mer). Il consiste en un dosage de la trypsine immunoréactive (TIR) sur le sang du carton Guthrie prélevé au 3<sup>e</sup> jour après la naissance (J3) (Fig. 1). En accord avec la législation française, un consentement parental écrit au dos du carton est demandé pour tout nouveau-né et permettra de réaliser l'analyse des mutations *CFTR* si la valeur de la TIR est au-dessus du seuil (0,5 % des nouveau-nés). L'analyse génétique est basée sur le kit CF30v2 Elucigene<sup>®</sup> de 29 mutations (suite à la suppression de la R117H en 2015). En cas de non consentement parental (absence ou refus) ou si aucune mutation n'est retrouvée avec une valeur de TIR J3 ultra-haute, un contrôle de TIR est réalisé vers le 21<sup>e</sup> jour (J21). Seront convoqués au centre de ressources et de compétence de la mucoviscidose (CRCM) les enfants chez qui on a identifié deux ou une mutation(s) du kit ou une TIR J21 au-dessus du seuil, afin de réaliser un test de la sueur (TS) qui réfutera ou confirmera le diagnostic de MV. Chaque association régionale (22 jusqu'à 2017) responsable des DNN adresse trimestriellement les données à l'Association Française pour le Dépistage et la Prévention des Handicaps de l'Enfant (AFDPHE). Celle-ci analyse les données, évalue les performances, rédige un rapport annuel et optimise le DNN. Ainsi les commissions du bureau et technique ont élevé les seuils de TIR j3 et j21 en 2004 en raison d'un pourcentage de nouveau-nés suspects trop élevé et supprimé la mutation R117H du kit (R117H étant quasi-exclusivement associée en France à un variant d'épissage normal T7) [9]. Les performances 2002–2014 [10] répondent ainsi aux exigences des standards européens [11,12] en termes de VPP (0,31 pour un minimum souhaité de 0,30), sensibilité (0,95 pour un minimum de 0,95), d'un nombre limité de formes CFSPID (ratio CF : CFSPID 6,3 : 1 et depuis le retrait de la R117H, 9 : 1). Nous mettons de plus en avant un taux très faible de diagnostic sans conclusion (< 0,5 %), une quasi exhaustivité de la réalisation du TS (95,5 %) et d'allèles identifiés après analyse exhaustive du gène si nécessaire (99,6 %). Il est à noter que la couverture

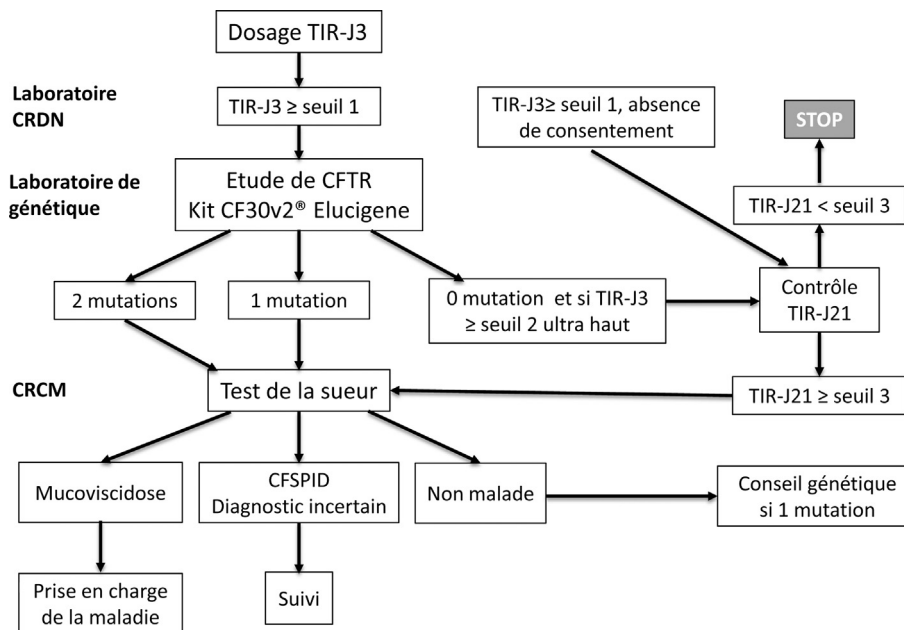


Figure 1. Algorithme actuel TIR-DNA en France. CRCM : Centre de ressources et de compétence de la mucoviscidose, TIR : trypsine immunoréactive, dosée à trois jours (j3) et à trois semaines de vie (j21), TS : test de la sueur.

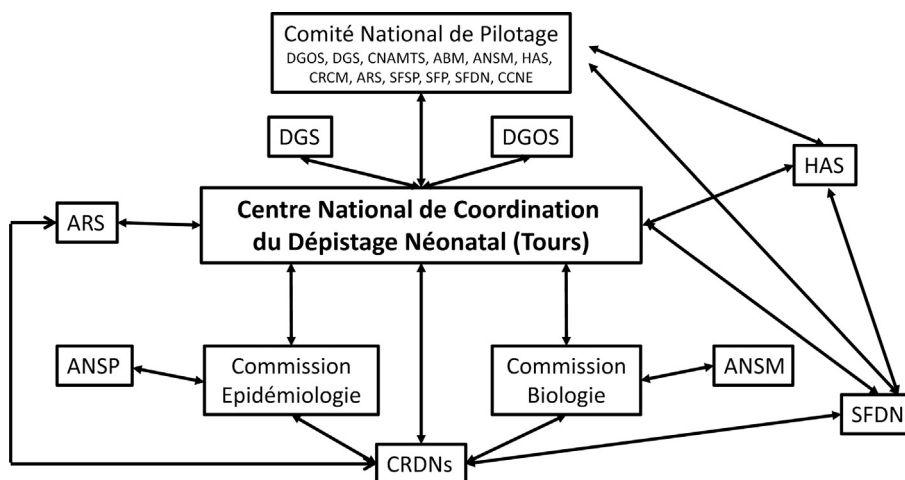
de détection du kit utilisé est  $\geq 80\%$  pour toutes les régions et 198 autres mutations ont été identifiées. L'âge à la visite initiale au CRCM est  $\leq 35$  jours pour 53 % des nourrissons malades mais encore 12 % sont vus au-delà de 56 jours, délai maximal préconisé par les standards européens.

Cet algorithme de dépistage a fait l'objet de critiques, notamment liées aux contraintes du test génétique, qu'elles soient organisationnelles (nécessité de recueillir un consentement écrit), ou éthiques (dépistage de cas de diagnostic incertain (14 %), dépistage d'enfants hétérozygotes porteurs sains, utilisation de kits non adaptés aux minorités ethniques). Une réflexion a débuté avec la découverte d'un marqueur biochimique de la MV, le polypeptide d'activation pancréatique (PAP). La finalité du DNN étant de repérer les nouveau-nés atteints de MV qui bénéficieront d'une prise en charge précoce, la Haute Autorité de santé (HAS) a préconisé de remplacer le test génétique par le dosage de la PAP. La comparaison des algorithmes TIR/ADN et TIR/PAP sur 500 000 naissances a montré une VPP très faible pour TIR/PAP qui a été une barrière à son implémentation [13]. La combinaison TIR/PAP/ADN [14,15] améliorant la VPP avec une sensibilité acceptable et détectant moins de cas au diagnostic incertain et de porteurs sains par rapport à l'algorithme TIR/ADN, est en cours d'étude pour déterminer les valeurs seuils de TIR et PAP et l'intérêt d'un contrôle de TIR à J21 au vu des données hollandaises récentes [14]. Cette proposition de modification de l'algorithme devra répondre à un cahier des charges strict (délai de rendu des résultats biochimiques et moléculaires, délai de 1<sup>re</sup> visite au CRCM). Elle a été évaluée à la CNAMTS et la DGS qui, sans la rejeter et sous condition d'une évaluation économique stable, proposent de la soumettre aux nouvelles instances du dépistage néonatal.

Depuis 1972, le DNN biologique a reposé en France sur une organisation originale : 22 associations régionales (AR), souvent adossées aux structures hospitalières, coordonnaient

en amont et en aval des maternités et des services de néonatalogie le recueil et l'orientation des carton-buvards. Les laboratoires référents réalisaient les tests biologiques des cinq maladies du programme français. Ces AR colligeaient les résultats et les transmettaient à l'AFDPHE (association loi de 1901) qui gérait l'ensemble des données épidémiologiques. Ce dispositif, financé par la CNAMTS, a fait la preuve de son efficacité en termes d'exhaustivité ( $> 99\%$ ), de fiabilité (près de 22 000 enfants malades dépistés pour 5 maladies) et d'efficacité médicoéconomique (coût proche de 11 euros par enfant). La tutelle ministérielle (DGOS et DGS) et la HAS (chargée d'élaborer les recommandations pour la mise en place de nouveaux dépistages) complétaient le dispositif. Enfin, un bureau et une commission technique regroupant des experts garantissaient non seulement la pertinence des techniques, la qualité des résultats, l'optimisation des performances mais travaillaient également sur les évolutions attendues du DNN.

Depuis quelques années, des discussions concernant le caractère associatif de l'AFDPHE, situation inhabituelle pour une action nationale de santé publique, le fait que l'opérateur était gestionnaire de son propre fonctionnement mais également le frein lié au nombre important de sites régionaux dont certains étaient fragiles financièrement du fait du faible nombre de naissances et enfin, la volonté d'implanter un 6<sup>e</sup> dépistage biologique [déficit en *Medium Chain acyl-CoA Dehydrogenase* (MCAD), maladie métabolique], nécessitant un matériel de haute technicité (spectrométrie de masse en tandem) ont entraîné un profond remaniement administratif et de structure. La réorganisation du dispositif a abouti à un nouveau cadre réglementaire (Instruction DGS-SP5-DGOS-R3-2017-155) qui est fonctionnel depuis le printemps 2018 (Fig. 2). Des Centres Régionaux de Dépistage Néonatal (CRDN) intégrés aux Centres hospitalo-universitaires (CHU) ont été sélectionnés dans chaque région administrative par leur Agence régionale de



**Figure 2.** Restructuration de l'organisation du dépistage néonatal. ABM : Agence de la Biomédecine ; ARS : Agence régionale de santé ; ANSM : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé ; ANSP : Agence nationale de santé publique ; CCNE : Comité consultatif national d'éthique ; CNAMTS : Caisse nationale de l'assurance maladie des travailleurs salariés ; CRDN : Centre régional de dépistage néonatal ; CRCM : Centres de ressources et de compétence pour la mucoviscidose ; DGOS : Direction générale de l'offre des soins ; DGS : Direction Générale de la Santé ; HAS : Haute Autorité de santé ; SFDN : Société française de dépistage néonatal ; SFP : Société française de Pédiatrie ; SFSP : Société française de santé publique.

santé (15 ARS au total). Ces CRDN ont des missions proches des anciennes associations régionales mais sur des périmètres géographiques plus larges. Un Centre National de Coordination du Dépistage Néonatal (CNCNDN) a été désigné à Tours, interlocuteur direct des tutelles et coordonnateur des actions concernant le DNN. Il centralisera les données épidémiologiques et rédigera le bilan annuel. Le financement des CRDN dépendra du Ministère de la santé et transitera désormais par les ARS, après convention avec les CHU. Cette nouvelle organisation est désormais opérationnelle mais il est capital de maintenir l'efficacité du processus, du nouveau-né en maternité jusqu'au diagnostic dans des centres de référence ou de compétences, avec un recueil exhaustif des données et leur validation.

### LE DIAGNOSTIC INCERTAIN DE MUCOVISCIDOSE, CFSPID/CRMS

Les cas d'hypertrypsiniémie au DNN pour lesquels le diagnostic est incertain sortent du cadre du DNN. Ils sont définis par :

- une mutation au plus du gène *CFTR* liée à la MV et un taux d'ions chlorures entre 30–59 mmol/L ou ;
- deux mutations de *CFTR*, dont une est de pathogénicité indéterminée avec un taux d'ions chlorures < 60 mmol/L [16].

Cette définition est proche de celle de CFSPID [7] et CRMS [8]. La prévalence de ces cas parmi la cohorte des enfants dépistés se révèle très disparate selon les algorithmes, allant de 1 % à 6 % en Australie et au Canada [17,18], jusqu'à 21 % aux États-Unis [19–21]. En France, la proportion de diagnostic incertain est de 1 pour 6,3 cas de MV confirmée [10,22] et depuis le retrait de la mutation R117H de 9:1, ce qui est remarquable. Ces situations génèrent un impact négatif à la fois pour les familles et les

soignants car elles regroupent des formes cliniques dont il est impossible de prévoir l'évolution, même si la plupart de ces nourrissons resteront asymptomatiques. Les recommandations internationales [7] et nationales [16] imposent de refaire un TS à 12 mois et si possible à 6 et 24 mois et de rechercher les mutations rares du gène *CFTR*. Les nourrissons doivent avoir une évaluation initiale au CRCM (étude bactériologique des sécrétions, radiographie de thorax, élastase fécale 1). Le praticien libéral référent sera informé des particularités de la prise en charge et travaillera en collaboration avec le CRCM. L'enfant y sera revu à 3, 6, 12 mois, puis tous les ans, avec des précautions strictes pour éviter la transmission de germes. Une réévaluation du diagnostic y sera faite au cas par cas. Des explorations fonctionnelles épithéliales de la protéine CFTR sur différents epithelia (différence de potentiel nasal (DDP) ou courant de court-circuit sur biopsie rectale (CCC)), peuvent aider à résoudre ce dilemme diagnostique. La collaboration étroite avec les groupes de travail européens [7] et américains [23] a permis l'élaboration d'algorithmes pour harmoniser les critères diagnostiques pour les individus ayant un diagnostic incertain, dont celui publié en France (Fig. 3) [16]. Ils ne doivent pas être considérés comme des dogmes car leur élaboration est en cours depuis 2000 et ils sont régulièrement mis à jour.

### L'ANNONCE D'UN DÉPISTAGE NÉONATAL POSITIF

Le déroulement de l'appel téléphonique pour convocation du nouveau-né au CRCM et la consultation d'annonce de la maladie sont déterminants pour la qualité des relations entre les familles et l'équipe du CRCM, l'adhésion au projet thérapeutique et l'acceptation de la maladie. De nombreuses situations

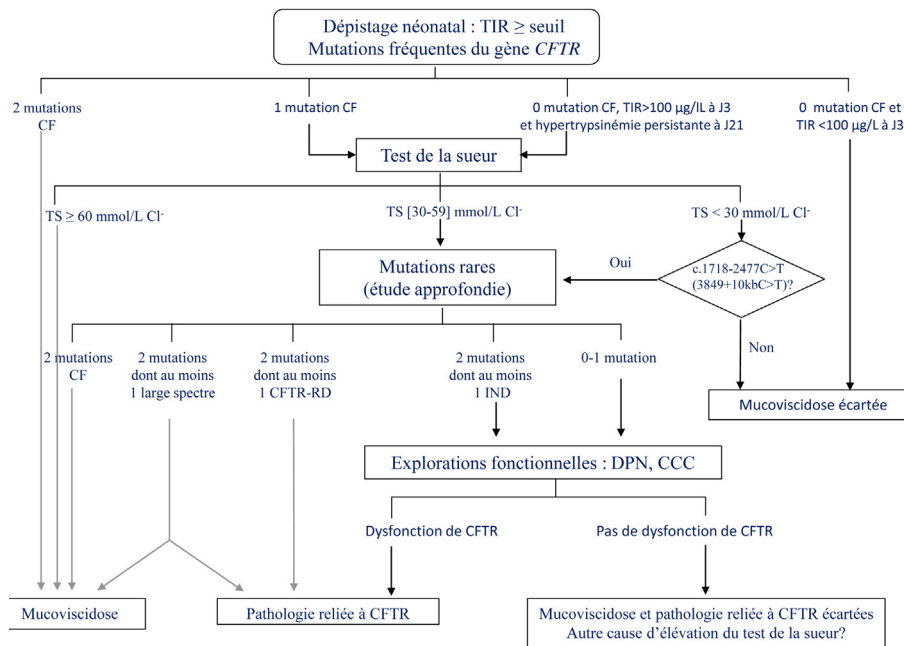


Figure 3. Algorithme de prise en charge des nourrissons présentant un diagnostic incertain de mucoviscidose. CCC : courant de court-circuit sur biopsie rectale ; CFTR-RD : CFTR-related disorders ; DPN : différence de potentiel nasal ; indéterminée : mutation de pathogénicité indéterminée ; TIR : trypsine immunoréactive ; TS : test de la sueur.

complexes (nouveau-né hospitalisé, cas de MV familial, différences culturelles, précarité...) rendent le processus d'annonce difficile à standardiser. Faire preuve d'empathie et de disponibilité, emprunter aux programmes d'éducation thérapeutique du patient des techniques d'écoute active (reformulation, silence, questions ouvertes, synthèse), peut faciliter l'expression des émotions et des questions des parents. Récemment, un programme de simulation émanant du Groupe de Travail Dépistage et Diagnostic de la Mucoviscidose et coordonné par le CRCM de l'hôpital Necker-Enfants Malades (Paris) a été mis en place à destination de l'ensemble des CRCM. Les rôles des parents de l'enfant atteint de MV sont joués par deux comédiens, permettant aux soignants de se confronter à deux scénarii types pour les phases de l'appel téléphonique et de l'annonce du diagnostic (sidération, panique, etc.). Les entretiens sont filmés et discutés avec l'équipe concernée et devraient permettre de mieux faire face à ces situations difficiles.

## LE TEST DE LA SUEUR

### Bonnes pratiques du test de la sueur

Le TS détermine la concentration des ions chlorures ( $\text{Cl}^-$ ) et/ou des ions sudoraux. Il comporte trois étapes :

- la stimulation de la sudation par iontophorèse à la pilocarpine ;
- la collection de sueur ;
- le dosage des ions  $\text{Cl}^-$  et/ou des ions totaux dans la sueur.

Les procédures sont standardisées selon les recommandations internationales [24] et nationales [25,26], il est réalisé par un personnel habilité afin de réduire la proportion de « prélèvement insuffisant » ; il utilise un matériel marqué CE (la titrimétrie ne répond plus aux critères de la norme ISO 15189) ; la durée de la collection de sueur est de 30 minutes pour une production correcte de la sueur ( $\geq 20$  min en cas de production importante de sueur) et  $< 60$  min en particulier lorsque la sueur reste en contact avec la surface cutanée (Exsupatch<sup>®</sup>) pour éviter la réabsorption de la sueur ; un contrôle de qualité interne au laboratoire et un contrôle externe inter-laboratoires doivent être régulièrement pratiqués ; le compte rendu du TS une fois validé par le biologiste sera donné aux parents par le médecin le jour même ; sur le compte rendu figurent les méthodes du recueil de sueur, du dosage des ions  $\text{Cl}^-$  (mmol/L  $\text{Cl}^-$ ) (par coulométrie ou par potentiométrie directe à l'aide d'une électrode sélective) ou des ions sudoraux (mmol/L Eq NaCl) (par conductimétrie ou conductivité sudorale), et les valeurs seuils du TS.

Seul le dosage des ions  $\text{Cl}^-$  permet de confirmer le diagnostic de MV, la conductivité sudorale restant utile en première intention pour éliminer le diagnostic. Le choix de la méthode de TS dépend de l'organisation du CRCM et de sa proximité ou non avec un laboratoire de biologie médicale, de la meilleure praticabilité pour le personnel (il faut favoriser les méthodes les moins opérateur-dépendantes). Lorsque la stimulation est réalisée dans le service de soins et le dosage au laboratoire, le recueil de la sueur à l'aide d'un collecteur Macroduct<sup>®</sup> est à encourager car il préserve la qualité de l'échantillon durant son transport.

### Valeurs seuil du test de la sueur

Selon les recommandations internationales publiées en 2017 [12,23,27], les valeurs seuils du TS sont les mêmes quel que soit

l'âge du sujet : valeurs normales si  $< 30$  mmol/L  $\text{Cl}^-$  et  $< 50$  mmol/L Eq NaCl ; valeurs positives de MV si  $\geq 60$  mmol/L  $\text{Cl}^-$ . Pour toute valeur de conductivité sudorale  $\geq 50$  mmol/L Eq NaCl, une mesure en ions  $\text{Cl}^-$  doit être réalisée pour poser le diagnostic de MV. Pour des valeurs intermédiaires entre 30 et 59 mmol/L  $\text{Cl}^-$ , le nourrisson sera re-convoqué dans un délai  $< 3$  mois pour un deuxième TS et une analyse exhaustive du gène CFTR sera faite en cas de valeur intermédiaire ou positive.

### Difficultés de réalisation du TS dans le cadre du DNN

Les difficultés de réalisation du TS dans le cadre du DNN sont nombreuses, d'ordre pratique (petit poids), psychologique (nourrisson ne présentant pas de symptôme clinique), logistique ou médicales. Le délai de convocation suite à l'appel téléphonique doit être minimal pour limiter l'anxiété des parents, et un accueil par le référent médical est souhaitable. Le nourrisson dépisté peut être convoqué au CRCM à partir de 3 kg et 15 jours de vie. Les systèmes les plus adaptés aux nouveau-nés sont (*Tableau 1*) :

- le Macroduct Advanced<sup>TM</sup> (ELITech) pour sa forme concave du collecteur plus adaptée à la petite taille des membres du nouveau-né ;
- le système Nanoduct<sup>TM</sup> (ELITech) qui mesure la conductivité sudorale in situ dès que le débit de sueur optimal est atteint. Celui-ci est apprécié pour sa grande praticabilité. Cependant, il doit impérativement être complété par un TS en ions  $\text{Cl}^-$  si la conductivité sudorale est  $\geq 50$  mmol/L Eq NaCl.

Il est conseillé de réaliser un TS successivement sur les 2 bras du nouveau-né pour se donner plus de chance de collecter un bon échantillon (ces 2 échantillons de sueur ne doivent pas être mélangés).

### Résultats de l'enquête 2018 sur le test de la sueur dans les CRCM

Une enquête menée en ligne avec un questionnaire adressé dans les CRCM à un binôme opérateur du TS et pédiatres responsables du DNN (23 réponses/31 CRCM (75 %)) montre que le principal critère excluant la réalisation du TS était un poids du nourrisson trop faible (90 %). Une information préalable sur le TS était systématiquement transmise aux parents (sous forme orale dans 91 %, orale et écrite pour 9 %). Le recueil de sueur est largement réalisé par le collecteur Macroduct<sup>®</sup> (74 %). Le diagnostic de MV était posé après réalisation d'au moins 2 TS dans 91 % des CRCM. Le dosage des ions  $\text{Cl}^-$  était réalisé dans 91 % des centres soit par coulométrie (80 %), par potentiométrie directe (10 %) ou par titrimétrie (10 %). Seul un centre n'effectuait que la mesure de conductivité sudorale. La participation à un programme de contrôle qualité externe était de 90 % (avec le programme Asqualab à 85 %) ([www.asqualab.fr](http://www.asqualab.fr)).

Les résultats étaient communiqués aux familles le jour même dans tous les centres.

Ces résultats montrent un bon suivi des recommandations nationales et internationales de réalisation et interprétation du TS [25,26,28–30]. Ils contrastent avec ceux d'une enquête menée en Europe par l'ECFS auprès de 136 centres de prise en charge de la MV ou laboratoires [31] ; le TS était réalisé avec un recueil de sueur par Macroduct<sup>®</sup> dans 56 % des sites, les ions chlorures

**Tableau I. Systèmes disponibles en France pour le test de la sueur.**

	Iontophorèse à la pilocarpine	Collection de sueur	Dosage
Macroduct™ Wescor, ELITech	3700 Sweat inducer™ Pilogel® (Pilocarpine 0,5 %) 5 min à 1,5 mA	Macroduct™ Forme ronde	Pré-analytique : transfert de l'échantillon de sueur en tube PCR capuchonné de 200 µL Analytique : dosage des ions chlorures par coulométrie avec un Chloruremètre : 926S Sherwood (Servilab) ou Chlorocheck™ (Wescor, ELITech) Résultat exprimé en mmol/L Cl <sup>-</sup>
Advanced Macroduct™ Wescor, ELITech	3710 Sweat inducer™ Pilogel® (Pilocarpine 0,5 %) 5 min à 1,5 mA	Advanced Macroduct™ Forme ovale	Pré-analytique : contrôle automatique du débit de sueur Analytique : dosage in situ des ions totaux par mesure de la conductivité sudorale Résultat exprimé en mmol/L équivalent NaCl
Exsudose™ TEM Segal	Microstim™ Tampon imprégné de Pilocarpine à 1 % 15 min à 1,0 mA	Exsupatch™	Analytique : dosage in situ dosage des ions chlorures par potentiométrie directe à l'aide d'une électrode sélective Exsudose™ (TEM Segal) Résultat exprimé en mmol/L Cl <sup>-</sup>
Nanoduct™ Wescor, ELITech	Pilocarpine 2 % 2,5 min à 0,5 mA	Cellule Nanoduct™	Pré-analytique : contrôle automatique du débit de sueur Analytique : dosage in situ des ions totaux par mesure de la conductivité sudorale Résultat exprimé en mmol/L équivalent NaCl

étaient mesurés dans 68 %, le TS était répété dans 81 % dont seulement 8 % le même jour, et les valeurs seuils du TS étaient d'une grande variabilité selon les sites.

## LE CONSEIL GÉNÉTIQUE

### Les bases de données des mutations CFTR

Plus de 2000 mutations (ou variants, termes synonymes) du gène *CFTR*, impliqué dans la mucoviscidose, ont été identifiées à ce jour, avec des impacts différents sur l'expression du gène ou de la protéine CFTR [32]. Dans les bases de données spécifiques du locus *CFTR*, ces mutations sont classées selon la conséquence phénotypique [33]. Deux mutations associées à la MV en *trans* (une mutation portée par chaque allèle), chacune transmise

par un parent, et/ou un TS  $\geq 60$  mmol/L font porter le diagnostic de MV [30]. Les mutations CFTR-RD (CFTR-related disorders), en *trans* d'une mutation associée à la MV, sont associées à un phénotype modéré souvent mono-symptomatique et de révélation tardive. Il existe par ailleurs des variants neutres ou bénins et des variants de signification clinique incertaine ou inconnue. Les bases de données ont chacune leurs points forts et leurs points faibles (Tableau II). En particulier, la base de données internationale CFTR2 ([www.cftr2.org](http://www.cftr2.org)) collige des données pour environ 400 variants identifiés chez près de 90 000 patients atteints de mucoviscidose ou suspects d'être atteints provenant des registres ; CFTR-France (<https://cftr.iurc.montp.inserm.fr/cftr/>) recense 816 variants dont 70 % rares, identifiés dans des phénotypes variés dont les CFTR-RD, donnant ainsi une meilleure idée du spectre phénotypique associé aux variants.

**Tableau II. Bases de données des mutations CFTR.**

Nom	Construction	Points forts	Points faibles
Cystic Fibrosis Mutation Database	Observation initiale	2031 variants Tous phénotypes	Observations uniques ++ Pas de contrôle des données
CFTR2	Registres de patients CF	89 052 patients Données cliniques complètes Données épidémiologiques et de la littérature	> 80 000 patients CF 400 variants « fréquents » annotés Pas de classe CFTR-RD
CFTR-France	Laboratoires français de génétique « experts »	816 variants différents (70 % rares $\leq 5\times$ ) Classe CFTR-RD Tous phénotypes Collaboration avec le registre français : vérification, mise à jour des données Évaluation de l'impact par les outils bioinformatiques	5047 individus Recueil non exhaustif des patients Données cliniques parfois incomplètes (CFTR-RD)
CFTR3	Registres de patients CF	Variants rares	À l'état de projet ; pas en accès libre

## Bonnes pratiques et difficultés

### Pourquoi tester les parents des enfants atteints ?

L'étude génétique chez les parents d'un nourrisson hypertrypsinémique porteur de mutations est indispensable pour trois raisons :

- confirmer la présence de mutations *en trans* (enfant homozygote pour une mutation ou hétérozygote composite pour deux mutations), et ainsi le diagnostic de mucoviscidose ;
- proposer un diagnostic prénatal ou préimplantatoire dans la perspective d'une prochaine grossesse ;
- cibler l'étude génétique familiale chez les personnes majeures.

Par ailleurs, lorsqu'on identifie un nouveau-né hypertrypsinémique avec une seule mutation du kit et un test de la sueur normal, il est déclaré hétérozygote simple ou « porteur sain » et la recherche de la mutation est réalisée chez les parents afin d'identifier le parent porteur et cibler le conseil génétique dans sa famille.

### Le conseil génétique à l'ère des modulateurs

La médecine personnalisée permet de faire bénéficier des patients porteurs de certains variants de modulateurs du CFTR. L'amélioration majeure, observée pour les patients porteurs d'une mutation de classe III, type c.1652G>A (G551D), peut conduire à s'interroger sur les informations à délivrer lors du conseil génétique. À ce jour, il n'y a en effet aucune recommandation nationale ou internationale sur ce point.

### Résultats de l'enquête sur le conseil génétique et DNN dans les CRCM

Une enquête a été menée en ligne avec un questionnaire adressé à tous les généticiens, conseillers en génétique et pédiatres responsables du DNN des CRCM en 2018. Dix-neuf centres sur 31 (61 %) ont répondu, quelquefois difficilement compte-tenu de la formulation des questions pas toujours comprises. Néanmoins, les recommandations du PNDS [27] sont globalement bien suivies. Les consultations de conseil génétique en cas d'enfant atteint de MV sont pratiquées entre 15 et 60 jours après la naissance dans 75 % des cas, en respectant le souhait des parents et un rendez-vous rapide est donné en cas de grossesse en cours dans la famille. Les recommandations de conseil génétique pourraient être approfondies et justifier l'élaboration de documents écrits standardisés en particulier pour la transmission d'information à la parentèle. L'information concernant le recours possible pour les parents d'enfants atteints au diagnostic prénatal non invasif, disponible dans quelques laboratoires, doit être largement diffusée. Les besoins en matière de conseil génétique ne semblent par ailleurs pas assez couverts. En matière d'interprétation, la communication est à améliorer et les comptes-rendus doivent notamment inclure le libellé du diagnostic. La déclaration par les cliniciens au registre des enfants porteurs des variants R117H ou T5 reste hétérogène, pas toujours fonction du résultat du test de la sueur. Un autre manque d'harmonisation concerne la prise en charge du couple parental d'un nourrisson porteur sain dans les laboratoires, l'étude chez le parent non porteur de la mutation pouvant être limitée aux mutations fréquentes ou être complète. La discussion se

poursuit au sein du réseau des laboratoires ([www.anpgm.fr](http://www.anpgm.fr), arbre décisionnel anpgm-074-v3).

## CONCLUSION

Les performances du DNN de la MV en France sont en accord avec les standards européens [11,12], grâce à la centralisation des données analysées par un bureau d'experts et une commission technique, permettant une optimisation de l'algorithme et des valeurs seuils de la TIR et l'adaptation des mutations CFTR du kit CF30 Elucigene®. La collaboration directe entre les acteurs du DNN et les CRCM (créés en 2001) permet une prise en charge rapide et standardisée des patients, conformément aux recommandations, avec une attention portée à l'annonce du diagnostic. Ce dispositif continue à s'améliorer à travers des évaluations régulières. Au moment où le DNN, tel qu'il est réorganisé dans notre pays pour dépendre directement du Ministère de la Santé et des CHU qui accueilleront les futurs CRDN et la constitution d'un CNCDN, il est capital de maintenir l'efficacité du processus, du nouveau-né en maternité jusqu'au diagnostic dans les CRCM, avec un recueil exhaustif des données validées.

### Points essentiels

- Le diagnostic de mucoviscidose par le dépistage néonatal est optimal pour le pronostic clinique si l'on y associe une prise en charge multidisciplinaire dès les premières semaines de vie.
- Les performances du dépistage néonatal français sont en accord avec les recommandations européennes.
- Les cas de diagnostic incertain de mucoviscidose sont en dehors de l'objectif du dépistage néonatal, néanmoins même si la plupart de ces nourrissons resteront asymptomatiques, un suivi est justifié car on ne sait pas prévoir leur évolution.
- Le test de la sueur doit être réalisé selon les exigences des bonnes pratiques. Les valeurs seuils sont universelles quel que soit l'âge.
- Plus de 2000 mutations du gène CFTR ont été identifiées à ce jour et le conseil génétique fait partie intégrante de la prise en charge des familles suite au dépistage néonatal lorsqu'une ou deux mutations sont identifiées.
- La réorganisation du dispositif français du dépistage néonatal en 2018 a abouti à un nouveau cadre réglementaire qui devra maintenir le recueil exhaustif des données et leur validation.
- L'annonce d'un dépistage positif reste difficile et non standardisée, une plateforme de simulation est en cours de mise en place.

### Remerciements

Nous remercions tous les CRCMs qui ont participé à la réalisation de l'enquête ainsi que Marielle Romet et Françoise Nourrit-Poirette de Santé Active Editions pour leur assistance dans la rédaction de ce manuscrit.



### Déclaration de liens d'intérêts

Les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts.

## RÉFÉRENCES

- [1] Farrell PM, Kosorok MR, Rock MJ, et al. Early diagnosis of cystic fibrosis through neonatal screening prevents severe malnutrition and improves long-term growth. Wisconsin Cystic Fibrosis Neonatal Screening Study Group. *Pediatrics* 2001;107:1–13.
- [2] Dijk FN, Fitzgerald DA. The impact of newborn screening and earlier intervention on the clinical course of cystic fibrosis. *Paediatr Respir Rev* 2012;13:220–5.
- [3] Coffey MJ, Whitaker V, Gentin N, et al. Differences in outcomes between early and late diagnosis of cystic fibrosis in the newborn screening era. *J Pediatr* 2017;181 [137–45 e1].
- [4] van der Ploeg CP, van den Akker-van Marle ME, Vernooij-van Langen AM, et al. Cost-effectiveness of newborn screening for cystic fibrosis determined with real-life data. *J Cyst Fibros* 2015;14:194–202.
- [5] Barben J, Castellani C, Dankert-Roelse J, et al. The expansion and performance of national newborn screening programmes for cystic fibrosis in Europe. *J Cyst Fibros* 2017;16:207–13.
- [6] Borowitz D, Parad RB, Sharp JK, et al. Cystic Fibrosis Foundation practice guidelines for the management of infants with cystic fibrosis transmembrane conductance regulator-related metabolic syndrome during the first two years of life and beyond. *J Pediatr* 2009;155(Suppl):106–16.
- [7] Munck A, Mayell SJ, Winters V, et al. Cystic fibrosis screen positive, inconclusive diagnosis (CFSPID): a new designation and management recommendations for infants with an inconclusive diagnosis following newborn screening. *J Cyst Fibros* 2015;14:706–13.
- [8] Ren CL, Borowitz DS, Gonska T, et al. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator-related metabolic syndrome and cystic fibrosis screen positive, inconclusive diagnosis. *J Pediatr* 2017;181S [S45–S51 e1].
- [9] Thauvin-Robinet C, Munck A, Huet F, et al. CFTR p.Arg117His associated with CBAVD and other CFTR-related disorders. *J Med Genet* 2013;50:220–7.
- [10] Munck A, Delmas D, Audrezet MP, et al. Optimization of the French cystic fibrosis newborn screening programme by a centralized tracking process. *J Med Screen* 2018;25:6–12.
- [11] Smyth AR, Bell SC, Bojcin S, et al. European cystic fibrosis Society Standards of Care: best Practice guidelines. *J Cyst Fibros* 2014;13(Suppl 1):S23–42.
- [12] Castellani C, Duff AJA, Bell SC, et al. ECFS best practice guidelines: the 2018 revision. *J Cyst Fibros* 2018;17:153–78.
- [13] Sarles J, Giorgi R, Berthezene P, et al. Neonatal screening for cystic fibrosis: comparing the performances of IRT/DNA and IRT/PAP. *J Cyst Fibros* 2014;13:384–90.
- [14] Dankert-Roelse JE, Bouva MJ, Jakobs BS, et al. Newborn blood spot screening for cystic fibrosis with a four-step screening strategy in the Netherlands. *J Cyst Fibros* 2019;18:54–63.
- [15] Sommerburg O, Hammermann J, Lindner M, et al. Five years of experience with biochemical cystic fibrosis newborn screening based on IRT/PAP in Germany. *Pediatr Pulmonol* 2015;50:655–64.
- [16] Sermet-Gaudelus I, Brouard J, Audrezet MP, et al. Recommandations pour la prise en charge et le suivi des nourrissons pour lesquels un diagnostic de mucoviscidose n'a pu être conclu après dépistage néonatal. *Arch Pediatr* 2017;24:401–14.
- [17] Massie J, Clements B, Australian Paediatric Respiratory G. Diagnosis of cystic fibrosis after newborn screening: the Australasian experience—twenty years and five million babies later: a consensus statement from the Australasian Paediatric Respiratory Group. *Pediatr Pulmonol* 2005;39:440–6.
- [18] Ooi CY, Castellani C, Keenan K, et al. Inconclusive diagnosis of cystic fibrosis after newborn screening. *Pediatrics* 2015;135:e1377–85.
- [19] Parad RB, Comeau AM. Diagnostic dilemmas resulting from the immunoreactive trypsinogen/DNA cystic fibrosis newborn screening algorithm. *J Pediatr* 2005;147(Suppl):S78–82.
- [20] Levy H, Nugent M, Schneck K, et al. Refining the continuum of CFTR-associated disorders in the era of newborn screening. *Clin Genet* 2016;89:539–49.
- [21] Kharrazi M, Yang J, Bishop T, et al. Newborn screening for cystic fibrosis in California. *Pediatrics* 2015;136:1062–72.
- [22] Audrezet MP, Munck A, Scotet V, et al. Comprehensive CFTR gene analysis of the French cystic fibrosis screened newborn cohort: implications for diagnosis, genetic counseling, and mutation-specific therapy. *Genet Med* 2015;17:108–16.
- [23] Farrell PM, White TB, Howenstine MS, et al. Diagnosis of cystic fibrosis in screened populations. *J Pediatr* 2017;181S [S33–S44 e2].
- [24] LeGrys VA, Yankaskas JR, Quittell LM, et al. Diagnostic sweat testing: the cystic fibrosis foundation guidelines. *J Pediatr* 2007;151:85–9.
- [25] Rota M, Nguyen-Khoa T, Marchand M, et al. Recommandations pour l'exécution et l'interprétation du test de la sueur. *Ann Biol Clin (Paris)* 2008;66:221–7.
- [26] Nguyen-Khoa T, Borgard JP, Marchand M, et al. Qualités analytiques des techniques de dosage et comparaison des procédures utilisées pour le test de la sueur. *Ann Biol Clin (Paris)* 2012;70:5–12.
- [27] Goodfield M, Hull S, Holland D, et al. Investigations of the "active" edge of plaque psoriasis: vascular proliferation precedes changes in epidermal keratin. *Brit J Dermatol* 1994;131:808–13.
- [28] Massie J, Greaves R, Metz M, et al. Australasian Guideline (2nd Edition): an Annex to the CLSI and UK Guidelines for the Performance of the Sweat Test for the Diagnosis of Cystic Fibrosis. *Clin Biochem Rev* 2017;38:115–30.
- [29] Green A, Kirk J, Guidelines Development G. Guidelines for the performance of the sweat test for the diagnosis of cystic fibrosis. *Ann Clin Biochem* 2007;44:25–34.
- [30] Farrell PM, White TB, Ren CL, et al. Diagnosis of cystic fibrosis: consensus guidelines from the cystic fibrosis foundation. *J Pediatr* 2017;181S [S4–S15 e1].
- [31] Cirilli N, Southern KW, Buzzetti R, et al. Real life practice of sweat testing in Europe. *J Cyst Fibros* 2018;17:325–32.
- [32] Rowe SM, Miller S, Sorscher EJ. Cystic fibrosis. *New Engl J Med* 2005;352:1992–2001.
- [33] Castellani C, Cuppens H, Macek M, et al. Consensus on the use and interpretation of cystic fibrosis mutation analysis in clinical practice. *J Cyst Fibros* 2008;7:179–96.