



HAL
open science

[Newborn screening for cystic fibrosis in France]

A. Munck, D. Cheillan, M. P. Audrezet, D. Guénet, F. Huet

► **To cite this version:**

A. Munck, D. Cheillan, M. P. Audrezet, D. Guénet, F. Huet. [Newborn screening for cystic fibrosis in France]. *Médecine/Sciences*, 2021, 37 (5), pp.491-499. 10.1051/medsci/2021051 . inserm-03344375

HAL Id: inserm-03344375

<https://inserm.hal.science/inserm-03344375>

Submitted on 4 Jun 2024

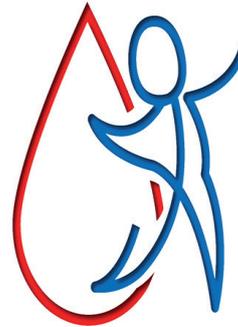
HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

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

Dépistage néonatal de la mucoviscidose

Anne Munck^{1,2}, David Cheillan^{1,3,4},
Marie-Pierre Audrezet^{4,5}, David Guenet⁶,
Frédéric Huet^{1,7}

► Le dépistage néonatal (DNN) de la mucoviscidose a permis une prise en charge multidisciplinaire très précoce des nourrissons et a amélioré le pronostic de cette maladie. Il a connu, en une vingtaine d'années, un développement international spectaculaire. Les performances du DNN national français, réalisé depuis 2002, répondent aux exigences des standards européens en termes de valeur prédictive positive et de sensibilité. Nous pouvons noter, en particulier, un nombre très faible de cas en attente de conclusion, un pourcentage très élevé de tests de la sueur réalisés et d'identification des mutations du gène *cystic fibrosis transmembrane conductance regulator* (CFTR), un ratio important de cas de mucoviscidose par rapport aux cas de diagnostics non conclus, ainsi qu'une stratégie efficace pour repérer les faux-négatifs. Une nouvelle organisation du DNN français a été mise en place. Il est donc capital de maintenir l'efficacité du processus ainsi mis en place, du nouveau-né en maternité jusqu'au diagnostic dans des centres de ressources et de compétences de la mucoviscidose, avec le recueil exhaustif des données et leur validation. ◀



- ¹Société française de dépistage néonatal, Paris, France.
²Centre de ressource et de compétence de la mucoviscidose, Hôpital Necker-Enfants malades, AP-HP, 149 rue de Sèvres, 75015 Paris, France.
³Service biochimie et biologie moléculaire Grand Est, Centre de biologie et de pathologie Est, Groupement hospitalier Est-Hospices civils de Lyon, 59 boulevard Pinel, 69677 Bron Cedex, France.
⁴Commission de biologie - Centre national de coordination du dépistage néonatal, Paris, France.
⁵Service de génétique médicale et biologie de la reproduction, CHRU de Brest, Inserm UMR1078 - Génétique, génomique et biotechnologies, F-29200, Brest, France.
⁶Laboratoire de biologie médicale, Centre régional de dépistage néonatal, Service de biochimie, CHU de Caen Normandie, Caen, France.
⁷Service de pédiatrie 1 et génétique médicale, 14 rue Paul Gaffarel, BP 77908, 21079 Dijon Cedex, France.
anne.munck1@gmail.com

acceptable). Concernant la mucoviscidose, le DNN a été l'objet d'une controverse, notamment en raison de l'absence de traitement efficace [3]. Néanmoins, les avantages de ce dépistage, ainsi que les nouvelles avancées thérapeutiques, semblent définitivement primer sur les objections qui avaient pu être émises. Ainsi, des bénéfices en matière de nutrition, de fonctions respiratoires et de survie [4] des patients diagnostiqués précocement ont pu être démontrés lors d'essais cliniques randomisés [5, 6], d'études observationnelles de cohortes appariées, géographiques ou historiques [7-9], ou à partir de données issues de registres [10, 11].

Finalement, après évaluation de ces données de la littérature, les États-Unis [12] et l'Europe [13] ont conclu, au cours de réunions d'experts, qu'il y avait assez d'arguments en termes de bénéfices cliniques et d'économie de santé pour justifier la mise en place du DNN de la mucoviscidose. Depuis les années 1990, celui-ci s'est ainsi imposé progressivement dans de nombreux pays et, en 2014, seize pays européens avaient mis en place un programme national de dépistage de la mucoviscidose, et quatre des dépistages régionaux, l'ensemble pouvant couvrir la totalité de leur population [14]. L'Australie a instauré ce dépistage en 2001, les États-Unis, dans

Justification du dépistage

Le dépistage néonatal (DNN) permet le repérage pré-symptomatique de nourrissons porteurs de certaines maladies congénitales afin de mettre en place aussi précocement que possible un traitement qui préviendra ou réduira les conséquences à long terme de la maladie. Les critères de James Maxwell Wilson et Gunnar Jungner, décrits en 1968 [1] et réactualisés en 2008 [2], ont permis de déterminer quelles maladies peuvent être concernées par le DNN (maladie connue, grave, fréquente et pour laquelle on dispose d'un test de dépistage fiable, applicable au grand nombre et d'un coût

tous les États, en 2010, et le Canada en 2018. En Amérique du Sud et centrale, un programme national a débuté au Brésil et en Uruguay, avec des initiatives régionales au Mexique, au Costa Rica et en Argentine. Les stratégies de dépistage sont variées, car elles dépendent, notamment, des populations, des spécificités administratives des états et de leurs capacités économiques.

Le diagnostic précoce de la mucoviscidose par DNN permet également de mettre en place un conseil génétique pour les parents du nouveau-né atteint de la maladie. Néanmoins, l'anxiété parentale engendrée par l'existence de faux-positifs lors du test, l'identification d'hétérozygotes simples et de formes frontières de la maladie sont des effets potentiellement délétères de ce dépistage.

La stratégie du dépistage : méthode de dépistage et tests de confirmation

Méthode de dépistage : mise en place et algorithme

La France a été précurseur en organisant, dès 2002, un DNN national avec un algorithme de décision unique (en Métropole et à La Réunion, puis progressivement dans les autres Départements d'outre-mer). Il consiste en un dosage de la trypsine immunoréactive (TIR)¹ sur le sang prélevé au 3^e jour après la naissance (J3) du nourrisson et déposé sur un carton-buvar (Figure 1). En accord avec la législation française pour la réalisation des examens des caractéristiques génétiques d'une personne², un consentement parental, écrit au dos du carton, est demandé pour tout nouveau-né pour autoriser l'analyse des mutations du gène *CFTR* (*cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*)³ si la valeur de la TIR mesurée se situe au-dessus du seuil d'action (le seuil au-delà duquel une intervention sera réalisée ; il intéresse 0,5 % des nouveau-nés).

L'analyse génétique du gène *CFTR* est actuellement fondée sur l'utilisation du kit CF30v2 Elucigene®. Ce kit permet la détection de 29 mutations du gène *CFTR* (Tableau 1). Il a été développé spécifiquement afin de détecter au moins 80 % des mutations dans une population sélectionnée [15]. En cas de non consentement parental (absence ou refus) ou si aucune mutation n'est retrouvée malgré une valeur de TIR à J3 très au-dessus du seuil, un deuxième contrôle de TIR est réalisé vers le 21^e jour (J21). Seront alors convoqués par téléphone au Centre de ressources et de compétence de la mucoviscidose (CRCM), les parents et l'enfant chez qui ont été identifiées une ou deux mutation(s) du gène, ou une TIR à J21 au-dessus du seuil, afin de réaliser un nouveau test, le test de la sueur⁴. Ce contact téléphonique sera réalisé par le médecin pédiatre du CRCM qui recevra la famille. Bien qu'il ne fasse pas partie *stricto sensu* de la procédure de dépistage, le test de la sueur permet de réfuter ou de confirmer le diagnostic de mucoviscidose. Il repose sur

la détermination de la concentration en ions chlorures (Cl⁻) dans la sueur de l'enfant [16]. Seule la mesure de la concentration en ions chlorures sera utilisée pour poser le diagnostic de mucoviscidose. Selon les recommandations internationales, publiées en 2017 [17, 18], les valeurs seuils de ce test sont identiques quel que soit l'âge du sujet (valeurs normales : < 30 mmol/L de Cl⁻ et < 50 mmol/L Équivalent NaCl ; valeurs positives : ≥ 60 mmol/L de Cl⁻). Pour toute valeur de conductivité sudorale ≥ 50 mmol/L Équivalent NaCl, la concentration d'ions Cl⁻ doit être mesurée pour poser le diagnostic). Pour des valeurs intermédiaires (entre 30 et 59 mmol/L de Cl⁻), le nourrisson et ses parents seront convoqués de nouveau dans un délai inférieur à 3 mois, pour un deuxième test, et une analyse exhaustive du gène *CFTR* et de ses mutations possibles sera alors réalisée en cas de valeur intermédiaire ou positive.

Surveillance et performances du DNN

Jusqu'en 2017, le DNN a été géré par l'Association française pour le dépistage et la prévention des handicaps de l'enfant (AFDPHE). Cette structure nationale a joué un rôle déterminant dans l'optimisation du DNN de la mucoviscidose, par le choix et la validation des techniques, la rédaction de procédures de dosage, le suivi des résultats, afin de repérer de possibles dérives liées à la technique ou à un laboratoire, voire de proposer des adaptations des seuils ou des mutations à identifier, comme nous le décrirons ultérieurement. Ainsi, les seuils de TIR à J3 et à J21 ont été relevés en 2004, en raison d'un pourcentage de nouveau-nés détectés par ce test trop élevé. Par ailleurs, sur la période s'étendant de 2002 à 2014 [19], un excès de porteurs de la mutation R117H (p.Arg117His)⁵ homozygotes ou hétérozygotes composites a été identifié parmi les cas de diagnostic non conclu, avec des tests de la sueur normaux ou intermédiaires, cet excès étant dû exclusivement à un variant d'épissage normal T7⁶ associé à une très faible pénétrance de la mucoviscidose [20]. Cela a conduit à supprimer, en janvier 2015, la mutation R117H du kit CF30, qui a alors été remplacé par le kit CF30v2.

À partir de 2018, ce sont les Agences régionales de santé (ARS) qui sont devenues responsables de la mise en œuvre et du suivi du DNN, le Centre national de coordination du dépistage néonatal (CNCDN) centralisant les données.

¹ On désigne sous le terme de « trypsine immunoréactive » un ensemble de dérivés de la trypsine reconnus par un anticorps spécifique. L'obstruction des canaux pancréatiques en cas de mucoviscidose provoque un passage sanguin du trypsinogène, dont le taux sérique est alors anormalement élevé.

² Décret n° 2000 - 570 du 23 juin 2000, réactualisé en avril 2008.

³ *CFTR* est le gène dont certaines mutations sont responsables de la mucoviscidose. Plus de 2 000 variants alléliques ont été identifiés, mais tous les variants ne sont pas responsables de la mucoviscidose.

⁴ Il consiste à mesurer la concentration du chlore sur un échantillon de sueur après stimulation par iontophorèse à la pilocarpine.

⁵ Remplacement de l'arginine en position 117 de la protéine *CFTR* par une histidine.

⁶ L'ARN messager de *CFTR* est sujet à un mécanisme d'épissage alternatif à l'origine de plusieurs formes de la protéine.

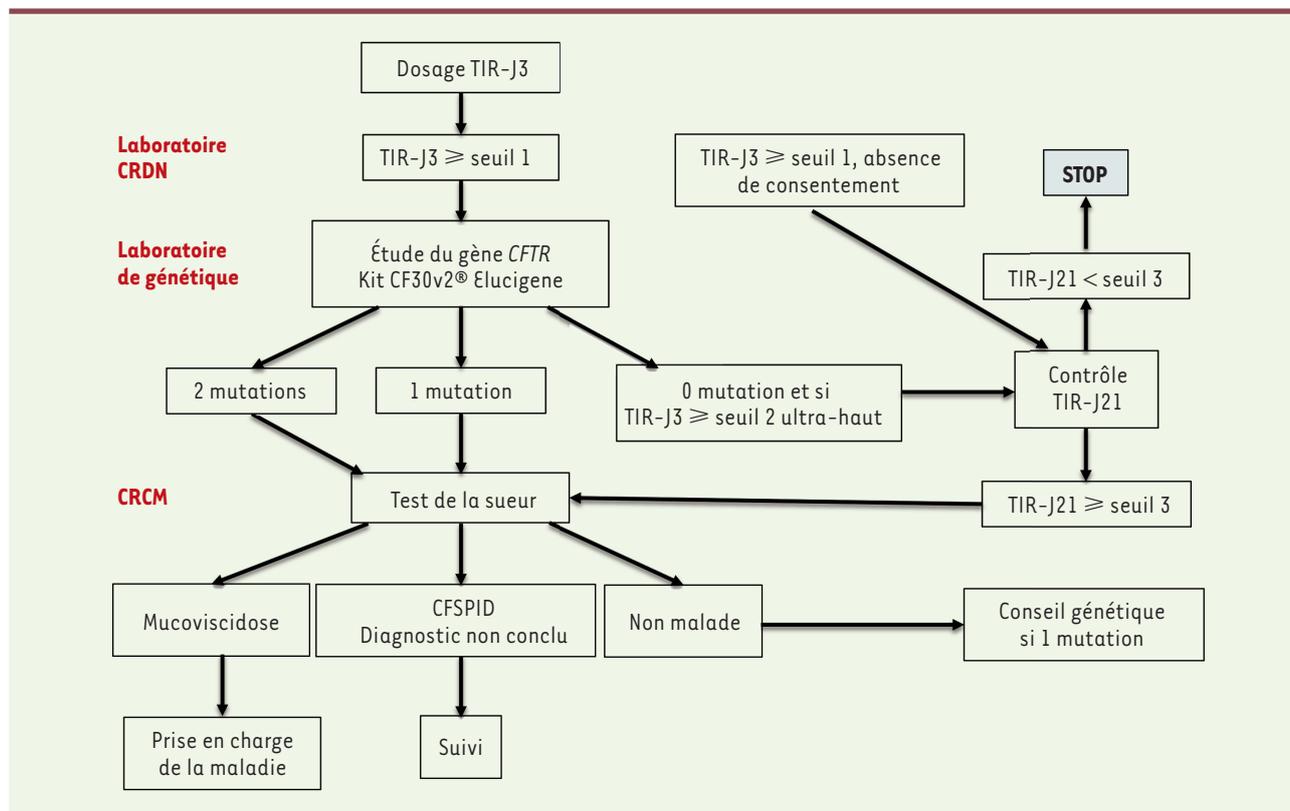


Figure 1. Diagnostic de la mucoviscidose à partir du dosage de la TIR et de l'analyse génétique moléculaire : arbre décisionnel. CRCM : Centre de ressources et de compétence de la mucoviscidose ; TIR : trypsine immunoréactive, dosée trois jours (J3) et trois semaines après la naissance (J21) ; CFSPID : *cystic fibrosis screen positive, inconclusive diagnosis* ; CRDN : Centre régional de dépistage néonatal.

Les performances du DNN obtenues entre 2002 et 2014 [19] sont présentées dans le *Tableau II*. Elles répondent aux exigences des standards européens [17, 21] en termes de valeur prédictive positive (VPP) (0,31 pour un minimum souhaité de 0,30), de sensibilité (0,95 pour un minimum de 0,95), d'un nombre limité de formes CFSPID (*cystic fibrosis screen positive inconclusive diagnosis*)⁷ (ratio CF/CFSPID de 6,3 pour 1 et 9 pour 1 depuis le retrait de la mutation R117H) [22]. L'examen de ces performances montre un taux très faible de diagnostic sans conclusion (moins de 0,5 %), une quasi-exhaustivité de la réalisation du test de la sueur (95,5 %) et un taux d'allèles mutés important, identifiés après analyse de la séquence du gène si nécessaire (99,6 %). La couverture de détection des mutations, en utilisant le kit, a été supérieure à 80 % pour toutes les régions, et 198 mutations supplémentaires ont été identifiées [23]. De plus, l'âge à la visite initiale au Centre de ressources et de compétences de la mucoviscidose (CRCM) a été inférieur à 35 jours, pour 53 % des nourrissons malades. Cet âge reste au-delà de 56 jours pour 12 % des nourrissons, ce qui est le délai maximal préconisé par les standards européens.

⁷ En français, diagnostic non conclu. Désigne des nourrissons identifiés par un dépistage néonatal, mais sans que la maladie soit établie.

Les difficultés du dépistage : faux-positifs et faux-négatifs, hétérozygotes simples, formes intermédiaires ou atypiques, et conseil génétique

L'amélioration des performances du dépistage est un enjeu permanent et évolutif [24]. Elle vise à limiter le nombre de faux-positifs sans majorer le nombre de faux-négatifs repérés du fait de symptômes cliniques. Un enjeu important du DNN est de limiter le repérage des cas de diagnostic non conclu, car la plupart d'entre eux resteront asymptomatiques, au moins pendant l'enfance.

Les faux-positifs : les modifications de seuil de la TIR ; la gestion du stress parental

Afin de limiter le nombre de nouveau-nés devant bénéficier d'une analyse de la séquence nucléotidique de leur gène *CFTR* (avec pour objectif un test sur 0,5 % des enfants) et d'enfants « faux-positifs » qui seront adressés dans les CRCM pour réaliser un test de la sueur, plusieurs modifications des seuils de TIR sont intervenues, après analyse des données par la commission

F508del (c.1521_1523del, p.Phe508del),	R334W (c.1000C>T, p.Arg334Trp),
I507del (c.1519_1521del, p.Ile507del),	R347P (c.1040G>C, p.Arg347Pro),
1078delT (c.948del),	R553X (c.1657C>T, p.Arg553*),
1717-1G>A (c.1585-1G>A),	S1251N (c.3752G>A, p.Ser1251Asn),
2183AA>G (c.2051-2052delinsG),	W1282X (c.3846G>A, p.Trp1282*),
3659delC (c.3528delC),	1811+1.6kbA>G (c.1680-886A>G),
3849+10kbC>T (c.3718-2477C>T),	2789+5G>A (c.2657+5G>A),
621+1G>T (c.489+1G>T),	3120+1G>A (c.2988+1G>A),
A455E (c.1364C>A, p.Ala455Glu),	3272-26A>G (c.3140-26A>G),
E60X (c.178G>T, p.Glu60*),	394delTT (c.262_263del),
G542X (c.1624G>T, p.Gly542*),	711+1G>T (c.579+1G>T),
G551D (c.1652G>A, p.Gly551Asp),	G85E (c.254G>A, p.Gly85Glu),
N1303K (c.3909C>G, p.Asn1303Lys),	Y1092X (c.3276C>A, p.Tyr1092*),
R1162X (c.3484C>T, p.Arg1162*),	Y122X (c.366T>A, p.Tyr122*),
	W846X (c.2538G>A, p.Trp846*)

Tableau I. Liste des 29 mutations détectées par le kit CF30v2 Elucigene®. Les mutations sont indiquées sous le nom usuel et, entre parenthèses, selon la nomenclature de la *Human Genome Variation Society* (HGVS). (La mutation R117H (c.350G>A, p.Arg117His) a été supprimée en 2015). c. correspond à la mutation du gène ; p. correspond à l'altération de la protéine. Ainsi, par exemple, « c.1521_1523del, p.Phe508del » signifie la délétion des nucléotides 1521 à 1523 dans le gène *CFTR*, la perte de ce codon conduisant à l'absence de la phénylalanine en position 508 dans la séquence de la protéine. De même, « c.3909C>G, p.Asn1303Lys » correspond au remplacement de la cytosine 3909 du gène *CFTR* par une guanine avec, pour conséquence, le remplacement de l'aspartate en position 1303 par une lysine dans la séquence de la protéine. Y1092X correspond à p.Tyr1092*, où X ou * désigne la fin de la séquence de la protéine mutée en raison de l'introduction, par la mutation, d'un codon stop prématuré.

technique de l'AFDPHE [19]. Jusqu'en mars 2003, les seuils de positivité de la TIR à J3 et à J21 étaient respectivement fixés à 60 et 30 µg/L ; ils ont été ensuite relevés à 65 et 40 µg/L (technique Autodelfia, *Perkin Elmer*). Depuis octobre 2004, seuls les enfants ayant une TIR à J3 supérieure à 100 µg/L, sans mutation identifiée, sont convoqués pour un contrôle à J21, faisant baisser le pourcentage de contrôle secondaire de TIR de 0,67 % à 0,12 % et le nombre d'enfants convoqués pour un test de la sueur, de 0,14 % à 0,01 %.

Les modifications des valeurs seuils de TIR et les changements de l'organigramme de décision ont considérablement fait diminuer le nombre de familles angoissées inutilement, car convoquées pour un test de la sueur qui se révélera en fait normal, sans conséquence clinique. En réalité, l'impact psychologique a été évalué et semble heureusement limité, même à long terme, dès lors que la convocation pour ce test intervient le jour même ou dans les 24 heures suivant l'appel téléphonique du CRCM à la famille [25]. L'appel doit donc être programmé de façon à ce que ce test soit réalisé très rapidement, afin de pouvoir donner une réponse à la famille.

Les faux-négatifs du dépistage

L'existence de faux-négatifs pour le DNN de la mucoviscidose était soupçonnée dès son installation, comme pour toute autre maladie dépistée. En effet, même en couplant les résultats de la TIR avec l'étude des mutations du gène *CFTR*, l'identification ultérieure de faux-négatifs restait possible. Les seuils de TIR ont été choisis pour

avoir un pourcentage de faux-négatifs inférieur à 5 %. Les changements de seuil de TIR et les modifications de l'organigramme n'ont pas augmenté significativement le nombre de faux-négatifs [19] et la sensibilité actuelle du DNN répond aux exigences des standards européens [17, 21]. Le repérage de ces faux-négatifs reste capital afin d'évaluer correctement les performances du programme de DNN. Jusqu'en 2018, un questionnaire annuel était adressé par l'AFDPHE à toutes les associations régionales et à tous les CRCM. Cette évaluation n'a pas été réalisée pour les années 2018-2020. Les pédiatres doivent, devant la présence de symptômes évocateurs de la mucoviscidose, demander un test de la sueur même chez un enfant ayant bénéficié du DNN. Notons que des cas d'enfants aînés faux-négatifs ont ensuite été repérés, au décours de la naissance d'un frère ou d'une sœur plus jeunes, soulignant l'importance de la réalisation de tests de la sueur pour la fratrie entière issue de parents d'un enfant atteint de la maladie [26].

Les formes frontières révélées par le DNN

La détection d'enfants dont le diagnostic reste non conclu (CRMS [*CFTR-related metabolic syndrome*] pour les États-Unis/CPSPID pour l'Europe) [27, 28] est l'un des problèmes les plus controversés de l'analyse génétique des algorithmes de DNN. La plupart d'entre eux resteront en effet asymptomatique, au moins durant l'enfance. Comme l'a montré l'étude portant sur les dépistages nationaux réalisés en Europe [14], la prévalence de ces cas parmi la cohorte des enfants dépistés se révèle très disparate, d'une part, parce qu'en 2014 la définition de ces formes n'était pas universelle, et, d'autre part, parce qu'elle dépend aussi de l'algorithme utilisé. Si celui-ci est uniquement fondé sur les données biologiques, il ne permettra de repérer que peu de ces formes ; mais si une analyse génétique y est introduite, le nombre d'enfants suspects augmentera avec le nombre de mutations incluses dans le kit d'identification. Néanmoins, le suivi de ces enfants dépistés montre qu'en général, ils évoluent favorablement. Cependant, plusieurs observations d'enfants ayant des évolutions classiques de mucoviscidose malgré la présence de mutations du gène *CFTR* considérées comme ayant un impact modéré sur la pathogénicité des variants correspondants, ont été rapportées dans la littérature [29-31]. Le pronostic *a priori* est ainsi difficile à rendre. Il s'agit d'une situation délicate qui provoque l'incertitude des professionnels de soins mais aussi l'anxiété des familles, parce qu'il

Paramètres	Période de 2002 à 2014	Période de 2015 à 2017	Recommandations de l'ECFS [13, 17]
% de nouveau-nés dépistés positifs (TIR) au jour 3	0,54 %	0,50 %	< 0,50 %
Valeur prédictive positive	16 %	34 %	> 30 %
Sensibilité	95 %	95 %	≥ 95 %
Délai entre le test de la sueur et le résultat donné à la famille	Même jour		Même jour
Âge de la première consultation au centre spécialisé en MV	≤ 35 jours (53 %) > 56 jours (12 %)	ND	35 jours et pas plus tard que 58 jours
% faux négatifs	5,0 %	ND	NA
Ratio MV : diagnostic non conclu	6,3:1	9,0:1	NA
Taux de détection de mutations par l'analyse génétique complète	99,8 %		NA
Acceptation du DNN par les parents (échantillon de sang)	99,99 %	ND	NA
Pourcentage de réalisation du test de la sueur	> 95,5 %	ND	NA
Pourcentage de cas de diagnostic en attente*	< 0,5 %	ND	NA

Tableau II. Performance de l'algorithme du DNN français de la mucoviscidose (MV). *Se réfère aux enfants dépistés positifs et adressés à un centre de ressources et de compétence de la mucoviscidose (CRCM), chez lesquels le médecin spécialiste ne peut pas conclure définitivement, le test de la sueur (TS) ou le résultat de l'analyse des mutations du gène *CFTR* n'étant pas disponibles. NA : non applicable ; ND : non déterminé ; ECFS : *European Cystic Fibrosis Society*.

est impossible de prédire l'évolution clinique à long terme pour ces enfants. Des explorations fonctionnelles de la protéine CFTR, réalisées sur différents épithéliums (différence de potentiel nasal [DDP] ou courant de court-circuit sur biopsie rectale [CCC]), peuvent aider à résoudre ce dilemme diagnostique [32].

Une collaboration étroite entre les groupes de travail européens [27] et américains [18] et une initiative française regroupant plusieurs centres de référence [32] ont permis d'élaborer des algorithmes permettant d'harmoniser les critères diagnostiques. Ces derniers ne doivent néanmoins pas être considérés comme des dogmes définitifs : ils sont régulièrement mis à jour depuis leur élaboration en 2000. Les recommandations nationales [33] et internationales [27] proposent de réaliser, pour les enfants concernés, un nouveau test de la sueur à 12 mois et, si possible, à 6 et 24 mois, ainsi qu'une recherche de mutations rares du gène *CFTR*.

La classification de certains variants rares reste problématique en raison de l'absence de tests fonctionnels. Elle repose sur des données épidémiologiques et bio-informatiques, associées ou non à des résultats de tests *in vitro*. Des informations au sujet de la classification de certains variants et leur caractérisation peuvent être retrouvées dans des bases de données génétiques ou de registres qui sont régulièrement mises à jour⁸ [34]. Les enfants doivent bénéficier d'une évaluation initiale (élastase fécale incluse) au sein des CRCM. Le clinicien généraliste devra être informé d'un suivi spécifique, et il collaborera avec le médecin spécialiste. L'enfant sera revu à 3, 6, 12 mois, puis

chaque année, avec des précautions d'hygiène strictes afin d'éviter toute transmission de microorganismes pathogènes pouvant infecter les voies respiratoires. Il est difficile de dire jusqu'à quel âge un enfant porteur d'une mutation responsable de mucoviscidose ou non doit être suivi lorsque la valeur de son test de la sueur est intermédiaire. Une réévaluation du diagnostic, prenant en compte les examens cliniques, les comorbidités de la mucoviscidose, les valeurs des tests et la pathogénicité des variants *CFTR* sera donc réalisée au cas par cas. À l'initiative de l'*European Cystic Fibrosis Society* (ECFS), un consensus, rédigé par un comité d'experts européens, américains et australiens, a été publié en 2020 [33] afin d'harmoniser la prise en charge de ces enfants, avec un bilan à l'âge de 6 ans et, au minimum, une consultation à l'adolescence dans un CRCM.

Le conseil génétique à l'ère des modulateurs du canal CFTR

La médecine personnalisée permet de faire bénéficier des patients porteurs de certains variants du gène *CFTR*, d'un traitement par des modulateurs du canal CFTR, des petites molécules rétablissant la fonction de la protéine mutée. L'amélioration, majeure, observée avec l'ivacaftor (Kalydeco®), un modulateur développé par *Vertex Pharmaceuticals*, pour les patients porteurs de *gating mutations* (mutations

⁸ cftr2.org et <https://cftr.iurc.montp.inserm.fr/cftr>

- 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 non conclus de mucoviscidose sont en dehors de l'objectif du dépistage néonatal. Néanmoins, même si la plupart des nourrissons impliqués 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 de laboratoire. Les valeurs seuils sont universelles quel que soit l'âge.
- Plus de 2 000 mutants du gène *CFTR* ont été identifiés 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.

induisant un défaut d'ouverture du canal), comme la mutation G551D, a permis la prescription de cette molécule en France dès l'âge de 6 mois [35]. La triple combinaison de modulateurs et de correcteurs du canal CFTR (des petites molécules qui améliorent la maturation et le trafic intracellulaire de la protéine mutée) (elexacaftor, tezacaftor, et ivacaftor [Trikafta®]), pour laquelle les essais cliniques ont montré un effet comparable à celui de l'ivacaftor, a été acceptée par la FDA (*Food and Drug Administration*) et tout récemment par l'EMA (*European Medicine Agency*) pour les patients porteurs de la mutation majoritaire F508del (délétion de la phénylalanine en position 508), homozygotes ou hétérozygotes composites, présentant, sur l'autre allèle, une mutation du gène conservant à la protéine une fonction résiduelle minimale. Ces évolutions thérapeutiques peuvent 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 à ce sujet [36].

La prise en charge des nouveau-nés dépistés : organisation en France, prise en charge immédiate

Le dernier élément spécifique du DNN en France est la mise en place simultanée d'une prise en charge organisée au sein des CRCM avec le support de la filière maladies rares Muco-CFTR⁹. Les CRCM ont été créés sous l'égide du ministère de la Santé¹⁰ avec un financement pérenne, permettant d'assurer la réalisation du test de la

sueur pour tous les nouveau-nés ayant eu un dépistage positif et une prise en charge multidisciplinaire de la maladie lorsque celle-ci est confirmée, avec un protocole de suivi des nouveau-nés dépistés et une collaboration en « réseau » régional spécifique [37].

Les problèmes psychologiques et éthiques

L'annonce d'un dépistage néonatal positif

Le déroulement de l'appel téléphonique pour la convocation du nouveau-né et de ses parents 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 complexes (nouveau-né hospitalisé, cas familial de mucoviscidose, différences culturelles, précarité, etc.) rendent ce processus difficile. 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 et installer un climat de confiance avec l'équipe du CRCM.

Le repérage des hétérozygotes simples¹¹ et le CCNE

Afin d'améliorer la sensibilité du dépistage néonatal de la mucoviscidose, une recherche des mutations du gène *CFTR* a rapidement été couplée au dosage de la TIR dans la majorité des programmes de DNN de la mucoviscidose. Des nouveau-nés hétérozygotes, porteurs « sains », sont repérés, en raison d'une élévation de leur TIR à J3, mais de façon non exhaustive, car il ne s'agissait pas du dépistage d'hétérozygotes. Le Comité consultatif national d'éthique pour les sciences de la vie et de la santé (CCNE), dans son avis n° 97¹², a signifié en 2007 que cette recherche de mutation était certes nécessaire mais « *qu'il ne fallait pas révéler le statut d'hétérozygote du nouveau-né aux parents* » car il n'a pas d'intérêt direct pour l'enfant dépisté. Cette décision du CCNE n'a pas entraîné l'adhésion des généticiens et des cliniciens, même s'il est exact que la possibilité de la révélation d'une hétérozygotie n'est pas abordée lors de la signature du consentement parental d'étude génétique. Il semble en effet difficile de cacher le résultat d'une hétérozygotie aux parents, d'autant

⁹ <https://muco-cftr.fr/index.php/fr/>

¹⁰ circulaire DHOS OPRC/2001 n° 502, 22 octobre 2001.

¹¹ Le statut d'hétérozygote simple chez les nouveau-nés dépistés positifs est défini par la présence d'une mutation d'un seul allèle du gène *CFTR*, et une concentration normale de chlorure dans la sueur (< 30 mmol/L).

¹² disponible sur le site www.ccne-ethique.fr

GLOSSAIRE

Définitions et terminologie

Mucoviscidose : le diagnostic de mucoviscidose chez les nouveau-nés dépistés positifs est défini par une concentration de chlorure dans la sueur ≥ 60 mmol/L [16-18] ou par la mise en évidence de deux mutations du gène *CFTR* responsables de mucoviscidose situées en *trans*, c'est-à-dire une mutation sur chaque allèle *CFTR* parental.

CFSPID/CRMS (Cystic Fibrosis Screen Positive, Inconclusive Diagnosis / CFTR-related metabolic syndrome : dépistage de la mucoviscidose positif, diagnostic incertain/syndrome métabolique lié au *CFTR*), en français « diagnostic non conclu ». S'applique aux nourrissons dépistés positifs, ayant une valeur de chlorure dans la sueur normale (< 30 mmol/L) et présentant deux mutations du gène *CFTR* dont au moins une d'entre elles est de pathogénicité indéterminée, ou aux nourrissons ayant une valeur intermédiaire de chlorure dans la sueur (30-59 mmol/L) et porteurs au plus d'une mutation associée à la mucoviscidose [27, 28].

Hétérozygote simple : le statut d'hétérozygote simple chez les nouveau-nés dépistés positifs est défini par la présence d'un seul allèle muté du gène *CFTR*, et par une concentration normale de chlorure dans la sueur (< 30 mmol/L).

Statut en attente : se réfère aux enfants dépistés positifs et adressés à un centre de ressources et de compétence de la mucoviscidose (CRCM), chez lesquels le médecin spécialiste ne peut pas conclure définitivement, le test de la sueur ou le résultat de l'analyse des mutations n'étant pas disponibles.

Valeur prédictive positive (VPP) : elle est définie comme le nombre d'enfants atteints de mucoviscidose (vrais positifs du DNN) divisé par le nombre total d'enfants dépistés positifs convoqués au CRCM pour un test de la sueur.

Sensibilité : elle correspond au nombre d'enfants dépistés positifs convoqués au CRCM, atteints de mucoviscidose, divisé par le nombre total de patients (vrais positifs et faux-négatifs), et est exprimée en pourcentage. Les cas de faux-négatifs incluent ceux non-détectés par le DNN qui ont abouti à un diagnostic tardif, iléus méconial (occlusion intestinale du nouveau-né), ou diagnostic prénatal exclus.

qu'environ 30 % des enfants atteints de la maladie ne portent qu'une seule mutation identifiée par le kit, et qu'il est donc nécessaire que le statut des hétérozygotes dépistés soit confirmé par une étude complémentaire. Néanmoins, le statut d'hétérozygote d'un enfant confère à ses parents un risque 30 fois supérieur à celui de la population générale d'avoir un enfant atteint de mucoviscidose à la suite d'une grossesse ultérieure.

La mucoviscidose révèle que l'utilisation de tests génétiques en dépistage de masse pose de nouvelles questions, quelle que soit la maladie concernée. La Haute autorité de santé (HAS) et le CCNE ont ainsi préconisé, pour la mucoviscidose, de remplacer ces tests par un deuxième test fondé sur un marqueur biochimique : l'évaluation de la concentration de la PAP (*pancreatitis-associated protein*), un marqueur de l'activation pancréatique. Cependant, la comparaison des stratégies TIR-ADN et TIR-PAP [38], en termes de VPP et de délai de prise en charge, n'est pas favorable à sa mise en place.

Les bénéfices du DNN pour la mucoviscidose

Le DNN permet un diagnostic très précoce de la mucoviscidose chez des nouveau-nés, pour la plupart peu ou pas symptomatiques. Ce diagnostic doit cependant être combiné à une prise en charge multidisciplinaire au sein des Centres spécialisés (les CRCM en France). Cela permet d'améliorer le pronostic respiratoire et nutritionnel des patients, et d'obtenir un bénéfice en termes de survie, de réduction de la lourdeur des traitements et de coût financier. Parmi les études réalisées concernant les bénéfices du DNN de la mucoviscidose, nous pouvons en retenir quatre.

Dès 2001, Farrell *et al.* [5] rapportent en effet une étude randomisée prospective contrôlée de deux cohortes suite au DNN, l'une pour laquelle le diagnostic de mucoviscidose est révélé en période néonatale, et l'autre pour laquelle le diagnostic sera révélé à la famille lorsque l'enfant aura 4 ans s'il n'a pas déjà été repéré en raison de signes cliniques. Ces deux cohortes ont été suivies pendant 16 ans, révélant un bénéfice net en termes d'état nutritionnel pour la cohorte traitée dès la naissance. Cependant, aucun bénéfice respiratoire n'a été observé, probablement en raison d'un biais, les précautions d'hygiène de ségrégation des cohortes en fonction de leur bactériologie n'ayant pas été respectées dans un des deux centres de suivi. Les enfants repérés en période néonatale présentaient en effet une contamination par la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* plus fréquente et plus précoce, un facteur reconnu d'aggravation respiratoire.

Plus récemment, une étude australienne a révélé un bénéfice nutritionnel, pulmonaire et de survie [39]. Une cohorte historique de patients nés entre 1978 et 1981, ayant une mucoviscidose diagnostiquée en raison de symptômes, a été comparée à une cohorte d'enfants nés entre 1981 et 1984 et ayant bénéficié du DNN de leur mucoviscidose, toutes deux suivies jusqu'à l'âge adulte. La cohorte ayant bénéficié du DNN a présenté un bénéfice en termes de croissance dans l'enfance, bénéfice qui culminait au moment du transfert dans un CRCM pour adultes, aussi bien pour la taille ($6,4 \pm 2,1$ cm), le poids ($6,9 \pm 2,2$ kg) que pour l'indice de masse corporelle ($0,6 \pm 0,2$), ainsi qu'en termes de fonction pulmonaire, avec un gain de $9,0 \pm 3,3$ % (en % du volume expiratoire maximal par seconde [VEMS]) à l'âge de 5 ans et de $16,7 \pm 6,4$ % au moment du transfert en milieu médical pour adultes. Une quantité moins importante de bactéries pathogènes est observée dans les sécrétions pulmonaires des patients détectés par le DNN, et une amélioration significative de leur survie a été évaluée à 20 % à l'âge de 25 ans. Une autre

étude australienne [40] a confirmé ces bons résultats lors d'une étude rétrospective de deux cohortes d'individus ayant une mucoviscidose, l'une pour laquelle le diagnostic a été porté tardivement sur la présence de symptômes, et l'autre issue du DNN. Les auteurs de cette étude ont identifié pour cette dernière significativement moins d'admissions hospitalières annuelles (0,2 versus 0,49), un meilleur VEMS (97 % versus 88 %) et un gain de taille (moyennes de score z : -0,03 versus -0,65)¹³.

Une étude italienne rétrospective, monocentrique, concernant des naissances entre 1971 et 2014 [4], montre une probabilité de survie à 30 ans pour les patients soumis au DNN de 80,1 % contre 71 % pour la cohorte repérée en raison de symptômes. Évaluée à 20 ans, la probabilité de survie des patients, selon la modalité diagnostique (DNN ou symptômes) et la sévérité de l'expression de la maladie (forme peu intense, modérée, ou sévère, établie sur le nombre d'hospitalisation pour une symptomatologie respiratoire/nutritionnelle pendant les trois premières années de vie), se révèle également significativement meilleure pour la cohorte issue du DNN comparée aux sujets diagnostiqués en raison de leurs symptômes, tant pour les sujets présentant des manifestations sévères (85 % versus 64 %) que pour ceux ayant des manifestations modérées (94 % versus 86 %).

Enfin, une étude réalisée au Royaume-Uni à partir de la base de données *UK Cystic Fibrosis Database* [41] a montré un bénéfice économique important sur le coût de la prise en charge de patients ayant une mucoviscidose diagnostiquée par DNN par rapport à ceux diagnostiqués en raison de leurs symptômes, auquel il faut ajouter le bénéfice en termes de qualité de vie pour les patients.

À l'ère des traitements personnalisés modulateurs ou correcteurs de la protéine CFTR, qui ont un impact favorable sur l'évolutivité de cette maladie, il est nécessaire de souligner que le DNN permettra, sans doute d'ici peu, de faire bénéficier la plupart des nourrissons atteints de mucoviscidose de ces traitements dès les premiers mois de vie.

Conclusion

Depuis 2002, près de 3 000 nouveau-nés ont bénéficié, grâce au dépistage néonatal, d'une prise en charge précoce de leur maladie à l'âge d'environ 1 mois (âge médian = 1,1 mois). Du fait des progrès thérapeutiques actuels, cette notion de précocité de la prise en charge médicale est essentielle, afin de préserver les enfants de complications irréversibles liées à un retard diagnostique. La méthode choisie en France en 2002 a peu évolué du fait d'indicateurs répondant de façon stable aux critères de qualité européens. Comme dans les pays utilisant l'analyse génétique moléculaire en première ou seconde intention, le repérage de patients présentant une CFSPID justifie une démarche diagnostique très rigoureuse et un suivi personnalisé. La réorganisation administrative récente du dépistage néonatal en France ne devra pas diminuer la rigueur avec laquelle l'analyse des données issues des centres régionaux était réalisée jusqu'en 2018. ♦

¹³ Le score z donne une valeur de comparaison par rapport à la moyenne de la population qui est alors de 0 ; -0,03 est plus proche de la moyenne que -0,65. Les enfants sont donc plus grands.

SUMMARY

Newborn screening for cystic fibrosis in France

Neonatal screening for cystic fibrosis has optimised the prognosis for patients allowing very early multidisciplinary care. Over the past 20 years, screening programmes have undergone major international expansion. The performances of the French neonatal cystic fibrosis screening programme, established in 2002, has met European guideline standards, with positive predictive value of 0.31 (against a minimum of 0.30) and sensitivity value of 0.95 (against a minimum of 0.95). It is also important to highlight the very high percentage of sweat tests performed (95.5%), of mutations identified (96.6%), the 9:1 ratio of cystic fibrosis cases to cases of inconclusive diagnosis achieved and the effectiveness of the strategy implemented for the detection of false negative cases. A new organisation for cystic fibrosis neonatal screening has now been established in France. It is vital that effectiveness is maintained throughout the process, from newborn maternity care to diagnosis in cystic fibrosis care centres, and that further knowledge is gained through exhaustive data collection and validation. ♦

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Wilson JMG, Jungner G. Principles and practice of screening for disease. *Public health papers n° 34*. Geneva : World Health Organization, 1968. https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/37650/WHO_PHP_34.pdf?sequence=17
2. Andermann A, Blancaquaert I, Beauchamp S, Déry V. Revisiting Wilson and Jungner in the genomic age: a review of screening criteria over the past 40 years. *Bull WHO* 2008 ; 86 : 317-9.
3. Rosenthal M. Newborn screening for cystic fibrosis: the motion against; voices in the wilderness. *Paediatr Respir Rev* 2008 ; 9 : 295-300.
4. Tridello G, Castellani C, Meneghelli I, et al. Early diagnosis from newborn screening maximises survival in severe cystic fibrosis. *ERJ Open Res* 2018 ; 4.
5. 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.
6. Chatfield S, Owen G, Ryley HC, et al. Neonatal screening for cystic fibrosis in Wales and the West Midlands: clinical assessment after five years of screening. *Arch Dis Child* 1991 ; 66 : 29-33.
7. Mérelle MÈ, Schouten JP, Gerritsen J, Dankert-Roelse JÈ. Influence of neonatal screening and centralized treatment on long-term clinical outcome and survival of CF patients. *Eur Respir J* 2001 ; 18 : 306-15.
8. Mastella G, Zanolla L, Castellani C, et al. Neonatal screening for cystic fibrosis: long-term clinical balance. *Pancreatol* 2001 ; 1 : 531-7.
9. Siret D, Breteau G, Branger B, et al. Comparing the clinical evolution of cystic fibrosis screened neonatally to that of cystic fibrosis diagnosed from clinical symptoms: a 10-year retrospective study in a French region (Brittany). *Pediatr Pulmonol* 2003 ; 35 : 342-9.
10. Wang SS, O'Leary LA, Fitzsimmons SC, Khoury MJ. The impact of early cystic fibrosis diagnosis on pulmonary function in children. *J Pediatr* 2002 ; 141 : 804-10.
11. Lai HJ, Cheng Y, Cho H, et al. Association between initial disease presentation, lung disease outcomes, and survival in patients with cystic fibrosis. *Am J Epidemiol* 2004 ; 159 : 537-46.

RÉFÉRENCES

12. Grosse SD, Boyle CA, Botkin JR, et al. Newborn screening for cystic fibrosis: evaluation of benefits and risks and recommendations for state newborn screening programs. *MMWR Recomm Rep* 2004 ; 53 : 1-36.
13. Castellani C, Southern KW, Brownlee K, et al. European best practice guidelines for cystic fibrosis neonatal screening. *J Cyst Fibros* 2009 ; 8 : 153-73.
14. 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.
15. Claustres M, Guittard C, Bozon D, et al. Spectrum of CFTR mutations in cystic fibrosis and in congenital absence of the vas deferens in France. *Hum Mutat* 2000 ; 16 : 143-56.
16. Nguyen-Khoa T, Borgard JP, Marchand M, et al. Analytical quality of assays and comparison of procedures for the sweat test. *Ann Biol Clin* 2012 ; 70 : 5-12.
17. Castellani C, Duff AJA, Bell SC, et al. ECFS best practice guidelines: the 2018 revision. *J Cyst Fibros* 2018 ; 17 : 153-78.
18. Farrell PM, White TB, Howenstine MS, et al. Diagnosis of cystic fibrosis in screened populations. *J Pediatr* 2017 ; 181S : S33-44e2.
19. 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.
20. Thauvin-Robinet C, Munck A, Huet F, et al. The very low penetrance of cystic fibrosis for the R117H mutation: a reappraisal for genetic counselling and newborn screening. *J Med Genet* 2009 ; 46 : 752-8.
21. 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.
22. Audrezet MP, Munck A. Newborn screening for CF in France: an exemplary national experience. *Arch Pediatr* 2020 ; 27 (suppl 1) : eS35-40.
23. 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.
24. Castellani C, Massie J. Emerging issues in cystic fibrosis newborn screening. *Curr Opin Pulm Med* 2010 ; 16 : 584-90.
25. Roussey M, Beucher J, Leray E. Effect of false positive results in CF newborn screening on parental stress. *Pediatr Pulmonol* 2008 ; 31 (suppl) : 450-1.
26. Munck A, Houssin E, Roussey M. The importance of sweat testing for older siblings of patients with cystic fibrosis identified by newborn screening. *J Pediatr* 2009 ; 155 : 928-30.
27. 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.
28. Southern KW, Barben J, Gartner S, et al. Inconclusive diagnosis after a positive newborn bloodspot screening result for cystic fibrosis - Clarification of the harmonised international definition. *J Cyst Fibros* 2019 ; 18 : 778-80.
29. Ren CL, Fink AK, Petren K, et al. Outcomes of infants with indeterminate diagnosis detected by cystic fibrosis newborn screening. *Pediatrics* 2015 ; 135 : e1386-92.
30. Ooi CY, Castellani C, Keenan K, et al. Inconclusive diagnosis of cystic fibrosis after newborn screening. *Pediatrics* 2015 ; 135 : e1377-85.
31. Munck A, Bourmaud A, Bellon G, et al. Phenotype of children with inconclusive cystic fibrosis diagnosis after newborn screening. *Pediatr Pulmonol* 2020 ; 55 : 918-28.
32. Sermet-Gaudelus I, Brouard J, Audrezet MP, et al. Guidelines for the clinical management and follow-up of infants with inconclusive cystic fibrosis diagnosis through newborn screening. *Arch Pediatr* 2017 ; 24 : e1-14.
33. Barben J, Castellani C, Munck A, et al. Updated guidance on the management of children with cystic fibrosis transmembrane conductance regulator-related metabolic syndrome/cystic fibrosis screen positive, inconclusive diagnosis (CRMS/CFSPID). *J Cyst Fibros* 2020 ; S1569-1993 : 30909-7.
34. Claustres M, Theze C, des Georges M, et al. CFTR-France, a national relational patient database for sharing genetic and phenotypic data associated with rare CFTR variants. *Hum Mutat* 2017 ; 38 : 1297-315.
35. Ramsey BW, Davies J, McElvaney NG, et al. A CFTR potentiator in patients with cystic fibrosis and the G551D mutation. *N Engl J Med* 2011 ; 365 : 1663-72.
36. Munck A, Cheillan D, Girodon E, et al. Newborn screening for cystic fibrosis in France: practical aspects and perspectives. *Perf Pediatr* 2019 ; 2 : 63-71.
37. Protocole National de Diagnostic et de Soins (PNDS). https://www.has-sante.fr/jcms/c_1340879/fr/protocoles-nationaux-de-diagnostic-et-de-soins-pnds
38. Sarles J, Giorgi R, Berthézène P, et al. Neonatal screening for cystic fibrosis: comparing the performances of IRT/DNA and IRT/PAP. *J Cyst Fibros* 2014 ; 13 : 384-90.
39. 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.
40. 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 : 137-45e1.
41. Sims EJ, Mugford M, Clark A, et al. Economic implications of newborn screening for cystic fibrosis: a cost of illness retrospective cohort study. *Lancet* 2007 ; 369 : 1187-95.

TIRÉS À PART

A. Munck



Avec m/s, vivez en direct
les progrès et débats
de la biologie et de la médecine

CHAQUE MOIS / AVEC LES ARTICLES DE RÉFÉRENCE DE M/S
CHAQUE JOUR / SUR WWW.MEDECINESCIENCES.ORG

Abonnez-vous sur
www.medecinesciences.org

