

Le diagnostic

T. Leal , P. Lebecque

- ✓ Dans la grande majorité des cas, le diagnostic de mucoviscidose est évoqué devant une symptomatologie compatible et confirmé par au moins 2 tests à la sueur positifs (taux de chlorure ≥ 60 mmol/L au-delà des premiers mois de vie).
- ✓ Il est donc essentiel d'être certain de la qualité d'un test à la sueur .
- ✓ En de rares circonstances, le diagnostic est nettement plus compliqué, nécessitant la mise en oeuvre d'examen tout à fait spécialisés (étude génétique exhaustive et/ou mesure de la différence de potentiel au niveau nasal)
- ✓ Les possibilités de dépistage néonatal systématique de la mucoviscidose ont progressé. Le bien-fondé de leur mise en oeuvre reste discuté.

- Pendant plusieurs dizaines d'années, le diagnostic de mucoviscidose a classiquement reposé d'une part sur la présence d'une symptomatologie évocatrice ou compatible (cf infra), d'autre part sur la mise en évidence d'un taux de chlorure dans la sueur trop élevé (> 60 mmol/L). Ces critères restent valables et suffisants dans la grande majorité des cas.

- Le seuil de 60 mmol/L est discriminant et fort utile en pratique. Il est cependant probablement trop élevé chez le nourrisson pour lequel une limite supérieure de la normale de 40-45 mmol/L apparaît plus appropriée.

- Des exceptions ont été reconnues, il y a presque 30 ans déjà : dans certains cas que l'on croyait tout à fait exceptionnels, un diagnostic de mucoviscidose pouvait devoir être retenu devant une évidence clinique chez des patients dont le taux de chlorure dans la sueur restait inférieur à 60 mmol/L. Au cours de la dernière décennie, quelques mutations du gène CFTR ont été identifiées qui peuvent être occasionnellement ou parfois de manière plus consistante associées à des taux de chlorure sudoraux intermédiaires voire - beaucoup plus rarement - tout à fait normaux (< 30 ou 40 mmol/L).

A ce singulier petit groupe appartiennent notamment

les mutations A455E (la deuxième en fréquence aux Pays-Bas), 3849 + 10kb C→T (commune parmi les patients Juifs Ashkénazes), R117H (avec allèle 5T au niveau de l'intron 8, cf infra), L206W, S945L, 3272-26A→G, R117C, D1152H, G551S, R347H ... Récemment, il a été estimé que ce genre de tableau était retrouvé chez quelque 2 % des patients atteints de mucoviscidose. C'est dans ce contexte que les critères de diagnostic de la mucoviscidose ont été redéfinis, à l'occasion d'une réunion de consensus (tableau 2.1).

Tableau 2.1 Critères de diagnostic de la mucoviscidose selon un récent consensus (Rosenstein et al., 1998)

1. Symptomatologie évocatrice (cf infra)
ou mucoviscidose dans la fratrie
ou dépistage néonatal positif
- +
2. Au moins 2 tests à la sueur positifs
ou identification de 2 mutations du gène CFTR associées à la mucoviscidose
ou anomalie(s) de la différence de potentiel transépithéliale au niveau nasal

Tableau 2.2 *Manifestations compatibles avec un diagnostic de mucoviscidose (d'après Rosenstein et al., 1998)*

1. Atteinte respiratoire chronique traduite par :
 - a. la colonisation du tractus respiratoire par des germes évocateurs de mucoviscidose et en particulier *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*.
 - b. une toux chronique avec bronchorrhée
 - c. des anomalies radiologiques persistantes (bronchectasies, infiltrats, atélectasies, hyperinflation ...)
 - d. une obstruction chronique des voies aériennes avec parfois des signes d'hyperréactivité bronchique
 - e. une polyposse nasale, la documentation (RX ou CT) d'anomalies persistantes des sinus
 - f. un hippocratisme digital
2. Atteinte digestive :
 - a. intestinale : iléus méconial, équivalent d'iléus méconial, prolapsus rectal
 - b. pancréatique : insuffisance pancréatique exocrine, épisodes récidivants de pancréatite
 - c. hépatique : hépatopathie chronique (cirrhose biliaire focale, cirrhose multilobulaire ...)
 - d. nutritionnelle : retard de croissance, oedème avec hypoprotéïnémie, manifestations traduisant une carence en vitamines liposolubles (ADEK)
3. Symptômes traduisant une perte d'électrolytes : coup de chaleur avec déshydratation hyponatrémique, hypokaliémique et hypochlorémique, alcalose métabolique chronique
4. Stérilité masculine par absence congénitale des canaux déférents

SYMPTOMES EVOCATEURS

- Le tableau 2.2 propose une liste non exhaustive de manifestations évocatrices de l'affection.
- Près d'une fois sur deux, le signe d'appel principal consiste en la présence de symptômes respiratoires aigus ou tenaces. Une diarrhée chronique et/ou un retard de croissance sont cependant presque aussi souvent l'occasion du diagnostic. Dans environ 15 % des cas, le nourrisson atteint de mucoviscidose présente un tableau d'obstruction digestive néonatale évocateur (iléus méconial). Dans la plupart des pays très médicalisés, le diagnostic est aujourd'hui posé presque deux fois sur trois avant l'âge d'un an. Les découvertes tardives ne sont cependant pas exceptionnelles (environ 8 % après l'âge de 8 ans). La symptomatologie est alors souvent moins floride et les manifestations digestives (selles diarrhéiques et grasses, retard de croissance ...) font en particulier habituellement défaut.
- Les symptômes digestifs du nourrisson peuvent être spectaculaires. Pourtant, ils passent parfois étonnamment inaperçus aux yeux de certains parents qui manquent de points de repère (premier enfant).
- Quelque 15 % des patients ne présentent pas d'insuffisance pancréatique exocrine au moment du diagnostic. Or les symptômes respiratoires sont habituellement aspécifiques au départ (toux tenace, épisodes répétés de bronchite parfois accompagnés de signes d'hyperréactivité bronchique ...), leur sévérité

apparente peut être variable et leur évolution est souvent sournoise. Un haut degré de vigilance est nécessaire et un contrôle du test à la sueur fait partie du bilan de base devant des plaintes respiratoires tenaces, parfois un peu atypiques. Faute de quoi par exemple, il n'est pas rare qu'un diagnostic d'asthme soit seul trop longtemps retenu chez certains patients mucoviscidosiques.

- Suggestives, la plupart des manifestations cliniques reprises plus haut peuvent cependant être observées en dehors de la mucoviscidose. Chez le nourrisson, les symptômes digestifs imposent en particulier d'exclure un problème (très fréquent) d'allergie aux protéines du lait de vache voire une intolérance au gluten ... Sur le plan respiratoire, le diagnostic différentiel inclut notamment l'asthme du nourrisson, beaucoup plus fréquent. Mais ces affections peuvent coexister avec la mucoviscidose, parfois même avec une incidence accrue. Au moindre doute apparaît donc justifié un contrôle du test à la sueur.

LE TEST A LA SUEUR

- Certains parents remarquent eux-mêmes que la peau de leur enfant laisse à leurs lèvres un goût particulièrement salé. De fait, le contenu en sel de la sueur est en moyenne 3 à 5 fois plus élevé dans la mucoviscidose que dans la population générale.

Cette particularité a été relevée en 1953 par Di Sant'Agnesse et a débouché en 1959 sur l'utilisation

du test à la sueur comme outil diagnostique de la mucoviscidose.

- Le test à la sueur est indolore et confortable. Sa durée est de l'ordre d'une heure. Le principe est de stimuler la sudation au niveau de la peau, puis de recueillir la sueur pour l'analyser.

- Indications.

Récapitulatif des signes d'appels de la maladie, le tableau 2.3 rappelle les principales indications du test à la sueur.

- Aspects qualitatifs.

Les implications diagnostiques du test à la sueur sont très importantes. Il doit donc être effectué avec grand soin, par un opérateur expérimenté, mettant en oeuvre une technique bien standardisée. Celle décrite dès 1959 par Gibson et Cooke fait référence. La stimulation de la sudation est assurée par une iontophorèse à la pilocarpine. La quantité de sueur doit être précisée (et > 50 mg).

Le taux de chlorure est la donnée la plus discriminante. Une mesure simultanée du taux de sodium est intéressante parce que d'une part elle fournit un élément de contrôle qualitatif (ces deux taux doivent être proches), d'autre part - mais ce n'est pas absolu - le rapport Cl/Na est habituellement supérieur à 1 dans la mucoviscidose et inférieur à 1 chez le sujet normal. On sait qu'en pratique, la qualité du test pose problème dans certains laboratoires. Tout test positif ($[Cl^-] > 60 \text{ mmol/L}$) ou douteux ($[Cl^-]$ compris entre 30 et 60 mmol/L) doit être répété, dans un laboratoire de référence.

En moyenne, le taux de chlorure sudoral est de l'ordre d'un peu moins de 25 mmol/L dans la population générale et d'environ 100 mmol/L dans la mucoviscidose.

En moyenne encore, il est de presque 20 mmol/L

plus élevé en cas d'insuffisance pancréatique exocrine associée (85% des cas) que lorsque la fonction du pancréas exocrine est préservée (85 mmol/L) mais le chevauchement des valeurs dans ces 2 situations est important. Dans la grande majorité des cas, le taux de chlorure dans la sueur d'un patient n'a aucune portée pronostique.

A noter qu'un taux supérieur à 160 mmol/L est dépourvu de sens physiologique et implique un problème technique.

- « Faux positifs ».

Il s'agit surtout d'erreurs techniques.

Des taux de chlorures dans la sueur (souvent marginalement) plus élevés que 60 mmol/L ont été occasionnellement décrits dans plusieurs affections rares et dont les manifestations sont presque toujours très différentes de celles de la mucoviscidose (fucosidose, glycogénose de type I, mucopolysaccharidose de type I, dysautonomie, dysplasie ectodermique, syndrome de Mauriac ...).

Dans d'autres situations, une élévation transitoire du taux de chlorure dans la sueur a parfois été rapportée, réversible sous traitement (anorexie nerveuse, dermatite atopique, hypothyroïdie, états de malnutrition, insuffisance surrénalienne, diabète insipide néphrogénique, pseudohypaldostéronisme, administration prolongée de prostaglandine E_1 ...).

- « Faux négatifs ».

Il s'agit également avant tout d'erreurs techniques. L'âge influence le taux de chlorure dans la sueur et, comme mentionné plus haut, la limite supérieure de la normale chez le nourrisson est très probablement plus basse, de l'ordre de 40 à 45 mmol/L.

On pense aujourd'hui que dans environ 2 % des cas de mucoviscidose, le taux de chlorure dans la sueur reste inférieur à 60 mmol/L, compris alors plus de neuf fois sur dix entre 30 et 60 mmol/L. (cf supra).

Tableau 2.3

Principales indications du test à la sueur

Respiratoires	Digestives	Autres
Toux chronique	Iléus méconial	Histoire familiale de mucoviscidose
Bronchectasies	Ictère néonatal prolongé	Retard de croissance
Hémoptysies	Stéatorrhée	« baiser salé »
Hippocratisme digital	Prolapsus rectal	Coup de chaleur
Polypose nasale	Episodes récidivants de pancréatite	Alcalose métabolique
Pansinusite	Cirrhose	Test positif de dépistage néonatal
Colonisation par un <i>Pseudomonas</i> (souche mucoïde en particulier)	Invagination (récidivante ou tardive - âge moyen : 9-12 ans)	Stérilité masculine par absence congénitale bilatérale des déférents

ETUDE GENETIQUE

- Le gène de la mucoviscidose a été découvert en 1989. Il est localisé au niveau du bras long du chromosome 7 et code pour une protéine impliquée dans les transports d'ions transmembranaires (protéine CFTR), en particulier celui du chlore.

A ce jour ont été rapportés quelque 200 polymorphismes et près d'un millier de mutations du gène CFTR dont on pense qu'elles sont associées à la maladie. Leur liste est disponible sur Internet (<http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/>). La certitude d'un lien causal entre mutation et maladie n'est formellement établie que pour un nombre limité d'entre elles.

- En Belgique, la mutation $\Delta F 508$ est retrouvée sur près de 75% des chromosomes de patients atteints de mucoviscidose et plus de la moitié des patients sont porteurs de cette mutation sur chacun de leurs 2 gènes CFTR. Les laboratoires de référence peuvent rapidement effectuer la recherche d'une trentaine de mutations recouvrant presque 90 % de celles retrouvées chez nous sur les gènes des patients atteints de mucoviscidose (cf ch. 23).

Mais l'étude exhaustive du gène est coûteuse et fort longue. Elle n'est pas à l'abri d'erreurs et les introns restent peu explorés. L'origine ethnique et le tableau clinique (présence entre autres ou non d'une insuffisance pancréatique exocrine, résultats du test à la sueur) peuvent orienter utilement le choix des mutations recherchées.

- La recherche des mutations est importante pour le conseil génétique à offrir en particulier aux parents d'un enfant atteint et le diagnostic anténatal à leur proposer en cas de nouvelle grossesse (ch. 21, p 160). Mais sa portée pronostique est faible (ch. 7) et dans les cas qui posent problème, son intérêt diagnostique est très limité sauf si l'étude exhaustive du gène est possible. Dans ces situations délicates, la présence d'au moins une mutation très rare (qui échappera à la recherche des anomalies les plus fréquentes) est en effet habituelle.

MESURE DE LA DIFFERENCE DE POTENTIEL AU NIVEAU NASAL

- La mesure de la différence de potentiel (ddp) transépithéliale au niveau nasal a récemment pris place parmi les outils diagnostiques importants dans les situations difficiles.

Elle fournit une approche *in vivo* de la fonction de la protéine CFTR, anormale dans la mucoviscidose. Cette protéine est un canal chlore. Mais elle

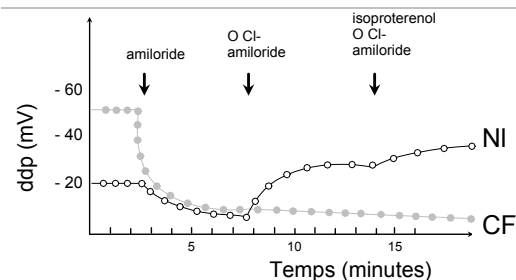
possède d'autres rôles en cours d'investigation dont certains ont trait à la régulation d'autres transports transmembranaires d'ions, celui du sodium notamment.

- La figure 2.1 illustre les différences typiquement observées au cours de ce test entre patients atteints de mucoviscidose et sujets normaux :

- La valeur de base est (en moyenne deux fois) plus négative dans la mucoviscidose, ce qui traduit surtout une réabsorption exagérée de sodium (chargé positivement) par la cellule épithéliale.
- L'irrigation de la surface épithéliale par une solution d'amiloride (qui bloque cette réabsorption de sodium) entraîne dans tous les cas une diminution de la ddp mais en raison de la différence des valeurs de base, l'amplitude de cette modification est plus importante chez le sujet mucoviscidosique.
- Un essai de stimulation de la sécrétion de chlorure par gradient de concentration (instillation d'une solution sans chlorure) ou agent pharmacologique (isoprotérénol) entraîne effectivement un efflux de chlorure (et donc des valeurs de ddp plus négatives) chez le sujet normal, alors qu'il est inefficace (ou presque) dans la mucoviscidose, où le canal chlore est anormal.

Fig.2.1 : Différence de potentiel transépithéliale au

niveau nasal. Exemples de tracés typiques chez le sujet normal (NI) et dans la mucoviscidose (CF).



La valeur de base et la réponse cumulée aux deux tentatives de stimulation de la sécrétion de chlorures sont considérées comme les éléments les plus discriminants.

- Le test est indolore mais il requiert un peu de collaboration et une certaine patience. Il suppose l'absence de quintes de toux. Sa durée est de l'ordre de 45 minutes.

L'examen est techniquement compliqué. Il nécessite un opérateur expérimenté ainsi que l'adhésion à un protocole très précis.

L'interprétation du test peut être délicate. Tout état inflammatoire de la muqueuse nasale (simple rhume par exemple) influence les mesures et doit faire postposer l'examen. Des interférences médicamenteuses sont également possibles, mal étudiées à ce jour. L'obtention de valeurs de base et/ou d'un tracé évocateur(s) lors du test dynamique plaident fortement en faveur du diagnostic. Il convient sans doute d'être plus prudent pour interpréter un test « normal ».

Comme le test à la sueur et pour les mêmes raisons, le test doit être répété s'il est anormal mais également lorsque plane un doute.

Aux Pays-Bas notamment, une autre approche électrophysiologique est parfois utilisée, basée sur l'étude in vitro des courants intestinaux au niveau d'un fragment de tissu prélevé par biopsie rectale.

A PROPOS DE LA « ZONE GRISE »

Le séquençage du gène et les études électrophysiologiques ont été introduites en fonction du progrès des connaissances, pour aider à solutionner certaines situations ambiguës. Ces techniques ont fait la preuve d'une utilité dans ce contexte. Mais elles-mêmes ont actuellement leurs limites. Et paradoxalement, elles ont contribué à mettre à jour l'existence d'une nouvelle « zone grise », peut-être plus vaste que la précédente (cf ea formes parfois monosymptomatiques avec discordance des résultats de ces examens paracliniques). Dans ces situations, l'interférence d'autres facteurs génétiques apparaît probable (rôle à préciser de gènes modulateurs voire implication dans de très rares cas d'un gène différent du gène CFTR)

DEPISTAGE NEONATAL

- Il est possible de dépister la maladie en période néonatale, par une analyse biochimique et /ou la

recherche d'une ou plusieurs mutations particulièrement fréquentes dans la population concernée. Ces examens sont praticables - en même temps que d'autres visant à dépister par exemple la phénylcétonurie ou l'hypothyroïdie - à partir d'un très petit échantillon de sang prélevé chez tous les nouveau-nés avant leur sortie de la maternité. Les tests actuellement disponibles sont plus performants mais aussi plus coûteux qu'auparavant.

- L'idée de base semble aller de soi : s'agissant d'une maladie évolutive pour laquelle on dispose d'un traitement symptomatique assez efficace, on doit s'attendre à ce qu'un diagnostic plus précoce débouche sur une amélioration du pronostic. Néanmoins comme on l'a vu, le diagnostic sera de toute façon posé tôt dans la majorité des cas, avant l'âge d'un an. Ce qui pourrait expliquer en partie pourquoi le bénéfice démontré par plusieurs études apparaît plutôt modeste.

- En Belgique, il n'existe actuellement pas à ce sujet de politique concertée. Certains hôpitaux pratiquent un test de dépistage simple, basé sur le dosage de la trypsine immuno réactive. La trypsine est un enzyme d'origine pancréatique dont le taux sanguin est très souvent trop élevé à la naissance chez l'enfant atteint de mucoviscidose. Le principal problème posé par ce test est sa faible spécificité : à peine un nouveau-né sur dix dont le dosage est anormal à la naissance se révélera atteint de mucoviscidose. Par ailleurs, la sensibilité du test n'est pas parfaite : environ 10% des cas de mucoviscidose ne seront pas dépistés par ce seul examen.

- Globalement, le bénéfice d'un dépistage néonatal de la mucoviscidose reste assez controversé. Il est mieux documenté sur le plan nutritionnel que sur le plan respiratoire. Ses partisans sont pourtant aujourd'hui plus nombreux. A l'évidence, un tel screening ne peut porter pleinement ses fruits que dans un cadre précis, contrôlé, débouchant immédiatement sur une prise en charge spécialisée, laquelle constitue sans doute le facteur majeur d'amélioration du pronostic dans cette affection.

REFERENCES

- Brock JH. Screening. In : *Cystic Fibrosis*. Hodson ME, Geddes DM Eds, Arnold, London, 2000, p 189-202.
- Di sant'Agnesse PA, Darling RC, Perera GA et al. Abnormal electrolyte composition of sweat in cystic fibrosis of the pancreas. *Pediatrics* 1953; 12:549-63.
- Farrell PM, Kocsik RE. Sweat chloride concentrations in infants homozygous or heterozygous for ΔF_{508} cystic

fibrosis. *Pediatrics* 1996; 97: 524-8.

Gibson LE, Cooke RE. A test for concentration of electrolytes in sweat in cystic fibrosis of the pancreas utilizing pilocarpine by iontophoresis. *Pediatrics* 1959; 23: 545-9.

Knowles MR, Paradiso AM, Boucher RC. In vivo nasal potential difference : techniques and protocols for assessing efficacy of gene transfer in cystic fibrosis. *Hum Gene Ther.* 1995; 6: 445-55.

* LeGrys VA. Sweat testing for the diagnosis of cystic fibrosis : practical considerations. *Pediatrics* 1996;129: 892-7.

Middleton PG, Geddes DM, Alton EFW. Protocols for in vivo measurement of the ion transport defects in cystic fibrosis nasal epithelium. *Eur Respir J.* 1994; 7: 2050-6.

Riordan JR, Rommens JM, Kerem B et al. Identification of the cystic fibrosis gene : cloning and characterization of complementary DNA. *Science* 1989; 245: 1066-73.

* Rosenstein BJ, Cutting GR. The diagnosis of cystic fibrosis : a consensus statement. *J Pediatr.* 1998; 132: 589-95.

Veeze HJ. Diagnostiek van kystische fibrose : bloed, zweet en rectumzuighiopten. *Tijdschr Kindergeneesk.* 1996;64:197-202.
