

Journée Dépistage Néonatal de la Mucoviscidose 15 novembre 2018

Le test de la sueur : bonnes pratiques, seuils, difficultés, nouvelles données

Nguyen-Khoa Thao, Praticien Hospitalier

*Laboratoires de Biochimie Générale et du Centre Régional de Dépistage Néonatal
CRCM Necker-Enfants Malades, Paris*



Déclaration de conflit d'intérêt

Thao NGUYEN KHOA

aucun conflit d'intérêt en rapport avec le sujet

Plan de la présentation

1. Matériels pour la réalisation du test de la sueur
2. Bonnes pratiques du test de la sueur
3. Valeurs usuelles et seuil pathologique du test de la sueur
4. Difficultés rencontrées dans le cadre du dépistage néonatal
5. Nouvelles données : PNDS, algorithme de diagnostic de la mucoviscidose ; explorations fonctionnelles épithéliales

Atelier : Résultats de l'enquête Test de la sueur : 23 réponses

Matériels pour la réalisation du test de la sueur

1. Méthodes avec dosage des ions chlorures dans la sueur (mmol/L Cl⁻)

Iontophorèse à la pilocarpine

Recueil de sueur

Dosage des ions chlorures

Sweat Inducer™ Wescor

3700



Macroduc™



3710



Macroduct advanced™



Coulométrie 926S™

Chlorocheck™



Microstim™ TEM



Exsupatch™



Potentiométrie directe



in situ

Matériels pour la réalisation du test de la sueur (2)

2. Méthodes avec dosage des ions sudoraux (mmol/L Equivalents NaCl)

Iontophorèse à la pilocarpine

Recueil de sueur

Mesure de la conductivité

Sweat Inducer™ Wescor

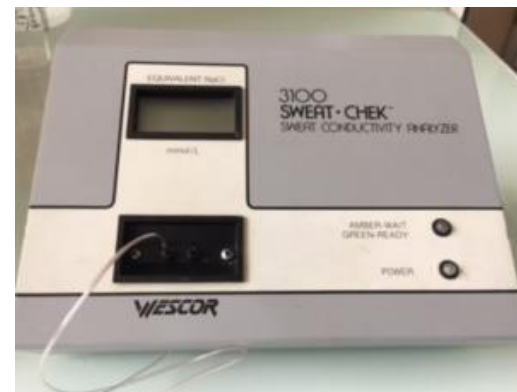
3700



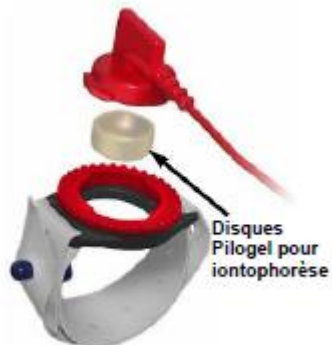
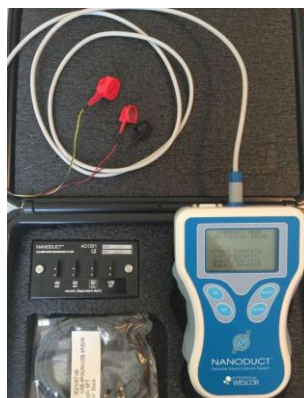
3710



Sweat Chek™ Wescor



Nanoduct™
Wescor



in situ



in situ

Contrôle du débit de production
de sueur
Calibrateur



Bonnes pratiques du test de la sueur : méthodes

Recommandations internationales et nationales de bonnes pratiques du test de la sueur avec les différentes méthodes disponibles

- ▶ **Cystic Fibrosis Foundation, USA : LeGrys et coll.** Sweat testing: sample collection and quantitative chloride analysis CLSI 4th ed
- ▶ **Royal College of Paediatrics & Child Health, UK. Green et coll.** Ann Clin Biochem 2007;44:25-34. Guidelines for the performance of sweat test for the diagnosis of cystic fibrosis.
- ▶ **Australasian Association of Clinical Biochemists. Massie et coll.** Clin Biochem Rev 2017;38(3):115-30. Australian guidelines (2nd Ed): an annex to the CLSI and UK guidelines for the performance of sweat test for the diagnosis of cystic fibrosis.
- ▶ **Collège National de Biochimie des Hôpitaux, France. Rota et coll.** Ann Biol Clin (Paris) 2008;66(2):221-7. Recommandations pour l'exécution et l'interprétation du test de la sueur. **Nguyen-Khoa et coll.** Ann Biol Clin (Paris) 2012;70(1):5-12. Qualités analytiques des techniques de dosage et comparaison des procédures utilisées pour le test de la sueur
- ▶ **European Cystic Fibrosis Society, Clinical Trials Network.** Standard Operating Procedure. 2018. Sweat induction and collection –Macroduct™

Bonnes pratiques du test de la sueur : méthodes (2)

Les méthodes utilisées doivent répondre aux critères suivants :

- le test est réalisé avec un équipement marqué CE ;
- le test est réalisé par un personnel, habilité et expérimenté afin d'avoir une faible proportion de « prélèvements insuffisants » ;
- la collection de sueur est réalisée sur 30 min : pas < 20 min pour assurer une production correcte de la sueur ; pas > 1h pour éviter une éventuelle réabsorption ;
- le dosage répond aux critères analytiques d'une analyse de biologie médiale ;
- le dosage doit inclure un Contrôle de Qualité Interne (CQI) au laboratoire ;
- et régulièrement un CQ Externe (CQE) selon un programme national.

Deux types de dosage sont proposés. Ils doivent être mentionnés sur le CR.

- dosage des **ions Cl⁻ (mmol/L Cl⁻)** par coulométrie ou par potentiométrie directe à l'aide d'une électrode sélective ; méthode recommandée pour poser le diagnostic ;
- celles dosant les **ions sudoraux (mmol/L Eq NaCl)** par conductimétrie.

Bonnes pratiques du test de la sueur : interprétation

Recommandations pour l'interprétation du Test de la Sueur

- ▶ **Cystic Fibrosis Foundation, USA. Farrell J et coll.** *Pediatr* 2017;181S:S4-S156. Diagnosis of Cystic Fibrosis: consensus guidelines from the CFF.
- ▶ **European Cystic Fibrosis Society. Castellani et coll.** *J Cyst Fibros* 2018;17:153-78. ECFS best practice guidelines: the 2018 revision.
- ▶ **Fédération des Centres de Ressources et de Compétences pour la Mucoviscidose CRCM, Dépistage néonatal.**
Sermet-Gaudelus et coll. *Arch Ped* 2010;17:1349-58. Recommandations françaises pour la réalisation et l'interprétation du test de la sueur dans le cadre du dépistage néonatal de la mucoviscidose.
Sermet-Gaudelus et coll. *Arch Ped* 2017;24:401-14. 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.
- ▶ **Société Française de la Mucoviscidose.** Protocole National de Diagnostic et de Soins. Mucoviscidose. Juillet 2017

Valeurs usuelles et seuil pathologique du test de la sueur

1. Valeurs usuelles QUEL QUE SOIT L'ÂGE

- Ions chlorures $< 30 \text{ mmol/L Cl}^-$
- Conductivité $< 50 \text{ mmol/L Eq NaCl}$

2. Seuil pathologique $\geq 60 \text{ mmol/L Cl}^-$

- Compatible avec un diagnostic de mucoviscidose après exclusion des situations susceptibles d'entraîner une élévation des chlorures sudoraux (hypothyroïdie non traitée, diabète insipide néphrogénique, insuffisance surrénalienne non traitée, pseudo-hypoaldostéronisme, glycogénose, fucosidose, prise de corticoïdes, etc...)
- Pour toute valeur de conductivité $\geq 50 \text{ mmol/L Eq NaCl}$, un dosage en ions chlorures doit être réalisé.

3. Zone intermédiaire [30 – 59 mmol/L Cl⁻]

- refaire le TS avant 3 mois du TS initial,
- Si le résultat est toujours [30 – 59 mmol/L Cl⁻], refaire le TS aux visites à 6 mois, 12 mois et 2 ans.

Difficultés rencontrées dans le cadre du dépistage néonatal

▶ Délai de convocation

Présence des 2 parents souhaitée, disponibilité de l'équipe médicale.

Délai moyen rapportée de 35 jours (le délai doit être <58 jours).

▶ Conditions d'accueil des parents et du bébé : angoisse.

Présence d'une psychologue appréciée.

▶ Recueil de sueur

Faible poids, hydratation.

Système de collection : amélioration de l'application du nouveau collecteur

Macroduct Advanced™ par sa forme concave ;

Systèmes plus adaptés à la pédiatrie : Nanoduct™, Macroduct Advanced™
(nouvellement sur le marché)

▶ Délai de rendu du test de la sueur : le jour même

Test de la sueur réalisé idéalement sur les 2 bras (stimulation du 2^{ème} site durant la collection de sueur sur le 1^{er} bras) (ECFS working group Newborn screening).

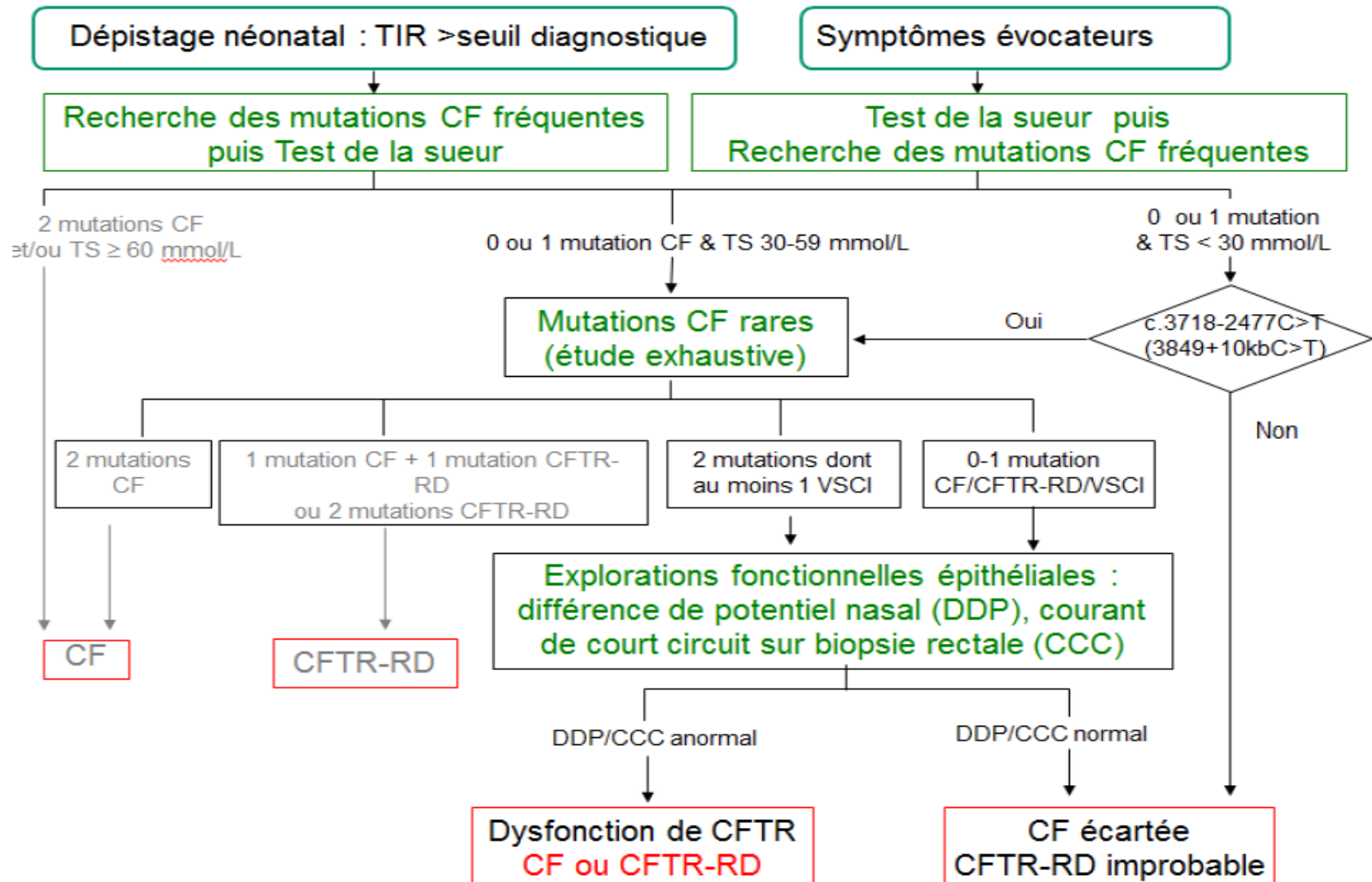
▶ Test de la sueur intermédiaire

Répétition du test dans un délai < 3 mois après le 1^{er} test.

Si après répétition, le test reste dans la zone intermédiaire : analyse extensive du gène *CFTR*, prise en charge clinique par le CRCM.

Nouvelles données : protocole national de diagnostic et de soins PNDS Mucoviscidose juillet 2017

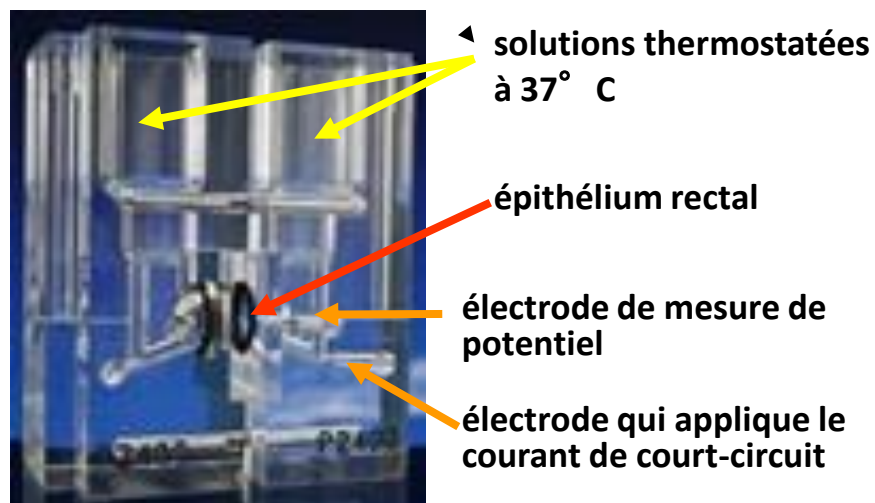
Annexe 4. Arbre décisionnel en vue du diagnostic biologique/génétique



Nouvelles données : apport des explorations fonctionnelles épithéliales de CFTR pour les cas de diagnostic non conclu au dépistage néonatal

Différence de potentiel nasal (DPN) *in vivo*

Courant de court-circuit (CCC) sur biopsie rectale, *ex vivo*



chambre d'Ussing

Limites : Nourrisson possible mais difficile (protocole raccourci), Atteinte de la muqueuse nasale (rhinite, polypose nasale, etc..)

Sermet-Gaudelus *et coll.* Thorax 2010

Solomon *et coll.* Journal of Visualized Experiments 2018

Limites : Biopsie de qualité, organisation locale pour conserver l'intégrité du tissu (<2h après prélèvement).

Derichs *et coll.* Thorax 2010

Mall *et coll.* Journal of Cystic Fibrosis 2004

Cas clinique 1 : présentation

Adressé par PMI aux Urgences Ped pour **cassure staturo-pondérale**.

Antécédents

Grossesse de déroulement normal

Naissance au terme de 40 SA; PN: 4,060 kg, TN : 50 cm, PCN : 36 cm

DNN négatif : TIR J3 53,7 $\mu\text{g/L}$ ($< 60 \mu\text{g/L}$, GSP Perkin Elmer)

Pas d'antécédent médico-chirurgical depuis la naissance, vaccination à jour

Parents cousins germains

Examen clinique

Nourrisson fatigué, déshydraté avec yeux creux, sécheresse des muqueuses et fontanelle déprimée

Reste de l'examen sans particularité

Examens biologiques complémentaires

Hyponatrémie à 126 mmol/L avec natriurèse effondrée, hypochlorémie à 80 mmol/L.

Reste du bilan biologique normal

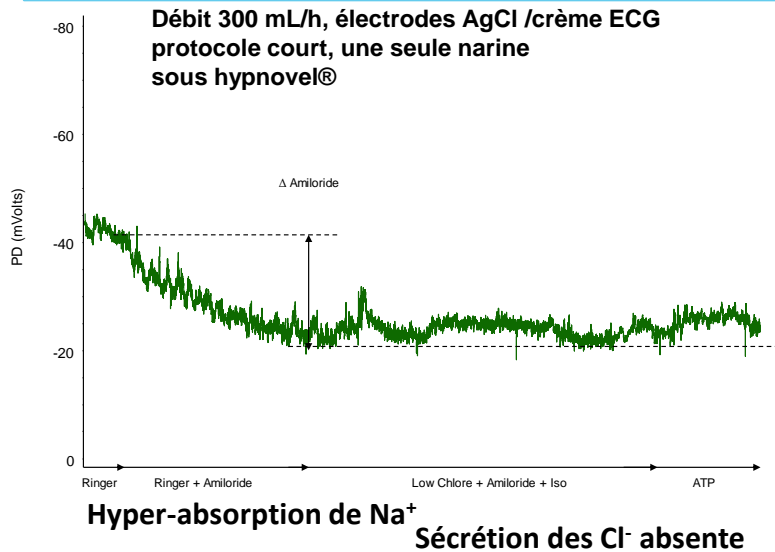
Scanner cérébral, EEG, Fond d'oeil : normaux

Tests de la sueur : 40 mmol/L Cl^- et 66 mmol/L Cl^-

CRCM Necker-EM : TS intermédiaires à 43 mmol/L Cl^- et 46 mmol/L Cl^-

Cas clinique 1 : explorations fonctionnelles épithéliales

Différence de potentiel nasal



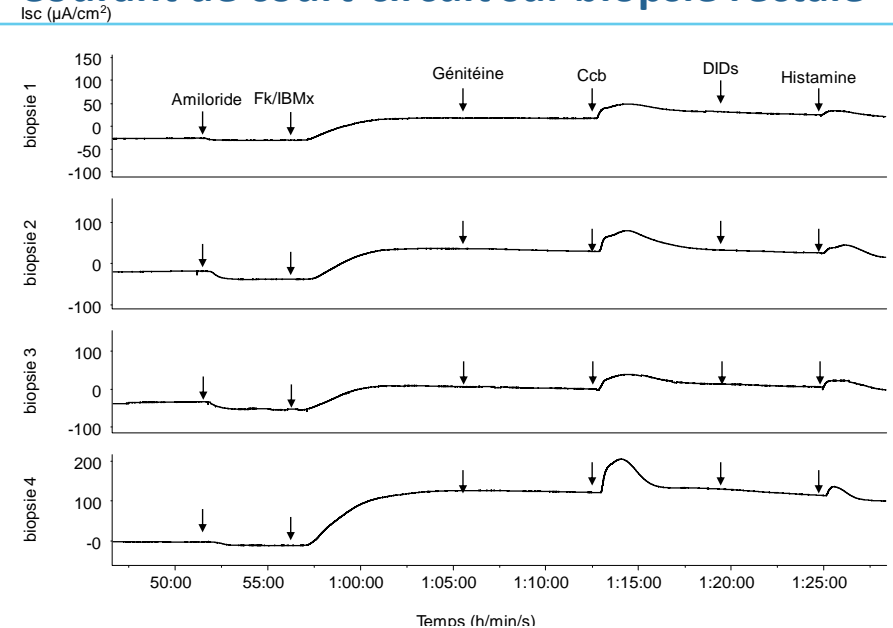
	Patient	MV	VU
Basal (mV)	-40,5	-56 ±14	-16 ±6
ΔAmiloride (mV)	19	32 ±15	7 ±5
Δ Isoproterenol (mV)	-1,1	1,5 ±6	-18 ±11

DPN : en faveur d'une dysfonction de CFTR

→ demande d'analyse extensive du gène *CFTR*

Génotype : c.[1210-34_-1210-6TG[12]T(5);2930C>T] homozygote (TG12T5;S977F homozygote)

Courant de court-circuit sur biopsie rectale



Présence d'une sécrétion résiduelle des Cl⁻ en réponse à la Forskoline (Fk) et à l'Histamine.

Faible réponse au Carbachol (Ccb ; biopsies 1,2 et 3 ; avec 2 applications de Ccb sur la biopsie 4).

CCC : profil évocateur d'une dysfonction de CFTR

Cas clinique 2 : présentation

Née à l'île de la Réunion en 2000 avant la mise en place du DNS en France

Un diagnostic de mucoviscidose a été évoqué à l'âge de 37 mois suite à des infections bronchiques à répétitions et des tests de la sueur anormaux (**87 et 91 mmol/L Eq NaCl**).

Génotype : **1 mutation V520I** (c.1690G>A (substitution); pVal520Ile; exon11) associée à des formes non classiques de MV, classe D) transmise par la maman.

Phénotype : signes respiratoires à l'âge de 3 ans avec bronchite et toux chronique productive.

CRCM-NEM : fonction respiratoire normale avec VEMS à 109%, scanner pulmonaire normal, pas d'asthme, pas de signes ORL, absence de colonisation bronchique, pratique du sport.

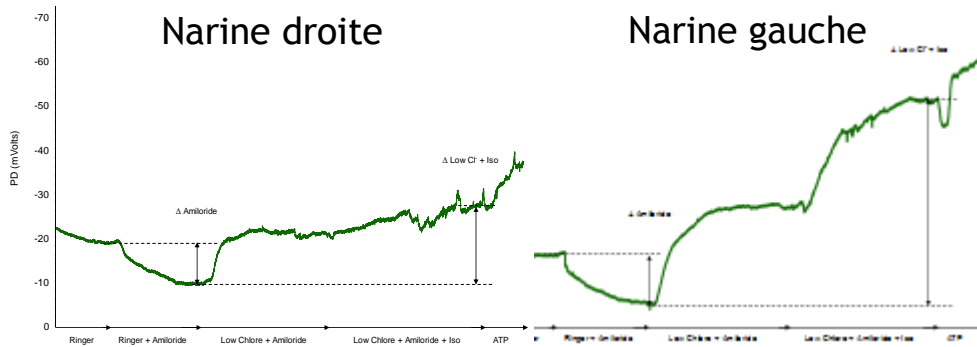
poids 50 kg ; taille 1,64 m ; IMC à 18,6 kg/m²

Fonction pancréatique initialement anormale (prise de Créon), normalisée fin 2007 (élastase fécale normale).

Cas clinique 2 : explorations fonctionnelles épithéliales de CFTR

Différence de potentiel nasal

Test de la sueur et de sécrétion de sueur



	narine D	narine G	MV	VU
Basal (mV)	-18,6	-15,5	-56 ±14	-16 ±6
Δ Amiloride (mV)	9,2	10,9	32 ±15	7 ±5
Δ Isoprotérénol (mV)	-18	-46,4	1,5 ±6	-18 ±11

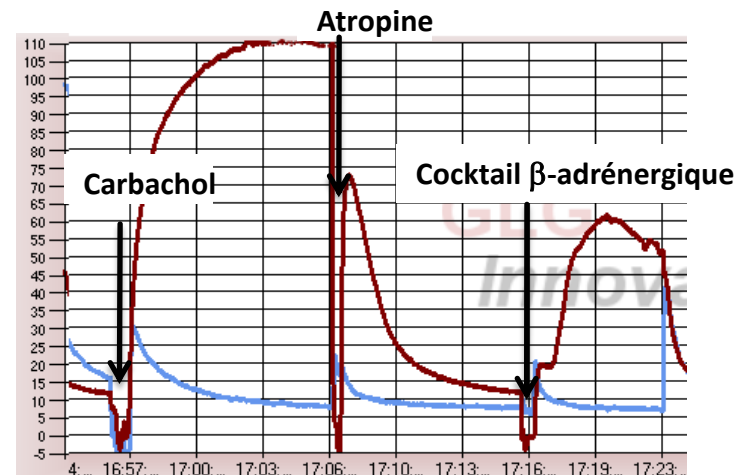
DPN : profil normal tant au plan de l'absorption du Na⁺ que de la sécrétion des Cl⁻.

Courant de court-circuit sur biopsie rectale

CCC : les biopsies sont petites et dilacérées, rendant les résultats non fiables.

Test de la sueur après iontophorèse à la pilocarpine
TS = 22 mmol/L Cl⁻ (coulométrie)

Test de sécrétion de la sueur après stimulation bêta-adrénergique (Quinton Am J Respir Crit Care Med 2012)
pic β-adr = 53 kg/m²/h ; pic Carbachol = 106 kg/m²/h
rapport = 0,5 (VU ♀ [0,2 – 0,9])



Glande sudoripare : la fonction de CFTR est normale

Remerciements

- ▶ Collège National de Biochimie des Hôpitaux, groupe de travail « Test de la sueur » dirigé par
Michèle Rota, CHIC, CRCM Créteil
- ▶ **Anne Munck**
- ▶ **Société Française de Mucoviscidose**
- ▶ European Cystic Fibrosis Society, SOP for Sweat test dirigé par
Isabelle Sermet-Gaudelus (Paris, France),
Kate Hayes (Belfast, Ireland),
Kevin Southern (Liverpool, UK)
Vicky LeGrys (CLS, Chapel Hill, NC, USA)
Franck Accurso (Aurora, CO, USA)



- ▶ Explorations fonctionnelles épithéliales de CFTR
Isabelle Sermet-Gaudelus, Aurélie Hatton, Myriam Mesbahi, Sylvia Kirilli, Joel Schlatter (HU Necker-Enfants Malades, Paris, France)
Tanja Gonska, Julie Avolio (Toronto, Canada)
ABCf2 (promoteur Evaluation des tests de sécrétion de sueur après stimulation bêta-adrénergique : test par évaporimétrie et « bubble test »)

