

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique



Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Animale

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم بيولوجيا الحيوان

Mémoire présentée en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Génétique

N° d'ordre :
N° de série :

Intitulé :

**Protocole de dépistage néonatal systématique de la
mucoviscidose**

Présenté et soutenu par : DEBBAR Hadjar

Le : 15/ 09/ 2021

HACHILI Rawnak

Jury d'évaluation :

Président : REZGOUNE Med larbi - MCA Université des Frères Mentouri, Constantine 1.

Encadreur : CHETTOUM Aziez - MCA - Université des Frères Mentouri, Constantine 1.

Examineur : GHARZOULI Razika- MCA Université des Frères Mentouri, Constantine 1.

**Année universitaire
2020- 2021**

Résumé :

La mucoviscidose c'est la maladie génétique autosomique récessive la plus répandue dans la population d'origine caucasienne. Cette maladie est causée par un défaut du gène *CFTR* qui code pour la protéine CFTR.

La protéine CFTR est un canal chlorure situé dans la membrane cellulaire épithéliale, un défaut dans ce canal provoque des perturbations hydroélectriques et est à l'origine d'une viscosité excessive.

Il est recommandé de faire un test de la sueur pour permettre une intervention et un traitement précoces des maladies respiratoires et nutritionnelles.

La première partie de ce travail nous avons parlé de cette maladie en général et nous avons parlé du gène et de la protéine qui cause cette maladie.

Dans la deuxième partie , qui est , En raison de la situation sanitaire dans notre pays d'Algérie après la propagation de la pandémie de Covid 19, nous n'avons pas eu la chance de terminer un travail d'application pour notre travail et nous nous sommes contentés de rechercher les dernières méthodes utilisées dans certains pays développés comme l'Espagne pour diagnostiquer la mucoviscidose par le dépistage néonatal, nous avons conclu à travers ce travail que le meilleur protocole en place dans la plupart des pays est la trypsine immunoréactive (TIR) en conjonction avec le test génétique, et le test de la sueur.

Mots clés : la mucoviscidose, gène *CFTR*, mutations génétiques, PCR.

Abstract

Cystic fibrosis is the most common autosomal recessive genetic disease in people of Caucasian origin. This disease is caused by a defect in the *CFTR* gene which codes for the CFTR protein.

The CFTR protein is a chloride channel located in the epithelial cell membrane, a defect in this channel causes hydroelectric disturbances and is the cause of excessive viscosity.

It is recommended to do a sweat test to allow early intervention and treatment of respiratory and nutritional diseases.

The first part of this work we talked about this disease in general and we talked about the gene and the protein that causes this disease.

In the second part, that is, Due to the health situation in our country of Algeria after the spread of the Covid 19 pandemic, we did not have the chance to complete an application work for our work and we are content to research the latest methods used in certain developed countries such as Spain to diagnose cystic fibrosis by neonatal screening, we have concluded through this work that the best protocol in place in most countries is immunoreactive trypsin (TIR) in conjunction with the genetic test, and the sweat test.

Keywords (cystic fibrosis, *CFTR* gene, genetic mutations, PCR)

ملخص

التليف الكيسي هو المرض الجيني المتنحي الأكثر شيوعاً لدى الأشخاص من أصل قوقازي. ينتج هذا المرض عن خلل في جين *CFTR* الذي يرمز لبروتين *CFTR*.

هو عبارة عن قناة كلوريد تقع في غشاء الخلية الظهارية، وهو عيب في هذه القناة يسبب اضطرابات كهرومائية وهو *CFTR* بروتين. سبب اللزوجة المفرطة

يوصى بإجراء اختبار للعرق للسماح بالتدخل المبكر وعلاج أمراض الجهاز التنفسي والتغذية

الجزء الأول من هذا العمل تحدثنا عن هذا المرض بشكل عام وتحدثنا عن الجين والبروتين المسببين لهذا المرض

في الجزء الثاني، و بسبب الوضع الصحي في بلدنا بعد انتشار وباء كوفيد 19 ، لم نتح لنا الفرصة لإكمال العمل التطبيقي بالمستشفى لذلك قمنا بالبحث عن أحدث الأساليب المستخدمة في بعض البلدان المتقدمة مثل إسبانيا لتشخيص التليف الكيسي عن طريق فحص بالتزامن حديثي الولادة ، وقد توصلنا من خلال هذا العمل إلى أن أفضل بروتوكول معمول به في معظم البلدان هو التربسين المناعي مع الاختبار الجيني واختبار العرق

الكلمات المفتاحية (التليف الكيسي ، الطفرات الجينية ، تفاعل البوليميراز المتسلسل ، جين *CFTR*)

Dédicace

Grâce à Allah, je dédie cette remise des diplômes et le fruit de mes efforts et de mes tentatives à ceux qui me reçoivent avec le sourire et me font leurs adieux avec une douaa

à ma chère mère « **Hayat** », Je demande à Allah pour sa santé et le bien-être.

à mon père « **Muhammad** », Allah yrahmo, qui me soutenait pendant 17 ans d'études et qui s'est tant sacrifié pour nous.

à mes frères « **Bilal, Meriem et Ishak** », qui sont toute ma vie

à ceux qui m'ont soutenu, à qui je beaucoup d'amour, mes amis respectés,

à tous ceux qui m'ont soutenu pour atteindre ce rang... Merci beaucoup

Hadjer Debbar



Dédicace

A l'homme de ma vie, mon exemple , mon source de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, que dieu te garde, à toi mon père.

A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ; maman que j'adore.

Aux personnes dont j'ai bien aimé la présence dans ce jour, qui étaient toujours à mes côtés à mes frères **Sid ali** et **kheireddine** ,

je dédie ce travail dont le grand plaisir leurs revient en premier lieu pour leurs conseils, aides, et encouragements. Aux personnes qui m'ont toujours aidées et encouragées, et qui m'ont accompagné durant mon chemin d'études supérieures, mes aimables amis, collègues d'étude : **Imen** , **Souha** , **Assala** , et **nihel** et n'oubliez pas aussi ma binôme **Debbar hadjer** .

Hachili rawnak



Remerciements

En premier nous remercions Dieu tout puissant qui nous a ouvert les portes et qui nous a donné la force et la volonté de poursuivre nos études.

Nous remercions notre encadreur le

Professeur **Aziz chatoum** pour la confiance qu'il nous a accordée en acceptant d'encadrer ce mémoire de fin d'étude.

Pour ses encouragements. Ses conseils, ses commentaires, ses corrections et ses qualités scientifiques ont été très précieux pour nous aider à mener à bien ce travail.

Nous remercions également les membres du jury pour l'honneur qu'ils nous accordent en acceptant de juger notre travail.

Hadjer & rawnak

Table des matières

Résumé

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 16

Etude bibliographique

Chapitre I Généralité sur la mucoviscidose

I. Définition 3

II. Historique 3

III. Épidémiologie 5

IV. Physiopathologie de la mucoviscidose 6

1. Physiopathologie de la mucoviscidose au niveau respiratoire 7

2. Physiopathologie digestive 10

V. Manifestation clinique de la mucoviscidose 10

1. Manifestation pulmonaires 11

2. Manifestation digestives 12

3. Manifestation génitale 12

4. Manifestation endocriniens 13

5. Manifestation musculo-squelettiques 13

Chapitre II Génétique de la mucoviscidose

I. structure du gène CFTR 15

1. localisation du gène CFTR 15

2. Séquence et taille du gène CFTR 15

3. Épissage alternative du gène CFTR 16

4. Régulation de la transcription du gène CFTR 16

II. Protéine CFTR : 18

1. Rôle de canal Cl⁻ 19

2. Fonction de canal Cl⁻ 20

3. Une protéine de la superfamille ABC 21

4. Caractéristiques de la protéine CFTR 22

5. Tissu exprimant la protéine CFTR 23

6. Fonctions de la protéine CFTR	23
7. Biogenèse de la protéine CFTR	23
8. Propriétés de la protéine CFTR	24
III. Biosynthèse, adressage, recyclage et dégradation de CFTR	24
IV. Mutation du gène CFTR.....	26
1. Les différents classes de mutations du gène <i>CFTR</i>	27
2. Origines et répartitions mondiales des mutations les plus fréquentes.....	29
3. La mutation <i>F508del</i>	30
4. Les mutations d'épissage et les différents modes d'épissage alternatif	31
5. Distribution géographique des mutations du gène <i>CFTR</i>	34
V. Les corrélations génotype-phénotype dans la mucoviscidose	35
VI. Le conseil génétique et la mucoviscidose	37
1. Prise en charge des couples à risque de 1/4	37
2. Prise en charge des couples à risque de 1/2	38
Chapitre III Les meilleures stratégies de diagnostic et dépistage néonatal de la mucoviscidose	
Contexte de l'étude	41
I. Divers protocoles en vigueur en Espagne et dans certains pays européens	42
1. Trypsine immunoréactive	42
2. Tests génétiques pour la mucoviscidose.....	44
3. Le test de la sueur	46
4. Le conseil génétique.....	48
5. Les tests auxiliaires microbiologiques.....	49
6. La tomodensitométrie.....	49
7. Rendez-vous pour rapporter les résultats du dépistage néonatal	50
II. Premier rendez-vous avec un nouveau-né mucoviscidosique.....	50
III. La prise en charge du nouveau-né diagnostiqué par le dépistage néonatal.....	50
IV. Prise en charge initiale du nourrisson atteint de mucoviscidose	51
1. Gastro-intestinal	51
2. Gestion respiratoire	53
3. Traitement du défaut sous-jacent de la protéine CFTR	54
4. Suivi du nouveau-né avec un diagnostic de mucoviscidose grâce au dépistage néonatal.....	55

5. Tests de diagnostic auxiliaires	56
6. Indice de clairance pulmonaire	56
V. Le diagnostic et dépistage de la mucoviscidose	57
1. Le diagnostic anténatal	57
2. Le diagnostic néonatal.....	57
3. Le test de la sueur	58
VII. Les études précliniques et cliniques	58
1. Les modèles animaux.....	58
4. Les études cliniques : Traitement de la mucoviscidose	59
5. La thérapie génique	61
6. La thérapie protéique	63
7. Les nouvelles thérapies.....	67
Conclusion.....	68
Références bibliogrphiques.....	69

Liste des abréviations

- **ABC:** ATP Binding Cassettes
- **ABCD :** Absence bilatérale congénitale des canaux déférents
- **ADP:** Adénosine DiPhosphate
- **ADNc:** Acide DésoxyriboNucléique complémentaire
- **AMPc:** Adénosine MonoPhosphate cyclique
- **ARNm:** Acide RiboNucléique messenger
- **AP-1 :** Activator Protein-1
- **ADP:** Adénosine DiPhosphate
- **CACC :** Canal chlorure dépendant du calcium
- **CF:** cystic fibrosis
- **CFTR:** Cystic fibrosis transmembrane conductance Regulator
- **CFTR-RD:** CFTR-Related disorder
- **Cl-:** ions chlorures
- **CRE :** cAMP response element
- **DTM :** domaine transmembranaires
- **ECBC :** examens cyto bactériologiques des crachats
- **ENaC :** Epithelial Na⁺ channel
- **ERQC :** Endoplasmique Réticulum Quality Control
- **F :** phénylalanine
- **FDA:** Food and Drug Administration.
- **GRE:** Glucocorticoids-Responsive-Elements
- **HGVS:** Human Genome Variation Society
- **KDa :** kilo dalton
- **LPC :** Liquide périciliaire
- **NBD :** domaines de liaison aux nucléotides
- **NBF:** Nucleotide Binding fold
- **ORCC:** outwardly rectifying chloride channel
- **ORF:** open reading frame
- **PCR:** Polymerase Chain Reaction
- **Pb:** Paire de base
- **PKA:** Protéine Kinases A

- **PKC:** Protéine Kinases C
- **Pi :** Phosphate inorganique
- **R:** Domaine Régulateur
- **RE :** réticulum Endoplasmique
- **SNPs :** Single-Nucleotide Polymorphisme
- **TM :** domaine transmembranaire
- **TMD:** Transmembrane Domain
- **TIR :** trypsine immunoréactive
- **TS:** test de la Sueur
- **USF2:** Upstream Stimulatory Factor 2

Liste des figures

Figure 1 Mode de transmission autosomique récessive de la mucoviscidose.....	5
Figure 2 Prévalence estimée de la mucoviscidose dans le monde, pour 100 000 habitants	6
Figure 3 montrant les organes et les systèmes touchés par la mucoviscidose : (poumons, pancréas, foie, les organes reproducteurs) / Les glandes sudoripares de la peau sécrètent un liquide qui contient plus de sel que la normale.	7
Figure 4 la figure illustre une bronche normale et une bronche enflammée.....	8
Figure 5 Conséquence du dysfonctionnement de transport ionique sur la clairance mucociliaire dans la mucoviscidose	9
Figure 6 les différents types de manifestation clinique de la mucoviscidose.....	11
Figure 7 manifestation pulmonaire montrant l'accumulation de mucus au niveau des bronches.	12
Figure 8 Clubbing de doigt dans l'affection génétique de mucoviscidose différence entre la main et les doigts sains d'une personne avec la mucoviscidose clouez les doigts de pilon de symptômes de clubbing ou les ongles de montre-verre	14
Figure 9 La localisation du gène CFTR sur le chromosome 7 dans la position 7q31.2.....	15
Figure 10 sites d'initiation de la transcription.....	17
Figure 11 régulation transcriptionnelle du gène CFTR lors d'un stress cellulaire.....	18
Figure 12 modèle de la protéine CFTR	19
Figure 13 fonction canal chlore de la protéine CFTR avec son changement de conformation	21
Figure 14 les séquences consensus des domaines de liaison des nucléotides (NBD).....	22
Figure 15 Biosynthèse et trafic de CFTR Flèche pleine et petite flèche en pointillée à partir des endosomes : trafic de CFTR WT. Grande flèche en pointillée à partir du RE : trafic de CFTR F508del.....	25
Figure 16 Distribution des mutations tous au long du gène CFTR.	26
Figure 17 Classification des mutations du gène CFTR selon leurs conséquences fonctionnelles et fréquence des mutations en fonction des classes (pourcentage de patients Français présentant une ou deux mutations de la classe	27
Figure 18 Le canal CFTR ayant la mutation F508del-CFTR.....	31
Figure 19 Mécanismes d'épissage alternatif.	33
Figure 20 Spectre des phénotypes associés aux génotypes de CFTR.....	36
Figure 21 Représentation d'un couple à risque de ¼.	38
Figure 22 Représentation d'un couple à risque de ½	39

Figure 23 Protocoles de diagnostic de la mucoviscidose par le dépistage néonatal proposés par les lignes directrices européennes sur les meilleures pratiques pour le dépistage néonatal de la mucoviscidose 7 appliqués en Espagne.....	44
Figure 24 Les niches des cellules souches dans l'épithélium pulmonaire murin.....	63

Liste des tableaux

Tableau 1 Mutations du gène CFTR les plus fréquentes et leur distribution géographique... 34
Tableau 2 Systèmes disponibles en France pour le test de la sueur..... 47
Tableau 3 Doses recommandées® de vitamines et minéraux liposolubles chez les nourrissons de moins de 1 an présentant une insuffisance pancréatique..... 52
Tableau 4 Les différents aminoglycosides 64
Tableau 5 Les « correcteurs » du canal CFTR muté..... 64
Tableau 6 Les « potentialisateurs » du canal CFTR muté 65
Tableau 7 Les activateurs des voies alternatives de sécrétion 66

Introduction

Introduction :

La mucoviscidose est une maladie héréditaire rare se transmet sur le mode autosomique récessif la plus fréquente dans la population caucasienne. Elle est causée par des mutations sur le gène *CFTR* qui code pour un canal perméable aux ions chlorures situé sur la membrane des cellules des épithéliums sécrétoires. (Welsh MJ., 2001)

Au niveau de la glande sudoripare, un syndrome de perte de sel. Cette anomalie est testée par un examen biologique permettant le diagnostic de cette maladie : le « test de la sueur ». (Di Sant'Agnese PA et al., 1953)

Depuis 1989, nous savons que des mutations du gène CF ; ce gène code pour une protéine transmembranaire : la protéine CFTR qui forme une sorte de canaux responsable du transport et des échanges eau / électrolytes, le mauvais fonctionnement de cette protéine CFTR perturbe cette fonction, ce qui entraîne la production d'un mucus épais. Le canal CFTR est exprimé au niveau des tissus épithéliaux sécréteurs tels que (les glandes sudoripares, le pancréas, l'intestin, les systèmes génitaux, dans les voies respiratoires, et les cellules cardiaques). (Gonska T et al., 2009)

L'incidence de la mucoviscidose varie selon la région et l'origine ethnique. Son taux de natalité en Europe et en Amérique du Nord est de 1/2000 à 1/3500. Cette fréquence a diminué dans la population méditerranéenne, majoritairement maghrébine, et plus faible dans la population noire (Africaines, Américaines) (1/20000) et asiatique (1/32400). (Rosenstein BJ 1998, De Boeck K 2006). La conférence américaine de consensus et les recommandations internationales ont clairement défini les critères diagnostiques de la mucoviscidose. Le diagnostic est alors posé lorsque les conditions suivantes sont réunies : signes cliniques évocateurs ou cas chez la fratrie, ou test de dépistage néonatal positif et mise en évidence d'anomalies liées à un dysfonctionnement de la protéine CFTR, au moins deux tests sudoripares ou CFTR positifs Il existe deux mutations ou potentiel nasal différence (DDP) positive. (Munck et al., 2008 ; Roussey & Munck, 2009).

En Algérie, l'incidence de cette maladie n'existe pas, car il n'existe pas de registre pour la mucoviscidose et où l'on ne pratique pas le dépistage néonatal de la mucoviscidose.

Compte tenu de l'impact du diagnostic de mucoviscidose, le dépistage néonatal correctement réalisé est essentiel, surtout lorsqu'il s'agit d'une forme atypique. C'est pourquoi

il est absolument nécessaire de trouver un protocole unique et fiable pour diagnostiquer la maladie de manière plus rapide.

Pour cela l'objectif de notre travail était de :

- Nous souhaitons évaluer un ensemble de meilleurs protocoles utilisés pour le diagnostic de la mucoviscidose par le dépistage néonatal dans un groupe de pays européens à travers quelques récentes publications.

*Etude
bibliographique*

Chapitre I
Généralité sur la
mucoviscidose

I. Définition

La mucoviscidose (« maladie des mucus visqueux » en français) ou fibrose kystique (en anglais : cystic fibrosis, sous-entendu « du pancréas ») Ce nom fait référence aux lésions fibreuses qui se développent dans le pancréas, est une des maladies génétiques héréditaires a transmission autosomique récessive la plus fréquente dans les populations d'origine Caucasienne et dans les pays occidentaux l'un des principaux organes touchés par cette affection. **(Girodon-Boulandet & Costa, 2005).**

Elle se caractérise par le changement des sécrétions muqueuses au niveau de plusieurs organes comme l'appareil digestif et l'appareil respiratoire et se développe dès l'enfance, et évolue progressivement avec des épisodes d'aggravation. Cette maladie chronique, de pronostic redoutable, est due à la composition du mucus : très visqueux, épais, chargé en sel. D'origine génétique, dite autosomique (liée à l'altération d'un chromosome non sexuel) et récessive : elle ne s'exprime que chez les personnes qui portent deux copies du gène *CFTR* codant pour la protéine CFTR (pour cystic fibrosis transmembrane conductance regulator) **(Angelot, 2005)**. La protéine CFTR est présente dans les membranes cellulaires de diverses muqueuses : respiratoires, digestives... Elle agit comme un canal d'échange d'ions chlorure entre l'intérieur et l'extérieur de la cellule. Lorsque son gène est muté, le canal fonctionne mal. Cette modification se manifeste notamment par une diminution de la quantité d'eau excrétée par les muqueuses et, par conséquent, par une inflammation et un épaissement du mucus qui la recouvre. Ce phénomène conduit aux symptômes habituels de la mucoviscidose. La maladie est liée à une anomalie du gène *CFTR*, porté par le chromosome 7. **(Carpentier, 2012).**

II. Historique

Après des études et des recherches historiques menées par des chercheurs historiques, ils ont découvert que la mucoviscidose apparaissait avant même le Moyen Âge, lorsqu'ils ont découvert en 1606 qu'un médecin goûtait le goût du sel sur ses doigts après l'avoir frotté sur le front d'un enfant malade. En 1595, l'autopsie d'une fillette de 11 ans fut réalisée par le médecin hollandais Peter Bau qui découvrit la première description médicale des lésions pancréatiques dans laquelle il décrivait le pancréas comme blanc, enflé et divisé. **(Davis, 2006).**

Au XIXe siècle et au début du XXe siècle, l'existence de la même maladie était associée à l'observation de selles huileuses, de complications du méconium et de lésions pancréatiques

par un Landsteiner. En 1905, le premier à décrire l'iléus méconium chez les patients atteints de pancréas.

En 1936, La première à décrire la mucoviscidose en tant que maladie à part entière c'est le docteur Hansine Andersen.

En 1938, le docteur Hansine Andersen définit la maladie comme étant une atteinte du pancréas d'où son nom anglais (Cystic Fibrosis) (fibrose kystique du pancréas).**(Davis, 2006).**

Le docteur Sydney Farber utilisé le nom « mucoviscidose» dans L'année 1943 pour la première fois par cette terme de « mucoviscidose » reste très exploité dans le monde.**(Sermet-Gaudelus I et al., 2012).**

En 1945, était déterminé le caractère héréditaire et transmission récessive par Dorothy Andersen et Hodges. **(Sermet-Gaudelus I et al., 2012).**

En 1948, lors d'une vague de chaleur, **Paul Di Sant'Agnese**, pédiatre à New York, découvrit que la plupart des enfants souffrant d'un coup de chaleur souffraient de mucoviscidose, concluant que la nature de leur sueur était différente des autres.

En 1953, le pédiatre **Saint Agnes** constatait que dans la sueur des enfants atteints de mucoviscidose il y a un déséquilibre des électrolytes avec une augmentation des ions chlorure notamment dans ce cas (Saint-Agnès) il explique le goût salé que (Alonso De fentecha) a trouvé il y a trois siècles. Ces observations qui sont actuellement utilisée pour les tests de diagnostic de la sueur. **(Di Sant'Agnese PA , 1953).**

En 1981, knwles Gatzky et boucher découvrent les différents de potentiel électriques au niveau de la muqueuse nasale. Cette découverte implique qu'il existe un lien physiologique entre les poumons, le pancréas et les glandes sudoripares.

En 1985, le gène responsable de la maladie était localisé dans le bras long du chromosome 7 grâce au marqueur RLFP **(Riordan JR et al., 1989) .**

Puis en 1989 l'anomalie génétique à l' origine de la maladie fut mise en évidence par les équipes de Lap-Chi Tsui, Collins et Riordan. Il s'agit d'une mutation d'un gène localisé en 7q31 codant une protéine transmembranaire appelée CFTR **(Riordan JR et al., 1989).**

Ce n'est qu'en 1991, qu'Anderson et al. Apportèrent les preuves que le CFTR était bien un canal chlore **(Anderson et al., 1991).**

III. Épidémiologie

La mucoviscidose est une pathologie héréditaire à transmission autosomique récessif, Lorsque les parents sont porteurs de la maladie et sont en bonne santé (hétérozygotes : l'un des deux allèles sont mutés), il y a 25% de risques pour voir un enfant malade (figure 1).

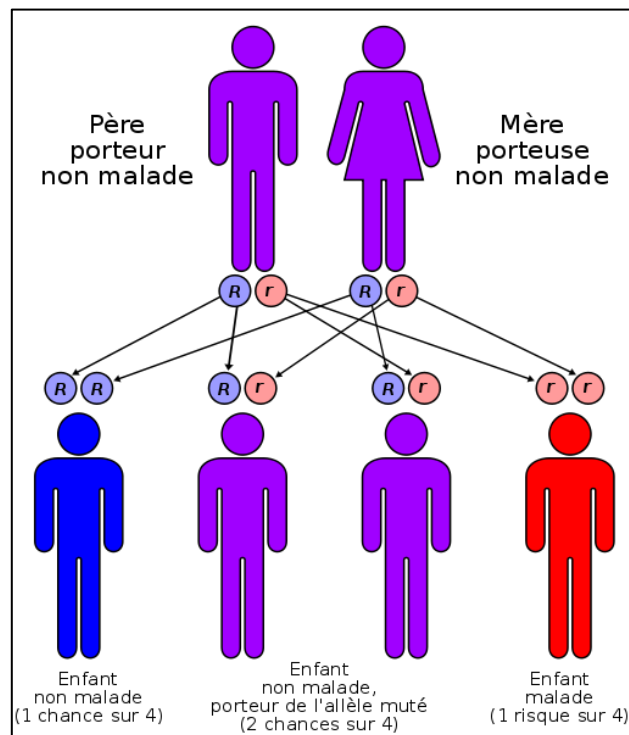


Figure 1 Mode de transmission autosomique récessive de la mucoviscidose. (McIntosh et al., 1989)

Deux parents porteurs d'une mutation du gène CFTR auront à chaque grossesse, une chance de 1/4 d'avoir un enfant porteur du gène normal, de 1/2 d'avoir un enfant porteur du gène anormal mais non malade, et un risque de 1/4 d'avoir un enfant porteur de deux gènes anormaux et donc malade. (McIntosh et al., 1989)

Bien que la mucoviscidose soit considérée comme une maladie rare, elle se propage presque partout dans le monde, touchant plus de 75 000 personnes (Cystic Fibrosis Canada 2017, Cystic Fibrosis fondation 2017, Européen Cystic Fibrosis Society 2017) (figure 2).

C'est l'une des maladies génétiques les plus courantes dans le Caucase, 1 enfant sur 3 000 naît avec la mucoviscidose en Europe du Nord, il y a de grandes variations régionales (1/2913 en Bretagne à 1/7077 en Midi-Pyrénées) (Munck & Roussey, 2008); (Scotet et al., 2010).

Il se propage également sur le continent asiatique et Afrique, mais à un peu de proportion, par exemple au Japon 1/ 350000 (O'Sullivan & Freeman 2009). En Afrique du Nord, des études

ont montré que plusieurs mutations CFTR ont été découvertes en petit nombre au Maghreb (Algérie (Loumi et al., 2008), Tunisie (Fredj et al., 2009) et Maroc (Ratbi et al., 2008)).

Il existe des variations au niveau de l'incidence maladie observées à l'intérieur d'un même pays, en France par exemple la maladie touche 1 enfant sur 2500 dans le Nord-ouest (Bobadilla et al., 2002). En revanche, un enfant sur 10000 est touché dans le sud-est (Girodon-Boualandet & Costa, 2005).

La maladie est plus grave pour les femmes par contre il y a La même fréquence de la maladie entre les hommes et les femmes

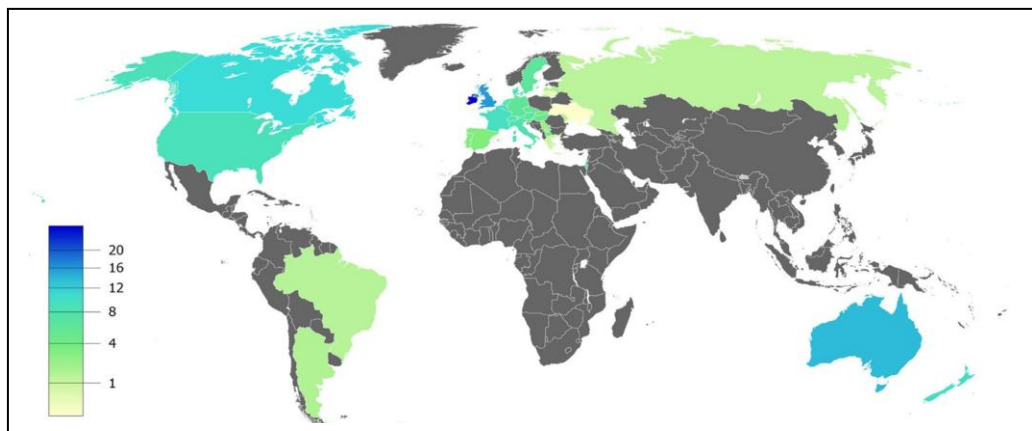


Figure 2 : Prévalence estimée de la mucoviscidose dans le monde, pour 100 000 habitants (d'après Lopes Pachec 2016).

IV. Physiopathologie de la mucoviscidose

La mucoviscidose est une maladie génétique qui affecte les glandes externes, et elle affecte de nombreux organes des principaux systèmes du corps comme : le système digestif et le système respiratoire. Il provoque une maladie pulmonaire chronique, une insuffisance pancréatique externe, une maladie du foie biliaire et une augmentation de la concentration d'électrolytes dans la sueur. Presque toutes les glandes exocrines sont affectées à des degrés divers de distribution et de gravité. Les glandes peuvent être obstruées par un matériau collant ou solide provenant d'éosinophiles.

Dans la lumière (pancréas, glandes intestinales, voies biliaires intrahépatiques, vésicule biliaire, glandes sous-maxillaires) (Figure 3).

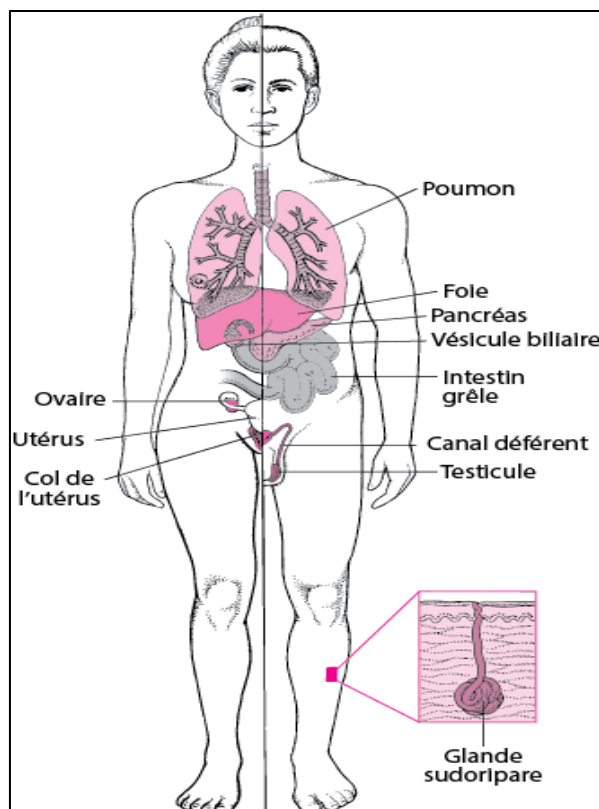


Figure 3 : montrant les organes et les systèmes touchés par la mucoviscidose : (poumons, pancréas, foie, les organes reproducteurs) / Les glandes sudoripares de la peau sécrètent un liquide qui contient plus de sel que la normale. (Welsh & Smith, 1995)

Il peut sembler histologiquement anormal, mais il produit une grande quantité de sécrétions. Il peut également apparaître naturellement d'un point de vue histologique, mais il excrète des quantités excessives de sodium et de chlore (comme la sueur) (Aurora et al., 2004).

1. Physiopathologie de la mucoviscidose au niveau respiratoire

À la naissance, les poumons sont généralement histologiquement normaux, la plupart des patients développent des maladies pulmonaires pendant l'enfance ou la petite enfance, cette maladie conduit à accumulation de bouchons de mucus dans les bronches et Il s'accompagne d'une infection bactérienne chronique, qui conduit à une bronchectasie et une insuffisance respiratoire (Figure 4) (Aurora et al., 2004) .

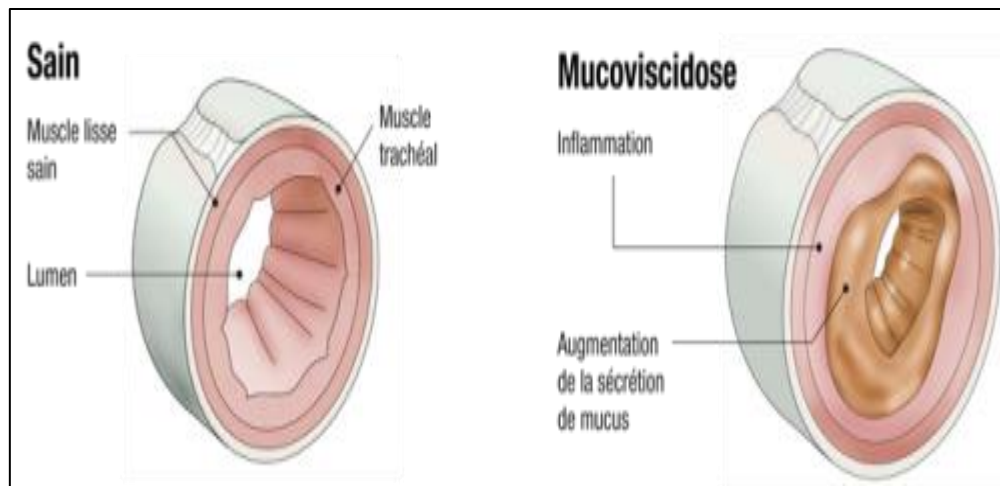


Figure 4 : la figure illustre une bronche normale et une bronche enflammée. (Welsh & Smith, 1995)

La réponse inflammatoire sévère à l'infection des voies respiratoires est plus forte et plus persistante qu'elle ne le serait en l'absence de la mucoviscidose (Noah et al., 1997 ; Bonfield et al., 1999).

Les poumons sont constamment exposés à des agents nocifs et infectieux, et ainsi le développement leur a donné plusieurs lignes de défense qui assurent un nettoyage permanent des voies respiratoires sans provoquer de réaction à des substances potentiellement nocives.

Le mucus crée par lui-même une couverture protectrice qui lie les particules inhalées car le mucus se compose d'épitopes faits de carbone et est piégé par un lux perturbé. Ensuite, la couche muqueuse est poussée vers le haut, formée sur une couche liquide moins visqueuse, par une combinaison de coups ciliaires coordonnés avec le flux d'air et la toux. Cette couche de fluide est appelée «sol» ou «fluide périphérique» (LPC), spécifiquement conçue pour fournir un environnement qui ne ralentit pas le battement ciliaires. Le transport actif des ions stimule la force motrice pour une sécrétion et une absorption régulières des fluides (Tarran et al., 2001a). C'est pourquoi le LPC maintient une hauteur adéquate (environ un huitième de la longueur d'un cil complètement allongé) et maintient une hydratation adéquate de la membrane muqueuse (Tarran et al., 2001b). Le CPL a également une action plus importante qui est un lubrifiant qui empêche la couche muqueuse de coller aux surfaces cellulaires, cette dernière permettant d'éliminer le mucus sous l'influence des battements ciliaires et de la toux.

Les CFTR sont des canaux utilisés pour le passage actif du chlore vers les LPC, qui interagissent avec les canaux sodiques pour réduire leur limite d'action. Le mouvement du chlore à travers les canaux CFTR est lié au mouvement du sodium et de l'eau, c'est-à-dire

qu'il fonctionne en proportion. Alors que, le transport des chlorures et d'autres ions assure l'hydratation du LPC et, par conséquent, le LPC joue également le rôle d'un lubrifiant qui empêche cette couche muqueuse de coller aux surfaces cellulaires. (Figure 5).

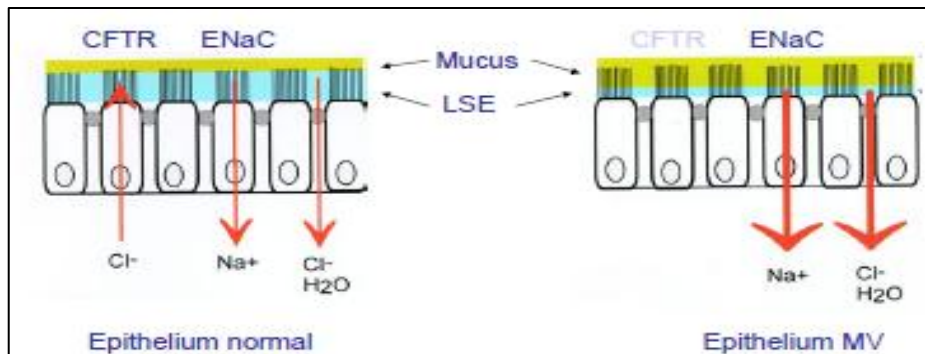


Figure 5 Conséquence du dysfonctionnement de transport ionique sur la clairance mucociliaire dans la mucoviscidose (Saussereau, 2012)

Les cellules de l'épithélium respiratoire normal régulent le transport de sodium (par l'intermédiaire de l'ENaC) et de chlorure (par l'intermédiaire du CFTR et du CACC) afin de maintenir une hauteur optimale de la couche liquide péri ciliaire et de conforter ainsi le mouvement ciliaire tout en hydratant adéquatement la couche sus-jacentes de mucus, ce qui permet le maintien de la clairance mucociliaire (CMC). Dans la mucoviscidose, le mécanisme de transport épithélial du chlorure est absent et le sodium est hyper absorbé (par l'intermédiaire de l'ENaC). Malgré une compensation partielle par une sécrétion de chlorure à travers le CACC, il en résulte une diminution de la couche de LPC et une déshydratation du mucus, ce qui ralentit la clairance muco-ciliaire.

Cette action facilite l'élimination du mucus, tandis que le mucus au-dessus des cellules bronchiques protège les lésions pulmonaires de L'environnement extérieur (contamination, virus ...).

Quant aux personnes atteintes de mucoviscidose, il y a une obstruction dans le transport hydroélectrique (transport des ions chlorure). Cette obstruction entraîne un manque de l'hydratation dans les voies respiratoires, les rendant collantes et épaisses, ce qui est responsable de ne presque pas enlever la membrane muqueuse.

Tous ces problèmes conduisent à une hypertrophie de la paroi musculaire des artères pulmonaires, ce qui entraîne une hypertension artérielle pulmonaire et une hypertrophie ventriculaire droite. L'accumulation de bactéries et de virus continue d'entraîner l'émergence de maladies pulmonaires, notamment : *Staphylococcus aureus* est le plus courant,

Pseudomonas aeruginosa est isolé avec L'évolution de la maladie. Un type muqueux associé à la mucoviscidose est *Plasmodium aeruginosa* et a un plus mauvais pronostic que *Plasmodium aeruginosa* non mucus (Marie, 2013).

Il existe également d'autres maladies respiratoires courantes associées à la mucoviscidose, notamment : *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Achromobacter xylosoxidans* et *Aspergillus spp.* (Yahiya, 2007).

2. Physiopathologie digestive

Environ 5 à 8% des patients de la maladie de mucoviscidose à cause de le développement une cirrhose multi globulaire. Le dépistage annuler de signes d'attentes hépatiques par des teste clinique et des teste biologique, la conséquence de cette physiopathologie c'est l'anomalie de *CFTR* sur les différences fonctions digestives.

La sécrétion pancréatique. On a vu insuffisance sécrétion pancréatique exocrine à la naissance chez 85 à 90% des patients si la fonction pancréatique à la naissance est conservée chez 10 à 15% des malades, leur risque de pancréatite elle est faible proportion d'entre eux (environ <5%) évolue vers une insuffisance pancréatique (Cutting, 2005). L'insuffisance se traduit par l'émission de diarrhées grasseuses. De plus, on observe chez 20 à 50% des adolescents et des adultes Ceci entraîne une insuffisance pancréatique endocrine et un diabète, avec une diminution et un retard à la sécrétion d'insuline associé à un insu lino-résistance (Moran et al., 2010) ; (Ratjen & Döring, 2003).

V. Manifestation clinique de la mucoviscidose

Les manifestations cliniques diffèrent d'une personne à l'autre selon l'âge du patient. Les manifestations cliniques chez les enfants en période prénatale peuvent être observées grâce à la deuxième échographie, qui est représentée par une stagnation des selles chez le fœtus conduisant à une expansion de l'intestin (méconium), et avec l'âge, d'autres manifestations peuvent apparaître, par exemple jusqu'à l'âge de 5 ans au niveau du système respiratoire, le patient souffre d'épisodes fréquents de toux avec bronchite, ainsi que de la propagation d'infections bactériennes et autres.

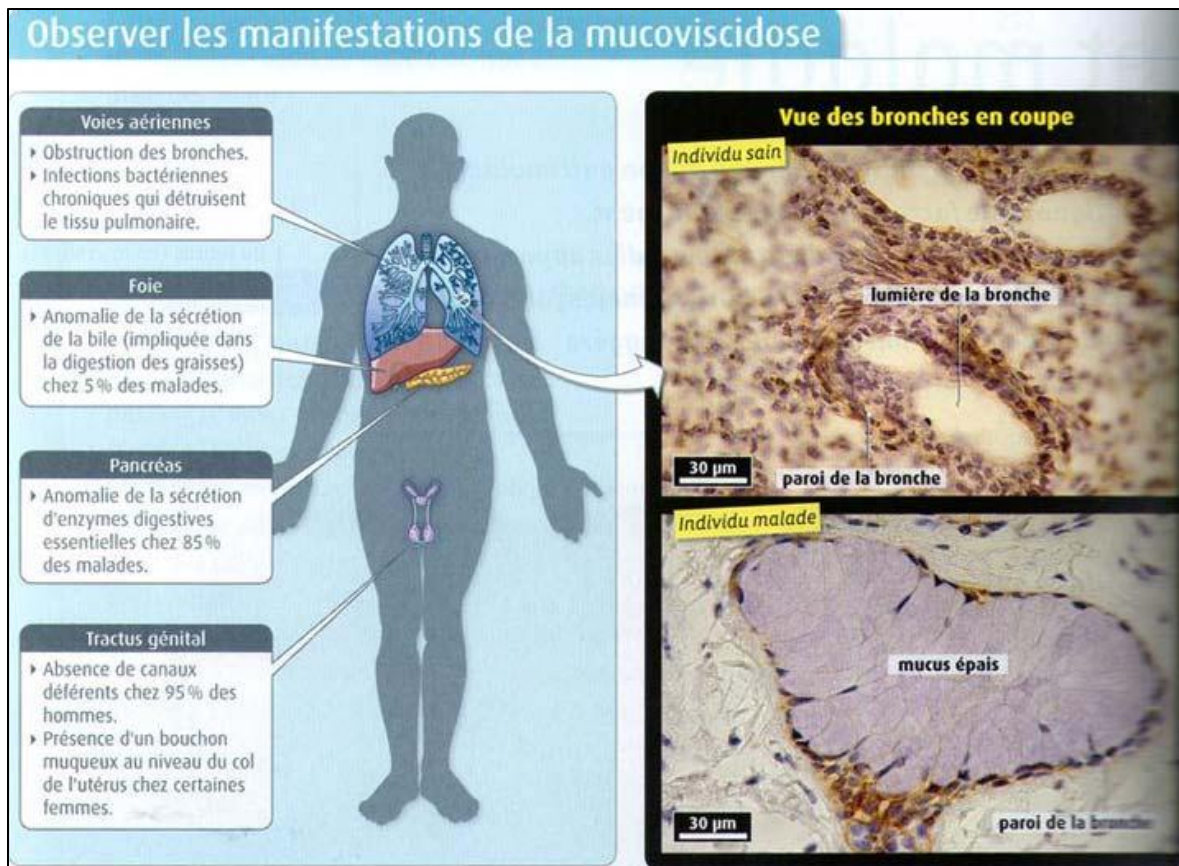


Figure 6 : les différents types de manifestation clinique de la mucoviscidose (Farhat, 2014)

1. Manifestation pulmonaires

Les lésions pulmonaires sont la principale cause de décès en raison du mucus anormalement collant qui obstrue les bronches et permet l'accumulation et la propagation de divers microbes, virus et germes, y compris (*Pseudomonas aeruginosa*, *staphylococcus* et *aureus*) (Ratjen & Doring, 2003).

Cette infection chronique entraîne une forte diminution des fonctions respiratoires par (*Pseudomonas aeruginosa*), ce qui permet une augmentation du taux de mortalité (Starner & McCray, 2005).

Les premiers symptômes sont une toux chronique et un essoufflement accompagnés d'une production intermittente de crachats, et avec l'aggravation de la maladie, le poumon devient considérablement plus faible dans ses fonctions qu'auparavant, et cela se propage chez les patients pédiatriques (Knowles & Boucher, 2002).

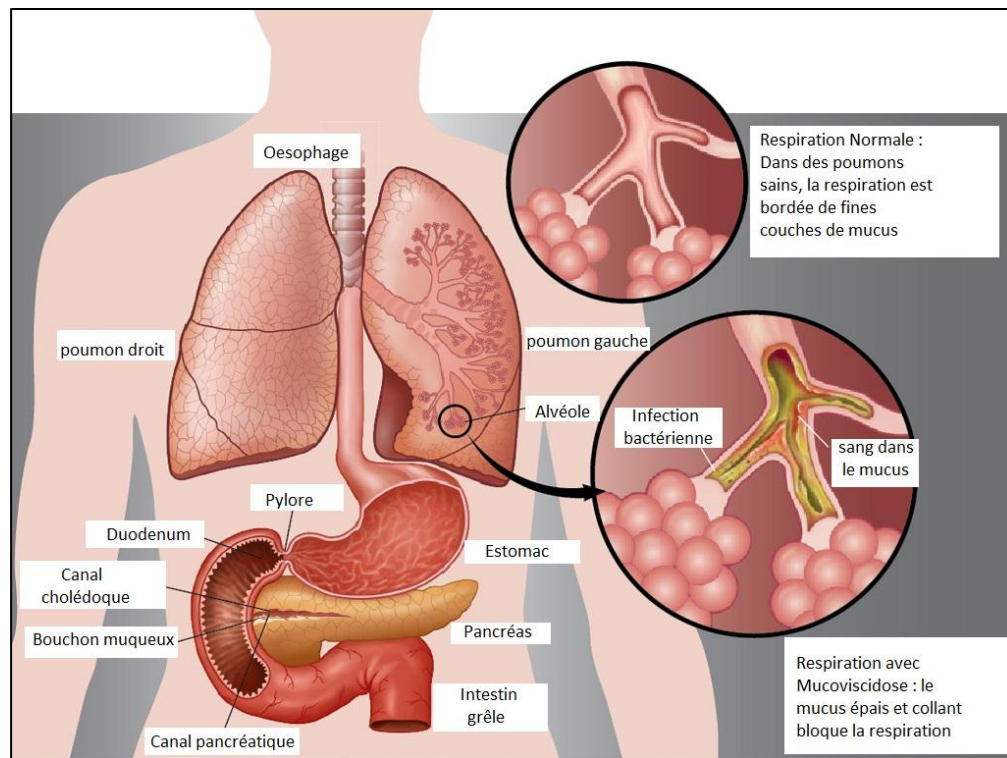


Figure 7: manifestation pulmonaire montrant l'accumulation de mucus au niveau des bronches (Welsh & Smith, 1995).

2. Manifestation digestives

Les premiers signes de manifestation digestive sont une obstruction intestinale partielle ou complète résultant de sécrétions intestinales collantes sous forme d'iléus méconium plus précoces chez le nouveau-né mucoviscidosique. Elle est également associée à des vomissements ainsi qu'à des ballonnements biliaires. Avec l'âge, certains patients peuvent développer un syndrome de l'intestin obstructif distal. Les manifestations digestives comprennent l'insuffisance pancréatique exocrine causer le diabète, la fibrose interstitielle, la stéatorrhée, ainsi qu'une altération de la croissance résultant d'une malabsorption des graisses.

Ainsi que la malabsorption des vitamines liposolubles et du zinc, provoquant des maladies telles qu'une coagulation déficiente, une anémie hémolytique et des éruptions cutanées. (Dray, 2004) .

Les lésions hépatobiliaire peuvent évoluer vers la polyarthrite rhumatoïde biliaire chez les personnes atteintes de mucoviscidose à l'adolescence ainsi que chez les adultes.

3. Manifestation génitale

a) Chez l'homme

La stérilité elle est constante, il est atteint de cette maladie jusqu'à le cas de paternité

Les organes de l'appareil génitale sont variable, elle est touché dans la majorité des cas, uni ou bilatérales, les canaux différentes qui sont absents ou artistique, pour la conséquence l'azoospermie il est constante et stérilité, les attentes à des degrés, l'épididyme, les vésicules séminales et la prostate.

Les hommes sont stériles dans plus de 95 % des cas, en raison d'une azoospermie obstructive **(Holsclaw and Shwachman, 1971)**.

b) Chez la femme :

La majorité sont fertiles elle fait plusieurs modification de la glaire cervicale qui est épaissie, pauvre de l'eau et qui gêne la migration intra-utérine des spermatozoïdes. Néanmoins les grossesses de femmes CF ne sont plus rares (2%)

4. Manifestation endocriniens

Le diabète liée à la mucoviscidose sucré de 1ere type de diabète, le cause principale de apparition est la diminution de la sécrétion et le métabolisme d'un glucose modifier, Le diabète touché les enfants à l'âge de 10 ans, et elle est silencieux pendant plusieurs années **(De Boeck et al ., 2005)**.

La régulation à normale de la diminution hormonale peut être responsable d'un retard de croissance linaire.

5. Manifestation musculo-squelettiques

Il existe une maladie connue sous le nom de l'hippocratisme digital, qui est une déformation des doigts et des ongles causée par des maladies respiratoires chroniques, et les personnes atteintes de mucoviscidose peuvent également en souffrir. (Figure 8)

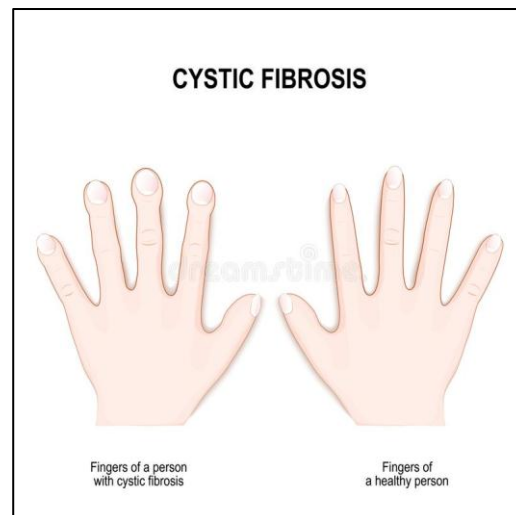


Figure 8 : Clubbing de doigt dans l'affection génétique de mucoviscidose différence entre la main et les doigts sains d'une personne avec la mucoviscidose clouez les doigts de pilon de symptômes de clubbing ou les ongles de montre-verre (<https://fr.dreamstime.com/mucoviscidose-sympt>)

Chez environ 15% des patients, ils peuvent développer une ostéotomie hypertrophique qui comprend diverses parties telles que le fémur distal, le tibia, le péroné et l'humérus, le radius (Cohen et al, 1986).

Des études indiquent qu'environ 23,5% des adultes atteints de mucoviscidose souffrent d'ostéoporose, et 40% d'ostéopénie. (Neri et al., 2006) ; (Paccou et al., 2010).

Chez les adultes atteints de la mucoviscidose, la perte de densité entraîne une diminution de la vitamine D (Dray et al., 2004), ce qui les rend vulnérables à l'ostéoporose et aux fractures. Ainsi que le diabète insulino-dépendant, une faible masse corporelle et une post-transplantation pulmonaire (Roberson & Macdonald, 2010). D'autres signes rares, tels qu'une myocardite non obstructive, peuvent également être observés dans l'enfance.

*Chapitre II Génétique
de la mucoviscidose*

On sait que la mucoviscidose est une maladie génétique héréditaire grave à transmission autosomique récessif, la responsable de cette maladie c'est que l'anomalie du gène codant pour la protéine CFTR, ce gène est appelée aussi le gène *CFTR*.

I. structure du gène *CFTR*

1. localisation du gène *CFTR*

En 1989, le gène *CFTR* a été découvert et il est responsable de la mucoviscidose par l'apparition d'une anomalie dans ce gène. Ce gène est situé dans le bras long du chromosome numéro 7. Il a été identifié grâce au marqueur génétique D7S15 en position 7q31.2 (**Tsui et al, 1985**) (figure 9) (**Bertrand, 2006**). Le gène *CFTR* se situe plus précisément entre deux gènes appelés *ASZI* et *CTTNBP2*. (**Neri, 2006**)

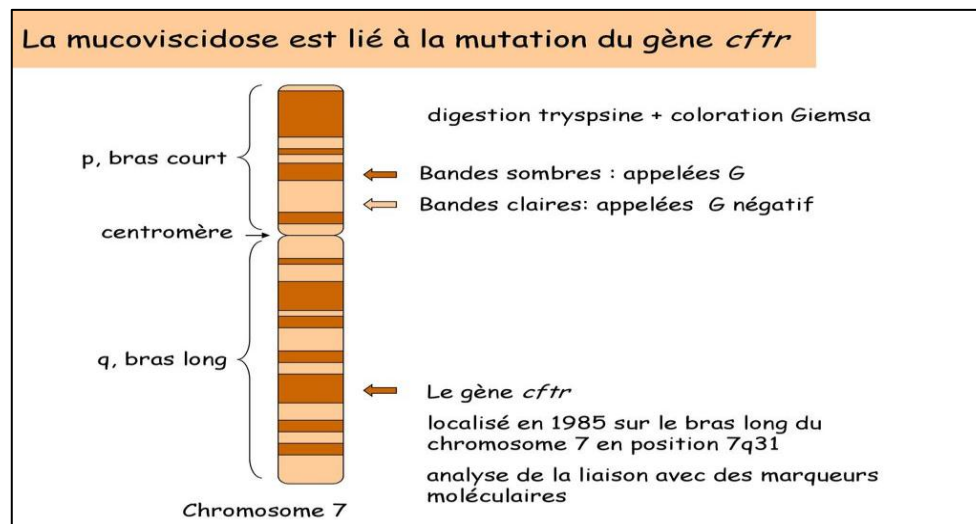


Figure 9 La localisation du gène *CFTR* sur le chromosome 7 dans la position 7q31.2 (**Zielenski et al. 1991**)

2. Séquence et taille du gène *CFTR*

En 1989, la séquence du gène a été déterminée en isolant et en alignant l'ADNc extrait de lignées cellulaires d'adénocarcinome humain T84 Le gène *CFTR* contient environ 230 kb, qui est transcrit en environ 6,5 kb d'ARNm, cet ARNm est possède une séquence de 4,4 kb code une glycoprotéine de 1480 acides aminés (**kerem et al., 1989**); (**Riordan et al., 1989b**); (**Rommens et al., 1989**). Et ce gène *CFTR* comprend environ 27 exons classiquement classés de 1 à 24 avec les exons dédoublés étant : 6a et 6b, 14a et 14b, 17a et 17b. Ces séquences ne sont compatibles qu'avec 2,45% du gène.

Pour la nomenclature *CFTR*, deux ensembles de nomenclature sont invoqués : la nomenclature traditionnelle, (anciennement utilisée, numérotés les exons de 1 à 24) et aussi la

nomenclature *HGVS* (Human Genome Variation Society) qui suit les recommandations internationales (**Bertrand, 2006**)

3. Épissage alternative du gène *CFTR*

L'épissage de l'ARN pré-messagers est une étape essentielle pour l'expression génique chez les eucaryotes, l'exon est reconnu par plusieurs sites d'initiation de la transcription chez L'homme. Le site primaire est présent par rapport aux cellules à haut niveau de canaux *CFTR*, situé au niveau de 72pb en amont de l'ATG. Comme pour certaines autres cellules, elle peut tomber entre 60 pb en amont et 60 pb en aval du site principal. Mais les scientifiques ne sont pas encore arrivés aux mêmes résultats, selon les conclusions de l'équipe (**Yoshimura, 1991 ; Chou, 1991 ; Koh, 1993**). Après l'épissage alternatif produit plusieurs iso formes de l'ARNm *CFTR*, cela indique qu'il existe un niveau supplémentaire de régulation sur l'expression du gène *CFTR*. Comme les scientifiques ont découvert deux exons précédemment non caractérisés, identifiés entre 900 et 500 pb en amont de l'exon 1 (exon-1 a et exon 1 a), Fait amplifiant l'ADNc par PCR, Ce lien peut créer des exons – la à 1 a et à 2 ou de 1-a à 2. (**Jordan, 1991**). Tout cela laisse la signification physiologique de l'initiation de la transcription incertaine dans les exons 1 a et + la du *CFTR*.

4. Régulation de la transcription du gène *CFTR*

Il n'y a pas de "boîte TATA" dans la région promotrice du gène *CFTR*. Elle est Riche en GC, généralement non méthylé. La région du promoteur contient un cis Le site d'action est situé 632 nucléotides 5 'avant le site de traduction (**Lewandowska et al., 2010**). Il y a un changement du site d'initiation au cours du développement au niveau du poumon humain : le site majoritaire est situé dans le poumon fœtal au nucléotide 132-pb, tandis que pour le poumon adulte, le site utilisé est en position 69-pb (Figure 10).

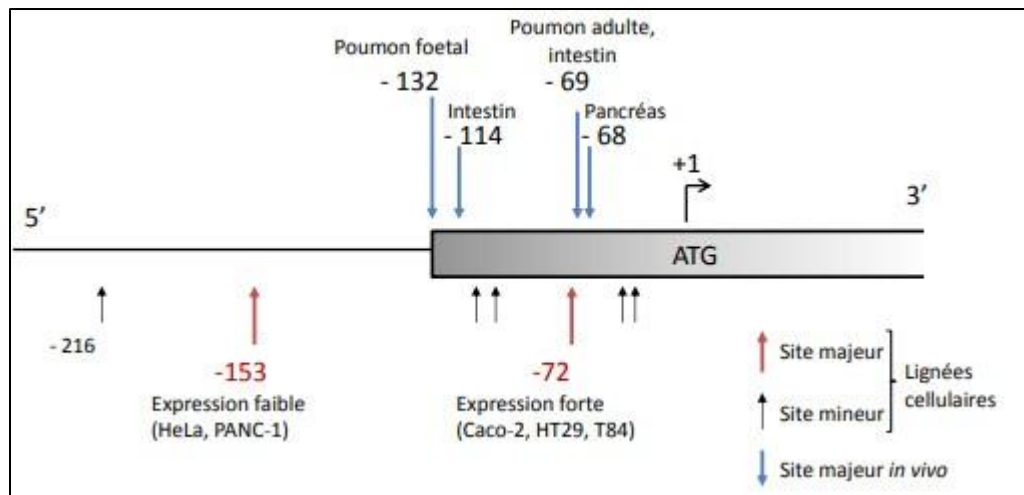


Figure 10 : sites d'initiation de la transcription (Becdelievre, 2011).

Ce changement au niveau du site d'initiation de la transcription qui agit pour réguler la transcription explique la diminution de l'expression de *CFTR* dans le poumon adulte par rapport au poumon foetal.

Contraste moléculaire : Il s'agit du processus de remplacement de la thymine (T) au site guanine (G) en position -94, chez les patients atteints de mucoviscidose. Il a été démontré que cette substitution modifie le site de fixation pour le facteur Sp1 (Specificity Protein 1), ainsi que pour le facteur l'USF2 (Upstream Stimulatory Factor 2). Ces deux facteurs se lient au promoteur du gène *CFTR* pour activer son processus de sa transcription. La substitution de T par G au site 680 entraîne la réparation de l'AP-1. La liaison de l'AP-1 à ce site régule négativement la transcription du gène *CFTR*. 6 sites de liaison à la protéine AP-1 ont été identifiés dans le promoteur du gène *CFTR* au niveau des loci suivants : 200-, 425-, 612-, 680-, 914-, 996-pb. La région du promoteur direct est également caractérisée par la région commune est utilisé par plusieurs facteurs de transcription CTCF, AP-1, SP1, GRE, CRE, C / EBP et Protéine Y-box (McCarthy & Harris, 2005) (figure 11).

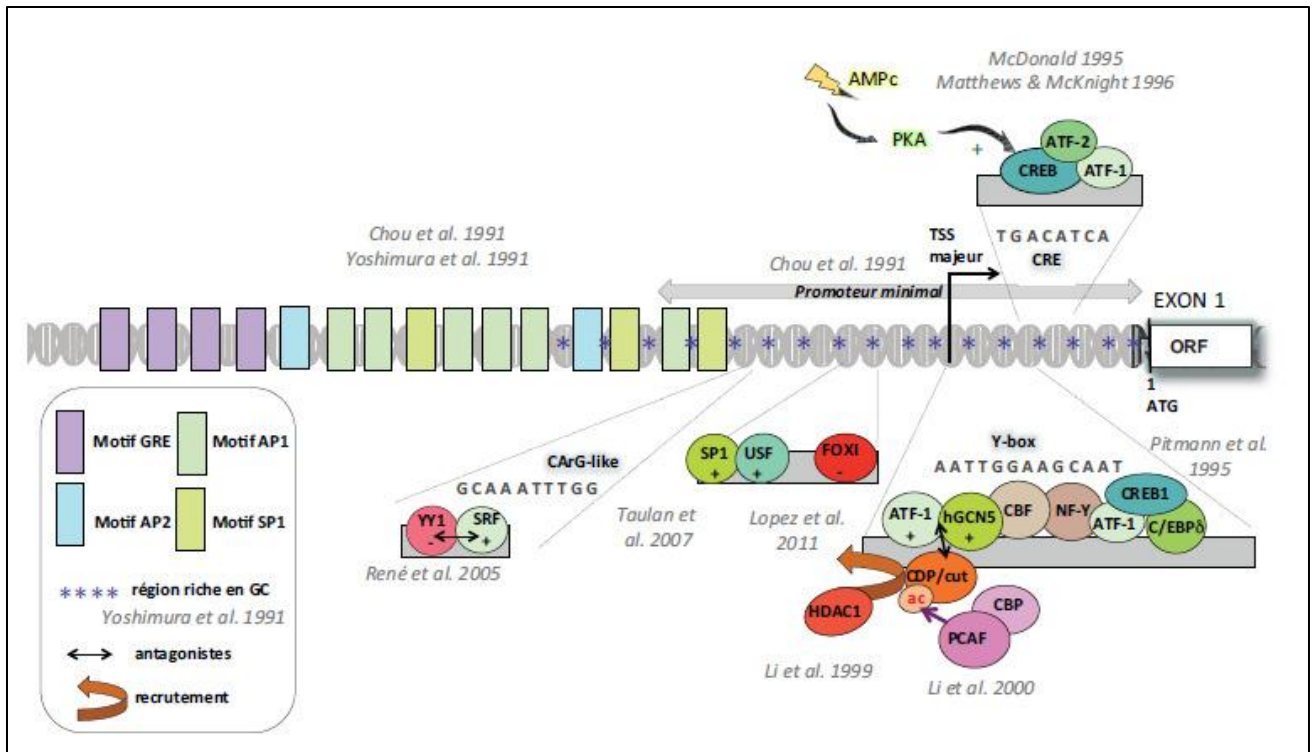


Figure 11: régulation transcriptionnelle du gène *CFTR* lors d'un stress cellulaire (Bonini, 2015).

Ces facteurs peuvent être combinés avec la chromatine pour ouvrir l'ADN et favoriser l'interaction entre l'ADN polymérase et le promoteur. Induire la transcription. Cependant, comprendre le contrôle du gène *CFTR* il est encore loin d'être achevé.

II. Protéine CFTR :

La protéine CFTR est une glycoprotéine membranaire appartenant à la famille des transporteurs ABC (ATP binding cassette) composée de 1480 acides aminés, (Riordan et al., 1989).

Elle composé de 2 domaines un domaine hydrophile (NBF Nucleotide Binding Fold) incluant des motifs Walker A et B hautement conservés qui révèlent la présence d'un site de fixation à l'ATP, et un domaine transmembranaire (TM) composé par six hélices α -hydrophobes (Mx).

La protéine CFTR possède deux motifs de TMD noté TMD 1 et 2 chacun est composé de six segments transmembranaires, Ce domaine intracellulaire expose au cytoplasme plusieurs résidus sérine qui peuvent être phosphorylés par les protéines kinases A et C (PKA et PKC) (Cheng et al., 1991). Pour le rôle potentiel qu'on lui prête dans les processus de régulation, cette région a été appelée domaine R pour " cette domaine R est un domaine spécifique de la protéine CFTR correspond aux résidus 590 à 831 codé par l'exon 13. (Riordan et al., 1989)

Ce domaine R est situé entre deux grandes régions hydrophiles contenant des séquences susceptibles de lier l'ATP, Walker A et B (**Walker et al., 1982**).

Ceux sont les domaines noté NBF1 et 2 (Nucleotide Binding fold).

Il existe une séquence commune à tous les transporteurs ABC : LSGGQXQR (ou motif C). Ce dernier est situé à la surface des domaines NBF, proche des sites de liaison de l'ATP. La structure secondaire des NBF composé essentiellement en un feuillet β (60-70%) central, entouré par des hélices α (10%). Les limites des domaines NBF1 et NBF2 elle est varié pour NBF1 la limite inférieure varie du résidu F434 (codé par 9 exon) à L441, et la limite supérieure est comprise entre 1586 (codé par 12 exon) et K684 avec une extension possible jusqu'à F650. Le domaine NBF2 est formé des résidus L1127 à L1480.

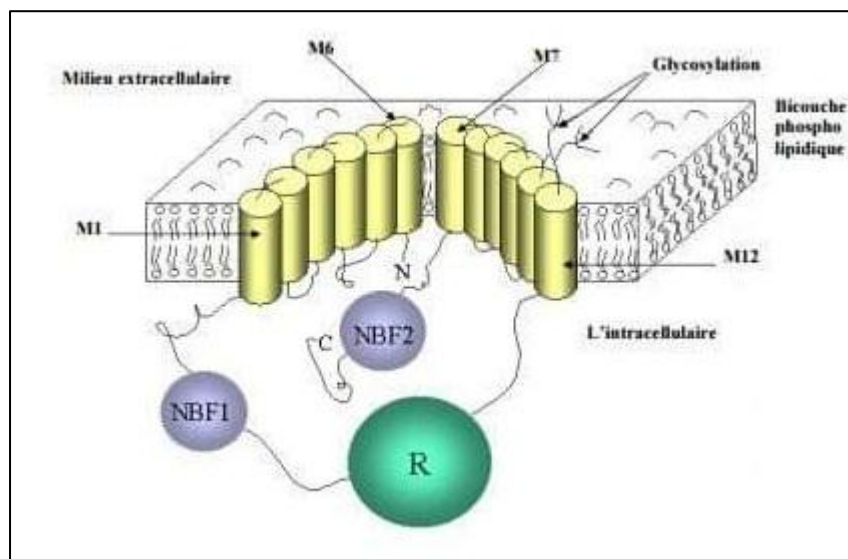


Figure 12 modèle de la protéine CFTR (**Riordan et al, 1989**)

1. Rôle de canal Cl-

La protéine CFTR est un canal faisant sortir les ions chlorure de la cellule épithéliale (**Anderson et al., 1991**) le domaine R doit être phosphorylé par la protéine kinase A qui est liée avec d'AMPc (adénosine mono phosphate cyclique) de la cellule (**Ostegaard et al., 2001**). Il y a deux liaisons ATP qui s'effectuent afin de phosphoryler le domaine R.

La première permet de changer la conformation de la protéine afin que le canal s'ouvre, et la seconde permet de garder le canal ouvert plus longtemps. La fixation des deux molécules d'ATP localisé au niveau des domaines NBD de la protéine les deux ATP vont s'hydrolyser pour l'ouverture du canal (**Vergani et al, 2005**). L'hydrolyse de l'ATP, Le domaine NBD1 est

le site d'hydrolyse de l'ATP couplé à l'ouverture du canal et le domaine NBD2 est le site de l'ATP permettant la fermeture du canal. Cl⁻

En absence d'ATP, le canal phosphorylé se ferme. L'ADP (adénosine di phosphate) (**Riordan, 1993**). Bien que la probabilité d'ouverture du canal augmente en fonction de la concentration en ATP intracellulaire, c'est le rapport en ATP et ADP.

2. Fonction de canal Cl⁻

La protéine CFTR en tant que canal Cl⁻ qui fait sortir les ions Cl⁻ de la cellule sous l'effet de leur gradient chimique est irréfutable. Plusieurs études ont tenté d'appréhender la nature du mécanisme d'activation de la protéine CFTR par l'AMPc via la PKA : elles ont confirmé que le domaine R ainsi que les deux NBFs étaient impliqués dans ce processus. En effet le mécanisme d'ouverture / fermeture du canal Cl⁻ comporte les étapes suivantes :

2-1 Phosphorylation des résidus serine du domaine R par la protéine kinase A (PKA)

Les acides aminés concernés par cette phosphorylation sont : (S660, S700, S737, S795, et S813), cette phosphorylation permet de l'orifice intracellulaire du pore du canal Cl⁻, pore que constituent les segments (M1, M5, M6 et M12 des domaines TMD1 et TMD2).

Le flux stimulé par l'AMPc, et la probabilité d'ouverture (Po) du canal CFTR dans les 4 sites sérines (S660, S737, S795 et S813) sont mutées (**Rich et al, 1990 ; Rich et al, 1993**). Même après la suppression des 10 sites reconnus comme étant phosphorylés par la PKA, le canal Cl⁻ CFTR reste fermé tant qu'il n'est pas activé par la PKA et l'ATP, indiquant que d'autres acides aminés phosphorylables sont impliqués dans le mécanisme d'ouverture du canal (**Rich et al., 1993**). Non phosphorylé par la PKA, ce qui suggère que l'activation de la protéine CFTR liée de la PKA se fait essentiellement par phosphorylation des sites localisés dans le domaine R (**Rich et al., 1993**).

2-2 Interaction entre l'ATP et l'un ou les 2 domaines NBFs

Il a été postulé que le domaine R a un effet inhibiteur sur l'activation du canal et que son modification permet de lever la mutation la fonction des deux NBF (**Rich et al., 1993**). La persistance du changement dépend tout d'abord du degré de phosphorylation du domaine R.

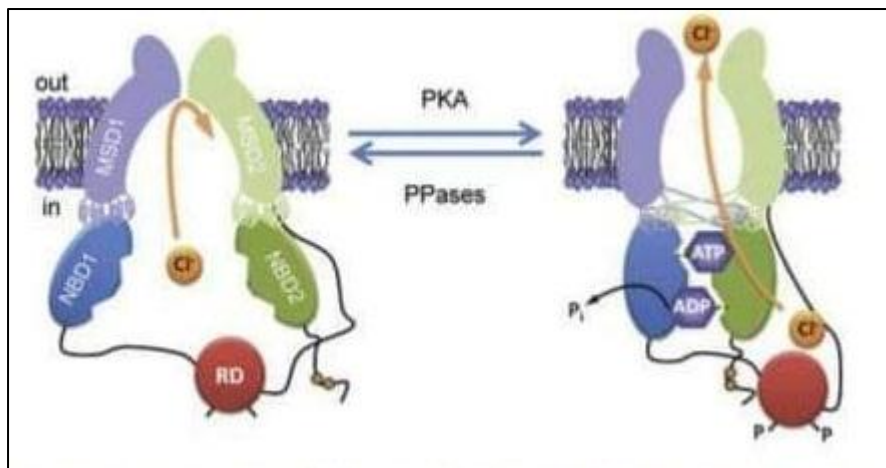


Figure 13 fonction canal chlore de la protéine CFTR avec son changement de conformation
(Cal et al., 2011)

3. Une protéine de la superfamille ABC

La protéine CFTR fait partie de la famille des cassettes de liaison ABC. Vecteurs ABC sont divisés en 7 sous-familles. La protéine CFTR est le septième membre de la famille C (étiqueté ABCC7). C'est atypique parce qu'il n'agit pas comme un transporteur comme les autres protéines de la famille, mais il a le rôle du canal ionique chlorure.

3-1 Propriétés des Transporteurs ABC

Les transporteurs ABC constituent une très grande famille de protéines. Elles sont composantes des différents vecteurs ABC proviennent d'une protéine ancestrale commune. Sont des porteurs actifs : ils s'y lient et y transfèrent leurs substrats À travers la membrane en utilisant ATP contre la régression concentration. Ces protéines sont utiliser dans le transport d'un grand nombre de substances biologiques (hormones, sucres, ions, etc.) aussi des substances toxiques (minéraux Lourd, médicament ...) vers le milieu extracellulaire. Ils sont responsables de nombreux phénomènes de résistance chez l'homme, il existe plusieurs vecteurs ABC, la plupart elle est impliquée dans les maladies génétiques les gènes qui codent ces vecteurs ils sont largement répandus dans tout le génome et présentent un degré élevé de homologue dans les acides aminés chez les eucaryotes

3-2 Domaines et fonctionnement d'un Transporteur ABC

Le transporteur ABC fonctionnel se compose de quatre domaines principales, deux domaines transmembranaires (DTM) et deux domaines de liaison aux nucléotides (NBD) (Mourez et al., 2005).

Les DTM traversent la membrane plusieurs fois via des hélices α . Habituellement, il y en a six hélices pour chaque région, pour un total de douze hélices pour chaque source. Ils forment le passage du substrat à travers la membrane et sont responsables de la spécificité de la protéine à son substrat.

Les deux NBD structurellement conservés, il sont de nature hydrophile, assurant la liaison et l'hydrolyse de l'ATP. Tous les NBD partagent trois motifs qui caractérisent la cassette de liaison ATP : les motifs Walker A et B, qui permettent l'interaction avec le phosphate ATP et Mg^{2+} , et un motif LSGGQ, qui représente les caractéristiques du transporteur ABC (figure 14). (Gally, 2005)

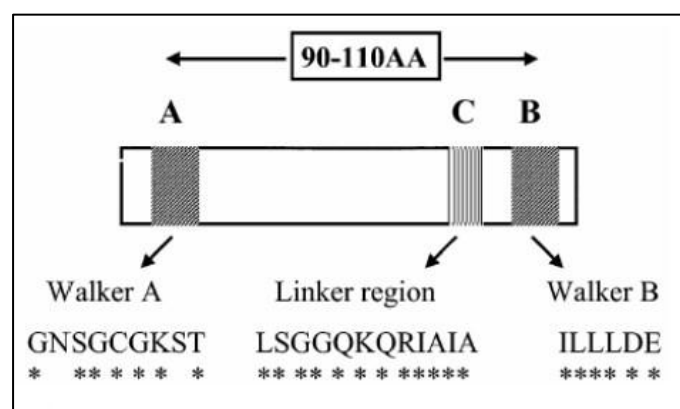


Figure 14 : les séquences consensus des domaines de liaison des nucléotides (NBD) (Gally, 2005).

Le transport des substrats par les protéines ABC implique des changements importants. La combinatoire et l'hydrolyse de l'ATP interaction du substrat avec le site la corrélation définie au niveau DTM conduit à un changement harmonique de ce dernier, qui Il sera envoyé à NBD pour ATP obligeant. C'est la liaison et non l'hydrolyse de l'ATP induit les changements harmoniques importants responsables de la modification de la convergence et L'hydrolyse de l'ATP permet la libération d'ADP et de Pi remettez le transporteur dans sa forme initiale, fermeture le transporteur pour commencer un nouveau cycle. (Farhat, 2014)

4. Caractéristiques de la protéine CFTR

Par rapport aux autres transporteurs ABC, les super protéines de la famille ABC transportent leurs matériaux à travers la membrane plasmique en fonction du gradient de concentration. Bien qu'il soit considéré comme une protéine CFTR il garantit le passage passif. La liaison de l'ATP à CFTR gardée le canal à l'état ouvert au lieu de pour assurer un transport actif (Vergani et al., 2005), la variation de la protéine CFTR des membres de cette superfamille II

composée 210 acides aminés au milieu de la protéine assurant la fonction organisationnelle. Il en résulte une phosphorylation des domaines R sérine et thréonine dans cette région activez le canal qui pourra ouvrir un dossier après avoir attaché ATP.

5. Tissu exprimant la protéine CFTR

La protéine CFTR est exprimée au pôle apical des cellules épithéliales, glandes sudoripares, pancréas ou même système reproducteur. Le niveau d'expression de la protéine CFTR varie selon le type de tissu. CFTR est Répliqué principalement dans les cellules épithéliales mais à un faible niveau.

Cependant, il y a un promoteur de gène domestique ont expression suggérée dans les cellules non épithéliales telles que les fibroblastes pulmonaires, macrophages alvéolaires, neutrophiles et monocytes. Le niveau d'expression de la protéine CFTR varie selon les tissus. Par conséquent, CFTR est Il est fortement exprimé dans l'épithélium des canaux sudoripares et des canaux pancréatiques Cryptes intestinales. Au niveau bronchique, l'expression protéique du CFTR est relative Peu. Cependant, il est plus important dans les glandes sous-muqueuses que dans l'épithélium. De la surface. CFTR est exprimé au pôle apical des cellules ciliées ainsi que dans les glandes ci-dessous les muqueuses des végétations adénoïdes. **(Bonini., 2015).**

6. Fonctions de la protéine CFTR

La protéine CFTR exerce une plusieurs fonctions dans la cellule, et des canaux différentes Cl^- et K^+ Le canal Cl^- (chlore) activé par l'adénosine mono phosphate cyclique (AMPC) **(Anderson et al., 1991 ; Bear et al., 1991 ; Berger et al., 1991 ; Drumm et al., 1991 ; Schwiebert et al., 1999).** Le canal $Cl^-/CFTR$ pourrait permettre le passage à travers la membrane cellulaire d'autres anions, comme les ions bicarbonates, de l'urée et de l'eau.

La protéine CFTR joué un rôle essentiel dans la phosphorisation du domaine R. La protéine CFTR travaille aussi comme régulateur de canaux ioniques, notamment un type de canal Cl^- , le canal Cl^- rectifiant sortant (ou ORCC, outwardly rectifying chloride channel) qu'il active, le canal Na (sodium) épithélial (EnaC, épithélial Na channel) qu'il inhibe, voire certains canaux K (potassium) **(Kunzelmann & Schreiber, 1999 ; Chinet, 2001).** La protéine CFTR pourrait aussi transporter des molécules de plus grande taille que les anions Cl^- , tels que l'ATP et le glutathion, mais ce point reste à confirmer **(Chinet & Blouquit, 2003).**

7. Biogenèse de la protéine CFTR

La maturation complète s'effectue par 3 étapes et en environ 2 heures et pendant cette période pour donner une protéine mature (**Gelman & Kopito, 2003**). Comme la majorité des protéines, la protéine CFTR est assemblée au niveau du réticulum endoplasmique (RE) c'est à ce moment-là qu'elle va subir un processus de maturation complexe, il est composé de différentes étapes de glycosylation. La protéine CFTR est synthétisée sous forme d'un précurseur non-glycosylé ou immature sur lequel a lieu l'addition d'un oligosaccharide. Cette forme immature (ou nommée forme A, possède 130kDa) est intégrée à la membrane du RE. La protéine CFTR sont contrôlés par le système ERQC (Endoplasmique Réticulum Quality Control), soit indirectement soit directement, les quelles jouent aussi la stabilité et maintenir de la protéine CFTR (**Glozman et al., 2009**). Elle est ensuite glycosylée par addition de deux groupes de glucide sur la 4ème boucle extracellulaire. Cela change son poids moléculaire à 150 kDa. Cette nouvelle forme immature est appelée forme B. Elle quitte le RE par des vésicules « coat complex II » (COPII) (**Wang et al., 2004 ; Turnbull et al., 2007**) via l'appareil de Golgi. La dernière étape de la maturation effectuée au niveau de l'appareil du Golgi et se traduit par une modification des groupes de glycosylation. Cette nouvelle forme mature s'appelle la forme C et possède un poids moléculaire de 170 kDa. Cette forme mature est ensuite adressée à la membrane plasmique pour y exercer ses différentes fonctions

8. Propriétés de la protéine CFTR

La protéine CFTR est traduite à partir d'un ARNm. Elle exerce une fonction de canal chlorure. Il ya deux séquences Homologues, comportant chacune six domaines transmembranaires et deux domaines de fixation aux nucléotides (NBD-1 et NBD-2). Ces deux séquences sont liées entre elles par un domaine R. Les douze domaines transmembranaires (MSD) délimitent un canal ionique dont l'activité est déterminée par la phosphorylation du domaine R. Les régions N et C terminales de la protéine sont cytoplasmiques. Le domaine R est très spécifique du canal CFTR cette protéine est identifiée au niveau de structures membranaires intracellulaires, RE et l'appareil de golgi. En fait, dans les cellules qui expriment le gène, la protéine CFTR native est non glycosylée. La glycosylation survient secondairement au niveau de RE.

III. Biosynthèse, adressage, recyclage et dégradation de CFTR

La figure 15 montre la composition protéique et son adressage de la membrane plasmique, après quoi elle est recyclée et dégradée. Les molécules CFTR intactes, telles que les (glycoprotéines) à la surface d'autres membranes plasmiques, traversent à la fois le RE et

ensuite l'appareil de Golgi, où avant de passer à la membrane cellulaire, elles acquièrent des chaînes d'oligosaccharides complexes par transport vésiculaire. Il a une demi-vie plus longue que ses prédécesseurs ($T_{1/2} \sim 1/2h$ contre $T_{1/2} \sim 16h$), mais elles subissent un cycle d'endocytose-exocytose qui atteint finalement les lysosomes, où elle est dégradée.

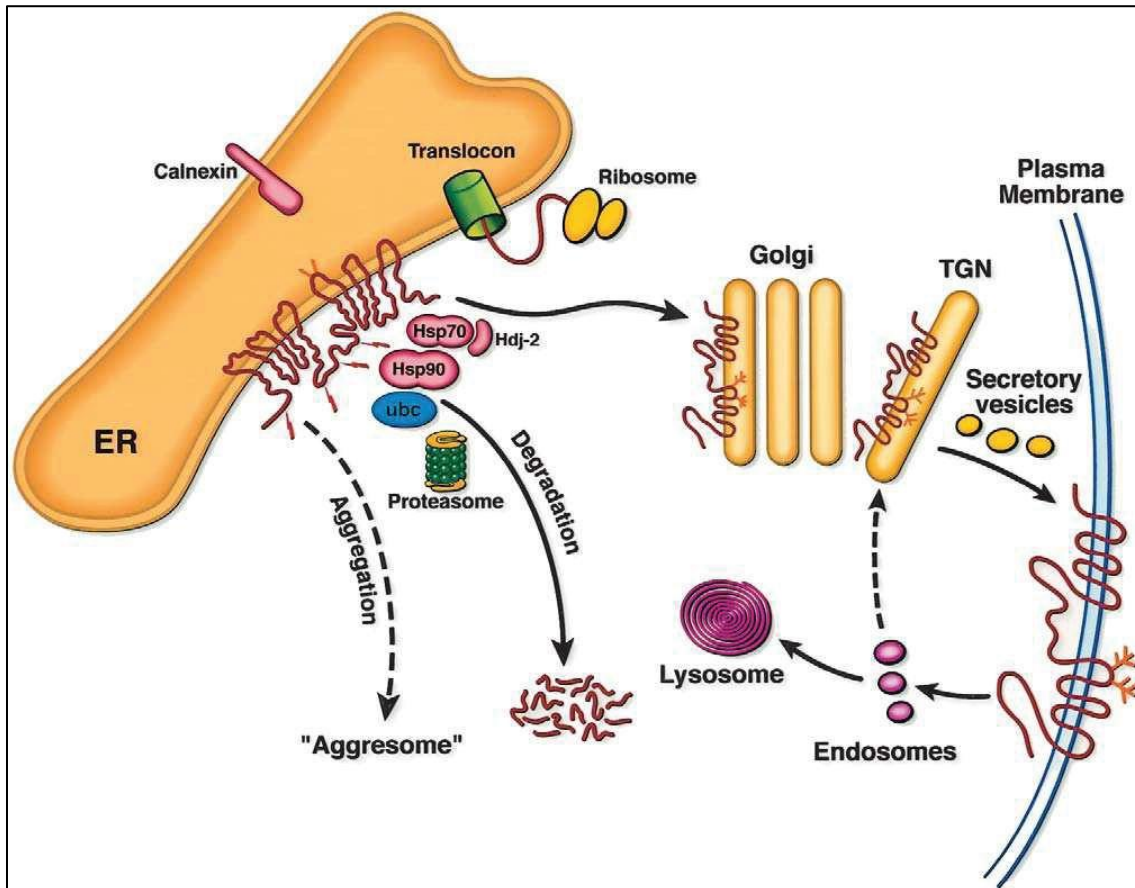


Figure 15 : Biosynthèse et trafic de CFTR (Riordan, 1999). Flèche pleine et petite flèche en pointillée à partir des endosomes : trafic de CFTR WT. Grande flèche en pointillée à partir du RE : trafic de CFTR F508del.

SDS-PAGE révèle souvent l'étape de transit du l'RE vers l'appareil de Golgi. En ajoutant des chaînes d'oligosaccharides complexes à la protéine CFTR.

La cinétique de la convention peut être étudiée par la microscopie à fluorescence en temps réel avec l'utilisation de la fusion GFP-CFTR. La plupart des résultats indiquent que la protéine F508del mutée est restée dans l'RE, car (Gilbert et al., 1998) ont rapporté qu'elle pourrait atteindre le compartiment intermédiaire ERGIC entre l'RE et l'appareil de Golgi. Les formes hautement relatives s'accumulent lorsque sa protéolyse est inhibée et appelée <aggresomes> (Johnston et al., 1998).

IV. Mutation du gène *CFTR*

Une mutation du gène qui conduit à l'émergence de la maladie de mucoviscidose. Environ 1965 mutations génétique a été découverte qui pourrait affecter le gène *CFTR*, qui a été consulté le 17/02/2014

Les Fréquences sont les :

- 40% mutations faux-sens.
- 11,60% mutations d'épissages.
- 8,24% mutations non-sens.
- 1,98% insertion/délétion décalant le cadre de lecture.
- 2,60% de larges insertions/délétions.
- 0.76% mutations au niveau du promoteur.
- 13,69% variations de séquences.
- 5,29% inconnus.

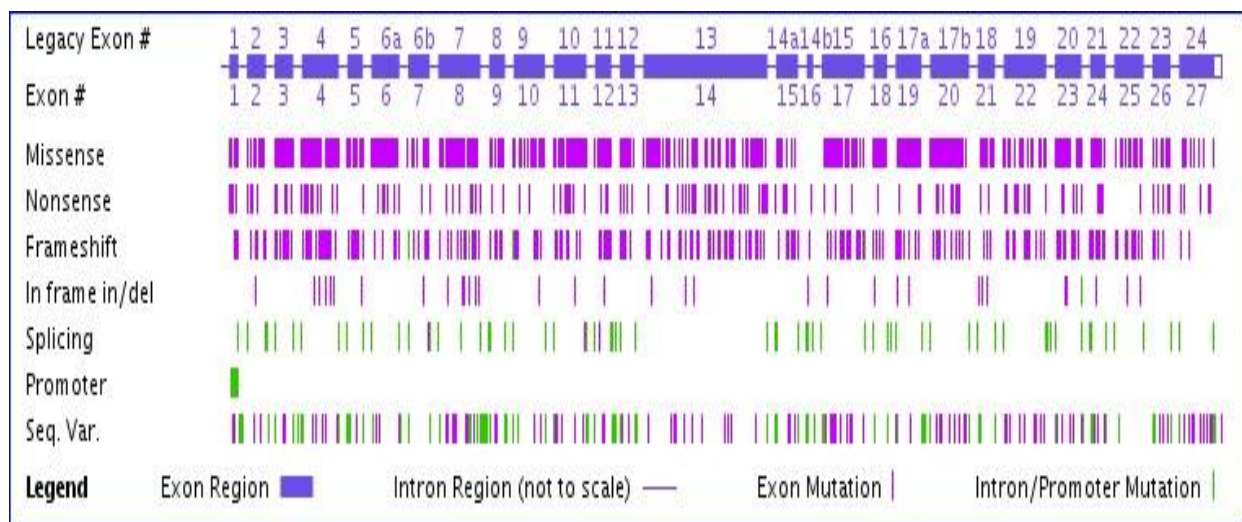


Figure 16 Distribution des mutations tous au long du gène *CFTR*.

(<http://www.genet.sickkids.on.ca/> données de septembre 2017) / ORF : (open reading frame)

1. Les différents classes de mutations du gène *CFTR*

Classification de Welsh et Smith :

Un grand nombre de mutations ont été classées au niveau biochimique, car elles étaient initialement divisées en quatre classes différentes selon Welsh et Smith (**Welsh & Smith, 1993**)

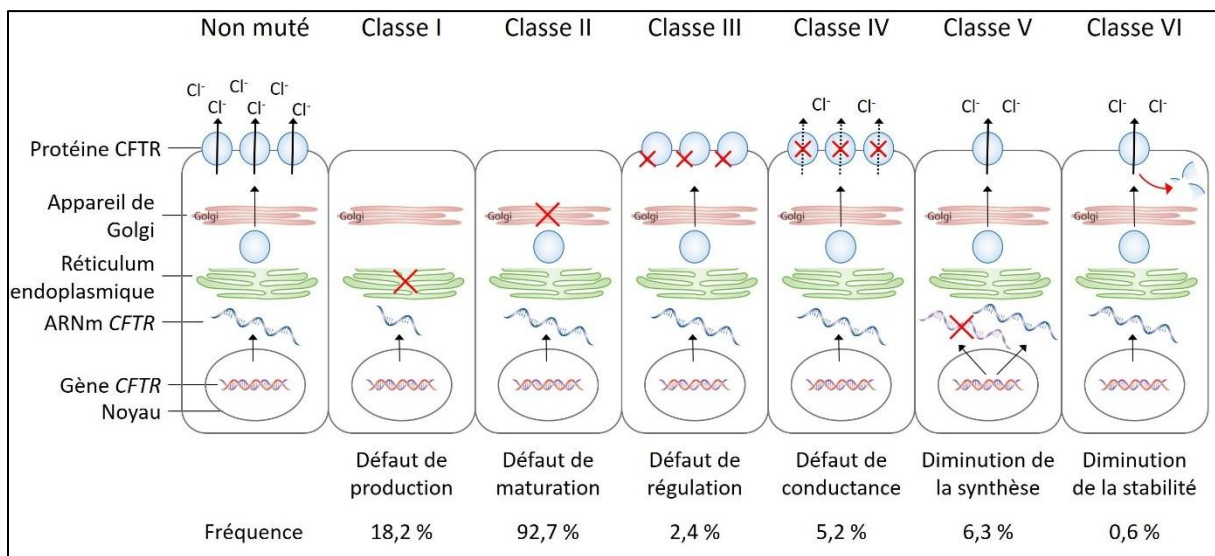


Figure 17 : Classification des mutations du gène *CFTR* selon leurs conséquences fonctionnelles (**adaptée à partir de Boyle et De Boeck 2013**) et fréquence des mutations en fonction des classes (pourcentage de patients Français présentant une ou deux mutations de la classe, d'après Vaincre la mucoviscidose et Ined 2017)

1-1 Mutation de la classe I : Défaut de production de la protéine

A regroupé les mutations qui ont provoqué les codons d'arrêt précoces dans un seul groupe conduisant à l'arrêt prématuré de la traduction de l'ARNm et de la production d'ARNm protéine tronquée synthétique instable, à dégradation rapide et non fonctionnelle. Ceux-ci Les mutations représentent 5% à 10% des mutations répertoriées chez les patients atteints de mucoviscidose, Cette mutation non-sens a réduit les niveaux d'expression de l'ARNm de 65% par rapport au niveau d'expression normal .La mutation G542X, plus courant, appartient à cette catégorie. (**Hamosh et al., 1992**).

1-2 Mutation de la classe II : Défaut de maturation

De nombreuses mutations empêchent la protéine CFTR d'être correctement transportée vers la membrane cellulaire, entraînant une perte de sa fonction. Les mutations peuvent également

entraîner l'absence totale ou une diminution de la quantité de protéines. Ces mutations de classe II (comme c. 1521_1523 del CTT) courbent la protéine pendant la maturation et empêchent alors *CFTR* de remplir correctement sa fonction (**Cheng et al., 1990 ; Thomas et al., 1992**).

1-3 Mutation de la classe III : Mutations qui perturbent la régulation du canal Cl^-

Certaines protéines de la membrane apicale des cellules présentent des mutations localisées dans les NBD. Puisque l'ATP intracellulaire passe interaction directe avec NBDs, qui peut être expliquée dans Ces zones changeront la fonction du canal. Mutation de classe III peut avoir des effets différents sur l'activité des protéines ; certaines mutations réduire les activités, tandis que d'autres activités mènent à des transports non fonctionnels Cl^- . Le *CFTR* est également régulé par la phosphorylation du domaine R.

1-4 Mutation de la classe IV : mutation altérant la conductance du canal Cl^-

Pour cette classe de mutations, elles interfèrent avec la sélectivité ionique et la durée pendant laquelle le canal *CFTR* est ouvert. Ces mutations faux-sens expriment une protéine correctement placée qui présente une activité de canal Cl^- AMPc, mais les propriétés de ces canaux sont différentes de celles du canal *CFTR* sauvage, ils s'accompagnent d'une diminution du flux ionique et d'une sélectivité variable. Habituellement, ces mutations ont un effet léger. Des exemples de ce type de mutation sont (R117H, R334W, R234P) (**Koch et al., 2001**).

La nouvelle classification (**Vankeerberghen et al., 2002**) :

Dans la nouvelle classification (**Vankeerberghen et al., 2002**) à partir de la première classe, deux nouvelles classes ont été conçues, afin de disséquer les défauts biochimiques associés. Par conséquent, la première classe a été divisée en classe I, V et VI, y compris les mutations de stabilité de l'ARN *CFTR*

1-5 Mutation de la classe V : mutations altérant la stabilité de L'ARNm

Les mutations de cette classe sont des mutations qui altèrent la stabilité de l'ARNm qui sont des mutations inductrices qui réduisent la transcription du gène *CFTR* ainsi que des mutations de liaison qui aboutissent à une copie sauvage et anormale. Ces mutations réduisent la synthèse des protéines (**Kerem & Kerem 1995**) et peuvent produire une protéine *CFTR* normale, mais elles affectent le taux de stabilité de la transcription. Un exemple de ce type de mutation : mutation faux-sens : (A455E) ou des mutations non-sens : (codon stop).

1-6 Mutation de la classe VI : Défaut de stabilité de la protéine mature

Cette classe comprend des mutations qui altèrent la stabilité de la protéine mature, réduisent les propriétés régulatrices d'autres canaux et suppriment souvent la partie C-terminale de la protéine terminale (**Haardt et al., 1999**). Ces mutations permettent également la fabrication de protéines fonctionnelles mais instables au niveau de la membrane, et elles réduisent les propriétés régulatrices de divers autres canaux, exemple : (Q1412X) (**Carpentier, 2012**) .

2. Origines et répartitions mondiales des mutations les plus fréquentes

De nombreuses mutations connues du gène *CFTR* se sont propagées à travers le monde, car la présence de ces mutations a permis la propagation de la mutation *1523delCTT_1521* dans différentes populations à travers le monde, car il existe 3 mutations appartenant à cette catégorie : *c.1624G>T* (*p.Gly542X*), *c.3909C>G* (*p.Asn1303Lys*) et *c.1652G>A* (*p.Gly551Asp*), Où les deux premières mutations se sont propagées dans la population méditerranéenne, tandis que la troisième mutation appartient à la population celtique. (**Loirat et al., 1997**).

En ce qui concerne l'Europe, chacun des pays suivants (Autriche, Biélorussie, Belgique, Danemark, Estonie, Finlande, France, Allemagne, Lituanie, Pays-Bas, Norvège, Pologne, Suède, Suisse, Ukraine) peut tous présenter une plus grande homogénéité dans leur mutation par rapport à d'autres pays tels que (Espagne, Bulgarie, Grèce et Turquie) (**Bobadilla et al., 2002**).

L'explication de l'hétérogénéité des mutations est due à la différence de leur situation géographique, qui est connue comme un "qu'ont historique" ou une "passerelle historique" entre le Moyen-Orient, ainsi que l'Afrique, jusqu'à l'Europe.

L'apparition de ces trois mutations le long du gradient nord-sud augmente pour des pays comme la France, l'Italie et l'Espagne, atteignant une fréquence maximale dans les régions bordant la Méditerranée.

Explique la présence de ces mutations qui se sont répandus en méditerranée dans des pays européens comme l'Autriche et la Slovaquie en colonisant différentes régions d'Europe par des fleuves comme le Danube (**Serre et al., 1990**). Ces mutations sont les plus fréquentes dans les pays d'Afrique du nord bordant la mer Méditerranée, en particulier l'Algérie et la Tunisie.

Il explique également la propagation d'une mutation (*p. Gly551Asp*) dans les pays du nord de l'Europe par la longue migration des tribus celtiques en Europe.

3. La mutation *F508del*

C'est l'une des mutations les plus courantes qui affectent le gène *CFTR* et conduit à la mucoviscidose (70% des allèles de la mucoviscidose) (**Tsoi, 1995**) et c'est une délétion de 3 nucléotides, c'est-à-dire une délétion d'un codon, délétion de phénylalanine (F) au site 508, ainsi on l'appelle (*F508del*) (**Kerem et al., 1989 ; Davis et al., 1996**). Cette mutation est fortement associée à la maladie, car plus de 90% des patients atteints de mucoviscidose ont au moins un allèle *F508del*. Ils ont également constaté que les patients avec des allèles homozygotes étaient environ de moitié. Cela comprend l'accumulation de la protéine inactive dans le réticulum endoplasmique (RE) et son absence à la surface de la membrane cellulaire (**Cheng et al., 1990 ; Thomas et al., 1992 ; Welsh & Smith, 1993**). Ainsi, la protéine mutante présente au niveau du RE est rapidement dégradée (**Cheng et al., 1990**).

Lorsque des protéines mutées sont incubées à basse température (**Denning et al., 1992**), une réversion phénotypique apparaît, ou lorsque des molécules de faible poids moléculaire telles que le glycérol sont présentes (**Sato et al., 1996 ; Brown et al., 1996**), cela se produit après le repliement correct de la protéine.

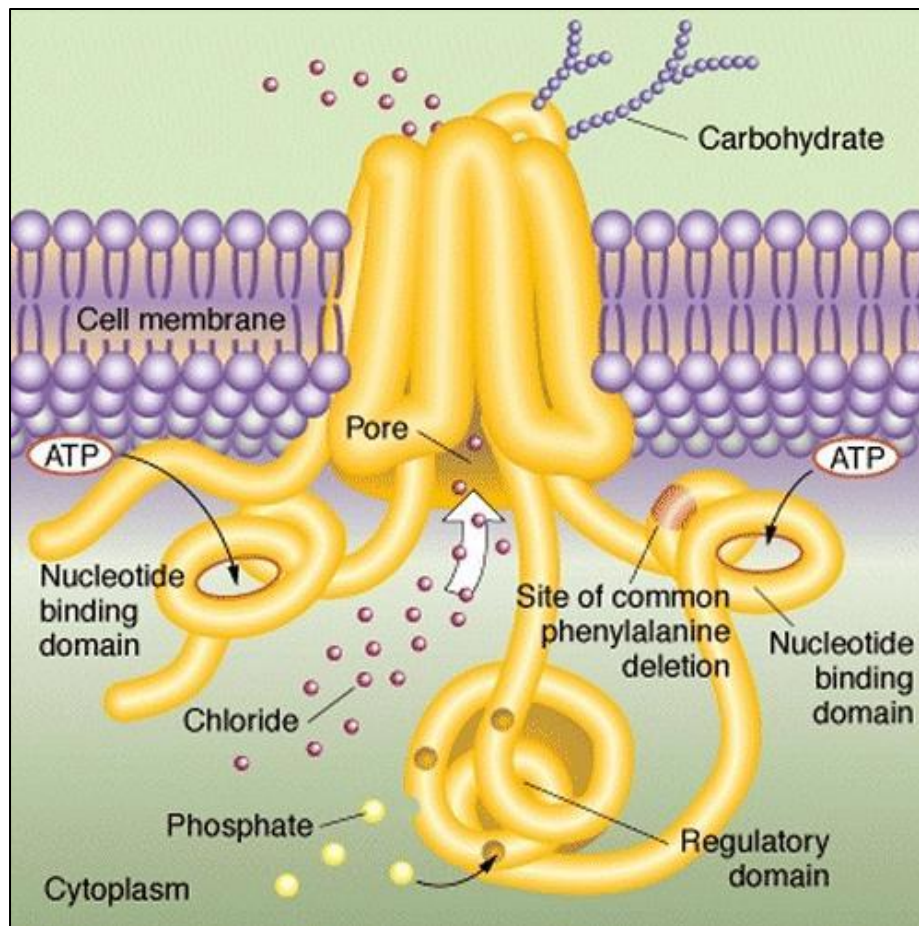


Figure 18 Le canal CFTR ayant la mutation *F508del-CFTR* (www.pneumo-adeq2.org)

A l'état homozygote, la mutation *F508del-CFTR* est associée à la forme classique de la maladie avec une augmentation des électrolytes dans la sueur, une insuffisance pancréatique et une atteinte obstructive des poumons le plus souvent sévère.

4. Les mutations d'épissage et les différents modes d'épissage alternatif

4- 1 Les mutations d'épissage

L'épissage à la limite exon-intron nécessite une séquence dans un locus consensus conservé, en plus de plusieurs éléments agissant en cis dans les exons et les introns (Fu, 2004 ; Matlin et al., 2005). La perturbation de l'épissage est souvent causée par des mutations pathogènes sur les sites d'épissage ou des éléments exoniques (Cartegni et al., 2002 ; Faustino & Cooper, 2003), Cela fait perdre à l'allèle affecté sa fonction, et donc la structure de la protéine change, conduisant à la gravité de la maladie. De plus, les Single-Nucleotide Polymorphisme (SNPs) ont la capacité d'influencer l'efficacité de l'épissage et donc de moduler la gravité de la maladie (Steiner et al., 2004 ; Nielson et al., 2007).

La perturbation d'un cadre de lecture d'ARNm se produit à la suite d'une erreur d'épissage avec l'insertion ou la suppression d'un seul nucléotide. Le mécanisme d'élimination d'intron fonctionne sur la remarquable précision de l'épissage une fois le spliceosome assemblé et cible les doubles bases d'ARNsn, en particulier les liaisons phosphodiester, pour le clivage.

Avant les réactions «couper-coller», le spliceosome reconnaît les bons sites d'épissage, Les sites d'épissage courts et dégradés peuvent contenir la moitié des informations nécessaires pour identifier un site d'épissage (**Lim & Burge, 2001**), et ils ne seront jamais utilisés même s'ils ressemblent aux sites d'épissage classique. Le nombre de pseudo-sites d'épissage peut également être supérieur au nombre des bons sites d'épissage dans un pré-ARNm (**Sun & Chasin, 2000**).

Dans les cellules de mammifères, environ 35% de l'épissage alternatif produit des ARNm qui contiennent un codon stop prématuré qui peut se dégrader efficacement grâce à le NMD. De même, les épissages alternatifs qui résultent de mutations sans transitions dans le cadre de lecture conduisent à la création d'un ARNm tronqué, et à partir de celui-ci la formation d'une protéine incomplète qui peut se dégrader en maturité au niveau des énergies renouvelables à partir de sa fonction.

4- 2 Différentes modes d'épissage alternatif

Il existe de nombreux types différents d'épissage alternatif (AS), classés en quatre sous-groupes principaux (**selon Keren et al., 2010**). Les séquences requises pour l'épissage sont illustrées à la Figure 17 (Figure 17A), où dans (Figure 17B) les différentes épissages possibles sont illustrées, y compris l'épissage constitutif normales représenté dans (Figure 17B1). Le premier type de SA est un exon sautant, car il est incapable de reconnaître les exons, mais est éliminé avec les introns (figure 17B2). Par conséquent, l'ARNm de CFTR sans exon 9 traduit une protéine anormalement repliée et non fonctionnelle (**Delaney et al., 1993; Strong et al., 1993**).

Environ 40% de (AS) correspond au saut d'exon chez les eucaryotes supérieurs (**Sugnet et al., 2004 ; Alekseyenko et al., 2007**), mais ces événements sont extrêmement rares chez les eucaryotes inférieurs. La seconde est la rétention des introns (Figure 17b3) : l'intron est conservé dans l'ARNm mature. C'est le mécanisme de SA le plus rare chez les vertébrés et les invertébrés (moins de 5% des événements) (**Sugnet et al., 2004 ; Alekseyenko et al., 2007 ; Sakabe & De Souza, 2007 ; Kim et al., 2008**). En revanche, la rétention d'introns est le mécanisme le plus courant chez les plantes, les champignons et les protozoaires (**Kim et**

al., 2008). Les deux processus suivants impliquent des séquences de sites d'épissage 3'SS ou 5'SS (figure 17 B4-5). 18,4% des cas de SA ont été attribués à l'élimination de la séquence 3'SS, et 7,9% ont été attribués à l'élimination de la séquence 5'SS. En utilisant des exons mutuellement exclusifs, d'autres événements complexes avec une fréquence plus basse peuvent provoquer une transcription alternative (figure 17 B6). Une autre forme rare de SA implique une réaction entre deux transcriptions principales. (Labrador & Corces, 2003).

En général, l'épissage alternatif peut affecter la traduction et la stabilité de l'ARNm (Ghigna et al., 2008). Et augmenter la diversité des ARNm et des protéines exprimés dans les cellules (Black, 2003 ; Graveley, 2001).

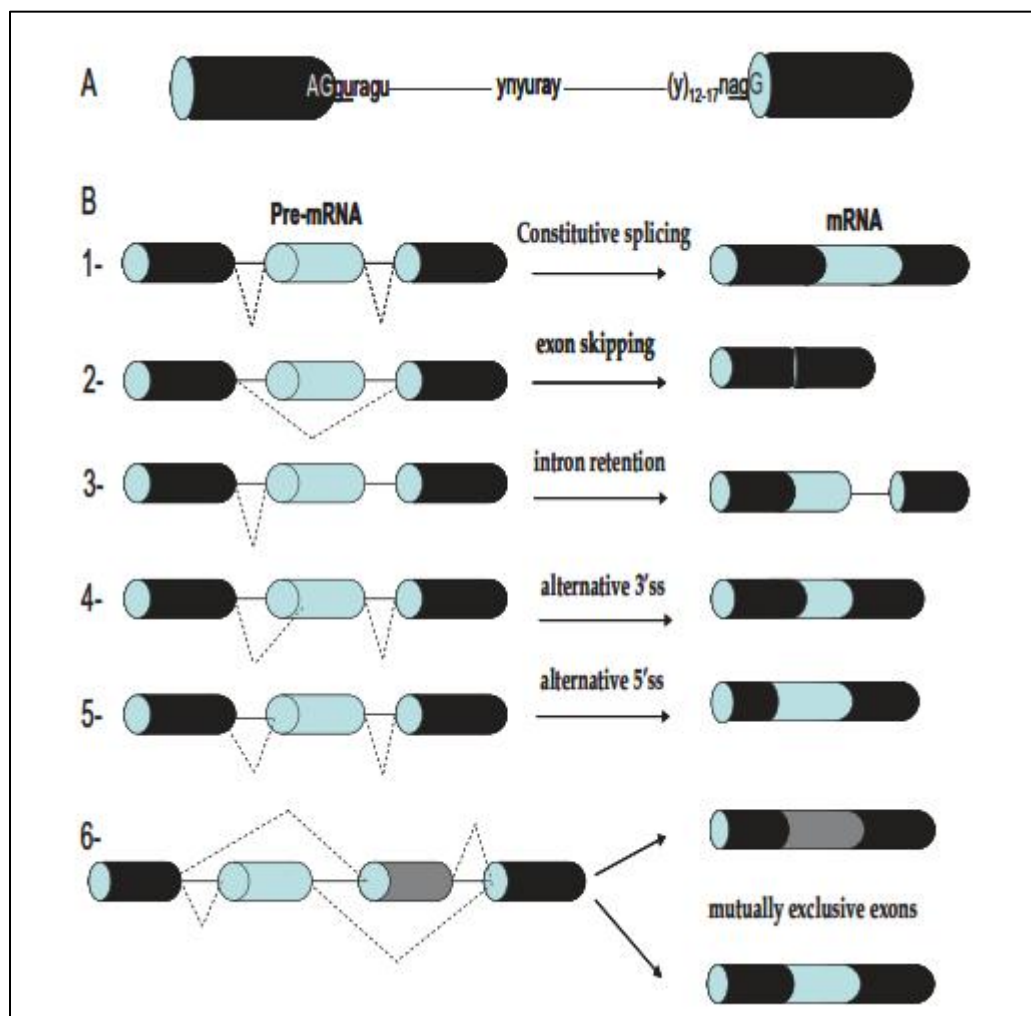


Figure 19 Mécanismes d'épissage alternatif. (D'après Ghigna et al., 2008). (A) séquences consensus d'épissage d'un gène eucaryote typique (exon / intron, signaux des sites d'épissage, site de branchement). (B) 1 épissage normal. 2-6 épissage alternatif des ARNm : saut d'exon (2), rétention d'intron (3), utilisation de séquences alternatives 3'-(accepteur) (4) ou 5'-(donneur) (5) et sélection des exons mutuellement exclusifs (6).

5. Distribution géographique des mutations du gène *CFTR*

La distribution des mutations dans le gène *CFTR* varie fortement d'une population à l'autre. Il n'y a que cinq mutations dont la fréquence dépasse le seuil de 1%: $\Delta F508$ (66,8%) est la plus courante dans le monde. On le retrouve également dans tous les pays étudiés. Dans la région du Maghreb, la fréquence de 508 n'est pas présente, en Algérie elle est de 30% (**Boukari, 2006 ; Loumia, 2008**), alors qu'en Tunisie elle est de 50,8%. (**Messaoud, 2005**).

Fréquence moyenne des mutations suivantes dans le monde : ($G542X$ {2,6%} ; $N 1303K$ {1,6} ; $G542X$ {1,5}). Ces mutations n'existent que dans certaines populations. Un exemple de la mutation $G542X$ est absent en Biélorussie, en Estonie, en Roumanie et en Ukraine, en revanche, nous la trouvons très courante dans les pays entourant le bassin méditerranéen. De même, la mutation $N 1303K$ avec des valeurs maximales est répandue dans les pays du Maghreb, alors qu'elle est absente dans d'autres pays comme la Finlande et la Suède, ainsi que les cinq mutations CF, 21 mutations ont été trouvées avec des fréquences comprises entre 0,9% et 0,1 %. (Tableau 1) (**Yahiya, 2007**).

Tableau 1: Mutations du gène *CFTR* les plus fréquentes et leur distribution géographique (**Yahia, 2007**).

Mutation	Fréquence %	Fréquence particulière dans certaines régions
$\Delta F508$	66,8	Danemark (87,2%), Finistère (82%), Algérie (sujets suivis en France) (26,3%), Juifs ashkénazes (30%)
$G542X$	2,6	Juifs ashkénazes (12%), Espagne (30%), Méditerranée (6,1%)
$N1303K$	1,6	Tunisie (17%), Turquie et Bulgarie (6%)
$G551D$	1,5	Europe centrale et Celtes (6,9%) Juifs ashkénazes (48%)

<i>W1282X</i>	1,01	
<i>1717-1G-T</i>	0,83	
<i>R553X</i>	0,75	Québec, Tunisie (9%)
<i>711+1G-T</i>	0,7	Italie du Nord, Algérie (9,8%)
<i>R1162X</i>	0,5	Pays de Galles (5,2%), Québec (5%)
<i>621+1G-T</i>	0,5	Italie et Grèce (3,2%)
<i>2183AA-G</i>	0,36	
<i>G85E</i>	0,3	
<i>R117H</i>	0,3	Ile de Réunion (27%)
<i>Y122X</i>	0,3	
<i>R347P</i>	0,2	
<i>A1507</i>	0,2	Juifs ashkénazes (4%)
<i>3849+10kb C-T</i>	0,2	Scandinavie (28%)
<i>394delTT</i>	0,1	Finistère (4,9)
<i>1078delT</i>	0,1	Crète (11,5%)
<i>R334W</i>	0,1	
<i>A455E</i>	0,1	
<i>S549N</i>	0,1	
<i>R560T</i>	0,1	
<i>1898+1G-T</i>	0,1	
<i>2798+5G-A</i>	0,1	
<i>3659delC</i>	0,1	

V. Les corrélations génotype-phénotype dans la mucoviscidose

Le fait que l’environnement et d’autres facteurs génétiques affectent le phénotype (Vankeerberghen et al., 2002) indique qu’il n’y a pas de corrélation stricte entre les mutations d’un gène *CFTR* spécifique et le phénotype du patient. Les mutations du gène *CFTR* ont un large éventail de manifestations phénotypiques (Kerem & Kerem 1996; Stern 1997). La mucoviscidose n’est que la forme la plus grave de la gamme clinique. L’existence de *CFTR*-RD est caractérisée par une progression lente de la maladie (Strong et al., 1991) ou par les limitations d’un seul organe. L’absence congénitale bilatérale du canal déférent (ABCD) en est un exemple. Dans ce cas, le phénotype clinique des hommes en bonne santé est l’azoospermie obstructive, et ce génotype présente des mutations dans le gène *CFTR* chez 70 à 80% des individus testés (De Braekeleer & Férec, 1996).

Les hommes atteints d’ABCD avec la mucoviscidose présentent diverses anomalies au niveau des vésicules séminales, telles que l’aplasie et l’hypoplasie. De plus, des études ont indiqué que les hommes atteints de mucoviscidose peuvent ne pas avoir de canaux éjaculateurs visibles. Compte tenu de l’origine embryonnaire commune de telles structures et canaux mésonéphriques, il n’est pas exclu de trouver des anomalies au niveau du canal déférent, de l’épididyme, des vésicules séminales et des canaux éjaculateurs.

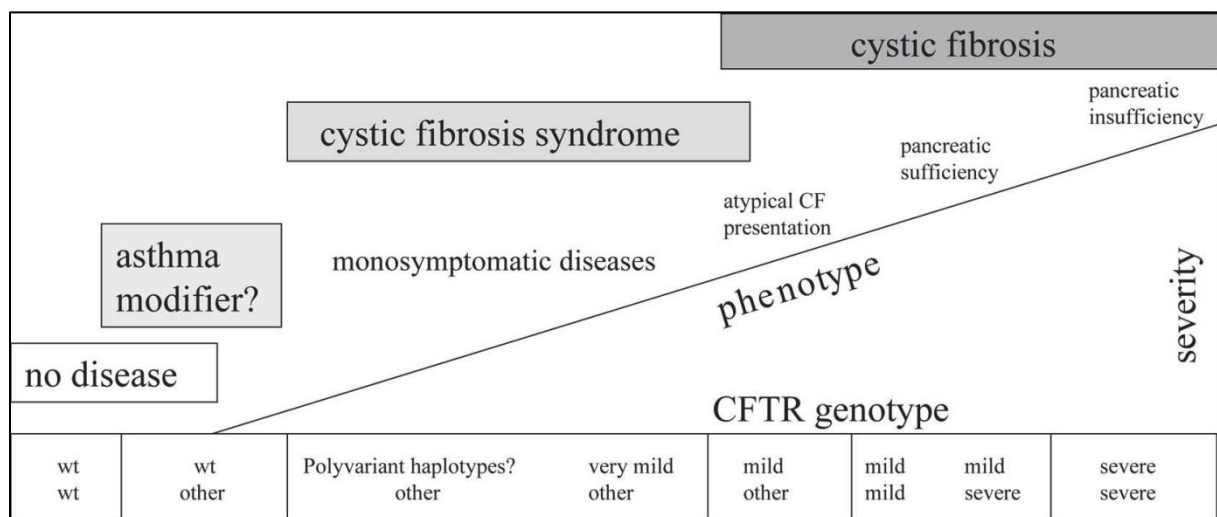


Figure 20 Spectre des phénotypes associés aux génotypes de *CFTR*. La sévérité de la maladie est représentée en fonction des génotypes associés. wt = Wild-type ; other = very mild (mutation très légère), mild (légère) ou severe (sévère). Les haplotypes polyvariants (Larriba, et al, 1998) sont des variants polymorphes fréquents qui peuvent contribuer à des phénotypes monosymptomatiques. (D’après Zielenski et al., 2000)

Sur la base d’analyses de la relation entre le génotype et le phénotype, il a été montré que les mutations du gène *CFTR* peuvent être classées en deux classes, légères ou graves, En ce qui

concerne la fonction du pancréas. Des mutations sévères sont corrélées à une insuffisance pancréatique, alors que, les mutations légères conduisent à une activité *CFTR* résiduelle, conférant une adéquation pancréatique. Il est possible qu'un patient atteint de mucoviscidose ait un pancréas suffisamment affecté s'il est porteur d'une ou deux mutations légères. Plusieurs études ont montré que certains des génotypes sont associés à un phénotype sévère. Cependant, une grande variation a été observée, notamment au niveau de la fonction pulmonaire, pour chaque génotype ou entre frères et sœurs, cela indique que divers autres facteurs (génétiques ou environnementaux), ils peuvent affecter la gravité et / ou la progression de la maladie. Au début des années 1970, il a été suggéré que l'ABCD n'était qu'une forme bénigne de mucoviscidose, alors que seuls quelques cas ayant des antécédents familiaux de fibrose kystique ont été documentés avec un test de la sueur positif

Désormais, le développement de la technologie moléculaire pour identifier les mutations du gène *CFTR* permet d'identifier toutes les mutations et d'étudier la corrélation entre génotype et phénotype, en particulier l'effet des mutations sur la localisation, la maturité et la fonction des protéines. À l'heure actuelle, il n'y a pas de thérapie curative, mais seulement une thérapie symptomatique : la kinésithérapie et l'antibiothérapie peuvent atténuer les symptômes, mais pas la cause de la maladie. Lorsqu'il y a des protéines mutées, on peut imaginer qu'il y aura un médicament disponible dans le futur. Dans le cas de mutations d'épissage, la perte de transcrits et de protéines suggérera une thérapie génique ou une thérapie cellulaire.

VI. Le conseil génétique et la mucoviscidose

Lorsque la mucoviscidose est diagnostiquée, en plus de la prise en charge de l'enfant, une prise en charge génétique du couple et de ses proches est également requise (**Munck et al, 2005**). On peut citer différentes situations et dans quelles circonstances un conseil génétique doit être proposé aux familles :

Rappelons que l'incidence de cette maladie à transmission récessive dans notre pays est encore inconnue.

1. Prise en charge des couples à risque de $\frac{1}{4}$

Dans ce cas, les deux parents sont hétérozygotes (porteurs asymptomatiques d'une mutation dans le gène *CFTR*) (Figure 21). Dans la grande majorité des cas, ces couples ont donné naissance à des enfants atteints lors de leur dernière grossesse. Il peut aussi s'agir de couples

dépistés dans des familles à risque (la naissance d'un enfant atteint déclenche la recherche de porteurs chez les proches) ou encore après la détection d'un intestin hyperéchogène lors d'un suivi échographique de grossesse.

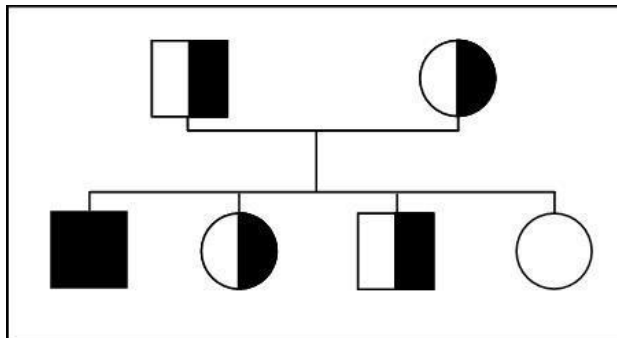


Figure 21 Représentation d'un couple à risque de $\frac{1}{4}$.

Le risque de récurrence à chaque grossesse étant de 25 %, un conseil génétique sera proposé à ces couples. Elles recevront des informations complètes sur la maladie elle-même, le risque de récurrence à chaque grossesse et la possibilité d'un diagnostic prénatal (si elles le souhaitent).

Le diagnostic prénatal peut être réalisé par ponction choroidienne ou amniocentèse.

Si le diagnostic est fait à l'aide de techniques de biologie moléculaire sur l'ADN fœtal, recherchez les mutations *CFTR* identifiées chez les parents.

2. Prise en charge des couples à risque de $\frac{1}{2}$

En Algérie, il n'existe aucune information sur l'incidence de la pathologie ou le taux de porteurs hétérozygotes. En Europe, le tarif porteur est de 1/30.

En raison des progrès de la biologie moléculaire et de la prise en charge de la mucoviscidose, de plus en plus de patients envisagent de se marier, d'envisager des enfants et de rechercher des conseils génétiques.

Les patients atteints de cette pathologie doivent transmettre l'une des deux mutations qu'ils portent, et le risque avant toute recherche en biologie moléculaire est de 1/60 ($1 * 1/30 * 1/2$). Une étude détaillée du gène *CFTR* du conjoint permet de réduire le risque résiduel en excluant 98% à 99% des mutations, ce risque se conjugue donc avec le risque de sélectionner au hasard un couple dans la population générale. Cependant, si le partenaire est hétérozygote, le couple sera à $\frac{1}{2}$ risque (Figure 22).

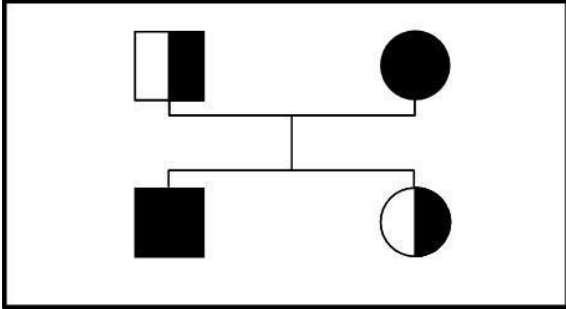


Figure 22 Représentation d'un couple à risque de $\frac{1}{2}$

*Les meilleurs stratégies de
diagnostic et dépistage
néonatal de la mucoviscidose*

La mucoviscidose est une maladie héréditaire autosomique récessive qui peut raccourcir la durée de vie. La maladie est causée par un défaut du gène régulateur de conduction transmembranaire de la mucoviscidose *CFTR*, qui provoque l'accumulation de mucus visqueux dans le pancréas, les poumons et d'autres organes, altérant gravement leur fonction (**Brown et al., 2017**). Aujourd'hui, l'atteinte pulmonaire reste la principale cause de décès et de morbidité chez les patients atteints de la maladie. L'inflammation chronique, due au contrôle et à l'amélioration de la colonisation bactérienne, provoque une dégénérescence progressive de l'épithélium des voies respiratoires du patient et conduit à une insuffisance respiratoire.

En 2014, 70 000 personnes dans le monde étaient touchées par la mucoviscidose PWCF (the true number of people with CF). Cependant, en raison de la sous-déclaration, le nombre réel de personnes atteintes de mucoviscidose peut être plus élevé (**Stephenson et al., 2017**). À l'heure actuelle, il n'existe aucun remède contre la mucoviscidose et l'âge moyen de décès dans les PWCF européens en 2014 était inférieur à 29 ans (**Zolin et al., 2014**). Heureusement, un diagnostic précoce, des soins multidisciplinaires complets pour la mucoviscidose, un soutien nutritionnel, de nouvelles thérapies par inhalation, de nouveaux traitements anti-infectieux et une transplantation pulmonaire ont tous amélioré le taux de survie de la PWCF.

Pour éviter tous ces risques et limiter la progression de la maladie, de nombreux pays ont utilisé des protocoles de diagnostic néonatal pour permettre une détection rapide et une intervention précoce pour soutenir et traiter les maladies respiratoires et nutritionnelles.

Dans la plupart des cas, le diagnostic de la mucoviscidose n'est pas difficile. Cependant, les signes et les symptômes entre les individus peuvent varier considérablement, ce qui encourage la communauté scientifique à améliorer continuellement les tests de diagnostic disponibles et à développer de meilleures méthodes pour le diagnostic final des patients symptomatiques.

De nombreuses stratégies de diagnostic et dépistage néonatal de la maladie de la mucoviscidose sont utilisées et développées ces dernières années. A travers cette étude, nous souhaitons évaluer un ensemble de meilleurs protocoles utilisés pour le diagnostic de la mucoviscidose par le dépistage néonatal dans un groupe de pays européens tel que l'Espagne.

À partir de l'article (Follow-up protocol of patients with cystic fibrosis diagnosed by newborn screening.), nous l'analyser pour révéler les différents protocoles utilisés pour le diagnostic

« Follow-up protocol of patients with cystic fibrosis diagnosed by newborn screening »

Cet article a été publié en 21 mars 2019 par Elsevier España, S.L.U au nom du Asociación Española de Pediatría dans le journal Anales de pediatría .

Contexte de l'étude

Le dépistage néonatal (DNN) de la mucoviscidose est bien établi dans de nombreux pays, offrant une opportunité de diagnostic et de traitement précoces avant que des lésions pulmonaires structurelles irréversibles ne se développent. En 1999, les pays suivants : la Catalogne, la Castille-Leon et les îles Baléares ont lancé le programme DNN pour la mucoviscidose. Au cours des 10 dernières années, sa mise en œuvre s'est rapidement étendue et le programme DNN a accordé toute l'autonomie aux forces de la coalition à partir de 2015. Il existe de nombreuses stratégies différentes dans toute l'Espagne. On pense qu'il est très approprié d'avoir un guide à jour et accepté pour le diagnostic, le suivi et le traitement des patients diagnostiqués avec le dépistage néonatal (DNN).

- **Avantages et risques du dépistage néonatal de la mucoviscidose**

Actuellement, la plupart des professionnels dédiés à la prise en charge des patients atteints de mucoviscidose s'accordent à dire qu'un programme de dépistage néonatal bien conçu implique un rapport bénéfice-risque positif, dont les bénéfices (nutrition, respiration, éradication précoce des micro-organismes, conseil génétique et participation précoce) l'emportent sur les inconvénients (surtout sur l'aspect psychosocial) et est rentable à long terme. (**Sanders et al., 2018 ; Barben et al., 2017**) Afin d'assurer les effets bénéfiques du dépistage néonatal, les patients atteints de mucoviscidose devraient être pris en charge de manière appropriée (le plan de soins standard suivant) au plus tôt après le diagnostic par une unité spécialisée des FC.

En prenant les mesures suivantes pour minimiser le risque de dépistage néonatal (**Castellani et al., 2018**) :

a) Établir un plan de dépistage néonatal qui s'adapte aux caractéristiques de la population (**Castellani et al., 2018 ; Castellani et al., 2009**).

b) communiquer efficacement avec les parents et fournir un soutien tout au long de processus Ils fournissent des informations utiles pour minimiser le temps nécessaire au diagnostic final

lors du diagnostic des patients atteints et des porteurs ou des patients ayant reçu des résultats faussement positifs.

c) Assurer un suivi médical pour les enfants atteints.

I. Divers protocoles en vigueur en Espagne et dans certains pays européens

1. Trypsine immunoréactive

1-1 Définition

Le trypsinogène est un précurseur inactif produit par le pancréas et peut être converti en trypsine. Ce test mesure le niveau de trypsinogène dans le sang.

Généralement, le trypsinogène est produit dans le pancréas et transporté vers l'intestin grêle. Dans l'intestin grêle, il est activé et transformé en trypsine. La trypsine est l'une des enzymes responsables de la décomposition des protéines des aliments en petits morceaux appelés peptides. Sans suffisamment de trypsinogène et de trypsine, une personne ne pourra pas digérer et utiliser correctement les protéines. Tout ce qui empêche le trypsinogène d'atteindre l'intestin grêle entraînera une augmentation du trypsinogène dans le sang.

Chez les personnes atteintes de mucoviscidose (FK), les bouchons muqueux peuvent bloquer le canal pancréatique, empêchant le trypsinogène d'atteindre l'intestin grêle, entraînant une diminution de la respiration. (Jayson, 2020 ; Therrell et al., 2012 ; 2020 ; Weidler et al., 2016 ; Castellani & Massie, 2010).

La trypsine immunoréactive (TIR) est une enzyme pancréatique qui peut aider à diagnostiquer la mucoviscidose chez les nouveau-nés présentant une occlusion intestinale méconiale lorsque le rapport relatif de TIR est supérieur à 99 %. Il a été démontré que le TIR plus le test de la sueur améliore la sensibilité et la spécificité du dépistage.

Dans une étude menée par Steven et al., sur 29 patients présentant une occlusion intestinale méconiale causée par une occlusion intestinale, seuls 2 avaient un rapport TIR relatif normal, supportant un taux de faux négatifs de 7 % ; à l'inspection à 12 jours, le TIR relatif ratio était supérieur au 99e centile. Le niveau IRR ne peut pas être utilisé pour distinguer une occlusion intestinale méconiale simple et complexe.

1-2 Quand se faire tester ?

Dans le cadre d'un test de dépistage néonatal ; parfois lorsque vous présentez des symptômes de pancréatite, tels que des douleurs abdominales sévères persistantes ou intermittentes, des nausées, des vomissements, une faiblesse et une jaunisse.

1-3 Échantillon requis ?

Un échantillon de sang prélevé en perçant le talon d'un bébé et en recueillant quelques gouttes de sang dans un petit tube ou sous forme de tache de sang sur un papier filtre ; un échantillon de sang prélevé dans une veine

1-4 Comment le test est-il utilisé ?

La trypsine immunoréactive (TIR) est utilisé dans certains programmes de dépistage néonatal pour dépister la mucoviscidose. Il peut être utilisé en conjonction avec le test de chlorure de sueur et/ou le panel de mutation du gène de la mucoviscidose pour aider à identifier la mucoviscidose.

1-5 Quand le test est-il demandé ?

Le test peut être effectué peu de temps après la naissance du bébé dans le cadre du dépistage de la fibrose kystique du nouveau-né. Le dépistage de la mucoviscidose est désormais une partie obligatoire du dépistage néonatal dans les 50 États des États-Unis. La trypsine immunoréactive (TIR) est l'un des tests utilisés dans certains États pour dépister la mucoviscidose. (Jayson, 2020 ; Therrell et al., 2012 ; 2020 ; Weidler et al., 2016 ; Castellani & Massie, 2010).

❖ Résultat

Les taux sériques de Trypsine immunoréactive (TIR) sont plus élevés chez les nouveau-nés atteints de mucoviscidose et restent élevés plus longtemps que Les nouveau-nés n'ont pas la maladie.

Le TIR élevée à la naissance n'est pas spécifique à la mucoviscidose, car il existe

Ce sont des nouveau-nés en bonne santé avec une élévation transitoire de cette enzyme. La ville de TIR élevée dans un seul échantillon est considérée comme faible, c'est pourquoi des protocoles ont été développés qui utilisent un test ADN dans le premier échantillon de nouveau-né (TIR + ADN), le protocole le plus utilisé en Espagne, ou qui demande un deuxième échantillon pour répéter la mesure TIR suivie d'un test ADN (TIR + TIR + ADN), ou d'un test de la sueur (Figure 23). Il est important de se rappeler que jusqu'à 30 % des

nouveau-nés atteints d'iléus méconial ont des taux de TIR normaux. La stratégie TIR + TIR n'est mise en œuvre que dans quelques communautés indépendantes.

En Espagne, 3 stratégies différentes sont actuellement utilisées : TIR + TIR et TIR + TIR + ADN et TIR + ADN + TIR.

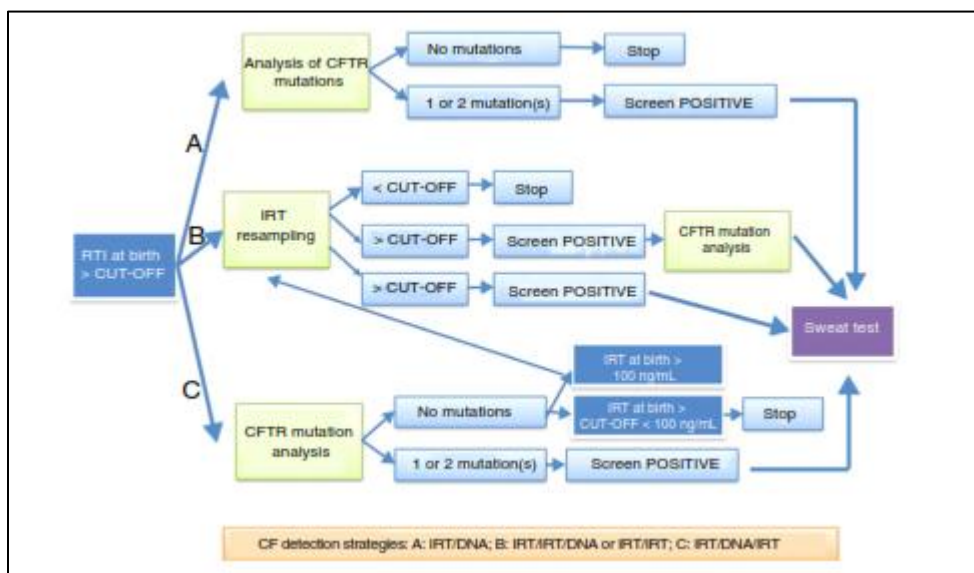


Figure 23 Protocoles de diagnostic de la mucoviscidose par le dépistage néonatal proposés par les lignes directrices européennes sur les meilleures pratiques pour le dépistage néonatal de la mucoviscidose 7 appliqués en Espagne.

2. Tests génétiques pour la mucoviscidose

Dépistage génétique de la mucoviscidose néonatale

Toutes les procédures de dépistage génétique du nouveau-né décrites dans la littérature commencent par un test IRT (non génétique) sur sang total. Par conséquent, seuls les nouveau-nés avec un IRT très élevé peuvent recevoir des tests génétiques. Certaines mutations sont liées à la forme bénigne (expression variable) de la maladie, notamment la fonction résiduelle de la protéine CFTR. Des gènes modificateurs d'effet ont été identifiés, mais leur rôle est encore mal compris. En particulier, le génotype ne peut pas prédire de manière fiable la fonction pulmonaire ultérieure, car même chez les patients présentant la même mutation (comme la mutation *F508del*), ce changement est important. Les facteurs environnementaux, tels que le tabagisme ou le niveau socio-économique, peuvent également affecter la gravité des lésions pulmonaires.

Actuellement, l'analyse génétique initialement prescrite comprend la recherche des 20 à 90 mutations les plus courantes du gène *CFTR*. En Californie, le programme de dépistage néonatal comprend un troisième test (après IRT et test génétique, limité à 87 mutations) basé sur un séquençage ciblé du gène *CFTR* et une détection de délétion lorsqu'une seule mutation est identifiée par le test, dont 87. (**Kammesheidt et al., 2006**) Ce programme a pour effet de réduire le nombre de cas de test de la sueur. De même, les Pays-Bas explorent le dépistage par IRT, qui est un test génétique de mutations fréquentes, et une analyse complète du gène *CFTR* pourrait être suivie afin de limiter la détection de porteurs sains. (**van den Akker-van Marle et al., 2006**)

Les tests génétiques font partie de la plupart des protocoles de dépistage néonatal de la mucoviscidose et sont effectués sur des échantillons dont les niveaux de TIR dépassent un seuil spécifié. Dans chaque population, le protocole appliqué doit être adapté à son propre spectre de mutation.

❖ Résultats

Il y a 4 résultats possibles des tests génétiques chez les nouveau-nés Hauteur TIR :

a) Si le test détecte deux mutations qui causent la mucoviscidose, le nouveau-né doit subir un test de sueur et une analyse de ségrégation de l'ADN doit être effectuée pour s'assurer que chaque mutation provient d'un parent différent.

b) Si une seule mutation survient, un test de la sueur doit être effectué.

Si les résultats du test de la sueur ne sont pas concluants, les tests génétiques doivent être étendus pour tenter d'identifier la deuxième mutation.

Si le résultat du test de sueur est négatif, le nouveau-né est considéré comme porteur.

c) Les cas dans lesquels il n'y a pas de mutation normale et le test de la sueur est considéré comme faux positif pour le dépistage.

Un autre groupe comprend les nouveau-nés pour lesquels un diagnostic définitif ne peut être posé, même avec l'utilisation de tests supplémentaires, pour lesquels le groupe de travail sur la mucoviscidose de la Société européenne de la mucoviscidose a proposé la désignation de dépistage de la mucoviscidose positif et non concluant (CFSPID).

Ce groupe comprend :

a) Nouveau-nés avec une mutation CF dans un seul allèle et valeurs médianes de chlorure de sueur (30 - 59 mmol/L).

b) Nouveau-nés avec une mutation *CFTR* dans chaque allèle, dont seulement 1 a été classé comme causant la mucoviscidose, et des valeurs de chlorure de sueur normales (<30 mmol/L).

Ce groupe de patients nécessite un suivi constant, la mucoviscidose étant diagnostiquée dans certains cas à un âge plus avancé en raison de l'apparition des symptômes avec des niveaux élevés de chlorure de sueur.

3. Le test de la sueur

Le test de la sueur est la pierre angulaire du diagnostic de la mucoviscidose. Les nouveau-nés dont le test de dépistage de la fibrose kystique néonatale est positif doivent être spécifiquement orientés vers une unité spécialisée agréée en fibrose kystique pour un test de sueur.

Le test de la sueur est divisé en 3 étapes :

(1) La stimulation de l'iontophorèse de la pilocarpine.

(2) Échantillonnage dans les 30 minutes en utilisant l'une des méthodes suivantes : Système d'échantillonnage Macroduct ou la méthode originale de Gibson et Cooke (collectée dans du papier filtre ou de la gaze pré-pesé). L'échantillon doit avoir un volume d'au moins 15 L (Macroduct) ou un poids d'au moins 75 mg (gaze).

(3) Détermination du chlore par titrage coulométrique avec un chloremètre

Le diagnostic ne peut être confirmé sur la seule base des mesures de conductivité de la sueur obtenues par le système de nanocathéter ou d'inspection de la sueur (macrocathéter). Les échantillons doivent être analysés immédiatement après le prélèvement. Si le chlorure est inférieur à 30 mmol/L, le résultat de la concentration du test est classé comme « normal » ; s'il est compris entre 30 et 59 mmol/L, il est « intermédiaire », s'il est de 60 mmol/L ou plus, il est "positif". Les patients avec 12 médianes persistantes doivent subir une évaluation diagnostique, y compris un ADN étendu et la répétition du rendez-vous du test de la sueur à 6 mois. (**Clinical Laboratory Standards Institute, 2000**)

❖ **Résultats du sondage sur le test de la sueur du CRCM 2018**

Une enquête en ligne qui a envoyé un questionnaire à un binôme d'opérateurs de TS et de pédiatres en charge des DNN (23 réponses/31 CRCM (75 %)) au CRCM a montré que le principal critère d'exclusion de la mise en place de TS est l'insuffisance pondérale du bébé (90%). Les informations antérieures sur le TS étaient systématiquement envoyées aux parents (91 % à l'oral et 9 % à l'oral et à l'écrit). La collecte de la sueur est principalement réalisée par les collecteurs Macroduct® (74%). Le diagnostic de VM a été posé après TS au moins deux fois dans 91 % des CRCM. Quatre-vingt-onze pour cent des centres avaient des ions Cl mesurés par méthode coulométrique (80 %), potentiométrie directe (10 %) ou titrage (10 %). Un seul centre mesurait uniquement la conductivité de la sueur. Le taux de participation au programme de contrôle qualité externe est de 90 % (le programme Asqualab est de 85 %).

Le tableau 2 montre des résultats qui montrent un bon suivi des recommandations nationales et internationales pour la réalisation et l'interprétation du TS (Rota et al., 2008 ; Nguyen-Khoa et al., 2012 ; Massie et al., 2017 ; Farrell et al., 2017). Ils contrastent avec les résultats d'une enquête menée en Europe par l'ECFS auprès de 136 centres de soins de VM ou laboratoires (Cirilli et al., 2018). Le TS était réalisé avec un recueil de sueur par Macroduct® A. Munck et al. Dans 56% des sites, les ions chlorures 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.

Tableau 2 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 1,5mA	Macroduct™ Forme ronde	Pré-analytique : transfert de l'échantillon de sueur en tube PCR capuchonné de 200 uL
Advanced Macroduct™ Wescor, ELITech	3710 Sweat inducer M Pilogel® (Pilocarpine 0,5 %) 5 min à 1,5 mA	Advanced Macroduct™ Forme ovale	Analytique : dosage des ions chlorures par coulométrie avec un Chloruremètre : 926S Sherwood (Servilab) ou Chlorocheck™ (Wescor, ELITech) Résultat exprimé en mmol/L CF
Exsudose™ TEM Sega	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
	Pilocarpine 2 %	Cellule Nanoduct™	Exsudose™ (TEM Sega) Résultat exprimé en mmol/L CF

Nanoduct'M Wescor, ELITech	2,5 min à 0,5 mA		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
-------------------------------	------------------	--	---

4. Le conseil génétique

Base de données des mutations *CFTR*

À ce jour, plus de 2000 mutations du gène *CFTR* (ou variantes, synonymes) ont été identifiées. Ces mutations sont liées à la mucoviscidose et ont des effets différents sur l'expression des gènes ou protéines *CFTR* (**Rowe et al., 2005**). Dans la base de données spécifique au locus *CFTR*, ces mutations sont classées en fonction des résultats phénotypiques (**Castellani et al., 2008**). Deux mutations liées à MV en transe (chaque allèle porte une mutation), chaque mutation est transmise par les parents, et/ou TS 60 mmol/L conduit au diagnostic de MV (**Farrell et al., 2017**). Les mutations *CFTR*-RD (maladies liées au *CFTR*) sont les formes transe de mutations associées à la VM et sont associées à un phénotype modéré qui présente généralement un symptôme unique et une apparition retardée. Il existe également des variantes neutres ou bénignes et des variantes dont la signification clinique est incertaine ou inconnue.

❖ Résultats

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

En 2018, ils ont envoyé un questionnaire en ligne à tous les généticiens, consultants en génétique et pédiatres responsables du DNN du CRCM. 19 des 31 (61%) centres ont répondu, considérant parfois que la formulation de la question est un peu difficile, mais elle n'est pas toujours incluse.

Néanmoins, les recommandations du PNDS (**Goodfield et al., 1994**) sont généralement très bien suivies. 75 % des cas bénéficient d'un conseil génétique dans les 15 à 60 jours suivant la naissance pour respecter la volonté des parents et prendre des rendez-vous rapides si la famille reste enceinte. Les recommandations du conseil génétique peuvent être approfondies et justifier l'élaboration de documents écrits standardisés, notamment pour la transmission d'informations aux proches. Les informations fournies par certains laboratoires

sur l'utilisation possible du diagnostic prénatal non invasif sur les parents d'enfants malades devraient être largement diffusées.

Le besoin de conseil génétique ne semble pas pleinement satisfait. En termes d'explication, la communication doit être améliorée et le rapport doit inclure spécifiquement la formulation du diagnostic. Les déclarations des cliniciens dans le registre des enfants porteurs de variantes R117H ou T5 sont encore hétérogènes et ne dépendent pas toujours des résultats des tests de la sueur. Un autre problème de manque de coordination concerne la prise en charge des parents sains et des couples avec bébés en laboratoire. Les recherches sur les parents non porteurs de mutations peuvent être limitées à des mutations fréquentes ou complétées. La discussion se poursuit 170 au sein du réseau de laboratoires.

5. Les tests auxiliaires microbiologiques

5-1 Définition

C'est l'ensemble des réactifs nécessaires en microbiologie pour la croissance de germe

5-2 Les étapes de ce teste

Il existe plusieurs étapes pour identification d'un games

- l'observation directe à l'état frais et après coloration
- la mise en culture avec incubation
- l'isolement et identification des colonies
- l'étude de la sensibilité aux antibiotiques permet l'identification et la détermination de la CMI

Coloration ce fait par Gram + et Gram- pour les bactéries

6. La tomодensitométrie

6-1 Définition

Thoracique est l'étalon-or parmi les tests pour la détection précoce des anomalies initiales malformation

6-2 Les cas des patients

La bronchectasie peut être trouvé chez jusqu'à 50% des patient atteints de la mucoviscidose

Avant âge de 5ans .34.35 le protocole et pour l'évaluation de FC doit inclure des vues

7. Rendez-vous pour rapporter les résultats du dépistage néonatal

Le dépistage néonatal entraîne divers degrés d'anxiété chez les parents.

Par conséquent, il est recommandé de rapporter les résultats dès que possible, de préférence le même jour que le test. Si un nouveau-né est atteint de mucoviscidose, les parents seront informés de tous les tests effectués pour diagnostiquer la maladie, ainsi que des résultats encourageants des nouveaux traitements et des recherches approfondies actuellement en cours, et ils peuvent désormais avoir une vision optimiste de la maladie. .

A la fin de l'entretien, si le nouveau-né n'est pas atteint, les parents recevront un rapport indiquant que l'enfant n'a pas la mucoviscidose ou que l'enfant est porteur, et fourniront un conseil génétique aux parents.(Smyth et al., 2014)

II. Premier rendez-vous avec un nouveau-né mucoviscidosique

Le diagnostic de la mucoviscidose par un test de dépistage néonatal vient comme une surprise pour les parents, car dans la plupart des cas, le nouveau-né ne présente aucun symptôme. Pour cette raison, le psychoso-l 'impact social sur la famille du nouveau diagnostic doit être géré avec soin (**Borowitz et al., 2009**)

Les aspects les plus importants à traiter sont :

- Donner un aperçu de la maladie.
- Introduire le concept d'« équipe d'infirmières ».
- Gérer les attentes de la famille.
- Fournir un soutien psychologique.

L'un des principaux objectifs de l'entretien est de fournir des informations de base avec une attitude positive, une attitude sensible et compréhensive et l'utilisation d'un langage simple. (**Sermet-Gaudelus et al., 2010**)

III. La prise en charge du nouveau-né diagnostiqué par le dépistage néonatal

Le dépistage néonatal systématique permet la prise en charge du nouveau -né dans un centre de soins spécialisé dès le diagnostic de mucoviscidose. En l'absence de, symptôme la prise en charge vise à accompagner les parents face à l'annonce du diagnostic et à prévenir ou

retarder la survenue des manifestations cliniques de la mucoviscidose par un suivi régulier. Lorsqu'ils sont présents, les signes cliniques orientent la prise en charge vers les traitements classiques de la mucoviscidose. Les modalités de prise en charge des formes asymptomatiques et/ou a priori modérées de la maladie ne sont pas consensuelles

IV. Prise en charge initiale du nourrisson atteint de mucoviscidose

1. Gastro-intestinal

Un suivi par un gastro-entérologue pédiatrique est recommandé. Réparé, avec des visites toutes les 2 premières semaines immédiatement après le Diagnostic pour assurer une nutrition adéquate et faire un sujet chaque mois pendant les 3 premiers mois. Si le patient est en bonne condition, les visites ultérieures peuvent avoir lieu à 2 à 3 mois intervalles.

1-1 Nutrition

La fréquence de la dénutrition est importante dans la mucoviscidose, quel que soit le stade évolutif, et varie selon les études de 15 à 44 % des patients. La dénutrition est due à la fois à la réduction des intakes (régimes trop restrictifs, troubles du comportement alimentaire) et à l'augmentation des pertes (insuffisance pancréatique, insuffisance intestinale et augmentation de la dépense énergétique de repos). Même s'il n'existe pas sur le sujet d'études prospectives contrôlées de grande ampleur, il semble que la dénutrition aggrave fortement la maladie. Pour ces raisons, il faut réaliser une évaluation de l'état nutritionnel dès le dépistage, puis à intervalles réguliers, par évaluation des paramètres cliniques, estimation de la balance énergétique, évaluation des principaux paramètres plasmatiques et étude du statut minéral osseux (**Munck, 2010**)

Les rapports énergétiques légèrement supérieurs aux apports journaliers recommandés (AJR), de l'ordre de 100 à 110 %, ce qui est habituellement d'un état nutritionnel normal. Et de l'ordre de 120 à 150 % des AJR sont souvent inutiles ou difficiles à atteindre par voie orale. Pour maintenir une bonne croissance la majorité de patients nécessite moins de 120 % des AJR et seule une minorité a besoin de plus de 120 %, voire plus de 150 %. Pour assurer des apports énergétiques supérieurs aux AJR, Il faut orienter précocement les habitudes alimentaires et le goût de l'enfant vers des produits à haute valeur énergétique (produits laitiers, fromages et sucres lents). L'intérêt des compléments hyper énergétiques en l'absence de dénutrition n'est pas démontré. L'intervention d'un diététicien est indispensable et doit être précoce et régulière. (**Schindler et al., 2015**)

Pour prendre en charge l'insuffisance pancréatique exocrine (qui entraîne une malabsorption des lipides, mais aussi des glucides et des vitamines liposolubles), on utilise des extraits pancréatiques gastro-résistants qui doivent être pris au début de chaque repas. Les doses recommandées sont exprimées en unités (UL), elles varient selon l'âge du patient et adaptées à chaque cas. Pour une alimentation normale, elles sont chez le nourrisson de 2 000 à 4 000 UL pour 120 ml de lait, chez l'enfant de 1 000 UL/kg/repas ou de 500 UL/kg/collation, sans dépasser 100 000 UL/j, et chez l'adolescent et adulte de 250 000 UL/jour maximum.

1-2 Pancréas et fonctions hépatiques

Au début de la période néonatale, les bébés atteints de mucoviscidose peuvent présenter une carence en vitamines et en IP.

Si les manifestations cliniques suggèrent un IP ou la présence de deux mutations liées aux IP, le patient doit recevoir un traitement enzymatique substitutif pancréatique et une supplémentation vitaminique. Bien que le traitement ne doive pas être retardé inutilement, il est préférable de les prendre. Résultats du test d'élastase des selles avant le début du traitement.

Une variété de préparations enzymatiques sont actuellement disponibles. La pancréatine doit être prise à chaque repas.

Il est recommandé d'utiliser de l'eau ou des aliments acides comme de la compote de pommes ou de la sauce pour éviter que les billes ne s'ouvrent prématurément (**Borowitz et al., 2013**). Tous les nourrissons recevant des vitamines IP (**Turck et al., 2016**) nécessitent une supplémentation régulière en vitamines liposolubles (A, D, E et dans une moindre mesure K), et peuvent être nécessaires pour un traitement antibiotique ultérieur à long terme ; si une carence est détectée, une petite quantité est également requise (fer, zinc, sélénium, magnésium). Ces patients peuvent présenter des lésions hépatiques hétérogènes. Il est important de se rappeler de compléter le chlorure de sodium par temps chaud. (Tableau 3)

Tableau 3 Doses recommandées® de vitamines et minéraux liposolubles chez les nourrissons de moins de 1 an présentant une insuffisance pancréatique.

Recommended daily dose	Monitoring	Precautions
------------------------	------------	-------------

Vitamin A	1500 IU	Serum value/RBP 0.8--2.0 Normal beta carotene levels	Precaution in patients with renal insufficiency, osteopenia, liver disease
Vitamin E	40---50 IU	Serum vitamin E >30 mcg/mL Vitamin E/total lipids: >0.8 mg/g	May exacerbate coagulopathy secondary to vitamin K deficiency
Vitamin D	400---800 IU	25-OH vitamin D > 30 ng/ml	Abnormally low levels in Patients with pancreatic sufficiency
Vitamin K	0.3---1 mg	PIVKA-II < 2 ng/mL	Dosage not established. Recommend especially in case of cholestasis, liver disease, intestinal resection, antibiotherapy, haemoptysis, osteopenia
Sodium chloride	2 mEq/kg		Consider in all patients (with or without pancreatic insufficiency). Increase dose in case of hot weather, intense exercise or fluid loss (fever, ileostomy, diarrhoea)

2. Gestion respiratoire

2-1 Définition

C'est une méthode pour améliorer la clairance mucociliaire les sécrétions déshydratées de ces patient, donnant lieu à un cercle vicieux l'infection pulmonaire chronique, qui existe une initiation précoce horacique

2-2 Les techniques

Il existe certaine technique de physiothérapie appliquées dans le patient groupe diatrique

Les preuves actuellement disponible pour déterminer et choisir quelle méthode est la meilleure

- La percussion
- Le drainage postural
- Compression thoracique à haute fréquence

2-3 Quelle est le traitement ?

Le traitement de cette technique par la DNase humaine limité la viscosité du mucus et facilite la clairance mucociliaire

2-4 Cas de malade :

Chez les enfants de plus de 6 ans, administrer 2.5ml /jour sous forme nébulisée

Chez les jeunes enfant, le traitement ne sera pris en compte dans certains cas

Par la solution saline hypertonique 7% à un effet osmotique

Chez les patients âgés de plus de 6 ans était trouvé efficace pour améliorer la fonction pulmonaire et la pulmonaire exacerbation ((SFP), 2002).

2-5 Des autres techniques

Bronchodilatateurs

Il n y a pas assez de preuves de l'intérêt des bronchodilatateurs dans la mucoviscidose, le anticholinergique ne sont pas délétère peuvent être utilisés les beta-2-mimétiques lors des périodes d'exacerbations au longe coure

Corticothérapie

Indiquée en cas d'absence d'amélioration au 14^e jour d'une cure d'antibiotirapieprescrite dans le cadre d'une exacerbation .elle doit être de courte durée il ne faut pas dépasser 2 semaines en raison des effets délétère

3. Traitement du défaut sous-jacent de la protéine CFTR

Il existe actuellement des traitements pour les défauts sous-jacents qui causent la maladie. Ces nouvelles thérapies sont conçues pour utiliser des composés qui agissent sur les protéines pour améliorer la fonction du CFTR.Ces composés peuvent être des correcteurs (Classe II) ou des potentialisateurs (Classes III et IV). L'ivacaftor (Kalydeco®) est un activateur qui s'est avéré efficace (amélioration de la fonction pulmonaire et de l'indice de masse corporelle, ainsi que réduction de la concentration de chlorure dans la sueur et du nombre de détériorations jusqu'à 52 %) et de la sécurité pour les patients porteurs de mutations III (**Ramsey et al., 2011**). La posologie est d'un comprimé de 150 mg pris toutes les 12 heures, ingéré avec des aliments gras. En Espagne, son utilisation commence à l'âge de 6 ans, et aux États-Unis à partir de 12 mois.

L'association du correcteur CFTR et de l'amplificateur CFTR, lumacaftor + ivacaftor (Orkambi®) est une nouvelle stratégie de traitement pour les patients homozygotes pour la mutation *F508del* (classe II) qui améliore la fonction pulmonaire, la fréquence des exacerbations et la qualité de vie (**Konstan et al., 2017**). la dose consiste en 2 comprimés toutes les 12 heures. Son utilisation est autorisée depuis 2 ans aux États-Unis, mais n'est pas encore disponible en Espagne.

4. Suivi du nouveau-né avec un diagnostic de mucoviscidose grâce au dépistage néonatal

4-1 L'importance du diagnostic précoce de la mucoviscidose

Le dépistage néonatal de la mucoviscidose (DNN) est effectué le premier jour après la naissance. En diagnostiquant tôt la mucoviscidose, les professionnels de la santé peuvent aider les parents à comprendre les moyens de garder leurs enfants en aussi bonne santé que possible et de retarder ou de prévenir les problèmes de santé graves et permanents associés à la mucoviscidose.

Des études ont montré que les enfants qui reçoivent des soins de FK tôt dans leur vie sont mieux nourris et en meilleure santé que ceux qui reçoivent un diagnostic plus tard. Un diagnostic et un traitement précoces peuvent :

- Améliorer la croissance
- Aide à garder les poumons en bonne santé
- Réduire le séjour à l'hôpital
- Ajouter des années à la vie

4-2 Visites programmées et évaluation annuelle

Le tableau 8 montre le calendrier de visites de routine recommandé pour les patients asymptomatiques ou cliniquement stables, bien qu'en pratique, il doit être individualisé en fonction des symptômes et des besoins de la famille. (**Borowitz et al., 2009**)

Si quelque chose se produit ou s'il y a un problème, la famille doit pouvoir contacter l'équipe médicale et se familiariser avec le plan de traitement. Si les symptômes changent, suggérant que les poumons s'aggravent, l'équipe médicale doit promouvoir l'entraînement

respiratoire et déterminer si un traitement antibiotique empirique est nécessaire. (**Garcia & Martinez, 2012**)

5. Tests de diagnostic auxiliaires

Si des complications ou une détérioration pulmonaires modérées à sévères sont suspectées, une radiographie pulmonaire est actuellement recommandée.

La tomodensitométrie (Computed tomography) (CT) thoracique est le gold standard pour la détection précoce des anomalies initiales (rétention d'air, bronchectasie) et de leur évolution, car elle est plus sensible que la radiographie pulmonaire.

Jusqu'à 50 % des patients atteints de mucoviscidose présentent une bronchectasie avant l'âge de 5 ans. (**Tiddens & Rosenow, 2014**) ; (**Long et al., 2005**) Le protocole de (CT) utilisé pour évaluer la mucoviscidose devrait inclure des vues inspiratoires et expiratoires avec faible dose de rayonnements. La plupart des hôpitaux commencent les tomodensitogrammes de routine à l'âge de 2 ans (sans anesthésie), puis tous les 2 ans lors de l'évaluation annuelle, tandis que d'autres hôpitaux effectuent la tomodensitométrie initiale lors de l'évaluation annuelle. 4 à 5 ans et contrôles de suivi moins fréquents.

5-1 Fonction pulmonaire dans la petite enfance

la technique la plus couramment utilisée pour évaluer la fonction pulmonaire c'est la spirométrie. Le volume expiratoire forcé en 1 seconde (The forced expiratory volume in 1) (VEMS1) peut être utilisé pour déterminer s'il y a détérioration et réponse au traitement. Cependant, il existe des preuves que même avec des anomalies structurelles, la fonction pulmonaire 1 chez les enfants d'âge préscolaire peut être normale.

6. Indice de clairance pulmonaire

Les premières anomalies pulmonaires de la mucoviscidose apparaissent dans les voies aériennes périphériques. Au début, cette atteinte était initialement subclinique, et parce que ces petites voies respiratoires (PVA) étaient relativement ignorées par les tests de fonction respiratoire traditionnels, elles se développaient tranquillement.

La méthode de rinçage au gaz inerte peut fournir un indice de clairance pulmonaire (PCI), qui est non invasif et plus abordable que les autres techniques de recherche de PVA. L'ICP est reproductible et la sensibilité aux lésions PVA est significativement plus élevée que l'indice de spirométrie. Ce test nécessite un investissement important de la part de l'opérateur.

La récente commercialisation d'appareils de mesure de l'ICP a montré son application dans le domaine clinique. Cependant, la valeur ICP dépend du matériel utilisé, ce qui soulève de nombreuses questions théoriques. L'algorithme spécifique devrait être amélioré et plus transparent. La standardisation des examens doit être améliorée. D'autres indices du test méritent une étude plus approfondie.

en conclusion L'ICP a une place dans la recherche pour la détection précoce des anomalies fonctionnelles pulmonaires dans la mucoviscidose et pour évaluer l'efficacité de nouveaux traitements, en particulier chez les patients ayant une fonction pulmonaire préservée. Son intérêt pour la pratique clinique semble probable, mais il reste à préciser. **(Kieninger et al., 2017) ; (Kent et al., 2014) ; (Subbarao et al., 2015)**

V. Le diagnostic et dépistage de la mucoviscidose

Était basé principalement sur la mesure du chlore dans la sueur et sur les caractéristiques cliniques telles que des problèmes respiratoires récurrents, un iléus méconium, un retard statur pondéral et des diarrhées graisseuses **(Gibson et al., 2003)**.

Le dépistage de la mucoviscidose se fait de différentes manières, avec différentes techniques:

1. Le diagnostic anténatal

Il est effectué dans le cadre d'un conseil génétique pour les couples. Si l'enfant est diagnostiqué positif, souffrant de la mucoviscidose donc la grossesse peut être envisagée. Chez les couples hétérozygotes, fait l'analyse de l'ADN du fœtus par biopsie de villosité chorale peut être réalisée de façon fiable (12 ou 13 semaine) d'aménorrhée. Un dosage des isoenzymes de la phosphatase alcaline dans le liquide amniotique peut être réalisé **(Roussey et al., 2000 ; Flori & Doray, 2007)**.

2. Le diagnostic néonatal

Actuellement, dans deux tiers des cas, le diagnostic de cette maladie se fait avant l'âge d'un an. La technique trypsine immunoréactive (TIR) est la meilleure technique pour un dépistage néonatal **(Heeley & Bangert, 1992 ; Grosskopf et al., 2003 ; Deneuille & Roussey, 2007)**. À la recherche des 30 mutations du gène *CFTR* les plus fréquemment observées chez les personnes atteintes de mucoviscidose. Cette succession de tests TIR permet de diagnostiquer environ 70% des enfants atteints de mucoviscidose. Cependant, cette méthode ne permet pas de détecter toutes les mutations du gène *CFTR*. Il y a d'autres examens doivent être réalisés, le test de la sueur (TS) **(Durieu & Josserand, 2008)**.

3. Le test de la sueur

Les glandes sudoripares, responsables de la production de la sueur, augmentent des sécrétions d'ions Na⁺, K⁺ et Cl⁻. Ce test de salinité a une forte valeur prédictive de la mucoviscidose. Il est largement utilisé pour diagnostiquer la maladie et confirmer une suspicion clinique. **(Gibson & Cooke, 1959 ; Marchand et al., 1998 ; Mishra et al., 2005)**. Ce test est sensible, positif chez plus de 90 % des cas de mucoviscidose.

VII. Les études précliniques et cliniques

1. Les modèles animaux

Utiliser des modèles animaux pour étudier et aborder les mécanismes physiopathologiques de la maladie, ainsi que nous permettre d'identifier les gènes et les facteurs environnementaux qui modifient l'sévérité du phénotype, et aussi l'expérimentation de nouvelles stratégies pharmacologiques pour modifier la gravité de la maladie avec l'étude de protocoles de traitement génique pour corriger le transport d'ions **(Grubb & boucher, 1999)**. Modèle de souris CF.

- **Exemple de modèle murin CF**

Au début de 1992 La mutation *F508del-CFTR*, à peine trois ans après la découverte du gène *CFTR*, le premier modèle de souris transgénique a été créé grâce au ciblage génique : des souris (Knock-out) pour *CFTR* **(Clarke et al., 1992 ; Snouwaert et al., 1992)**. Ils existent à l'état homozygote et sont de nombreux symptômes courants chez les jeunes patients : infertilité, obstruction intestinale méconium, modifications du mucus et des gonades séreuses et obstruction de la structure des glandes. Habituellement, les souris KO-*CFTR* meurent après 3-4 semaines en raison d'une grave obstruction intestinale. Ces souris n'ont pas d'inflammation chronique ni d'infections pulmonaires **(Dif et al., 2004 ; Haston et al., 2008)**. Ces souris ont également montré une diminution des taux plasmatiques d'IGF1 et d'ostéocalcine. L'équipe de Haworth a également trouvé toutes ces observations chez des patients atteints de fibrose kystique **(Haworth et al., 2000)**.

Le modèle de souris KO-*CFTR* a été produit dans différentes souches : BALB **(Dif et al., 2004 ; Haston et al., 2008)** et C57BL / 6 **(Pashuck et al., 2009)**. Selon la souche de la souris, il existe un phénotype CF plus ou moins évident.

Par la suite, plusieurs modèles de souris transgéniques ont été décrits, Il en résulte aucune expression de *CFTR* (souris KO) ou de gènes mutants *CFTR* (par exemple : souris *F508del-*

CFTR). Ces modèles animaux présentent des similitudes avec les maladies humaines, mais ils sont également différents des maladies humaines : par conséquent, la plupart des modèles animaux sont similaires aux humains en termes de transport d'ions et de symptômes du système digestif, mais ne présentent pas les caractéristiques des patients atteints de mucoviscidose humaine. Maladie pulmonaire, et les dommages au système digestif leur sont généralement fatals (**Grubb & Boucher, 1999**).

Afin d'éviter ce manque de respiration, des modèles de souris avec une sensibilité différente à certains pathogènes respiratoires ont été établis, ce qui peut prouver que les souris dépourvues de *CFTR* ont une sensibilité accrue à ces pathogènes (**Stotland et al., 2000**).

Création d'un autre modèle : souris *F508del-CFTR*. L'équipe de Scholte B et al. Ce modèle a été produit en 1995 (**van Doorninck et al., 1995**). Ces souris présentaient un phénotype typique de la mucoviscidose : perte de poids, maladie intestinale entraînant une obstruction intestinale et non mortelle, et diminution de la densité minérale osseuse (**Paradis et al., 2010**). En revanche, bien que le canal *F508del-CFTR* ait des fonctions électrophysiologiques CF, aucune accumulation de mucus n'a été observée dans les poumons, le pancréas, les voies biliaires, les glandes salivaires ou le canal déférent.

Evidemment, la protéine *F508del-CFTR* restera active : le niveau d'ARNm est normal, leur maturation est anormale et ils ne peuvent pas être efficacement transportés vers la membrane, et l'activité du canal semble être normale (**French et al., 1996**).

Après 15 ans de recherche sur des modèles animaux, étudié la physiopathologie de l'atteinte pulmonaire dans la mucoviscidose, (**Mall et al., 2004**). En 2004, un nouveau modèle de souris a été décrit qui présentait un phénotype respiratoire très similaire à la mucoviscidose humaine. Pour créer ce modèle, ils se sont appuyés sur la surexpression des canaux ioniques sodium (ENaC contrôlé par *CFTR*) plutôt que sur l'absence de *CFTR* (**Mall et al., 2004**). Leur modèle a montré des changements dans la clairance mucociliaire, conduisant à une inflammation bronchique, survenue avant l'infection chronique.

4. Les études cliniques : Traitement de la mucoviscidose

Jusqu'à présent, les scientifiques n'ont pas été en mesure de découvrir un traitement définitif pour la mucoviscidose, bien que des traitements aient été trouvés pour les symptômes qui améliorent la progression de la maladie. Mais le patient doit adhérer à de tels traitements tout au long de sa vie. L'espérance de vie moyenne des patients atteints de mucoviscidose a

augmenté rapidement, puisqu'elle était estimée à seulement 3 ans, pour atteindre 46 ans en 2008. (MacKenzie et al., 2014)

2-1 Prise en charge de l'atteinte digestive

a. Prise en charge nutritionnelle

En raison d'une consommation réduite et d'une perte accrue, la dénutrition est observée dans la mucoviscidose. La diminution de l'apport est un facteur secondaire au PE et à l'anorexie, et ce dernier est exacerbée par la congestion, les douleurs abdominales et la prise de médicaments. Une perte accrue est secondaire à une inflammation et à une augmentation du travail musculaire. Au fur et à mesure que la maladie progresse, un soutien nutritionnel pour augmenter l'apport est le plus souvent nécessaire.

b. Insuffisance pancréatique exocrine

L'IPE touche 85 à 90% des patients et nécessite une administration orale d'extraits pancréatiques, tels que la pancréatine (Creon®), à chaque repas, et des ajustements sont effectués en fonction des repas et des symptômes du système digestif.

c. Supplément vitaminique

L'IPE est lié à la malabsorption des vitamines liposolubles (A, D, E, K) et manque également de vitamine B12 et de zinc. Le soutien nutritionnel est très important, Ensuite, le patient reçoit des compléments vitaminiques et d'oligo-éléments pour compenser ces pertes (Hubert, 2003).

2-2 prise en charge de l'atteinte pulmonaire

La majorité des patients atteints de mucoviscidose meurent encore d'une insuffisance pulmonaire, bien que l'espérance de vie se soit améliorée. Le ralentissement du processus de lésion pulmonaire est le principal facteur de contrôle de la mucoviscidose. Il existe divers traitements reçus dans ce contexte qui affectent différentes composantes de la maladie. Ils se divisent en deux catégories :

A – Amélioration de la clairance mucociliaire

Lorsqu'il y a une altération dans la clairance mucociliaire, une infection se développe qui conduit à la destruction du parenchyme pulmonaire. Lors du diagnostic de la maladie, la kinésithérapie respiratoire est systématique, même en l'absence de symptôme. Les patients peuvent également recevoir des médicaments mucolytiques pour réduire les sécrétions. Un aérosol de désoxyribonucléase humaine recombinante (rhDNase ou dornase alpha ou

Pulmzyme®) produit de l'ADN extrait de cellules polynucléaires et de bactéries en quantités particulièrement importantes qui peuvent se hydrolyser au site inflammatoire. Ce traitement réduit la viscosité du mucus pulmonaire, entraînant une amélioration de la fonction pulmonaire, Cela peut également prévenir la pneumonie (**Quan et al., 2001**). L'inhalation de la solution saline hypertonique augmente l'hydratation du mucus et améliore la clairance muqueuse (**Wills et al., 1997**).

B- Antibiothérapie

Dès l'apparition d'une exacerbation pulmonaire, une antibiothérapie doit être instaurée et des examens cyto bactériologiques des crachats (ECBC) sont systématiquement réalisés.

Avec lui, les germes peuvent être isolés et leur sensibilité aux antibiotiques peut être évaluée pour commencer une antibiothérapie ciblant les germes. Dans l'infection initiale à *Pseudomonas aeruginosa*, l'intervention pour la primocolonisation primaire se fait soit par une antibiothérapie orale et inhalée, soit par voie veineuse selon les signes cliniques. Il a été prouvé qu'un traitement précoce avec des antibiotiques peut éliminer l'agent pathogène de l'organisme et retarder la colonisation chronique (**Taccetti et al., 2005**).

En plus des différents traitements mentionnés précédemment qui visent à améliorer diverses fonctions vitales chez les patients atteints de mucoviscidose, il existe d'autres traitements qui visent à améliorer la fonction du canal CFTR, après identification du gène *CFTR*, par thérapie génique ou thérapie protéique.

5. La thérapie génique

La mucoviscidose ne possède qu'un seul gène, ce qui signifie qu'elle est mono génique. Les mutations de ce gène permettent l'absence ou la production d'une protéine CFTR anormale. Lorsque le concept de thérapie génique est apparu, il y avait de grands espoirs de guérison. La seule façon de restaurer le canal CFTR à une activité normale est de remplacer ou de réparer ce gène (**O'Sullivan & Freedman, 2009**).

Il y a deux objectifs principaux pour la thérapie génique, le premier objectif est d'avoir suffisamment de copies du gène normal à l'intérieur des cellules malades, et le second objectif est d'obtenir l'expression de ce gène, c'est-à-dire qu'une protéine CFTR normale est produite et exprimée sur la membrane cellulaire. Cette expression doit également avoir une longue durée de vie dans les différents organes. Cependant, les cellules se régénèrent plus ou moins rapidement, de sorte que la thérapie génique ne fonctionne pas en une seule fois et en une

seule administration. Par exemple, des cellules saines au niveau pulmonaire ont révélé qu'il existe un très faible nombre d'ARNm codant pour la protéine CFTR. En théorie, les cellules pulmonaires seraient capables de restaurer leur fonction sécrétoire normale en fournissant quelques copies du gène sain intégré dans un vecteur (**Crystal et al., 1994 ; Joseph et al., 2001**). Une méthode prometteuse de thérapie génique est basée sur l'utilisation d'adénovirus. Le vecteur sélectionné infecte sélectivement les cellules pulmonaires.

En 1997, dans la première phase des essais cliniques, Bellon G et al. Il montre que le gène *CFTR* peut être efficacement transféré dans les voies respiratoires des patients atteints de mucoviscidose en injectant un virus transformé. Cependant, il n'y avait aucune différence dans les paramètres immunologiques et inflammatoires dans le sérum et le liquide de lavage broncho alvéolaire du patient (**Bellon et al., 1997**). Deux autres études ont été menées sur des patients atteints de mucoviscidose : après 30 jours de traitement, le volume expiratoire forcé a augmenté (**Moss et al, 2004**) et la concentration d'IL8 dans les expectorations a diminué (interleukine inflammatoire 8). Par la suite, une autre étude a confirmé la sécurité du transporteur, mais elle n'a eu aucun effet sur la fonction pulmonaire (**Moss et al., 2007**).

Bien que le principe soit relativement simple, la thérapie génique échoue encore de plusieurs manières (**Kennedy, 2002; Weiss & Pilewski, 2003**). Le système immunitaire du patient combat le vecteur adénoviral et le détruit. De plus, les cellules à transgènes intégrés expriment des protéines virales et sont donc identifiées puis éliminées par le système immunitaire. En raison du mucus bronchique épais, le taux de pénétration de l'adénovirus dans les cellules cibles est considérablement réduit. De plus, le transgène n'est pas intégré en permanence dans la cellule cible et est rapidement éliminé. Par conséquent, O'Sullivan BP et Freedman SD ont souligné dans une revue de 2009 que la thérapie génique est plus prometteuse que la réalité (**O'Sullivan & Freedman, 2009**).

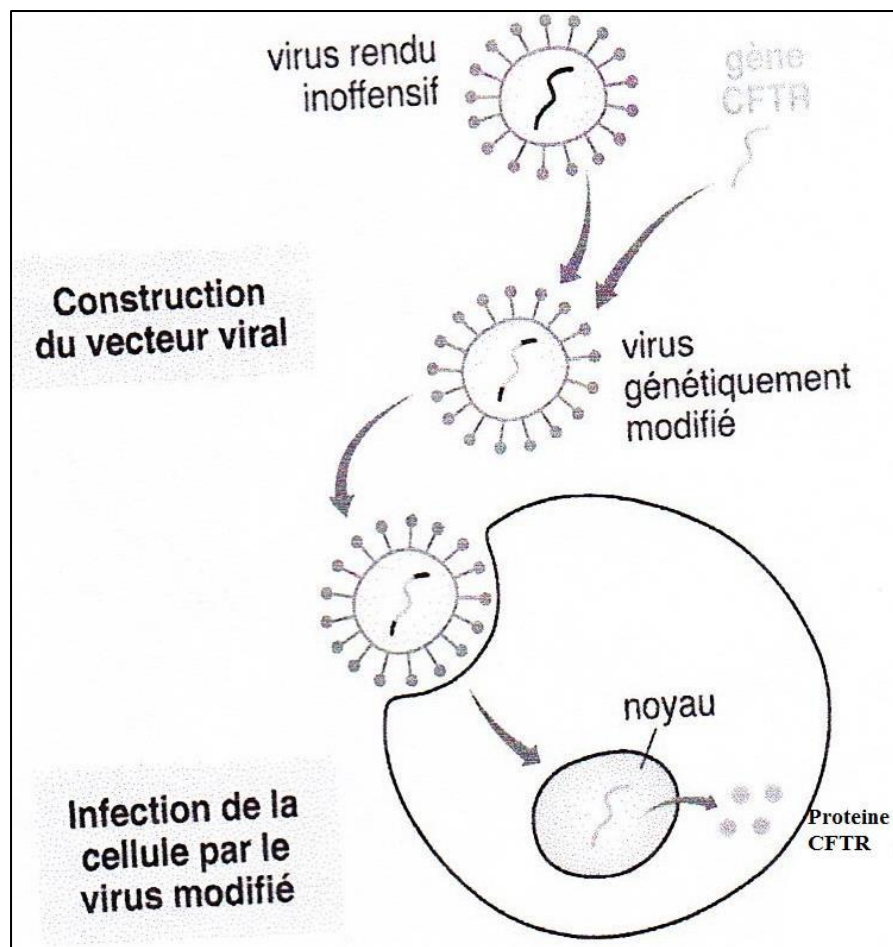


Figure 24 Les niches des cellules souches dans l'épithélium pulmonaire murin (Bossard, 2007).

6. La thérapie protéique

Les difficultés techniques liées au développement de thérapies alternatives efficaces et inoffensives ont conduit les gens à rechercher des méthodes alternatives. Ces méthodes impliquent Mutations dans des thérapies spécifiques. Par conséquent, l'objectif est de corriger spécifiquement les défauts génétiques selon différentes catégories ou selon le mécanisme moléculaire à l'origine de la mutation.

Défauts dans la production ou la fonction de la protéine CFTR (**Kerem, 2006**).

4-1 Aminoglycosides

Les mutations de classe I affectent moins de 10% de la population malade du monde. Depuis de nombreuses années, les gens savent qu'en plus de l'activité antimicrobienne, les antibiotiques Aminoglycosides peuvent également contourner le codon stop formé par des mutations dans le gène *CFTR*, produisant ainsi des protéines normales. (Howard et al., 1996 ; PTC thérapeutiques, (**Lubamba et al., 2012**) (tableau 4).

Tableau 4 Les différents aminoglycosides

	Mécanisme d'action	thérapie	Effets 2ndaires	Clinique	
la gentamicine	antibiotique	Classe I	Surdité Perte de l'équilibre néphrotoxique		Bedwell et al., 1997 Clancy et al., 2001 Sermet-Gaudelus et al., 2007 Lubana et al., 2012
PTC124	Gentamicine-dérivé pas de fonction antibiotique	Classe I		Phase III	Cancy et al., 2007 Linde et al., 2007 Welch et al., 2007 Sermet-Gaudelus et al., 2010 Wilschanski et al., 2011

4-2 Les correcteur de la protéine CFTR

Ces dernières années, deux nouvelles classes de molécules ont émergé qui sont des molécules thérapeutiques potentielles contre la mucoviscidose (correcteurs et les potentiateurs) (**Van Goor et al., 2006**). Ces molécules correctrices sont conçues pour permettre à la protéine CFTR mutée de contourner le système de contrôle de qualité interne de la cellule, empêcher sa fermeture prématurée par l'appareil de Golgi et lui permettre d'atteindre la membrane cellulaire (tableau 5).

Tableau 5 Les « correcteurs » du canal CFTR muté

	Mécanisme d'action	thérapie	clinique	
Butyrates et analogues	Neutralisation partielle du défaut de transfert protéique	Classe II		Cheng et al., 1995 Zhang et al., 2003
Sodum 4-phénylbutyrate	Augmentation de CFTR à la membrane	Classe II		Rubenstein et al., 1997
Curcumin	Inhibition de la cyclooxygénase Inhibition de NFxB		Effets discutables	Mall and Kunzelmann, 2005
Sildénafil et analogues	Correction du trafic de CFTR muté ...	Classe II		Robert et al., 2008

Miglustat	Inhibiteur de la glucosylcéramide	Classe II	Commercialisé 'Zavesca'	Abian et al., 2011 Norez et al., 2009
VX-809	Amélioration de la maturation protéique Augmentation du trafic de CFTR Diminution de la sensibilité protéolique	Classe II	Phase I/II	Van Goor et al., 2011 Clancy et al., 2012

Miglustat (1-butyl-2- (hydroxyméthyl) pipéridine-3, 4,5-triol, OGT 918, N-butyl-désoxynojimycine) est une molécule développée par les Laboratoires Actelion (Suisse). Il est vendu sous le nom de Zavesca®. Il est principalement utilisé pour traiter la maladie de Gaucher de type 1 (**Pastores et al., 2007**), la maladie de Niemann-Pick de type C et de Tay-Sachs, en particulier la maladie de Tay-Sachs à apparition tardive. Miglustat est un imino-sucrose avec un poids moléculaire de 219 Daltons. C'est un analogue synthétique du D-glucose (**Abian et al., 2011**) et un inhibiteur de la glucosylcéramide synthase. Miglustat a la capacité de pénétrer dans les organes profonds comme le cerveau, les os et les poumons.

Miglustat restaure l'activité dépendant du chlorure du CFTR dans les cellules épithéliales respiratoires in vitro (**Norez et al., 2006; 2009**). In vivo, Miglustat peut corriger complètement les flux de chlorure et de sodium dans la muqueuse nasale des souris F508del-CFTR (**Lubamba et al., 2009**).

4-3 Les "potentiators" pour le canal CFTR

Le but de la molécule «potentiators» est d'augmenter la fonction chlorure des canaux CFTR mutants présents à la surface de la membrane (tableau 6). La mutation de la protéine CFTR est particulièrement avantageuse pour cette méthode, car il s'agit d'un canal de mutation qui existe déjà dans la membrane mais a une activité fonctionnelle réduite : R117H et G551D.

Tableau 6 Les « potentialisateurs » du canal CFTR muté

	famille	Mécanisme d'action	clinique	
Génistéine	Phytoestrogène Isoflavone	Antioxydant Liaison à CFTR Modulation de la probabilité D'ouverture de CFTR		Illek et al., 1999 Andersson and roomans, 2000 Moran and Zegarra-Moran, 2005

VX-770 = Ivacaftor	Cytochrome P450	Substrat de la protéine CYP3A Augmentation du courant ionique transépithélial	Phase III	Van Goor et al., 2009 Sloane and Rowe, 2010 Accurso et al, 2010 Ramsey et al, 2011
--------------------	-----------------	--	-----------	---

Pour la plupart des patients atteints de mucoviscidose, l'ajout de correcteurs et d'activateurs peut être un traitement plus efficace. La protéine F508del-CFTR est délivrée à la membrane apicale via le correcteur, mais ne fonctionne toujours pas bien : il existe encore des anomalies fonctionnelles causées par la perte de résidus phénylalanine. Par conséquent, les patients atteints de mucoviscidose avec des mutations *F508del-CFTR* peuvent bénéficier d'améliorateurs qui les rendent plus fonctionnels (O'Sullivan & Freedman, 2009).

Le 28 juin 2012, les Laboratoires vertex pharmaceutiques ont rapporté les premiers résultats encourageant sur l'association de VX-809 et VX-770, au cours de la deuxième phase de l'étude clinique, pour les patients porteurs de la mutation *F508del-CFTR*. Ils prévoient une nouvelle étude impliquant un plus grand nombre de patients atteints de mucoviscidose souffrant de la mutation *F508del-CFTR*.

(4) Les activateurs des voies alternatives de sécrétion :

L'objectif de l'utilisation de cette stratégie de traitement est d'activer les différents canaux déjà présents au niveau de la membrane apicale des cellules, c'est-à-dire contrairement à la protéine CFTR. Le (tableau 7) présente une description de plusieurs méthodes alternatives.

Tableau 7 Les activateurs des voies alternatives de sécrétion

	Famille	Mécanisme d'action	clinique	
P2X	Récepteur purinergique	Augmentation du flux calcique Activation canal Cl ⁻ /Ca ²⁺ dépendant		
P2Y	Canal purinergique	Canal chlorure alternatif		Guibault et al., 2007
Denufosol	Agoniste de P2X Analogue de l'UTP	Stimulation des transports ioniques Réhydratation du mucus	Phase III	Deteding et al., 2007 Inspire Pharmaceutic, 2011

		Activation canal Ca ²⁺		
MOLI901	Antibiotique	Stimulation des canaux chlorures Réhydratation du mucus Activation canal Ca ²⁺	Phase II	Zeitlin et al., 2004 Grasemann et al., 2007

7. Les nouvelles thérapies

Plusieurs molécules sont actuellement à l'étude pour restaurer la fonction des canaux CFTR, dont certaines ont été approuvées à la vente, tandis que d'autres sont en cours de test. La molécule PTC124 (Ataluren®) peut restaurer partiellement la fonction CFTR en poursuivant le cadre de lecture malgré le codon stop dans le cas de mutations non-sens (**Welch et al., 2007**). Cette molécule a été étudiée chez la souris, où elle induit la production de protéine CFTR à la surface des cellules épithéliales (**Du et al., 2008**).

Il a été testé chez des adultes sains (**Hirawat et al., 2007**) et des adultes atteints de mucoviscidose (**Kerem et al., 2008**), puis Ataluren® améliore le transport du Cl⁻ dans l'épithélium. Wilschanski et al. ont montré qu'une prise régulière d'Ataluren conduit à une amélioration de l'activité CFTR au fil du temps et que les paramètres cliniques sont généralement bien tolérés (**Wilschanski et al., 2011**).

Vertex 770, connu sous le nom d'Ivacaftor®, est un amplificateur (augmente la probabilité d'une ouverture du canal chlorure de protéine mutante) de la protéine CFTR utilisée chez les personnes porteuses de c.1652G>A (G551D). Ce traitement a fait l'objet d'un essai randomisé, en double aveugle, contrôlé par placebo chez des patients porteurs de la mutation c.1652G> A (G551D). Les patients recevant de l'Ivacaftor ont montré une amélioration marquée du VEMS, plus de la moitié de la réduction des poussées et du gain de poids sans effets secondaires notables (**Ramsey et al., 2011**). Ivacaftor a reçu une autorisation de mise sur le marché de la Food and Drug Administration (FDA).

Récemment, cette molécule a été étendue pour inclure des mutations autres que des mutations c.1652G> A (G551D): c.3731G>A (G1244E), c.4046G>A (G1349D), c.532G>A (G178R), c.1651G>A (G551S), c.3752G>A(S1251N), c.3763T>C (S1255P), c.1646G>A (S549N) ou c.1645A>C (S549R) et ceci est basé sur les recherches de De Boeck et al. (**De Boeck et al., 2014**).

Actuellement, la recherche se concentre sur la mutation c.1521_1523delCTT (F508del).

Une étude récente montre que l'Ivacaftor en association avec le Lumacaftor (également appelé VX- 809, connu sous le nom de correcteur CFTR) chez des patients de plus de 12 ans homozygotes pour la mutation c.1521_1523delCTT (F508del) montre peu d'efficacité, mais des fonctions statistiquement et cliniquement pertinentes système respiratoire (**Boyle et al., 2014**).

En novembre 2014, le laboratoire Vertex a demandé une autorisation de mise sur le marché aux États-Unis et en Europe pour l'association Ivacaftor / Lumacaftor pour les patients c. [1521_1523delCTT]; [1521_1523delCTT] (F508del / F508del).

Conclusion

D'après l'étude des articles, les résultats du dépistage et du diagnostic néonataux confirment que le meilleur protocole applicable est la trypsine immunoréactive (TIR) et le test de la sueur, car le test de la sueur c'est le premier test pour diagnostiquer la mucoviscidose, et les progrès de la génétique ne l'ont pas affecté car c'est l'un des examens les plus sensibles en médecine. Ils se distinguent par son style méticuleux et nécessite une méthodologie rigoureuse. À ce jour, le test de la sueur et la Trypsine immunoréactive (TIR) en conjonction avec le test génétique reste les méthodes les plus reconnaissables pour diagnostiquer la mucoviscidose malgré l'avènement de plusieurs nouveaux protocoles et examens.

L'avantage de dépistage néonatal de la mucoviscidose offre une opportunité unique de diagnostic précoce qui améliore l'état nutritionnel, la fonction pulmonaire et la survie et réduit les hospitalisations, ce qui peut réduire les coûts des soins de santé. Il est largement mis en œuvre dans le monde entier et en Espagne. Le dépistage ne peut avoir des effets bénéfiques que s'il est suivi d'un strict respect des normes de soins établies, c'est pourquoi ils jugent essentiel de diffuser ces lignes directrices pour le diagnostic et le suivi des patients atteints de mucoviscidose identifiés grâce au dépistage néonatal. En attendant l'avènement de la thérapie génique espoir attendu par tous les mucoviscidosique.

Les résultats obtenus au terme de ce travail auraient pour but de contribuer à moyen terme à la mise en place d'un programme de diagnostic par le dépistage néonatal.

A la fin, nous espérons que notre pays accordera toute son attention à cette maladie, bien qu'elle soit considérée comme une maladie rare, mais elle est présente dans notre pays. Des centres spéciaux doivent être développés pour sa diagnostic précoce, et de nouveaux protocoles utilisés à l'étranger doivent être suivis. afin de faciliter le traitement des patients.

Références bibliographique

1. Alekseyenko AV, kim N, Lee CJ. Global analysis of exon creation versus loss and the role of alternative splicing in 17 vertebrate genomes. *RNA* 2007, 13, 661-670
2. Anderson MP, Gregory RJ, Thompson S, Souza DW, Paul S, Mulligan RC, Smith AE, Welsh MJ (1991) Demonstration that CFTR is a chloride channel by alteration of its anion selectivity. *Science* 253: 202-205
le diagnostic de la mucoviscidose
3. Anderson, MP.; Gregory, RJ.; Thompson, S.; Howard, PW.; Maurer, RA.; Mulligan,R.; Smith, AE.; and welsh, MJ.; (1991). Identification and regulation of the cystic fibrosis transmembrane conductance re regulator generated chloride channel. *J Clin Invest.* 88: 1422-31.
4. Anderson, MP.; Rich, DP.; Gregory, RJ.; Smith, AE.; and welsh, MJ.; (1991). Generation of cAMP- activated chloride current by expression of CFTR.
5. Angelot., F. Pathologies associées aux mutations et polymorphismes du gène cystic fibrosis transmembrane conductance regulator ou CFTR. Thèse de doctorat : Pharmacie : Université de Franche Comté, 2005, 9p.
6. Aurora P, Gustafsson P, Bush A, et al: Multiple breath inert gas washout as a measure of ventilation distribution in children with cystic fibrosis. *Thorax* 59:1068–1073, 2004
7. Barben J, Castellani C, Dankert-Roelse J, Gartner S, Kashirskaya N, Linnane B, et al. The expansion and performance of national newborn screening programmes for cystic fibrosis in Europe. *J Cyst Fibros.* 2017;16:207---13.
8. Bear, CE.; Duguay, F.; Naismith, AL.; Kartner, N.; Hanrahan, JW.; and Riordan, JR.; (1991). Cl- channel activity in *Xenopus* oocytes expressing the cystic fibrosis gene. *J Biol Chem.* 266: 19142-5.
9. Becdelievre., A. Contribution à l'amélioration des connaissances sur la relation génotype-phénotype dans la mucoviscidose et caractérisation phénotypique de l'inflammation pulmonaire. Thèse de doctorat : génétique humaine. Université Paris-Est t-Val de Marne, 2011, 13-31p.
10. Bellon G, Michel-Calemard L, Thouvenot D, Jagneaux V, Poitevin F, Malcus C, Accart N, Layani MP, Aymard M, Bernon H, Bienvenu J, Courtney M, Döring G, Gilly B, Gilly R, Lamy D, Levrey H, Morel Y, Paulin C, Perraud F, Rodillon L, Sené C, So S, Touraine-Moulin F, Schatz C, Pavirani A Aerosol administration of a recombinant adenovirus expressing CFTR to cystic fibrosis patients: a phase I clinical trial. *Hum Gene Ther.* 1997 Jan 1;8(1):15-25.

11. Benjamin., B. Synthèse et évaluation de modulateurs de la protéine CFTR. Thèse de doctorat : science de médicament. Université Joseph Fourier, Grenoble I, 2008, 20-29p.
12. Berger, HA. ; Anderson, MP.; Gregory, RJ.; Thompson, S.; Howard, PW.; Maurer, RA.; Mulligan,R.; Smith, AE.; and welsh, MJ.; (1991). Identification and regulation of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator- generated chloride channel. *J Clin Invest.* 88: 1422-31.
13. Bertrand., J. Approches pharmacologiques de CFTR et de CaCC dans la mucoviscidose. Thèse de doctorat : biologie santé. Université de Poitiers, 2006, 24p.
14. BLACK DL. Mechanisms of alternative pre-messenger RNA splicing. *Annu Rev Biochem.* 2003, 72, 291-336.
15. Bobadilla JL, Macek M, Fine JP, Farrell PM. Cystic fibrosis: a worldwide analysis of CFTR mutations correlation with incidence data and application to screening. *Hum Mutat.*2002: 19(6):575-606.
16. Bonfield TL, Konstan MW, Berger M: Altered respiratory epithelial cell cytokine production in cystic fibrosis. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 104: 72–78.
17. Bonini., J. Identification d'éléments régulateurs du gène CFTR et applications pour la mucoviscidose. Thèse de doctorat : génétique moléculaire. Université Montpellier, 2015, 27p.
18. Borowitz D, Gelfond D, Maguiness K, Heubi JE, Ramsey B. Maximal daily dose of pancreatic enzyme replacement therapy in infants with cystic fibrosis: a reconsideration. *J Cyst Fibros.* 2013;12:784---5.
19. Borowitz D, Robinson KA, Rosenfeld M, Davis S, Sabadosa K, Spear S, et al. Cystic fibrosis foundation evidence-based guidelines for management of infants with cystic fibrosis. *J Pediatr.* 2009;155:S73---93.
20. Bossard., F. La mucoviscidose : Correction de la mutation DF508 par sur-expression de NHE-RF1 ; Modifications d'expression de NHE-RF1 et des récepteurs b-adrénergiques dans les poumons humains. Thèse de doctorat : Biologie. Université de NANTES, 2007, 78-93p.
21. Boukari R, Smati L, Benhalla KN, Redjala O, Boufersaoui A, Benhasine F, et al. Cystic fibrosis in Algeria: clinical spectrum and genotypic data. *J cyst Fibros.*2006 ;5 suppl 1:S302. Et Loumia, O., Ferec, C., Mercier, B., Creff, J., Fercot, B., Denine, R. and Grangaud, J.P. (2008) CFTR mutations in the Algerian population. *Journal of Cystic Fibrosis*, 7, 54-59.

22. Boyle MP, Bell SC, Konstan MW, McColley SA, Rowe SM, Rietschel E, Huang X, Waltz D, Patel NR, Rodman D (2014) A CFTR corrector (lumacaftor) and a CFTR potentiator (ivacaftor) for treatment of patients with cystic fibrosis who have a phe508del CFTR mutation: a phase 2 randomised controlled trial. *The lancet Respiratory medicine* 2: 527-538
23. Brown CR, hong-brown LQ, biwersi J, verkman AS, welsh WJ. Chemical chaperones correct the mutant phenotype of the deltaF508 cystic fibrosis transmembrane conductance regulator protein. *Cell Stress Chaperones* 1996, 1, 117125.
24. Brown SD, White R, Tonseilin P. Keep them breathing: cystic fibrosis pathophysiology, diagnosis, and treatment. *J Am Acad Physician Assist* 2017;30(5):23–7.
25. Byrnes CA, Vidmar S, Cheney JL, Carlin JB, Armstrong DS, Cooper PJ, et al. Prospective evaluation of respiratory exacerbations in children with cystic fibrosis from newborn screening to 5 years of age. *Thorax*. 2013;68:643---51.
26. Carpentier., A. Modification du tropisme de vecteurs pseudoviraux dérivés des papillomavirus pour l'application aux thérapies pulmonaires. Thèse de doctorat : Science de la Vie et de la Santé :Université François Rabelais de Tours,2012, 6p.
27. Cartegni L, Chew SL, Krainer AR. Listening to silence and understanding nonsense: exonic mutations that affect splicing. *Nat Rev Genet*. 2002, 3, 285-298.
28. 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.
29. Castellani C, Duff AJA, Bell SC, Heijerman HG, Munck A, Ratjen F, et al. ECFS best practice guidelines: the 2018 revision. *J Cyst Fibros*. 2018;17:153---78.
30. Castellani C, Southern KW, Brownlee K, Dankert Roelse J, Duff A, Farrell M, et al. European best practice guidelines for cystic fibrosis neonatal screening. *J Cyst Fibros*. 2009;8:153---73.
31. Castellani, C. and J. Massie. Emerging issues in cystic fibrosis newborn screening. *Curr Opin Pulm Med*, 2010. 16(6): p. 584-90.
32. Cheng SH, Gregory RJ, Marshall J, Paul S, Souza DW, White GA, O'riordan CR, Smith AE. Defective intracellular transport and processing of CFTR is the molecular basis of most cystic fibrosis. *Cell* 1990, 63, 827-834.
33. Chou JL, Rozmahel R, Tsui LC. Characterization of the promoter region of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene. *J Biol Chem* 1991 ; 266 :24471-6.
34. Cirilli N, Southern KW, Buzzetti R, et al. Real life practice of sweat testing in Europe. *J Cyst Fibros* 2018;17:325–32.

35. Clarke LL, Grubb BR, Gabriel SE, Smithies O, Koller BH, Boucher RC. Defective epithelial chloride transport in a genotargeted mouse model of cystic fibrosis. *Science*. 1992 Aug 21; 257(5073):1125-8.
36. Clinical Laboratory Standards Institute (Formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards). Sweat testing: sample collection and quantitative analysis. Approved guideline document C34-A2, National Committee for Clinical Laboratory Standards, vol. 20. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2000. p. 14.
37. Cohen AM, Yulish BS, Wasser KB, Vignos PJ, Jones PK, Sorin SB (1986) Evaluation of pulmonary hypertrophic osteoarthropathy in cystic fibrosis. A comprehensive study. *Am J Dis Child* 140: 74-77
38. Crystal RG, McElvaney NG, Rosenfeld MA, Chu CS, Mastrangeli A, Hay JG, Brody SL, Jaffe HA, Eissa NT, Danel C. Administration of an adenovirus containing the human CFTR cDNA to the respiratory tract of individuals with cystic fibrosis. *Nat Genet*. 1994 Sep;8(1):42-51.
39. Cutting G (2005) Modifier genetics: cystic fibrosis. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 6: 237_260
40. Cystic Fibrosis Canada (2017). "The Canadian Cystic Fibrosis Registry - 2016 Annual Data Report."
41. Cystic Fibrosis Foundation (2017). "Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry - 2016 Annual Data Report."
42. Davis PB, Drumm ML, Konstan MW. State of the art: cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 1996, 154, 1229-1256.
43. Davis PB. Cystic fibrosis since 1938. *Am. J. Respir. Crit. Care Med*. 1 mars 2006; 173(5):475-482
44. De Boeck K, Munck A, Walker S, Faro A, Hiatt P, Gilmartin G, Higgins M (2014) Efficacy and safety of ivacaftor in patients with cystic fibrosis and a non-G551D gating mutation. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society*
45. De Boeck K, weren M, Proesmans M, Kerem E. Pancréatite chez les patients atteints de fibrose kystique: corrélation avec le statut pancréatique et le génotype. *Pédiatrie* 2005; 115 : e463-e469.
46. Debray ,Emmanuel mas,A Munck ,M Gérardin, H Chouzeau, *Archives pédiatrie* 23(12),12s15 _12s20, 2016

47. Delaney SJ, Rich DP, Thomson SA, Hargrave MR, Lovelock PK, Welsh MJ, Wainwright BJ. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator splice variants are not conserved and fail to produce chloride channels. *Nat Genet.* 1993, 4, 426-430.
48. Denning GM, Ostedgaard LS, Cheng SH, Smith AE, Welsh MJ. Localization of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator in chloride secreting epithelia. *J Clin Invest.* 1992, 89, 339-349.
49. Di Sant'Agnes PA, Darling RC, Perera GA, et al. Abnormal electrolyte composition of sweat in cystic fibrosis of the pancreas; clinical significance and relationship to the disease. *Pediatrics* 1953; 12:549-63.
50. Dif F, Marty C, Baudoin C, de Vernejoul MC, Levi G. Severe osteopenia in CFTR-null mice. *Bone.* 2004 Sep; 35(3):595-603.
51. Dray X, Bienvenu T, Desmazes-Dufeu N, Dusser D, Marteau P, Hubert D. Syndrome d'obstruction intestinale distale chez les adultes atteints de fibrose kystique. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2004; 2 : 498-503.
52. Drumm, ML.; Wilkinson, DJ.; Smit, LS.; WorRell, RT.; Strong, TV.; Frizzell, RA.; Dawson, DC.; and Collins, FS.; (1991). Chloride conductance expressed by delta F508 and other mutant CFTRs in *Xenopus* oocytes. *Science.* 254: 1797-9.
53. Du M, Liu X, Welch EM, Hirawat S, Peltz SW, Bedwell DM (2008) PTC124 is an orally bioavailable compound that promotes suppression of the human CFTR-G542X nonsense allele in a CF mouse model. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105: 2064-2069
54. Elkins MR, Robinson M, Rose BR, Harbour C, Moriarty C, Guy M, et al. A controlled trial of long-term inhaled hypertonic saline in patients with cystic fibrosis. *N Engl J Med.* 2006;354:229-40.
55. European Cystic Fibrosis Society (2017). "ECFSPR Annual Report 2015."
56. Farhat ., R. Multiples conséquences physiopathologiques de mutations et d'allèles complexes du gène CFTR : l'importance des études génétique, moléculaire, cellulaire & in silico dans la détermination de l'impact de ces variations sur l'épissage et la protéine. Thèse de doctorat : Biologie santé. Université de Poitiers, 2014, 4-26p.
57. FARHAT., R. Multiples conséquences physiopathologiques de mutations et d'allèles complexes du gène CFTR : l'importance des études génétique, moléculaire, cellulaire & in silico dans la détermination de l'impact de ces variations sur l'épissage et la protéine. Thèse de doctorat : Biologie santé. Université de Poitiers, 2014, 4-26p.

58. 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].
59. Faustino na, Cooper T. Pre-mRNA splicing and human disease. *Genes Dev.* 2003, 17, 419-437.
60. FM; 2012. p. 139---47.
61. Fredj SH, Messaoud T, Templin C, des Georges M, Fattoum S, Claustres M. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator mutation spectrum in patients with cystic fibrosis in Tunisia. *Genet Test Mol Biomarkers.* 2009 Oct; 13(5): 577-81.
62. French PJ, van Doorninck JH, Peters RH, Verbeek E, Ameen NA, Marino CR, de Jonge HR, Bijman J, Scholte BJ. A delta F508 mutation in mouse cystic fibrosis transmembrane conductance regulator results in a temperaturesensitive processing defect in vivo. *J Clin Invest.* 1996 Sep 15;98(6):1304-12.
63. FU, XD. Towards a splicing code. *Cell* 2004, 119, 736-738.
64. Gally., F. Etude structure/fonction d'une protéine ABC : sur, le récepteur des sulfonyleures. Thèse de doctorat : Génie Biologique et Médical : Université JOSEPH FOURIER, 2005, 23-24p.
65. Garcia G, Martinez MT. Protocolo de control y seguimiento. In: Salcedo Posadas A, Gartner S, Girón Moreno RM, García Novo MD, editors. *Tratado de fibrosis quística.* Madrid: Editorial Justim
66. Ghigna C, Valacca C, Biamonti G. Alternative Splicing and Tumor Progression. *Current Genomics* 2008, 9, 556-570.
67. Gilbert A, Jadot M, Leontieva E, Wattiaux-de CS, Wattiaux R. F508 CFTR localizes in the endoplasmic reticulum-Golgi intermediate compartment in cystic fibrosis cells. *Exp Cell Res.* 1998, 242, 144-152.
68. Girodon-Boulandet, E. Costa, C. (2005). "Génétique de la mucoviscidose." *Médecine thérapeutique/Pédiatrie.* 8(3): 126-134.
69. 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.
70. Gonska T, Ip W, Turner D, et al. Sweat gland bioelectrics differ in cystic fibrosis: a new concept for potential diagnosis and assessment of CFTR function in cystic fibrosis. *Thorax* 2009; 64:932–8.
71. Graveley BR. Alternative splicing: increasing diversity in the proteomic world. *Trends in Genetics* 2001, 17(2), 100-107.

72. Grubb BR, Boucher RC. Pathophysiology of gene-targeted mouse models for cystic fibrosis. *Physiol Rev.* 1999 Jan;79(1Suppl):S193-214.
73. Haardt M, Benharouga M, Lechardeur D, Kartner N & Lukacs GL. (1999). C-terminal truncations destabilize the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator without impairing its bi
74. Hamosh A, Rosenstein BJ, Cutting GR (1992) CFTR nonsense mutations G542X and W1282X associated with severe reduction of CFTR mRNA in nasal epithelial cells. *Human molecular genetics* 1: 542-544
75. Haston CK, Li W, Li A, Lafleur M, Henderson JE. Persistent osteopenia in adult cystic fibrosis transmembrane conductance regulator-deficient mice. *Am J Respir Crit Care Med.* 2008 Feb 1; 177(3):309-15. ogenesis. A novel class of mutation. *J Biol Chem* 274, 21873-21877.
76. Haute Autorité de santé. Mucoviscidose Protocole national de diagnostic et de soins pour une maladie rare. Guide Affection longue durée. Saint Denis La Plaine: HAS; 2008.
77. Haworth CS, Webb AK, Egan JJ, Selby PL, Hasleton PS, Bishop PW, Freemont TJ. Bone histomorphometry in adult patients with cystic fibrosis. *Chest.* 2000 Aug; 118(2):434-9.
78. Hirawat S, Welch EM, Elfring GL, Northcutt VJ, Paushkin S, Hwang S, Leonard EM, Almstead NG, Ju W, Peltz SW, Miller LL (2007) Safety, tolerability, and pharmacokinetics of PTC124, a nonaminoglycoside nonsense mutation suppressor, following single- and multipledose administration to healthy male and female adult volunteers. *Journal of clinical pharmacology* 47: 430-444
79. Holsclaw, DS.; Lober, B.; Jockin, H.; and Schwachman, H.; (1971). Genital abnormalities in male patients with cystic fibrosis. *J Urol.* 106(4): 568-74.
80. Howard M, Frizzell RA, Bedwell DM. Aminoglycoside antibiotics restore CFTR function by overcoming premature stop mutations. *Nat Med.* 1996 Apr;2(4):467-9.
81. Hubert D (2003) [Cystic fibrosis in adults]. *La Revue du praticien* 53: 158-162
82. Hyde SC, Emsley P, Hartshorn MJ, et al. Structural model of ATP-binding proteins associated with cystic fibrosis, multidrug resistance and bacterial transport. *Nature* 1990 ; 346 : 362-5.
83. Johnston JA, Ward CL, Kopito RR. Aggresomes: a cellular response to misfolded proteins. *J Cell Biol.* 1998, 143, 1883-1898.
84. Jordan BR. Ilots HTF : Je gène annoncé. *médecine/sciences* 1 991 ; 7: 153-60.
85. Joseph PM, O'Sullivan BP, Lapey A, Dorkin H, Oren J, Balfour R, Perricone MA, Rosenberg M, Wadsworth SC, Smith AE, St George JA, Meeker DP. Aerosol and lobar

- administration of a recombinant adenovirus to individuals with cystic fibrosis. I. Methods, safety, and clinical implications. *Hum Gene Ther.* 2001 Jul 20;12(11):1369-82.
86. Kammesheidt A, Kharrazi M, Graham S, et al. Comprehensive genetic analysis of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator from dried blood specimens – implications for newborn screening. *Genet* –14 juillet 2010 13990 *Revue Médicale Suisse*–www.revmed.ch *Med* 2006;8:557-62.
 87. Kennedy MJ. Current status of gene therapy for cystic fibrosis pulmonary disease. *Am J Respir Med.* 2002;1(5):349-60.
 88. Kent L, Reix P, Innes JA, Zielen S, Le Bourgeois M, Braggion C, et al. European Cystic Fibrosis Society Clinical Trial Network (ECFS-CTN) Standardisation Committee Lung clearance index: evidence for use in clinical trials in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros.* 2014;13:123---38.
 89. Kerem B, Kerem E. The molecular basis for disease variability in cystic fibrosis. *Eur J Hum Genet.*1996, 4, 65-73.
 90. Kerem B, Rommens JM, Buchanan JA, Markiewicz D, Cox TK, Chakravarti A, Buchwald M, Tsui LC (1989) Identification of the cystic fibrosis gene: genetic analysis. *Science* 245: 1073-1080
 91. Kerem E, Hirawat S, Armoni S, Yaakov Y, Shoseyov D, Cohen M, Nissim-Rafinia M, Blau H, Rivlin J, Aviram M, Elfring GL, Northcutt VJ, Miller LL, Kerem B, Wilschanski M (2008) Effectiveness of PTC124 treatment of cystic fibrosis caused by nonsense mutations: a prospective phase II trial. *Lancet* 372: 719-727
 92. Kerem E, Kerem B (1995) The relationship between genotype and phenotype in cystic fibrosis. *Current opinion in pulmonary medicine* 1: 450-456
 93. Kerem E. Mutation specific therapy in CF. *Paediatr Respir Rev.* 2006;7 Suppl 1:S166-9.
 94. Keren H, Lev-maor G, Ast G. Alternative splicing and evolution: diversification, exon definition and function. *Nature Reviews Genetics* 2010, 11, 345-355.
 95. Khan TZ, Wagener JS, Bost T, et al: Early pulmonary inflammation in infants with cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151: 1075–1082.
 96. Kieninger E, Yammine S, Korten I, Anagnostopoulou P, Singer F, Frey U, et al. Elevated lung clearance index in infants with cystic fibrosis shortly after birth. *Eur Respir J.* 2017;50:1700580.
 97. Kim E, Goren A, Ast G. Alternative splicing: current perspectives. *Bioessays.* 2008, 30, 38-47.

98. Knowles MR, Boucher RC. La clairance du mucus en tant que mécanisme principal de défense innée des voies respiratoires chez les mammifères. *J Clin Invest* 2002; 109 : 571-577.
99. Koch C, Cuppens H, Rainisio M, Madessani U, Harms HK, Hodson ME, Mastella G, Navarro J, Strandvik B, McKenzie SG. European Epidemiologic Registry of Cystic Fibrosis (ERCF): Comparison of major disease manifestations between patients with different classes of mutations. *Ped Pulmon*. 2001, 31, 1-12.
100. Koh J, Sferra TJ, Collins FS. Characterization of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator promoter region. *J Biol Chem* 1993 ; 268 : 15912-21.
101. Konstan M, McKone E, Moss R, Marigowda G, Tian S, Waltz D, et al. Assessment of safety and efficacy of long-term treatment with combination lumacaftor and ivacaftor therapy in patients with cystic fibrosis homozygous for the F508del-CFTR mutation (PROGRESS): a phase 3, extension study. *Lancet Respir Med*. 2017;5:107---18.
102. Kunzelmann, K.; and Schreiber, R.; (1999). CFTR, a regulator of chachann J *Membrane Biol*. 168: 1-8.
103. Labrador M, Corces VG. Extensive exon reshuffling over evolutionary time coupled to trans-splicing in *Drosophila*. *Genome Res*. 2003, 13, 2220-2228.
104. Loirat F, Hazout S, Lucotte G (1997) G542X as a probable Phoenician cystic fibrosis mutation. *Human biology* 69: 419-425
105. Long FR, Williams RS, Castile RG. Inspiratory and expiratory CT lung density in infants and young children. *Pediatr Radiol*. 2005;35:677---83.
106. Loumi O, Ferec C, Mercier B, Creff J, Fercot B, Denine R, et al. CFTR mutation in Algerian population. *J cyst fibros*. 2008 Jan ; 7(1) :54-9.
107. Lubamba B, Dhooghe B, Noel S, Leal T. Cystic fibrosis: Insight into CFTR pathophysiology and pharmacotherapy. *Clin Biochem*. 2012 Oct;45(15):1132-44.
108. Lubamba B, Lebacq J, Lebecque P, Vanbever R, Leonard A, Wallemacq P, Leal T. Airway delivery of low-dose miglustat normalizes nasal potential difference in F508del cystic fibrosis mice. *Am J Respir Crit Care Med*. 2009 Jun 1;179(11):1022-8.
109. Mall M, Grubb BR, Harkema JR, O'Neal WK, Boucher RC. Increased airway epithelial Na⁺ absorption produces cystic fibrosis-like lung disease in mice. *Nat Med*. 2004 May;10(5):487-93.
110. Marie G. Transfert de la pédiatrie à l'adulte de patients atteints de mucoviscidose: le vécu des patients et des équipes au CHU de Nice. *Médecine humaine et pathologie*. 2013.

111. 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.
112. Matlin AJ, Clark F, Smith CW. Understanding alternative splicing: towards a cellular code. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2005, 6, 386-398.
113. McIntosh I, Raeburn JA, Curtis A, Brock DJ.: First-trimester prenatal diagnosis of cystic fibrosis by direct gene probing. *Lancet* 1989;2:972-3.
114. Messaoud T, Bel Haj Fredj S, Bibi A, Elion J, Ferec C, Fattoum Épidémiologie moléculaire de la mucoviscidose en tunisie. *Ann Biol Clin (Paris)*.2005 Nov-Dec ; 36(6) :627-30.
115. Micoud., J. Rôles des interactions interdomaines dans le comportement cellulaire de la protéine CFTR. Thèse de doctorat : Biologie Cellulaire. Université Joseph Fourier, Grenoble 1, 2008,15-34p.
116. Mireille Claustre , génétique dépistage et épidémiologie de la mucoviscidose v(1) numéro (3) mai juin 1998 page 261_ 8
117. Mogayzel PJ, Naureckas ET, Robinson KA, Mueller G, Hadjiliadis D, Hoag JA, et al. Cystic fibrosis pulmonary guidelines: chronic medications for maintenance of lung health. *Am J Respir Crit Care Med.* 2013;187:680---9.
118. Moran A, Becker D, Casella S, Gottlieb P, Kirkman M, Marshall B, Slovis B (2010) Epidemiology, pathophysiology, and prognostic implications of cystic fibrosis-related diabetes: a technical review. *Diabetes care* 33
119. Moss RB, Milla C, Colombo J, Accurso F, Zeitlin PL, Clancy JP, Spencer LT, Pilewski J, Waltz DA, Dorkin HL, Ferkol T, Pian M, Ramsey B, Carter BJ, Martin DB, Heald AE. Repeated aerosolized AAV-CFTR for treatment of cystic fibrosis: a randomized placebo-controlled phase 2B trial. *Hum Gene Ther.* 2007 Aug;18(8):726 32.
120. Moss RB, Rodman D, Spencer LT, Aitken ML, Zeitlin PL, Waltz D, Milla C, Brody AS, Clancy JP, Ramsey B, Hamblett N, Heald AE. Repeated adeno-associated virus serotype 2 aerosol-mediated cystic fibrosis transmembrane regulator gene transfer to the lungs of patients with cystic fibrosis: a multicenter, double-blind, placebo-controlled trial. *Chest.* 2004 Feb;125(2):509-21.
121. Mourez M, Jehanno M, Hofnung M, Dassa E.Rôle, fonctionnement et structure des transporteurs à ATP binding cassette (ABC).*Médecine/-sciences.n°3(16) :386-94.*

122. Muhlebach MS, Stewart PW, Leigh MW, Noah TL: Quantitation of inflammatory re-sponses to bacteria in young cystic fibrosis and control patients. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160: 186–191.
- 123.** Munck A, Dhondt JL, Sahler C, et al. Implementation of the French nationwide cystic fibrosis newborn screening program. *J Pediatr* 2008;153:228–33.
124. Munck A, Boulkedid R, Weiss L, Foucaud P, Wizla-Derambure N, Reix P, et al. Nutritional status in the first 2 years of life in cystic fibrosis diagnosed by newborn screening. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2018;67:123---30.
125. Munck A, Roussey M (2008) The French nationwide cystic fibrosis newborn screening program: strategy and results. *Archives de pediatrie : organe officiel de la Societe francaise de pediatrie* 15: S1-6
126. Munck A, Sahler C, Briard M, Vidailhet M, Farriaux JP (2005) [Cystic fibrosis: the French neonatal screening organization, preliminary results]. *Archives de pediatrie : organe officiel de la Societe francaise de pediatrie* 12: 646-649
127. Munck A. Nutritional considerations in patients with cystic fibrosis. *Expert Rev Respir Med.* 2010;4:47---56.
128. National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. Symptoms & Causes of Pancreatitis. Available online at <https://www.niddk.nih.gov/health-information/digestive-diseases/pancreatitis/symptoms-causes>. Accessed on 4/20/2020.
129. Neri AS, Lori I, Taccetti G, Festini F, de Martino M, Masi L, Brandi ML (2006) Alteration of bone mineral density in cystic fibrosis adults. *Chest* 130: 1952-1953; author reply 1953.
130. Nguyen-Khoa T, Borgard JP, Marchand M, et al. Qualites analytiques des techniques de dosage et comparaison des procedures utilisées pour le test de la sueur. *Ann Biol Clin (Paris)* 2012;70:5–12.
131. Nielsen K B, Sørensen S, Cartegni L, Corydon T J, Doktor T K, Schroeder L D, Reinert L S, Elpeleg O, Krainer A R, Gregersen N, Kjems J, Andresen B S. Seemingly Neutral Polymorphic Variants May Confer Immunity to Splicing-Inactivating Mutations: A Synonymous SNP in Exon 5 of MCAD Protects from Deleterious Mutations in a Flanking Exonic Splicing Enhancer. *Am J Hum Genet* 2007, 80, 416-432.
132. Noah TL, Black HR, Cheng PW, et al: Nasal and bronchoalveolar lavage fluid cytokines in early cystic fibrosis. *J Infect Dis* 1997; 175: 638–647.

133. Norez C, Antigny F, Noel S, Vandebrouck C, Becq F. A cystic fibrosis respiratory epithelial cell chronically treated by miglustat acquires a non-cystic fibrosis-like phenotype. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2009 Aug;41(2):217-25.
134. Norez C, Noel S, Wilke M, Bijvelds M, Jorna H, Melin P, DeJonge H, Becq F. Rescue of functional delF508-CFTR channels in cystic fibrosis epithelial cells by the alpha-glucosidase inhibitor miglustat. *FEBS Lett.* 2006 Apr 3;580(8):2081-6.
135. O'Sullivan P, Freedman S (2009) Cystic Fibrosis. *Lancet* 373: 1891–1904
136. obadilla JL, Macek M, Jr., Fine JP, Farrell PM (2002) Cystic fibrosis: a worldwide analysis of CFTR mutations--correlation with incidence data and application to screening. *Human mutation* 19: 575-606
137. Paccou J, Zeboulon N, Combescure C, Gossec L, Cortet B (2010) The prevalence of osteoporosis, osteopenia, and fractures among adults with cystic fibrosis: a systematic literature review with meta-analysis. *Calcified tissue international* 86: 1-7
138. Paradis J, Wilke M, Haston CK. Osteopenia in Cfr-deltaF508 mice. *J Cyst Fibros.* 2010 Jul;9(4):239-45.
139. Pashuck TD, Franz SE, Altman MK, Wasserfall CH, Atkinson MA, Wronski TJ, Flotte TR, Stalvey MS. Murine model for cystic fibrosis bone disease demonstrates osteopenia and sex-related differences in bone formation. *Pediatr Res.* 2009 Mar; 65(3):311-6.
140. Pastores GM, Elstein D, Hřebíček M, Zimran A. Effect of miglustat on bone disease in adults with type 1 Gaucher disease: a pooled analysis of three multinational, open-label studies. *Clin Ther.* 2007 Aug;29(8):1645-54.
141. Prise en charge du patient atteint de mucoviscidose - Observance, nutrition, gastro-entérologie et métabolisme, Recommandations de la Société Française de Pédiatrie
142. Prise en charge du patient atteint de mucoviscidose - Pneumologie et infectiologie, Recommandations de la Société française de pédiatrie (SFP), 2002.
143. Quan JM, Tiddens HA, Sy JP, McKenzie SG, Montgomery MD, Robinson PJ, Wohl ME, Konstan MW (2001) A two-year randomized, placebo-controlled trial of dornase alfa in young patients with cystic fibrosis with mild lung function abnormalities. *The Journal of pediatrics* 139: 813-820
144. Ramsey BW, Davies J, McElvaney NG, Tullis E, Bell SC, Drevinek P, et al. A CFTR potentiator in patients with cystic fibrosis and the G551D mutation. *N Engl J Med.* 2011;365:1663---72.

145. Ramsey BW, Davies J, McElvaney NG, Tullis E, Bell SC, Drevinek P, Griese M, McKone EF, Wainwright CE, Konstan MW, Moss R, Ratjen F, Sermet-Gaudelus I, Rowe SM, Dong Q, Rodriguez S, Yen K, Ordonez C, Elborn JS (2011) A CFTR potentiator in patients with cystic fibrosis and the G551D mutation. *The New England journal of medicine* 365: 1663-1672
146. Ratbi I, Genin E, Legendre M, Le Flosch A, Costa C, Cherkaoui Deqqaqi S, et al. Cystic fibrosis carrier frequency and estimated prevalence of the disease in Morocco. *J Cyst Fibros.* 2008 sep ; 7(5) :440-3.
147. Ratjen F, Döring G (2003) Cystic Fibrosis. *The Lancet* 681-689
148. Review performed by Jayson V. Pagaduan, PhD, Clinical Chemist, Intermountain Healthcare(2020).
149. Riordan JR, Rommens JM, Kerem B, Alon N et al. Identification of cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science*1989; 245:1066–73.
150. Riordan JR, Rommens JM, Kerem B, Alon N, Rozmahel R, Grzelczak Z, Zielenski J, Lok S, Plavsic N, Chou JL, et al. (1989a) Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science* 245: 1066-1073
151. Riordan JR. Cystic fibrosis as a disease of misprocessing of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator glycoprotein. *Am J Hum Genet.* 1999, 64, 1499-504.
152. Robertson J, Macdonald K (2010) Prevalence of bone loss in a population with cystic fibrosis. *Br J Nurs* 19: 636-639
153. Rommens JM, Iannuzzi MC, Kerem B, Drumm ML, Melmer G, Dean Abian O, Alfonso P, Velazquez-Campoy A, Giraldo P, Pocovi M, Sancho J. Therapeutic strategies for Gaucher disease: miglustat (NB-DNJ) as a pharmacological chaperone for glucocerebrosidase and the different thermostability of velaglucerase alfa and imiglucerase. *Mol Pharm.* 2011 Dec 5;8(6):2390-7
154. Rommens JM, Iannuzzi MC, Kerem B, Drumm ML, Melmer G, Dean M, Rozmahel R, Cole JL, Kennedy D, Hidaka N, et al. (1989) Identification of the cystic fibrosis gene: chromosome walking and jumping. *Science* 245: 1059-1065
155. 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.
156. Roussey M, Munck A. Questions soulevées et réponses apportées depuis la généralisation du dépistage néonatal de la mucoviscidose en France. *Arch Pediatr* 2009;16:540–2.

157. Rowe SM, Miller S, Sorscher EJ. Cystic fibrosis. *New Engl J Med* 2005;352:1992–2001.
158. Sakabe nj, De souza, SJ. Sequence features responsible for intron retention in human. *BMC Genomics* 2007, 8, 59.
159. Sanders DB, Zhang Z, Farrell PM, Lai HJ, Wisconsin CF. Neonatal Screening Group Early life growth patterns persist for 12-years and impact pulmonary outcomes in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros.*2018;17:528----35.
160. Sarles , *Archives de pédiatrie* 19,s20_s22 ,2012
161. Sato S, Ward CL, Krouse ME, Wine JJ, Kopito RR. Glycerol reverses the misfolding phenotype of the most common cystic fibrosis mutation. *J Biol Chem.* 1996, 271, 635-638.
162. Sausseureau., E. Utilisation des bactériophages comme thérapie lors d’une infection à *Pseudomonas aeruginosa* dans le cadre de la mucoviscidose : efficacité et innocuité. Thèse de doctorat : physiologie et physiopathologie. Université Pierre et Marie Curie, 2012, 29p.
163. Schindler T, Michel S, Wilson AW. Nutrition management of cystic fibrosis in the 21st century. *Nutr Clin Pract.* 2015;30:488---500.
164. Schwiebert, EM.; Benos, DJ.; Egan, ME.; Stutts, MJ.; and Guggino, WB.; (1999). CFTR is a conductance regulator as well as a chloride channel . *Physiol Rev.* 79: 145-66.
165. Scotet V, Dugueperoux I, Audrezet M, Audebert-Bellanger S, Muller M, Blayau M, C. F (2010) Focus on cystic fibrosis and other disorders evidenced in fetuses with sonographic finding of echogenic bowel: 16-year report from Brittany, France. *Am J Obstet Gynecol* 203.: 592 e591-596
166. Sermet-Gaudelus I, Lenoir G. Mucoviscidose: de la physiopathologie aux nouvelles thérapies. *Arch. Pédiatrie Organe Off. Société Française Pédiatrie.* mai 2012;19 Suppl 1:S1-.
167. Sermet-Gaudelus I, Mayell SJ, Southern KW, European Cystic Fibrosis Society (ECFS), Neonatal Screening Working Group. Guidelines on the early management of infants diagnosed with cystic fibrosis Turk D, Braegger CP, Colombo C, Declerq D, Morton A, Pancheva R, et al. ESPEN-ESPGHAN-ECFS guidelines on nutrition care for infants, children, and adults with cystic fibrosis. *Clin Nutr.*2016;35:557---7-7.
168. Sermet-Gaudelus I, Mayell SJ, Southern KW, European Cystic Fibrosis Society (ECFS), Neonatal Screening Working Group. Guidelines on the early management of infants diagnosed with cystic fibrosis following newborn screening. *J Cyst Fibros.* 2010;9:323---9.

169. Smyth AR, Bell SC, Bojcin S, Bryon M, Duff A, Flume P, et al. European Cystic Fibrosis Society standards of care: best practice guidelines. *J Cyst Fibros*. 2014;13:S23---42
170. Snouwaert JN, Brigman KK, Latour AM, Malouf NN, Boucher RC, Smithies O, Koller BH. An animal model for cystic fibrosis made by gene targeting. *Science*. 1992 Aug 21; 257(5073):1083-8.
171. Starner TD, McCray PB, Jr. (2005) Pathogenesis of early lung disease in cystic fibrosis: a window of opportunity to eradicate bacteria. *Annals of internal medicine*: 816-822
172. Steiner B, Truninger K, Sanz J, Schaller A, Gallati S. The role of common single-nucleotide polymorphisms on exon 9 and exon 12 skipping in nonmutated CFTR alleles. *Hum Mutat*. 2004, 24, 120-129.
173. Stephenson AL, Stanojevic S, Sykes J, Burgel P-R. The changing epidemiology and demography of cystic fibrosis. *Presse Med* Jun 2017; 46(6 Pt 2):e87-95. <https://doi.org/10.1016/j.lpm.2017.04.012>.
174. Stotland PK, Radzioch D, Stevenson MM. Mouse models of chronic lung infection with *Pseudomonas aeruginosa*: models for the study of cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol*. 2000 Nov; 30(5):413-24.
175. Strong tv, Smit LS, Turpin SV, Cole JL, Tom hon C, Markiewicz D, Petty TL, Craig MW, Rosenow EC III, Tsui L-P, Iannuzzi MC, Knowles MR, Collins FS. Cystic fibrosis gene mutation in two sisters with mild disease and normal sweat electrolyte levels. *N Engl J Med*. 1991, 325, 1630-1634.
176. Strong TV, Wilkinson DJ, Mansoura MK, Devor DC, Henze K, Yang Y, Wilson JM, Cohn JA, Dawson DC, Frizzell RA. Expression of an abundantly alternatively spliced form of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene is not associated with a cAMP-activated chloride conductance. *Hum Mol Genet*. 1993, 2, 225-230.
177. Subbarao P, Milla C, Aurora P, Davies JC, Davis SD, Hall GL, et al. Multiple-breath washout as a lung function test in cystic fibrosis. A Cystic Fibrosis Foundation Workshop report. *Ann Am Thorac Soc*. 2015;12:932---9.
178. Subbarao P, Milla C, Aurora P, Davies JC, Davis SD, Hall GL, et al. Multiple-breath washout as a lung function test in cystic fibrosis. A Cystic Fibrosis Foundation Workshop report. *Ann Am Thorac Soc*. 2015;12: s following newborn screening. *J Cyst Fibros*. 2010;9:323---9.

179. Sugnet CW, Kent WJ, Ares MJR, Haussler D. Transcriptome and genome conservation of alternative splicing events in humans and mice. *Pac Symp Biocomput.* 2004, 9, 66-77.
180. Sun H, Chasin L.A. Multiple splicing defects in an intronic false exon. *Mol Cell Biol.* 2000, 20, 6414-6425.
181. Taccetti G, Campana S, Festini F, Mascherini M, Doring G (2005) Early eradication therapy against *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis patients. *The European respiratory journal* 26: 458-461
182. Tarran R, Grubb BR, Gatzky JT, et al: The relative roles of passive surface forces and active ion transport in the modulation of airway surface liquid volume and composition. *J Gen Physiol* 2001a; 118: 223–236.
183. Tarran R, Grubb BR, Parsons D, et al: The CF salt controversy: in vivo observations and therapeutic approaches. *Mol Cell* 2001b; 8: 149 –158.
184. Therrell, B.L., Jr., et al. Immunoreactive Trypsinogen (IRT) as a Biomarker for Cystic Fibrosis: challenges in newborn dried blood spot screening. *Mol Genet Metab*, 2012. 106(1): p. 1-6.
185. Thomas PJ, Shenbagamurthi P, Sondak J, Hullihen JM, Pedersen PL. The cystic fibrosis transmembrane conductance regulator. Effects of the most common cystic fibrosis-causing mutation on the secondary structure and stability of a synthetic peptide. *J Biol Chem.* 1992, 267, 5727-5730.
186. Tiddens HA, Rosenow T. What did we learn from two decades of chest computed tomography in cystic fibrosis? *Pediatr Radiol.* 2014;44:1490---5.
187. Tsui LC. The cystic fibrosis transmembrane regulator gene. *Am J Respir Crit Care Med.* 1995, 151, 47-53.
188. Tsui L, Buchwald M, Barker D, Braman J, Knowlton R, Schumm J, Eiberg H, Mohr J, Kennedy D, Plavsic N (1985) Cystic fibrosis locus defined by a genetically linked polymorphic DNA marker. *Science* 1054-1057
189. Turck D, Braegger CP, Colombo C, Declerq D, Morton A, Pancheva R, et al. ESPEN-ESPGHAN-ECFS guidelines on nutrition care for infants, children, and adults with cystic fibrosis. *Clin Nutr.* 2016;35:557---77.
190. van den Akker-van Marle ME, Dankert HM, Verkerk PH, et al. Cost-effectiveness of 4 neonatal screening strategies for cystic fibrosis. *Pediatrics* 2006;118: 896-905.)

191. van Doorninck JH, French PJ, Verbeek E, Peters RH, Morreau H, Bijman J, Scholte BJ. A mouse model for the cystic fibrosis delta F508 mutation. *EMBO J*. 1995 Sep 15; 14(18):4403-11.
192. Van Goor F, Straley KS, Cao D, González J, Hadida S, Hazlewood A, Joubran J, Knapp T, Makings LR, Miller M, Neuberger T, Olson E, Panchenko V, Rader J, Singh A, Stack JH, Tung R, Grootenhuis PD, Negulescu P. Rescue of DeltaF508-CFTR trafficking and gating in human cystic fibrosis airway primary cultures by small molecules. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2006 Jun;290(6):L1117-30.
193. Vankeerberghen A, Cuppens H, Cassiman JJ (2002) The cystic fibrosis transmembrane conductance regulator: an intriguing protein with pleiotropic functions. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society* 1: 13-29
194. Vergani P, Lockless SW, Nairn AC, Gadsby DC. CFTR channel opening by ATP-driven tight dimerization of its nucleotide-binding domains. *Nature*. 2005;433(7028):876-8-0.
195. Weidler, S., et al. A product of immunoreactive trypsinogen and pancreatitis-associated protein as second-tier strategy in cystic fibrosis newborn screening. *J Cyst Fibros*, 2016. 15(6): p. 752-758.
196. Weiss DJ, Pilewski JM. The status of gene therapy for cystic fibrosis. *Semin Respir Crit Care Med*. 2003 Dec;24(6):749-70.
197. Welch EM, Barton ER, Zhuo J, Tomizawa Y, Friesen WJ, Trifillis P, Paushkin S, Patel M, Trotta CR, Hwang S, Wilde RG, Karp G, Takasugi J, Chen G, Jones S, Ren H, Moon YC, Corson D, Turpoff AA, Campbell JA, Conn MM, Khan A, Almstead NG, Hedrick J, Mollin A, Risher N, Weetall M, Yeh S, Branstrom AA, Colacino JM, Babiak J, Ju WD, Hirawat S, Northcutt VJ, Miller LL, Spatrack P, He F, Kawana M, Feng H, Jacobson A, Peltz SW, Sweeney HL (2007) PTC124 targets genetic disorders caused by nonsense mutations. *Nature* 447: 87-91
198. Welsh M & Smith A. (1995). Cystic fibrosis. *Sci Am* 273, 52-59.
199. Welsh MJ, Smith AE (1993) Molecular mechanisms of CFTR chloride channel dysfunction in cystic fibrosis. *Cell* 73: 1251-1254
200. Welsh MJ, Ramsey BW, Accurso F, Cutting GR. Cystic fibrosis. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. *Metabolic and molecular bases of inherited disease*. 8th ed. pp. 5121-5188. New York : McGraw-Hill, 2001 : 5121-88.

201. Wills PJ, Hall RL, Chan W, Cole PJ (1997) Sodium chloride increases the ciliary transportability of cystic fibrosis and bronchiectasis sputum on the mucus-depleted bovine trachea. *The Journal of clinical investigation* 99: 9-13
202. Wilschanski M, Miller LL, Shoseyov D, Blau H, Rivlin J, Aviram M, Cohen M, Armoni S, Yaakov Y, Pugatsch T, Cohen-Cymberknoh M, Miller NL, Reha A, Northcutt VJ, Hirawat S, Donnelly K, Elfring GL, Ajayi T, Kerem E (2011) Chronic ataluren (PTC124) treatment of nonsense mutation cystic fibrosis. *The European respiratory journal* 38: 59-69
203. Yahiya., M. Diagnostic, physiopathologie et génétique de la mucoviscidose dans la population de l'Est et sud Algérien [gène CFTR et l'absence bilatérale des canaux déférents(ABCD)].Thèse de doctorat : physiologie animale. Université Mentouri Constantine, 2007, 19-24p.
204. Yoshimura K, akamura H, Trapnell BC, Dalemans W, Pavirani A, Lecocq JP, Crystal RG. The cystic fibrosis gene has «housekeeping»-type promoter and is expressed at low levels in cells of epithelia origin. *J Biol Chem* 1 99 1; 266: 9 1 40-4.
205. ZIELENSKI J. Genotype and Phenotype in Cystic Fibrosis. *Respiration* 2000, 67, 117-133.
206. Zielenski, J., Rozmahel, R., Bozon, D., Kerem, B., Grzelczak, Z., Riordan, J. R., Rommens, J. Tsui, L. C. (1991). "Genomic DNA sequence of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene." *Genomics*. 10(1): 214-228.
207. Zielenski, J.; and Tsui, LC.; (1995). Cystic fibrosis: genotypic and phenotypic variations *Ann Rev Genet*. 29: 777-507.
208. Zolin A, McKone E, van Rens J. ECFSPR annual report 2014. Available from: https://www.ecfs.eu/sites/default/files/general-content-files/working-groups/ecfs-patient-registry/ECFSPR_Annual%20Report%202014_Nov2016.pdf; 2016.

Références électroniques (Sites internet)

<https://fr.dreamstime.com/mucoviscidose-sympt>

[http://www.genet.sickkids.on.ca/données de septembre 2017 / ORF : \(open reading frame\)](http://www.genet.sickkids.on.ca/donnees-de-septembre-2017/orf)

www.pneumo-adeq2.org

Présenté par : DEBBAR Hadjer

Année universitaire : 2020/2021

HACHILI Rawnak

Protocole de dépistage néonatal systématique de la mucoviscidose

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Génétique .

La mucoviscidose c'est la maladie génétique autosomique récessive la plus répandue dans la population d'origine caucasienne. Cette maladie est causée par un défaut du gène *CFTR* qui code pour la protéine CFTR

La protéine CFTR est un canal chlorure situé dans la membrane cellulaire épithéliale

Un défaut dans ce canal provoque des perturbations hydroélectriques et est à l'origine d'une viscosité excessive

Il est recommandé de faire un test de la sueur pour permettre une intervention et un traitement précoces des maladies respiratoires et nutritionnelles

La première partie de ce travail (la partie théorique) nous avons parlé de cette maladie en général et nous avons parlé du gène et de la protéine qui cause cette maladie

Dans la deuxième partie de la thèse, qui est (la partie pratique), En raison de la situation sanitaire dans notre pays d'Algérie après la propagation de la pandémie de Covid 19, nous n'avons pas eu la chance de terminer un travail d'application pour notre mémoire et nous nous sommes contentés de rechercher les dernières méthodes utilisées dans certains pays développés comme l'Espagne pour diagnostiquer la mucoviscidose par le dépistage néonatal, nous avons conclu à travers ce travail que le meilleur protocole en place dans la plupart des pays est la trypsine immunoréactive (TIR) en conjonction avec le test génétique, et le test de la sueur.

Mots clés la mucoviscidose, gène CFTR, mutations génétiques, PCR

Jury d'évaluation :

Président : Dr. REZGOUNE Med larbi- MCA- Université Frères Mentouri, Constantine 1.

Encadreur : Dr. CHETTOUM Aziz- MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1.

Examineur : Dr. GHARZOULI Razika- MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1.

Date de soutenance : /09/2021

