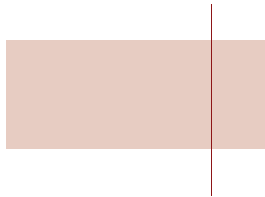


Spectrométrie de masse en tandem et dépistage néonatal des erreurs innées du métabolisme

Rapport technique

AGENCE D'ÉVALUATION DES TECHNOLOGIES
ET DES MODES D'INTERVENTION EN SANTÉ





Spectrométrie de masse en tandem et dépistage néonatal des erreurs innées du métabolisme

Rapport technique

Rapport préparé par

**Héla Makni, Carole St-Hilaire,
Laura Robb, Kathy Larouche et
Ingeborg Blancquaert**

Mars 2007

Le contenu de cette publication a été rédigé et édité par l'Agence d'évaluation des technologies et des modes d'intervention en santé (AETMIS). Ce document est également offert en format PDF dans le site Web de l'Agence.

RÉVISION SCIENTIFIQUE
D^{re} Ingeborg Blancquaert

MONTAGE
Sylvie Houle

VÉRIFICATION BIBLIOGRAPHIQUE
Denis Santerre

COORDINATION
Lise-Ann Davignon

COORDINATION DE LA LECTURE EXTERNE
Valérie Martin

BIBLIOTHÉCAIRES
Mathieu Plamondon
Fleurette Grégoire

COMMUNICATIONS ET DIFFUSION
Diane Guilbault
Richard Lavoie

Pour se renseigner sur cette publication ou toute autre activité de l'AETMIS, s'adresser à :

Agence d'évaluation des technologies et des modes d'intervention en santé
2021, avenue Union, bureau 10.083
Montréal (Québec) H3A 2S9

Téléphone : 514-873-2563
Télécopieur : 514-873-1369
Courriel : aetmis@aetmis.gouv.qc.ca
www.aetmis.gouv.qc.ca

Comment citer ce document :

Héla Makni, Carole St-Hilaire, Laura Robb, Kathy Larouche et Ingeborg Blancquaert. Spectrométrie de masse en tandem et dépistage néonatal des erreurs innées du métabolisme : rapport technique. (AETMIS 07-03a). Montréal : AETMIS, 2007, xxx-182 p.

Dépôt légal
Bibliothèque et Archives nationales du Québec, 2007
Bibliothèque et Archives Canada, 2007
ISBN 978-2-550-49352-5 (VERSION IMPRIMÉE)
ISBN 978-2-550-49550-5 (PDF)

© Gouvernement du Québec, 2007.

La reproduction totale ou partielle de ce document est autorisée, à condition que la source soit mentionnée.

NOTE AUX LECTEURS

Ce rapport technique est résumé dans un rapport sommaire produit à la demande du ministère de la Santé et des Services sociaux. Les deux rapports découlent de la même revue de la littérature et contiennent les mêmes sections, qui sont toutefois beaucoup plus détaillées dans le présent rapport, surtout en ce qui a trait à la revue sur les maladies considérées, aux aspects techniques de la spectrométrie de masse en tandem et aux différents enjeux liés à l'utilisation de cette technologie.



La spectrométrie de masse en tandem et le dépistage néonatal sanguin au Québec

Le présent rapport a été réalisé à la demande du ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS) à la suite des débats soulevés dans la communauté scientifique et des pressions en faveur de l'adoption de la spectrométrie de masse en tandem (MS/MS) pour le dépistage néonatal sanguin des erreurs innées du métabolisme. En effet, la MS/MS permet le dépistage simultané de plus d'une trentaine d'erreurs innées du métabolisme en une étape analytique unique, avec un débit d'analyse élevé. La demande du MSSS invitait l'AETMIS à évaluer la pertinence de recourir à la MS/MS dans le cadre du programme québécois de dépistage néonatal sanguin. Après un examen des revues systématiques et un survol des données québécoises disponibles, il a été convenu que l'AETMIS : 1) examinerait la pertinence de remplacer par la MS/MS les méthodes actuellement en vigueur pour le dépistage de la phénylcétonurie (PCU) et de la tyrosinémie héréditaire de type 1 (TH1) et d'introduire le dépistage néonatal du déficit en *Medium Chain Acyl-CoA Dehydrogenase* (MCADD); 2) analyserait les principaux enjeux éthiques, sociaux, économiques et organisationnels. L'élargissement du dépistage néonatal à d'autres maladies pourrait éventuellement faire l'objet d'un travail ultérieur.

Notre revue confirme l'importance d'une analyse au cas par cas pour chacune des maladies considérées, puisque les options envisageables dépendent des caractéristiques spécifiques de chacune, de l'état d'avancement des connaissances sur la maladie et de l'applicabilité des développements technologiques aux maladies d'intérêt. Même si les données comportent des lacunes, elles appuient l'utilité clinique du dépistage néonatal pour les trois maladies considérées. Quant à la pertinence d'implanter un dépistage par MS/MS au Québec, la situation diffère d'une maladie à l'autre : pour le MCADD, le dépistage néonatal passe obligatoirement par la MS/MS, dont la performance compte parmi les meilleures pour cette maladie; pour la PCU, la littérature semble indiquer que la MS/MS génère moins de faux positifs que la technologie actuelle, mais compte tenu des résultats notés au Québec, cet avantage ne serait pas substantiel. Toutefois, si la MS/MS est utilisée pour le dépistage du MCADD, le transfert technologique pour la PCU éviterait un dédoublement des étapes d'analyse et serait efficient d'après la littérature économique analysée. Pour la TH1, le dépistage néonatal par MS/MS sur la base du dosage de la tyrosine et de la succinylacétone semble prometteur, mais requiert des étapes de validation préalables. De plus, la pertinence du transfert technologique et le choix du moment le plus propice à sa réalisation dépendent, en plus des considérations scientifiques et techniques, d'un ensemble de facteurs d'ordre éthique, social, légal, économique et organisationnel. C'est pourquoi trois scénarios distincts sont proposés aux décideurs :

- 1) la réalisation d'une étude pilote;
- 2) le report de l'introduction de la MS/MS après la réalisation des études de validation nécessaires pour le dépistage de la TH1;
- 3) l'introduction de la MS/MS pour le dépistage de la PCU et du MCADD; ce dernier scénario prévoit, pour la TH1, soit le maintien des méthodes actuelles en attendant les résultats des études de validation, soit un remplacement technologique graduel.

Quel que soit le choix retenu, l'implantation de la MS/MS ne devra pas se faire de manière précipitée, d'autres questions d'ordre éthique, économique et organisationnel devant être résolues avant d'y procéder.

En remettant ce rapport, l'AETMIS souhaite contribuer à la prise de décision sur les politiques régissant le programme québécois de dépistage néonatal sanguin.

Dr Juan Roberto Iglesias, président-directeur général

REMERCIEMENTS

Le présent rapport a été préparé à la demande de l'Agence d'évaluation des technologies et des modes d'intervention en santé (AETMIS) par la D^{re} **Héla Makni**, M. Sc. (épidémiologie et biostatistiques), M^{mes} **Carole St-Hilaire**, économiste, Ph. D. (santé publique), **Laura Robb**, M. Sc. (conseil génétique), **Kathy Larouche**, M. Sc. (physiologie-endocrinologie) et la D^{re} **Ingeborg Blancquaert**, pédiatre, Ph. D. (épidémiologie), coordonnatrice du module de génétique et conseillère scientifique, toutes les cinq chercheuses consultantes à l'AETMIS.

L'AETMIS remercie vivement les lecteurs externes pour leurs précieuses suggestions et leur contribution à la qualité générale et à la rigueur de ce rapport d'évaluation :

M. Pierre Allard

Biochimiste, Service de génétique médicale, Centre hospitalier universitaire Sainte-Justine, Montréal (Québec)

M^{me} Denise Avard

Chercheure, Centre de recherche en droit public, faculté de droit, Université de Montréal, Montréal (Québec)

D^{re} Ségolène Aymé

Directrice de recherche, Institut national de la santé et de la recherche médicale (INSERM), Paris (France)

D^r David Cheillan

Praticien hospitalier, Unité de dépistage néonatal, Service de biochimie pédiatrique, Hôpital Debrousse, Lyon (France)

D^r Régen Drouin

Généticien, Service de génétique, et professeur agrégé, département de pédiatrie, faculté de médecine et des sciences de la santé, Université de Sherbrooke, Sherbrooke (Québec)

P^r Jean-Pierre Farriaux

Médecin et professeur honoraire de pédiatrie génétique médicale, Centre hospitalo-universitaire de Lille, Association française pour le dépistage et la prévention des handicaps de l'enfant (AFDPHE), France

M. Scott Grosse

Senior Health Economist, National Center on Birth Defects and Developmental Disabilities, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA (États-Unis)

D^r Serge Melançon

Directeur, Clinique médicale en génétique, Hôpital de Montréal pour enfants, et directeur, Service de génétique biochimique, Centre universitaire de santé McGill, Montréal (Québec)

L'Agence tient également à exprimer sa gratitude aux experts suivants, dont la contribution a permis d'enrichir le contenu de ce document :

MM. **Jean-Marie Lance**, M. Sc. (sciences économiques), conseiller scientifique principal à l'AETMIS, et **Lee Soderström**, Ph. D. (économie), professeur agrégé au département des sciences économiques de l'Université McGill, qui ont validé le volet économique;

M^{me} **Ghislaine Cleret de Langavant**, Ph. D. (bioéthique), chercheure consultante à l'AETMIS, qui a contribué à l'écriture et à la révision de certaines parties de ce rapport;

La D^{re} **Bridget Wilcken**, professeure, NSW Biochemical Genetics and Newborn Screening Service du Children's Hospital à Westmead, Sydney, Australie, et le D^r **François Rousseau**, professeur titulaire au département de biologie médicale de la faculté de médecine de l'Université Laval à Québec, qui ont bien voulu nous transmettre des données non publiées;

MM. **Pierre Allard** et **Raymond Lepage**, du département de biochimie clinique du Centre hospitalier de l'Université de Montréal, **Robert Giguère**, du Service génétique du Centre hospitalier de l'Université de Sherbrooke, et **Jean Ruel**, technicien de laboratoire, programme de dépistage du Centre hospitalier universitaire de Québec, qui nous ont transmis des informations sur la spectrométrie de masse en tandem et d'autres technologies utilisées pour le dépistage néonatal des erreurs innées du métabolisme.

DIVULGATION DE CONFLITS D'INTÉRÊTS

Aucun conflit à signaler.

RÉSUMÉ

Les erreurs innées du métabolisme (EIM) sont des maladies métaboliques héréditaires causées par des mutations au sein de gènes codant pour des enzymes jouant un rôle dans plusieurs voies métaboliques importantes. La majorité de ces maladies touchent le métabolisme des acides aminés, des acides gras ou des acides organiques. La transmission héréditaire des mutations est le plus souvent autosomique récessive. Bien que l'incidence individuelle de ces maladies soit faible (1:10 000-1:1 000 000), leur incidence collective (1:3 500) est élevée. Le fardeau de ces maladies sur le plan de la morbidité et de la mortalité infantile est donc considérable.

L'utilisation de la spectrométrie de masse en tandem (MS/MS) pour l'analyse néonatale des acides aminés et des acylcarnitines remonte au début des années 1990. Le potentiel que recèle cette technologie aux fins du dépistage néonatal a surtout été compris vers 1995, suite à la mise au point d'un protocole analytique permettant de quantifier en une étape analytique unique plus d'une trentaine d'erreurs innées du métabolisme des acides aminés, des acides gras ou des acides organiques. Certaines de ces maladies ne peuvent pas être dépistées par d'autres technologies. L'analyse se fait généralement en deux minutes sur un échantillon de sang séché prélevé au talon du nouveau-né quelques jours après sa naissance.

Plusieurs États européens et américains, de même que certaines provinces canadiennes, ont récemment réévalué leurs programmes de dépistage néonatal pour considérer la pertinence d'introduire la MS/MS et d'élargir les indications du dépistage à d'autres maladies. Dans plusieurs États, cette réévaluation a entraîné l'adoption de la technologie et un accroissement du nombre d'EIM incluses dans les programmes de dépistage néonatal, leur nombre variant de 2 à plus de 29 selon les régions. Au Canada, les décisions concernant le dépistage néonatal sont de compétence provinciale. Sept provinces canadiennes utilisent la MS/MS pour le dépistage néonatal de 3 à 28 EIM ou sont sur le point de l'introduire. Il est à noter cependant que peu d'États ont basé leurs décisions sur une évaluation systématique et rigoureuse des données probantes. C'est dans ce contexte que l'AETMIS a reçu un mandat du ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS) pour évaluer la pertinence d'introduire la MS/MS au Québec pour le dépistage néonatal sanguin des EIM. Après un examen attentif des revues de la littérature et un survol des données québécoises disponibles, il est convenu que l'AETMIS examinera dans un premier temps la pertinence : 1) de remplacer par la MS/MS les méthodes actuellement en vigueur pour le dépistage néonatal de la phénylcétonurie (PCU) et de la tyrosinémie héréditaire de type 1 (TH1); et 2) d'introduire le dépistage pour le déficit en *Medium Chain Acyl-CoA Dehydrogenase* (MCADD). L'élargissement du dépistage à d'autres maladies pourrait éventuellement faire l'objet d'un travail ultérieur.

Ce rapport présente successivement une description sommaire du programme de dépistage néonatal sanguin québécois, la méthodologie suivie pour la revue de la littérature, et la revue de l'évolution naturelle, l'épidémiologie et la prise en charge pour les trois maladies considérées, soit la PCU, la TH1 et le MCADD. Suivent une description détaillée de la technologie MS/MS et une analyse critique des données scientifiques sur la performance de la technologie. Viennent ensuite les aspects économiques ainsi que l'étude d'enjeux éthiques, sociaux et organisationnels liés à

l'implantation de cette technologie et enfin la discussion et les conclusions pouvant être tirées de cette revue exhaustive.

Le programme québécois de dépistage sanguin des maladies génétiques chez le nouveau-né (PQDSNN) cible tous les nouveau-nés québécois pour le dépistage de trois maladies génétiques, soit la PCU depuis 1969, la TH1 depuis 1970 et l'hypothyroïdie congénitale depuis 1974. Cette dernière n'est pas discutée dans ce rapport car elle n'est pas dépistable par la MS/MS. Le dépistage de la PCU repose sur le dosage de la phénylalanine par fluorométrie et celui de la TH1 nécessite deux dosages en première ligne, soit le dosage semi-quantitatif de la succinylacétone et le dosage de la tyrosine par fluorométrie, ainsi qu'un dosage quantitatif de la succinylacétone en deuxième ligne. Au Québec, la prévalence de la PCU est estimée à 4 cas sur 100 000 et celle de la TH1 à 6 sur 100 000. En raison d'un effet fondateur, la prévalence de la TH1 est de 54 sur 100 000 au Saguenay-Lac-St-Jean. Pour le MCADD, la prévalence au Canada a été estimée, à partir de la littérature mondiale, à 6 sur 100 000.

La PCU, la TH1 et le MCADD

La phénylcétonurie (PCU) est une maladie héréditaire causée par un déficit de l'enzyme phénylalanine hydroxylase provoquant une augmentation des taux de la phénylalanine dans le sang appelée phénylalaninémie. Les patients non traités présentent une déficience intellectuelle et des troubles neurologiques graves. Le gène impliqué est le *PAH*, c.-à-d. le gène codant pour l'enzyme phénylalanine hydroxylase, dans lequel au moins 524 mutations ont été identifiées. Parmi les affections causées par des mutations dans le gène *PAH*, deux formes principales sont généralement définies, soit la PCU et l'hyperphénylalaninémie non-PCU. Lorsque le résultat d'un test de dépistage s'avère positif, des tests de confirmation doivent être effectués afin de déterminer la cause précise de l'hyperphénylalanémie chez le nouveau-né. En effet, alors qu'un régime pauvre en phénylalanine doit être instauré le plus rapidement possible pour la PCU, la diète à vie n'est pas requise pour l'hyperphénylalanémie non-PCU. Les patients qui sont dépistés tôt et qui sous traitement normalisent leur taux de phénylalanine sérique ne souffrent pas d'atteintes neurologiques et ont un quotient intellectuel normal. Ainsi, les bénéfices d'un traitement instauré tôt pour la PCU sont bien établis. Il est maintenant conseillé de poursuivre ce traitement tout au long de la vie des patients, et un suivi par des experts est nécessaire afin de coordonner la surveillance des niveaux de phénylalanine sérique et de fournir le soutien et l'information nécessaires. Une attention particulière doit être accordée aux femmes en âge de procréer, puisque l'hyperphénylalaninémie maternelle peut avoir des conséquences nocives sur le développement du fœtus. La PCU est souvent considérée comme une maladie modèle au regard des buts et des résultats du dépistage néonatal, en place dans de nombreux pays depuis presque 40 ans.

La tyrosinémie héréditaire de type 1 (TH1) est une maladie métabolique résultant d'un déficit de la fumarylacétoacétate hydrolase (FAH), la dernière enzyme qui intervient dans la voie catabolique de la tyrosine. Le dysfonctionnement de l'enzyme FAH entraîne l'accumulation de métabolites de la tyrosine, dont la succinylacétone. L'accumulation de ces métabolites entraîne des effets toxiques hépatiques et rénaux ainsi que des crises neurologiques. Dans le gène codant pour la FAH, quelque 44 mutations ont été identifiées, mais une mutation située au niveau de l'intron 12 (IVS12+5g → a) explique la plupart des cas de TH1 dans la population canadienne-française et environ le tiers des cas dans le monde. Deux formes cliniques de TH1 ont été définies sur la base de la gravité de la maladie et de l'âge au diagnostic. La forme aiguë, qui représente environ 75 % des cas, apparaît le plus souvent dès les premières semaines de vie du nourrisson et

se manifeste par des signes d'insuffisance hépatique grave. Sans traitement, la majorité de ces enfants décèdent dans la première année de vie. La forme chronique se déclare habituellement après l'âge de six mois. Elle se caractérise par un dysfonctionnement hépatique et rénal et une croissance pondérale insuffisante. Le risque de développement d'un carcinome hépatique pourrait aller jusqu'à 37 % chez les enfants non traités. Dans les deux formes, les enfants peuvent présenter des crises neurologiques sévères, cause majeure de morbidité et de mortalité. Actuellement, le traitement de la TH1 repose sur un traitement pharmacologique à base de NTBC accompagné d'une diète restrictive en protéines, la greffe hépatique n'étant utilisée que lors de l'échec de la thérapie au NTBC. Une analyse préliminaire de données pan-québécoises colligées dans le cadre d'un essai clinique multicentrique évaluant l'efficacité du NTBC semble indiquer que le nombre de transplantations hépatiques et le nombre de décès ont diminué de façon statistiquement significative depuis l'introduction de ce traitement. Ces résultats démontrent l'importance d'un diagnostic précoce. Toutefois, les conséquences à long terme de ce traitement sont encore méconnues étant donné le recul limité (12 ans) dont on dispose en ce qui a trait à son utilisation. Bien que le dépistage néonatal universel de la TH1 au Québec ait été instauré avant qu'un traitement efficace (NTBC) ne soit disponible, les données accumulées depuis quelques années, quoique toujours préliminaires, semblent montrer qu'il existe un avantage réel à dépister cette maladie.

Le déficit en MCAD (*Medium Chain Acyl-CoA Dehydrogenase Deficiency* ou MCADD) résulte de la défaillance d'une enzyme, la MCAD, qui joue un rôle important dans la production d'énergie à partir des acides gras pendant les périodes de jeûne ou de stress métabolique. Ce déficit se caractérise par une accumulation dans le plasma d'acylcarnitines due au catabolisme incomplet des acides gras. Jusqu'à présent, plus de 30 mutations différentes ont été identifiées dans le gène codant pour cette enzyme. La mutation la plus commune (A985G) est retrouvée à l'état homozygote, c.-à-d. sur les deux allèles du gène, chez plus de 80 % des patients de populations d'origine européenne diagnostiqués sur la base des symptômes cliniques. Le jeûne, l'exercice ou les maladies infectieuses intercurrentes peuvent provoquer des symptômes aigus avec hypoglycémie et acidose métabolique. Les crises de décompensation métabolique graves peuvent progresser vers une encéphalopathie aigüe. La létalité associée à ces crises de décompensation métabolique est élevée et les séquelles neurologiques relativement fréquentes. Dans d'autres cas, la maladie se présente comme une mort subite inexplicable du nourrisson. Les formes moins graves se manifestent par de l'hypotonie, de la léthargie et des vomissements. La majorité des cas symptomatiques présentent des signes de la maladie entre l'âge de trois mois et de trois ans, mais selon certains auteurs, entre le tiers et le quart des personnes atteintes de MCADD demeureraient asymptomatiques toute leur vie. Plusieurs études tendent d'ailleurs à montrer que la maladie est sous-diagnostiquée lorsque aucun programme de dépistage néonatal n'est instauré dans une population. Le traitement, qui vise à minimiser les risques du jeûne, implique des prises fréquentes de nourriture, surtout dans les premiers mois de vie. La prise en charge des formes symptomatiques au moyen de mesures diététiques simples permet d'éviter dans une large mesure la récurrence des crises aiguës. Toutefois, il est difficile de tirer des conclusions quant au bénéfice du dépistage et de la prise en charge précoce pour l'ensemble des patients dépistés à partir du suivi de patients diagnostiqués cliniquement, puisque le spectre de la maladie diffère d'une situation à l'autre.

Avec l'instauration de programmes de dépistage du MCADD par la MS/MS, des données commencent à s'accumuler sur le pronostic de patients dépistés et pris en charge avant l'apparition de symptômes. La proportion de patients présentant dès leur jeune âge des crises métaboliques et le nombre de décès seraient plus faibles chez les nouveau-nés

détectés par dépistage néonatal que chez les enfants diagnostiqués en clinique. Avec les données actuellement disponibles, et ce, malgré leurs limites, la balance des bénéfices et des inconvénients penche en faveur du dépistage néonatal. En effet, les bénéfices d'un traitement précoce pour les patients gravement atteints sont tellement importants qu'ils semblent l'emporter sur l'incertitude entourant le bénéfice pour les patients qui le sont moins. Par ailleurs, plusieurs exercices de modélisation, ayant certes leurs limites, apportent un argument additionnel, soit celui du rapport coût-efficacité du dépistage.

La spectrométrie de masse en tandem

La spectrométrie de masse vise essentiellement à analyser qualitativement et quantitativement différents types de mélanges complexes de métabolites biologiques. L'identification de ces métabolites repose sur la mesure de la masse des molécules et de leurs fragments ionisés, qui sont séparés et quantifiés sur la base de leur ratio masse moléculaire/charge (m/z). Un spectromètre de masse en tandem contient deux spectromètres de masse séparés par une chambre de collision où les métabolites d'intérêt sont fragmentés. L'intérêt de ce dispositif est de coupler l'information en provenance des deux spectromètres de masse, le premier quantifiant les molécules intactes du mélange initial, le second leurs fragments, ce qui permet l'identification des métabolites d'intérêt. Les résultats de l'analyse par MS/MS sont présentés dans un graphique appelé « spectre de masse », où l'abscisse représente les différents ratios m/z et l'ordonnée représente la quantité d'ions. La complexité inhérente à la technologie MS/MS implique une multitude d'options de programmation et d'utilisation. Cette technologie peut entre autres être utilisée en mode balayage pour détecter tous les profils métaboliques liés à une famille de maladies, ou de façon sélective pour dépister des erreurs innées du métabolisme particulières. Dans le cadre du dépistage néonatal des EIM, le protocole le plus fréquemment utilisé est l'analyse commune du profil des acides aminés et des acylcarnitines, qui permet de dépister simultanément plus d'une trentaine de maladies. Le caractère automatisé de la technologie en fait une technologie adaptée à un débit élevé pouvant aller jusqu'à 600 échantillons par 24h. De plus, de très faibles quantités de métabolites peuvent être détectées, séparées et identifiées. Plusieurs inconvénients de la technologie sont toutefois signalés. Ceux-ci concernent en premier lieu les exigences techniques, qui sont assez lourdes et qui impliquent que des précautions soient prises depuis le prélèvement des échantillons sanguins jusqu'à l'interprétation des résultats. Certaines limites dérivent de l'application particulière de la MS/MS au dépistage néonatal, soit en raison de la nature du substrat, soit en raison du moment du prélèvement. Enfin, nombre de problèmes d'interprétation se posent sur le plan du diagnostic différentiel entre les métabolites ciblés et des contaminants ou entre différentes maladies.

La technologie est encore en constante évolution sur le plan des procédés analytiques. Parmi les changements technologiques à l'horizon susceptibles de modifier la performance de la MS/MS de manière notable, citons l'intégration de l'analyse de la succinylacétone au protocole déjà utilisé pour l'analyse de la tyrosine et la suppression de l'étape de la butylation dans la préparation des échantillons. La performance de ces nouvelles approches devra être rigoureusement évaluée avant implantation. De plus, le caractère évolutif de la technologie renforce l'importance de bien considérer les choix technologiques lors de l'implantation, de procéder à la validation analytique de toute modification des protocoles et d'instaurer des mécanismes continus d'assurance de la qualité.

La performance de la MS/MS

Notre revue des données scientifiques sur la performance de la MS/MS pour le dépistage néonatal repose sur l'étude de trois revues systématiques de la littérature et sur l'analyse d'études primaires plus récentes. Une attention particulière a été accordée aux études relatives à la performance de la MS/MS pour le dépistage sélectif de la PCU, de la TH1 ou du MCADD. Sur le plan de la qualité des études, plusieurs réserves sont à signaler, tant en ce qui concerne les plans d'étude que la sélection de la population étudiée, les conditions de prélèvement et de transport des échantillons, la nature des tests de confirmation diagnostique et les méthodes d'analyse et de présentation des résultats. Les données disponibles proviennent majoritairement d'études de cohortes prospectives réalisées dans le cadre de programmes de dépistage néonatal. Cependant, il est difficile de réaliser des essais cliniques ou des études comparatives prospectives avec une cohorte témoin appropriée dans le contexte du dépistage néonatal des EIM en raison du nombre important de nouveau-nés requis compte tenu de la rareté de chaque maladie et de la longueur du suivi nécessaire. Quelques rares études rétrospectives ont comparé la performance de la MS/MS à celle de la fluorométrie, le test actuellement utilisé pour le dépistage de la PCU au Québec.

Les méthodes de sélection des sujets, les critères d'admissibilité appliqués et les caractéristiques des nouveau-nés sur le plan de l'ethnicité, de l'âge gestationnel, du poids et de l'état à la naissance ainsi que du nombre de perdus de vue ont rarement été bien décrits. Ces limites concernant la population étudiée laissent planer un doute sur l'exportabilité des résultats à d'autres populations. Outre les différences de prévalence entre régions, les éléments potentiellement les plus importants pour la MS/MS sont la proportion de nouveau-nés de faible poids à la naissance, prématurés, traités par certains antibiotiques, ou ayant reçu une transfusion, des vitamines ou une hyperalimentation parentérale.

En ce qui concerne les conditions de prélèvement de l'échantillon de sang séché, l'âge au prélèvement fluctue d'une étude à l'autre, et la durée d'alimentation au moment du prélèvement sanguin n'est jamais précisée. Or, il est important de considérer ces facteurs, puisque les concentrations de métabolites changent avec le temps et avec l'apport alimentaire durant la période néonatale.

La littérature révèle une très grande variation dans le choix des marqueurs métaboliques, des valeurs seuils, des protocoles de classification des résultats la MS/MS et des tests de confirmation diagnostique pour une même maladie. Cette variation est à l'origine de la grande hétérogénéité dans la littérature et rend difficile la comparaison entre les résultats des différentes études. Le problème des protocoles et des tests de confirmation diagnostique est inhérent à la nature de ce groupe de maladies métaboliques, dont le diagnostic est souvent fondé sur une série de tests, et non sur un test unique et repose généralement sur une interprétation de l'ensemble des résultats et du tableau clinique de chaque patient par un spécialiste en maladies métaboliques. Une comparaison systématique des résultats du test étudié avec un test de référence (*gold standard*), comme l'exige classiquement l'évaluation des tests diagnostiques, est donc difficile en raison du nombre d'EIM, mais aussi de la nature de la démarche diagnostique.

Les études n'ont généralement pas indiqué de faux négatifs et n'ont pas inclus une longue période d'observation ni considéré des méthodes rigoureuses appliquées au moins à un échantillon aléatoire de nouveau-nés pour s'assurer qu'ils n'ont pas manqué des enfants atteints d'EIM. De plus, les tests de confirmation diagnostique n'ont été réalisés que pour les patients ayant eu un test MS/MS positif. Ainsi, la sensibilité et la valeur prédictive

négative du test MS/MS peuvent avoir été surestimées, ce qui constitue de loin la limite principale des études révisées. Des biais de révision et d'incorporation sont aussi plausibles.

Les résultats des différentes études révisées indiquent que, globalement, la sensibilité, la valeur prédictive négative et la spécificité du test MS/MS sont élevées, que ce soit pour le dépistage de groupes de maladies ou pour le dépistage néonatal sélectif de la PCU, de la TH1 ou du MCADD. Rappelons toutefois que l'appréciation de la sensibilité et de la valeur prédictive négative du test MS/MS demeure limitée par la qualité des plans d'étude utilisés. Par ailleurs, une variabilité considérable de la valeur prédictive positive a été notée d'une étude à l'autre malgré des différences minimales généralement observées dans la prévalence des EIM. L'hétérogénéité des caractéristiques des populations étudiées, de l'âge au prélèvement des échantillons sanguins, des choix des marqueurs métaboliques, des valeurs seuils, des protocoles de classification des résultats de la MS/MS, et des tests de confirmation diagnostique peut influencer la spécificité du test et expliquer la variabilité de la valeur prédictive positive.

Sur le plan des protocoles d'analyse, des particularités sont à souligner pour chacune des trois maladies considérées dans ce rapport. Tout d'abord, les bénéfices du dépistage néonatal de la PCU par la MS/MS reposent sur l'utilisation du ratio phénylalanine/tyrosine, grâce à l'analyse simultanée de ces deux acides aminés, comme l'ont souligné plusieurs auteurs. Pour la TH1, l'utilisation de la MS/MS n'est envisageable qu'en ajoutant le dosage de la succinylacétone à celui de la tyrosine. Toutefois, la quantification de la succinylacétone par la MS/MS n'a été évaluée que par une seule étude et pose des problèmes organisationnels puisque une étape supplémentaire d'extraction et une analyse séparée des autres métabolites sont requises. Ces problèmes organisationnels pourraient être résolus par une adaptation de la méthode proposée récemment qui doit encore être validée. Enfin, pour le MCADD, l'utilisation des ratios C8/C2, C8/C6 et (ou) C8/C10 comme complément au métabolite C8 s'avère indispensable, puisqu'elle améliore la spécificité et la valeur prédictive positive du test MS/MS.

Enfin, les résultats de performance doivent être interprétés comme des indicateurs de la validité de la MS/MS, c.-à-d. de sa capacité à classer correctement les nouveau-nés sur la base des anomalies biochimiques recherchées. Le nombre de vrais positifs relevés dans les programmes de dépistage néonatal n'équivaut pas directement au nombre d'enfants qui auront besoin d'un traitement à vie. Tous devront cependant bénéficier d'un protocole de confirmation diagnostique et être suivis par une équipe spécialisée.

Les aspects économiques

La revue de la littérature économique vise à rendre compte des coûts et des rapports coût-efficacité et coût-utilité du dépistage néonatal sanguin par la MS/MS. Cette littérature se caractérise par une grande variabilité dans les EIM considérées, les données d'incidence, les probabilités d'incapacités neurologiques et de décès chez les enfants atteints de MCADD et n'ayant pas eu de dépistage et les mesures d'efficacité retenues. Les évaluations tendent toutes à montrer l'efficacité de la MS/MS pour le dépistage néonatal de plusieurs EIM, surtout lorsqu'elles ne peuvent être dépistées autrement, comme le MCADD. En fait, toutes les études s'accordent sur l'efficacité de la MS/MS à partir du moment où au moins deux maladies sont dépistées. Soulignons enfin qu'aucune évaluation économique ne portait spécifiquement sur l'efficacité du dépistage de la TH1 par la MS/MS.

La section économique fournit également des indications budgétaires sur certains coûts d'investissement et de fonctionnement inhérents à ce genre de dépistage. Une approche d'estimation des effets budgétaires a ainsi été retenue pour évaluer les coûts du dépistage par la MS/MS de la PCU, de la TH1 et du MCADD. Dans la mesure du possible, des coûts différentiels ont été estimés en dépit des difficultés que pose la reconstitution des coûts de la pratique de dépistage actuelle. Des coûts différentiels annuels équivalents (CDAE) ont ensuite été estimés, ces derniers permettant de répartir sur plusieurs années les investissements considérables que représentent l'acquisition des appareils de MS/MS et autres instruments ainsi que l'aménagement des locaux. Le CDAE exprime donc la valeur annuelle des ressources utilisées dans le cadre du dépistage néonatal sanguin par la MS/MS. Les résultats montrent que, dans un contexte québécois, ce dépistage coûterait annuellement environ 255 231 \$CA pour un laboratoire de dépistage néonatal, les coûts les plus importants étant ceux des appareils de MS/MS, de l'appareillage de soutien, et du temps des techniciens de laboratoire. Les variations des coûts selon la durée de vie des appareils, la nature du contrat d'entretien et le nombre d'équivalents temps complet des techniciens sont présentés. Il importe enfin de souligner que notre estimation n'inclut pas les frais liés à la collecte des échantillons, à l'interprétation des résultats, au maintien de la banque de données, à la confirmation diagnostique et au suivi des patients et des familles. Ceux-ci seraient sensiblement les mêmes qu'avec les méthodes de dépistage actuelles.

Les enjeux liés au dépistage néonatal

De nombreux enjeux éthiques, psychosociaux et organisationnels sont soulevés dans la littérature quant à l'utilisation de la MS/MS pour le dépistage néonatal. Ceux-ci ont été traités par rubriques, selon qu'ils concernaient les répercussions de l'incertitude liée au dépistage néonatal, celles de l'information générée par le dépistage néonatal, les risques de stigmatisation, le consentement, les lacunes dans les connaissances des professionnels, les répercussions sociétales, l'interface entre la recherche et les programmes de dépistage, et les enjeux organisationnels. La plupart des enjeux soulevés sont pertinents, quelle que soit la technologie utilisée pour le dépistage néonatal. Quelques questions seulement sont exacerbées avec le recours à la MS/MS pour le dépistage des trois maladies d'intérêt.

Si l'on considère l'introduction du dépistage néonatal par la MS/MS spécifiquement pour les trois maladies d'intérêt, les enjeux suivants sont susceptibles de revêtir une signification particulière :

- 1) les répercussions de l'incertitude, avec d'une part une réduction possible du nombre de faux positifs pour la PCU, et d'autre part davantage de nouveau-nés recevant un diagnostic de MCADD sans que la pénétrance et le pronostic à long terme soient bien connus;
- 2) le consentement, pour lequel la procédure optimale et ses implications sur le plan de l'offre des services n'ont pas été établies;
- 3) l'offre de services, avec un besoin accru de services de conseil génétique et de suivi par des experts en maladies métaboliques pour le nombre additionnel d'enfants atteints de MCADD qui seront identifiés;
- 4) l'éducation des professionnels de la santé, avec des besoins accrus de professionnels de première ligne formés pour fournir l'information sur le MCADD avant le dépistage et pour assurer le suivi des patients dépistés en bas âge.

Des problèmes plus aigus se posent toutefois avec la possibilité d'élargir le dépistage à un grand nombre de maladies, en particulier quand l'évolution naturelle et la preuve des bénéfices du traitement précoce sont moins bien établies. Sur ce plan, certains auteurs favorisent le maintien de l'approche classique énoncée en 1968 dans les critères de Wilson et Jungner, qui placent le nouveau-né au centre de l'évaluation des avantages et des inconvénients. D'autres pensent plutôt qu'il est nécessaire d'élargir ces critères afin de prendre en considération les bénéfices familiaux au chapitre des choix de procréation éclairés. Compte tenu de la diversité des maladies sur le plan de l'expression phénotypique et de la pénétrance des mutations, il demeure important d'évaluer chaque erreur innée du métabolisme séparément. Toutefois, certains auteurs proposent une approche plus globale, puisque le dépistage néonatal d'une de ces maladies peut en révéler une autre non ciblée par le dépistage. Cette dernière possibilité soulève par ailleurs un problème concret de gestion des résultats et suscite, ici encore, des avis partagés. Ces débats contribuent à la diversité des procédures adoptées par différents pays, diversité qui pourrait aussi s'expliquer par des différences dans l'organisation et le financement des services de dépistage néonatal, la qualité discutable de la littérature et de l'information qui en découle, l'absence de standardisation quant aux critères de dépistage néonatal et la diversité des affiliations professionnelles des membres des comités évaluant ces critères.

Pour faire face aux enjeux soulevés par le passage à la MS/MS et l'élargissement du dépistage néonatal, que ce soit pour le MCADD considéré dans un premier temps ou pour un éventail plus large de maladies, les approches suivantes sont préconisées : de meilleures stratégies de communication avec les patients, le renforcement des efforts de formation des professionnels de la santé, et l'organisation du dépistage néonatal sous forme d'un système intégré de services comprenant un système de surveillance global avec des collectes de données sur l'état de santé des patients et sur l'utilisation des services. Ces approches sont liées, en ce sens qu'une amélioration du niveau de connaissance des professionnels de la santé mènerait à court terme à une meilleure information des patients et réduirait d'autant l'importance des enjeux concernant l'incertitude, l'information et le consentement. À long terme, un système intégré de dépistage néonatal conduirait à un accroissement des connaissances relatives aux maladies et à une réduction de l'incertitude quant à l'interprétation des tests et au pronostic. Il s'ensuit qu'une information plus complète et de meilleure qualité serait disponible pour les patients, les professionnels et les gestionnaires du système de santé. Parmi les défis associés aux systèmes intégrés de dépistage néonatal figurent les contraintes législatives régionales, les enjeux portant sur la protection et la confidentialité des informations, le financement et l'entretien à long terme de l'équipement, la disponibilité de l'expertise et des ressources financières et humaines nécessaires, ainsi que la volonté politique et l'atteinte d'une vision partagée des objectifs et des moyens à mettre en œuvre.

Discussion

Sur le plan de l'utilité clinique pour les patients et leurs familles, le dépistage néonatal est justifié pour les trois maladies considérées, et ce, malgré les lacunes des données et la diversité des enjeux soulevés par chacune d'elles. Pour le MCADD, le dépistage néonatal passe obligatoirement par la MS/MS, dont la performance compte parmi les meilleures pour cette maladie. Toutefois, il sera indispensable de réévaluer de façon périodique les bénéfices du dépistage néonatal de cette maladie par une collecte continue de données. Pour la PCU, l'utilisation de la MS/MS n'améliorerait pas notablement le

niveau de performance du dépistage néonatal enregistré actuellement au Québec, mais ne le compromettrait probablement pas. Si la MS/MS était utilisée pour le dépistage du MCADD, le transfert technologique pour le dépistage de la PCU éviterait un dédoublement des étapes d'analyse et serait sans doute moins coûteux que de poursuivre en parallèle la méthode d'analyse actuelle. De nouvelles approches pour le dépistage néonatal de la TH1, sur la base du dosage de la tyrosine et de la succinylacétone, semblent prometteuses mais doivent cependant encore être validées.

La pertinence d'implanter le dépistage par la MS/MS au Québec et le choix du moment le plus propice pour procéder à l'implantation dépendent, en plus des considérations scientifiques et techniques, d'un ensemble de facteurs d'ordre éthique, social, légal, économique et organisationnel. Certains de ces aspects sont abordés dans la présente évaluation, d'autres débordent du cadre de ce travail. C'est pourquoi trois options sont présentées ci-dessous avec discussion de leurs avantages et inconvénients.

Le premier scénario propose la réalisation d'une étude pilote sur plusieurs années sur le dépistage des trois maladies. Une telle étude nécessitera l'énonciation d'objectifs clairs et l'établissement d'un plan d'étude rigoureux et d'une planification minutieuse. Un tel projet engagerait des coûts considérables, et ses répercussions sur le déroulement du programme de dépistage néonatal actuel méritent réflexion. Il est à noter que le terme «projet pilote» réfère à un large spectre d'options en matière de plans d'étude. Ainsi, une interprétation minimaliste correspondrait à une phase pilote pré-implantation avec réalisation concomitante des deux techniques de dépistage, soit la MS/MS et les techniques classiques, pour la PCU et la TH1. L'avantage en serait de permettre une évaluation sur le terrain des coûts liés aux méthodes actuelles et à la MS/MS, une comparaison de la performance des deux méthodes analytiques pour la PCU et la TH1, et une collecte de données épidémiologiques, génétiques et cliniques pour le MCADD. Les données épidémiologiques et génétiques contribueraient à l'avancement des connaissances sur cette maladie, mais il n'en serait pas nécessairement de même pour les données cliniques. En effet, une telle étude comporterait les mêmes limites que les recherches réalisées ailleurs dans le cadre de programmes de dépistage néonatal. À l'autre extrémité du spectre, on peut envisager une étude pilote comparative avec un groupe témoin qui n'aurait pas de dépistage néonatal par la MS/MS mais bénéficierait d'une organisation comparable des services diagnostiques. Outre les avantages précités, une étude pilote comparative permettrait d'évaluer les bénéfices cliniques du dépistage néonatal du MCADD. La réalisation d'études pilotes de ce dernier type avait été proposée en 1997 par les auteurs britanniques des revues systématiques de la littérature, mais elles n'ont été mises en œuvre que récemment, principalement à cause de contraintes budgétaires. En mars 2004, on a entrepris au Royaume-Uni une étude prospective visant le dépistage de 700 000 nouveau-nés, soit environ la moitié des naissances au cours d'une période de recrutement de deux ans, avec une surveillance systématique pendant quatre à cinq ans pour repérer tous les enfants atteints à l'échelle du pays. Chaque enfant atteint sera suivi pendant deux ans, et les issues des enfants dépistés seront comparées à celles des enfants diagnostiqués en clinique. La réalisation d'une étude pilote comparative d'une telle envergure serait difficile au Québec en raison du faible nombre annuel de naissances.

Dans le second scénario, l'introduction de la MS/MS serait reportée jusqu'à ce que le transfert technologique puisse être effectué en un seul temps pour les trois maladies, soit après les études de validation nécessaires pour la TH1 et la conception d'un protocole analytique combinant tous les marqueurs analytiques. La transition s'effectuerait ainsi

plus simplement. Toutefois, cette option entraîne un délai supplémentaire dans l'offre du dépistage du MCADD et, par conséquent, dans les bénéfices qui lui sont associés pour les familles ayant des nouveau-nés touchés par cette maladie. La planification et les préparatifs pour l'implantation de cette nouvelle technologie pourraient toutefois être entrepris à l'avance.

Enfin, le troisième scénario préconise d'introduire d'emblée la MS/MS pour le dépistage de la PCU et du MCADD avec, pour la TH1, soit le maintien des méthodes actuelles de dépistage en attendant les résultats des études de validation précitées, soit un remplacement technologique graduel. Ainsi, il n'y aurait pas de délai pour le dépistage du MCADD, et l'investissement dans la technologie MS/MS sera rentabilisé dès le début, puisque celle-ci devient efficiente dès que deux maladies sont dépistées, dont la PCU. Pour le dépistage néonatal de la TH1, trois modalités sont possibles :

- 1) Le maintien des protocoles actuels pour le dosage de la tyrosine et de la succinylacétone jusqu'à ce que le protocole commun à tous les métabolites ait été entièrement validé. Cette option comporte donc l'introduction de la MS/MS en deux temps. Son inconvénient est le maintien temporaire de toutes les méthodes analytiques actuelles parallèlement à l'introduction de la MS/MS;
- 2) Le maintien des protocoles actuels uniquement pour le dosage de la succinylacétone en se basant sur le dosage de la tyrosine par la MS/MS;
- 3) La réalisation du dosage de la succinylacétone par la MS/MS, mais selon un protocole et un mode d'analyse séparés, soit en utilisant le même appareil en alternance, soit en utilisant un autre appareil. Dans ce cas, les coûts liés à l'investissement et (ou) à la durée de vie de l'appareil seraient potentiellement supérieurs.

Pour toutes ces modalités, il faudra s'assurer de coordonner la gestion des échantillons sanguins pour le dépistage de la TH1, d'une part, et le dépistage du MCADD et de la PCU, d'autre part. Ce problème de coordination se pose de toute façon pour le dépistage néonatal de l'hypothyroïdie congénitale, puisque la MS/MS ne dépiste pas cette maladie. La littérature souligne l'importance de prendre des précautions lorsqu'on implante le dépistage néonatal par la MS/MS pour que celui-ci n'affecte d'aucune façon le bon déroulement et la performance de celui de l'hypothyroïdie congénitale. Certains auteurs préconisent d'effectuer le dépistage par la MS/MS et celui de l'hypothyroïdie congénitale dans le même laboratoire pour éviter les problèmes inhérents au transfert et au partage d'échantillons sanguins entre laboratoires. Des solutions communes pourraient donc être envisagées pour le dépistage néonatal de la TH1 (modalités 1 et 2) et de l'hypothyroïdie congénitale. De plus, quelle que soit la modalité retenue, une attention particulière devra être accordée sur le plan organisationnel à la réalisation et à la coordination de l'interprétation des tests afin d'éviter des délais dans la communication des résultats. Notons également qu'une étape supplémentaire de transition est à considérer si les études de validation du protocole analytique unique pour l'ensemble des métabolites s'avèrent concluantes. Les répercussions éventuelles de cette transition additionnelle sur le déroulement d'un dépistage par la MS/MS déjà en cours devront être débattues, et les problèmes résolus d'avance avec les experts.

Conclusion

Même si les données de la littérature comportent des lacunes, elles appuient l'utilité clinique du dépistage néonatal pour la majorité des patients et des familles concernés. Quant à la pertinence d'implanter un dépistage par la MS/MS au Québec, la situation diffère d'une maladie à l'autre.

- Pour le MCADD, le dépistage néonatal passe obligatoirement par la MS/MS, dont la performance compte parmi les meilleures pour cette maladie. La connaissance de l'ensemble du spectre des formes cliniques est limitée, particulièrement pour les formes moins graves, et la variabilité de l'expression phénotypique rend plus difficile la comparaison du pronostic avec et sans dépistage et prise en charge précoce. Toutefois, pour les formes graves, les avantages d'un traitement précoce sont convaincants. Il sera donc indispensable de réévaluer de façon périodique les bénéfices du dépistage néonatal de cette maladie grâce à une collecte continue de données.
- Pour la PCU, la littérature semble indiquer que la MS/MS génère moins de faux positifs que la technologie actuelle, mais compte tenu des résultats observés au Québec, cet avantage ne serait pas substantiel. D'après la littérature économique, le remplacement technologique serait efficient à partir du moment où il est effectué pour deux maladies, dont la PCU. Si la MS/MS était utilisée pour le dépistage du MCADD, le transfert technologique pour la PCU éviterait un dédoublement des étapes d'analyse et serait sans doute moins coûteux que de poursuivre en parallèle la méthode d'analyse actuelle.
- Pour la TH1, des données en faveur de l'efficacité du NTBC commencent à s'accumuler, corroborant l'utilité du dépistage néonatal au Québec. De nouvelles approches pour le dépistage néonatal de la TH1 sur la base du dosage de la tyrosine et de la succinylacétone semblent prometteuses, mais doivent cependant être validées. Notre revue des données scientifiques confirme l'importance d'une analyse au cas par cas pour chacune des maladies considérées, puisque les options envisageables dépendent des caractéristiques spécifiques de chaque maladie, de l'état d'avancement des connaissances sur la maladie et de l'applicabilité des développements technologiques aux maladies d'intérêt.

Pour les trois maladies d'intérêt, trois scénarios distincts sont à considérer par le décideur :

- 1) la réalisation d'une étude pilote sur plusieurs années pour le dépistage des trois maladies;
- 2) le report de l'introduction de la MS/MS jusqu'à ce que les études de validation pour le dosage de la succinylacétone soient complétées et qu'un protocole analytique unique pour le dépistage néonatal des trois maladies puisse être implanté d'emblée;
- 3) l'introduction de la MS/MS pour le dépistage de la PCU et du MCADD avec, pour la TH1, soit le maintien des méthodes actuelles en attendant les résultats des études de validation précitées, soit un remplacement technologique graduel.

Chaque scénario comporte des avantages et des inconvénients et implique différents enjeux organisationnels. Le choix du moment le plus opportun pour implanter la MS/MS repose sur un compromis entre favoriser un accès plus rapide aux services ou privilégier l'introduction de la technologie sur la base de données plus rigoureuses et (ou) applicables au Québec. Des données plus poussées sur les protocoles d'analyse plus récents pour le dépistage de la TH1 pourraient dériver d'une étude de validation. Le Québec serait une région propice pour réaliser une telle étude. Une étude pilote permettrait quant à elle de colliger des données épidémiologiques et génétiques sur le MCADD et d'apprécier les coûts directement applicables au Québec. Par contre, un tel projet pilote ne nous semble pas de nature à apporter dans un délai raisonnable les données requises pour fournir une réponse définitive à la question des bénéfices du dépistage néonatal sur le plan du pronostic à long terme du MCADD. Il sera néanmoins

indispensable de réévaluer de façon périodique les bénéfices du dépistage néonatal de cette maladie.

Quel que soit le choix retenu, l'implantation de la MS/MS ne devra pas se faire de manière précipitée, plusieurs questions devant être résolues avant de procéder à l'implantation. La politique concernant le consentement implicite au dépistage néonatal devra être révisée, d'autant plus que la procédure adoptée au Québec pour justifier l'inclusion du dépistage néonatal dans les soins de routine poserait problème si une décision devait être prise quant à l'ajout d'une maladie supplémentaire au programme de dépistage. Une analyse de faisabilité plus poussée sur l'implantation de ce changement technologique devra également être menée, en considérant entre autres les coûts d'implantation et de fonctionnement selon le scénario envisagé et les coûts liés à la formation des professionnels de la santé intervenant tout au long du système intégré de dépistage néonatal. À chacune des étapes de mise en œuvre d'un programme de dépistage néonatal, des considérations organisationnelles devront être prises en compte pour optimiser de façon prospective les pratiques, par exemple par la production de protocoles standards et de lignes directrices, et pour générer les données nécessaires à l'évaluation continue de la performance et à l'évaluation périodique de la pertinence des choix qui seront faits.

Enfin, on ne peut passer sous silence l'inquiétude que soulève souvent l'utilisation de la technologie MS/MS en mode balayage, qui permet la détection de plus d'une trentaine d'EIM. Une fois la technologie MS/MS en place, une pression accrue s'exercera pour élargir le dépistage néonatal à plusieurs autres EIM. Cette pression viendra des professionnels de la santé, de l'industrie ainsi que d'associations de parents et du grand public, de plus en plus informés grâce à Internet. Les arguments alimentant cette pression incluent les coûts minimes engagés par l'ajout d'autres erreurs innées du métabolisme une fois la technologie en place, l'intérêt de colliger des données pour la recherche, les bénéfices familiaux et l'exploitation de ce qui est considéré comme le principal avantage de la MS/MS, à savoir sa capacité de doser simultanément plusieurs métabolites. En aucun cas ne devrait-on céder à la tentation d'ouvrir la voie au dépistage d'autres maladies sans procéder à une évaluation des preuves et des critères devant guider l'implantation d'un programme de dépistage populationnel. Enfin, l'élargissement du dépistage néonatal à d'autres erreurs innées du métabolisme doit nécessairement être précédé d'une évaluation préalable et de la mise en place de solutions adéquates aux problèmes soulevés dans le présent rapport, notamment ceux qui touchent l'information aux parents et la disponibilité d'un réseau efficace de prise en charge et de suivi par des professionnels compétents.

ABRÉVIATIONS ET ACRONYMES

ACMTS	Agence canadienne des médicaments et des technologies de la santé
ADN	Acide désoxyribonucléique
AETMIS	Agence d'évaluation des technologies et des modes d'intervention en santé
ARG	Déficit en arginase
ASL	Déficit en arginosuccinate lyase
ASS	Déficit en arginosuccinate synthétase ou citrullinémie
AVAQ	Année de vie ajustée par la qualité
BH4	Tétrahydrobioptérine
β-KT	Déficit en « beta-ketothiolase »
C2	Acétylcarnitine
C3	Propionylcarnitine
C4	Butyrylcarnitine
C5	Isovalerylcarnitine
C6	Hexanoylcarnitine
C8	Octanoylcarnitine
C10	Décanoylcarnitine
C12	Dodécanoylcarnitine
CAH	<i>Congenital adrenal hyperplasia</i> (hyperplasie congénitale surrénalienne)
CDAE	Coût différentiel annuel équivalent
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
C/E	Rapport coût-efficacité
CHUL	Centre de recherche du Centre hospitalier de l'Université Laval
CHUQ	Centre hospitalier universitaire de Québec
CID	Collision Induced Dissociation
CPTII	Déficit en carnitine palmitoyltransférase II
Da	Dalton
DGSP	Direction générale de la santé publique
EIM	Erreurs innées du métabolisme
ESI	<i>Electrospray ionisation</i>
ETC	Équivalent temps complet
FAA	Fumarylacétoacétate
FAB	Fast Atom Bombardment
FAH	Fumarylacétoacétate hydrolase
GAI	Acidémie glutarique de type I

GAI	Acidémie glutarique de type II
GC	Gas Chromatography
HMG	Déficit en 3-hydroxy-3-méthylglutaryl-CoA lyase
HPA	Hyperphénylalaninémie
HPLC	<i>High performance liquid chromatography</i>
IC	Intervalle de confiance
ICER	<i>Incremental cost-effectiveness ratio</i> (rapport coût-efficacité différentiel)
INSPQ	Institut national de santé publique du Québec
IVA	Acidémie isovalérique
LC	<i>Liquid Chromatography</i>
LCHADD	<i>Long Chain Hydroxyacyl-CoA Dehydrogenase Deficiency</i>
MAA	Maléylacétoacétate
MADD	<i>Multiple Acyl-CoA Dehydrogenase Deficiency</i>
MAS	Medical Advisory Secretariat
MCAD	<i>Medium Chain Acyl-CoA Dehydrogenase</i>
MCADD	<i>Medium Chain Acyl-CoA Dehydrogenase Deficiency</i>
3-MCC	Déficit en 3-méthylcrotonyl-CoA carboxylase
MMA	Acidémie méthylmalonique
MRM	<i>Multiple Reaction Monitoring</i>
M/SCHADD	<i>Medium/Short Chain-L-3-Hydroxyacyl-CoA Dehydrogenase Deficiency</i>
MS/MS	Spectrométrie de masse en tandem
MSSS	Ministère de la Santé et des Services sociaux
MSUD	<i>Maple Syrup Urine Disease</i> (leucinose aiguë ou maladie du sirop d'érable)
m/z	Masse moléculaire/charge (ratio)
NA	Non applicable
NHS R&D HTA	National Health Service Research and Development Health Technology Assessment
NP	Non précisé
NHMRC	National Health and Medical Research Council
NTBC	2-(2-nitro-4-trifluorométhyl-benzoyl)-1,3-cyclohexanedione
PA	Acidémie propionique
PAH	Phénylalanine hydroxylase
PCU	Phénylcétonurie
Phe	Phénylalanine
PQDSNN	Programme québécois de dépistage sanguin des maladies génétiques chez le nouveau-né
QALY	Quality Adjusted Life Years
SAC	Succinylacétone
SCADD	<i>Short Chain Acyl-CoA Dehydrogenase Deficiency</i>

SOP	<i>Standard operating procedures</i>
SRM	<i>Single Reaction Monitoring</i>
TFP	<i>Trifunctional protein deficiency</i> (déficit en protéine trifonctionnelle)
TH1	Tyrosinémie héréditaire de type 1
Tyr	Tyrosine
VLCADD	<i>Very Long Chain Acyl-CoA Dehydrogenase Deficiency</i>

Antibiogramme

Examen bactériologique permettant d’apprécier la sensibilité d’une bactérie à divers antibiotiques.

Allèles

Variantes d’un gène qui diffèrent par leur séquence nucléotidique.

Analyse coût-efficacité

Méthode d’évaluation économique consistant à comparer différentes modalités d’intervention, dans laquelle les coûts sont exprimés en unités monétaires et les indicateurs d’efficacité en unités non monétaires (naturelles).

Analyse coût-utilité

Méthode d’évaluation économique consistant à comparer différentes modalités d’intervention, dans laquelle les coûts sont exprimés en unités monétaires et les indicateurs d’efficacité sont exprimés en années de vie ajustées par la qualité (AVAQ).

Biais d’incorporation

Erreur due à l’incorporation des résultats du test évalué dans la détermination du diagnostic final (test de référence), la concordance entre les résultats des deux tests conduisant à une surestimation des critères de performance du test à l’étude.

Biais de sélection

Erreur due à des différences systématiques dans les caractéristiques des personnes qui sont incluses dans une étude ou en sont exclues pouvant en invalider les résultats.

Effet fondateur

Fréquence élevée d’une ou de plusieurs mutations chez les descendants d’un petit groupe d’ancêtres communs en raison d’un isolement géographique ou ethnique.

Efficacité théorique

L’efficacité d’un médicament ou d’une intervention reflète dans quelle mesure un effet favorable est atteint dans des circonstances idéales.

Efficience

L’efficience d’un traitement ou d’une intervention reflète dans quelle mesure un effet favorable est atteint avec les ressources disponibles.

Étude prospective

Un plan d’étude est dit prospectif si un groupe de personnes est suivi afin de déceler l’apparition d’une maladie ou d’autres issues d’intérêt.

Étude rétrospective

Un plan d’étude est dit rétrospectif si une partie des données colligées pour l’analyse, qu’il s’agisse de facteurs d’exposition ou des issues d’intérêt, concernent des événements antérieurs au début de l’étude.

Gène

Unité physique et fonctionnelle de l’hérédité constituée d’une séquence de nucléotides située à un locus spécifique sur un chromosome donné et codant généralement pour une protéine ayant une fonction spécifique.

Génotype

Constitution génétique d’un individu, par opposition au phénotype. Par extension, constitution génétique au niveau d’un ou de plusieurs locus spécifiques.

Groupe témoin ou de comparaison

Groupe de sujets observés au cours d'une étude servant de base de comparaison pour l'évaluation des effets d'une exposition ou d'une intervention.

Hétérozygote

Génotype ou, par extension, individu ayant deux allèles différents au même locus, soit deux allèles mutés dans le cas d'hétérozygotes composites, soit un allèle muté et un allèle non muté.

Hétérozygote composite

Génotype ou, par extension, individu ayant deux allèles mutés différents au même locus.

Homozygote

Génotype ou, par extension, individu ayant deux allèles identiques au même locus.

Incidence

Mesure du nombre de nouveaux cas d'une maladie apparaissant pendant une période donnée dans une population donnée.

Intervalle de confiance

Intervalle numérique à l'intérieur duquel se situe le véritable paramètre (moyenne, proportion ou taux) selon un niveau de probabilité prédéterminé (par exemple 95 %).

Ions fils/fragments

Fragments chargés (positivement ou négativement) ou neutres provenant de la fragmentation des ions parents/précurseurs après le passage de ces derniers dans la chambre de collision du spectromètre de masse en tandem.

Ions parents/précurseurs

Molécules intactes du mélange initial à analyser par spectrométrie de masse en tandem qui, après avoir été ionisées, sont séparées et quantifiées dans le premier spectromètre de masse.

Méta-analyse

Méthode statistique utilisée pour combiner les résultats de différentes études afin d'obtenir une estimation quantitative de l'effet d'une même exposition ou intervention sur une issue donnée.

Mutation

Tout changement dans la séquence d'ADN pouvant entraîner des manifestations pathologiques.

Pénétrance

Pourcentage d'individus porteurs d'un génotype déterminé chez qui l'expression phénotypique qui y est associée se manifeste.

Phénotype

Manifestation apparente de la constitution du génome sous la forme d'un trait morphologique, d'un syndrome clinique ou de caractéristiques physiologiques telles que des variations qualitatives ou quantitatives du produit final d'expression d'un gène (protéine ou métabolite).

Prévalence

Mesure du nombre de cas d'une maladie existant à un moment donné dans une population donnée, sans distinction entre les anciens et les nouveaux cas.

Sensibilité

Critère de performance d'un test diagnostique ou de dépistage qui mesure sa capacité à détecter correctement les personnes réellement atteintes d'une maladie (ou présentant un facteur de risque ou un problème de santé). La sensibilité d'un test se mesure par la proportion de personnes réellement atteintes qui ont un résultat positif.

Séquençage

Détermination de l'ordre linéaire des composants de l'ADN.

Spécificité

Critère de performance d'un test diagnostique ou de dépistage qui mesure sa capacité à détecter correctement les personnes qui n'ont pas la maladie ciblée (ou ne présentent pas le facteur de risque ou le problème de santé ciblés). La spécificité d'un test se mesure par la proportion de personnes qui n'ont pas la maladie et qui ont un résultat négatif.

Valeur prédictive négative

Probabilité qu'une personne ayant un résultat négatif n'ait pas la maladie ou ne la développe pas.

Valeur prédictive positive

Probabilité qu'une personne ayant un résultat positif ait la maladie ou la développe.

Valeur seuil

Valeur qui sert de limite pour la classification des résultats d'un test en valeurs considérées comme normales et anormales.

Validité

La validité d'un instrument de mesure reflète sa capacité à mesurer ce qu'il devrait mesurer, et la validité d'une étude traduit à quel point elle est exempte de biais.

Validité analytique

Capacité d'un test à mesurer la propriété ou la caractéristique qu'il est destiné à mesurer.

Validité clinique

Capacité d'un test à établir le diagnostic d'une maladie ou à prédire son apparition.

Validité externe

La validité externe d'une étude exprime dans quelle mesure ses résultats peuvent être généralisés à d'autres populations que la population recrutée pour l'étude.

TABLE DES MATIÈRES

NOTE AUX LECTEURS	iii
AVANT-PROPOS	iv
REMERCIEMENTS	v
RÉSUMÉ	vii
ABRÉVIATIONS ET ACRONYMES	xix
GLOSSAIRE	xxii
INTRODUCTION	1
2. LE PROGRAMME QUÉBÉCOIS DE DÉPISTAGE SANGUIN DES MALADIES GÉNÉTIQUES CHEZ LE NOUVEAU-NÉ (PQDSNN)	5
2.1 Fonctionnement du PQDSNN	5
2.2 Performance du PQDSNN	6
3. MÉTHODES DE LA REVUE DE LA LITTÉRATURE	8
3.1 Thèmes, périodes et sources de recherche bibliographique	8
3.2 Stratégies de recherche bibliographique	8
3.3 Sélection des articles	9
3.3.1 Critères d'inclusion	9
3.3.2 Critères d'exclusion	10
3.4 Stratégies d'extraction de données	11
3.5 Évaluation de la qualité des études	11
3.6 Limites de la méthodologie	11
4. REVUE SUR LES MALADIES	12
4.1 Phénylcétonurie	12
4.1.1 Introduction	12
4.1.2 Présentation génétique	12
4.1.3 Épidémiologie	13
4.1.4 Traitement et suivi	16
4.1.5 Contribution du dépistage néonatal au pronostic	18
4.1.6 Sommaire	18
4.2 Tyrosinémie héréditaire de type 1	19
4.2.1 Introduction	19
4.2.2 Présentation génétique	20
4.2.3 Épidémiologie	20
4.2.4 Présentation clinique	21

4.2.5 Traitements	22
4.2.6 Sommaire	24
4.3 Le MCADD	28
4.3.1 Introduction	28
4.3.2 Présentation génétique.....	28
4.3.3 Épidémiologie.....	29
4.3.4 Présentation clinique	31
4.3.5 Traitement.....	32
4.3.6 Contribution du dépistage néonatal au pronostic	32
4.3.7 Sommaire.....	34
5. LA SPECTROMÉTRIE DE MASSE EN TANDEM	40
5.1 Le principe de spectrométrie de masse.....	40
5.2 Le dispositif MS/MS	41
5.3 Les modes d'analyse MS/MS.....	43
5.4 L'analyse commune du profil des acides aminés et des acylcarnitines par la MS/MS pour un test de dépistage néonatal de première ligne	43
5.5 Le protocole MS/MS pour le dosage de la succinylacétone.....	48
5.6 Les avantages et les inconvénients de la MS/MS	48
5.6.1 Avantages	48
5.6.2 Inconvénients	49
6. LA PERFORMANCE DE LA MS/MS POUR LE DÉPISTAGE NÉONATAL DES ERREURS INNÉES DU MÉTABOLISME	52
6.1 Les données provenant de revues systématiques de la littérature	52
6.1.1 Les revues de la littérature de Pandor et ses collaborateurs [2004 et 2006a]	52
6.1.2 La revue de la littérature de Tran et ses collaborateurs [2006].....	57
6.2 Études primaires	60
6.2.1 Résultats de la recherche bibliographique.....	60
6.2.2 Description des études retenues.....	60
6.2.3 Résultats des études retenues.....	76
6.3 Discussion	88
7. ASPECTS ÉCONOMIQUES	92
7.1 Revue de la littérature.....	92
7.2 Méthode d'estimation des coûts	94
7.2.1 Sources d'information	95
7.2.2 Résultats	95
7.3 Sommaire.....	96
8. LES ENJEUX LIÉS AUX PROGRAMMES DE DÉPISTAGE NÉONATAL.....	98
8.1 Répercussions de l'incertitude	98

8.2	Répercussions de l'information	100
8.3	Stigmatisation	101
8.4	Consentement	102
8.5	Lacunes des connaissances professionnelles	105
8.6	Impacts sociétaux	105
8.7	Recherche et évaluation	107
8.8	Enjeux organisationnels	108
8.9	Discussion.....	111
9.	DISCUSSION.....	113
10.	CONCLUSION.....	122
ANNEXE A	ALGORITHMES DU DÉPISTAGE NÉONATAL SANGUIN ACTUEL AU QUÉBEC.....	125
ANNEXE B	STRATÉGIES DE RECHERCHE BIBLIOGRAPHIQUE POUR LE THÈME « PERFORMANCE DE LA MS/MS POUR LE DÉPISTAGE NÉONATAL DES ERREURS INNÉES DU MÉTABOLISME ».....	128
ANNEXE C	STRATÉGIES DE RECHERCHE BIBLIOGRAPHIQUE POUR LES REVUES SUR PCU, TH1 ET MCADD	131
ANNEXE D	MOTS CLÉS ET COMBINAISONS UTILISÉS POUR LES FILTRES APPLIQUÉS À LA RECHERCHE BIBLIOGRAPHIQUE DE LA REVUE DE LA LITTÉRATURE SUR LES MALADIES (PCU, TH1 ET MCADD) EFFECTUÉE DANS PUBMED ET EMBASE	135
ANNEXE E	VOIES MÉTABOLIQUES POUR LA PCU, LA TH1 ET LE MCADD	139
ANNEXE F	ARTICLES DE TYPE REVUE DE LA LITTÉRATURE SUR L'EFFICACITÉ DE TRAITEMENT POUR LA PCU	142
ANNEXE G	L'ANALYSE MS/MS.....	151
ANNEXE H	AUTRES PROFILS ANALYTIQUES MS/MS POUR LE DÉPISTAGE NÉONATAL D'UNE ERREUR INNÉE DU MÉTABOLISME SPÉCIFIQUE SELON UN TEST EN PREMIÈRE OU DEUXIÈME LIGNE	157
ANNEXE I	DESCRIPTION DE RAPPORTS OU ARTICLES ÉVALUANT L'ÉLARGISSEMENT DE PROGRAMMES DE DÉPISTAGE NÉONATAL NON DISCUTÉS DANS LE CHAPITRE 6.....	158
ANNEXE J	SÉLECTION DES ARTICLES PRIMAIRES SUR LA PERFORMANCE DE LA MS/MS POUR LE DÉPISTAGE NÉONATAL DES ERREURS INNÉES DU MÉTABOLISME	162
ANNEXE K	ASPECTS ÉCONOMIQUES — REVUE DE LA LITTÉRATURE	164
ANNEXE L	ASPECTS ÉCONOMIQUES — ESTIMATION DES COÛTS	169
ANNEXE M	RENSEIGNEMENTS AUX PARENTS ET CONSENTEMENT	170
ANNEXE N	SCÉNARIOS DÉCISIONNELS PROPOSÉS	171
	RÉFÉRENCES.....	173

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1	Critères d'inclusion des articles portant sur l'incidence ou la prévalence des maladies	10
Tableau 2	Critères d'inclusion des articles portant sur le traitement des maladies	10
Tableau 3	Formes d'hyperphénylalaninémie	14
Tableau 4	Études québécoises ou canadiennes sur la prévalence des hyperphénylalaninémies	15
Tableau 5	Prévalence de la tyrosinémie de type 1 au Canada	25
Tableau 6	Études sur l'efficacité du traitement au NTBC	26
Tableau 7	Prévalence des homozygotes pour la mutation A985G parmi les cas de MCADD détectés par dépistage néonatal par la MS/MS	36
Tableau 8	Prévalence du MCADD dépisté par la MS/MS	37
Tableau 9	Prévalence estimée des homozygotes A985G dans la population d'après la proportion de porteurs de cette mutation	39
Tableau 10	Principales étapes de l'analyse concomitante par la MS/MS du profil des acides aminés et des acylcarnitines dans le cadre du dépistage néonatal	44
Tableau 11	Erreurs innées du métabolisme dépistables par la MS/MS sur la base de profils analytiques établis pour les acides aminés et acylcarnitines	47
Tableau 12	Méthodes des revues de la littérature de Pandor et ses collègues [2004] et de Tran et ses collègues. [2006]	55
Tableau 13	Distribution des études révisées par Pandor et ses collègues [2004] selon les critères d'évaluation de la qualité considérés	56
Tableau 14	Évaluation de la qualité des 14 études révisées par Tran et ses collègues [2006] selon l'outil QUADAS	59
Tableau 15	Caractéristiques générales des études retenues sur la performance de la MS/MS pour le dépistage néonatal des erreurs innées du métabolisme	70
Tableau 16	Principaux paramètres analytiques des études publiant des données sur la performance de la MS/MS pour le dépistage néonatal de groupes d'erreurs innées du métabolisme	72
Tableau 17	Principaux paramètres analytiques des études publiant des données sur la performance de la MS/MS pour le dépistage néonatal de la PCU, de la TH1 et du MCADD	74
Tableau 18	Résultats de la performance de la MS/MS pour le dépistage néonatal de groupes d'erreurs innées du métabolisme	78
Tableau 19	Résultats de la performance de la MS/MS pour le dépistage sélectif de la PCU	82
Tableau 20	Résultats de la performance de la MS/MS pour le dépistage sélectif de la TH1	84

Tableau 21	Résultats de la performance de la MS/MS pour le dépistage sélectif du MCADD.....	87
Tableau 22	Description des études économiques sur le dépistage néonatal sanguin des erreurs innées du métabolisme par la MS/MS	93
Tableau 23	Estimation des coûts différentiels du dépistage néonatal sanguin par la MS/MS pour un laboratoire au Québec.....	97
Tableau 24	Enjeux du dépistage néonatal.....	99
Tableau K-1	Description détaillée des études économiques sur le dépistage néonatal sanguin par la MS/MS	164
Tableau L-1	Prix moyen des réactifs utilisés pour le dépistage néonatal sanguin par la MS/MS	169
Tableau L-2	Tarifs horaires utilisés pour les professionnels affectés au dépistage par la MS/MS	169
Tableau M-1	Cadres possibles pour transmettre l'information aux parents afin d'obtenir un consentement éclairé	170
Tableau N-1	Options proposées pour le passage à la spectrométrie de masse en tandem	171

LISTE DES FIGURES

Figure 1	Dispositif MS/MS	42
Figure A-1	Algorithme du processus de dépistage sanguin	125
Figure A-2	Tests et valeurs seuils pour le dépistage de la PCU	126
Figure A-3	Tests et valeurs seuils pour le dépistage de la TH1	127
Figure E-1	Métabolisme de la phénylalanine	139
Figure E-2	Catabolisme de la tyrosine et synthèse de l'hème.....	140
Figure E-3	Voie métabolique des acides gras : oxydation- β	141
Figure J-1	Littérature publiée avant 2000.....	162
Figure J-2	Littérature publiée à partir de 2000	163

Les erreurs innées du métabolisme (EIM) sont des maladies métaboliques héréditaires causées par des mutations au sein de gènes codant pour des enzymes jouant un rôle dans plusieurs voies métaboliques importantes, surtout celles impliquées dans la production d'énergie essentielle au fonctionnement cellulaire. La majorité de ces maladies touche le métabolisme des acides aminés, des acides gras ou des acides organiques. La transmission héréditaire des mutations est le plus souvent autosomique récessive. Ainsi, la maladie se manifeste chez un enfant qui a hérité de deux mutations, soit identiques dans lequel cas il est homozygote, soit différentes lui conférant le statut d'hétérozygote composite. Chaque parent est porteur hétérozygote d'une des mutations transmises à l'enfant. Bien que l'incidence individuelle de ces maladies soit faible (1:10 000 – 1:1 000 000), leur incidence collective (1:3 500) est élevée vu la multiplicité des voies métaboliques qui peuvent être affectées [Millington, 2002]. Le fardeau de ces maladies sur le plan de la morbidité et de la mortalité infantile est donc considérable [Marsden, *et al.*, 2006; Raghuveer *et al.*, 2006; Millington, 2002]. Le dépistage et le traitement précoces permettent d'éviter, du moins pour certaines de ces EIM, un handicap physique et (ou) mental, une invalidité, une atteinte neurologique ou même le décès de l'enfant. Il est à noter que le traitement est souvent simple, consistant en une diète spéciale, l'évitement d'un jeûne prolongé ou l'apport de suppléments nutritifs. Cependant, pour certaines maladies, l'évolution naturelle et le traitement sont peu connus, et les bénéfices du dépistage pour l'enfant atteint moins bien établis.

Historiquement, le dépistage néonatal des EIM a reposé sur les critères de Wilson et Jungner [1968]. Selon ces critères, une maladie est candidate au programme de dépistage néonatal pour une population donnée si elle constitue un fardeau de santé publique de par sa fréquence et sa sévérité; si son évolution naturelle est connue; s'il existe un test simple sécuritaire, fiable et efficace pour la dépister; s'il existe un traitement efficace dont les bénéfices sur la morbidité et la mortalité sont clairement établis; si des tests de confirmation diagnostique et des programmes de suivi reconnus sont disponibles; et si cette procédure de dépistage a un rapport coût-efficacité bénéfique pour la société. Un exemple de dépistage néonatal d'EIM ayant largement fait ses preuves est le dépistage de la phénylcétonurie (PCU). Résultant d'un déficit en phénylalanine hydroxylase (PAH), enzyme qui transforme la phénylalanine en tyrosine, la maladie est responsable d'une déficience mentale sévère et irréversible en l'absence de traitement [Donlon *et al.*, 2004]. En 1964, Guthrie a développé un test d'inhibition bactérienne simple et peu coûteux qui a permis de dépister des milliers de nouveau-nés atteints de PCU de par le monde [Guthrie, 1969; Guthrie et Susi, 1963]. Le traitement de la maladie consiste à instaurer un régime pauvre en phénylalanine permettant à l'enfant de se développer normalement dans la grande majorité des cas. Les bénéfices pour la famille et la société d'un dépistage sont également importants. D'une part, la famille est mise au courant du statut hétérozygote des deux parents et du risque d'avoir un autre enfant atteint. D'autre part, pour la société, les coûts du dépistage et du traitement de ces enfants sont nettement inférieurs à ceux engendrés par leur lourde prise en charge une fois leur handicap déclaré.

Même si les critères de Wilson et Jungner [1968] sont bien connus et ont longtemps fait l'unanimité, les processus décisionnels présidant à l'implantation des programmes de

dépistage néonatal sont très variables [Carreiro-Lewandowski, 2002]. Il en résulte une très grande hétérogénéité de ces programmes en ce qui a trait au nombre et aux types de maladies ciblées, à part quelques exceptions comme la PCU dont le dépistage est très largement répandu. L'hétérogénéité du dépistage néonatal s'étend également aux méthodes analytiques de laboratoire, aux valeurs seuils selon lesquelles est classifié le test, de même qu'à l'organisation des programmes de suivi et de traitement. Cette hétérogénéité est observée d'un pays à un autre mais aussi d'une province ou d'un État à un autre, comme aux États-Unis et au Canada. Au Québec, le programme de dépistage néonatal sanguin inclut la PCU depuis 1969, la tyrosinémie héréditaire de type 1 (TH1) depuis 1970 et l'hypothyroïdie congénitale depuis 1974 [Laflamme *et al.*, 2006]. Il est à noter cependant qu'avec les avancées scientifiques et technologiques dans le domaine de la génétique, et notamment avec l'apport considérable de nouvelles technologies analytiques telle que la spectrométrie de masse en tandem (MS/MS), la nécessité de réévaluer les critères de Wilson et Jungner [1968] s'est progressivement fait sentir [Fearing et Levy, 2003]. Des travaux en ce sens sont en cours à l'Agence d'évaluation des technologies et des modes d'intervention en santé (AETMIS) [2007].

La technologie de la MS/MS a été mise au point vers le milieu des années 1980 pour l'analyse des acylcarnitines, un groupe de métabolites provenant du métabolisme des acides gras et de certains acides aminés [Clarke, 2002]. L'utilisation de la technologie pour l'analyse néonatale des acides aminés et des acylcarnitines remonte au début des années 1990 [Banta-Wright et Steiner, 2004; Carpenter et Wiley, 2002; Millington *et al.*, 1990]. Le potentiel que recèle cette technologie aux fins du dépistage néonatal a surtout été compris vers 1995 suite à la mise au point d'un protocole analytique permettant de quantifier en une étape analytique unique plus d'une trentaine d'EIM des acides aminés, des acides gras et des acides organiques [Chace *et al.*, 1996; Chace *et al.*, 1995; Rashed *et al.*, 1995; Chace *et al.*, 1993]. Certaines de ces maladies ne peuvent pas être dépistées par d'autres technologies. L'analyse se fait généralement en deux minutes sur un échantillon de sang séché prélevé au talon du nouveau-né quelques jours après sa naissance. Il s'agit en fait du même type d'échantillon que celui utilisé actuellement dans la grande majorité des programmes de dépistage néonatal [Clarke, 2002]. Cette technologie révolutionne le dépistage néonatal à plusieurs égards et pousse d'aucuns à remettre en question les critères énoncés ci-dessus [Banta-Wright et Steiner, 2004; Fearing et Levy, 2003; Wilcken, 2003; Carpenter et Wiley, 2002; Clarke, 2002]. En premier lieu, le concept « une technique de dépistage pour chaque maladie dépistée » tend à être mis de côté au profit de celui de « plusieurs maladies dépistées par une technique unique ». Le critère selon lequel la maladie doit être fréquente pour être candidate au dépistage néonatal cède parfois le pas à l'argument voulant que l'inclusion d'une maladie additionnelle n'engendre pas de coûts supplémentaires. Par ailleurs, plusieurs auteurs suggèrent de considérer le fardeau de santé publique que représentent des groupes d'EIM plutôt que celui de maladies individuelles. De plus, pour les EIM pouvant être dépistées par la MS/MS sans qu'un traitement ne soit disponible, les retombées bénéfiques éventuelles d'un dépistage précoce pour la famille en termes de conseil génétique et (ou) de diagnostic prénatal tendent à être davantage prises en considération. Ces tendances, qui semblent promues dans une large mesure par l'élargissement des capacités technologiques, représentent en fait une réorientation profonde par rapport aux valeurs ayant sous-tendu les activités de dépistage jusqu'à présent et elles ne font pas l'unanimité [Carreiro-Lewandowski, 2002].

Les nombreux avantages décrits au sujet de la MS/MS pour le dépistage néonatal ont soulevé un intérêt international et national. Ainsi, plusieurs États européens et américains, de même que certaines provinces canadiennes, ont récemment réévalué leur

programmes de dépistage néonatal, considérant la pertinence d'introduire la MS/MS et d'élargir les indications du dépistage à d'autres maladies [Lukacs et Santer, 2006; Tran *et al.*, 2006; Watson *et al.*, 2006; Health Council of the Netherlands, 2005; Pandor *et al.*, 2004; MAS, 2002; Pollitt *et al.*, 1997; Seymour *et al.*, 1997]. Dans plusieurs États, cette réévaluation a entraîné l'adoption de la technologie ainsi qu'un accroissement du nombre d'EIM incluses dans les programmes de dépistage néonatal, leur nombre variant de 2 à plus de 29 selon les régions. Au Canada, les décisions concernant le dépistage néonatal sont sous juridiction provinciale. Sept provinces canadiennes utilisent la MS/MS pour le dépistage néonatal de 3 à 28 EIM ou sont sur le point de l'introduire. Il est à noter cependant, que peu d'États ont basé leurs décisions sur une évaluation systématique et rigoureuse des données probantes [Pollitt, 2006; Wilcken, 2006], la majorité se limitant à une revue sommaire de la littérature et à la consultation d'experts [Lukacs et Santer, 2006; Tran *et al.*, 2006; Watson *et al.*, 2006; Health Council of the Netherlands, 2005; Pandor *et al.*, 2004; MAS, 2002; Pollitt *et al.*, 1997; Seymour *et al.*, 1997]. Cet engouement généralisé pour la MS/MS a également eu des répercussions au Québec favorisées par une conjonction de plusieurs circonstances, dont l'acquisition de la MS/MS par certains centres hospitalo-universitaires et la réorganisation des laboratoires des hôpitaux publics du Québec. En juillet 2000, devant l'impact potentiel d'une réorganisation des laboratoires du centre hospitalier hébergeant le programme québécois de dépistage néonatal sanguin, une demande d'évaluation de ce programme avait été faite par son directeur à l'Institut national de santé publique du Québec (INSPQ).

À l'automne 2002, un premier rapport de l'INSPQ [Charest, 2002] a permis de « reconnaître le caractère unique et précurseur du programme tout en sensibilisant le Ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS) à la nécessité d'une évaluation plus approfondie de ce programme ». Cet appel à une évaluation plus approfondie est réitéré de manière officielle dans le « Plan d'action ministériel de santé publique 2004-2007 » (Direction Générale de Santé Publique du MSSS) ainsi que dans « L'organisation des services de génétique au Québec, plan d'action 2005-2008 » [MSSS, 2005].

En 2004, la direction des systèmes de soins et services de l'INSPQ reçoit de la direction générale de la santé publique (DGSP) le mandat d'évaluer la pertinence, la performance et la viabilité du *Programme Québécois de Dépistage Sanguin des Maladies Génétiques chez le Nouveau-Né* [Laflamme *et al.*, 2006]. Le comité consultatif mis sur pied par l'INSPQ a jugé que, bien que directement liée à la viabilité du programme et à sa capacité d'adaptation, l'évaluation additionnelle de la pertinence d'introduire la MS/MS et d'élargir le programme de dépistage néonatal à d'autres EIM alourdirait et retarderait indûment les travaux en cours.

En novembre 2004, l'AETMIS reçoit un premier mandat de la part du MSSS pour évaluer la pertinence d'introduire au Québec la MS/MS pour le dépistage néonatal sanguin, l'impact économique et organisationnel de l'implantation de cette technologie, et les enjeux sociaux, éthiques et légaux associés à cette implantation. Ce premier mandat est élargi en janvier 2005 pour inclure l'examen : des avantages technologiques de la MS/MS par rapport aux méthodes actuellement utilisées dans le dépistage néonatal sanguin; des maladies pouvant être dépistées par la MS/MS; de l'impact économique et organisationnel de l'implantation de cette technologie; du rapport coût-efficacité du dépistage néonatal et du traitement précoce; des enjeux sociaux, éthiques et juridiques de la MS/MS et des étapes à respecter dans son implantation éventuelle.

Une revue de littérature, débutée en mai 2005, portant sur les revues précédentes a permis de faire ressortir deux obstacles majeurs à la réalisation du mandat comme il a été initialement défini : 1) l'absence de données épidémiologiques au Québec, à l'exception

de données sur la PCU et sur la TH1, limitant la possibilité de mener une évaluation sur la pertinence d'élargir le dépistage néonatal québécois à d'autres EIM et 2) l'absence de données détaillées sur les coûts des procédures analytiques pour le dépistage néonatal de la PCU et de la TH1 et de la prise en charge de ces conditions, rendant problématique une analyse coût-efficacité rigoureuse.

Ces difficultés ont été abordées lors d'une réunion entre les évaluateurs et les requérants en janvier 2005 et une entente a été scellée quant à une révision du mandat. Ainsi, l'aide à la décision devait se produire en deux temps, la première étape correspondant à une évaluation de la pertinence d'un remplacement technologique pour deux maladies déjà dépistées au Québec, soit la PCU et la TH1, et l'introduction du dépistage par la MS/MS pour le déficit en *Medium Chain Acyl-CoA Dehydrogenase* (MCADD), une maladie préconisée comme cible d'intérêt dans la littérature scientifique. Le fait qu'actuellement une étude québécoise évalue l'incidence du MCADD au Québec a également motivé le choix de cette maladie. Sur le plan économique, il a été convenu qu'une approche différentielle estimant certains coûts d'investissement et de fonctionnement serait appropriée (*cost analysis*). Dans un deuxième temps, l'élargissement du dépistage à d'autres maladies pourrait être considéré, selon un ordre de priorité à définir et selon l'information disponible.

Étant donné l'échéancier serré dont disposaient les évaluateurs afin de respecter la fenêtre décisionnelle, le présent rapport s'est donc concentré sur les aspects indispensables identifiés avec les requérants pour fournir une aide à la décision quant à la pertinence d'un remplacement technologique pour les maladies ciblées, et les implications tant organisationnelles, éthiques, et sociales d'une implantation éventuelle de la MS/MS pour le dépistage néonatal sanguin au Québec. Il est à noter que ce travail, fondé sur les approches usuelles de l'évaluation des technologies de la santé, aborde ce dossier sous l'angle d'une revue critique des données scientifiques, contextualisées à la lumière de la situation au Québec, pour chacune des questions posées et ne traite pas tous les critères ou enjeux pertinents à la prise de décision à l'égard d'un programme de dépistage néonatal. La résolution des problèmes complexes d'ordre éthique ou légal posés par le dépistage néonatal en général déborde du cadre de cette étude et nécessiterait un débat sociétal plus large.

Ainsi, suite à une description sommaire du programme de dépistage néonatal sanguin québécois et des recommandations ayant été faites à son sujet, les méthodes et stratégies de recherche bibliographique et de collecte de données sur le terrain pour ce rapport seront décrites. Une revue de l'évolution naturelle, l'épidémiologie et les possibilités de traitement et de prise en charge pour les trois maladies considérées suivra ainsi qu'une description détaillée de la technologie MS/MS. La performance de la technologie ainsi que l'analyse des coûts d'implantation et de fonctionnement et l'étude d'enjeux éthiques, sociaux et organisationnels jettent les bases de la discussion et de la conclusion du présent rapport.

LE PROGRAMME QUÉBÉCOIS DE DÉPISTAGE SANGUIN DES MALADIES GÉNÉTIQUES CHEZ LE NOUVEAU-NÉ

Ce chapitre présente de façon succincte les informations sur le programme actuel de dépistage néonatal sanguin au Québec nécessaires à une compréhension des enjeux relatifs à l'implantation éventuelle de la MS/MS. Elles proviennent principalement du Rapport d'évaluation du Programme québécois de dépistage sanguin des maladies génétiques chez le nouveau-né (PQDSNN) développé par l'INSPQ dans le cadre du mandat préalablement mentionné [Laflamme *et al.*, 2006].

2.1 Fonctionnement du PQDSNN

Le but du PQDSNN est de réduire la morbidité et la mortalité associées à certaines maladies génétiques dont le dépistage et le traitement précoce améliorent le pronostic. Pour ce faire, le PQDSNN cible tous les nouveau-nés québécois pour le dépistage de trois maladies génétiques, soit la phénylcétonurie (PCU) depuis 1969, la tyrosinémie héréditaire de type 1 (TH1) depuis 1970 et l'hypothyroïdie congénitale depuis 1974. Cette dernière n'est pas discutée dans ce rapport car elle n'est pas dépistable par la MS/MS. L'inclusion de la TH1 dans le PQDSNN est en lien avec un effet fondateur dans la province surtout dans la région du Saguenay-Lac-St-Jean.

Les ressources du PQDSNN incluent un laboratoire situé au Centre de recherche du Centre hospitalier de l'Université Laval (CHUL) à Québec et du personnel sous l'autorité du directeur des services professionnels du Centre hospitalier universitaire de Québec (CHUQ), le tout financé par le MSSS. Le processus de dépistage néonatal inclut toutes les étapes allant de l'information des parents avant le test jusqu'à la communication des résultats et l'orientation de la famille vers les services spécialisés, si cela est indiqué (voir annexe A, figure A-1). Une partie des procédures est assurée par les professionnels de la santé des centres de naissance, soit l'information des parents, l'obtention de leur consentement, l'échantillonnage et l'envoi des prélèvements sanguins vers le laboratoire central au CHUL.

La PCU et la TH1 sont dépistées à partir du même échantillon sanguin prélevé au niveau du talon du nouveau-né avant son départ à la maison. Le sang est étalé sur cinq médaillons de 3,2–4,8 mm (3/16 po) de diamètre sur un papier buvard¹. Pour chaque nouveau-né, cinq médaillons sont prélevés sur le même papier buvard dont un poinçon de 3,2 mm, utilisé pour le dosage de la succinylacétone, et un autre de 4,5 mm pour le dosage de la phénylalanine et de la tyrosine. L'âge au prélèvement recommandé par le PQDSNN est de 24-36 heures d'alimentation du nouveau-né sans excéder les 48h

1. Ce diamètre correspond à environ 3,4-7,6 µl de sang, respectivement, et 55 % d'hématocrite.

post-naissance². Après une période de séchage recommandée de six heures, les échantillons de sang séché sont envoyés au laboratoire du CHUL par la poste, généralement à l'intérieur des premières 24 heures qui suivent leur prélèvement.

Au laboratoire, on procède d'abord à l'identification et la vérification de la qualité des échantillons de sang séché avant de les analyser. Le dépistage de la PCU repose sur le dosage de la phénylalanine par fluorométrie (voir annexe A, figure A-2). Pour la TH1, le test de première ligne consiste en deux dosages : (i) le dosage semi-quantitatif de la succinylacétone par une méthode indirecte et (ii) le dosage de la tyrosine par fluorométrie (voir annexe A, figure A-3). Le PQDSNN recommande la disponibilité des résultats dans les 24 heures suivant la réception des échantillons de sang séché. Tous les échantillons de qualité douteuse et (ou) dont les résultats sont positifs sont repris. C'est le biochimiste clinique du CHUL qui contacte les parents en cas de nécessité de reprise des échantillons sanguins ou si les résultats s'avèrent positifs pour l'une ou l'autre des maladies. C'est également ce biochimiste qui contacte les centres de référence et qui s'assure que l'enfant est pris en charge.

Les activités du PQDSNN se terminent par la consignation d'un résultat négatif ou, en cas de résultat positif, d'une confirmation que le nouveau-né dépisté positif pour l'une ou l'autre des maladies est diagnostiqué et pris en charge par un des centres de référence du Québec. Les échantillons sanguins sont conservés pendant 12 à 24 mois pour les échantillons normaux et indéfiniment pour les échantillons anormaux. Les données du dépistage sont saisies quotidiennement dans un système d'information au PQDSNN.

En ce qui concerne la confirmation diagnostique, pour la PCU, le diagnostic repose sur le dosage de la phénylalanine dans le sang tout comme le test de dépistage. Si les taux de phénylalanine restent élevés même sous diète réduite en phénylalanine, des tests supplémentaires tels que le dosage du cofacteur tétrahydrobioptérine (BH4) sont réalisés pour un diagnostic différentiel. Pour la TH1, le diagnostic est confirmé par des niveaux élevés de succinylacétone dans le sang et l'urine et une diminution de l'activité de fumarylacétoacétate hydroxylase.

2.2 Performance du PQDSNN

Le niveau de couverture du programme est élevé avec une moyenne de 98,95 %. Depuis les débuts du PQDSNN jusqu'en mars 2004, près de 2,7 millions de nouveau-nés ont été testés ce qui a permis d'identifier un total de 1 104 enfants atteints de l'une des 3 maladies dépistées. La performance des tests utilisés dans le cadre du PQDSNN est jugée excellente à la base d'une évaluation de la performance des tests pour la période entre 1999 et 2004. En effet, la sensibilité et la valeur prédictive négative étaient de 100 % pour le dépistage néonatal de la PCU et la TH1. La spécificité était de 99,998 % pour la PCU et de 99,999 % pour la TH1. Enfin, la valeur prédictive positive était de 75,000 % et 80,952 % pour la PCU et la TH1, respectivement. L'identification de faux négatifs repose sur les rapports émis par les centres de référence de cas d'enfants ayant eu un test de dépistage néonatal négatif mais qui sont par la suite devenus symptomatiques. Les médecins de ces centres pensent qu'il est très peu probable qu'un enfant atteint mais non dépisté ne soit pas identifié étant donné la gravité des tableaux cliniques de la PCU et de la TH1. Le PQDSNN semble assurer un suivi de 100 % des

2. Si l'enfant doit quitter l'hôpital avant 24h de vie, un échantillon doit tout de même être prélevé mais doit être repris entre l'âge de 2 et 7 jours. Si une transfusion sanguine est nécessaire, un échantillon sanguin est obtenu au préalable et si l'échantillon ne répond pas aux critères il doit être répété. Pour le dépistage de la TH1, en cas de transfusion sanguine, le prélèvement doit être répété au moins 48h après la transfusion pour diminuer les risques de faux négatifs liés à la présence dans les érythrocytes du donneur de fumarylacétoacétate hydroxylase, le dernier enzyme lié à la dégradation de la tyrosine qui est déficiente chez les patients atteints de TH1.

enfants dépistés positifs jusqu'à l'étape de référence et de prise en charge par un médecin dans un des centres de référence du Québec.

En général, les délais relatifs à l'âge au moment du premier prélèvement, à la réception des prélèvements, à la référence des dépistés positifs et à leur prise en charge sont respectés et acceptables, mais les données consignées au système d'information ne sont pas toujours complètes.

Le centre de référence réalise généralement les démarches nécessaires pour assurer l'observance du traitement et le respect des rendez-vous de suivi. Par contre, il est difficile de mesurer la portée de l'intervention du programme à long et moyen terme car on ne tient pas de statistiques dans des bases de données formelles sur le suivi à long terme des patients atteints. « Les observations comparatives des 30 dernières années avec la mortalité et la morbidité avant le PQDSNN montrent toutefois une réelle amélioration » [Laflamme *et al.*, 2006].

Bien que les indicateurs de performance du PQDSNN rejoignent en général les objectifs fixés pour le dépistage, soit l'identification et le traitement de tous les enfants atteints tout en minimisant les effets néfastes liées aux tests, des lacunes ont été identifiées au sujet de la population cible et l'accessibilité au PQDSNN, la couverture, l'information offerte aux parents, les prélèvements sanguins, les délais, le traitement et le suivi des enfants atteints et le système d'information actuel.

L'évaluation de la viabilité du PQDSNN a mis en évidence la précarité de l'organisation du programme. Le PQDSNN a été qualifié d'« orphelin » puisqu'il ne bénéficie d'aucun cadre de gestion de ressources ni d'une instance structurée et reconnue pour la prise des décisions importantes [Laflamme *et al.*, 2006]. Le financement du programme a également été jugé insuffisant ne permettant pas à l'équipe d'assurer une mise à jour scientifique et technologique, ni d'investir dans le développement du programme. Malgré l'existence de quelques lignes directrices et de mécanismes de contrôle, le PQDSNN n'est pas régi par des normes explicites et officielles pour sa gestion, le contrôle de sa performance et l'assurance de sa qualité. De plus, les responsabilités des diverses personnes et instances impliquées ne sont pas clairement établies et le processus décisionnel pour les divers paramètres du programme n'est pas transparent. Ceci affecte l'optimisation de la performance du programme, ainsi que son développement, et le rend très vulnérable.

A la lumière de cette évaluation, l'INSPQ a émis plusieurs recommandations pour consolider le PQDSNN. De plus, on a souligné l'importance de considérer les éventuelles décisions qui seront émises par le présent rapport en ce qui a trait à l'adoption de la MS/MS et à l'expansion du programme à d'autres EIM.

Nous avons entrepris une recherche de la littérature sur deux volets principaux en lien avec la performance de la MS/MS pour le dépistage néonatal des EIM, soit la pertinence clinique et économique. Nous détaillons ci-dessous les méthodes suivies pour la revue des données scientifiques sur la pertinence clinique alors que celles propres au volet économique sont décrites dans le chapitre 7.

3.1 Thèmes, périodes et sources de recherche bibliographique

Pour la revue des données sur la pertinence clinique, deux types de recherches bibliographiques ont été réalisées, une sur la performance de la MS/MS pour le dépistage néonatal des EIM et une revue de chacune des maladies considérées, soit la PCU, la TH1 et le MCADD. Des articles repérés par ces stratégies de recherche, ceux débattant d'enjeux éthiques, psychosociaux ou organisationnels ont servi pour la discussion des enjeux liés au dépistage néonatal par la MS/MS (section 8). La recherche bibliographique principale a été réalisée entre juillet et décembre 2005. Par la suite, nous avons instauré des veilles mensuelles jusqu'en août 2006. Nous avons toutefois vérifié si des articles clés, publiant principalement des données sur la performance de la MS/MS pour le dépistage sélectif de l'une des trois maladies d'intérêt, ont été publiés entre septembre 2006 et janvier 2007.

Trois bases de données bibliographiques ont été utilisées pour la recherche principale, à savoir Embase, Pubmed, et Cochrane alors que les veilles mensuelles se sont poursuivies sur les deux dernières sources uniquement.

De plus, une recherche de la littérature grise a été effectuée par divers moteurs de recherche. Des sites Internet consacrés au dépistage chez les nouveau-nés et à la génétique ont également été exploités, ainsi que les bases de données spécialisées en évaluation des technologies de la santé.

3.2 Stratégies de recherche bibliographique

Les stratégies de recherche bibliographique ont été développées à partir de celles d'une revue systématique récente de la littérature sur le même sujet publiée par des auteurs britanniques [Pandor *et al.*, 2004]. Toutefois, des modifications et adaptations ont été apportées à ces stratégies là où cela était jugé nécessaire. Les annexes B et C décrivent, respectivement, les stratégies de recherche bibliographique finales utilisées pour le thème «performance de la MS/MS» et pour la revue sur les maladies. Afin de restreindre l'étendue de cette dernière, nous avons appliqué des filtres propres aux thèmes dépistage, diagnostic, pronostic, incidence/prévalence³, épidémiologie, et thérapie. Toutefois, cette restriction n'a été appliquée que pour les sources Pubmed et Embase vu le nombre limité de références identifiées à partir de la banque Cochrane. Les combinaisons de mots clés utilisées pour chacun des filtres sont présentées à l'annexe D. Toutes les stratégies de recherche bibliographique, à quelques exceptions près, ont été restreintes à la littérature publiée à partir de 2000. Pour le volet «performance de la MS/MS» et pour le thème «dépistage» de la revue des trois maladies considérées, la littérature publiée à partir

3. Dans la littérature, les termes incidence et prévalence sont utilisés de manière interchangeable pour les erreurs innées du métabolisme.

de 1995 a été examinée. De plus, pour le thème «incidence/prévalence» de la TH1 et du MCADD, aucune limite inférieure de date n'a été imposée. Des restrictions sur le plan du type d'articles ont été également appliquées. En effet, seuls des articles de type revue de la littérature, consensus ou recommandations ont été sélectionnés pour les thèmes «diagnostic» et «pronostic» de toutes les maladies et pour les thèmes «incidence/prévalence», «épidémiologie» et «traitement» de la PCU. L'annexe D indique également les mots clés utilisés pour ce dernier type de restriction.

Enfin, pour la recherche bibliographique sur les thèmes « performance de la MS/MS » et incidence/prévalence » et « traitement » des maladies, les références des articles sélectionnés ont été examinées pour rechercher d'autres articles pertinents.

3.3 Sélection des articles

La sélection des articles pertinents a été réalisée par un seul réviseur selon les critères d'admissibilité détaillés ci-dessous pour chacun des thèmes.

3.3.1 Critères d'inclusion

Thèmes « performance de la MS/MS » et thème « dépistage » pour les revues sur la PCU, la TH1 et le MCADD :

Les critères suivants ont été appliqués pour sélectionner les références pertinentes au chapitre portant sur la performance de la MS/MS pour le dépistage néonatal des erreurs innées du métabolisme.

- Type d'étude : Revues systématiques de la littérature ou recherches primaires qui ne sont pas des revues de cas.
- Sujets : nouveau-nés
- Intervention : MS/MS
- Issue : articles fournissant des données sur les critères de performance de la MS/MS ou permettant de les calculer pour :
 - le dépistage néonatal de groupes d'erreurs innées du métabolisme, à l'exclusion des articles révisés par la revue britannique de Pandor et ses collaborateurs [2004];
 - le dépistage néonatal sélectif de la PCU, de la TH1 ou du MCADD

Autres thèmes de la revue sur les maladies

Les critères d'inclusion pour la sélection des articles relatifs aux thèmes incidence/prévalence et traitement des maladies sont présentés aux tableaux 1 et 2, respectivement. Comme l'indique le tableau 1, seuls les articles fournissant des données québécoises ou canadiennes sur l'incidence ou la prévalence de la PCU et de la TH1 ont été sélectionnés. Pour le MCADD, toutes les données épidémiologiques publiées après 2000 et les données en provenance d'Amérique du Nord et d'Europe publiées avant cette date ont été considérées.

Enfin, aucun critère d'inclusion particulier n'a été appliqué aux thèmes «diagnostic», «pronostic» et «épidémiologie» de la revue sur les maladies.

TABLEAU 1

Critères d'inclusion des articles portant sur l'incidence ou la prévalence des maladies					
	PCU	TH1		MCADD	
Date	≥ 2000	< 2000	≥ 2000	< 2000	≥ 2000
Pays	Québec, Canada	Québec, Canada	Tous	Amérique du Nord, Europe	Tous
Type d'étude	Revue, consensus ou recommandations	Études de cohortes ou transversales			
Sujets	Nouveau-nés atteints de la maladie				
Issue	Données sur l'incidence ou la prévalence ou permettant de les calculer				

TABLEAU 2

Critères d'inclusion des articles portant sur le traitement des maladies			
	PCU	TH1	MCADD
Date	≥ 2000		
Type d'étude	Revue systématique ou non	▪ Articles primaires de type essais cliniques, études de cohortes, cas-témoins : tous ▪ Rapports de cas (si n > 2) ▪ Articles de type revue systématique de la littérature : tous ▪ Articles de type revue narrative : les plus systématiques	
Sujets	Adultes ou nouveau-nés atteints		
Intervention	Tout type de traitement (diététique, pharmacologique, chirurgical, etc.)		
Issue	Tout type		

3.3.2 Critères d'exclusion

Parmi les articles sélectionnés, nous avons exclu les études présentant l'une des caractéristiques suivantes :

- Langue de publication autre que l'anglais ou le français
- Étude strictement animale
- Études évaluant la performance de la MS/MS pour le dépistage d'erreurs innées du métabolisme autres que la PCU, la TH1 ou le MCADD
- Étude évaluant la performance de la MS/MS pour le dépistage urinaire d'erreurs innées du métabolisme
- Études évaluant le dépistage néonatal d'erreurs innées du métabolisme avec une méthode autre que la MS/MS
- Études sur la PCU maternelle
- Articles traitant de maladies hépatiques ou rénales pédiatriques, de transplantation hépatique (sans que ce soit dans le sens de l'évaluation d'un traitement de la TH1) ou de l'utilisation de cellules embryonnaires pour des transplantations hépatiques ou autres.

3.4 Stratégies d'extraction de données

Un seul réviseur a réalisé l'extraction des données avec la consultation d'un conseiller scientifique, pour clarifier des problèmes d'interprétation ou de compréhension, et contact avec les auteurs des articles lorsque cela était jugé pertinent. Cette extraction a été réalisée de façon systématique selon des fiches préétablies pour les études sur la performance de la MS/MS pour le dépistage néonatal des EIM et sous forme de tableaux pour les études sur l'incidence/prévalence et le traitement des maladies. Pour tout autre thème, une extraction sommaire de données sous forme de résumé a été adoptée.

3.5 Évaluation de la qualité des études

Pour les études sur la performance de la MS/MS, une liste de critères de qualité a été élaborée sur la base de l'outil QUADAS [Whiting *et al.*, 2006; 2003] et des recommandations du National Health and Medical Research Council [NHMRC, 2000]. Ces critères couvrent le plan de l'étude, la description des méthodes de sélection de la population et des caractéristiques de celle-ci, ainsi que des méthodes de prélèvement sanguin, de l'appareil et des protocoles analytiques MS/MS (incluant la préparation des échantillons, les marqueurs métaboliques et les valeurs seuils) et des protocoles et tests de confirmation diagnostique. Des notes n'ont pas été octroyées, mais les critères sélectionnés ont été discutés point par point afin de dresser un bilan détaillé de la qualité de la littérature révisée.

3.6 Limites de la méthodologie

Nous désirons aviser le lecteur des limites de la présente revue. Tout d'abord, ce travail ne tient pas compte d'articles publiés après janvier 2007 et l'étude de la littérature grise n'a pas été exhaustive. Dans nombre de cas, nous n'avons pas été en mesure de clarifier les données présentées⁴, et ce, malgré de multiples efforts pour contacter les auteurs. Pour une étude [Yoon *et al.*, 2005], ces circonstances nous ont obligés à exclure totalement la référence, alors que pour d'autres, plusieurs scénarios ont été considérés pour le calcul des critères de performance.

4. Données concernant par exemple le nombre de sujets perdus de vue ou dont le diagnostic n'avait pas été confirmé.

Pour les trois maladies considérées ci-dessous, une brève introduction est fournie quant à leur présentation clinique et génétique. Les données épidémiologiques pour le Québec et le Canada sont présentées lorsqu'elles sont disponibles sinon un portrait plus général est brossé. Les données récentes concernant l'efficacité du traitement sont discutées puisque la contribution du dépistage néonatal au pronostic dépend dans une large mesure de l'efficacité de la prise en charge précoce.

4.1 Phénylcétonurie

4.1.1 Introduction

La phénylcétonurie (PCU) est une maladie héréditaire causée par une erreur innée du métabolisme de la phénylalanine. Un déficit de l'enzyme phénylalanine hydroxylase compromet la transformation de la phénylalanine en tyrosine, provoquant une augmentation du niveau de la phénylalanine dans le sang (voir annexe E, figure E-1). Cette hyperphénylalaninémie est clairement liée à l'expression phénotypique de la maladie, qui est caractérisée par des troubles neurologiques graves. Les mécanismes physiopathologiques de la maladie ne sont pas entièrement élucidés. Si la maladie est identifiée tôt après la naissance, elle est traitable grâce à une diète réduite en phénylalanine, permettant d'éviter certaines atteintes neurologiques.

Les patients non-traités présentent un retard mental progressif, une microcéphalie, un retard de langage, de l'épilepsie, des anomalies du comportement (hyperactivité, agressivité et autres) ainsi que de l'eczéma. Cette maladie représentait une des causes les plus importantes de retard mental avant l'instauration du dépistage néonatal, il y a de cela 40 ans [Brumm *et al.*, 2004]. Les patients qui sont dépistés tôt et qui, sous traitement, normalisent leur taux de phénylalanine sérique ne souffrent pas de ces atteintes neurologiques et ont un quotient intellectuel normal. Généralement, un bon contrôle du niveau de phénylalanine sérique est directement lié à l'adhérence à la diète et est associé à un meilleur développement neurologique. Comme discuté plus loin, les recommandations quant à la durée du traitement ont évolué avec les années. Il n'y a malheureusement que peu de données sur les manifestations tardives de la PCU et il n'est donc pas exclu que d'autres traits apparaissent [Feillet, 2006; NIH Consensus Development Panel, 2001; Burgard *et al.*, 2000].

4.1.2 Présentation génétique

La PCU est une maladie héréditaire autosomique récessive. Une transmission autosomique récessive signifie qu'une personne atteinte a deux gènes mutés et qu'elle a reçu un gène muté de chacun de ses parents (qui ne sont généralement pas atteints eux-mêmes, mais sont plutôt des porteurs sains ayant chacun un gène muté et un gène normal). Chacun des enfants issus des parents porteurs du gène muté aura 25% de risque d'hériter de la maladie.

Le gène impliqué dans la PCU est le *PAH*, c.-à-d. le gène codant pour l'enzyme phénylalanine hydroxylase, il est situé sur le chromosome 12 (12p23.21). Au moins, 524

mutations ont été identifiées dans ce gène⁵ et leurs effets sur l'enzyme sont variables, soit une activité enzymatique nulle ou réduite, une fonction enzymatique altérée ou une instabilité enzymatique [Donlon *et al.*, 2004]. La plupart des patients atteints sont des hétérozygotes composites, présentant deux mutations *PAH* différentes. Cet état de fait explique en partie la variabilité observée au niveau des manifestations cliniques chez ces patients. Un génotypage peut être effectué pour identifier les mutations *PAH* présentes, mais cette analyse s'avère plus utile pour des études familiales que pour le diagnostic.

Parmi les affections causées par des mutations dans le gène *PAH*, deux formes principales sont généralement définies, quoique la nomenclature puisse varier dans la littérature [Donlon *et al.*, 2004]. Comme l'illustre le tableau 3, la distinction est basée sur des niveaux différents de phénylalanine sérique ainsi que sur la tolérance à la phénylalanine dans la diète. Ces formes incluent la PCU, caractérisée par un déficit complet (PCU classique) ou partiel (PCU atypique) de l'enzyme et l'hyperphénylalaninémie non-PCU, qui se manifeste par un niveau plus élevé de l'enzyme et moins de symptômes. Le diagnostic différentiel des multiples formes d'hyperphénylalaninémie est important car le risque de troubles neurologiques augmente avec les niveaux sériques de phénylalanine et les traitements peuvent différer selon les formes. Des tests de confirmation, comme le dosage sanguin de la phénylalanine et de la tyrosine et le dosage urinaire de la bioptérine, permettent de raffiner le diagnostic et de déterminer quelles approches cliniques sont requises. En effet, certains nouveau-nés présentent une hyperphénylalaninémie transitoire sans signification clinique.

Hormis les mutations dans le gène *PAH*, l'hyperphénylalaninémie chez le nouveau-né peut être causée par un déficit en 4a-carbinolamine déshydrogénase ou par un effet de la PCU maternelle. Dans les populations européennes, la majorité des nouveau-nés ayant une hyperphénylalaninémie persistante présentent des mutations dans le gène *PAH*, alors que moins de 2 % d'entre eux présentent une autre erreur innée du métabolisme (déficit en tétrahydroptérine).

4.1.3 Épidémiologie

La prévalence de la PCU n'est pas uniforme à travers le monde et elle est apparemment plus élevée dans les populations européennes et chinoises. Les prévalences sur 100 000 naissances varient de 0,8 cas au Japon, à 7,5 cas en France et à 38,5 cas en Turquie [Donlon *et al.*, 2004]. Bien qu'un effet fondateur, la migration et (ou) une fréquence plus élevée de consanguinité puissent être à l'origine d'une prévalence plus élevée dans certaines régions, d'autres explications sont également possibles. En ce qui a trait à la situation canadienne, une étude a estimé la prévalence de la PCU à 4,5 cas sur 100 000 naissances [Donlon *et al.*, 2004]. Il est à noter cependant que les estimations varient selon les provinces (tableau 4). Au Québec, la prévalence serait de 4,0 sur 100 000 naissances [Laflamme *et al.*, 2006].

5. La liste de ces mutations est répertoriée dans une banque de données accessible sur l'Internet (<http://www.pahdb.mcgill.ca> : révision des mutations datée du 3 août 2006).

TABLEAU 3

Formes d'hyperphénylalaninémie (HPA)					
FORME CLINIQUE DE LA MALADIE	TAUX DE PHÉNYLALANINE SÉRIQUE (SANS RÉGIME PAUVRE EN PHÉNYLALANINE) ¹	TOLÉRANCE À LA PHÉNYLALANINE DANS LA DIÈTE ²	NIVEAU D'ACTIVITÉ HÉPATIQUE DE L'ENZYME PHÉNYLALANINE HYDROXYLASE ³	POURCENTAGE DE TOUS LES CAS D'HPA ¹ (POPULATIONS EUROPÉENNES)	GÈNE MUTÉ
Phénylcétonurie classique	> 1200 µmol/L	< 250-350 mg/jour	< 1 %	47-69 %	PAH
Phénylcétonurie atypique	600–1200 µmol/L	350-600 mg/jour	--	} 30-50 %	PAH
Hyperphénylalaninémie non phénylcétonurie	200–600 µmol/L	Diète normale	> 5 %		PAH
Variantes de déficit en tétrahydroptérine (BH4)	Variable	--	--	1-3 % ⁴	Plusieurs (autre que PAH)

1. [Hanley, 2004]

2. Mitchell JJ et Scriver CR. Phénylalanine hydroxylase deficiency (GeneReviews sur le site web de GeneTests; dernière mise à jour : 19 juillet 2005). Disponible à : <http://www.genetests.org/query?dz=pku>.3. [Donlon *et al.*, 2004]

4. Jusqu'à 33 % noté dans la population taïwanaise [Cederbaum, 2002]

TABLEAU 4

Études québécoises ou canadiennes sur la prévalence des hyperphénylalaninémies (HPA)							
RÉGION RÉFÉRENCE	PÉRIODE DE L'ÉTUDE	SOURCE DES DONNÉES	NOMBRE DE NOUVEAU-NÉS DÉPISTÉS	CAS DE PCU DIAGNOSTIQUÉS	PRÉVALENCE DE LA PCU CLASSIQUE ET ATYPIQUE (CAS PAR 100 000)	CAS D'HPA NON-PCU DIAGNOSTIQUÉS	PRÉVALENCE DE L'HPA NON-PCU (CAS PAR 100 000)
Canada Donlon <i>et al.</i> , 2004*	1980-1984	8 programmes provinciaux de dépistage néonatal	2 000 000	91	1:21 966 (4,5)	77	1:25 932 (3,9)
Québec Laberge <i>et al.</i> , 2005†	1969-1987	Programme québécois de dépistage néonatal	1 535 904	60	1:25 598 (3,9)	61	1:25 178 (4,0)
Québec Laflamme <i>et al.</i> , 2006	1969-2004	Programme québécois de dépistage néonatal	Nombre non indiqué	Nombre non indiqué	1:24 767 (4,0)	Non indiqué	1:25 436 (3,9)
Ontario ACIEM, 1976	1965-1975	Programme ontarien de dépistage néonatal	1 297 100	89	1:14 574 (6,9)	30	1:43 237 (2,3)
Colombie-Britannique Applegarth <i>et al.</i> , 2000	1969-1996	Base de données du laboratoire de biochimie qui effectue les analyses du dépistage néonatal	1 142 912	86	1:13 290 (7,5)	26	1:43 958 (2,3)

* Référence originale : Laberge *et al.*, 1987.† Référence originale : Grenier *et al.*, 1988.

4.1.4 Traitement et suivi

Diète restrictive

Le but du traitement de la PCU est de réduire le niveau de phénylalanine sérique. Depuis les années 60, le traitement consiste en un régime pauvre en phénylalanine afin de maintenir le taux de phénylalanine sérique aussi proche du niveau normal que possible. Une substitution protéinique est nécessaire afin d'assurer à ces patients une croissance adéquate. Un suivi serré est recommandé afin de surveiller les niveaux de phénylalanine sérique, d'établir le niveau de tolérance à la phénylalanine dans la diète et de s'assurer de l'efficacité du traitement. Plusieurs pays ont établi leur propres lignes directrices en ce qui concerne les concentrations sériques minimales et maximales de phénylalanine en fonction de l'âge [Abadie *et al.*, 2005; NIH Consensus Development Panel, 2001]. Il est à noter que, pendant les premières années d'instauration de programmes pour le traitement de la PCU, il avait été recommandé que le régime soit suivi jusqu'à l'âge de 5 à 10 ans, de manière à ce que la maturation cérébrale soit arrivée à terme [François *et al.*, 2000]. La tendance actuelle démontre un changement d'approche. Ainsi, en raison des problèmes neurologiques pouvant se développer ultérieurement [Brumm *et al.*, 2004; Koch *et al.*, 2002], une cessation complète du régime n'est plus recommandée. La poursuite du régime jusqu'à l'âge adulte, contrôlant les niveaux très élevés de phénylalanine, peut apporter des bénéfices essentiellement neurologiques et cognitifs additionnels pour ces individus [Feillet, 2006; Koch *et al.*, 2002]. Un traitement ainsi qu'un suivi rigoureux sont essentiels pour les femmes enceintes ayant une hyperphénylalaninémie quel qu'en soit le type, car des taux élevés de phénylalanine sérique chez la mère sont tératogènes pour le fœtus. Des malformations congénitales ainsi qu'une déficience intellectuelle irréversible sont causés par l'excès de phénylalanine dans le sang de la mère. Il est donc recommandé que les femmes en âge de reproduction, chez qui un diagnostic d'hyperphénylalaninémie a été posé, reçoivent un counseling et un soutien medico-social, afin de les aider à poursuivre ou à reprendre le régime avant la conception et pendant les grossesses. En somme, les recommandations actuelles pour un traitement optimal comprennent l'instauration précoce d'une prise en charge et d'un régime devant être poursuivi à vie.

En raison des qualités organoleptiques des produits diététiques (goût et odeur désagréables) préparés pour les personnes atteints de PCU, l'adhérence au régime peut représenter un défi de taille [Donlon *et al.*, 2004]. Ainsi les études décrivant l'adhérence au régime pour la PCU révèlent souvent des niveaux d'adhérence peu élevés [Camfield *et al.*, 2004; Koch *et al.*, 2002; Walter *et al.*, 2002; Mackner *et al.*, 2001].

Bien qu'il soit reconnu depuis longtemps que le régime pauvre en phénylalanine peut prévenir ou réduire le retard mental chez les enfants diagnostiqués avec la PCU, ces patients ont reçu depuis l'instauration de ce traitement en pratique clinique des recommandations variables, particulièrement en ce qui concerne la durée du régime. Dans les études publiées à ce jour, le nombre de patients suivis est faible et peu d'études ont suivi les patients jusqu'à l'âge adulte. De plus, des différences existent quant à la durée du traitement, aux reprises du traitement et aux mesures des issues neuropsychologiques. Il a été suggéré que des études multicentriques et internationales pourraient éventuellement mieux répondre aux questions non résolues [Rutherford et Poustie, 2005; Poustie et Rutherford, 2000a; Poustie et Rutherford, 2000b]. Bien que des revues systématiques de la littérature sur le traitement de la PCU révèlent un manque d'études de bonne qualité confirmant son efficacité, la poursuite de la pratique courante du régime est toujours recommandée (annexe F) [Rutherford et Poustie, 2005;

Macdonald *et al.*, 2004; Spaapen et Rubio-Gozalbo, 2003; van Spronsen *et al.*, 2001a; van Spronsen *et al.*, 2001b; Poustie et Rutherford, 2000a; Poustie et Rutherford, 2000b].

Traitements alternatifs

En raison du fardeau imposé par le régime pour le traitement de la PCU, d'autres traitements non diététiques sont sous investigation.

Au cours des sept dernières années, il a été question dans la littérature d'un traitement alternatif, la thérapie à la tétrahydroptérine (BH4), potentiellement efficace pour un sous-groupe de patients atteints de PCU. La BH4 est un cofacteur de PAH dans la conversion de la phénylalanine en tyrosine⁶. Chez les patients qui répondent à la BH4, on note une réduction des taux de phénylalanine sérique. Ces patients peuvent alors être traités avec un régime moins strict voir normal, ce qui améliore considérablement leur qualité de vie [Spaapen et Rubio-Gozalbo, 2003]. La réponse à la BH4 démontre une grande variabilité qui ne serait pas liée à la forme de PCU, au niveau de base de la phénylalanine sérique, au pourcentage de réduction de la phénylalanine sérique, au contenu en phénylalanine du régime ou aux types de mutations présentes dans le gène *PAH* [Leuzzi *et al.*, 2006]. Malheureusement, pour l'instant, aucune méthode ne permet de sélectionner a priori les patients qui répondraient à la BH4. Cette thérapie fait actuellement l'objet d'un essai de phase III [Clark, 2005] et aucune recommandation quant à son utilisation n'a été formulée à ce jour [Feillet, 2006].

La thérapie enzymatique est également à l'étude. La recherche porte plus particulièrement sur le remplacement des enzymes PAH ou PAL (phénylalanine amonialyase) comme traitements alternatifs. Une revue du progrès à ce jour souligne que malgré le fait que plusieurs études montrent des résultats prometteurs, des obstacles substantiels perdurent, dont la stabilité enzymatique, la variabilité de la réponse au traitement et les complications liées à la réponse immunitaire aux agents thérapeutiques [Kim *et al.*, 2004].

Enfin, la thérapie génique est aussi envisagée comme traitement alternatif pour la PCU, mais les études sont toujours au stade de l'expérimentation animale [Donlon *et al.*, 2004; Scriver, 2004].

Conseil génétique

Un conseil génétique est offert à la famille lorsqu'un enfant atteint de PCU est diagnostiqué afin de favoriser la compréhension des facteurs héréditaires impliqués. Bien qu'un traitement efficace existe pour cette maladie, le recours au diagnostic prénatal est occasionnellement envisagé, selon la situation familiale. Ainsi, dans les circonstances où cette option est considérée, une analyse moléculaire pour la recherche des mutations *PAH* est réalisée au préalable [Donlon *et al.*, 2004].

Suivi

Un suivi et un soutien par des experts sont nécessaires afin d'évaluer la forme de PCU, d'informer la famille sur le régime et (ou) le suivi recommandé, de coordonner la surveillance des niveaux de phénylalanine sérique et de fournir le soutien et l'information nécessaires pendant l'enfance [Abadie *et al.*, 2005; Donlon *et al.*, 2004].

6. Une réponse à une charge orale de BH4, au cours de l'investigation pour une hyperphénylalaninémie, peut indiquer un déficit en BH4 non-lié au gène *PAH*, mais plutôt à un défaut de biosynthèse ou de régénération de la BH4. Récemment divers groupes ont décrit une réponse à la BH4 chez quelques patients avec des mutations au niveau du gène *PAH* et une biosynthèse ou de régénération de BH4 normale.

Une étude canadienne a indiqué que l'efficacité du suivi est accrue avec une équipe compétente et bien coordonnée [Camfield *et al.*, 2004]. Bien que la découverte du gène *PAH* ait suscité beaucoup d'espoir à l'effet que les mutations fourniraient des informations pertinentes pour orienter le traitement et le pronostic, il est devenu apparent que le génotype (les mutations) ne prédit pas complètement le phénotype (l'expression clinique de la maladie) [Donlon *et al.*, 2004]. Ainsi, même si les mutations d'un patient sont connues, le suivi coordonné par les experts repose plutôt sur son phénotype individuel. Parallèlement à ce suivi spécialisé, il est souhaitable que les médecins traitants aient à leur disposition des protocoles standards pour assurer le suivi périodique des personnes atteintes et en particulier le suivi des femmes enceintes. En somme, si un régime est conseillé pour la vie, un suivi l'est également [Hanley, 2004].

4.1.5 Contribution du dépistage néonatal au pronostic

Depuis que des programmes de dépistage néonatal sont en place, la compréhension du diagnostic, du suivi, du traitement et du pronostic des hyperphénylalaninémies s'est considérablement améliorée. Des méthodes microbiologiques, enzymatiques, chromatographiques, fluorométriques ou par spectrométrie de masse peuvent être utilisées aux fins du dépistage néonatal de cette condition.

Les bénéfices d'un traitement initié tôt pour la PCU sont bien établis, la plupart des enfants traités pouvant fonctionner normalement [Donlon *et al.*, 2004]. Une revue d'études multicentriques longitudinales sur l'intelligence des patients traités par régime depuis la naissance en Allemagne, aux États-Unis et en Grande-Bretagne souligne l'importance d'un régime initié tôt et d'un suivi serré pendant les années pré-scolaires pour le développement du quotient intellectuel, les meilleurs résultats étant atteints lorsque les niveaux de phénylalanine sérique sont en dessous de 400 $\mu\text{mol/L}$ [Burgard *et al.*, 2000]. De plus, une étude suisse réalisée auprès d'enfants atteints de PCU a montré que de bons résultats peuvent être obtenus sur les échelles de qualité de vie et d'ajustement psychologique [Landolt *et al.*, 2002]. Les meilleurs résultats en terme d'intégration sociale sont également associés à un diagnostic et à un traitement initiés tôt [Bhat *et al.*, 2005]. Enfin, au niveau du pronostic de cette maladie, des variations dans les manifestations cliniques intrafamiliales ont été notées, impliquant l'existence d'autres facteurs génétiques et environnementaux dans l'expression de celles-ci [Donlon *et al.*, 2004].

4.1.6 Sommaire

La PCU est une condition bien connue et son dépistage néonatal est réalisé dans de nombreux pays depuis plus de 40 ans. Toutefois, plusieurs questions et enjeux demeurent quant à son traitement et à son pronostic. Ces questions portent entre autre sur le développement neurologique à long terme [Burgard *et al.*, 2000], le régime à l'âge adulte [Kaye *et al.*, 2006a; Hanley, 2004], le suivi des femmes enceintes atteintes de la PCU [Kalter, 2003], l'ajout de suppléments protéiniques au régime [Rutherford et Poustie, 2005], l'amélioration de la composition et de la qualité des produits diététiques utilisés pour les patients atteints de PCU [Feillet, 2006; Macdonald *et al.*, 2004; van Spronsen *et al.*, 2001a; van Spronsen *et al.*, 2001b], l'adhérence au régime PCU [Mackner *et al.*, 2001], la pathophysiologie de la PCU [NIH Consensus Development Panel, 2001] et l'efficacité des traitements alternatifs [Feillet, 2006; Kaye *et al.*, 2006a; Kim *et al.*, 2004; Spaapen et Rubio-Gozalbo, 2003; NIH Consensus Development Panel, 2001].

La PCU est donc souvent considérée comme une maladie modèle au regard des buts et des résultats des programmes de dépistage néonatal. Au cours des 40 dernières années,

l'identification des différentes formes d'hyperphénylalaninémie a permis d'assurer des traitements et (ou) des suivis bénéfiques pour plusieurs personnes atteintes. L'existence des programmes de dépistage pour cette maladie a mené à l'accroissement des connaissances sur l'hétérogénéité des hyperphénylalaninémies, l'efficacité du traitement, les résultats de santé à long terme et sur les implications pour la reproduction. Bien que la PCU puisse être considérée comme une maladie autosomique récessive classique au niveau de l'hérédité, les traits de cette condition (dont le taux de phénylalanine sérique et les symptômes neurologiques) ne sont pas seulement liés aux mutations dans le gène *PAH*, mais sont aussi liés à d'autres facteurs génétiques et environnementaux. Pour cette raison, le traitement et le suivi de ces personnes doivent être individualisés.

4.2 Tyrosinémie héréditaire de type 1

4.2.1 Introduction

La tyrosinémie héréditaire de type 1 (TH1) est une maladie métabolique résultant d'un déficit de la fumarylacétoacétate hydrolase (FAH), la dernière enzyme impliquée dans la voie catabolique de la tyrosine (voir annexe E, figure E-2). L'enzyme FAH est composée de 419 acides aminés. Cette enzyme est principalement exprimée dans le foie et les reins, ce qui explique que les changements pathologiques surviennent principalement dans ces tissus, et à un moindre degré dans d'autres tissus [Ashorn *et al.*, 2006; Scott *et al.*, 2006; Bergeron *et al.*, 2003; Mitchell *et al.*, 2001].

Le dysfonctionnement de l'enzyme FAH entraîne l'accumulation des métabolites de la tyrosine comme le fumarylacétoacétate, le maléylacétoacétate et la succinylacétone. L'accumulation de ces métabolites, principalement la succinylacétone, est responsable des effets toxiques hépatiques et rénaux, ainsi que des crises neurologiques observées chez les patients en bas âge (voir section 4.2.4). Le rôle de la succinylacétone a été démontré dans plusieurs processus pathologiques. A titre d'exemple, ce métabolite est un puissant inhibiteur de l'enzyme porphobilinogène synthase, ce qui cause des crises neurologiques similaires à celles observées dans la porphyrie d'où l'appellation de crises neurologiques pseudo-porphyriques. Cet effet se manifeste par une élévation urinaire de l'acide 5-aminolévulinique. La succinylacétone est également un inhibiteur de l'enzyme alanine déshydrogénase, une enzyme clé de la voie de la synthèse de l'hème [Ashorn *et al.*, 2006; Scott *et al.*, 2006; Bergeron *et al.*, 2003; Mitchell *et al.*, 2001]. L'élévation des taux de la succinylacétone dans le sang et les urines est pathognomonique de la TH1 [Mitchell *et al.*, 2001].

Depuis 1970 au Québec, la TH1 fait partie du programme de dépistage néonatal sanguin. Les tests utilisés pour dépister cette maladie ont toutefois évolué au cours des années. Au début du programme, le test de première ligne reposait sur le dosage de la tyrosine sanguine par fluorimétrie. Vu le manque de spécificité et de sensibilité de ce test, on le combine aujourd'hui au dosage semi-quantitatif de la succinylacétone par une méthode indirecte. Pour les enfants ayant des résultats anormaux, ces dosages de première ligne sont répétés sur le même échantillon et complétés, pour la confirmation diagnostique⁷, par un dosage quantitatif de la succinylacétone par une méthode indirecte avec ou sans analyse immunoréactive (ELISA) de l'enzyme FAH.

7. Laflamme et ses collaborateurs [2006] précisent que différents tests de confirmation ont été utilisés au fil du temps pour diminuer le nombre de faux positifs : avant 1974, le test était répété après ingestion d'acide ascorbique; de 1974 à 1981, l'alpha-foetoprotéine était mesurée dans les échantillons ayant une tyrosinémie élevée et de 1981 à 1997, la mesure de l'alpha-foetoprotéine a été remplacée par le dosage de la succinylacétone.

4.2.2 Présentation génétique

La TH1 est une maladie héréditaire qui se transmet selon le mode autosomique récessif. Le gène *FAH*, cartographié sur le bras long du chromosome 15 (15q23-q25), s'étend sur 30 à 35 kilobases (kb) et est composé de 14 exons. Sur les 44 mutations identifiées jusqu'à présent⁸, la mutation d'épissage au niveau de l'intron 12 du gène *FAH* explique la plupart des cas de TH1 dans la population canadienne-française et environ le tiers des cas dans le monde. Toutefois, compte tenu de l'hétérogénéité clinique observée chez des patients portant la même mutation, aucune corrélation entre le génotype et le phénotype n'a pu être établie. Une particularité de la TH1, appelée réversion génique, pourrait expliquer en partie les variations phénotypiques⁹ [Ashorn *et al.*, 2006; Scott *et al.*, 2006; Bergeron *et al.*, 2003; Mitchell *et al.*, 2001; Grompe *et al.*, 1994].

4.2.3 Épidémiologie

La prévalence moyenne de la TH1 dans le monde varierait entre 1:100 000 et 1:120 000 naissances [Mitchell *et al.*, 2001]. À titre d'exemples, la prévalence est de 1:50 000 naissances en Norvège [Kvittingen, 1986], 1:54 440 au Royaume-Uni [Hutchesson *et al.*, 1998] et 1:302 665 dans le Nord-ouest de l'Europe [Hutchesson *et al.*, 1998]. Toutefois, certaines régions de la Scandinavie [Kvittingen, 1986], de l'Iran¹⁰ [Golbahar *et al.*, 2002] et du Québec (Saguenay-Lac-St-Jean) présentent une prévalence particulièrement élevée.

Au Canada, selon les données recueillies par les programmes de dépistage néonatal de l'Ontario et de la Colombie-Britannique, la prévalence de la TH1 dans ces provinces serait de 1:100 000 et 1:142 864, respectivement [MOHLTC, 2006; Applegarth *et al.*, 2000].

Au Québec, un programme de dépistage néonatal de la TH1 a été instauré dès 1970. Toutefois, seulement deux études ont publié des données de prévalence pour cette maladie (tableau 5). De Braekeleer et Larochelle [1990] ont estimé la prévalence de la TH1 depuis le début du programme jusqu'en 1988. Cette étude rétrospective a évalué tous les enfants nés au Québec pendant cette période et a signalé une prévalence de 1 sur 16 667 naissances (6 cas pour 100 000). La région du Saguenay-Lac-St-Jean présente une prévalence beaucoup plus élevée avec un enfant atteint par 1 846 naissances (54 cas pour 100 000)¹¹. Dans cette région, la prévalence de porteurs hétérozygotes d'une mutation sur le gène *FAH* est d'environ 1/16 à 1/21 habitants. La fréquence élevée de la maladie au Saguenay-Lac-St-Jean peut être attribuée à une mutation fondatrice¹² dans l'intron 12 (IVS12+5g → a). Ainsi, la prévalence de porteurs hétérozygotes de cette mutation serait de 1 sur 25 habitants au Saguenay-Lac-St-Jean, alors qu'elle serait de 1 sur 66 au Québec. La mutation IVS12+5g → a représenterait 95 % des mutations retrouvées dans le gène *FAH*. D'autres mutations ont également été identifiées dans cette population dont deux

8. Les mutations pathogènes sont énumérées dans une base de données dédiées spécifiquement aux mutations du gène *FAH*, The Human Gene Mutation Database at the Institute of Medical Genetics in Cardiff, qui est disponible à l'adresse suivante : <http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/gene.php?gene=FAH>.

9. Il existe une incidence élevée de correction du défaut génétique dans le foie des patients atteints de TH1, c'est-à-dire la réversion d'un allèle mutant en un allèle normal. Ce phénomène a été observé chez plus de 85 % des patients. On observe également que les cellules corrigées gagnent un avantage sélectif prolifératif par rapport aux cellules mutées [Bergeron *et al.*, 2003].

10. Une prévalence de 1:10 651 est décrite pour la région du Shiraz en Iran.

11. Le calcul de la prévalence pour la région du Saguenay-Lac-Saint-Jean est basé sur les données disponibles pour la période allant de 1982 à 1986, pendant laquelle le taux de porteurs hétérozygotes de la mutation fondatrice était de une personne sur 21 [De Braekeleer et Larochelle, 1990].

12. Le coefficient de parentalité (*kinship*) moyen est 2,3 fois plus élevé dans le groupe de patients atteints de TH1 que dans le groupe témoin [De Braekeleer et Larochelle, 1990]. Le coefficient de parentalité est la probabilité qu'un gène pris au hasard à un locus donné chez un individu soit identique, en raison d'un ancêtre commun, à un gène pris au hasard au même locus chez un autre individu.

mutations non-sens¹³ assez communes (E357X et E364X) ainsi que trois autres mutations plus rares (non-sens W262X et faux-sens N161 et R381G) [CETS, 1998].

4.2.4 Présentation clinique

Deux formes cliniques (aiguë et chronique) de TH1 ont été définies sur la base du phénotype, de la sévérité de la maladie et de l'âge au diagnostic. Toutefois, il est important de mentionner qu'il existe un continuum entre ces deux formes et que certains cas sont difficilement classifiables. Des formes aiguës et chroniques de la maladie peuvent être observées dans une même famille.

La forme aiguë est la plus sévère et représente la majorité des cas de TH1 (environ 75 %) [van Spronsen *et al.*, 1994; Kvittingen, 1986]. La maladie apparaît avant l'âge de 6 mois et le plus souvent dès les premières semaines de vie du nourrisson. Elle se manifeste par des signes d'insuffisance hépatique sévère avec hypoglycémie, hypoprotéïnémie, hyperbilirubinémie, problèmes de coagulation graves, vomissements, diarrhées, léthargie et ictère. Des crises neurologiques pseudo-porphiriques surviennent également. Les niveaux sériques de tyrosine sont élevés et de grandes quantités de métabolites provenant du catabolisme de la tyrosine sont excrétées dans l'urine. Les niveaux de l' α -foetoprotéine sont typiquement élevés. Sans traitement, cette forme de TH1 mène à une défaillance hépatique progressive et à un dysfonctionnement tubulaire rénal. La majorité de ces enfants décèdent durant la première année de vie (en moyenne vers l'âge de 6-8 mois) [Ashorn *et al.*, 2006; Scott *et al.*, 2006; Mitchell *et al.*, 2001; Kvittingen, 1986].

La forme chronique est cliniquement plus bénigne que la forme aiguë. Les symptômes commencent habituellement à apparaître après l'âge de six mois. Cette forme de la maladie se caractérise par un dysfonctionnement tubulaire rénal, une cirrhose hépatique nodulaire avec hépatomégalie, une croissance pondérale insuffisante et un rachitisme hypophosphatémique. Le risque de développement d'un carcinome hépatique pourrait atteindre jusqu'à 37 % chez les enfants non traités [Scott *et al.*, 2006; Mitchell *et al.*, 2001].

Les enfants souffrant de la forme chronique peuvent également avoir des crises neurologiques pseudo-porphiriques répétées. Ces crises incluent des altérations de l'état de conscience (obnubilation), des douleurs abdominales, des signes de neuropathie périphérique et (ou) de détresse respiratoire pouvant requérir une ventilation mécanique. Les crises peuvent durer de un à sept jours. Mitchell et ses collaborateurs [1990] ont indiqué qu'environ 42 % des enfants canadiens-français souffrant de TH1 avaient expérimenté de tels épisodes. Ces crises neurologiques sont une cause majeure de morbidité et de mortalité.

Avec une diète appropriée (voir section 4.2.5), la survie à deux ans des enfants atteints de TH1 est de 29 % lorsque les premiers symptômes apparaissent avant l'âge de deux mois, de 74 % lorsqu'ils apparaissent entre deux et six mois (forme aiguë) et de 96 % lorsqu'ils surviennent après l'âge de six mois (forme chronique). Cependant, la survie à 10 ans chute à 30 % dans le groupe de patients diagnostiqués entre deux et six mois et à environ 60 % dans le groupe diagnostiqué après l'âge de six mois. Les décès sont, la plupart du temps, le résultat d'une insuffisance hépatique et d'hémorragies récurrentes (67 %), de carcinomes hépatocellulaires (17 %) et de crises neurologiques pseudo-porphyriques avec détresse respiratoire (10 %) [van Spronsen *et al.*, 1994].

13. La mutation est de type non-sens lorsqu'elle déclenche une substitution de base transformant un codon en l'un des trois triplets non-sens (UAG, UAA ou UGA) dont la fonction n'est pas de coder un acide aminé mais plutôt de marquer la fin d'une synthèse (codon stop).

4.2.5 Traitements

Dans les années 70, la seule intervention utilisée pour traiter les enfants atteints de TH1 était l'instauration d'une diète alimentaire très stricte, pauvre en tyrosine, phénylalanine et méthionine dès l'établissement du diagnostic. Dans la décennie qui a suivi, la transplantation hépatique s'est imposée comme étant la seule option thérapeutique réellement efficace pour la TH1. Actuellement, le traitement de cette maladie repose sur la prise d'un inhibiteur de l'enzyme hydroxyphénylpyruvate dioxygénase, agissant en amont de la FAH. Ce traitement appelé Nitisone (Orfadin®) ou NTBC (2-(2-nitro-4-trifluorométhylbenzoyl)-1,3-cyclohexanedione), appartient à une classe de composés développés dans les années 1980 comme herbicide. Ce médicament est prescrit en plus de la diète restrictive en protéines. Aujourd'hui, la greffe hépatique n'est utilisée que lors de l'échec de la thérapie au NTBC [Ashorn *et al.*, 2006; Scott *et al.*, 2006; Mitchell *et al.*, 2001].

Alimentation

La diète alimentaire pauvre en phénylalanine et en tyrosine a montré une utilité modérée en réduisant la formation de la succinylacétone et en améliorant l'état de la fonction rénale chez certains patients souffrant de la forme chronique. Toutefois, cette diète n'est pas très efficace pour les patients présentant une forme aiguë de la maladie avec insuffisance hépatique ou pour la prévention d'hépatocarcinomes. La survie après l'âge de 12 ans est rare chez les patients traités uniquement par une alimentation pauvre en protéines [Scott, 2006; Holme et Lindstedt, 1998; van Spronsen *et al.*, 1994].

Transplantation hépatique

Avant l'introduction d'un traitement pharmacologique, la greffe hépatique était la seule option thérapeutique pour traiter les patients atteints de TH1. Aujourd'hui, la transplantation est principalement indiquée pour les patients ne répondant pas au NTBC (10 % des patients atteints de la forme aiguë et 15 % de ceux atteints de la forme chronique) [Holme et Lindstedt, 2000]. Ce traitement est maintenant la dernière option considérée car la morbidité est élevée et plusieurs complications peuvent survenir. De plus, les médicaments anti-rejet doivent être instaurés à vie. Certains auteurs cités par Mitchell et ses collaborateurs ont indiqué que la létalité globale au décours d'une greffe varie entre 10 et 15 % selon l'âge du patient et les complications liées à la thérapie immunosuppressive [Mitchell *et al.*, 2001]. Au Québec jusqu'en 1995, c'est-à-dire jusqu'à l'introduction du NTBC, 28 transplantations hépatiques, dont deux combinées à une transplantation rénale, avaient été pratiquées chez 25 patients à l'hôpital Ste-Justine et seulement deux décès avaient été enregistrés (92 % de survie) [Paradis *et al.*, 1996]. Selon une autre étude réalisée au États-Unis, la survie à cinq et 10 ans après la greffe serait de 78 % et 68 %, respectivement, avec une qualité de vie relativement bonne [Kayler *et al.*, 2002].

Traitement pharmacologique

Un traitement pharmacologique pour la TH1, soit le NTBC, existe depuis plus d'une décennie. Durant l'évaluation toxicologique de ce produit, les chercheurs ont remarqué une élévation du niveau de tyrosine dans le sang et ont alors proposé que le NTBC bloquait la seconde étape du catabolisme de la tyrosine en inhibant l'enzyme 4-OH-phénylpyruvate dioxygénase (voir annexe E, figure E2).

En 1992, Lindstedt, Holme et leurs collaborateurs ont réalisé le potentiel de ce composé pour le traitement de la TH1 et l'ont utilisé chez cinq patients [Lindstedt *et al.*, 1992]. Lors de cette étude expérimentale, les chercheurs ont observé une amélioration clinique très importante de l'état de santé de ces enfants. En inhibant l'enzyme 4-OH-phenylpyruvate dioxygenase, ce traitement prévient la formation et l'accumulation de métabolites toxiques tels que le fumarylacétoacétate et le maléylacétoacétate ainsi que de leur dérivé, la succinylacétone. Comme le NTBC bloque le catabolisme de la tyrosine, les patients sous traitement ont néanmoins besoin d'une diète restrictive pauvre en phénylalanine, en tyrosine et en méthionine.

À la suite de cette étude expérimentale, une vaste étude clinique multicentrique avec le NTBC a débuté. Cette étude (toujours en cours) regroupe plus de 300 patients à travers le monde dont des sujets canadiens [Holme et Lindstedt, 2000]. Les patients étaient enrôlés volontairement, dans la plupart des cas, après un diagnostic clinique de la maladie sans égard à l'âge ou aux symptômes présentés. Selon les auteurs, le spectre complet des phénotypes possibles de la maladie est représenté dans l'étude. Dans les dernières années, la plupart des patients ont été identifiés grâce à un dépistage néonatal. Cependant, ce dépistage n'est pas instauré dans tous les pays participants. Les patients provenant du Québec ont, quant à eux, toujours été diagnostiqués de cette façon. Une centaine de participants à l'étude sont suivis depuis plus de 5 ans.

Les premiers résultats publiés en 1998 indiquaient que le NTBC pourrait améliorer le pronostic clinique et éviter les séquelles et ce, plus spécialement chez les patients souffrant de la forme aiguë. De plus, le NTBC ferait diminuer de façon significative les niveaux sériques de certains métabolites toxiques (fumarylacétoacétate, maléylacétoacétate, succinylacétone) et de l'alpha-foetoprotéines. Une amélioration de la fonction hépatique et du profil métabolique des patients ainsi qu'une diminution du nombre d'hépatocarcinomes ont été constatés [Holme et Lindstedt, 2000; Holme et Lindstedt, 1998]. Les résultats de la plus récente étude publiée par le groupe NTBC indiquent qu'une amélioration des fonctions rénales et hépatiques a été notée chez 90 % des patients débutant le NTBC avant l'âge de 6 mois (forme aiguë) (tableau 6). Pour les 10 % de patients ne répondant pas au traitement, la transplantation hépatique demeure souvent la seule option thérapeutique. Chez les patients ayant commencé le traitement après l'âge de deux ans (forme chronique) avec un suivi d'au moins 3 ans, une réponse favorable au traitement est moins élevée (de l'ordre de 75 %) [Holme et Lindstedt, 1998].

Une autre étude publiée récemment a évalué la réponse au NTBC (après 7 mois à 4 ans et demi de traitement) chez cinq patients diagnostiqués avant l'âge de un an et présentant déjà une cirrhose du foie ou une hépatosplénomégalie [Joshi et Venugopalan, 2004]. L'état de santé de tous les patients s'est amélioré suite au traitement à l'exception d'un seul qui est décédé après deux mois de traitement d'une insuffisance hépatocellulaire aiguë et d'une septicémie. Les autres patients sont devenus asymptomatiques 2 à 6 mois après le début du traitement (NTBC et diète). Dans presque tous les cas, l'hépatosplénomégalie a régressé significativement et le profil biochimique s'est normalisé¹⁴. Aucun effet indésirable relié au traitement NTBC n'a été noté pendant tout le suivi de ces patients. À la fin de l'étude, aucun patient n'avait développé de carcinome du foie ou n'a eu besoin de transplantation hépatique [Joshi et Venugopalan, 2004].

Malgré les bénéfices observés grâce au traitement NTBC, les conséquences à long terme de ce traitement sont encore peu connues. Une analyse préliminaire des données

14. Après deux mois de thérapie, l'amélioration clinique et biochimique était notable mais ce n'est qu'après six mois de traitement que les patients sont devenus asymptomatiques avec une normalisation complète de leur profil biochimique, guérison du rachitisme et régression des signes radiologiques de cirrhose du foie et d'hypertension portale.

pan-québécoises colligées au cours de l'essai clinique NTBC compare les résultats des neuf premières années de traitement avec le NTBC (1994-2003) en termes de transplantations requises et de mortalité à ceux de la décennie précédente où ce traitement n'était pas disponible. Ces données proviennent d'un résumé de présentation [Mitchell *et al.*, 2005] et regroupent tous les patients québécois (77 patients) recrutés dans l'étude NTBC nés entre février 1984 et février 2004. De ce nombre, 50 patients ont reçu le NTBC comparativement à 27 qui n'ont pas reçu ce traitement (les patients ont commencé le traitement après l'apparition de symptômes cliniques). Les résultats préliminaires semblent indiquer que le nombre de transplantations hépatiques a beaucoup diminué depuis l'introduction du NTBC. Ainsi, des transplantations ont été nécessaires chez 19 patients sur 27 sans traitement (70,3 %) comparativement à cinq sur 52 chez les patients traités (9,6 %). Le nombre de décès lié à la maladie a également diminué de façon significative. Dix décès sont survenus dans le groupe sans traitement contre deux dans le groupe traité ($p < 0,0001$), les deux décès étant survenus suite à des complications post-greffes chez des patients traités depuis longtemps. Ces résultats significatifs devraient être soumis sous peu pour publication.

4.2.6 Sommaire

Le dépistage de la TH1 fait partie du programme québécois de dépistage sanguin des maladies métaboliques depuis 1970. Le dépistage de cette maladie peut en partie se justifier par sa prévalence particulièrement élevée chez les canadiens français. De plus, l'intervention thérapeutique (NTBC accompagné d'une diète pauvre en protéines) dès les premières semaines de vie semble diminuer le taux de mortalité ainsi que la morbidité liées à la maladie. Le traitement au NTBC améliorerait de façon significative la survie des enfants atteints de la forme aiguë. Dans la majorité des cas (90 %), l'état de santé des patients s'améliore avec une normalisation des fonctions rénales et hépatiques ainsi que des profils biochimiques. Toutefois, comparativement aux patients souffrant de la forme aiguë, ceux atteints de la forme chronique (traitement instauré après l'âge de deux ans), répondent dans une moindre mesure au traitement (75 %). Ces résultats démontrent l'importance d'un diagnostic précoce. Le nombre de cas d'hépatocarcinomes diminue également avec le traitement NTBC ainsi que le nombre de greffes requises chez les jeunes enfants. Il est tout de même important de noter qu'un certain nombre d'enfants ne répondent pas au NTBC et que la greffe hépatique est alors la seule option thérapeutique pour eux. De plus, malgré les bénéfices observés grâce au NTBC, les conséquences à long terme de ce traitement sont encore méconnues étant donné le recul limité (12 ans) dont on dispose en ce qui a trait à son utilisation.

Bien que le dépistage néonatal universel de la TH1 au Québec ait été instauré avant qu'un traitement efficace ne soit disponible, les données accumulées depuis quelques années, quoique toujours préliminaires, semblent démontrer qu'il existe un avantage réel à dépister cette maladie.

TABLEAU 5

Prévalence de la tyrosinémie de type 1 au Canada							
ÉTUDES	LIEU	PÉRIODE DE L'ÉTUDE	SÉLECTION DES PATIENTS	CONFIRMATION DE LA MALADIE	POPULATION DÉPISTÉE	CAS DIAGNOSTIQUÉS	PRÉVALENCE (CAS PAR 100 000)
De Braekeleer et Laroche, 1990	Québec, Canada*	Octobre 1970-décembre 1988	Tous les nouveau-nés du Québec	Oui	1 633 366	98	1:16 667 (6,01)
		1967-1971	Tous les nouveau-nés de la région du Saguenay–Lac-Saint-Jean		21 880	21	1:1 042
		1972-1976			22 985	15	1:1 532
		1977-1981			28 133	16	1:1 758
		1982-1986			24 004	13	1:1 846 (54,2)
Bergeron et al., 1974†	Québec, Canada*	Octobre 1970-septembre 1972	82 % des nouveau-nés du Québec	Oui	168 727	14	1:12 052 (8,3)
			94 % des nouveau-nés du Saguenay–Lac-Saint-Jean		7 522	11	1:684 (146,7)
Applegarth et al., 2000	Colombie-Britannique, Canada‡	1969-1996	Tous les nouveau-nés de Colombie-Britannique	Oui	1 142 912	8	1:142 864 (0,7)

* Ces données ont été recueillies dans le cadre du programme québécois de dépistage sanguin des maladies génétiques chez le nouveau-né.

† Les données présentées dans cette étude peuvent être incluses dans l'étude De Braekeleer et Laroche [1990].

‡ Les enfants atteints d'erreurs innées du métabolisme ont été repérés à partir des registres du Biochemical Diseases Laboratory, Children's Hospital, Vancouver.

TABLEAU 6

Études sur l'efficacité du traitement au NTBC

AUTEUR, ANNÉE	TYPE D'ÉTUDE	CARACTÉRISTIQUES DES PARTICIPANTS À L'ÉTUDE	CARACTÉRISTIQUES DE L'ÉTUDE	RÉSULTATS
Joshi et Venugopalan, 2004	Étude de cas	- Population : Tous les enfants < 13 ans avec TH1 référés à la Division Métabolique de l'hôpital Universitaire Sultan Qaboos (Oman) de juin 1998 à septembre 2003. - Nombre : 5 - Âge au début de la symptomatologie : 2-11 mois (médiane : 5 mois) - Âge au diagnostic : 6-13 mois (médiane : 8 mois) - Symptômes : Cirrhose du foie (n=4), hépatosplénomégalie (n=1), syndrome de Fanconi (n=4), rachitisme (n=3), troubles de la coagulation (n=3)	- Type d'intervention : Traitement par le NTBC et diète pauvre en tyrosine et en phénylalanine - Durée du traitement et suivi : 7 mois à 4,5 ans - Tests effectués : Formule sanguine; enzymes hépatiques; fonction rénale; profils osseux, de coagulation et de l'α-fétoprotéine; surveillance échographique de la cirrhose hépatique; taux plasmatiques des acides aminés (surtout la tyrosine et la phénylalanine); taux urinaires de la succinylacétone; examen ophtalmologique pour surveiller l'apparition d'effets secondaires du NTBC	- Un des patients est décédé deux mois après le début du traitement d'une défaillance hépatocellulaire aiguë avec troubles sévères de la coagulation et septicémie. - Pour les 4 autres patients, il y a eu une nette amélioration au bout de 2 mois de traitement de l'état clinique (diminution de la taille du foie et de la rate et disparition de la cirrhose hépatique) et biochimique (normalisation des niveaux sériques de phosphatases alcalines, de bilirubine, de potassium et de l'α-foetoprotéine) et une disparition des symptômes 6 mois après le début du traitement.

Études sur l'efficacité du traitement au NTBC (suite)

AUTEUR, ANNÉE	TYPE D'ÉTUDE	CARACTÉRISTIQUES DES PARTICIPANTS À L'ÉTUDE	CARACTÉRISTIQUES DE L'ÉTUDE	RÉSULTATS
Holme et Lindstedt, 2000	Étude multicentrique débutée en 1991 et toujours en cours	- Population : Au début, l'étude était ouverte à tout patient atteint de TH1 quelque soit le pays d'origine, l'âge, les symptômes, ou la forme ou le stade de la maladie. Plus récemment, les patients étaient recrutés au moment du diagnostic (avant l'âge de 6 mois pour 66% des patients et avant l'âge de 2 ans pour 80% d'entre eux) - Nombre : Environ 300 patients enrôlés; résultats indiqués pour 80 patients atteints de la forme aiguë traités entre 1991 et 1997 et 60 patients atteints de la forme chronique - Âge au début du traitement : 1 jour à 21 ans - Symptômes : non décrits de façon détaillée pour les patients de l'étude mais de façon générale pour les deux formes de la maladie	- Type d'intervention : traitement avec le NTBC et diète pauvre en tyrosine et en phénylalanine - Durée du traitement : toujours en cours avec près de 100 patients traités depuis 5-9 ans - Tests effectués : taux plasmatiques et urinaires de la succinylacétone, taux de porphobilinogène synthase dans les globules rouges et taux urinaires de l'acide 5-aminolevulinique	1) Réponse au traitement : a) Forme aiguë (n=80 patients dont le traitement par NTBC a débuté avant l'âge de 6 mois) : - Pour 72 (90%) de ces patients, il y a eu amélioration significative de la fonction hépatique le plus souvent après une semaine de traitement. Parmi ce groupe : * Deux patients ont dû subir une greffe hépatique après 1 an et 2,5 ans de traitement, respectivement, à cause de la progression de l'atteinte hépatique et la suspicion d'hépatocarcinome (non confirmé après chirurgie) * Un patient a développé un hépatocarcinome à l'âge de 15 mois et a subi une chimiothérapie ainsi qu'une hepatectomie partielle. Son évolution sous NTBC a été favorable - Pour 8 (10%) de ces patients, aucune réponse clinique n'a été observée malgré une réponse biochimique au NTBC. Parmi ces patients : * 5 sont décédés * 3 ont dû subir une greffe hépatique à 3-9 semaines après le début du traitement; l'évolution a été favorable pour 2 patients et fatale pour le troisième b) Forme chronique (n=60 patients dont le traitement par NTBC a débuté après l'âge de 2 ans et dont le suivi est d'au moins 3 ans) : - Pour 45 (75%) de ces patients (âgés de 6-28 ans), il y a eu une amélioration significative de la neuropathie et des fonctions hépatiques et rénales. Aucune greffe hépatique n'a été nécessaire - Pour 15 (25%) de ces patients, l'indication d'une greffe hépatique s'est posée pour suspicion d'hépatocarcinome (n=11) ou autre raison (n=4). Des décès sont survenus chez 5 patients dont 3 après la greffe et 2 avant la réalisation de la greffe 2) Effets secondaires : - Symptômes oculaires transitoires secondaires à des taux élevés de tyrosinémie (17 occurrences chez quelques patients) - Thrombocytopénie et leucopénie transitoires (n=8 patients)

4.3 Le MCADD

4.3.1 Introduction

Le déficit en *Medium Chain Acyl-CoA Dehydrogenase* (MCADD) est l'une des plus importantes maladies métaboliques impliquant l'oxydation- β des acides gras. Elle résulte de la défaillance d'une enzyme, la *Medium Chain Acyl-CoA Dehydrogenase* (MCAD) (voir annexe E, figure E-3) [Grosse *et al.*, 2006b; Goddard, 2004; Olpin, 2004; Roe et Ding, 2001]. Actuellement, cette maladie n'est pas incluse dans le programme québécois de dépistage néonatal sanguin des maladies métaboliques. La technologie MS/MS est le seul moyen de dépister le MCADD.

L'oxydation- β joue un rôle important dans la production de l'énergie nécessaire pour le bon fonctionnement du corps surtout durant les périodes de jeûne ou de stress métabolique. Les acides gras sont alors libérés des tissus adipeux. Par la suite, l'activation des acides gras en ester acyl-CoA (acyl-Coenzyme A) est accomplie par une famille d'enzymes appelée acyl-CoA synthétases dans le cytoplasme de la cellule ayant besoin d'énergie. Les acides gras à petites et moyennes chaînes sont directement transférés dans les mitochondries. En revanche, les acides gras à longues chaînes nécessitent un transport actif au moyen de la carnitine comme molécule intermédiaire [Grosse *et al.*, 2006b; Goddard, 2004; Olpin, 2004; Roe et Ding, 2001]. L'oxydation mitochondriale est principalement responsable de l'oxydation des acides gras à moins de 20 carbones. La première étape de l'oxydation- β est la déshydrogénation de l'acyl-CoA par une famille d'enzymes, les acyl-CoA déshydrogénases. Ces enzymes diffèrent par leur action spécifique sur une longueur particulière de la chaîne acyl-CoA¹⁵. La MCAD catalyse la déshydrogénation des acyl-CoA de longueur moyenne, soit de quatre (C4) à 12 carbones (C12) [Olpin, 2004; Roe et Ding, 2001]. L'acyl-CoA va subir toute une série de réactions enzymatiques dont il résultera la libération d'un acyl-CoA avec 2 carbones de moins et d'un nouvel acétyl-CoA [Lecoq *et al.*, 1995]. Les chaînes acyl-CoA intermédiaires qui ne sont pas complètement oxydées en raison du déficit de l'enzyme MCAD sortent de la cellule et s'accumulent dans le plasma sous forme d'acylcarnitine¹⁶. Le MCADD est caractérisé, entre autre, par une élévation des niveaux plasmatiques d'octanoylcarnitine (C8) ou par un ratio élevé de C8 sur décanoylcarnitine (C10) (C8/C10) [Grosse *et al.*, 2006b; Goddard, 2004; Olpin, 2004; Roe et Ding, 2001].

4.3.2 Présentation génétique

Le MCADD est une maladie héréditaire se transmettant selon un mode autosomique récessif. Le gène *MCAD* est situé sur le chromosome 1 en position p31 (1p31). Son ADN complémentaire a été cloné et séquencé en 1987. Jusqu'à présent, plus de 30 mutations ont été identifiées dans ce gène [Grosse *et al.*, 2006b; Kaye *et al.*, 2006a; Roe et Ding, 2001]. La mutation la plus commune est située dans l'exon 11 et implique le remplacement d'une adénine par une guanine (985A→G ou A985G)¹⁷. Cette mutation est retrouvée à l'état homozygote, c'est-à-dire sur les deux allèles du gène *MCAD*, chez plus de 80 % des patients de populations d'origine européenne diagnostiqués sur la base de symptômes cliniques. Il est à noter qu'environ 17 % des patients sont des hétérozygotes

15. On distingue les acyl-CoA déshydrogénases selon la longueur de la chaîne d'acylcarnitine sur lesquelles elles agissent : *very long* (VLCAD), *long* (LCAD), *medium* (MCAD) et *short* (SCAD) *Chain Acyl-CoA Dehydrogenase*.

16. Les acylcarnitines sont identifiées par la longueur de la chaîne acyl-CoA, C8 correspondant à l'octanoylcarnitine et C10 au décanoylcarnitine, par exemple.

17. Au niveau de la protéine, cette mutation ponctuelle entraîne la substitution d'un glutamate par une lysine en position 329 (K329E ou Lys329Glu).

composites c'est-à-dire qu'ils possèdent un allèle portant la mutation A985G et un allèle portant une autre mutation. D'autres mutations prédominent dans les populations qui ne sont pas originaires d'Europe [Roe et Ding, 2001].

Les génotypes décrits dans les cohortes diagnostiquées sur la base de symptômes cliniques diffèrent de ceux de cohortes dépistées, la proportion d'homozygotes A985G étant moins grande dans le dernier cas. Selon les études examinées (tableau 7), la proportion d'homozygotes varie entre 36 % et 71 % (fréquence moyenne de 55 %; intervalle de confiance de 95% (IC 95 %) : 47 %-63 %) chez les patients dépistés par la MS/MS comparativement à 80 % chez les patients diagnostiqués cliniquement [Grosse *et al.*, 2006b].

Une autre mutation pathogène non-sens (199T→C ou T199C) est fréquemment rencontrée dans les populations soumises à un dépistage néonatal (la proportion de porteurs serait de 1/500). Toutefois, cette mutation n'a pas été identifiée chez les patients diagnostiqués cliniquement [Andresen *et al.*, 2001]. Les risques absolus de maladie chez les patients porteurs de cette mutation sont pour l'instant inconnus.

Il est important de noter que les connaissances sur la corrélation génotype-phénotype sont limitées et que même parmi les homozygotes A985G, le spectre des manifestations cliniques est variable. L'expression clinique est vraisemblablement dépendante d'une variété de facteurs génétiques et environnementaux [Grosse *et al.*, 2006b; Goddard, 2004]. Comme le soulignent Grosse et ses collaborateurs [2006b], le stress métabolique pouvant entraîner la survenue de la maladie chez un enfant n'est pas nécessairement suffisant pour déclencher la maladie chez un autre.

4.3.3 Épidémiologie

Le tableau 8 présente les données de prévalence que nous avons recensées dans différentes populations ainsi que la période durant laquelle les études épidémiologiques ont été effectuées. La prévalence du MCADD dans le monde, basée sur les cas détectés par la MS/MS et les études populationnelles, varient de 1:4 908 à 1:51 000. Ainsi, selon les données recueillies, la prévalence moyenne est de 1:16 593 naissances¹⁸. Cette moyenne se situe dans les intervalles de confiance (IC) calculés dans deux revues systématiques de la littérature présentant des données épidémiologiques publiées en 2006. En effet, les auteurs du rapport publié en mars 2006 par l'Agence canadienne des médicaments et des technologies de la santé (ACMTS) estiment une prévalence variant entre 1:8 930 et 1:68 560 selon la population examinée. La prévalence moyenne est de 1:16 667 (IC 95 % : 1:14 286-1:20 000) [Tran *et al.*, 2006]. Les auteurs de cette étude ont effectué leur recherche bibliographique sur une période différente (1999-2005) de la nôtre (2000-août 2006). De plus, ils ont considéré les données publiées dans des résumés de présentations ou apparaissant dans la littérature grise. Dans la revue systématique de Grosse et ses collaborateurs [2006b], la prévalence du MCADD estimée dans les populations majoritairement originaires d'Europe se situe entre 1:10 000 et 1:27 000. Les légères différences existant entre les données que nous présentons dans ce rapport et les données épidémiologiques indiquées par ces auteurs peuvent être expliquées par la période de publication (1999-juin 2005) de la littérature qu'ils ont examiné et par la

18. La prévalence est particulièrement plus élevée dans les populations originaires d'Europe que dans les populations non-européennes. À titre d'exemple, la prévalence de la maladie estimée dans différentes régions d'Allemagne varie de 1:4 908 à 1:15 600 naissances (Bavière, Baden-Württemberg, Basse-Saxe). La prévalence est également élevée chez les nouveau-nés du nord du Royaume-Uni (1:12 575). À l'inverse, aucun enfant atteint de MCADD n'a été identifié en Corée parmi plus de 79 000 nouveau-nés dépistés et seulement deux patients ont été identifiés parmi 102 200 enfants dépistés au Japon (1:51 000).

considération de rapports provenant de programmes de dépistage néonatal disponibles sur l'Internet. Aux États-Unis, la prévalence semble varier entre 1:12 933 et 1:27 223 (tableau 8). Grosse et ses collaborateurs [2006b] ont estimé la prévalence moyenne pour ce pays à 1:17 000 naissances en combinant les données de prévalence provenant des différents États (IC 95 % : 1:15 000–1:20 000)¹⁹.

Aucune étude épidémiologique fournissant spécifiquement des données d'incidence ou de prévalence du MCADD dans les différentes provinces du Canada n'a été réalisée. Toutefois, l'ACMTS a estimé la prévalence du MCADD au Canada à 1:16 000 naissances. Étant donné un taux de natalité en 2003-2004 de 10,4 par 1 000 (ou 330 803 naissances), environ 20 enfants atteints de MCADD naîtraient chaque année [Tran *et al.*, 2006]. Le nombre de naissances au Québec en 2003-2004 était d'environ 75 000, ce qui porte l'estimation du nombre d'enfants atteints de la maladie à 4,66 par année.

En ce qui concerne la prévalence des homozygotes pour la mutation A985G, les estimations varient entre 1:6 400 et 1:44 355 selon l'origine ethnique de la population examinée (tableau 9). Au Canada, une étude de cohorte menée au Manitoba indique que la proportion des porteurs de cette mutation dans la population serait de 1:154 personnes, ce qui voudrait dire qu'un nouveau-né sur 94 864 naissances serait homozygote pour cette mutation [Thompson *et al.*, 1995]. Au Québec, une étude visant à estimer la proportion de porteurs de cette mutation auprès d'une cohorte de plus de 6 000 nouveau-nés est présentement en cours. Les résultats de cette étude devraient être publiés sous peu (F. Rousseau, communication personnelle). Selon les données préliminaires qui nous ont été transmises, nous avons calculé que la prévalence de porteurs de la mutation A985G serait de 1:72²⁰. La prévalence d'homozygotes pour cette mutation est estimée à 1:19 881 (IC 95 % : 1:13 924–1:30 976). Dans plusieurs études portant sur des populations d'origine européenne, les auteurs ont estimé la prévalence du MCADD dans leur population en assumant que la mutation A985G représentait 90 % de toutes les mutations retrouvées dans le gène. Selon cette hypothèse, la prévalence du MCADD au Québec serait de 1:16 129 (IC 95 % : 1:11 236–1:24 964).

Plusieurs études tendent à démontrer que la maladie est sous-diagnostiquée lorsqu'aucun programme de dépistage néonatal n'est instauré dans une population [Hoffman *et al.*, 2004; Wilcken *et al.*, 2003; Pourfarzam *et al.*, 2001]. Quelques études ont comparé la prévalence de la maladie parmi les groupes d'enfants identifiés sur la base de symptômes cliniques et ceux dépistés par la MS/MS en se basant sur des données provenant de différentes régions. En effet, un programme de dépistage néonatal par la MS/MS était à l'époque disponible dans certaines régions et non dans d'autres. Selon les données résumées par Grosse et ses collaborateurs [2006b], la prévalence de la maladie chez les enfants dépistés par la MS/MS (1:47 300 à 1:30 700) est de plus du double de celle des enfants diagnostiqués sur la base de symptômes cliniques (1:21 300 à 1:12 700)²¹ [Hoffman *et al.*, 2004; Wilcken *et al.*, 2003; Pourfarzam *et al.*, 2001]. Une autre approche a été utilisée par Derks et ses collaborateurs [2005], qui ont comparé la prévalence du MCADD chez des enfants diagnostiqués sur la base de symptômes

19. Les auteurs indiquent des variations substantielles inter-États, les estimations s'étendant de 1:10 000 à 1:30 000 approximativement. Ils mentionnent qu'on ne peut prédire de façon fiable le nombre de cas de MCADD dans un État sur la base de la prévalence nationale ou des données de dépistage provenant d'un autre État, car les données varieraient en fonction de la composition raciale ou ethnique. Toutefois, aucune étude américaine ne présente de données d'incidence ou de prévalence à la naissance par race ou composition ethnique.

20. F. Rousseau, Professeur titulaire, Département de biologie médicale, Faculté de Médecine, Université Laval, Québec, communication personnelle, 7 novembre 2006.

21. Il est à noter que Grosse et ses collaborateurs [2006b] ont estimé ces données de prévalence en excluant les enfants atteints qui ont été identifiés sur la base d'une histoire familiale.

cliniques à la prévalence estimée selon la proportion de porteurs de la mutation A985G. Ainsi, aux Pays-Bas, la prévalence de porteurs hétérozygotes pour la mutation A985G est de 1:59 (IC 95 % : 1:50–1:73), ce qui porterait la prévalence à 1:12 100 naissances (IC 95 % : 1:8450–1:18 500). Or, les auteurs ont estimé la prévalence de la maladie à 1: 27 400 (IC 95 % : 1:23 000–1:33 900) d’après les cas diagnostiqués cliniquement [Derks *et al.*, 2005].

4.3.4 Présentation clinique

Les périodes de jeûne et de stress (exercice, maladie, infection) chez les enfants atteints de MCADD peuvent entraîner une variété de signes cliniques. Les patients peuvent présenter des symptômes aigus incluant une hypoglycémie avec hypocétonurie, une acidose métabolique, une hypotonie, une léthargie et (ou) des vomissements. Les crises de décompensation métabolique qui ne sont pas traitées peuvent progresser vers une hépatomégalie, une encéphalopathie aiguë avec crises épileptiques, un coma, un arrêt cardio-respiratoire ou même mener au décès, dans certains cas [Grosse *et al.*, 2006b; Kaye *et al.*, 2006a; Goddard, 2004; Olpin, 2004]. Le diagnostic de MCADD a été confirmé en post-mortem chez certains nourissons ayant été victimes de mort subite inexpliquée [Goddard, 2004; Olpin, 2004]. Les symptômes peuvent également être plus bénins avec seulement des épisodes hypoglycémiques isolés [Goddard, 2004; Olpin, 2004].

L’âge à l’apparition des symptômes est également très variable. La majorité des enfants symptomatiques présentent des signes de la maladie entre l’âge de trois mois et de trois ans [Grosse *et al.*, 2006b], avec un âge moyen de 13 mois [Goddard, 2004]. La plupart de ces patients sont asymptomatiques avant l’apparition du premier épisode aigu et jusqu’à 25 % vont en mourir en raison d’une décompensation métabolique [Kaye *et al.*, 2006a; Goddard *et al.*, 2004; Wilcken *et al.*, 2002; Pourfarzam *et al.*, 2001; lafolla *et al.*, 1994]. Grosse et ses collaborateurs [2006b] ont calculé que la probabilité qu’un individu fasse une crise de décompensation métabolique en l’absence de dépistage est de 0,75. Par ailleurs, les symptômes de MCADD peuvent se manifester très tôt. Par exemple, en Nouvelle-Galles du Sud (Australie) avant l’instauration d’un programme de dépistage néonatal, huit des 20 enfants atteints de MCADD diagnostiqués ont présenté des signes d’hypoglycémie durant les trois premiers jours de vie [Wilcken *et al.*, 1994]. Il est toutefois important de mentionner que selon certains auteurs entre le tiers et le quart des individus atteints de la maladie demeureraient asymptomatiques toute leur vie [Goddard, 2004]. Le taux de mortalité pour l’ensemble des enfants atteints de MCADD devrait donc être plus faible que parmi les enfants ayant expérimenté des crises aiguës de décompensation métabolique. Ce taux serait de l’ordre de 12 à 20 % [Grosse *et al.*, 2006b].

Les enfants ayant développé des crises aiguës de décompensation métabolique ont des risques élevés de dommages neurologiques et d’incapacité et jusqu’au tiers d’entre eux auront des dommages neurologiques irréversibles pouvant nécessiter des soins médicaux à vie. Grosse et ses collaborateurs [2006b] ont estimé que 5 à 7 % de tous les enfants ayant un déficit en MCAD auraient des séquelles neuro-développementales en l’absence de dépistage²². Toutefois ces estimations reposent sur plusieurs hypothèses et ne prennent pas en compte les retards de développement et les problèmes de comportement

22. Grosse et ses collaborateurs [2006b] ont combiné les meilleures estimations de risques de déficience intellectuelle parmi les enfants atteints de MCADD survivants diagnostiqués cliniquement (6 %) avec les risques d’être atteints de paralysie cérébrale sans avoir de déficience intellectuelle (3 %) pour dériver une estimation globale d’incapacité assez grave pour nécessiter un traitement à vie (9 %). Étant donné la taille des intervalles de confiance, cette estimation est imprécise [Grosse *et al.*, 2006b]. Compte tenu de la proportion des enfants présentant un épisode aigu de décompensation métabolique, environ 5 à 7 % des enfants atteints de MCADD développeraient donc ce type de séquelles en l’absence de dépistage.

plus bénins qui peuvent se manifester chez les survivants d'épisodes aigus de décompensation métabolique.

Il n'existe pas de définition précise du MCADD faisant consensus dans la littérature scientifique. La maladie est présentement identifiée sur une base biochimique compte tenu de la variabilité des caractéristiques cliniques et de l'absence de signes cliniques pathognomoniques. En raison de l'utilisation de différents tests biochimiques et de critères diagnostiques variables, la comparaison des données provenant de plusieurs études est très compliquée.

4.3.5 Traitement

Le but principal du traitement est de minimiser les risques de jeûne excessif et implique des prises de nourriture fréquentes surtout dans les premiers mois de vie. Les périodes de temps séparant les repas devraient être notées et contrôlées afin d'éviter les complications et plus spécialement lorsque l'enfant vieillit et que ses demandes en glycogène augmentent. Certains enfants semblent bien tolérer le jeûne en l'absence d'infection, mais leur santé se détériore lorsqu'une infection est présente. Dans ces circonstances, la prise de suppléments d'hydrates de carbone, par voie orale ou intraveineuse, est nécessaire [Grosse *et al.*, 2006b; Kaye *et al.*, 2006a; Goddard, 2004; Dezateux, 2003]. Un protocole de prise en charge d'urgence devrait être prévu. Enfin, mentionnons que l'effet bénéfique des suppléments en carnitine pour les patients atteints de MCADD ne fait pas consensus parmi les experts [Kaye *et al.*, 2006a; Lee *et al.*, 2005; Dezateux, 2003; Walter, 2003]. Aucune étude randomisée n'a été publiée à ce sujet.

4.3.6 Contribution du dépistage néonatal au pronostic

Deux revues systématiques de la littérature ont examiné les données concernant la pertinence d'inclure le MCADD dans un programme de dépistage néonatal [Tran *et al.*, 2006; Pollitt *et al.*, 2004]. La revue de Pandor et ses collaborateurs [2004] est une mise à jour de deux revues britanniques précédentes [Pollitt *et al.*, 1997; Seymour *et al.*, 1997]. Leur recherche bibliographique n'a mis en évidence que trois études d'incidence britanniques, dont deux présentent quelques données de pronostic [Pourfarzam *et al.*, 2001; Pollitt et Leonard, 1998], et aucune étude additionnelle sur l'efficacité de la prise en charge précoce. Leurs conclusions se basent donc sur le fait que, sans prise en charge, le MCADD est assortie d'une morbidité et d'une mortalité significatives, alors que d'après une étude [Wilson *et al.*, 1999] le diagnostic clinique et la prise en charge évitent tout décès ultérieur ainsi que toute détérioration notable du développement cognitif. En outre, les résultats disponibles à l'époque pour deux cohortes de nouveau-nés ayant bénéficié d'un dépistage par la MS/MS indiquaient un nombre de décès restreint parmi les nouveau-nés identifiés, soit zéro décès sur 12 dans l'étude de Carpenter et ses collaborateurs [2001], et deux décès sur 62 survenus tout au début de l'étude d'Andresen et ses collègues [2001] avant l'instauration de protocoles d'urgence pour la prise en charge des crises de décompensation métabolique. Les auteurs concluent à la pertinence d'inclure le MCADD dans les programmes de dépistage néonatal, tout en soulevant le problème des formes cliniques moins sévères de la maladie que l'on ne peut différencier à la naissance sur la base des connaissances actuelles.

La revue systématique de la littérature de Tran et ses collaborateurs [2006] comporte une analyse critique avec une mise à jour de la littérature jusqu'en 2005. Cette revue répertorie deux études décrivant le pronostic de la maladie en l'absence de dépistage néonatal, soit les mêmes études que celles examinées par Pandor et ses collègues en

2004 [Pourfarzam *et al.*, 2001; Pollitt et Leonard, 1998]. Par ailleurs, neuf études de cohorte prospectives²³ qui présentent des données sur l'évolution clinique d'enfants dont le diagnostic de MCADD a été établi suite à un dépistage néonatal par la MS/MS sont discutées. Le nombre d'enfants décédés ainsi que le nombre d'enfants symptomatiques sont présentés. Afin de comparer les issues des patients dépistés par la MS/MS et ceux diagnostiqués en clinique, Tran et ses collaborateurs [2006] ont calculé la différence entre les moyennes pondérées des pourcentages de patients asymptomatiques et de patients décédés pour chacun des deux groupes d'études. Cette approche ne tient pas compte de l'hétérogénéité des résultats²⁴. Par ailleurs, plusieurs limites concernant les plans d'étude et la présentation des résultats sont soulevées par Tran et ses collaborateurs [2006]. D'abord, on note le manque de suivi à long terme des patients, surtout ceux dépistés par la MS/MS. La durée de suivi des patients n'est généralement pas mentionnée et le recul pour les programmes de dépistage varie d'un à huit ans. Le nombre d'enfants atteints de MCADD dans ces études est de 8 et 62, respectivement, pour les études sans dépistage néonatal et de 2 à 41 pour les études basées sur un dépistage néonatal par la MS/MS²⁵. Les résultats de cette comparaison suggèrent que le développement de symptômes aigus est plus fréquent parmi les patients diagnostiqués cliniquement (76 % avec un IC 95 % de 64 % à 85 %) que parmi les enfants identifiés suite à un dépistage néonatal (4 % avec un IC 95 % de 1 % à 9 %). Cette différence est statistiquement significative. De même, moins de 2 % de décès seraient à prévoir après le dépistage néonatal selon les études répertoriées alors que 16 % de décès sont enregistrés pour les études de Pourfarzam et ses collaborateurs [2001] et Pollitt et Leonard [1998], et que les valeurs retrouvées par ailleurs dans la littérature sont comprises entre 15 et 25 %.

Tran et ses collaborateurs [2006] indiquent aussi que, dans quatre études parmi les neuf précitées, les auteurs procèdent à une comparaison entre les issues de patients dépistés et celles de patients diagnostiqués en clinique [Hoffmann *et al.*, 2004; Wilcken *et al.*, 2003; Shigematsu *et al.*, 2002; Carpenter *et al.*, 2001]. Il est à noter toutefois que le groupe témoin est constitué dans tous les cas d'une cohorte rétrospective, tantôt historique, tantôt d'une autre région géographique. Par ailleurs, l'information présentée est peu détaillée puisque deux études présentent des données d'incidence pour le groupe témoin et deux autres contiennent quelques informations relatives à la présentation clinique. Ces comparaisons n'apportent donc pas d'informations additionnelles ni d'estimations de meilleure qualité que la comparaison entre les deux groupes d'études discutées ci-dessus.

Notre recherche bibliographique n'a révélé que deux études publiées après 2000 générant de nouvelles données relatives à la contribution du dépistage néonatal au pronostic du MCADD [Derks *et al.*, 2006; Nennstiel-Ratzel *et al.*, 2005]. Une étude rétrospective de Derks et ses collaborateurs [2006] présente des données sur l'évolution naturelle de la maladie pour les 155 enfants atteints de la maladie diagnostiqués au Pays-Bas par l'un des huit centres désignés pour la prise en charge des maladies métaboliques depuis la description de la maladie jusqu'en 2003. Il s'agit donc d'une étude importante venant compléter l'information déjà résumée par Pandor et ses collaborateurs [2004] et Tran et ses collègues [2006] à partir des études de Pourfarzam et ses collaborateurs [2001]

23. La population considérée dans une de ces études est reprise dans une des 8 autres études.

24. Cette hétérogénéité provient essentiellement des deux études comportant le plus petit nombre de cas de MCADD, soit l'étude de Shigematsu et ses collaborateurs [2002] qui compte deux cas et l'étude préliminaire de Ziadeh et ses collègues [1995] dont les résultats ont par la suite été repris dans l'étude d'Andresen et ses collaborateurs [2001].

25. Ces derniers chiffres correspondent à un nombre de nouveau-nés testés par la MS/MS variant d'environ 100 000 à 930 000 selon les études.

et Pollitt et Leonard [1998]. Pour 120 sujets²⁶, le diagnostic a été établi suite à l'apparition de symptômes ou signes cliniques et parmi ceux-ci 114 patients (95 %) ont présenté une ou plusieurs crises de décompensation métabolique avant l'établissement du diagnostic, les premières manifestations s'échelonnant entre le premier jour de vie et l'âge de cinq ans. En fait, 15 nouveau-nés ont présenté des symptômes entre zéro et quatre jours de vie. Vingt-cinq patients (22 %) sont décédés dont deux en période néonatale. Les auteurs ont aussi tenté de dresser un portrait des effets de la maladie à long terme en retraçant les 128 patients encore en vie²⁷, dont 32 avaient atteint l'âge adulte. Dix-neuf patients sur 89 (21 %) ayant survécu à une crise de décompensation métabolique présentaient une incapacité sévère ou modérée. Des problèmes chroniques de fatigue, de tolérance réduite à l'exercice et de difficultés de digestion des gras alimentaires étaient aussi mentionnés par une proportion non négligeable de sujets. Cette étude vient donc confirmer l'importance de la mortalité et de la morbidité au cours de la petite enfance, tout en ajoutant des renseignements sur le décours de la maladie à plus long terme. La mortalité est en lien direct avec les crises de décompensation métabolique précédant généralement le diagnostic.

L'étude de Nennstiel-Ratzel et ses collaborateurs [2005] s'ajoute à la liste des études publiant des résultats pour des enfants identifiés suite à un dépistage néonatal par la MS/MS et les comparant à ceux d'une cohorte rétrospective. Deux particularités de cette étude la distinguent des études précédentes : d'une part, un suivi prospectif²⁸ des enfants a été instauré avec un recul de sept à 66 mois (médiane de 24 mois) et, d'autre part, l'étude porte exclusivement sur des enfants homozygotes pour la mutation commune A985G. L'analyse des courbes de Kaplan–Meier retraçant le nombre de crises métaboliques sévères et de décès indique une différence statistiquement significative entre les deux groupes (deux décès²⁹ et une crise sévère parmi 29 enfants dépistés et un décès et trois crises métaboliques sévères parmi les sept enfants témoins issus de l'étude de Pourfourzam et ses collègues [2001]; $p < 0.01$). Si les résultats de cette étude vont dans le même sens que les conclusions de Tran et ses collaborateurs [2006], la différence observée ici peut paraître moins importante en termes absolus, mais une définition consistante et plus restrictive des issues a été retenue pour cette étude, tandis que la classification en symptomatique *versus* asymptomatique de la revue de Tran et ses collègues [2006] dépendait dans une certaine mesure de la qualité des informations fournies dans les articles primaires. La plus-value de cette étude vient du fait que les auteurs ont comparé les issues de deux groupes d'enfants ayant le même génotype. Cette stratégie vise à pallier le biais de sélection lié à la différence entre le spectre des enfants dépistés *versus* ceux diagnostiqués en clinique. Les connaissances sur la corrélation génotype/phénotype étant très limitées, la constitution d'un groupe témoin pour des enfants hétérozygotes serait plus problématique.

4.3.7 Sommaire

Le dépistage du MCADD ne peut être réalisé que grâce à la MS/MS et les données sur l'incidence et sur l'évolution naturelle de la maladie ont beaucoup évolué depuis l'introduction de ce dépistage dans un certain nombre d'États. Toutefois, l'évolution

26. L'article fournit peu d'information quant aux autres 35 sujets, mais il semble s'agir d'enfants nés dans des familles où le diagnostic avait déjà été établi et qui ont donc pu être diagnostiqués avant l'apparition de symptômes.

27. Seulement deux enfants sont décédés après l'établissement du diagnostic et ceux-ci présentaient tous deux une autre maladie héréditaire en sus du MCADD.

28. Un questionnaire annuel a été adressé aux parents et tous les rapports d'hospitalisations ont été révisés par trois experts en maladies métaboliques.

29. Un des deux décès pourrait être lié à l'existence concomitante d'une hyperplasie congénitale des surrénales.

naturelle de la maladie reste moins bien connue pour l'ensemble du spectre clinique que pour les formes typiques, connues avant le dépistage néonatal. Celles-ci se manifestaient en bas âge par des crises de décompensation métabolique sévère avec une létalité importante de l'ordre de 15 à 25 % et une probabilité non négligeable de séquelles neuro-développementales. Le sous-diagnostic probable des formes précoces, particulièrement celles pouvant passer pour des morts subites du nourrisson, est admis depuis longtemps et l'existence de formes restant asymptomatiques jusqu'à l'âge adulte a été décrit plus récemment. Le diagnostic repose sur l'expertise des spécialistes en maladies métaboliques et n'est pas standardisé. La prise en charge des formes symptomatiques, au moyen de mesures diététiques simples, permet d'éviter dans une large mesure la récurrence des crises aiguës.

La variabilité de l'expression clinique rend plus difficile la comparaison du pronostic avec et sans dépistage et prise en charge précoce. Les analyses moléculaires montrent que la proportion d'enfants homozygotes pour la mutation commune A985G est fort différente dans les cohortes d'enfants diagnostiqués en clinique d'une part et après dépistage d'autre part. Même si la corrélation génotype/phénotype est encore très mal connue et que l'expression clinique n'est pas uniquement déterminée par le génotype, ces différences tendent à confirmer que la comparaison directe des issues entre de telles cohortes se heurte à un problème de biais de sélection. D'autres facteurs viennent compliquer la réalisation d'études comparatives rigoureuses. La faible prévalence de la maladie fait en sorte que de très grandes cohortes sont requises. Le manque de standardisation des protocoles diagnostiques ainsi que les différences organisationnelles dans la prise en charge des patients rendent les collaborations internationales plus complexes [Dezateux, 2003]. Enfin, le manque de disponibilité de cas témoins, qu'ils soient historiques ou non, représente un défi de taille pour l'avancement des connaissances dans ce domaine [Marsden, 2003; Dezateux, 2003]. Malgré l'absence d'études comparatives prospectives rigoureuses, l'ensemble des données indique que le dépistage néonatal avec une prise en charge précoce réduit la probabilité de complications aiguës associées à une mortalité et à une morbidité non négligeables. Les mesures préventives simples et sécuritaires peuvent changer le pronostic de ces patients si des soins appropriés sont disponibles en temps opportun. Les bénéfices ne sont pas également distribués parmi les cas dépistés, mais de telles situations existent aussi pour d'autres maladies faisant l'objet d'un dépistage. Actuellement, tous les enfants dépistés devront cependant être soumis aux mêmes mesures thérapeutiques et ce n'est que grâce au suivi systématique des cohortes dépistées qu'une connaissance plus fine des facteurs prédictifs pourra être acquise.

TABLEAU 7

Prévalence des homozygotes pour la mutation A985G parmi les cas de MCADD détectés par dépistage néonatal par la MS/MS							
ÉTUDES	ORIGINE DE LA POPULATION À L'ÉTUDE		PLAN D'ÉTUDE	PÉRIODE DE L'ÉTUDE	NOMBRE DE CAS DE MCADD DÉPISTÉS	NOMBRE D'HOMOZYGOTES	PROPORTION D'HOMOZYGOTES (%)
	RÉGIONS	PAYS					
Andresen <i>et al.</i> , 2001	Pennsylvanie, Ohio, New Jersey, Illinois, Floride, Caroline du Nord	États-Unis	Étude de cohorte prospective	1 ^{er} décembre 1992-31 janvier 2001	62	39	62,0
Zytkovicz <i>et al.</i> , 2001	Massachusetts, Maine, New Hampshire, Vermont et Rhode Island	États-Unis	Étude de cohorte prospective	1999-2001	10	4	40,0
Carpenter <i>et al.</i> , 2001	Nouvelle-Galles du Sud, Territoire de la capitale australienne	Australie	Étude de cohorte prospective	Avril 1998-mars 2001	11	4	36,4
Zschocke <i>et al.</i> , 2001	Non mentionné	Allemagne	Non mentionné	Non mentionné	14	10	71,4
Maier <i>et al.</i> , 2005	Bavière	Allemagne	Étude de cohorte prospective	Janvier 1999-juin 2003	57*	27	47,4

* Cette étude avait dépisté 62 enfants atteints de MCADD, mais l'analyse moléculaire n'a pu être réalisée chez cinq enfants.

TABLEAU 8

Prévalence du MCADD dépisté par la MS/MS								
ÉTUDES	ORIGINE DE LA POPULATION À L'ÉTUDE		PLAN D'ÉTUDE	PÉRIODE DE L'ÉTUDE	SÉLECTION DES PATIENTS	POPULATION DÉPISTÉE	CAS DIAGNOSTIQUÉS	PRÉVALENCE (CAS PAR 100 000)
	RÉGIONS	PAYS						
Andresen <i>et al.</i> , 2001	Pennsylvanie, Ohio, New Jersey, Illinois, Floride, Caroline du Nord	États-Unis	Étude de cohorte prospective	1 ^{er} décembre 1992-31 janvier 2001	Tous les bébés nés pendant cette période de 8 ans. Cette étude inclut un échantillon de 80 371 nouveau-nés déjà inclus dans l'étude de Ziadeh <i>et al.</i> [1995].	930 078	62	1:15 001 (6,7)
Zytkovicz <i>et al.</i> , 2001	Massachusetts, Maine, New Hampshire, Vermont et Rhode Island	États-Unis	Étude de cohorte prospective	1999-2001	164 000 bébés nés dans cette période au Massachusetts et 20 000 bébés du Maine	184 000	10	1:18 400 (5,4)
Chace <i>et al.</i> , 2002	Pennsylvanie, Caroline du Nord	États-Unis	Étude de cohorte	Non mentionné	Non mentionné	1 019 602	65	1:15 686 (6,4)
Insinga <i>et al.</i> , 2002	Wisconsin	États-Unis	Étude de cohorte prospective	Avril 2000-mai 2002	Tous les bébés nés pendant cette période	155 500	7	1:22 214 (4,5)
Frazier <i>et al.</i> , 2006	Caroline du Nord	États-Unis	Étude de cohorte prospective	28 juillet 1997-28 juillet 2005	Tous les bébés nés pendant cette période.	944 078	73	1:12 933 (7,7)
Feuchtbaum <i>et al.</i> , 2006b	Californie	États-Unis	Étude de cohorte prospective	Janvier 2002-juin 2003	Le dépistage a été offert à 52 % des bébés nés en Californie pendant cette période, mais seulement 47 % des familles l'ont accepté	353 894	13	1:27 223 (3,7)
Wilcken <i>et al.</i> , 2003	Nouvelle-Galles du Sud, Territoire de la capitale australienne	Australie	Étude de cohorte prospective	Avril 1998-mars 2002	> 99 % des bébés nés pendant cette période Cette étude inclut un échantillon de 275 653 nouveau-nés déjà inclus dans l'étude de Carpenter <i>et al.</i> [2001].	362 000	17	1:21 294 (4,7)

Prévalence du MCADD dépisté par la MS/MS (suite)									
ÉTUDES	ORIGINE DE LA POPULATION À L'ÉTUDE		PLAN D'ÉTUDE	PÉRIODE DE L'ÉTUDE	SÉLECTION DES PATIENTS	POPULATION DÉPISTÉE	CAS DIAGNOSTIQUÉS	PRÉVALENCE (CAS PAR 100 000)	
	RÉGIONS	PAYS							
Hoffman <i>et al.</i> , 2004	Bavière, Baden-Württemberg	Allemagne	Étude de cohorte prospective	Janvier 1999-décembre 2000	Tous les bébés nés pendant cette période	382 247	29	1:13 181 (7,6)	
Maier <i>et al.</i> , 2005	Bavière	Allemagne	Étude de cohorte prospective	Janvier 1999-juin 2003	Tous les bébés nés pendant cette période	524 287	62	1:8 456 (11,8)	
Sander <i>et al.</i> , 2001	Basse-Saxe	Allemagne	Étude de cohorte prospective	1999-2000	Échantillons provenant de 97 % des bébés nés pendant cette période.	127 598	26	1:4 908 (20,3)	
Schulze <i>et al.</i> , 2003a	Baden-Württemberg	Allemagne	Étude de cohorte prospective	Avril 1998-septembre 2001	Échantillons provenant de bébés nés pendant cette période	250 000	16	1:15 600 (6,4)	
Pourfarzam <i>et al.</i> , 2001	Non mentionné	Royaume-Uni	Étude de cohorte prospective	1 ^{er} janvier 1991-20 juillet 1993	Échantillons provenant de bébés nés pendant cette période	100 600	8	1:12 575 (8,0)	
Shigematsu <i>et al.</i> , 2002	Non mentionné	Japon	Étude de cohorte prospective	Avril 1997-juillet 2001	Échantillons provenant de bébés nés pendant cette période	102 200	2	1:51 100 (1,96)	
Yoon <i>et al.</i> , 2005	Non mentionné	Corée du Sud	Étude de cohorte prospective	Avril 2001-mars 2004	Échantillons provenant de bébés nés pendant cette période	79 179	0	0 (0)	

TABLEAU 9

Prévalence estimée des homozygotes A985G dans la population d'après la proportion de porteurs de cette mutation						
ÉTUDES	ORIGINE DE LA POPULATION À L'ÉTUDE		POPULATION DÉPISTÉE	NOMBRE D'HÉTÉRO-ZYGOTES	PROPORTION DE PORTEURS DE LA MUTATION	PRÉVALENCE ESTIMÉE DE CAS DE MCADD AVEC MUTATION HOMOZYGOTE A985G
	RÉGIONS	PAYS				
Matsubara <i>et al.</i> , 1991	Birmingham	Angleterre	479	12	1:40	1:6 400
	Melbourne	Australie	353	5	1:71	1:20 164
	Houston	États-Unis	536	5	1:107	1:45 796
	Sendai	Japon	500	0	-	-
Levin <i>et al.</i> , 1992	Saint-Petersbourg	Russie	413	5	1:83	1:27 556
Dundar <i>et al.</i> , 1993	Non mentionné	Écosse	552	2	1:276	1: 304 704
Gregersen <i>et al.</i> , 1993	Non mentionné	Italie	997	3	1:333	1:443 556
Thompson <i>et al.</i> , 1995	Manitoba	Canada	2 000	13	1:154	1:94 864
Conne <i>et al.</i> , 1995	Non mentionné	Suisse	1 142	22	1:52	1:10 816
Santer <i>et al.</i> , 1995	Schleswig-Holstein (État le plus au nord)	Allemagne	1 000	9	1:111	1:49 284
Kozak <i>et al.</i> , 1999	Moravie	République tchèque (Sud-Est)	2 826	14	1:202	1:163 216
de Vries <i>et al.</i> , 1996	Non mentionné	Pays-Bas	6 195	99	1:63	1:14 000
Lecoq <i>et al.</i> , 1996	Normandie	France	2 000	17	1:118	1:55 700
Seddon <i>et al.</i> , 1997	West Midlands, Trent	Angleterre	10 171	158	1:64	1:16 384
Johansson <i>et al.</i> , 1999	Non mentionné	Suède	1 015	8	1:127	1:64 516

Durant les 20 dernières années, la spectrométrie de masse en tandem (MS/MS) a connu une évolution technologique importante, démultipliant ses possibilités diagnostiques [Chace *et al.*, 2003a]. L'appréciation de la performance de la MS/MS ainsi que des conditions à observer lors d'un déploiement éventuel de la technologie repose sur une compréhension fine de son fonctionnement et de son utilisation en pratique. Ainsi, dans ce chapitre seront abordés en séquence : le développement de la technologie, le principe de fonctionnement et la description du dispositif de la MS/MS, les différents modes analytiques et l'utilisation de cette technologie dans le cadre du dépistage néonatal. Le chapitre clôturera sur une réflexion portant sur les avantages et les inconvénients de la MS/MS.

L'utilisation de la MS/MS en biochimie remonte au début des années 1980 pour les fins de l'analyse du profil métabolique des acides carboxyliques urinaires [Clarke, 2002]. La technologie a par la suite été adaptée pour l'analyse de la carnitine et de ses dérivés acylcarnitines, dont le lien avec plusieurs erreurs innées du métabolisme (EIM) des acides gras et acides organiques a été établi [CDC, 2001]³⁰. L'utilisation de la MS/MS s'est étendue à l'analyse néonatale des acides aminés et acylcarnitines vers le début des années 1990 alors que les tests d'inhibition bactérienne utilisés pour le dépistage néonatal de la PCU étaient remis en question à cause de la proportion élevée de faux positifs [Banta-Wright et Steiner, 2004; Carpenter et Wiley, 2002; Chace *et al.*, 1996; Chace *et al.*, 1995; Chace *et al.*, 1993; Millington *et al.*, 1990]. Le potentiel de la technologie s'est notablement accru en 1995, lorsque Rashed et ses collaborateurs ont mis au point un protocole analytique permettant l'analyse simultanée des profils d'acides aminés et d'acylcarnitines à partir d'échantillons de sang séché [Rashed *et al.*, 1995]. Le milieu des années 1990 a aussi été marqué par la validation de plusieurs protocoles analytiques, l'automatisation de l'introduction des échantillons dans la machine et le développement de systèmes informatiques automatisés pour l'interprétation des résultats [Carpenter et Wiley, 2002; CDC, 2001]. Ces évolutions technologiques et analytiques ont amélioré considérablement le débit d'analyse de la technologie MS/MS pour l'analyse néonatale des profils des acides aminés et acylcarnitines à partir d'échantillons de sang séché, considérée actuellement comme une des applications principales de la MS/MS [Chace *et al.*, 2003a; CDC, 2001].

5.1 Le principe de spectrométrie de masse

La spectrométrie de masse vise essentiellement à mesurer la masse de molécules et de leurs fragments et est utilisée pour analyser qualitativement et quantitativement différents types de mélanges complexes de métabolites biologiques, environnementaux, pharmaceutiques, ou alimentaires. Après ionisation, les molécules du mélange sont séparées, identifiées et quantifiées sur la base de leur ratio masse moléculaire/charge (m/z) [Banta-Wright et Steiner, 2004; Cheillan *et al.*, 2004; Clarke, 2002]. Les

30. La technologie venait alors pallier les limites de plusieurs technologies précédentes dont la Gas Chromatography Mass Spectrometry (GC/MS), la Fast Atom Bombardment Mass Spectrometry (FAB/MS) et la Liquid Chromatography Mass Spectrometry (LC/MS), à qui on reprochait surtout un temps d'analyse long, des procédures lourdes pour la préparation des échantillons, ou la nécessité d'une étape préalable de séparation chromatographique des molécules [Chace *et al.*, 2003a].

résultats sont présentés dans un graphique appelé « spectre de masse » où l'abscisse représente les différents ratios m/z et l'ordonnée représente la quantité des ions. Lorsqu'un composé complexe est analysé par spectrométrie de masse sans séparation chromatographique préalable, le spectre de masse peut être difficile à interpréter du fait du chevauchement des signaux obtenus pour différentes molécules. La MS/MS offre une solution à ce problème, sans qu'il ne soit nécessaire de recourir à une chromatographie préalable [Chace *et al.*, 2003a].

5.2 Le dispositif MS/MS

Un spectromètre de masse en tandem est constitué de quatre structures principales, soit une source d'ionisation, un analyseur, un détecteur d'électrons et un système informatique couplé au détecteur [Banta-Wright et Steiner, 2004; Cheillan *et al.*, 2004; Rinaldo *et al.*, 2004; Dooley, 2003; Carpenter et Wiley, 2002; Clarke, 2002]. La figure 1 illustre les structures du MS/MS, particulièrement les composantes de l'analyseur.

L'ionisation est une étape clé, puisque seules les molécules ionisées peuvent être identifiées et quantifiées par spectrométrie de masse. Ce processus applique une charge aux molécules d'intérêt et permet aux ions d'entrer dans une phase gazeuse, une autre condition nécessaire à leur analyse par la MS/MS [McCandless, 2004; Chace *et al.*, 2002]. Cette ionisation peut être réalisée en mode positif ou négatif, le choix du mode dépendant de la structure chimique des substances analysées [Cheillan *et al.*, 2004; Adeli, 2003]. Plusieurs sources d'ionisation³¹ existent [Cheillan *et al.*, 2004; Pandor *et al.*, 2004]. Selon de nombreux auteurs, l'*Electrospray ionisation* (ESI) constitue le type d'ionisation de choix pour l'analyse combinée des acides aminés et des acylcarnitines pour le dépistage néonatal des EIM [Cheillan *et al.*, 2004; Dooley, 2003; Carpenter et Wiley, 2002; Chace *et al.*, 2002; Clarke, 2002; Rashed *et al.*, 1995]. Mise au point vers 1995, l'ESI est surtout utilisée pour l'analyse de petites molécules, chargées, non volatiles et en milieu liquide. Ses avantages incluent l'automatisation de l'introduction des échantillons et l'application d'une faible énergie ionisante (*soft ionisation*) entraînant peu ou pas de cassures au sein des molécules [Banta-Wright et Steiner, 2004; Rashed *et al.*, 1995].

Une fois produits, les ions chargés sont dirigés par un champ électromagnétique vers l'analyseur. Celui-ci est en général constitué de trois chambres en série (Q1, Q2 et Q3 respectivement³²), correspondant à deux spectromètres de masse (d'où le nom « en tandem ») séparés par une chambre de collision. L'intérêt de ce dispositif réside dans l'isolation des ions parents/précurseurs d'intérêt (correspondant aux molécules intactes ionisées du mélange initial) dans Q1, la fragmentation de ces molécules dans Q2³³ et l'analyse des ions fragments/fils dans Q3. Pour chaque molécule d'intérêt provenant du mélange initial, l'information provenant de Q1 et de Q3 est couplée en paires « ion parent-ion fragment » identifiées par leur m/z respectif. Cette information est alors captée par un détecteur et transmise à un système informatique [Banta-Wright et Steiner, 2004; Cheillan *et al.*, 2004; Rinaldo *et al.*, 2004; Chace *et al.*, 2003; Dooley, 2003; Fearing et Levy, 2003; Carpenter et Wiley, 2002; Chace *et al.*, 2002; Clarke, 2002]. Plusieurs programmes informatiques automatisant les manipulations des données

31. Le Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation (MALDI)-MS/MS et le Fast Atom/Ionization Bombardment (FAB/FIB)-MS/MS ne seront pas discutés ici puisque la première technique est spécifique à l'analyse des protéines et l'utilisation de la deuxième est largement dépassée vu qu'elle ne permet pas une introduction automatisée des échantillons dans la machine MS/MS [Cheillan *et al.*, 2004; Dooley, 2003].

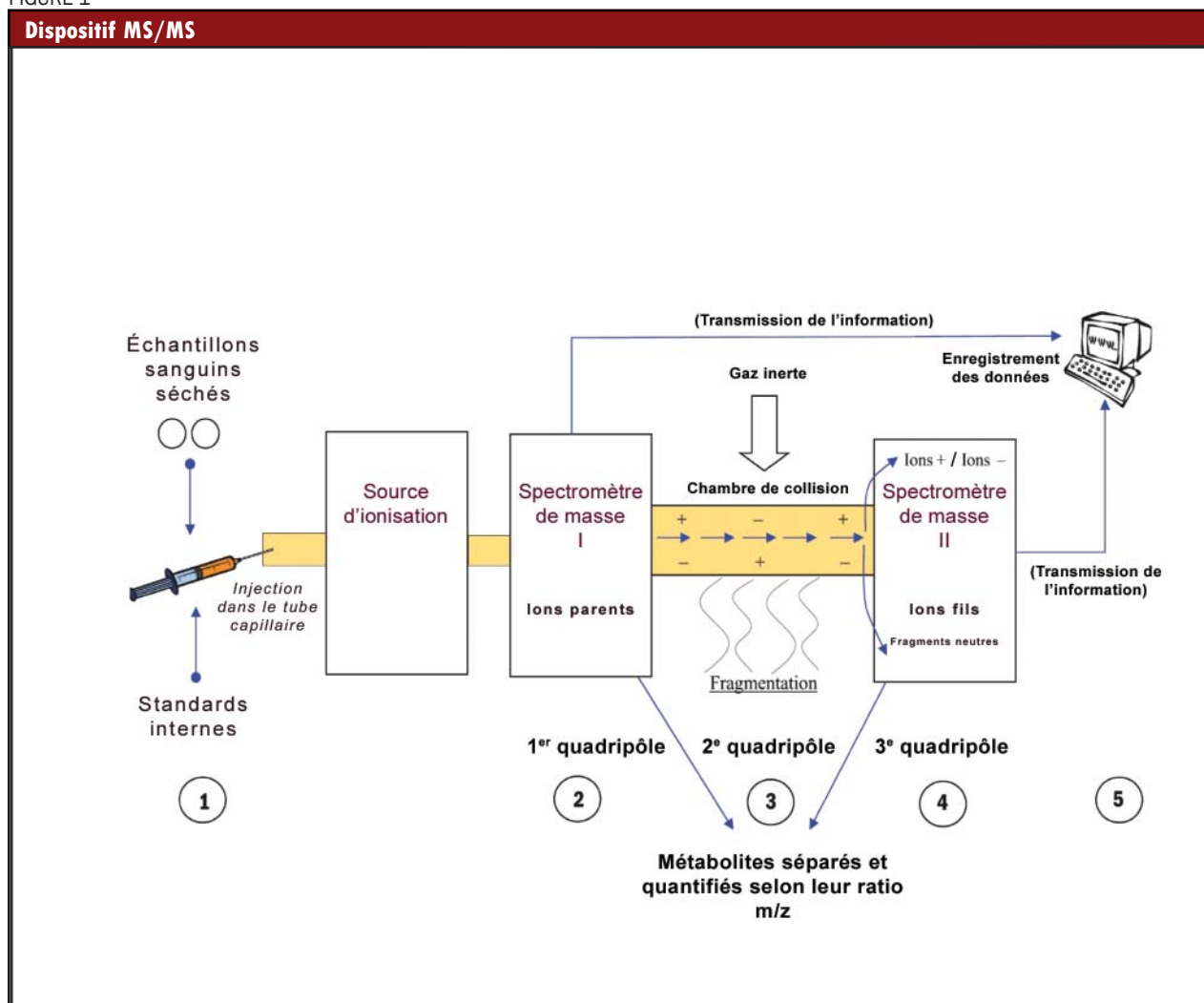
32. Ces chambres sont appelées quadripôles d'où la désignation Q1, Q2 et Q3.

33. Cette fragmentation est réalisée par un processus appelé *Collision Induced Dissociation* (CID).

et l'interprétation des résultats ont été élaborés³⁴. Selon les programmes, les résultats peuvent être présentés sous la forme graphique d'un spectre de masse et (ou) sous la forme d'un tableur électronique (*spreadsheet*). On a également mis au point des formules mathématiques permettant de calculer des ratios de métabolites, comme le ratio d'un métabolite à son standard interne ou le ratio de différents métabolites³⁵. Enfin, les valeurs limites pour chaque métabolite peuvent être automatiquement incorporées aux systèmes informatisés.

La complexité inhérente à la technologie MS/MS implique une multitude d'options en termes de programmation et d'utilisation. De ces choix, les modes d'analyse recèlent une importance primordiale.

FIGURE 1



Adapté de Banta-Wright et Steiner, 2004; Fearing et Levy, 2003; et Clarke, 2002.

34. Un exemple est le programme CAMPA développé par Rashed et ses collaborateurs [1995].

35. Cette option est utilisée pour caractériser certaines erreurs innées du métabolisme dont la PCU pour laquelle on se sert du ratio phénylalanine/tyrosine.

5.3 Les modes d'analyse MS/MS

La MS/MS peut être utilisée sous divers modes analytiques. En effet, en manipulant les champs électriques du dispositif de l'analyseur, les ions d'un ratio m/z d'intérêt sont canalisés vers le détecteur alors que les ions ayant un ratio m/z différent sont écartés et éliminés [McCandless, 2004]. Ainsi, le premier (Q1) et le deuxième (Q3) spectromètres de masse peuvent être programmés pour détecter soit une gamme de ratios m/z , selon des modes dits « de balayage », soit une valeur unique de m/z , selon un mode d'analyse sélective appelé « *Selected Reaction Monitoring* (SRM) » [Dooley, 2003].

Les modes de balayage permettent de quantifier simultanément une gamme de métabolites appartenant à une même classe (e.g. acides aminés ou acylcarnitines). On distingue trois modes de balayage détectant, respectivement, tout les ions fils provenant d'un même ion parent (balayage des ions produits/fils), tous les ions parents produisant un même ion fils (balayage des ions parents/précurseurs) ou tous les ions parents ayant en commun un fragment neutre perdu après fragmentation (balayage en perte de fragment neutre) [Cheillan *et al.*, 2004; McCandless, 2004; Rinaldo *et al.*, 2004; Dooley, 2003; Carpenter et Wiley, 2002; Millington, 2002; Elgstoen *et al.*, 2001]. Le choix du mode de balayage dépend du type de molécules à étudier. Par exemple, dans le cadre du dépistage néonatal des EIM, l'analyse des acides aminés est basée sur le mode de balayage en perte de fragment neutre alors que celle des acylcarnitines utilise le balayage des ions parents.

Le mode SRM vise à quantifier un seul métabolite d'intérêt à la fois, grâce à la programmation de Q1 et de Q3 pour ne détecter que l'ion parent et l'ion fragment spécifiques à ce métabolite [Chace et Kalas, 2005; Dooley, 2003]. L'analyse simultanée de plusieurs paires de ce genre est réalisable, le terme « *Multiple Reaction Monitoring* (MRM) » désigne alors l'ensemble des SRM réalisés de façon concomitante. Dans le cadre du dépistage néonatal des EIM, le mode SRM est utilisé pour l'analyse sélective d'acides aminés ou acylcarnitines qui ne sont pas adéquatement détectés par les modes de balayage ou pour restreindre les analyses à certains métabolites d'intérêt, tout en évitant la détection de maladies dont on connaît moins bien l'évolution naturelle et (ou) le traitement.

L'annexe G (paragraphe G2) fournit une plus ample description de ces divers modes et de leur utilisation.

5.4 L'analyse commune du profil des acides aminés et des acylcarnitines par la MS/MS pour un test de dépistage néonatal de première ligne

L'utilisation de la MS/MS pour le dépistage néonatal des EIM repose sur l'analyse de deux classes de métabolites, les acides aminés et les acylcarnitines qui produisent chacun, après fragmentation, des ions fils caractéristiques. Comme mentionné précédemment, l'analyse simultanée des profils d'acides aminés et d'acylcarnitines à partir d'échantillons de sang séché est possible depuis 1995. En réalité, cette méthode consiste en une alternance à grande vitesse de trois modes de balayage [Garg et Dasouki, 2006; Cheillan *et al.*, 2004; Carpenter et Wiley, 2002; Chace *et al.*, 2002; Rashed *et al.*, 1995]. Le tableau 10 résume et l'annexe G (paragraphe G3) détaille l'ensemble des étapes requises : la préparation des échantillons comportant l'extraction des métabolites d'intérêt à partir des échantillons de sang séché, leur butylation et leur reconstitution en solution; l'injection d'aliquotes de cette solution dans l'appareil afin qu'ils atteignent la source d'ionisation; le processus d'ionisation par pression atmosphérique au moyen de l'ESI; le mode d'analyse utilisé pour la production simultanée des profils d'acides

aminés et d'acylcarnitines; et enfin la détection et la production des résultats. La littérature révèle que nombre de particularités techniques relatives aux différentes étapes de l'analyse, sont susceptibles d'influer sur la performance de la MS/MS [CDC, 2001]. Or, les publications récentes révèlent aussi une variabilité assez importante sur le plan des choix technologiques d'un centre de dépistage néonatal à l'autre. Cette variabilité et ses conséquences sur l'interprétation des données disponibles seront discutées au chapitre 6 portant sur la performance de la MS/MS. Toutefois, il importe d'examiner dès à présent les facteurs les plus importants qui influencent la performance de la MS/MS.

TABEAU 10

Principales étapes de l'analyse concomitante par la MS/MS du profil des acides aminés et des acylcarnitines dans le cadre du dépistage néonatal	
La préparation de l'échantillon	
1. <u>Extraction des acides aminés et des acylcarnitines</u>	▪ Poinçonnage des cartes de Guthrie et chargement sur plaques multipuits ▪ Éluion dans une solution contenant du méthanol et des standards internes ▪ Incubation et agitation pendant l'extraction ▪ Transfert de la solution contenant les extraits vers une 2^e plaque multipuits ▪ Élimination du méthanol en excès par évaporation
2. <u>Butylation</u>	▪ Ajout d'acide butanolique aux extraits ▪ Incubation à une température favorisant la conversion des métabolites en esters butyliques ▪ Élimination de l'acide butanolique en excès par évaporation ▪ Reconstitution en solution
L'analyse MS/MS	
1. <u>Prélèvement automatique d'aliquotes et injection dans l'appareil à débit programmé</u>	
2. <u>Processus d'ionisation par ESI</u>	
3. <u>Passage dans l'analyseur programmé pour réaliser de façon séquentielle trois modes de balayage</u>	▪ Mode de balayage d'ions parents à ratio m/z de 85 Da pour l'analyse des acylcarnitines ▪ Mode de balayage en perte de fragment neutre de 102 Da pour l'analyse des acides aminés acides et neutres ▪ Mode de balayage en perte de fragment neutre de 119 Da pour les acides aminés basiques
4. <u>Détection et production des résultats</u>	▪ Détection du signal correspondant à la gamme des ratios m/z sélectionnée ▪ Quantification par référence aux standards internes ▪ Conversion par ordinateur des signaux en spectre de masse ▪ Comparaison des taux de métabolites et des ratios de métabolites aux valeurs limites préétablies

Étant donné que l'analyse par la MS/MS est quantitative (semi-quantitative pour une minorité de métabolites), les résultats dépendent de la quantité de métabolites extraits de l'échantillon de sang séché. La quantité de sang à partir de laquelle se fait l'extraction dépend de l'hématocrite, du diamètre du poinçon et des conditions de prélèvement et de transport de l'échantillon sanguin [Holub *et al.*, 2006; Lindner *et al.*, 2006; Al-Dirbashi *et al.*, 2005; Nagy *et al.*, 2003; Santer *et al.*, 2003]. Le processus d'extraction vise à séparer les métabolites d'intérêt des protéines et des sels présents dans le sang qui pourraient interférer avec la suite de l'analyse. Seule une extraction au méthanol permet le mélange subséquent des métabolites aux standards internes qui sont disponibles en solution

seulement. Des analogues isotopiques³⁶ correspondants aux acylcarnitines et acides aminés d'intérêt sont ajoutés comme marqueurs de référence pour la quantification [Cheillan *et al.*, 2004; Fearing et Levy, 2003; Chace *et al.*, 2002; Clarke, 2002]. Ce processus d'extraction serait généralement efficient à 90 % mais cela peut varier selon les métabolites et selon les détails du protocole technique, en particulier à l'étape de dilution isotopique et à la durée et température de l'incubation [Chace *et al.*, 2003a].

La butylation convertit les métabolites et les étalons standards en esters butyliques [Nagy *et al.*, 2003]. Ce processus stabilise les composés organiques en des formes volatiles à température appropriée pour la MS/MS [McCandless, 2004; Carreiro-Lewandowski, 2002; Chace *et al.*, 2002]. De plus, la butylation simplifie l'étape suivante car elle rend le processus d'ionisation similaire pour les acides aminés basiques, acides et neutres [Casetta *et al.*, 2000]. Lorsqu'on utilisait la FAB/FIB-MS/MS comme processus d'ionisation, la butylation était indispensable. Cependant, depuis l'avènement de la ESI-MS/MS plusieurs acides aminés et acylcarnitines peuvent être analysés sans butylation ce qui pourrait être avantageux car cette étape présente certains inconvénients qui sont discutés plus loin [Casetta *et al.*, 2000]. En fait, les travaux s'intensifient pour mettre au point des protocoles analytiques de MS/MS qui excluent l'étape de butylation [Garg et Dasouki, 2006; Schulze *et al.*, 2003b; Trinh *et al.*, 2003; Qu *et al.*, 2002]. Toutefois, ces protocoles nécessitent encore une optimisation à tous les niveaux analytiques et une comparaison rigoureuse de la performance des approches avec et sans butylation [Garg et Dasouki, 2006; Schulze *et al.*, 2003b; Trinh *et al.*, 2003; Qu *et al.*, 2002].

Une fois préparé, l'échantillon est injecté dans la machine où il subit en premier lieu l'ionisation des molécules. L'analyse procède ensuite selon trois modes réalisés de façon séquentielle à grande vitesse [Cheillan *et al.*, 2004; Carpenter et Wiley, 2002; Chace *et al.*, 2002; Rashed *et al.*, 1995]. Le mode de balayage d'ions parents à m/z 85 Da permet l'analyse des acylcarnitines dont les esters butylés produisent tous un ion fragment commun de m/z de 85 Dalton (Da). Les ions parents ayant produit cet ion fragment sont sélectionnés, de sorte que tous les acylcarnitines dont la taille varie entre deux et 20 carbones peuvent être quantifiés [Casetta *et al.*, 2000]. La carnitine libre, quant à elle, produit un fragment de 85Da et un de 103Da, ce dernier ne pouvant toutefois être détecté qu'après butylation.

Le mode de balayage en perte d'un fragment neutre de 102Da est utilisé pour l'analyse des acides aminés acides et neutres³⁷ [Cheillan *et al.*, 2004; Carpenter et Wiley, 2002; Chace *et al.*, 2002; Rashed *et al.*, 1995]. Le fragment de 102 Da correspond à une molécule de butylformate qui s'est formée lors de l'étape de butylation à partir d'un groupement d'acide formique commun à tous ces acides aminés [Chace *et al.*, 2002]. Le dosage quantitatif de tous ces métabolites ne peut cependant pas être réalisé car il est impossible de séparer les acides aminés isomasses. C'est le cas de la leucine, l'isoleucine et l'allo-isoleucine pour lesquelles seule la quantité totale des trois acides aminés peut être estimée, ce qui correspond à un dosage semi-quantitatif. De plus, puisque la butylation transforme la glutamine et l'asparagine, respectivement, en acide glutamique et en acide aspartique, la MS/MS ne quantifie que la quantité totale de l'acide aminé et de son dérivé (glutamine et acide glutamique, d'une part; asparagine et acide aspartique, d'autre part). Il est également important de noter que la glycine produit un signal très faible pouvant échapper à la détection, de sorte qu'on préconise de la doser

36. Les standards internes, marqués au 2H ou au 13C par exemple, sont ajoutés en solution stable et à des concentrations connues.

37. Parmi ceux-ci figurent les acides aminés suivants: alanine, sérine, proline, valine, glutamine, glycine, leucine, isoleucine, alloleucine, méthionine, histidine, phénylalanine, tyrosine, asparagine.

individuellement en mode MRM. Enfin, un troisième mode de balayage, en perte d'un fragment neutre de 119 Da, est requis pour les acides aminés basiques, soit la citrulline, la lysine, l'arginine et l'ornithine [Cheillan *et al.*, 2004; Carpenter et Wiley, 2002; Chace *et al.*, 2002; Rashed *et al.*, 1995].

Les étapes décrites ci-dessus correspondent à une utilisation de la MS/MS en première ligne pour un dépistage néonatal non sélectif visant à détecter le plus possible d'anomalies métaboliques liées au métabolisme des acides aminés et des acylcarnitines. Plus d'une trentaine d'erreurs innées du métabolisme des acides aminés, des acides gras et des acides organiques sont dépistables par une telle approche. Le tableau 11 regroupe les EIM les plus souvent citées dans la littérature ainsi que les métabolites qui sont dosés par la MS/MS pour le dépistage de chacune d'entre elles. Il est toutefois possible de suivre la procédure décrite ci-dessus en mode MRM pour une analyse ciblée de certains acides aminés et (ou) acylcarnitines pour les fins d'un dépistage sélectif de l'une ou l'autre des EIM listées dans le tableau 11 [Dooley, 2003; Elgstoen *et al.*, 2001].

La littérature décrit également d'autres types de protocoles analytiques MS/MS spécifiques à une EIM utilisés en première ou en deuxième ligne pour le dépistage ciblé de maladies individuelles ne pouvant être détectées au moyen du profil commun. Nous détaillons dans le prochain paragraphe un exemple de profil analytique spécifique, soit celui ciblant le dosage de la succinylacétone, vu son application possible au dépistage néonatal de la TH1, une maladie dépistée au Québec compte tenu de son incidence élevée surtout au Saguenay Lac-St-Jean. D'autres exemples de profils analytiques MS/MS spécifiques à une EIM et applicables à un test de dépistage de première ou deuxième ligne sont décrits dans l'annexe H.

TABLEAU 11

Erreurs innées du métabolisme dépistables par la MS/MS sur la base de profils analytiques établis pour les acides aminés et les acylcarnitines [CDC, 2001]	
ERREUR INNÉE DU MÉTABOLISME (ABRÉVIATION DU NOM)	MÉTABOLITE
Aminoacidopathies ▪ Phénylcétonurie et hyperphénylalaninémie (PCU) ▪ Tyrosinémie héréditaire de type 1 (TH1) ▪ Homocystinurie ▪ Maladie du sirop d'érable ou Leucineose (MSUD)	Phénylalanine Tyrosine Methionine Leucine, Isoleucine, Valine
Troubles du cycle de l'urée ▪ Arginémie ou déficit en arginase (ARG) ▪ Déficit en arginosuccinate lyase (ASL) ▪ Citrullinémie ou déficit en arginosuccinate synthétase (ASS) ▪ Hyperméthioninémie	Arginine Citrulline Citrulline Méthionine
Déficit de la bêta-oxydation des acides gras ▪ Déficit en carnitine/acylcarnitine translocase (CAT) ▪ Déficit en carnitine palmitoyl transférase de type I (CPTI) ▪ Déficit en carnitine palmitoyl transférase de type II (CPTII) ▪ Acidémie glutarique de type II (GAIL) ▪ Déficit en acyl-CoA déshydrogénase des acides gras à très longues chaînes (VLCADD) ▪ Déficit en 3-hydroxy acyl-CoA déshydrogénase des acides gras à longues chaînes ou en protéine trifonctionnelle mitochondriale (LCHADD) ▪ Déficit en acyl-CoA déshydrogénase des acides gras à chaînes moyennes (MCADD) ▪ Déficit en acyl-CoA déshydrogénase des acides gras à chaînes courtes (SCADD)	C16, C18:1, C18 C16, C18:1, C18 C16, C18:1, C18 C4, C5, C18:1, C8, C12, C14, C16, C5DC C14:1, C14, C16 C16OH, C18:1OH, C18OH C8, C10, C10:1, C6 C4
Troubles des acides organiques ▪ Acidémie propionique (PA) ▪ Acidémie méthylmalonique (MMA) ▪ Acidémie isovalérique (IVA) ▪ Acidémie glutarique de type I (GAI) ▪ Déficit en 3-méthylcrotonyl-coA carboxylase (3-MCC) ▪ Déficit en 3-hydroxy-3-méthylglutaryl-coA lyase (HMG)	C3 C3 C5 C5DC C5OH C5OH

5.5 Le protocole MS/MS pour le dosage de la succinylacétone

Le dosage de la tyrosine peut être réalisé par la MS/MS dans le cadre du profil analytique commun aux acides aminés et acylcarnitines, mais l'expérience du dépistage de la TH1, surtout au Québec, montre que le dosage de la tyrosine n'est ni assez sensible ni assez spécifique [Laflamme *et al.*, 2006; Allard *et al.*, 2004]. En effet, le taux de tyrosine n'est pas systématiquement élevé chez les patients TH1, surtout lorsque le prélèvement est effectué avant 24h de vie ce qui peut engendrer des faux négatifs. De plus, une hypertyrosinémie peut être observée chez le nouveau-né dans des conditions physiologiques (hypertyrosinémie hépatique transitoire) ou pathologiques (autres types de tyrosinémie ou autres affections hépatiques), résultant en des faux positifs. Par contre, l'élévation de la succinylacétone dans le sang et les urines est considérée comme pathognomonique de la TH1. Ainsi, le dépistage néonatal de cette maladie au Québec repose depuis longtemps sur la détection de la tyrosine et de la succinylacétone.

Un protocole MS/MS pour le dosage de la succinylacétone a été développé récemment en vue d'un dépistage de 1^{ère} ligne de la TH1 [Allard *et al.*, 2004]. Ce protocole repose sur l'utilisation d'échantillons de sang séché résiduels après l'étape d'extraction des acides aminés et acylcarnitines par le méthanol lors du profil analytique commun à ces métabolites. La succinylacétone n'étant pas extraite au moyen du méthanol, une procédure d'extraction supplémentaire à base d'hydrazine est nécessaire³⁸. Selon les auteurs de l'étude, la validité analytique serait bonne et cette méthode pourrait être utilisée pour le dépistage de la TH1 dans des régions où la prévalence de la maladie est élevée, comme au Québec [Allard *et al.*, 2004]. La performance de ce protocole doit toutefois être confirmée par des études comparatives rigoureuses. L'inconvénient de cette méthode est que le dosage de la succinylacétone ne peut être réalisé en même temps que celui des acides aminés et acylcarnitines dans le cadre du profil analytique commun à ces métabolites. Toutefois, des travaux ont été menés pour essayer de combiner les extraits d'acides aminés et acylcarnitines avec celui de la succinylacétone afin d'en effectuer l'analyse simultanée. Bien que la combinaison des extraits semble faisable pour une injection unique dans la machine MS/MS, la quantification de certains métabolites, surtout l'arginine, l'ornitine, le C14 et le C16, semble en être affectée [Allard, 2005]. Ces résultats sont donc préliminaires et nécessitent de plus amples travaux de validation.

D'autres types de protocoles MS/MS spécifiques au dosage de la succinylacétone ont été décrits encore plus récemment. Cependant, ceux-ci ont été développés dans des régions où l'incidence de la TH1 est beaucoup plus faible qu'au Québec. Ces protocoles sont plus indiqués pour des tests de dépistage néonatal de 2^{ème} ligne, soit parce qu'ils sont trop laborieux et non compatibles avec un haut débit d'analyse [Magera *et al.*, 2006], soit parce qu'ils n'ont pas un rapport coût/efficacité acceptable [Al-Dirbashi *et al.*, 2006].

5.6 Les avantages et les inconvénients de la MS/MS

5.6.1 Avantages

On reconnaît à la technologie MS/MS plusieurs avantages [Cheillan *et al.*, 2004; Fearing et Levy, 2003; Carpenter et Wiley, 2002; Clarke, 2002]. Les avantages liés à la gamme des analyses pouvant être effectuées et aux possibilités d'utilisation à grande échelle sont

38. L'analyse MS/MS est effectuée en mode ion positif et en mode SRM en ciblant les valeurs de m/z caractéristiques de la succinylacétone et de l'acide dioxooctanoïque, utilisé comme standard interne [Allard *et al.*, 2004]. Il est à noter que depuis un standard interne spécifique à la succinylacétone (d2-SA) a été développé, mais son utilisation n'a pas encore fait l'objet d'une validation analytique rigoureuse.

résumés ci-dessous, alors que les données concernant la performance de la MS/MS pour le dépistage néonatal seront présentées au chapitre 6.

- La technologie MS/MS permet de réaliser le dépistage néonatal d'un nombre important d'EIM en une étape analytique unique. Par ailleurs, pour certaines d'entre elles (par exemple, le MCADD) aucun autre test de dépistage n'est disponible.
- La MS/MS est versatile dans la mesure où une grande variété de métabolites peut être détectée et où l'analyse peut être programmée pour dépister un groupe de maladies ou, au contraire, pour cibler certaines d'entre elles de manière sélective.
- L'analyse est possible à partir d'échantillons de sang et d'urine et elle a en outre été adaptée pour les échantillons de sang séché, un substrat très pratique pour le dépistage néonatal (faible quantité de sang à prélever, envoi par la poste possible).
- De très faibles quantités de métabolites peuvent être détectées, séparées et identifiées.
- Grâce à l'utilisation de deux spectromètres de masse, l'analyse par la MS/MS ne nécessite pas de séparation chromatographique préalable des métabolites.
- La durée totale d'analyse depuis l'étape d'ionisation jusqu'à l'obtention des résultats, incluant la commutation entre le mode d'analyse des acides aminés et celui des acylcarnitines, est de l'ordre de deux à trois minutes par échantillon. Pour des raisons pratiques, les échantillons sont préparés et analysés sur des microplaques à 96 puits. Pour chacune de ces plaques, il faut compter trois heures pour la préparation des échantillons et cinq heures pour l'analyse.
- L'analyse est automatisée et permet un débit d'analyse élevé de l'ordre de 600 échantillons par 24h.

5.6.2 Inconvénients

Malgré l'apport indéniable de la MS/MS, plusieurs inconvénients de la technologie sont signalés [Chace et Kalas, 2005; Cheillan *et al.*, 2004; Fearing et Levy, 2003; Carpenter et Wiley, 2002; Clarke, 2002]. Comme le précisent les lignes qui suivent, ceux-ci concernent en premier lieu les exigences techniques, qui sont assez lourdes et impliquent que des précautions soient prises depuis le prélèvement des échantillons sanguins jusqu'à l'interprétation des résultats. De nombreux auteurs mentionnent la fragilité de l'appareil et la nécessité pour chaque laboratoire³⁹ de disposer d'un second appareil pour ne pas devoir interrompre le dépistage en cas de bris. Certaines limites dérivent de l'application particulière de la MS/MS au dépistage néonatal, soit en raison de la nature du substrat, soit en raison du moment du prélèvement. Enfin, nombre de problèmes d'interprétation se posent pour le diagnostic différentiel entre les métabolites ciblés et des contaminants ou entre différentes maladies. Ci-dessous les principaux inconvénients sont résumés, d'autres sont présentés à l'annexe G (paragraphe G4). Les implications de ces inconvénients seront traitées au chapitre discussion.

- Les étapes de préparation des échantillons de sang séché pour l'analyse MS/MS sont plus laborieuses que l'analyse MS/MS elle-même, qui est totalement automatisée.

39. Le volume d'analyse par laboratoire recommandé par Pandor et ses collaborateurs est de 50 000 à 60 000 analyses annuellement [Pandor *et al.*, 2004]. Toutefois la capacité d'analyse de l'appareil est supérieure [CDC, 2001] de sorte qu'un laboratoire devrait être suffisant pour le nombre de naissances annuelles au Québec qui est de l'ordre de 75 000. Au moment de mettre sous presse sont apparues des données plus récentes qui élèvent cette estimation. En effet, selon un document gouvernemental de Janvier 2007, ce chiffre aurait atteint 82 500 en 2006 [MFAF, 2007]

- L'analyse MS/MS, comme d'autres techniques de dépistage, dépend du volume et des conditions de prélèvement, de transport et de conservation de l'échantillon sanguin. La quantité de sang nécessaire dans les échantillons de sang séché varie selon l'hématocrite, le diamètre du médaillon, le degré de saturation, le degré d'hémolyse, la qualité du papier filtre ainsi que les conditions environnementales (humidité et température), de transport et de conservation des cartes de Guthrie [Holub *et al.*, 2006; Lindner *et al.*, 2006; Al-Dirbashi *et al.*, 2005; Nagy *et al.*, 2003; Santer *et al.*, 2003]⁴⁰.
- Du fait de la constitution complexe de la matrice sanguine, l'ionisation peut être entravée par l'interaction entre les métabolites d'intérêt et des ions tels que le sodium et le chlore, ou par la compétition entre ces métabolites et d'autres molécules. La réalisation minutieuse de l'étape d'extraction et l'utilisation de standards internes permettent d'en minimiser les conséquences.
- Comme mentionné plus haut, l'étape de la butylation présente certains inconvénients. Il s'agit d'une étape qui rallonge le temps de préparation des échantillons d'environ 45 minutes et expose, comme toute étape analytique, à des risques d'erreurs. Celles-ci peuvent être liées à des problèmes tels que l'instabilité des dérivés ou les interférences avec les réactifs. On attribue en outre à la butylation deux problèmes importants liés à la quantification de l'asparagine et de la glutamine et au dosage de la carnitine libre, qui sont détaillés dans l'annexe G.
- La concentration de certains métabolites peut s'avérer insuffisante pour permettre leur détection au cours de la période néonatale, même en présence d'une EIM, soit à cause d'une ingestion insuffisante de protéines, soit à cause de l'âge au moment du prélèvement. En effet, le taux des acides aminés tend à augmenter avec l'âge alors que celui des acylcarnitines, surtout à chaînes longues tend à diminuer [Cavedon *et al.*, 2005].
- Certains médicaments ou autres produits, comme l'acide valproïque, l'acide pivalique et l'acide benzoïque, produisent des acylcarnitines détectés par la MS/MS dont le profil peut chevaucher celui de métabolites d'intérêt. Par exemple, l'acide valproïque, un anticonvulsivant, produit un dérivé C8 qui peut être confondu avec un profil métabolique du MCADD. La différenciation peut être établie sur la base du ratio C8/C10, qui n'est élevé que si le nouveau-né est réellement atteint de MCADD. La prise de vitamines, de suppléments nutritionnels ou l'hyperalimentation parentérale peuvent également fausser les résultats de la MS/MS et se solder, par exemple, par des taux d'acides aminés artificiellement élevés.
- Les acylcarnitines ne sont généralement pas spécifiques à une maladie, de sorte que pour les erreurs innées du métabolisme des acides organiques et des acides gras, le dépistage néonatal repose sur l'analyse de plusieurs métabolites. En effet, les voies métaboliques de l'oxydation des acides gras sont imbriquées les unes dans les autres et le déficit d'une enzyme peut se manifester par l'élévation de plus d'un type d'acylcarnitine. Par exemple, le C8 est généralement élevé dans le MCADD, mais peut l'être aussi dans la *Multiple Acyl-CoA Dehydrogenase Deficiency* (MADD), appelée aussi *Glutaric Aciduria* de type II (GAII), et dans la *Medium/Short Chain-L-3-Hydroxy Acyl CoA Dehydrogenase Deficiency* (M/SCHADD). Le diagnostic

40. À titre d'exemple, la libération de particules à partir du papier filtre et la rupture de globules rouges peuvent résulter en une perte majeure du signal de détection en ESI-MS/MS.

différentiel se fait grâce au ratio C8/C10, qui est élevé dans le MCADD. La confirmation diagnostique repose obligatoirement sur des tests supplémentaires⁴¹.

- L'analyse MS/MS ne permet pas la quantification individuelle de molécules isomasses, telles que la leucine, l'isoleucine et l'hydroxyproline. Cependant, pour les fins du dépistage le dosage semi-quantitatif est acceptable, la quantification exacte de ces molécules isomasses pouvant être réalisée au moment du diagnostic [Casetta *et al.*, 2000]⁴².

41. D'autres exemples concernent le déficit en *Long Chain Hydroxyacyl-CoA Dehydrogenase* (LCHADD) et le déficit en protéine trifonctionnelle (C16OH); l'acidémie méthylmalonique, l'acidémie propionique, les déficits en biotine et la carence en vitamine B12 (C3); et l'acidémie isovalérique et le déficit en méthylbutyryl-CoA dehydrogenase (C5).

42. De tels problèmes sont rencontrés pour la maladie du sirop d'érable (leucine aiguë) et le déficit en *Short Chain Acyl-CoA Dehydrogenase* (SCADD) et l'isobutyryl-CoA dehydrogenase (C4 et isobutyrylcarnitine). L'analyse minutieuse de ratios de fragment peut parfois constituer une solution [Carpenter et Wiley, 2002]. Autrement, on peut utiliser la LC-MS/MS, qui inclut une étape supplémentaire de séparation chromatographique rapide de moins de quatre minutes. De plus, il faut avoir recours au mode MRM pour la quantification individuelle de ces acides aminés isomasses [Nagy *et al.*, 2003].

LA PERFORMANCE DE LA MS/MS POUR LE DÉPISTAGE NÉONATAL DES ERREURS INNÉES DU MÉTABOLISME

Ce chapitre présente et discute les résultats de la revue de la littérature sur la performance de la MS/MS pour le dépistage néonatal des erreurs innées du métabolisme (EIM). Nous discutons d'abord les données scientifiques extraites à partir des revues systématiques de la littérature publiées à ce jour, puis celles extraites d'études primaires.

6.1 Les données provenant de revues systématiques de la littérature

La recherche bibliographique a identifié neuf⁴³ rapports ou articles examinant la pertinence du recours à la MS/MS pour le dépistage néonatal des EIM et de l'élargissement du nombre de maladies faisant l'objet du dépistage. Ces références ont été examinées avec attention mais six ne seront pas discutées en détail ici pour les raisons suivantes :

- Quatre rapports n'ont pas basé leurs conclusions sur une revue systématique de la littérature sur la performance de la MS/MS mais, principalement ou exclusivement, sur des décisions émises par un comité d'experts [Lukacs et Santer, 2006; Watson *et al.*, 2006; Health Council of the Netherlands, 2005; MAS, 2002].
- Deux revues systématiques de la littérature mandatées en 1997 par le *National Health Service Research and Development Health Technology Assessment* (NHS R&D HTA) britannique ont évalué la littérature publiée jusqu'en 1995 [Pollitt *et al.*, 1997] ou juin 1996 [Seymour *et al.*, 1997], alors que d'importants développements technologiques pour la MS/MS ont eu lieu ultérieurement. De plus, les principaux résultats et conclusions de ces travaux sont décrits dans deux revues que nous décrivons ci-dessous [Pandor *et al.* 2006a; Pandor *et al.*, 2004].

Toutefois, vu que ces six rapports ont largement influencé, sur le plan national et international, l'introduction de la MS/MS et l'élargissement du dépistage néonatal à plusieurs EIM, nous décrivons dans l'annexe I leurs objectifs, méthodes et principales conclusions et limites.

Parmi les rapports que nous décrivons dans cette section, deux revues de la littérature publiées par les mêmes auteurs sont des mises à jour des deux revues britanniques de 1997 [Pandor *et al.* 2006a; Pandor *et al.*, 2004] et un troisième a été publié en 2006 par l'Agence canadienne des médicaments et des technologies de la santé (ACMTS) [Tran *et al.*, 2006]⁴⁴.

6.1.1 Les revues de la littérature de Pandor et ses collaborateurs [2004 et 2006a]

Le but principal de la revue de Pandor et ses collaborateurs [2004] était d'évaluer l'efficacité clinique ainsi que le rapport coût/efficacité du dépistage néonatal des EIM

43. Un rapport qui n'est pas du domaine public n'a pas été considéré.

44. Seuls les aspects propres à la performance de la MS/MS pour le dépistage néonatal des EIM sont considérés dans ce chapitre alors que les résultats des revues de la littérature sur l'épidémiologie et le traitement de la PCU, la TH1 et le MCADD ainsi que les conclusions des volets économiques sont traités dans les chapitres correspondants.

par la MS/MS. La revue a comporté quatre volets principaux, à savoir la revue sur la performance de la MS/MS à dépister les EIM des acides aminés et des acylcarnitines, 11 revues systématiques couvrant les données d'incidence et de traitement de 23 EIM (voir les chapitres 4.1, 4.2, et 4.3 pour les résultats sur la PCU, la TH1 et le MCADD, respectivement), une revue économique (voir les résultats dans le chapitre 7) et une discussion des enjeux relatifs à l'implantation de la MS/MS au Royaume-Uni (voir chapitre 8).

Pour la revue sur la performance de la MS/MS, les auteurs ont d'abord fait le point sur les conclusions et recommandations des deux revues de 1997. Par la suite, ils ont présenté et discuté les données extraites de leur revue systématique d'études plus récentes. Les caractéristiques méthodologiques de cette revue sont présentées au tableau 12. La réalisation d'une méta-analyse quantitative a été envisagée mais n'a pas été retenue à cause de l'hétérogénéité des études.

Les auteurs ont donc révisé un total de 13 références, sélectionnées à partir d'une banque initiale de 145 références, dont sept⁴⁵ ont examiné le dépistage néonatal par la MS/MS pour des groupes d'EIM et quatre⁴⁶ étaient spécifiques au MCADD. Les deux autres études ont été qualifiées «d'études de laboratoire» : l'une a comparé les résultats d'une analyse rétrospective d'échantillons archivés obtenus par la MS/MS par rapport à ceux obtenus initialement par fluorométrie pour le dépistage néonatal de la PCU; l'autre a décrit la performance d'un algorithme informatisé (CAMP) pour l'identification automatisée de profils métaboliques anormaux détectés par la MS/MS.

Le tableau 13 présente la distribution des études révisées selon les trois grades considérés pour évaluer la qualité des données en faveur de l'adoption de la MS/MS pour le dépistage néonatal au Royaume-Uni⁴⁷. Le grade le plus élevé a été octroyé aux études présentant des données dérivées de programmes de dépistage néonatal pour une population britannique ou une population similaire. Le 2^e grade a été octroyé aux études systématiques autres que celles réalisées dans des programmes de dépistage néonatal. Enfin, le 3^e grade caractérisait les données extrapolées à partir des connaissances biochimiques sur la maladie. Alors que la majorité des études intéressaient les groupes de maladies étaient de grade I, les études sur le MCADD se distribuaient également entre les grades I et II et les deux études de laboratoires ont été classifiées au grade II.

Le nombre d'échantillons testés a varié entre 2 100 et 257 000 pour les études sur les groupes d'EIM, 100 600 et 930 078 pour les études sur le MCADD et 203 à 1 151 pour les études de laboratoire. La sensibilité de la MS/MS a varié entre 90 % et 100 % pour les études sur les groupes d'EIM et a été de 100 % pour les études sur le MCADD et celles de laboratoire. Toutefois, les auteurs précisent que rares sont les études qui ont indiqué des faux négatifs et qu'aucune n'a considéré des méthodes rigoureuses pour l'élimination de cas d'EIM manqués. La spécificité de la MS/MS a varié entre 99 % et 100 % pour les études sur les groupes d'EIM, a été de 100 % pour les études sur le MCADD et a varié entre 51 % et 98 % pour les études de laboratoire. Enfin, la valeur

45. Parmi les sept études qui se sont penchées sur le dépistage néonatal par la MS/MS pour des groupes d'EIM d'acides aminés ou d'acylcarnitines, trois étaient publiées sous forme de résumé et fournissaient donc peu d'informations. Quatre études étaient prospectives avec une durée totale de deux-trois ans alors que les trois autres n'ont pas indiqué leur plan d'étude dont une seule a précisé une durée totale de 11 mois.

46. Trois des études sur le MCADD étaient prospectives avec une durée variant entre deux et sept ans alors que la quatrième était rétrospective d'une durée de près de trois ans.

47. Notons que nous reprenons dans notre révision d'études primaires ci-dessous une des études sur les groupes d'EIM, car elle présente des données spécifiques pour la PCU, la TH1 et le MCADD [Zytovicz *et al.*, 2001], les quatre études spécifiques au MCADD [Andresen *et al.*, 2001; Carpenter *et al.*, 2001; Pourfarzam *et al.*, 2001; Chace *et al.*, 1997] et l'étude de laboratoire spécifique à la PCU [Chace *et al.*, 1998].

prédictive positive a varié entre 7 % et 38 % pour les études de groupes, 19 % et 100 % pour celles sur le MCADD et 17 % et 86 % pour les études de laboratoire.

De ces résultats, les auteurs concluent que les données actuelles viennent surtout d'études observationnelles de programmes de dépistage néonatal implantés à large échelle en Allemagne, en Australie, et aux États-Unis. Ils ont jugé la MS/MS rapide et hautement sensible (90-100 %) et spécifique (99-100 %) pour le dépistage de groupes d'erreurs innées du métabolisme des acides aminés et des acylcarnitines, mais soulignent qu'il manque des données pour étendre ces conclusions au dépistage néonatal d'EIM individuelles, sauf pour le MCADD (sensibilité et spécificité de 100 %). Les auteurs ont indiqué que les principales limites de la littérature comportent : 1) la difficulté de détecter et de différencier entre certains métabolites (C3/C2, C5, 3-OH-isovalerylcarnitine) et certaines maladies (la tyrosinémie néonatale transitoire, les déficits en argininosuccinase lyase ou la glutaryl-CoA déshydrogénase), ce qui peut occasionner des faux positifs; 2) le manque d'études ayant un suivi suffisamment long pour que l'on puisse faire une évaluation précise de la proportion de faux négatifs; et 3) la difficulté de comparer les études à cause de variations dans l'âge au prélèvement des échantillons, le choix des métabolites ou de ratio de métabolites, les valeurs seuils utilisées et les tests de confirmation diagnostique.

Compte tenu des données sur la performance et des résultats de leur analyse économique (voir le chapitre 7), Pandor et ses collègues [2004] concluent que «les données disponibles appuient l'introduction de la MS/MS en Grande-Bretagne, mais uniquement pour le dépistage combiné de la PCU et du MCADD». Pour cette dernière maladie, ils ont jugé que toutes les formes cliniques nécessitent un traitement car il est difficile pour le moment de distinguer les patients qui risquent de développer des symptômes de ceux qui resteront asymptomatiques. Ils ont également dégagé des champs de recherche essentiels avant l'élargissement du programme de dépistage néonatal britannique à d'autres maladies. Ils ont souligné essentiellement la nécessité d'améliorer l'état des connaissances sur la performance de la MS/MS pour le dépistage néonatal d'EIM individuelles et sur l'évolution naturelle et le traitement des maladies mal connues ainsi que l'importance d'instaurer un suivi des patients à long terme afin d'établir avec le plus de précisions possibles les proportions de faux négatifs.

En 2006, Pandor et ses collaborateurs [2006a] ont réalisé une mise à jour dans laquelle ils se sont limités aux études sur la performance (sensibilité, spécificité et valeur prédictive positive) de la MS/MS pour le dépistage néonatal sélectif de la PCU et du MCADD. Les auteurs ont adopté les mêmes méthodologies utilisées en 2004 (tableau 12) à quelques exceptions près : (i) l'étendue de la recherche bibliographique qui s'est échelonnée de juin 1996 à juin 2003; (ii) la qualité des données a été évaluée selon les mêmes guides utilisés dans la revue de la littérature de 2004 sans octroyer de grades (tableau 13).

Les auteurs ont identifié six études pertinentes dont cinq avaient déjà été révisées dans la revue de la littérature de 2004. La 6^{ème} étude [Schulze *et al.*, 2003a] figure parmi les articles primaires que nous révisons ci-dessous et ne sera donc pas décrite dans le présent paragraphe.

Pandor et ses collègues [2006a] ont conclu que les données les plus récentes comportent les mêmes limites que celles des études antérieures et qu'elles confirment la sensibilité et la spécificité élevées du dépistage néonatal de la PCU et du MCADD par la MS/MS. En outre, ils soulignent qu'il est important d'utiliser le ratio phénylalanine/tyrosine en association avec le dosage de la phénylalanine, et qu'on obtient ainsi une meilleure valeur prédictive positive avec la MS/MS qu'avec les méthodes classiques pour le dépistage néonatal de la PCU.

TABLEAU 12

Méthodes des revues de la littérature de Pandor et ses collègues [2004] et de Tran et ses collègues. [2006]		
	PANDOR ET AL. [2004]	TRAN ET AL. [2006]
Sources bibliographiques	■ Littérature publiée : 12 bases de données électroniques; Listes de référence des articles pertinents ■ Littérature grise : Ressources électroniques spécialisées en recherche en santé	■ Littérature publiée : 11 bases de données électroniques ■ Littérature grise : Sites web d'agences d'évaluation des technologies et d'autres organismes de recherche en santé; base de données spécialisées
Période couverte par la recherche bibliographique	■ 1996-11/2001	■ Pubmed : 1995- août 2005 ■ Autres sources : 1995- mars 2005
Mots clés	Mots clés et synonymes pour la combinaison : « <i>Neonatal screening</i> » AND « <i>inborn errors</i> » AND « <i>Tandem Mass Spectrometry</i> »	Mots clés et synonymes (adaptés aux différentes bases de données) pour la combinaison : [(<i>screening</i>) AND (<i>infant or newborn</i>)] AND [(MS/MS) OR (MCADD)]
Critères d'éligibilité		
■ Critères d'inclusion	■ Devis : Tout type ■ Population : Nouveau- nés ■ Intervention : MS/MS ■ Données sur, ou permettant de calculer, la sensibilité, la spécificité, ou la valeur prédictive positive	■ Devis : Étude de cohorte prospective ou rétrospective ■ Population : Nouveau-nés ou enfants, quelque soit leur âge ■ Intervention : Dépistage néonatal par la MS/MS ■ Données de validité clinique (sensibilité, spécificité, valeur prédictive positive, valeur prédictive négative)
■ Critères d'exclusion	■ Langue autre que l'anglais	■ Articles de type revue de la littérature ou publiés sous forme de lettres, commentaires, ou observations secondaires ■ Études sur la validation analytique de la MS/MS
Traitement des articles	■ Sélection des articles et extraction des données par un réviseur ■ Synthèse : Pas de méta-analyse en raison de l'hétérogénéité des résultats et de la qualité médiocre de certaines études	■ Sélection des articles et extraction des données par deux réviseurs
Données extraites à partir des articles révisés	■ Plan, période et localisation de l'étude, ethnicité de la population, âge au prélèvement ■ Type d'échantillon sanguin utilisé, valeurs seuils ■ Maladies dépistées ■ Données sur la sensibilité, la spécificité et la valeur prédictive positive	■ Pays, plan d'étude, période et population d'étude, critères d'inclusion et d'exclusion, âge au prélèvement ou de diagnostic ■ Protocole de confirmation diagnostique et valeurs seuils ■ Période de suivi, âge de début et protocole de traitement ■ Données de validité clinique (sensibilité, spécificité, valeur prédictive positive, valeur prédictive négative) ■ Subvention par l'industrie
Guides utilisés pour l'évaluation de la qualité des études	■ Greenhalgh et Donald, 2000 ■ Jaeschke <i>et al.</i>, 1994a, b	QUADAS

TABLEAU 13

Distribution des études révisées par Pandor et ses collègues [2004] selon les critères d'évaluation de la qualité considérés			
CRITÈRES D'ÉVALUATION DE LA QUALITÉ DES ÉTUDES	ÉTUDES SUR LES GROUPES D'EIM (N=7)	ÉTUDES SUR LE MCADD (N=4)	ÉTUDES DE LABORATOIRE (N=2)
▪ Grade I : Données provenant de programmes de dépistage néonatal en Grande Bretagne ou auprès de populations comparables	5	2	
▪ Grade II : Données provenant d'études systématiques autres que celles ciblant des populations entières	2	2	2
▪ Grade III : Extrapolation à partir de connaissances biochimiques sur les maladies	0	0	0

Les revues de la littérature de Pandor et ses collaborateurs [2006a, 2004] sont indéniablement d'une grande qualité. Toutefois, l'étendue de la recherche bibliographique est quelque peu restrictive et les auteurs ne décrivent pas les méthodologies analytiques des différentes études révisées.

6.1.2 La revue de la littérature de Tran et ses collaborateurs [2006]

Le but de la revue de la littérature de Tran et ses collaborateurs [2006] était d'évaluer le potentiel d'application de la MS/MS pour le dépistage du MCADD dans le contexte Canadien en prenant en considération les enjeux cliniques, économiques (voir chapitre 7), éthiques et psychosociaux (voir chapitre 8). Les auteurs visaient ainsi à informer les décideurs et les responsables de programmes provinciaux de dépistage néonatal au Canada sur la qualité de la preuve scientifique en faveur du dépistage du MCADD.

Les objectifs spécifiques de la revue de la littérature sur l'efficacité clinique du dépistage néonatal du MCADD par la MS/MS étaient tout d'abord d'évaluer les données scientifiques quant aux bénéfices, aux risques et à la validité de ce dépistage. De plus, les auteurs voulaient comparer l'issue clinique de patients atteints de MCADD parmi ceux qui sont dépistés à la naissance par la MS/MS et ceux diagnostiqués cliniquement plus tard durant l'enfance. Ci-dessous, les résultats et conclusions concernant la performance de la MS/MS pour le dépistage néonatal du MCADD sont présentés, alors que les autres aspects sont traités dans la section portant sur le MCADD (chapitre 4.3) ou la section économique (chapitre 7).

Les auteurs ont réalisé une revue systématique de la littérature dont les caractéristiques méthodologiques sont détaillées dans le tableau 12. Afin de comparer les données de performance de la MS/MS pour le dépistage néonatal du MCADD entre les études, les auteurs ont extrait de chaque étude les données sur la sensibilité, la spécificité, la valeur prédictive positive et la valeur prédictive négative. Ces données ont été par la suite combinées pour calculer une moyenne pondérée avec un intervalle de confiance de 95 % (IC 95 %) pour chacun des critères de performance.

Les auteurs ont tout d'abord évalué la qualité des études au moyen de l'outil QUADAS [Whiting *et al.*, 2006; 2003]. Le tableau 14 détaille les résultats de cette évaluation pour les cinq⁴⁸ études ayant publié des données sur la performance de la MS/MS. Sur la base de cette évaluation, les auteurs concluent que la majorité des études révisées sont de qualité suboptimale. Ils critiquent principalement : 1) la restriction des populations d'étude à certains groupes ethniques et le manque d'information sur les critères de sélection des sujets, ce qui limite la validité externe de ces études; 2) le manque de suivi à long terme des sujets, ce qui affecte surtout l'estimation des proportions de faux négatifs; 3) le manque de détails sur les protocoles d'analyse MS/MS et de confirmation diagnostique; et 4) l'absence de données sur les résultats de tests MS/MS non interprétables ou intermédiaires ou sur les sujets perdus de vue. Par contre, Tran et ses collègues [2006] concluent que les tests de référence utilisés (analyse d'ADN et évaluation de l'activité enzymatique par culture de fibroblastes) sont susceptibles de classer correctement les patients et que ces tests étaient indépendants du test MS/MS dans toutes les études.

En ce qui concerne les critères de performance, les auteurs mentionnent que les résultats des cinq études indiquent que la MS/MS a une sensibilité et une valeur prédictive négative maximales (100 %) pour le dépistage néonatal du MCADD, une spécificité qui varie entre

48. Ces cinq études sont issues d'une banque initiale de 957 références.

99,98 % et 100 % (moyenne pondérée de 99,99 %) et une valeur prédictive positive variant de 19 % à 100 % avec une moyenne pondérée de 51 % (IC 95 %: 11 %-91 %). Toutefois, les auteurs précisent que l'estimation de ces critères repose sur l'hypothèse d'un taux nul de faux négatifs puisque les études n'avaient pas de période de suivi assez longue pour faire une estimation plus rigoureuse de ce taux. Ils soulignent également que des changements mineurs dans la spécificité du test MS/MS peuvent entraîner des variations substantielles de la valeur prédictive positive. Ainsi, ils estiment que des variations entre 99,995 % et 99 % de la spécificité seraient responsables d'une baisse de la valeur prédictive positive de 54 % à 0,6 %, en se basant sur une sensibilité de 100 % et une incidence de 1:16 000 pour la population canadienne de 330 803 nouveau-nés pour l'année 2003-2004. Tran et ses collègues [2006] recommandent alors de prendre en considération non seulement la sensibilité d'un test de dépistage néonatal mais également sa spécificité, en ajustant la valeur seuil du métabolite C8.

Tran et ses collaborateurs [2006] ont conclu que la performance de la MS/MS pour le dépistage néonatal du MCADD est élevée. Ils ont également considéré que le dépistage de cette maladie serait bénéfique puisqu'il réduit le nombre de patients symptomatiques et de décès (voir chapitre 4.3 sur le MCADD), et ce malgré la qualité limitée des données. Ayant estimé l'incidence canadienne du MCADD à 1:16 000, ils avancent que 20 nouveau-nés atteints de la maladie seraient dépistés par année alors que l'issue de ces enfants serait peut-être fatale s'ils ne bénéficiaient pas des mesures préventives nécessaires, qui—précisent-ils—sont relativement simples. Ces auteurs ont donc recommandé le dépistage néonatal du MCADD par la MS/MS afin de permettre l'identification des patients alors qu'ils sont encore asymptomatiques et d'éviter que le diagnostic ne soit réalisé lors d'un épisode aigu. Ils ont toutefois souligné l'importance d'établir un consensus pancanadien en ce qui concerne les modalités de confirmation diagnostique du MCADD.

Les points forts de la revue de la littérature de Tran et ses collègues [2006] incluent la réalisation d'une revue systématique de la littérature et l'utilisation du QUADAS, dont la valeur comme outil d'évaluation de la qualité des études portant sur les tests diagnostiques est reconnue. Toutefois, cette revue présente certaines limites qui sont importantes à souligner. Tout d'abord, les informations sur la littérature étudiée, surtout en ce qui concerne les méthodes analytiques utilisées par les études, n'étaient pas détaillées. Par exemple, même si les auteurs discutent de la variation possible de la sensibilité du test MS/MS selon la réalisation ou non d'une butylation, ce paramètre analytique est rarement précisé pour les études révisées. De plus, les résultats et conclusions sont largement basés sur la combinaison des résultats des différentes études, en calculant des moyennes pondérées (IC 95 %) et les différences entre ces moyennes, sans égard à l'hétérogénéité entre les études dont les auteurs discutent pourtant. Donc, la validité de cette combinaison des résultats et des conclusions qui en découlent est incertaine.

TABLEAU 14

Évaluation de la qualité des 14 études révisées par Tran et ses collègues [2006] selon l'outil QUADAS				
QUESTIONS	NOMBRE D'ÉTUDES			
	OUI	NON	PAS CLAIR	NON APPLICABLE
1. Est-ce que l'échantillon de patients était représentatif des patients qui seront soumis au test dans la pratique ?	0	0	5	0
2. Est-ce que les critères de sélection étaient clairement définis ?		5		
3. Est-ce que le test de référence est suffisamment fiable pour détecter correctement l'affection en question ?	5			
4. Est-ce que le temps écoulé entre le test de référence et le test index est suffisamment court pour permettre de croire que l'affection en question n'a pas évolué entre les deux tests ?			4	1
5. Est-ce que tout l'échantillon ou une partie de l'échantillon choisie au hasard ont été soumis à un test de référence diagnostique aux fins de vérification ? ¹				5
6. Est-ce que les patients ont été soumis au même test de référence, peu importe les résultats du test index ? ¹				5
7. Est-ce que le test de référence était indépendant du test index (c.-à-d. que le test index ne faisait pas partie du test de référence) ?	5			
8. Est-ce que la description du test index était suffisamment détaillée pour en permettre la reproduction ?	3	2		
9. Est-ce que la description du test de référence était suffisamment détaillée pour en permettre la reproduction ?	1	4		
10. Est-ce que l'interprétation des résultats du test index s'est faite dans l'ignorance des résultats du test de référence ?	5			
11. Est-ce que l'interprétation des résultats du test de référence s'est faite dans l'ignorance des résultats du test index ? ¹				5
12. Est-ce que les données cliniques existantes au moment de l'interprétation des résultats étaient les mêmes que celles utilisées au moment de l'application du test en pratique ? ¹				5
13. Est-ce que des résultats équivoques ou intermédiaires ont été signalés ?		5		
14. Est-ce que des explications ont été fournies sur les retraits de l'étude ?		5		

1. Les auteurs précisent que les questions 5, 6, 11 et 12 sont spécifiques aux tests diagnostiques et non applicables pour le test de dépistage par la MS/MS.

6.2 Études primaires

6.2.1 Résultats de la recherche bibliographique

Les stratégies de recherche propres aux thèmes « performance de la MS/MS » et « dépistage des maladies » ont identifié 306 références publiées avant 2000 et 453 autres publiées depuis. Des premières, 15 ont été jugées pertinentes sur la base du titre et du résumé, mais seulement deux [Chace *et al.*, 1998; Chace *et al.*, 1997] ont été retenues à la lecture des articles. Parmi les références plus récentes, 260 ont été éliminées à la révision des titres et résumés, 117 ont été considérées comme pertinentes pour d'autres chapitres du rapport et 77 ont été retenues pour le thème performance de la MS/MS pour le dépistage néonatal des EIM. Toutefois, à la lecture des articles, seules 11 références correspondaient aux critères de sélection pour cette section du rapport [Feuchtbaum *et al.*, 2006b; Frazier *et al.*, 2006; Sander *et al.*, 2006; Schulze *et al.*, 2003a; Wilcken *et al.*, 2003; Ceglarek *et al.*, 2002; Shigematsu *et al.*, 2002; Andresen *et al.*, 2001; Carpenter *et al.*, 2001; Pourfarzam *et al.*, 2001; Zytковicz *et al.*, 2001]. L'annexe J fournit de plus amples renseignements sur le processus de sélection des résumés et des articles et en particulier sur les raisons sous-tendant l'élimination des études consultées.

6.2.2 Description des études retenues

Parmi les 13 références retenues, six [Feuchtbaum *et al.*, 2006b; Frazier *et al.*, 2006; Schulze *et al.*, 2003a; Wilcken *et al.*, 2003; Shigematsu *et al.*, 2002; Zytковicz *et al.*, 2001] se sont penchées sur le dépistage néonatal de groupes d'EIM par la MS/MS alors que les sept autres se sont intéressées à l'application de cette technologie pour le dépistage néonatal sélectif de la PCU [Ceglarek *et al.*, 2002; Chace *et al.*, 1998], la TH1 [Sander *et al.*, 2006] ou le MCADD [Andresen *et al.*, 2001; Carpenter *et al.*, 2001; Pourfarzam *et al.*, 2001; Chace *et al.*, 1997]. Toutefois, certaines des études qui se sont penchées sur les groupes d'EIM ont permis d'extraire des données sur la performance de la MS/MS pour le dépistage sélectif de la PCU [Frazier *et al.*, 2006; Schulze *et al.*, 2003a; Wilcken *et al.*, 2003; Zytковicz *et al.*, 2001], la TH1 [Schulze *et al.*, 2003a; Wilcken *et al.*, 2003; Zytковicz *et al.*, 2001] ou le MCADD [Feuchtbaum *et al.*, 2006b; Frazier *et al.*, 2006; Schulze *et al.*, 2003a; Wilcken *et al.*, 2003; Zytковicz *et al.*, 2001].

Toutes ces études ont été publiées en anglais sous forme d'articles de recherche, à l'exception de l'étude de Pourfarzam et ses collaborateurs [2001] qui a fait l'objet d'une lettre de recherche [Pourfarzam *et al.*, 2001]. Deux études [Chace *et al.*, 1998; Chace *et al.*, 1997] semblent avoir été financées par l'industrie MS/MS (*Neo Gen Screening*). Le tableau 15 présente les caractéristiques générales de ces études incluant le pays, la période d'étude, le programme de dépistage néonatal correspondant, l'origine de la population et le plan de l'étude. Les prochaines sections décrivent, respectivement, les méthodes et les résultats de ces études. Par la suite, nous discutons leur qualité et faisons le point sur la performance de la MS/MS pour le dépistage néonatal des EIM en indiquant, si il y a lieu, les particularités à considérer pour la PCU, la TH1 et le MCADD.

6.2.2.1 Description des études considérant un groupe d'EIM

Six études ont fourni des résultats de dépistage néonatal par la MS/MS pour des groupes d'EIM dont une japonaise [Shigematsu *et al.*, 2002], une allemande [Schulze *et al.*, 2003b], une australienne [Wilcken *et al.*, 2003] et trois américaines concernant, respectivement, les programmes de dépistage néonatal de la Caroline du Nord [Frazier *et al.*, 2006], la Californie [Feuchtbaum *et al.*, 2006b] et la Nouvelle-Angleterre

(Massachusetts) [Zytkovicz *et al.*, 2001]. Deux de ces six références présentent des résultats d'études pilotes réalisées dans le cadre de travaux préliminaires précédant l'introduction de la technologie MS/MS [Feuchtbaum *et al.*, 2006b; Shigematsu *et al.*, 2002]. Les quatre autres études avaient plutôt comme objectif de publier les résultats d'expériences de dépistage néonatal des EIM par la MS/MS, notamment des données sur l'incidence des maladies dépistées et sur la performance de la technologie. Enfin, pour une étude [Zytkovicz *et al.*, 2001], les résultats publiés étaient ceux obtenus par le dépistage néonatal routinier pour quatre maladies (PCU, leucinose, hyperméthioninémie, et MCADD) alors que pour d'autres EIM des acides aminés, incluant la TH1, et des acylcarnitines l'utilisation de la MS/MS était réalisée dans le cadre d'une étude pilote.

Toutes ces études, à l'exception d'une seule, n'ayant pas décrit les méthodes de recrutement de sa population [Shigematsu *et al.*, 2002], ont été réalisées au sein de cohortes prospectives de nouveau-nés recrutés durant des périodes variant de un à quatre ans (tableau 15). Bien que la méthode de sélection des nouveau-nés n'est pas explicitement mentionnée dans les articles, ces sujets ont probablement été recrutés consécutivement. Les auteurs n'ont pas précisé si des critères d'éligibilité particuliers étaient en vigueur pour le recrutement de populations de nouveau-nés. Toutefois, l'étude pilote de Feuchtbaum et ses collaborateurs [2006b] n'a pas considéré les nouveau-nés atteints de PCU car le dépistage de cette maladie était déjà réalisé par le programme de dépistage néonatal routinier avant l'introduction de la MS/MS. Seuls Wilcken [2003] et Feuchtbaum [2006b] ont précisé la proportion de nouveau-nés (parmi le total des naissances pour la période et région d'étude) recrutés pour l'étude (tableau 15). Cette proportion était plus faible dans l'étude de Feuchtbaum et ses collaborateurs [2006b] que dans celle de Wilcken et ses collègues [2003] (47 % *versus* 99 %). Le premier groupe d'auteurs explique cette faible proportion par le fait que la participation à leur étude dépendait des centres de naissances dont le personnel était chargé d'informer les familles et de les inviter à participer. L'étude ayant été conçue comme un projet de recherche, ce consentement familial était nécessaire, ce qui a limité le nombre de centres de naissances offrant l'opportunité aux familles d'y participer (52 % des familles ont été invitées et 5 % ont refusé).

La description des caractéristiques des populations de nouveau-nés en termes d'ethnicité, d'âge gestationnel, de poids et d'état de santé à la naissance était absente ou incomplète dans la majorité des études. La seule étude qui s'est vraiment penchée sur ces facteurs et leur potentiel à influencer les résultats de l'analyse par la MS/MS est l'étude de Zytkovicz et ses collaborateurs [2001]. En effet, ces auteurs ont indiqué pour chaque EIM, le nombre de nouveau-nés hospitalisés en soins intensifs ou présentant un faible poids de naissance parmi ceux ayant eu un test de dépistage positif pour l'une ou l'autre des maladies. Par ailleurs, Schulze et ses collègues [2003a] ont précisé que près de 1 % des nouveau-nés de leur étude étaient nés prématurément et que 98 % d'entre eux étaient de race blanche. De plus, Frazier et ses collaborateurs [2006] ont présenté une description globale de la distribution de divers groupes ethniques dans leur population (73 % caucasiens, 23 % afro-américains, 2,5 % asiatiques et 1,5 % natifs américains) alors que Feuchtbaum et ses collaborateurs [2006b] ont uniquement mentionné que le profil ethnique (ou racial) de la population testée par la MS/MS était similaire à celui de la population californienne.

Le tableau 16 décrit les paramètres analytiques relatifs aux prélèvements sanguins, aux étapes de l'extraction et de la butylation ainsi qu'aux types d'appareils et aux modes d'analyse MS/MS utilisés dans les différentes études. En ce qui concerne les prélèvements sanguins, il y avait généralement peu ou pas de variations entre les études

pour le type d'échantillons testés, le papier filtre utilisé et le diamètre du médaillon de sang poinçonné. Par contre, l'âge au prélèvement sanguin fluctue d'une étude à l'autre et parfois même au sein d'une même population de nouveau-nés [Schulze *et al.*, 2003a]. Par ailleurs, aucune des études n'a précisé la durée d'alimentation au moment du prélèvement sanguin ni la durée de séchage suivant celui-ci. Trois études [Feuchtbaum *et al.*, 2006b; Frazier *et al.*, 2006; Schulze *et al.*, 2003a] ont indiqué un transport par courrier des échantillons de sang séché vers le laboratoire d'analyse mais une seule [Schulze *et al.*, 2003a] a précisé sa durée. Enfin, seuls Shigematsu et ses collaborateurs [2002] ont indiqué avoir utilisé des échantillons de sang séché conservés dans des réfrigérateurs ou des congélateurs sans autres précisions sur les conditions de préservation (humidité ou durée) et leurs effets sur la stabilité des métabolites.

Pour la préparation des échantillons, les études ont globalement utilisé des paramètres assez similaires lors des étapes de l'extraction et de la butylation ainsi que des standards internes similaires pour la quantification d'un même métabolite (tableau 16). Quelques exceptions sont toutefois importantes à souligner. Tout d'abord, une seule étude précise la température de l'étape d'extraction [Frazier *et al.*, 2006]. Ensuite, la durée de l'extraction et le type de solution de reconstitution utilisée à la fin de l'étape de butylation ont quelque peu varié entre les études (tableau 16). Enfin, le standard interne utilisé pour la quantification de la tyrosine a varié entre les études ayant indiqué cette information [Frazier *et al.*, 2006; Schulze *et al.*, 2003a; Shigematsu *et al.*, 2002; Zytkevich *et al.*, 2001].

Même si le type d'appareil MS/MS a varié entre les études, toutes semblent avoir eu recours à une ionisation de type ESI et ont réalisé les analyses MS/MS en mode ion positif en utilisant un scan de perte de fragment neutre de 102 Da pour la majorité des acides aminés, incluant la phénylalanine et la tyrosine, et un scan d'ions parents de 85Da pour les acylcarnitines (tableau 16).

La liste des EIM faisant l'objet du dépistage n'est détaillée que dans quatre articles [Frazier *et al.*, 2006; Schulze *et al.*, 2003a; Wilcken *et al.*, 2003; Zytkevich *et al.*, 2001] dont trois [Frazier *et al.*, 2006; Schulze *et al.*, 2003a; Zytkevich *et al.*, 2001] ont spécifié pour chacune des EIM le(s) métabolite(s) ou ratio de métabolites utilisé(s) comme marqueur métabolique ainsi que la valeur seuil correspondante. Par contre, l'article publié par Shigematsu et ses collaborateurs [2002] n'a indiqué que le groupe d'acides aminés⁴⁹ dosés par la MS/MS mais pas celui des acylcarnitines et ne précise que les EIM dont sont atteints les nouveau-nés identifiés par le dépistage⁵⁰. De même, Feuchtbaum et ses collègues [2006b] ne citent que la liste d'EIM identifiées⁵¹ parmi la population de nouveau-nés dépistés.

Les méthodes de détermination des valeurs seuils ont été indiquées dans toutes les études sauf une [Shigematsu *et al.*, 2002]. Deux études ont fondé leurs valeurs seuils sur l'analyse d'un groupe de nouveau-nés sains (n=24 965 et 10 000, respectivement) en prenant comme limite supérieure, respectivement, les 99,5^e et 99^e percentiles de la distribution obtenue [Schulze *et al.*, 2003a; Wilcken *et al.*, 2003]. Une de ces études a en outre pris en considération les résultats obtenus par les analyses rétrospectives d'échantillons de sang séché appartenant à des nouveau-nés atteints d'EIM [Wilcken *et al.*, 2003]. Dans l'étude de Frazier et ses collègues [2006], les valeurs seuils ont été initialement fixées à quatre déviations standards au dessus des moyennes des taux de

49. Acide argininosuccinique, arginine, citrulline, glycine, alanine, valine, leucine, glutamine, phénylalanine, tyrosine.

50. PA, MMA, MCADD, ASS et PCU.

51. MSUD, SCADD, MCADD, LCHADD, VLCADD, MMA, PA, GAI et II, 3-MCC et ARG.

métabolites obtenus par l'analyse séquentielle de 2000 échantillons de nouveau-nés. Ces valeurs ont été par la suite ajustées au fur et à mesure que l'expérience avec les analyses d'échantillons s'accumulait afin de réduire les proportions de faux positifs et négatifs. Pour l'étude de Zytковicz et ses collaborateurs [2001], la détermination des valeurs seuils a différé selon les métabolites. En effet, pour certains métabolites (phénylalanine, méthionine et leucine), les auteurs ont considéré pour l'analyse par la MS/MS des valeurs seuils proches de celles qui étaient utilisées avec les méthodes analytiques classiques de dépistage néonatal (essais bactériens ou HPLC). La valeur seuil du C8 considérée a été établie sur la base d'une révision de la littérature pertinente et de la consultation de résultats de laboratoires ayant publié les résultats de dépistage par la MS/MS. Pour d'autres marqueurs, les valeurs seuils ont été établies sur la base de distribution des taux de métabolites d'une population de 4000 nouveau-nés en fixant la proportion de faux positifs à 0,02 %. De plus, les valeurs seuils étaient révisées à la hausse si les proportions de faux positifs deviennent problématiques. Enfin, Feuchtbaum et ses collègues [2006b], dans leur étude pilote, ont appliqué une stratégie complexe pour la détermination des valeurs seuils qui inclut la consultation de la littérature et d'informations en provenance de laboratoires d'autres états ou de laboratoires privés utilisant déjà la MS/MS, l'évaluation de la distribution des taux de métabolites parmi 10 000 échantillons anonymes, la consultation d'un comité de spécialistes en maladies métaboliques et la réévaluation des valeurs seuils préliminaires suite à l'identification de faux positifs, de faux négatifs et d'enfants dont l'atteinte d'une EIM a été confirmée.

Quatre études ont indiqué les valeurs seuils spécifiques utilisées pour chaque métabolite ou ratio de métabolites dosés par la MS/MS [Frazier *et al.*, 2006; Schulze *et al.*, 2003a; Wilcken *et al.*, 2003; Zytковicz *et al.*, 2001]. Ces valeurs varient souvent entre les études pour une même maladie. De plus, les marqueurs métaboliques utilisés pour chacune des maladies ainsi que les procédures suivies pour la classification des résultats obtenus par la MS/MS ont largement varié. Par exemple, Frazier et ses collaborateurs [2006] ont, pour la majorité des métabolites, utilisé deux valeurs seuils, une valeur qualifiée de «limite» et l'autre de «diagnostique»⁵². Les nouveau-nés étaient alors référés pour une confirmation diagnostique si deux tests, c.-à-d. le premier dosage et la reprise sur le même échantillon, dépassaient la valeur seuil limite pour au moins un marqueur métabolique ou si un des deux résultats dépassait la valeur seuil diagnostique. Cette démarche a été instaurée parce que les prix des tests de confirmation diagnostique sont élevés en Caroline du Nord, alors que la reprise du test MS/MS pour les fins du dépistage néonatal est gratuite. Shigematsu et ses collaborateurs [2002] n'ont précisé que deux valeurs seuils, celle du ratio C3/C2 ($>0,25$) utilisée pour le dépistage de la PA et de la MMA et celle de C8 ($>0,3\text{nmol/l}$) utilisée pour le dépistage du MCADD. Quant à Feuchtbaum et ses collègues [2006b], ils n'ont précisé aucune valeur seuil mais ont inclus dans les procédures de classification des résultats MS/MS une révision systématique de tous les profils métaboliques des nouveau-nés ayant eu un test MS/MS positif par un biochimiste. Celui-ci ne référerait les nouveau-nés pour des tests de confirmation diagnostique que devant un profil métabolique jugé cliniquement significatif. Par contre, les taux modérément élevés de métabolites, ceux jugés non significatifs du point de vue clinique ou ceux indiquant des cas d'hypermétabolisme étaient reclassifiés afin de réduire la proportion de faux positifs. Les auteurs n'ont toutefois pas clairement indiqué quels profils métaboliques et quelles maladies ont été considérés comme bénins. Les marqueurs métaboliques et valeurs seuils spécifiques

52. Il est à noter que pour les métabolites suggérant un diagnostic de GA1 et les acylcarnitines à chaînes moyennes et longues une seule valeur seuil a été utilisée.

utilisés pour le dépistage sélectif de la PCU, la TH1 et le MCADD sont indiqués dans les tableaux 19, 20 et 21, respectivement.

Quatre études [Frazier *et al.*, 2006; Schulze *et al.*, 2003a; Wilcken *et al.*, 2003; Zytковicz *et al.*, 2001] ont indiqué des informations sur les tests utilisés pour confirmer le diagnostic d'une EIM suspectée. Seuls Schulze et ses collaborateurs [2003a] ont clairement indiqué le(s) test(s) diagnostique(s) pour chacune des maladies alors que les autres études se sont contentées de décrire ces tests de façon globale pour les groupes de EIM des acides aminés, acides organiques et acides gras [Frazier *et al.*, 2006] ou pour toutes EIM confondues [Wilcken *et al.*, 2003; Zytковicz *et al.*, 2001]. La démarche diagnostique comporte généralement une répétition de l'analyse MS/MS sur échantillons de sang séché [Frazier *et al.*, 2006; Schulze *et al.*, 2003a; Zytковicz *et al.*, 2001], un profil plasmatique d'acides aminés et d'acylcarnitines [Frazier *et al.*, 2006; Schulze *et al.*, 2003a; Wilcken *et al.*, 2003; Zytковicz *et al.*, 2001], le dosage urinaire des acides organiques [Frazier *et al.*, 2006; Schulze *et al.*, 2003a; Wilcken *et al.*, 2003; Zytковicz *et al.*, 2001] et (ou) d'acides aminés [Wilcken *et al.*, 2003], une analyse de l'ADN à la recherche de mutations, surtout pour le MCADD [Frazier *et al.*, 2006; Schulze *et al.*, 2003a; Wilcken *et al.*, 2003; Zytковicz *et al.*, 2001] et une évaluation de l'activité de l'enzyme déficiente [Frazier *et al.*, 2006; Schulze *et al.*, 2003a; Wilcken *et al.*, 2003]. Pour certaines des EIM dépistées, Schulze et ses collaborateurs [2003a] ont également pris en considération l'évolution des patients qui avaient un test MS/MS positif. Ce suivi clinique s'est échelonné sur une période variant de 0,1 à 38 mois avec une moyenne de 13,5 mois, et était assorti d'une réévaluation diagnostique après 12 mois de suivi.

Dans toutes les études, les tests de confirmation diagnostique n'ont été réalisés que pour les patients qui avaient un test MS/MS positif. Toutefois, Schulze et ses collaborateurs [2003a] mentionnent avoir adressé, jusqu'à la date de publication de l'étude, des questionnaires mensuels à tous les hôpitaux pédiatriques et centres métaboliques d'Allemagne afin de vérifier si un cas d'EIM n'avait pas été manqué par le programme de dépistage néonatal au cours de leur étude. De même, Feuchtbaum et ses collègues [2006] ont tenté de vérifier leurs proportions de faux négatifs en collaborant avec le coroner de la Californie qui a repéré tous cas de nouveau-né décédé de cause inconnue durant la période de leur étude. Les auteurs mentionnent que le diagnostic d'EIM n'a été retenu chez aucun des 16 cas repérés par le coroner. Aucune des quatre autres études ne fait état de tels efforts pour déceler des faux négatifs potentiels [Frazier *et al.*, 2006; Wilcken *et al.*, 2003; Shigematsu *et al.*, 2002; Zytковicz *et al.*, 2001].

Seules deux études ont inclu des données sur le nombre de sujets perdus de vue ou dont la confirmation diagnostique n'était pas formelle suite à un test MS/MS positif [Feuchtbaum *et al.*, 2006b; Schulze *et al.*, 2003a]. Par contre, aucune étude n'a mentionné des circonstances où les résultats du test MS/MS étaient non concluants et une seule étude a indiqué que les tests par la MS/MS ont dû être répétés à cause de certaines caractéristiques des nouveau-nés. En effet, Schulze et ses collaborateurs [2003a] ont précisé que les mêmes protocoles de prélèvement et d'analyse des échantillons sanguins ont été utilisés pour tous les sujets de l'étude mais que ces analyses ont été systématiquement répétées au 14^e jour de vie pour les nouveau-nés prématurés (un groupe ayant représenté 1 % de leur population d'étude). Bien que Zytковicz et ses collègues [2001] mentionnent que la politique préconisée par leur laboratoire est de répéter les analyses MS/MS pour des populations de nouveau-nés en soins intensifs toutes les deux semaines et quand ils quittent cette unité, il n'est pas clair si cette politique a été appliquée pour les fins spécifiques de leur étude dont la population a compté 5 % de nouveau-nés en soins intensifs ou ayant un faible poids à la naissance.

Enfin, soulignons que quelques auteurs renvoient à d'autres références pour la description du protocole analytique, de sorte que les données présentées à cet égard pour Wilcken et ses collaborateurs [2003] et Shigematsu⁵³ et ses collègues [2002] sont à interpréter avec davantage de précautions.

6.2.2.2 Description des études propres à la PCU

Deux des études retenues se sont penchées sur la performance de la MS/MS pour le dépistage néonatal sélectif de la PCU dont une américaine [Chace *et al.*, 1998] et une allemande [Ceglarek *et al.*, 2002] (tableau 15). Les deux plans de recherche reposent sur l'analyse rétrospective par la MS/MS d'échantillons de sang séché précédemment analysés par fluorométrie pour le dépistage néonatal de la PCU et visent donc à comparer la performance des deux tests. Chace et ses collaborateurs [1998] précisent que les échantillons sélectionnés pour l'étude avaient été recueillis chez des nouveau-nés de moins de 24h de vie, dans le cadre du *California Newborn Screening Program*, et entreposés pendant 4-6 ans (depuis 1992 et 1994) à -20°C. L'analyse de ces échantillons a été réalisée à l'insu des résultats obtenus par fluorométrie au *Mass Spectrometry Facility, Duke University Medical Center*. Par contre, Ceglarek et ses collègues [2002] ne fournissent pas d'informations sur l'origine des échantillons testés, leur préservation et leur analyse. Par ailleurs, les auteurs des deux études ne précisent pas la période à laquelle leurs recherches ont été réalisées, la méthode de sélection de la population, les critères d'éligibilité, les caractéristiques de la population (ethnicité, âge gestationnel et poids et état de santé à la naissance), et le nombre total d'échantillons éligibles pour analyse.

Le tableau 17 décrit les paramètres analytiques des deux études, dont les prélèvements sanguins, les étapes de l'extraction et de la butylation, ainsi que les divers types d'appareil et de mode d'analyse MS/MS utilisés. Pour les méthodes propres au prélèvement sanguin, la comparaison entre les deux études est très limitée vu le peu d'informations disponibles dans l'étude de Ceglarek et ses collègues [2002]. On note toutefois une différence en ce qui concerne l'âge au prélèvement et le diamètre du médaillon de sang poinçonné.

Les deux études ont généralement utilisé les mêmes méthodes de préparation des échantillons sanguins, en incluant en particulier une étape de butylation, et le même type de standard interne (tableau 17). Les seules différences majeures à noter dans les procédures d'extraction et de butylation ont trait à la méthode d'élimination des solvants en excès (évaporation *versus* lyophilisation) et au type de solution de reconstitution utilisée à la fin de la butylation. Par ailleurs, les deux études n'ont pas employé le même type d'appareil MS/MS ni le même type d'ionisation⁵⁴.

Comme marqueurs métaboliques, les deux études ont eu recours au dosage de la phénylalanine pour l'analyse par fluorométrie et au ratio phénylalanine/tyrosine en plus du dosage de la phénylalanine pour l'analyse par la MS/MS. L'étude américaine s'est fondée sur une valeur seuil de phénylalanine de 258 $\mu\text{mol/L}$ (4,3mg/dl) pour l'analyse par fluorométrie et sur une concentration de phénylalanine $>180 \mu\text{mol/L}$ (3,0 mg/dl) et un ratio phénylalanine/tyrosine $> 2,5$ pour l'analyse par la MS/MS [Chace *et al.*, 1998]. Les valeurs seuils pour cette dernière analyse avaient été déterminées dans une précédente étude que les mêmes auteurs ont réalisée en utilisant des échantillons de

53. Dans ce cas, il s'agit plus particulièrement des étapes de l'extraction et de la butylation, ainsi que du mode analytique MS/MS.

54. Toutefois, le dosage de la concentration de la phénylalanine et de la tyrosine est basé sur le même mode d'analyse, soit la perte d'un fragment neutre de 102 Da.

sang séché de nouveau-nés sains âgés de plus de 24h, contrairement à la population de l'étude présentée ici. Pour sa part, l'étude allemande a utilisé une valeur seuil de phénylalanine >120 µmol/L pour les analyses par la MS/MS et par fluorométrie, et des valeurs seuils de tyrosine >350 µmol/L et un ratio phénylalanine/tyrosine >2 pour l'analyse par la MS/MS [Ceglarek *et al.*, 2002]. Les méthodes de détermination de ces valeurs seuils n'ont pas été précisées. Enfin, les procédures de confirmation diagnostique, détaillées uniquement dans l'étude de Chace et ses collaborateurs [1998], comportent une répétition du test de fluorométrie et la consultation d'un spécialiste en maladies métaboliques.

Bien que non précisée explicitement par les auteurs, l'éventualité de résultats non concluants pour les tests réalisés par la MS/MS n'a vraisemblablement pas constitué un enjeu dans les deux études puisque les résultats de ces tests sont fournis pour la totalité des échantillons étudiés.

Soulignons qu'à l'exception des informations concernant l'âge au prélèvement, la préservation des échantillons, les valeurs seuils et les tests de confirmation diagnostiques, les autres données analytiques pour l'étude de Chace et ses collaborateurs [1998] ont été extraites d'une référence à laquelle les auteurs renvoient et sont donc à interpréter avec réserve.

6.2.2.3 Description des études propres à la TH1

Une seule étude allemande porte exclusivement sur la TH1 [Sander *et al.*, 2006] (tableau 15). Les auteurs avaient pour but de valider la méthode d'analyse de la succinylacétone par la MS/MS pour le dépistage néonatal de la TH1, qui a été décrite par Allard et ses collègues [2004] (voir chapitre précédent). Durant une période de 16 semaines, Sander et ses collaborateurs [2006] ont sélectionné prospectivement des échantillons de sang séché résiduels, ayant été préalablement utilisés pour les fins du programme de dépistage néonatal routinier à Hanovre. De plus, les auteurs ont analysé rétrospectivement deux échantillons de sang séché (préservés pour une durée de sept et 11 mois, respectivement) appartenant à deux patients dont le diagnostic de TH1 avait été confirmé, ainsi que les échantillons sanguins appartenant aux parents de l'un d'entre eux. Les caractéristiques de la population (ethnicité, âge gestationnel et poids à la naissance) ne sont généralement décrites que pour les patients atteints de la TH1. Les prélèvements sanguins ont été réalisés entre 32 et 72 heures de vie sur des médaillons de 3,2 mm de diamètre de papier filtre S&S 903 (tableau 17). Les auteurs ont précisé un temps de transport moyen de 2,3 jours (55,2 heures) pour l'acheminement des prélèvements au laboratoire de dépistage néonatal. Les échantillons de sang séché résiduels avaient déjà subi une étape d'extraction et de butylation pour les fins du dosage des acides aminés et acylcarnitines dans le cadre du programme de dépistage néonatal routinier. Pour les fins spécifiques du dosage de la succinylacétone, une étape d'extraction supplémentaire à base d'hydrazine a été utilisée (tableau 17). Vu la non disponibilité d'un standard interne spécifique à la succinylacétone au moment de l'étude (celui-ci est actuellement disponible), les auteurs ont utilisé de l'acide 5,7-dioxooctanoïque. L'analyse par la MS/MS a été réalisée sur quatre appareils différents en mode ion positif selon un protocole MRM ciblant les m/z spécifiques à la succinylacétone et au standard interne utilisé (tableau 17). La valeur seuil utilisée pour le dosage de la succinylacétone était 10 µmol/l. Cette valeur a été choisie parce que 99,6 % des nouveau-nés inclus dans l'étude avaient une concentration de succinylacétone ≤ 5 µmol/l et que seuls les deux patients pour lesquels le diagnostic de TH1 a été par la suite confirmé avaient un taux de succinylacétone > 10 µmol/l. La confirmation diagnostique, réalisée uniquement pour les

patients dont le test par la MS/MS était positif, s'est basée sur la présence de symptômes cliniques, le dosage de la tyrosinémie, l'évaluation de la fonction hépatique (phosphatase alcaline, transaminases, ammoniacque, facteurs de la coagulation) et sur le dosage urinaire de la succinylacétone et des métabolites de la tyrosine. Enfin, les auteurs ne mentionnent pas de cas de sujets perdus de vue ou de résultats de tests par la MS/MS non concluants.

6.2.2.4 Description des études propres au MCADD

Quatre études, dont deux américaines [Andresen *et al.*, 2001; Chace *et al.*, 1997], une australienne [Carpenter *et al.*, 2001] et une britannique [Pourfarzam *et al.*, 2001], présentent des données sur la performance de la MS/MS pour le dépistage néonatal sélectif du MCADD (tableau 15). L'étude de cette performance était le but premier des études australienne et britannique mais seulement un objectif parmi d'autres pour les deux études américaines. En effet, Chace et ses collaborateurs [1997] visaient également la validation analytique du protocole d'analyse des acylcarnitines par la MS/MS et la comparaison du profil métabolique et du génotype entre un groupe de nouveau-nés et un groupe d'enfants plus âgés atteints de MCADD. De leur côté, Andresen et ses collègues [2001] avaient pour but principal d'étudier le spectre des mutations chez des patients atteints de MCADD identifiés par la MS/MS et d'établir une éventuelle corrélation entre le génotype de ces patients et leur profil métabolique. L'étude britannique [Pourfarzam *et al.*, 2001] s'est basée exclusivement sur une analyse rétrospective d'échantillons de sang séché préservés alors que les trois autres ont inclu des cohortes de nouveau-nés sélectionnées prospectivement. Toutefois, Carpenter et ses collaborateurs [2001] ont également analysé rétrospectivement 13 échantillons de sang séché archivés, soit tous les échantillons de ce type appartenant à des patients atteints de MCADD disponibles lors de cette étude. Aucune des quatre études n'a clairement décrit les méthodes de sélection de la population, les critères d'éligibilité ou les caractéristiques des populations à l'étude, si ce n'est que Pourfarzam et ses collègues [2001] ont indiqué l'âge gestationnel des nouveau-nés ayant eu un test positif par la MS/MS. Seuls Carpenter et ses collaborateurs [2001] ont mentionné le pourcentage de couverture (>99 %) par rapport au nombre total de naissances dans la région (tableau 15).

L'analyse par la MS/MS a été réalisée sur des échantillons de sang séché dans les quatre études. Les méthodologies d'analyse étaient en général identiques dans les deux études américaines [Andresen *et al.*, 2001; Chace *et al.*, 1997], quelque peu différentes dans l'étude australienne [Carpenter *et al.*, 2001] et souvent non précisées dans l'étude britannique [Pourfarzam *et al.*, 2001] (tableau 17). En effet, l'âge au prélèvement de ces échantillons était le même (< 72h) pour les deux études américaines, a fluctué quelque peu au sein des deux populations de l'étude australienne (tableau 17) et n'a pas été précisé pour l'étude britannique. Les deux études américaines et l'étude australienne ont utilisé le même type de papier filtre mais le diamètre du médaillon sanguin était plus petit dans cette dernière étude et les deux études américaines étaient les seules à avoir indiqué la quantité de sang total utilisée pour l'analyse (tableau 17). Pourfarzam et ses collègues [2001] n'ont pas précisé ces facteurs. Ils ont par contre indiqué la durée et la température de préservation des échantillons de sang séché (tableau 17) et ont étudié l'effet de cette préservation sur la stabilité des métabolites⁵⁵. Des méthodes d'extraction et de butylation similaires ont été utilisées dans les quatre études, si ce n'est d'une durée d'extraction plus longue et d'une température de butylation moins élevée dans l'étude de Carpenter

55. Ils ont alors noté une perte de 15 % et 17 % pour C8 et C6, respectivement, au bout de 4.5 ans. Par contre, ces auteurs ne précisent pas si ces données ont été prises en considération pour la détermination des valeurs seuils ou l'interprétation des résultats obtenus par la MS/MS.

et ses collaborateurs [2001] et de l'utilisation d'un mélange de méthanol et glycerol comme solution de reconstitution dans les deux études américaines contre un mélange d'eau et d'acétonitrile dans les études australienne et britannique. Seules les deux études américaines ont eu recours aux mêmes standards internes. Il est également à noter que, pour la quantification de C6 et C10, les auteurs utilisent en général le standard interne propre à C8 puisque ceux spécifiques aux 2 autres métabolites ne sont pas disponibles.

L'appareil et le protocole de MS/MS sont présentés dans le tableau 17. Notons un type d'ionisation basé sur la dilution isotopique pour les deux études américaines, sur ESI pour l'étude britannique et sur un type non précisé pour l'étude australienne. Cependant, le mode d'analyse des acylcarnitines était le même pour les quatre études.

Les marqueurs métaboliques et les valeurs seuils ainsi que les protocoles de confirmation diagnostique ont différé entre les quatre études. Tout d'abord, dans l'étude de Chace et ses collaborateurs [1997], les marqueurs métaboliques utilisés ne sont pas clairement indiqués⁵⁶. La détermination de valeurs seuils s'est basée sur l'analyse d'échantillons de sang séché d'un groupe de 113 nouveau-nés sains. La confirmation diagnostique s'est basée sur la détection de la mutation commune A985G. Dans l'autre étude américaine [Andresen *et al.*, 2001], les auteurs ont distingué deux niveaux de sévérité pour le profil métabolique : un profil modéré défini par une concentration de C8 entre 0,5-2,0 $\mu\text{mol/L}$ et un ratio C8/C10 entre 2-4 et un profil sévère défini par une concentration de C8 > 2,0 $\mu\text{mol/L}$ et un ratio C8/C10 > 4. Les auteurs précisent que le choix de ces valeurs se base sur l'analyse préalable d'échantillons de nouveau-nés sains prélevés plus de 24h après l'accouchement. Cependant, cette distinction de deux profils métaboliques était surtout destinée à examiner la corrélation entre le génotype et le profil métabolique et les auteurs n'ont pas fourni plus de précisions concernant les critères métaboliques utilisés pour classer les résultats obtenus par la MS/MS. Le protocole de confirmation diagnostique comprenait une répétition de l'analyse MS/MS, des analyses moléculaires à la recherche de la mutation A985G et un séquençage de la partie codante du gène si une seule ou aucune copie de cette mutation n'était retrouvée. Les auteurs ont également étudié l'évolution du profil métabolique et de la présentation clinique des patients.

Carpenter et ses collaborateurs [2001] ont uniquement utilisé un taux de C8 $\geq 1 \mu\text{mol/L}$ comme marqueur métabolique. La détermination de cette valeur seuil repose sur l'analyse prospective d'échantillons de sang séché de 24 000 nouveau-nés⁵⁷ dont aucun n'avait un C8 $\geq 1 \mu\text{mol/L}$. Plusieurs tests pouvaient contribuer à confirmer le diagnostic, incluant la répétition de l'analyse sur sang séché en duplicata sur le même échantillon si C8 $\geq 0,8 \mu\text{mol/L}$ et sur un second échantillon de sang séché si C8 $\geq 1 \mu\text{mol/L}$, l'analyse de l'ADN à la recherche de la mutation A985G, l'analyse des taux plasmatiques de C6, C8 et C10:1, le dosage urinaire d'acides organiques, le dosage de l'activité enzymatique de la MCAD, le dosage des taux d'oxydation des acides gras dans des fibroblastes cutanés en culture, et l'étude par la MS/MS de l'accumulation d'acylcarnitines dans des fibroblastes en culture après une incubation de 72h en présence de palmitate et de carnitine. Les auteurs ont précisé que le diagnostic de MCADD était retenu si un ou plusieurs des critères suivants étaient présents : homozygotie pour la mutation A985G; élévation de l'hexanoylglycine et de la suberylglycine dans les urines; élévation de l'hexanoylcarnitine, de l'octanoylcarnitine ou de la decenoylcarnitine dans le plasma; étude du taux de l'oxydation des acides gras dans les fibroblastes montrant

56. Il est à noter que ces auteurs discutent néanmoins de valeurs seuils pour 3 marqueurs métaboliques incluant C8 (> 0,3 $\mu\text{mol/L}$), C8/C10 (> 2) et C8/C2 (> 0,1) sans statuer clairement sur leur utilisation.

57. 99,2 % d'entre eux avaient une concentration de C8 inférieure à 0,3 $\mu\text{mol/L}$ et les autres une concentration de C8 comprise entre 0,3 et 0,7 $\mu\text{mol/L}$.

une réduction de l'oxydation du myristate et un ratio de l'oxydation oleate/myristate > 1,3; accumulation d'acylcarnitines à chaînes moyennes dans la culture de fibroblastes avec une octanoylcarnitine supérieure à 1,1 nmol/mg protéine/72h.

Enfin, Pourfarzam et ses collaborateurs [2001] utilisent pour les fins de leur étude la combinaison de deux marqueurs, C8 et C8/C6, pour classer les résultats MS/MS. Les valeurs seuils ($C8 > 0,3 \mu\text{mol/L}$ et $C8/C6 > 4,0$) ont été établies sur la base de l'étude de 18 nouveau-nés atteints de MCADD. Pour la confirmation diagnostique, les auteurs ont réalisé une analyse de l'ADN à la recherche de la mutation A985G, des dosages sanguins d'acylcarnitines et de carnitine totale et libre, des dosages urinaires des acides organiques et, pour un patient hétérozygote pour la mutation A985G, une étude de l'oxydation des acides gras sur culture de fibroblastes.

Les auteurs des quatre études ne mentionnent pas de patients perdus de vue ou de résultats non concluants du test MS/MS. Toutefois, Andresen et ses collègues [2001] précisent que trois des patients ayant eu un test MS/MS positif n'ont pu avoir de confirmation diagnostique formelle.

Caractéristiques générales des études retenues sur la performance de la MS/MS pour le dépistage néonatal des erreurs innées du métabolisme						
EIM	AUTEURS, ANNÉE	PAYS	PÉRIODE D'ÉTUDE	PROGRAMME DE DÉPISTAGE NÉONATAL	POPULATION*	PLAN D'ÉTUDE
Groupes	Zytkovicz <i>et al.</i> , 2001	Nouvelle-Angleterre, États-Unis	1999-2001	<i>New England Newborn Screening Program</i> , University of Massachusetts Medical School	Nouveau-nés nés au Massachusetts ainsi que certains nés dans le Maine, le New Hampshire, le Vermont et Rhode Island	Cohorte prospective
	Shigematsu <i>et al.</i> , 2002	Japon	Non précisé	Non précisé	Non précisé	Étude pilote
	Wilcken <i>et al.</i> , 2003	Australie	1998-2002	<i>New South Wales Newborn Screening Program</i>	> 99 % des nouveau-nés nés en Nouvelle-Galles du Sud et sur le Territoire de la capitale australienne entre 1998 et 2002	Cohorte prospective
	Schulze <i>et al.</i> , 2003a	Allemagne	1998-2001	Non précisé	Nouveau-nés nés au Baden-Württemberg entre avril 1998 et septembre 2001	Cohorte prospective
	Feuchtbau <i>et al.</i> , 2006b	Californie, États-Unis	2002-2003	Genetic Disease Branch, California Department of Health Services, Genetic Disease Laboratory	47 % des nouveau-nés nés en Californie entre janvier 2002 et juin 2003	Cohorte prospective
	Frazier <i>et al.</i> , 2006 [†]	Caroline du Nord, États-Unis	2003-2004	<i>North Carolina's Tandem Mass Spectrometry Newborn Screening Program</i>	Nouveau-nés nés dans l'État de la Caroline du Nord entre 2003-2004	Cohorte prospective
PCU	Chace <i>et al.</i> , 1998	Californie, États-Unis	Non précisé	<i>California Newborn Screening Program</i>	Échantillons préservés depuis 1992-1994 testés originalement par fluorométrie avant 24 h de vie	Analyse rétrospective d'ESS archivés
	Ceglarek <i>et al.</i> , 2002	Allemagne	Non précisé	Non précisé	Non précisé	Analyse rétrospective d'ESS

TABLEAU 15

Caractéristiques générales des études retenues sur la performance de la MS/MS pour le dépistage néonatal des erreurs innées du métabolisme (suite)

EIM	AUTEURS, ANNÉE	PAYS	PÉRIODE D'ÉTUDE	PROGRAMME DE DÉPISTAGE NÉONATAL	POPULATION*	PLAN D'ÉTUDE
TH1	Sander <i>et al.</i> , 2006	Allemagne	Non précisé	Laboratoire de dépistage néonatal, Hanovre	ESS résiduels ayant déjà été utilisés pour les fins du programme de dépistage néonatal routinier	Cohorte prospective
MCADD	Chace <i>et al.</i> , 1997	Pennsylvanie, États-Unis	1992-1997	<i>Supplemental Newborn Screening Program</i> , Neo Gen Screening, Pennsylvanie	16 500 ESS obtenus du North Carolina Division of Laboratory Services Newborn Screening Program entre 1993-1995 267 303 ESS provenant de Neo Gen Screening, Pennsylvanie	Cohorte prospective
	Andresen <i>et al.</i> , 2001		1992-2001	Programme non précisé, États-Unis	Nouveau-nés de Pennsylvanie, Ohio, New Jersey, Illinois, Floride, Caroline du Nord	Cohorte prospective
	Carpenter <i>et al.</i> , 2001	Australie	1998-2001	<i>New South Wales Newborn Screening Programme</i>	> 99 % des nouveau-nés nés en Nouvelle-Galles du Sud et dans le Territoire de la capitale australienne entre avril 1998 et mars 2001 13 nouveau-nés atteints de MCADD nés entre janvier 1981 et juin 1997	- Cohorte prospective - Analyse rétrospective d'ESS archivés
	Pourfarzam <i>et al.</i> , 2001	Royaume-Uni	Non précisé	Northern Region of the National Health Service	Nouveau-nés nés entre le 1 ^{er} janvier 1991 et le 20 juillet 1993 dans la région du Nord du National Health Service du Royaume-Uni	Cohorte rétrospective

Abbréviations : MS/MS : spectrométrie de masse en tandem; EIM : erreurs innées du métabolisme; ESS : échantillons sanguins séchés; PCU : phénylcétonurie, TH1: tyrosinémie héréditaire de type I; MCADD : *Medium Chain Acyl-CoA Dehydrogenase Deficiency*.

* Seules les populations d'étude sur lesquelles s'est basé le calcul des critères de performance de la MS/MS sont décrites.

† Il s'agit d'une étude de huit ans (1997-2005), mais qui présente des données sur la performance de la MS/MS pour le dépistage néonatal des erreurs innées du métabolisme pour une année uniquement (2003-2004).

TABLEAU 16

Principaux paramètres analytiques des études publiant des données sur la performance de la MS/MS pour le dépistage néonatal de groupes d'erreurs innées du métabolisme							
	ZYTKOVICZ ET AL., 2001	SHIGEMATSU ET AL., 2002	WILCKEN ET AL., 2003	SCHULZE ET AL., 2003A	FEUCHTBAUM ET AL., 2006B	FRAZIER ET AL., 2006	
Prélèvement sanguin		ESS	ESS	ESS	ESS	ESS	
▪ Âge au prélèvement	1-3 j	5-6j (certains NN; autres NN :NP)	48-72h	médiane=5j; 97,5 % entre 3-7 j; 0,88 % < 3 ^e j; 1,65 % > 7 ^e j	NP	NP	▪ Recommandé ≥ 24h ▪ Moyenne=39h
▪ Durée d'alimentation	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP
▪ Type de papier de collecte	Schleicher & Schuell 903	NP	Schleicher & Schuell 903	Schleicher & Schuell 2992 jusqu'à 1999 et 903 après	NP	NP	Schleicher & Schuell 903
▪ Diamètre du médaillon	3,2mm	3,1mm	3mm	3 mm	3,2mm	3,2mm	3,2mm
▪ Durée de séchage	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP
▪ Transport des prélèvements : moyen, durée	NP	NP	NP	Moyen : Poste, durée : NP	Moyen : Poste, durée : NP	Moyen : Poste, durée : NP	Moyen : Poste, durée : NP
▪ Préservation : durée, θ°C, humidité	NP	Durée: NP, θ°C : réfrigérés/congelés, humidité : NP	NP	NP	NP	NP	NP
Extraction							
▪ Solution	Méthanol	Méthanol	Méthanol	Méthanol	Méthanol/eau (75:25)	Méthanol	Méthanol
▪ θ°C	NP	NP	NP	NP	NP	Ambiante	Ambiante
▪ Durée (min)	20	20	60	20	NP	30	30
▪ Retirement	Évaporation	Évaporation	Évaporation	Évaporation	NP	Évaporation	Évaporation
Butylation							
▪ Produit	HCl butanolique	HCl butanolique	HCl butanolique	HCl butanolique	HCl butanolique	HCl butanolique	HCl butanolique
▪ θ°C	65	65	60	65	60	60	60
▪ Durée (min)	15	15	15	15	NP	30	30
▪ Retirement	Évaporation	Évaporation	Évaporation	Évaporation	NP	Évaporation	Évaporation
▪ Solution de reconstitution	Acetonitrile/eau (80:20 v/v)	Acetonitrile (50 %)	Acetonitrile: eau (50 % v/v)	Acetonitrile/eau/ acide formique (50 :50 :0,025 par volume)	Acetonitrile/eau (75:25) contenant de l'acide acétique	Acetonitrile/eau (80:20 v/v)	Acetonitrile/eau (80:20 v/v)

TABLEAU 16

Principaux paramètres analytiques des études publiant des données sur la performance de la MS/MS pour le dépistage néonatal de groupes d'erreurs innées du métabolisme (suite)

	ZYTKOVICZ ET AL., 2001	SHIGEMATSU ET AL., 2002	WILCKEN ET AL., 2003	SCHULZE ET AL., 2003A	FEUCHTBAUM ET AL., 2006B	FRAZIER ET AL., 2006
Type standard interne	$[^2\text{H}_3]$ -Phe $[^2\text{H}_4]$ -Tyr $[^2\text{H}_3]$ C2 $[^2\text{H}_3]$ C8	$[^2\text{H}_3]$ -Phe $[^2\text{H}_2]$ -Tyr $[^2\text{H}_3]$ C2 $[^2\text{H}_3]$ C8	Standards internes stables isotopiquement marqués: Phe, tyrosine, C2, C8	$[^2\text{H}_3]$ -Phe $[^{13}\text{C}_6]$ -Tyr $[^2\text{H}_3]$ C2 $[^2\text{H}_3]$ C8	Standards internes stables isotopiquement marqués : acides aminés et acylcarnitines dosés	$[^2\text{H}_3]$ -Phe $[^2\text{H}_4]$ -Tyr $[^2\text{H}_3]$ C2 $[^2\text{H}_3]$ C8
Appareil MS/MS	Micromass Quattro LC triple-quadrupole tandem MS	Model TSQ7000 triple-stage mass spectrometer (ThermoQuest, Tokyo, Japan) equipped with a model LC10 HPLC system and a Model SIL-10ADVP autoinjector	Quattro II (Micromass Ltd, UK)	API 365 triple quadrupole (PE Sciex, Concord, Ontario, Canada) with an ion spray device	2 API 3000 systems (Applied Biosystems, Foster City, CA) and 2 MS ² 2000 systems (PerkinElmer Life Sciences, Shelton, CT)	Manchester UK/ Waters Corp Quattro LC tandem mass spectrometer
Type ionisation MS/MS	ESI	ESI	ESI	ESI	ESI	ESI
Mode ion MS/MS	Positif	Positif	Positif	Positif	Positif	Positif
Type scan MS/MS	- Ions précurseurs pour la carnitine libre ($m/z = 103$ Da) et autres acylcarnitines ($m/z = 85$ Da) - Perte de fragment neutre pour les acides aminés (neutre, $m/z = 102$ Da; ornithine et citrulline, $m/z = 119$ Da et arginine $m/z = 161$ Da)	- Acylcarnitines: ion parent de 85 Da - Phénylalanine, tyrosine : perte de fragment neutre de 102 Da	Non Précisé	- Acylcarnitines: ion parent de 85 Da - Phénylalanine, tyrosine : perte de fragment neutre de 102 Da	- Acylcarnitines: ion parent de 85 Da - Phénylalanine, tyrosine : perte de fragment neutre de 102 Da	- Acylcarnitines: ion parent de 85 Da - Phe, Tyr : perte de fragment neutre de 102 Da

Da : Dalton; ESI : Electrospray ionisation; ESS : échantillons de sang séché; h : heure; j : jour; Min : minute; MS/MS : spectrométrie de masse en tandem; m/z : masse/charge; NN : nouveau-né; NP : non précisé; Phe : phénylalanine; Tyr : tyrosine; V : volume

TABLEAU 17

Principaux paramètres analytiques des études publiant des données sur la performance de la MS/MS pour le dépistage néonatal de la PCU, de la TH1 et du MCADD							
	CHACE ET AL., 1998	CEGLAREK ET AL., 2002	SANDER ET AL., 2006	CHACE ET AL., 1997	ANDRESEN ET AL. 2001	CARPENTER ET AL., 2001	POURFARZAM ET AL., 2001
Prélèvements sanguins	ESS	ESS	ESS	ESS	ESS	ESS	ESS
▪ Âge au prélèvement	<24h en général et <12h pour 45 NN	≤6 ^e jour ou 3 ^e jour	32-72h	< 72h	< 72h	▪ Étude prospective : médiane=3j; 99 % des NN avant 6 ^e j; 1,9 % avant 48h ▪ Étude rétrospective : 4-6j pour 12 NN et 10j pour 1 NN	NP
▪ Durée d'alimentation	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP
▪ Type de papier de collecte	Schleicher & Schuell 903	NP	Schleicher & Schuell 903	Schleicher & Schuell 903	Schleicher & Schuell 903	Schleicher & Schuell 903	NP
▪ Diamètre du médaillon	6,35mm	3mm	3,2mm	2 de 4,8mm	2 de 4,8mm	3mm	NP
▪ Durée de séchage	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP
▪ Transport des prélèvements : moyen, durée	NP	NP	Moyen: NP, Durée : 55,2h	NP	NP	NP	NP
▪ Préservation : durée, θ°C, humidité	▪ Durée : 4-6 ans ▪ θ°C :-20°C	NP	NP	NP	NP	NP	▪ Durée ≤ 5 ans ▪ θ°C :4°C
Extraction							
▪ Solution	Méthanol	Méthanol	Acétonitrile/eau (80:20)	Méthanol	Méthanol	Méthanol	Méthanol
▪ θ°C	Ambiante	Ambiante	37	Ambiante	Ambiante	NP	NP
▪ Durée (min)	30	20	45	30	30	60	NP
▪ Retirement	Évaporation	Lyophilisation	NP	Évaporation	Évaporation	Évaporation	Évaporation

TABLEAU 17

Principaux paramètres analytiques des études publiant des données sur la performance de la MS/MS pour le dépistage néonatal de la PCU, de la TH1 et du MCADD (suite)							
	CHACE ET AL., 1998	CEGLAREK ET AL., 2002	SANDER ET AL., 2006	CHACE ET AL., 1997	ANDRESEN ET AL. 2001	CARPENTER ET AL., 2001	POURFARZAM ET AL., 2001
Butylation			NP				
▪ Produit	HCl butanolique	HCl butanolique	NA	HCl butanolique	HCl butanolique	HCl butanolique	HCl butanolique
▪ θ°C	65	65	NA	65	65	60	65
▪ Durée (min)	20	15	NA	15	15	15	15
▪ Retiement	Évaporation	Lyophilisation	NA	Évaporation	Évaporation	Évaporation	Évaporation
▪ Solution de reconstitution	Méthanol / Glycérol	50/50 v/v acetonitrile	NA	Méthanol / Glycérol	Méthanol / Glycérol	Acetonitrile / eau (50 % v/v)	Acetonitrile/eau (70 %)
Type standard interne	[² H ₃]-Phe [² H ₄]-Tyr	[² H ₃]-Phe [² H ₄]-Tyr	Acide 5,7 -dioxooctanoïque	[² H ₃] C2 [² H ₃] C8 (utilisée aussi pour C6 et C10)	[² H ₃] C2 [² H ₃] C8 (utilisée aussi pour C6 et C10)	Standard internes marqués isotopique- ment pour C2, C8, C16	[³ H ₉] C8
Appareil MS/MS	VG Quattro triple- quadrupole MS/MS	PE SCIEX APL 2000 triple- quadrupole MS/MS	4 appareils: MS/MS micro TM and Quattro LC TM ; Waters/ Micromass Inc	VG Quattro quadrupole tandem mass spectrometer	VG Quattro qua- drupole tandem mass spectrometer	Micromass Quattro II MS/MS	NP
Type ionisation MS/MS	Isotope Dilution Liquid Secon- dary Ion	ESI	ESI	Isotope Dilution Liquid Secondary Ion	Isotope Dilution Liquid Secondary Ion	ESI	ESI
Mode ion MS/MS	Positif	Positif	Positif	Positif	Positif	Positif	Positif
Type scan MS/MS	Perte de frag- ment neutre de 102 Da	Perte de frag- ment neutre de 102 Da	MRM pour : ▪ succinylacétone: 155,2Da→137,1; et 155,2 →109,1 ▪ SI :169,3 →151,2	▪ Scan ions produits : C8 ▪ Scan d'ions parents : autres acyl- carnitines	▪ Scan ions produits : C8 ▪ Scan d'ions parents : autres acylcarnitines	▪ Scan d'ions parents de 85 Da	▪ Scan d'ions parents de 85 Da

Da : Dalton; ESI : *Electrospray ionisation*; ESS: échantillons de sang séché; h: heure; j : jour; Min. : minute; MS/MS : spectrométrie de masse en tandem; NN: nouveau-né; NP : non précisé; Phe: phénylalanine; Tyr : tyrosine; V : volume

6.2.3.1 Performance de la MS/MS pour le dépistage néonatal de groupes d'EIM

Le Tableau 18 présente les résultats de performance de la MS/MS pour le dépistage néonatal de groupes de maladies. Le nombre d'échantillons de sang séché testés varie de 102 200 à 362 000. Au plan de l'analyse des résultats, nous avons considéré divers scénarios d'estimation des critères de performance pour les études ne présentant pas assez d'informations sur la classification des résultats de la MS/MS et sur l'issue de sujets perdus de vue ou dont la confirmation diagnostique n'était pas formelle. Par exemple, Schulze et ses collaborateurs [2003a] et Feuchtbaum et ses collègues [2006b] ont indiqué, respectivement, un total de 26⁵⁸ et 75⁵⁹ nouveau-nés dont le test MS/MS était positif mais pour lesquels la confirmation diagnostique n'a pas pu être établie formellement. Nous avons considéré pour le calcul des critères de performance de chacune de ces études, les deux scénarios extrêmes quant à la classification de ces sujets, en les comptant tantôt parmi les vrais positifs, tantôt parmi les faux positifs. Par ailleurs, pour l'étude de Zytkevich et ses collaborateurs [2001], le nombre total de nouveau-nés testés a varié entre les maladies et était de 257 000 pour la PCU, la leucinose et l'hyperméthioninémie, de 184 000 pour le MCADD⁶⁰ et de 164 000 pour la TH1 et d'autres EIM (ARG, ASS, ASL et toutes les EIM des acylcarnitines à part le MCADD). Ainsi, pour ne pas limiter le calcul des critères de performance à la valeur prédictive positive, nous avons distingué deux groupes d'EIM dans les résultats présentés au tableau 18.

Globalement, les résultats des différentes études concordent pour témoigner d'une spécificité (99,43 %-99,99 %) et d'une valeur prédictive négative (99,99 %-100 %) élevées pour la MS/MS (tableau 18). Par contre, la sensibilité (91,66 %-100 %) et la valeur prédictive positive (2,02 %-59,76 %) varient largement d'une étude à l'autre, les taux de rappel pour un second test se situant entre 0,03 % et 0,58% (tableau 18). Deux études ont suggéré une raison plausible pour la variation de leur taux de rappel. Tout d'abord, Zytkevich et ses collaborateurs [2001], ont indiqué que 50 % des nouveau-nés ayant eu un test MS/MS positif étaient hospitalisés en soins intensifs ou avaient un faible poids de naissance ce qui a majoré les proportions de faux positifs observées. D'un autre côté, Shigematsu et ses collègues [2002] mentionnent deux raisons spécifiques pouvant expliquer le taux de rappel plus élevé dans leur étude. D'une part, ces auteurs ont observé une proportion de faux positifs de 0,39 % pour le diagnostic de l'acidémie isovalérique (IVA) liée à la prise d'antibiotiques contenant de l'acide pivalique. D'autre part, ils précisent qu'ils ont délibérément adopté une valeur seuil assez basse (0,25) pour le ratio C3/C2, le marqueur métabolique utilisé pour le dépistage néonatal de la PA et de la MMA car, ailleurs, certains enfants atteints de MMA ont échappé au dépistage néonatal suite à l'utilisation d'une valeur seuil de 0,4 pour ce ratio. Une autre source de variation des taux de rappel entre les études est la différence dans les protocoles utilisés pour la classification des résultats de la MS/MS. En effet, certains auteurs se sont basés sur une seule série de valeurs seuils pour chaque maladie [Schulze

58. Parmi ceux-ci on compte 9 sujets perdus de vue et 17 sujets suspectés d'être atteints d'une EIM mais dont le diagnostic était difficile à établir, incluant la SCADD ainsi que les EIM s'accompagnant d'une élévation de la butyrylcarnitine, le déficit en 3-méthylcrotonyl-coA carboxylase, en holocarboxylase synthétase et en 3-hydroxy-3-méthylglutaryl-coA lyase.

59. Parmi ceux-ci, 36 ont décliné les tests de confirmation diagnostique, 29 ont été perdus de vue, 5 sont décédés et pour 5 autres, le diagnostic n'a pas pu être confirmé pour des raisons non précisées.

60. Cette maladie n'est pas considérée dans le calcul des critères de performance du tableau 18 mais seulement dans la section 6.2.3.4 traitant de la performance de la MS/MS pour le dépistage néonatal sélectif du MCADD et dans le tableau 21.

et al. 2003a; Wilcken *et al.*, 2003; Shigematsu *et al.*, 2002; Zytkevicz *et al.*, 2001] alors que d'autres ont considéré deux séries de valeurs seuils, soit limites et diagnostiques, [Frazier *et al.*, 2006], ou encore ont intégré au protocole de confirmation diagnostique l'évaluation du profil métabolique par un médecin biochimiste [Feuchtbaum *et al.*, 2006b].

Les faux négatifs indiqués dans les études ont généralement été diagnostiqués cliniquement suite à l'apparition de symptômes. Shigematsu et ses collaborateurs [2002] mentionnent le cas d'un nouveau-né atteint de MCADD qui a été manqué suite à une erreur d'interprétation et un prélèvement tardif réalisé au 5^e ou 6^e jour de vie. Or, le taux du métabolite C8 peut revenir à des valeurs normales à cet âge. Le groupe de sept faux négatifs dans l'étude de Wilcken et ses collaborateurs [2003] inclut deux nouveau-nés atteints de TH1 et cinq autres atteints, respectivement, de : hyperglycinémie sans acidose, déficit en 3-kétothiolase, déficit en glutaryl-CoA déshydrogénase, déficit en cobalamine C et VLCADD. Pour ces trois dernières EIM, les valeurs seuils ont été révisées à la baisse par la suite. Il est à noter que le taux de tyrosine mesuré pour un des nouveau-nés atteints de TH1 qui ont été manqués était de 226 $\mu\text{mol/l}$, soit nettement en deçà de la valeur seuil utilisée de 500 $\mu\text{mol/l}$. Schulze et ses collaborateurs [2003a] mentionnent quatre nouveau-nés atteints d'hyperphénylalaninémie manqués sans donner plus de précisions. Dans l'étude de Frazier et ses collègues [2006], six nouveau-nés atteints de, respectivement, GA1 (2 cas), MMA par déficience en cobalamine, déficit en βKT , MSUD intermittente et TH1, ont échappé au dépistage. Suite à la découverte d'un des deux nouveau-nés atteints de GA1 et de celui atteint de MMA, les valeurs seuils des métabolites correspondants ont été révisées à la baisse alors que le cas de l'enfant atteint de TH1 manqué a entraîné l'élimination de cette maladie de la liste des EIM candidates au dépistage néonatal et la MS/MS a été considérée comme un test non fiable pour dépister cette maladie. Par contre, aucune action n'a été prise à la suite de la découverte des autres patients manqués. Il est important de noter que les deux enfants manqués, atteints, respectivement de la GA1 et MMA, et qui ont entraîné la révision des valeurs seuils n'ont pas été inclus dans le calcul des critères de performance présentés dans le tableau 18. En effet, nous pensons qu'ils sont survenus avant 2003-2004, année au cours de laquelle les valeurs seuils ont été fixées pour le programme de dépistage néonatal de la Caroline du Nord et la seule année pour laquelle l'étude fournit des données permettant le calcul des critères de performance. Enfin, trois cas de faux négatifs ont été indiqués par Feuchtbaum et ses collaborateurs [2006b] correspondant à des enfants atteints, respectivement, de LCHADD, de MSUD et de VLCADD. Les auteurs précisent que, pour les deux premières maladies, les nouveau-nés n'auraient pas échappé au dépistage avec les valeurs seuils révisées qui sont actuellement utilisées en Californie. Par contre, l'enfant atteint de VLCADD avait été diagnostiqué durant la période prénatale et était déjà sous traitement lors du test de dépistage néonatal effectué par la MS/MS, d'où l'impossibilité de le dépister.

Résultats de la performance de la MS/MS pour le dépistage néonatal de groupes d'erreurs innées du métabolisme

	ZYTOKOVICZ ET AL., 2001*		SHIGEMATSU ET AL., 2002† N = 102 200	WILCKEN ET AL., 2003 N = 362 000	SCHULZE ET AL., 2003A* N = 250 000		FRAZIER ET AL., 2006§ N = 239 415			FEUCHTBAUM ET AL., 2006 N = 353 894			
	EIM pour lesquelles le nombre d'enfants testés = 257 000	EIM pour lesquelles le nombre d'enfants testés = 164 000			Scénario a	Scénario b	Scénario a	Scénario b	Scénario c	MS/MS Scénario a	MS/MS Scénario b	MS/MS + revue clinique Scénario c	MS/MS + revue clinique Scénario d
Prévalence (%)	0,008	0,006	0,01	0,03	0,04	0,05	0,02-0,03	0,02	0,02-0,03	0,02	0,1	0,02	0,04
Vrais positifs (n)	20	10	11	96	106	132	58	49	58	51	366	51	126
Faux positifs (n)	84	244	581	520	851	825	51	33	1108	650	335	410	335
Faux négatifs (n)	?	?	1	7	4	4	0-4	0-4	0-4	3	3	3	3
Vrais négatifs (n)	256 896	163 746	101 606	361 377	249 039	249 039	239 306 / 239 302	239 333 / 239 329	238 249 / 238 245	353 190	353 190	353 430	353 430
Sensibilité (%)	?	?	91,66	93,20	96,36	97,06	93,55-100	92,45-100	93,55-100	94,44	99,19	94,44	97,67
Spécificité (%)	99,97	99,85	99,43	99,86	99,66	99,67	99,98	99,99	99,54	99,82	99,90	99,88	99,90
Valeur prédictive positive (%)	19,23	3,94	2,02	15,58	11,08	13,79	53,21	59,76	4,98	7,28	52,21	11,06	27,33
Valeur prédictive négative (%)	?	?	99,99	99,99	99,99	99,99	99,99-100	99,99-100	99,99-100	99,99	99,99	99,99	99,99
Taux de rappel (%)	0,04	0,16	0,58	0,17	0,38	0,38	0,05	0,03	0,49	0,20	0,20	0,13	0,13

* Le nombre de nouveau-nés testés variait selon la maladie : il était de 257 000 pour la PCU, la leucine et l'hyperméthioninémie; de 164 000 pour toutes les autres erreurs innées du métabolisme des acides aminés et des acylcarnitines, sauf le MCADD; et de 184 000 pour le MCADD. Pour cette raison, les résultats sur le MCADD ne sont pas présentés dans ce tableau, mais uniquement dans la section 6.2.3.4 et le tableau 2.1, qui donnent les résultats de la performance de la MS/MS pour le dépistage sélectif de cette maladie. Pour les erreurs innées du métabolisme des acides aminés, ont été considérés comme positifs les nouveau-nés ayant eu une élévation du taux du métabolite principal et du ratio des métabolites utilisés comme marqueurs pour la maladie correspondante.

† L'article ne donne que le nombre de faux positifs et le taux de rappel, et c'est à partir de ce dernier taux que le nombre total de résultats positifs au test MS/MS a été estimé à 593 et que le calcul des critères de performance a été réalisé.

‡ 26 sujets pour lesquels un diagnostic a été soupçonné mais n'a pas été formellement établi (9 perdus de vue et 17 erreurs innées du métabolisme dont le diagnostic était difficile à établir) ont été considérés parmi les faux positifs dans le scénario (a) et parmi les vrais positifs dans le scénario (b).

§ Le scénario (a) considère comme positifs (vrais et faux positifs) les sujets ayant eu 2 tests $>$ à la valeur seuil limite ou 1 test $>$ à la valeur seuil diagnostique; le scénario (b) considère comme positifs les sujets ayant eu 1 test $>$ à la valeur seuil diagnostique; le scénario (c) considère comme positifs les sujets ayant eu un test $>$ à la valeur seuil limite ou diagnostique. Pour cette étude, les auteurs font état de quatre cas de faux négatifs sans préciser la période à laquelle cette observation a été réalisée, surtout par rapport à l'année 2003, année où les valeurs seuils ont été fixées et sur laquelle se basent les résultats de performance présentés dans le tableau. Pour cette raison, deux valeurs sont fournies pour le nombre de faux négatifs et de vrais négatifs et pour la sensibilité et la valeur prédictive négative. Il est à noter que les auteurs signalent également deux autres cas de faux négatifs, mais sur lesquels ils précisent clairement qu'ils ont été détectés avant la détermination finale des valeurs seuils, donc avant 2003, d'où leur exclusion du calcul des critères de performance.

|| Scénario (a) : 240 sujets non adressés pour des tests de confirmation diagnostique après la revue clinique et 75 cas adressés, mais pour qui un diagnostic final n'a pas été établi (refus du dépistage, perdus de vue, décès, etc.) sont considérés comme des faux positifs; scénario (b) : 240 sujets non adressés pour des tests de confirmation diagnostique après la revue clinique et les 75 cas adressés, mais pour qui un diagnostic final n'a pas été établi (refus du dépistage, perdus de vue, décès, etc.) sont considérés comme des vrais positifs; scénario (c) : les 75 cas adressés à des tests de confirmation diagnostique pour qui un diagnostic final n'a pas été établi (refus du dépistage, perdus de vue, décès, etc.) sont considérés comme des faux positifs; scénario (d) : les 75 cas adressés à des tests de confirmation diagnostique pour qui un diagnostic final n'a pas été établi (refus du dépistage, perdus de vue, décès, etc.) sont considérés comme des vrais positifs.

6.2.3.2 Performance de la MS/MS pour le dépistage sélectif de la PCU

Six études ont permis d'extraire des données sur la performance de la MS/MS pour le dépistage néonatal sélectif de la PCU ou de l'hyperphénylalaninémie, dont les deux études qui se sont intéressées spécifiquement à ces EIM en comparant les résultats obtenus par la MS/MS à ceux obtenus par fluorométrie [Ceglarek *et al.*, 2002; Chace *et al.*, 1998], et quatre études qui se sont penchées sur des groupes de maladies [Frazier *et al.*, 2006; Schulze *et al.*, 2003a; Wilcken *et al.*, 2003; Zytkevicz *et al.*, 2001]. Le tableau 19 présente les résultats de ces six études en spécifiant pour chacune le nombre de vrais positifs, de faux positifs, de vrais négatifs et de faux négatifs ainsi que les critères de performance extraits de l'article ou calculés selon le test utilisé, s'il y a lieu, et le ou les marqueurs métaboliques considérés. Rappelons que pour les études de Schulze et ses collaborateurs [2003] et de Frazier et ses collègues [2006], plusieurs scénarios de calcul ont été considérés. Il est également important de noter que la majorité des auteurs ont compté les nouveau-nés présentant une hyperphénylalaninémie bénigne dans les vrais positifs. Nous avons suivi cette façon de procéder afin d'assurer une homogénéité dans le traitement des résultats des différentes études. Nous discutons toutefois les limites de cette classification dans les conclusions. Enfin, mentionnons que Chace et ses collaborateurs [1998] avaient pour but d'évaluer la validité du ratio phénylalanine/tyrosine dans une population de nouveau-nés âgés de moins de 24h. Ainsi, cette étude a été réalisée sur un nombre restreint d'échantillons sélectionnés selon l'âge et les résultats à la fluorométrie.

Afin de faciliter l'interprétation des résultats, nous discuterons d'abord de la performance de la MS/MS pour le dépistage de la PCU en comparant les résultats des six études et, dans un second temps, nous traiterons des comparaisons entre la MS/MS et la fluorométrie.

a) Résultats de performance considérant la MS/MS uniquement :

Le nombre d'échantillons testés variait entre 203 et 362 000. Trois études [Ceglarek *et al.*, 2002; Zytkevicz *et al.*, 2001; Chace *et al.*, 1998] ont fourni les résultats séparément pour le marqueur métabolique phénylalanine et la combinaison de celui-ci avec le ratio phénylalanine/tyrosine, une étude n'a utilisé que le dosage de la phénylalanine [Wilcken *et al.*, 2003], alors que les deux autres n'ont considéré que l'association de ces deux marqueurs pour la classification des résultats de la MS/MS [Frazier *et al.*, 2006; Schulze *et al.*, 2003a]. Si on considère uniquement le taux de phénylalanine comme marqueur métabolique, les résultats des études concordent en montrant une sensibilité et une valeur prédictive négative parfaites (100 %) ainsi qu'une excellente spécificité (98,37-99,99 %) pour la MS/MS [Wilcken *et al.*, 2003; Ceglarek *et al.*, 2002; Zytkevicz *et al.*, 2001; Chace *et al.*, 1998]. Par contre, les résultats divergent considérablement pour ce qui est de la valeur prédictive positive (2,34-86,36) et du taux de rappel (0,03-10,84). Ces différences sont probablement liées, au moins en partie, à des variations dans la prévalence de la PCU, surtout pour ce qui est de l'étude de Chace et ses collaborateurs [1998], dans laquelle la prévalence est sans doute artificiellement élevée à cause du mode de sélection des nouveau-nés. Par ailleurs, des différences entre les valeurs seuils peuvent influencer sur la spécificité du test, dont une variation même minime entraîne des écarts considérables de la valeur prédictive positive, comme l'ont souligné Tran et ses collègues [2006].

La comparaison des résultats de la MS/MS basés sur le dosage de la phénylalanine avec ceux tenant aussi compte du ratio phénylalanine/tyrosine montre que ce dernier ratio réduit considérablement la proportion de faux positifs et améliore de

ce fait la spécificité du test, mais aussi, et surtout, la valeur prédictive positive et le taux de rappel (tableau 19). Plusieurs auteurs ont souligné l'utilité de ce ratio pour réduire la proportion de faux positifs dans le dépistage néonatal de la PCU [Frazier *et al.*, 2006; Chace et Kalas, 2005; Ceglarek *et al.*, 2002; Zytkevicz *et al.*, 2001; Chace *et al.*, 1998]. De plus, dans une analyse restreinte à neuf nouveau-nés atteints d'hyperphénylalaninémie et de 13 autres atteints de PCU, Ceglarek et ses collaborateurs [2002] ont montré que le ratio phénylalanine/tyrosine permet une discrimination totale entre ces deux entités cliniques. Toutefois, Frazier et ses collègues [2006] précisent qu'à peu près 20 % (nombre de sujets non précisé) des échantillons d'enfants recevant une alimentation parentérale avaient un taux élevé de phénylalanine ainsi qu'un ratio phénylalanine/tyrosine élevé, mais ceux-ci s'étaient normalisés au deuxième échantillon. Par contre, Zytkevicz et ses collaborateurs [2001] indiquent que chez des nouveau-nés ayant des taux transitoirement élevés de phénylalanine (de 139 à 254 $\mu\text{mol/L}$), le ratio phénylalanine/tyrosine était toujours en deçà de la valeur seuil de 1,5. De plus, ces auteurs ont remarqué que le ratio phénylalanine/tyrosine était > 5 et $> 1,5$ chez tous les enfants atteints de PCU et d'hyperphénylalaninémie, respectivement, aussi bien pour les tests initiaux que pour les reprises subséquentes. Même si ce ratio phénylalanine/tyrosine améliore la performance de la MS/MS, il faut néanmoins souligner la variabilité des résultats pour ce qui est de la valeur prédictive positive et du taux de rappel. En effet, les résultats se situent entre 10 % et 100 % pour la valeur prédictive positive, et entre 0,005 % et 9,85 % pour le taux de rappel. Si on exclut les cas particuliers constitués par deux études [Frazier *et al.*, 2006; Chace *et al.*, 1998], la valeur prédictive positive varie entre 10 et 33,53 %, et le taux de rappel entre 0,025 et 0,3 %. En effet, dans l'étude de Chace et ses collaborateurs [1998], l'âge des nouveau-nés était bien inférieur à l'âge au prélèvement dans la majorité des programmes de dépistage néonatal, et la valeur seuil de phénylalanine bien plus élevée que dans la majorité des autres études. Dans l'étude de Frazier et ses collègues [2006], les divers scénarios correspondent à des approches particulières de classification des résultats avec deux valeurs seuils, l'une limite et l'autre diagnostique.

b) Résultats de performance considérant la MS/MS *versus* la fluorométrie :

L'étude de Chace et ses collaborateurs [1998] a montré une corrélation élevée entre les résultats obtenus par fluorométrie et ceux obtenus par la MS/MS pour le dépistage néonatal de la PCU, avec un coefficient de Pearson de 0,817. Si l'on compare la performance de la MS/MS à celle de la fluorométrie sur la base du marqueur phénylalanine (tableau 19), les résultats des deux études concordent pour montrer que les deux tests classifient correctement les nouveau-nés atteints et que l'utilisation de la MS/MS n'apporte aucun gain sur le plan de la sensibilité, mais réduit le nombre de faux positifs et le taux de rappel. Toutefois, ces avantages sont beaucoup plus discrets dans l'étude de Ceglarek et ses collègues [2002] que dans celle de Chace et ses collaborateurs [1998]. Cette situation est possiblement liée à l'utilisation d'une valeur seuil de phénylalanine élevée et au recrutement de nouveau-nés âgés de moins de 24 h dans l'étude de Chace et ses collaborateurs [1998], alors que les taux de phénylalanine augmentent normalement avec l'âge.

TABLEAU 19

Résultats de la performance de la MS/MS pour le dépistage sélectif de la PCU

Référence	Chace et al., 1998 (n testés = 203)		Ceglarek et al., 2002 (n testés = 10 136)		Zytkowicz et al., 2001 (n testés = 257 000)		Wilcken et al., 2003 (n testés = 362 000)	Schulze et al., 2003a* (n testés = 250 000)	Frazier et al., 2006† (n testés = 239 415)		
Tests	Fluorométrie	MS/MS	Fluoro- métrie	MS/MS	MS/MS	MS/MS	MS/MS	MS/MS	MS/MS		
Marqueur métabolique et VS (μmol/L)	Phe > 258	Phe > 180	Phe > 180 et Phe/Tyr > 2,5	Phe > 180	Phe > 120	Phe > 120 et Phe/Tyr > 2	Phe > 150	Phe > 150 et Phe/Tyr > 1,7	Phe > 157 (VS limite) ou Phe > 250 (VS diagnostique) et Phe/Tyr > 3,0		
Scénarios de calcul									Scénario a	Scénario b	Scénario c
Prévalence (%)	9,4			0,03			0,007	0,01	0,02	0,03	0,005
Vrais positifs (n)	19	19	19	3	3	3	18	46	55	58	13
Faux positifs (n)	91	3	1	141	125	27	74	56	118	115	1
Faux négatifs (n)	0*	0*	0*	0*	0*	0*	?	0	4	4	0
Vrais négatifs (n)	93	181	183	9 992	10 008	10 106	256 908	361 898	249 823	249 823	239 401
Sensibilité (%)	100	100	100	100	100	100	?	100	93,22	93,55	100
Spécificité (%)	50,54	98,37	99,46	98,61	98,77	99,73	99,97	99,99	99,95	99,95	99,99
Valeur prédictive positive (%)	17,27	86,36	95,00	2,08	2,34	10,00	19,57	45,10	31,79	33,53	92,86
Valeur prédictive négative (%)	100	100	100	100	100	100	?	100	99,99	99,99	100
Taux de rappel (%)	54,19	10,84	9,85	1,42	1,26	0,30	0,04	0,03	0,07	0,07	0,01

n : nombre de sujets; MS/MS : spectrométrie de masse en tandem; PCU : Phénylcétonurie; Phe : phénylalanine; Tyr : tyrosine; VS : valeur seuil.

* Trois sujets pour qui le diagnostic n'a pu être confirmé ont été inclus dans les faux positifs dans le scénario (a) et dans les vrais positifs dans le scénario (b).

† Le scénario (a) considère comme positifs les sujets ayant deux tests > à la valeur seuil limite ou un test > à la valeur seuil diagnostique; le scénario (b) considère comme positifs les sujets ayant un test > à la valeur seuil diagnostique; et le scénario (c) considère comme positifs les sujets ayant un test > à la valeur seuil limite ou diagnostique.

‡ Nombre présumé.

6.2.3.3 Performance de la MS/MS pour le dépistage sélectif de la TH1

Quatre études ont permis d'extraire des données sur la performance de la MS/MS pour le dépistage néonatal sélectif de la TH1, dont une étude qui s'est intéressée spécifiquement au dépistage de cette maladie [Sander *et al.*, 2006] et trois qui se sont penchées sur des groupes d'erreurs innées du métabolisme [Schulze *et al.*, 2003a; Wilcken *et al.*, 2003; Zytkevicz *et al.*, 2001]. Le tableau 20 présente les résultats de ces études en spécifiant pour chacune le nombre de vrais positifs, de faux positifs, de vrais négatifs et de faux négatifs ainsi que les critères de performance extraits de l'article ou calculés selon le ou les marqueurs métaboliques considérés. Le nombre d'échantillons testés par MS/MS varie entre 61 344 et 362 000. Le marqueur métabolique sur lequel s'est basée la classification des résultats de la MS/MS était la tyrosine [Wilcken *et al.*, 2003], la tyrosine et le ratio tyrosine/phénylalanine [Zytkevicz *et al.*, 2001], la succinylacétone [Sander *et al.*, 2006] ou l'association de tyrosine et de succinylacétone [Schulze *et al.*, 2003a]. Le dosage de la succinylacétone était basé sur le test MS/MS dans l'étude de Sander et ses collaborateurs [2006], et sur un test spectrophotométrique pour le dosage de la gamma-aminolevulinate déhydratase dans l'étude de Schulze et ses collègues [2003a], qui ne précisent pas la valeur seuil utilisée pour ce dosage.

Notons que le nombre de vrais positifs était assez faible, sinon nul, témoignant d'une faible prévalence de la maladie dans les populations étudiées. De plus, hormis une exception [Sander *et al.*, 2006], les études avaient un nombre de faux positifs assez élevé, ce qui se traduit par une faible valeur prédictive positive, sans grandement affecter la spécificité (99,97-99,98 %). Enfin, les résultats de l'étude de Sander et ses collaborateurs [2006], la seule à avoir utilisé le dosage de la succinylacétone par la MS/MS, indiquent une spécificité et une valeur prédictive positive parfaites et révèlent le plus bas taux de rappel.

Sander et ses collaborateurs [2006] ont également obtenu des taux anormaux de succinylacétone, dosés rétrospectivement par la MS/MS sur deux échantillons appartenant à des patients dont la TH1 était confirmée. Chez les deux parents de l'un d'entre eux, par contre, le taux de succinylacétone était inférieur à 1 $\mu\text{mol/L}$, ce qui indique que le test MS/MS discrimine entre les homozygotes et les hétérozygotes. Enfin, Sander et ses collaborateurs [2006] indiquent également (sans présenter de données à l'appui) que les taux de succinylacétone ne sont pas corrélés avec les concentrations de tyrosine, ni avec l'âge gestationnel ou le poids à la naissance. Ils soulignent même que le dosage de la tyrosine à lui seul n'aurait permis de dépister aucun des patients de leur étude⁶¹. Feuchtbaum et ses collègues [2006b] n'ont dépisté aucun cas de TH1 dans les 353 894 nouveau-nés ayant eu un dosage de la tyrosine par la MS/MS. Même si cette observation pouvait s'expliquer par une faible prévalence de la maladie, l'éventualité de faux négatifs ne peut être complètement écartée. En Caroline du Nord, par exemple, la découverte qu'un patient atteint de TH1 a échappé au dépistage a engendré l'exclusion de cette maladie du programme de dépistage néonatal [Frazier *et al.*, 2006]. D'autres auteurs ont également souligné le manque de spécificité du dosage de la tyrosine par la MS/MS pour le dépistage néonatal de la TH1 [Comeau *et al.*, 2004].

61. Pour un des nouveau-nés, jugeant la tyrosinémie fort basse pour un cas de TH1 (54 $\mu\text{mol/l}$), les auteurs ont répété l'analyse jusqu'à quatre fois à partir d'autres médaillons sanguins prélevés sur le papier filtre original. Cependant, le taux de tyrosinémie était toujours bas variant entre 52-55 $\mu\text{mol/l}$. Ce n'est que lorsque l'analyse a été répétée sur un échantillon prélevé au 7e jour de vie (après l'instauration du traitement au NTBC) que la tyrosinémie a atteint les 280 $\mu\text{mol/l}$.

TABLEAU 20

Résultats de la performance de la MS/MS pour le dépistage sélectif de la TH1						
RÉFÉRENCE	ZYTEKOVICZ ET AL., 2001 (N = 164 000)		WILCKEN ET AL., 2003 (N = 362 000)	SCHULZE ET AL., 2003A* (N = 250 000)	SANDER ET AL., 2006 (N = 61 344)	
Marqueur métabolique et valeur seuil (μmol/l)	Tyr > 442	Tyr > 442 et Tyr/Phe > 6	Tyr > 500	Tyr > 200 et SAC positif		SAC > 10
				Scénario a	Scénario b	
Prévalence (%)	0	0	0,0006	0,0004	0,0008	0,003
Vrais positifs (n)	0	0	0	1	2	2
Faux positifs (n)	42	38	69	52	51	0
Faux négatifs (n)	?	?	2	0	0	0
Vrais négatifs (n)	163 958	163 962	361 929	249 947	249 947	61 342
Sensibilité (%)	?	?	0	100	100	100
Spécificité (%)	99,97	99,98	99,98	99,98	99,98	100
Valeur prédictive positive (%)	0	0	0	1,89	3,77	100
Valeur prédictive négative (%)	?	?	99,99	100	100	100
Taux de rappel (%)	0,03	0,02	0,02	0,02	0,02	0,003

n : nombre de sujets; MS/MS : Spectrométrie de masse en tandem; Phe : phénylalanine; SAC : succinylacétone; TH1 : Tyrosinémie héréditaire de type 1; Tyr : tyrosine.

* Un sujet perdu de vue après un résultat positif au test MS/MS est considéré parmi les faux positifs dans le scénario (a) et parmi les vrais positifs dans le scénario (b).

6.2.3.4 Performance de la MS/MS pour le dépistage sélectif du MCADD

Des données sur la performance de la MS/MS pour le dépistage néonatal sélectif du MCADD ont été extraites de neuf études, dont quatre qui se sont exclusivement intéressées à cette maladie [Andresen *et al.*, 2001; Carpenter *et al.*, 2001; Pourfarzam *et al.*, 2001; Chace *et al.*, 1997] et cinq autres qui se sont penchées sur des groupes d'erreurs innées du métabolisme [Feuchtbaum *et al.*, 2006b; Frazier *et al.*, 2006; Schulze *et al.*, 2003a; Wilcken *et al.*, 2003; Zytковicz *et al.*, 2001]. Le tableau 21 présente les résultats de ces études en spécifiant pour chacune le nombre de vrais positifs, de faux positifs, de vrais négatifs et de faux négatifs ainsi que les critères de performance extraits de l'article ou calculés selon le ou les marqueurs métaboliques considérés. L'octanoylcarnitine (C8) est toujours utilisé, avec différentes valeurs seuils, tantôt seul, tantôt en association avec d'autres acylcarnitines ou leurs ratios.

Le nombre d'échantillons testés variait entre 100 600 et 930 078. Les résultats des études indiquent que la spécificité (99,98-100 %), la sensibilité (100 %) et la valeur prédictive négative (100 %) de la MS/MS sont excellentes pour le dépistage néonatal du MCADD. Cependant, trois études n'ont pas fourni de données sur les deux derniers critères et ne permettent pas de les calculer. Par contre, dans l'étude rétrospective de Carpenter et ses collaborateurs [2001], 12 des 13 échantillons sanguins séchés archivés appartenant à des patients atteints de MCADD se sont avérés positifs par MS/MS (sensibilité de 92,31 %). Les auteurs mentionnent qu'aucun test d'acylcarnitines ou de ratio d'acylcarnitines n'aurait pu dépister le 13^e patient (homozygote pour A985G) parce qu'il avait développé une encéphalopathie au deuxième jour de vie entraînant une déplétion en carnitine.

Comme pour les autres maladies, il y avait une large variation entre les études pour les résultats sur la valeur prédictive positive (19,23-100 %), et ce, malgré des différences mineures sur le plan de la prévalence de la maladie entre les différentes études (0,004 %-0,008 %). Cette variation et celle des taux de rappel (0,004-0,028 %) pourraient être dues aux différents marqueurs métaboliques et valeurs seuils utilisés, dont l'influence sur les proportions de faux positifs et, par conséquent, sur la spécificité, a été discutée. La comparaison des études de Carpenter et ses collaborateurs [2001] et de Wilcken et ses collègues [2003] illustre l'effet indirect de l'utilisation de différentes valeurs seuils sur la valeur prédictive positive. En effet, alors que la population de la première étude est complètement incluse dans la seconde⁶², le nombre de faux positifs est différent, puisque les méthodes de classification des résultats du dépistage n'étaient pas les mêmes (tableau 21), ce qui a entraîné une variation notable dans la valeur prédictive positive. Bien que l'utilisation de ratios de métabolites, surtout C8/C6 et (ou) C8/C10, semble réduire le nombre de faux positifs et améliorer ainsi la valeur prédictive positive et le taux de rappel, ce constat ne vaut pas pour l'étude de Schulze et ses collègues [2003a]. Toutefois, cette étude n'indique pas clairement quelle association de métabolites ou quel ratio de métabolites ont été utilisés ni si les mêmes marqueurs ont été employés pour tous les patients.

Les variations des résultats de valeurs prédictives positives et de taux de rappel peuvent également être liées à d'autres paramètres analytiques ou à des caractéristiques particulières de la population étudiée. En effet, Pourfarzam et ses collaborateurs [2001] ont indiqué que, des six cas de faux positifs repérés sur la base d'un taux de C8 élevé, cinq étaient nés prématurément. De même, des 52 nouveau-nés ayant eu un résultat positif au test MS/MS dans l'étude de Zytковicz et ses collègues [2001], 25 (48 %) étaient hospitalisés aux soins intensifs ou avaient un faible poids de naissance. Dans le

62. Nous avons décidé de présenter les résultats de ces deux études, puisque les méthodes de classification des résultats du dépistage n'étaient pas les mêmes.

cadre du même programme de dépistage néonatal, Comeau et ses collaborateurs [2004] estiment la valeur prédictive positive pour les nouveau-nés dont le poids de naissance est supérieur à 2 500 g à 26 %, alors que Zytkevicz et ses collaborateurs [2001] l'ont estimée à 19 %⁶³. Par contre, Carpenter et ses collaborateurs [2001] ont déclaré que les taux de C8 ne variaient pas de façon importante avec le poids de naissance ou l'âge au prélèvement dans leur population d'étude (pas de données à l'appui).

Soulignons également que plusieurs scénarios de calcul de la performance ont été considérés pour deux études qui se sont intéressées à cette maladie [Andresen *et al.*, 2001; Carpenter *et al.*, 2001]. Pour Carpenter et ses collaborateurs [2001], le statut de vrai ou de faux positif d'un de leurs patients n'était pas très clair, car celui-ci avait un résultat positif au test MS/MS et des taux très bas d'oxydation des acides gras à chaînes moyennes et longues, mais une activité enzymatique intermédiaire compatible avec un statut d'hétérozygote. Les auteurs ne signalent qu'une seule copie de la mutation A985G, mais il n'est pas clair si le deuxième allèle est normal ou s'il porte une mutation autre que A985G. Les auteurs ont considéré ce patient comme un porteur à faible risque de devenir symptomatique. Pour l'étude d'Andresen et ses collègues [2001], les résultats génotypiques ne montrent pas clairement le statut de vrai ou de faux positif pour neuf patients. Ces patients incluaient : 1) trois sujets chez qui le séquençage n'a pas été réalisé pour une raison non expliquée dans l'article; 2) deux sujets chez qui une seule copie de la mutation A985G a été identifiée et dont le profil métabolique restait fortement perturbé, possiblement à cause d'une autre erreur innée du métabolisme; 3) un sujet chez qui aucune mutation n'a été identifiée et dont le profil métabolique restait fortement perturbé, possiblement à cause d'une autre erreur innée du métabolisme; 4) trois sujets pouvant être des faux positifs d'après leur génotype (A985G/A351C, A985G/T489G et 0/C734T, respectivement). Les mutations A351C, T489G et C734T ont été considérées par les auteurs comme des mutations silencieuses, puisque le profil métabolique de ces patients était modéré et s'est normalisé avec le temps (sauf pour le patient ayant la mutation T489G). De plus, pour le sujet portant la mutation A351C, le profil métabolique était normal, même au cours d'un épisode de forte fièvre et d'alimentation orale réduite. Afin de tenir compte de toutes les options possibles, les deux scénarios extrêmes ont été considérés au tableau 21 pour chacune des études.

63. Les populations d'études de Comeau et ses collaborateurs [2004] et de Zytkevicz et ses collaborateurs [2001] se chevauchent. La population de la première étude inclut plus de sujets car elle s'étale sur une plus longue période (1999-2003) que la deuxième (1999-2001).

TABLEAU 21

Résultats de la performance de la MS/MS pour le dépistage sélectif du MCADD									
RÉFÉRENCE	CHACE ET AL., 1997 (N = 283 803)	CARPENTER ET AL., 2001* (N = 275 653)	ANDRESEN ET AL., 2001 (N = 930 078)	POURFARZAM ET AL., 2001 (N = 100 600)	ZYTKOVICZ ET AL., 2001 (N = 184 000)	SCHULZE ET AL., 2003A (N = 250 000)	WILCKEN ET AL., 2003 (N = 362 000)	FEUCHTBAUM ET AL., 2006B (N = 353 894)	FRAZIER ET AL., 2006 (N = 239 415)
Marqueur métabolique et valeur seuil (VS) (μmol/L)	C8 > 0,3 C8/C10 > 2 C8/C2 > 0,1	C8 ≥ 0,8 (premier test) C8 ≥ 1,0 (second test)	C6, C8, C10, C10:1 (VS non pré- cisée)	C8 > 0,3	C8 > 0,3 et C8/ C6 > 4,0	{C6 > 0,21 et (ou) C8 > 0,32}, C10:1 > 0,28, C10 > 0,48, C8/C2 > 0,02, C8/C10 > 1,6, C8/C12 > 1,6	C8 > 1,0	Non précisé	C8 > 0,73 et C8/C10 > 3 (± C6 > 0,63, C10:1 > 0,31)
Prévalence (%)	0,006	0,004	0,006-0,007	0,008	0,005	0,006	0,005	0,004	0,007
Vrais positifs (n)	16	11 ou 12†	53-62‡	8	10	16	17	13	17
Faux positifs (n)	0	12 ou 11†	0-9‡	6	42	46	6	2	0
Faux négatifs (n)	0§	?	?	0	?	0	0	0	0
Vrais négatifs (n)	283 787	275 630	930 016	100 586	183 948	249 938	361 977	353 879	239 398
Sensibilité (%)	100	?	?	100	?	100	100	100	100
Spécificité (%)	100	99,99	99,99-100‡	99,99	99,98	99,98	99,99	99,99	100
Valeur prédictive positive (%)	100	47,83-52,17†	85,48-100‡	57,14	19,23	25,81	73,91	86,67	100
Valeur prédictive négative (%)	100	?	?	100	?	100	100	100	100
Taux de rappel (%)	0,006	0,008	0,007	0,014	0,028	0,025	0,006	0,004	0,007

* Le calcul des critères de performance est basé sur la valeur seuil de $C8 \geq 0,8$. Notons que la population de cette étude est incluse dans celle de Wilcken et ses collègues [2003]. Nous avons toutefois décidé de présenter les résultats de ces deux études, puisque les méthodes de classification des résultats du dépistage n'étaient pas les mêmes.

† Le statut de vrai ou de faux positif d'un patient n'est pas très clair, car celui-ci avait un résultat positif au test MS/MS et des taux très bas d'oxydation des acides gras à chaînes moyennes et longues, mais une activité enzymatique intermédiaire compatible avec un statut d'hétérozygote. Les auteurs signalent une seule copie de la mutation A985G, mais il n'est pas clair si le deuxième allèle est normal ou s'il s'agit d'un hétérozygote composite (c.-à-d. que le deuxième allèle est porteur d'une mutation autre que A985G). Les auteurs ont considéré ce patient comme un porteur à faible risque de devenir symptomatique.

‡ Le statut de vrai ou de faux positif de neuf patients n'est pas très clair car : 1) trois sujets pour qui ce statut est fort probable puisque leur génotype respectif est A985G/A351C, A985G/T489G et 0/C734T. Or, les mutations A351C, T489G et C734T ont été considérées par les auteurs comme des mutations silencieuses, puisque le profil métabolique de ces patients était modérément perturbé et s'est normalisé avec le temps, à l'exception du patient ayant la mutation T489G. De plus, le profil métabolique du sujet portant la mutation A351C était normal, même au cours d'un épisode de forte fièvre et de diminution de l'alimentation orale; 2) 3 sujets chez qui le séquençage n'a pas été réalisé pour une raison non expliquée dans l'article; 3) 2 sujets chez qui une seule copie de la mutation A985G a été identifiée et dont le profil métabolique restait fortement perturbé, possiblement à cause d'une autre erreur innée du métabolisme; 4) 1 sujet chez qui aucune mutation n'a été identifiée et dont le profil métabolique restait fortement perturbé, possiblement à cause d'une autre erreur innée du métabolisme.

§ Nombre présumé.

6.3 Discussion

Sur le plan de la qualité des études, plusieurs réserves ont été discutées lors de la description des revues systématiques de la littérature et des études primaires. Celles-ci concernent à la fois les plans d'étude, la sélection de la population étudiée, les conditions de prélèvement et de transport des échantillons, la nature des tests de confirmation diagnostique et les méthodes d'analyse et de présentation des résultats. Les principaux facteurs susceptibles d'affecter l'interprétation des résultats de performance de la MS/MS sont brièvement rappelés ci-dessous.

Les données disponibles proviennent majoritairement d'études de cohortes prospectives réalisées dans le cadre de programme de dépistage néonatal [Feuchtbaum *et al.*, 2006b; Frazier *et al.*, 2006; Sander *et al.*, 2006; Schulze *et al.*, 2003a; Wilcken *et al.*, 2003; Shigematsu *et al.*, 2002; Andresen *et al.*, 2001; Carpenter *et al.*, 2001; Zytkevicz *et al.*, 2001; Chace *et al.*, 1997]. Cependant, il est difficile de réaliser des essais cliniques ou des études comparatives prospectives avec une cohorte témoin appropriée dans le contexte du dépistage néonatal des erreurs innées du métabolisme, en raison du nombre important de nouveau-nés requis compte tenu de la rareté de chaque maladie et de la longueur du suivi nécessaire [Shortland, 2004; Wilcken *et al.*, 2003]. Quelques rares études rétrospectives ont comparé la performance de la MS/MS à celle de la fluorométrie, le test actuellement utilisé pour le dépistage néonatal de la PCU au Québec [Ceglarek *et al.*, 2002; Chace *et al.*, 1998].

Bien que la grande majorité des auteurs décrivent l'origine de leur population d'étude, il n'en est pas de même pour ce qui est des méthodes de sélection des sujets, les critères d'admissibilité appliqués et les caractéristiques des nouveau-nés sur le plan de l'ethnicité, de l'âge gestationnel, du poids et de l'état à la naissance ainsi que du nombre de perdus de vue. Ces limites concernant la population étudiée n'affectent pas la validité interne des résultats mais laissent planer un doute sur l'exportabilité des résultats à d'autres populations. Outre les différences de prévalence entre régions, les éléments potentiellement importants pour la MS/MS sont la proportion de nouveau-nés de faible poids de naissance, prématurés⁶⁴, traités par certains antibiotiques⁶⁵, ou ayant reçu des transfusions, des vitamines ou une hyperalimentation parentérale [Marsden *et al.*, 2006; Chace *et al.*, 2005; Shigematsu *et al.*, 2002; Zytkevicz *et al.*, 2001]. En effet, les profils métaboliques sont à interpréter avec précaution dans ces conditions et il n'est pas clair comment ces questions ont été traitées dans les études [Cavedon *et al.*, 2005; Pandor *et al.*, 2004]. Certains auteurs préconisent l'utilisation de valeurs seuils différentes de celles utilisées pour les nouveau-nés sains, à terme et ayant un poids de naissance normal.

En ce qui concerne les conditions de prélèvement de l'échantillon de sang séché, l'âge au prélèvement fluctue d'une étude à l'autre et parfois même au sein d'une même étude, ce qui peut avoir contribué à la variation des résultats entre les études⁶⁶. De plus, la durée d'alimentation au moment du prélèvement sanguin n'est jamais précisée. Or, il est important de considérer ces facteurs, puisque les concentrations de métabolites changent avec le temps et avec l'apport alimentaire pendant la période néonatale [Kaye *et al.*, 2006b; Marsden *et al.*, 2006; Chace *et al.*, 2005; Zytkevicz *et al.*, 2001]. Ainsi, le taux des acides aminés a tendance à augmenter avec le temps et l'ingestion de protéines alors que celui des acylcarnitines, particulièrement ceux à chaînes longues comme C8 et C10

64. Pourfarzam et ses collaborateurs [2001] ont remarqué que cinq des six faux positifs identifiés dans leur étude étaient nés prématurément.

65. Par exemple, Shigematsu et ses collègues [2002] ont observé un taux de rappel élevé lié à la prise d'antibiotiques contenant de l'acide pivalique.

66. Il est par exemple difficile de généraliser les résultats des études qui ont utilisé un âge de prélèvement plutôt extrême, soit moins de 24 heures [Chace *et al.*, 1998] ou plus de 72 heures [Schulze *et al.*, 2003a; Ceglarek *et al.*, 2002; Shigematsu *et al.*, 2002; Carpenter *et al.*, 2001].

quantifiés pour le dépistage néonatal du MCADD, a tendance à diminuer [Cavedon *et al.*, 2005; Zytovicz *et al.*, 2001].

Quant à la qualité des prélèvements, les études ont généralement utilisé le même type de papier filtre et le même diamètre de médaillon. Toutefois, les données sur la quantité de sang total réellement utilisée pour l'analyse MS/MS et les conditions de transport et de préservation⁶⁷ des échantillons étaient rares et incomplètes. Comme expliqué au chapitre précédent, ces paramètres influencent la stabilité des métabolites analysés [Holub *et al.*, 2006; Lindner *et al.*, 2006; Al-Dirbashi *et al.*, 2005; Nagy *et al.*, 2003; Santer *et al.*, 2003].

La majorité des études décrivent suffisamment bien leurs protocoles analytiques pour les étapes d'extraction et de butylation ainsi que les standards internes et l'appareil et le mode d'analyse MS/MS. Mis à part quelques exceptions, ces facteurs sont d'ailleurs le plus souvent comparables. Par contre, comme Pandor et ses collaborateurs [2004], nous avons noté une très grande variation dans le choix des marqueurs métaboliques, des valeurs seuils, des protocoles de classification des résultats de la MS/MS et des tests de confirmation diagnostique pour une même maladie. Cette variation est à l'origine de la grande hétérogénéité dans la littérature et rend difficile la comparaison entre les résultats des différentes études. Le problème des protocoles et des tests de confirmation diagnostique est inhérent à la nature de ce groupe de maladies métaboliques, dont le diagnostic est souvent fondé sur une série de tests, et non sur un test unique, et repose généralement sur une interprétation de l'ensemble des résultats et du tableau clinique de chaque patient par un spécialiste en maladies métaboliques. Une comparaison systématique des résultats du test étudié avec un test de référence (*gold standard*), comme l'exige classiquement l'évaluation des tests diagnostiques, est donc difficile en raison du nombre d'erreurs innées du métabolisme, mais aussi de la nature de la démarche diagnostique.

Par ailleurs, l'analyse des résultats de la MS/MS à l'insu des résultats des tests de fluorométrie n'est mentionnée que dans une seule étude [Chace *et al.*, 1998], de sorte qu'un biais de révision (*review bias*) ne peut être exclu pour les autres études, que ce soit pour l'interprétation des résultats de la MS/MS dans les études rétrospectives ou pour la classification diagnostique dans les études prospectives. De plus, une étude sur le MCADD [Carpenter et Wiley, 2002] semble avoir inclus les résultats du test MS/MS effectué dans le protocole de confirmation diagnostique, ce qui entraîne un biais d'incorporation et une surestimation des critères de performance.

Comme noté par Tran et ses collaborateurs [2006] et Pandor et ses collègues [2004], les tests de confirmation diagnostique n'ont été réalisés que pour les patients ayant eu un résultat positif au test MS/MS dans toutes les études. L'exclusion de faux négatifs ne s'est jamais basée sur des méthodes rigoureuses appliquées à tous les nouveau-nés de l'étude, ou à tout le moins à un échantillon aléatoire. La sensibilité et la valeur prédictive négative du test MS/MS peuvent ainsi avoir été surestimées. Cela constitue de loin la limite principale des études révisées.

Les résultats des différentes études révisées indiquent que, globalement, la sensibilité, la valeur prédictive négative et la spécificité du test MS/MS sont élevées, que ce soit pour le dépistage néonatal de groupes de maladies ou pour le dépistage néonatal sélectif de la PCU, du MCADD et de la TH1. Étant donné que la majorité des études n'ont pas signalé de faux négatifs et n'ont pas inclus une longue période d'observation ni pris

67. Il est probable que les limites liées aux conditions de conservation des échantillons de sang séché n'intéressent que les études rétrospectives.

des mesures rigoureuses pour s'assurer de ne pas avoir manqué de cas d'erreurs innées du métabolisme, l'appréciation de la sensibilité et de la valeur prédictive négative de la MS/MS demeure limitée par la qualité des plans d'étude utilisés, avec une possible surestimation de ces critères de performance. Les valeurs prédictives positives et les taux de rappel varient beaucoup d'une étude à l'autre. Ces différences pourraient être liées aux variations méthodologiques précitées⁶⁸ et, surtout pour la valeur prédictive positive, à des différences dans la prévalence des erreurs innées du métabolisme d'une population à l'autre [Dezateux, 2003].

Sur le plan des protocoles d'analyse, des particularités sont à souligner pour chacune des trois maladies considérées dans ce rapport. Tout d'abord, les bénéfices du dépistage néonatal de la PCU par la MS/MS reposent sur l'utilisation du ratio phénylalanine/tyrosine, grâce à l'analyse simultanée de ces deux marqueurs, comme l'ont souligné plusieurs auteurs [Frazier *et al.*, 2006; Chace *et al.*, 2005; 1998; Ceglarek *et al.*, 2002; Zytkovicz *et al.*, 2001]. Pour la TH1, l'utilisation de la MS/MS n'est envisageable qu'en ajoutant le dosage de la succinylacétone à celui de la tyrosine. En effet, le dosage de la tyrosine par la MS/MS, comme par les autres techniques de dépistage, n'est ni assez sensible [Feuchtbaum *et al.*, 2006b; Roscher et Olgemöller, 2004; Wilcken *et al.*, 2003], ni assez spécifique [Comeau *et al.*, 2004; Wilcken *et al.*, 2003; Zytkovicz *et al.*, 2001]. Au Québec, ces limites sont reconnues depuis longtemps, et le dépistage néonatal de la TH1 repose sur le dosage de la succinylacétone, d'abord comme test de deuxième ligne (1980-1997) pour les nouveau-nés ayant des niveaux de tyrosine élevés et, depuis 1997, comme test de première ligne [Laflamme *et al.*, 2006; CETS, 1998]. Par contre, la quantification de la succinylacétone par la MS/MS n'a été évaluée que par une seule étude [Sander *et al.*, 2006] et pose des problèmes organisationnels, puisqu'une étape supplémentaire d'extraction et une analyse séparée des autres métabolites sont requises. Ceux-ci pourraient être résolus par une adaptation de la méthode proposée récemment, qui doit encore être validée⁶⁹ [Allard, 2005]. Enfin, pour le MCADD, l'utilisation des ratios C8/C2, C8/C6 et (ou) C8/C10 s'avère indispensable en plus du métabolite C8, puisqu'elle améliore la spécificité et la valeur prédictive positive du test MS/MS [Frazier *et al.*, 2006; Chace *et al.*, 2005; Pourfarzam *et al.*, 2001; Chace *et al.*, 1997]. Toutefois, Zytkovicz et ses collègues [2001] indiquent (sans données à l'appui) que le marqueur C8/C10 pourrait être plus utile pour les patients homozygotes pour la mutation A985G que pour les hétérozygotes composites. Ces ratios peuvent néanmoins s'avérer utiles pour le diagnostic différentiel entre le MCADD et d'autres erreurs innées du métabolisme se manifestant également par une élévation du métabolite C8, comme le déficit en *Multiple Acyl-CoA Dehydrogenase* (MAD), aussi appelé *Glutaric Aciduria type II* (GAII) et déficit en *Medium/Short Chain-L-3-Hydroxyacyl-CoA Dehydrogenase* (M/SCHADD). Le débat n'est donc pas encore clos quant au meilleur choix de marqueurs métaboliques pour le dépistage néonatal du MCADD [Marsden *et al.*, 2006; Chace *et al.*, 2005].

Enfin, les résultats de performance doivent être interprétés comme des indicateurs de la validité de la MS/MS, c'est-à-dire de sa capacité à classer correctement les nouveau-nés sur la base des anomalies biochimiques recherchées. Rares sont les auteurs qui ont tenté d'établir pour toutes les erreurs innées du métabolisme, la proportion des nouveau-nés dépistés grâce à la MS/MS qui sont susceptibles de bénéficier du dépistage en considérant le moment du dépistage, la nécessité d'un traitement précoce et l'effet de celui-ci sur

68. Celles-ci sont relatives aux caractéristiques de la population à l'étude, à l'âge au prélèvement, aux choix des marqueurs métaboliques, aux valeurs seuils, aux protocoles de classification des résultats MS/MS et aux tests de confirmation diagnostique.

69. Cette méthode est brièvement décrite à la fin du chapitre 5.

le pronostic [Schulze *et al.*, 2003a]. Ainsi, le nombre de vrais positifs relevés dans les programmes de dépistage néonatal n'équivaut pas directement au nombre d'enfants qui auront besoin d'un traitement à vie. Tous devront cependant bénéficier d'un protocole de confirmation diagnostique et être suivis par une équipe spécialisée. Alors que des mesures préventives sont proposées à l'ensemble des enfants atteints de TH1 et de MCADD, une distinction s'impose pour les enfants présentant une forme d'hyperphénylalaninémie. Les enfants atteints de PCU devront rapidement se soumettre à un régime restrictif et à un suivi serré, tandis que les filles présentant une hyperphénylalaninémie non-PCU ne bénéficieront de cette information qu'une fois qu'elles auront atteint l'âge de procréer, pour le suivi de leurs grossesses. Pour le MCADD, le bénéfice clinique documenté à ce jour concerne surtout les enfants touchés par les formes les plus graves avec crises de décompensation métabolique (à condition qu'ils soient dépistés avant l'apparition de ces symptômes). La proportion que ces enfants représentent dans l'ensemble des cas dépistés pourrait être de l'ordre de 75 %, mais ces données doivent être confirmées [Grosse *et al.*, 2006b]. La différence majeure, si on compare cette situation avec celle des hyperphénylalaninémies, est que les connaissances actuelles sur l'évolution naturelle du MCADD et sur la corrélation génotype/phénotype sont insuffisantes pour établir un pronostic en bas âge et cibler la prise en charge en conséquence. La situation serait encore plus complexe si on envisageait d'étendre le dépistage à l'ensemble des erreurs innées du métabolisme, puisque l'évolution naturelle de plusieurs d'entre elles est mal connue.

L'objectif de la présente section est de rendre compte, à la lumière de la littérature disponible, des coûts et des rapports coût-efficacité et coût-utilité du dépistage néonatal sanguin par la MS/MS pour la PCU, le MCADD et la TH1 en particulier. Elle vise également à fournir des indications budgétaires sur certains coûts d'investissement et de fonctionnement inhérents à ce genre de dépistage.

7.1 Revue de la littérature

Le tableau 22 présente une synthèse de la littérature recensée pour les fins de l'analyse. Les tableaux de l'annexe K reprennent cette synthèse de façon détaillée. Seuls les articles répondant aux critères suivants sont présentés : contexte de dépistage potentiellement applicable au Québec, EIM dépistées clairement identifiées, méthodologie et résultats robustes, articles publiés après 2001. À la lumière de ceux-ci, on constate qu'aucune évaluation économique du dépistage néonatal sanguin en contexte québécois n'a jusqu'à maintenant été réalisée. Une évaluation en contexte canadien, pertinente pour les fins de notre analyse, a toutefois été répertoriée, soit celle de Tran et ses collaborateurs [2006]. Ces auteurs ont évalué l'efficacité du dépistage du MCADD par la MS/MS comparativement au diagnostic clinique (pas de dépistage) à partir des données de la littérature et de l'expérience récente de la Nouvelle-Écosse (2005) dans le cadre d'un programme de dépistage. Le coût unitaire (par cas) du dépistage a été établi à 2,40 \$ CA. Avec une modélisation (arbre décisionnel) et une analyse de sensibilité, les auteurs concluent que les bénéfices du dépistage néonatal par la MS/MS sont supérieurs à ceux du diagnostic clinique. L'efficacité du dépistage s'explique principalement par la réduction du coût des soins médicaux pour la durée de vie des enfants. Les auteurs ont également présenté des estimations d'impacts budgétaires sur une période de 5 ans pour les cohortes de nouveau-nés de la Nouvelle-Écosse (sans analyse de sensibilité). Ils insistent sur les limites de leur analyse, notamment sur le fait que le coût d'acquisition de l'équipement a été entièrement affecté à la première année budgétaire. Soulignons qu'un seul appareil a été considéré à un coût très faible, soit 200 000 \$ CA.

L'efficacité du dépistage néonatal du MCADD par la MS/MS est également démontrée par Venditti et ses collègues [2003]. Leur résultat repose toutefois sur l'hypothèse selon laquelle les coûts de fonctionnement de la MS/MS étaient déjà couverts par son utilisation pour le dépistage de la PCU. Une revue de la littérature du Medical Advisory Secretariat [MAS, 2002] conclut aussi à l'efficacité d'un programme plus large de dépistage néonatal par la MS/MS et indique que l'inclusion d'autre EIM dans ce programme n'impliquerait aucun coût additionnel. Les résultats de trois autres études [Autti-Rämö *et al.*, 2005; Insinga *et al.*, 2002; Schoen *et al.*, 2002] concluent également à l'efficacité du dépistage par la MS/MS pour plusieurs EIM. Enfin, Pandor et ses collaborateurs [Pandor *et al.*, 2006b; Pandor *et al.*, 2004] ont montré, à l'aide d'une modélisation économique, que la substitution de la MS/MS aux technologies existantes pour le dépistage de la PCU seulement n'était pas justifiée, mais que ce dépistage devenait efficace avec l'ajout d'autres EIM, dont le MCADD.

Description des études économiques sur le dépistage néonatal sanguin des erreurs innées du métabolisme par la MS/MS

AUTEURS, PAYS	EIM DÉPISTÉES	MÉTHODOLOGIE	COÛTS CONSIDÉRÉS	PRINCIPAUX RÉSULTATS
Tran et al., 2006 Canada	MCADD	Modélisation (arbre de décision) avec analyse de sensibilité et scénarios.	Coûts (\$CA 2005) : un appareil MS/MS, réactifs, personnel (dépistage, suivi), complications, incapacités et décès associés au MCADD.	ICER = 2 514 \$ /QALY (base), 928 \$ (meilleur) et 11 456 \$ (pire).
Venditti et al., 2003 États-Unis	MCADD	Modélisation et analyse de sensibilité.	Coûts (\$US 2001) : dépistage, suivi, confirmation, test de carnitine et soins pour patients affectés gravement (coûts d'opération déjà couverts par le dépistage de la PCU).	Scénario de base : 11 000 \$/année de vie sauvée (pour les 20 premières années), ou 5 600 \$ /QALY par rapport à ne pas dépister. Pour 70 ans, coût = 300 \$/année de vie sauvée ou 100 \$ /QALY.
MAS, 2002 Canada	Plusieurs EIM dont MCADD et PCU	Revue systématique.	Pas d'estimations de coûts.	Efficience probable d'un programme de dépistage néonatal par la MS/MS plus large.
Pandor et al., 2004 Royaume-Uni	PCU et MCADD	Mise à jour de la littérature de 2 rapports d'évaluation et modélisation avec analyse de sensibilité.	Coûts (£ 1996 en £ 2001) : collecte, laboratoire, fournitures, confirmation, épisodes aigus, traitement et incapacités futures.	Substitution de la MS/MS pour dépistage de PCU seule : non justifiée. Coût moyen pour + PCU = Économie de coût de 23 312£ et gain additionnel moyen de 59 années de vie.
Pandor et al., 2006b Royaume-Uni	PCU et MCADD	Mise à jour du rapport de 2004 et modélisation.	Mêmes coûts (£ 2001) que ceux du rapport de 2004.	MCADD ajoutée au PCU : épargne de 17 298 £ pour chaque cohorte de 100 000 nouveau-nés dépistés et gain de 57 années de vie.
Autti-Rämö et al., 2005 Finlande	CAH, MCADD, LCHADD, PCU et GAI	Étude pilote. Modélisation et analyse de sensibilité.	Coûts (€ 2002) : nouvelle organisation de dépistage et coûts d'opération.	Coûts/QALY gagné : entre 25 500€ (maximum) et 5 500€ (minimum). Si prévention des handicaps graves : coût maximal = 18 000€/QALY (minimum 3 900€).
Insinga et al., 2002 États-Unis	MCADD et MCADD + LCADD, VLCADD, SCADD, CPTII, GA2, GAI, PA, MMA, IVA, 3-MCC, B-KT et HMG	Analyse séquentielle par modélisation et analyse de sensibilité avec seuil de rentabilité = 50 000/QALY.	Coûts (\$US 2001) : équipement, fournitures, personnel, frais généraux, laboratoire (confirmation, suppléments de carnitine à l'âge de 18 ans) et suivi, + coûts des incapacités neurologiques et de décès.	41 862 \$ /QALY pour MCADD (conservateur), 6 008 \$ /QALY (si hypothèses plus réalistes). Si ajout des 12 autres EIM : 15 252 \$ /QALY.
Schoen et al., 2002 États-Unis	PCU, MCADD, MSUD, MMA et PA	Modélisation avec scénarios (base, plus et moins favorables)	Coûts estimés (\$US 2001) : collecte, laboratoire (incluant faux positifs), traitement, hospitalisation, incapacité, et diètes spéciales.	Pire scénario : coût/ QALY = 11 419 \$; Meilleur scénario : coût /QALY = 736 \$. Scénario de base : coût/ QALY = 5 827 \$.

Abréviations : 3-MCC : Déficit en 3-méthylcrotonyl-CoA carboxylase; B-KT : Déficit en « beta-ketothiolase »; CAH : Hyperplasie congénitale surrénalienne; CPTII : Déficit en carnitine palmitoyl transférase de type II; GAI : Acidémie glutarique de type I; GAI1 : Acidémie glutarique de type II; HMG : Déficit en 3-hydroxy-3-méthylglutaryl-coA lyase; ICER : Incremental cost-effectiveness ratio; IVA : Acidémie isovalérique; LCHADD : Déficit en 3-hydroxy Acyl-CoA déshydrogénase des acides gras à longues chaînes; MCADD : Déficit en Acyl-CoA déshydrogénase des acides gras à chaînes moyennes; MMA : Acidémie méthylmalonique; MS/MS : Spectrométrie de masse en tandem; MSUD : Maladie du sirop d'érable; PA : Acidémie propionique; PCU : Phénylalaninurie; QALY : Quality Adjusted Life Years; SCADD : Déficit en Acyl-CoA déshydrogénase des acides gras à très longues chaînes

Bien qu'ils se caractérisent par une grande variabilité dans les EIM considérées, les probabilités d'incapacités neurologiques et de décès chez les enfants atteints de MCADD et n'ayant pas bénéficié du dépistage, les données d'incidence et les mesures d'efficacité retenues⁷⁰, les travaux recensés dans la littérature économique concluent à l'efficacité du dépistage néonatal par la MS/MS de plusieurs EIM, surtout lorsqu'elles ne peuvent être dépistées autrement. En ce qui concerne plus particulièrement le dépistage du MCADD, l'efficacité se traduit principalement par les coûts de traitement et d'hospitalisation (unité des soins intensifs pédiatriques) évités.

7.2 Méthode d'estimation des coûts

Une approche d'estimation des effets budgétaires a été retenue pour évaluer les coûts du dépistage néonatal sanguin par la MS/MS de la PCU, du MCADD et de la TH1. Rappelons que seul le MCADD ne peut actuellement être dépisté autrement que par la MS/MS. Les estimations de coûts ne découlent pas de l'observation de l'utilisation de cette technologie, mais viennent de diverses sources d'information validées (voir la section 7.2.1). Dans cette perspective, l'analyse ne vise donc qu'à fournir des indications budgétaires sur certains coûts d'investissement et de fonctionnement pour un laboratoire à partir des rares données disponibles.

Dans la mesure du possible, des coûts différentiels ont été estimés en dépit des difficultés que pose la reconstitution des coûts de la pratique de dépistage actuelle. Des coûts différentiels annuels équivalents⁷¹ (CDAE) ont ensuite été estimés, ces derniers permettant de répartir sur plusieurs années les investissements considérables que représentent l'acquisition des appareils MS/MS et autres instruments, l'aménagement des locaux, et les frais de formation en tenant compte du coût de renonciation qu'impliquent ces investissements. Le CDAE exprime donc la valeur annuelle des ressources utilisées dans le cadre du dépistage néonatal sanguin par la MS/MS. Les coûts estimés ont été établis à partir des prix du marché et sont exprimés en dollars canadiens de 2006.

Les estimations présentées se limitent aux coûts générés par les principales composantes du dépistage par la MS/MS, soit les coûts relatifs à l'aménagement des locaux⁷², l'acquisition des deux appareils requis⁷³, incluant un contrat de service de base, l'appareillage de soutien⁷⁴, la formation des utilisateurs, les fournitures⁷⁵, ainsi que les coûts des professionnels qui participent à ce dépistage (deux techniciens de laboratoire). Les coûts de temps infirmier (collecte de l'échantillon) et d'un technicien informatique (entrée de données) ne sont pas considérés, ces derniers étant sensiblement les mêmes que pour la procédure de dépistage actuelle. Le coût lié au travail du biochimiste clinique (analyse des résultats et recommandations) n'a également pu être estimé à cause de l'impossibilité d'estimer le temps consacré aux activités liées au dépistage par la MS/MS, ce dernier dépendant des rôles et responsabilités de chaque professionnel intervenant dans le dépistage. Mentionnons cependant que le tarif horaire d'un biochimiste clinique avec expérience est d'au moins 53,25 \$CA (incluant les avantages

70. La mesure de l'efficacité pouvait inclure les : complications, hospitalisations, soins et traitements, incapacités neurologiques modérés ou graves, et décès évités.

71. Le CDAE est la valeur actuelle du coût qu'engendre le dépistage par MS/MS (taux d'actualisation de 3 %) ramenée sur une base annuelle.

72. L'aménagement porte sur l'installation des hottes, tables de laboratoire, etc.

73. Les 2 spectromètres de masse en tandem incluent injecteur, carrousel, pompe(s) quaternaires et (ou) binaires, valves, filtre, chauffe-colonnes, détecteur MS/MS, logiciel d'exploitation et librairie de recherche (1 pour 2 appareils), ordinateur, écran et imprimante.

74. L'appareillage de soutien comprend un système pour les deux MS/MS, soit un compresseur, un générateur d'azote et un UPS.

75. Les fournitures incluent les réactifs, plaques multipuits et embouts multicanaux.

sociaux) et que, à notre connaissance, le laboratoire de dépistage néonatal sanguin emploie actuellement un biochimiste clinique à temps plein.

Le coût d'aménagement des locaux destinés au dépistage néonatal sanguin par la MS/MS devrait être assumé environ tous les 10 ans. Il en va de même pour l'appareillage de soutien et le lecteur à codes barres. Selon les experts, les deux appareils devraient être réservés exclusivement à ce genre de dépistage et fonctionner en parallèle. De cette façon, on s'assure que le dépistage n'est pas interrompu en cas de problèmes techniques. Même si l'ensemble des contrats de service sont établis pour une période maximale de 5 ans, la durée de vie moyenne d'un MS/MS peut atteindre 7 à 10 ans selon certains experts, cet appareil étant constitué de modules qui peuvent être changés séparément au besoin. Nous avons donc considéré que les coûts moyens d'acquisition de deux MS/MS et de formation doivent être assumés en moyenne tous les 8 ans (minimum 5 ans; maximum 10 ans), tandis que les coûts moyens des fournitures, des contrats de service pour l'entretien de l'appareil et les coûts du personnel doivent être assumés tous les ans. Ces derniers coûts sont perçus comme relativement peu élevés par la plupart des experts du domaine.

L'estimation des coûts générés par les tests de reprise sur le même échantillon ou sur un deuxième échantillon (dans le cas où le résultat de la reprise est positif) et par les tests de confirmation diagnostique n'ont pas été considérés. De même, les seconds tests spécifiques pour la succinylacétone ont été omis. Enfin, les bénéfices découlant du dépistage précoce comme la prévention des handicaps sévères et les coûts de soins médicaux évités n'ont pas été estimés.

7.2.1 Sources d'information

La presque totalité des données de coûts estimés a été déterminée à partir d'informations orales et écrites fournies par des experts du domaine (biochimiste d'un service de génétique médicale, techniciens de laboratoire, responsable des technologies de biochimie clinique). Des rencontres en face à face ont également eu lieu afin d'éclaircir certains points, ainsi que des échanges par courriel et par téléphone. Des informations provenant de l'industrie ont également contribué à valider certaines données de coûts. Enfin, les tarifs horaires des catégories de personnel impliqué dans un tel dépistage proviennent du site Web du Conseil du trésor⁷⁶.

7.2.2 Résultats

Le tableau 23 présente le coût différentiel annuel équivalent (CDAE) de chacune des composantes principales du dépistage néonatal sanguin par la MS/MS pour la PCU, la TH1 et le MCADD. D'autres erreurs innées du métabolisme pourraient ultérieurement être ajoutées sans contribuer significativement à l'augmentation des coûts (l'appareil pouvant actuellement dépister, rappelons-le, plus de 30 maladies). Ce tableau présente également les fréquences auxquelles doivent être assumés les coûts de ces composantes. Toutes ces données ont été validées auprès d'experts du domaine du dépistage.

Les résultats du tableau montrent que le dépistage néonatal sanguin par la MS/MS pour un laboratoire au Québec coûterait annuellement environ **255 231 \$CA**, les coûts les plus importants étant ceux des spectromètres de masse en tandem et de l'appareillage de soutien. Le coût des techniciens de laboratoire est aussi considérable, ces derniers devant

76. Secrétariat du Conseil du trésor du Québec. Échelles de traitement–Santé et services sociaux (2006), disponible à : http://www.tresor.gouv.qc.ca/fr/ress_humaine/conditions/echelle.asp; Gouvernement du Québec. Carrières dans le réseau de la santé et des services sociaux du Québec (2006), disponible à : <http://www.avenirensante.com> (voir annexe L, Tableau L2 pour plus de détails).

idéalement travailler sur une base annuelle de 365 jours afin de ne pas interrompre le dépistage. À partir de l'opinion des experts consultés, deux scénarios ont été envisagés, soit (1) 1,5 équivalent temps complet (ETC) et (2) 2 ETC. Les coûts varieraient ainsi entre **91 460 \$** et **121 946 \$**, ce qui correspond à un coût moyen estimé de **106 703 \$**. En ce qui concerne le coût des réactifs (voir annexe L, tableau L-1), leur estimation a été faite pour une moyenne de 75 000 tests par année, soit le nombre annuel approximatif de naissances québécoises (au moment de mettre sous presse, ce nombre se serait établi à 82 500 en 2006 [MFACF, 2007]). Mentionnons qu'une partie de ces réactifs pourraient également être utilisés dans la pratique de dépistage habituelle.

De façon plus détaillée, le coût annuel de la mise en place et de l'équipement généré par ce type de dépistage est estimé à environ **100 569 \$** (149 902 \$, si la fréquence de remplacement des MS/MS est de 5 ans; 84 172 \$ si cette fréquence est de 10 ans). Les coûts de fonctionnement et de maintien à niveau sont estimés à **47 959 \$** par année, les frais de contrat de service et les réactifs constituant la part la plus importante de ces coûts. Soulignons que le coût d'un contrat de service étendu (incluant une « trousse » de pièces de remplacement sur place) peut atteindre 225 000 \$CA pour 5 ans, contribuant de façon significative à l'augmentation du coût total du dépistage.

7.3 Sommaire

La rareté des implantations de la spectrométrie de masse en tandem pour le dépistage néonatal sanguin se traduit par une littérature peu abondante où les aspects économiques ont rarement été évalués de façon explicite. Selon les résultats de Tran et ses collaborateurs [2006], le coût unitaire estimé pour le dépistage néonatal du MCADD par la MS/MS est peu élevé (2,40 \$CA), ce qui soulève quelques questions. De plus, les auteurs ont considéré l'acquisition d'un seul appareil à un coût étonnamment faible, soit 200 000 \$CA. Les résultats de leur analyse de sensibilité appuient toutefois l'efficacité de ce dépistage avec un coût unitaire de 5,00 \$CA. Dans un contexte québécois où deux appareils sont nécessaires et où la valeur de ceux-ci est d'environ 325 000 \$CA, le coût unitaire serait d'environ 3,40 \$CA⁷⁷, ce qui confirme l'efficacité de ce dépistage pour le MCADD. Rappelons que ce coût unitaire n'inclut pas les coûts générés par les tests de reprise sur le même échantillon ou sur un deuxième échantillon (dans le cas où le résultat de la reprise est positif) et par les tests de confirmation diagnostique, ni le coût lié au travail du biochimiste clinique, ce dernier variant selon les heures d'activités consacrées au dépistage par la MS/MS. Par exemple, si le biochimiste clinique consacrait un équivalent de deux jours et demi par semaine (7h45min/jour) au dépistage par la MS/MS, le coût annuel moyen généré par ce professionnel serait d'environ 35 704 \$CA (tarif horaire de 53,25 \$ pour 36 semaines). Dans le cas éventuel où il travaillerait à temps complet au dépistage par la MS/MS, ce coût serait de 71 408 \$CA, faisant passer le coût unitaire de 3,40 \$CA à 3,88 \$CA et 4,36 \$CA respectivement.

77. Cette estimation repose sur l'hypothèse selon laquelle il y a 75 000 naissances au Québec par année. Le CDAE total estimé (255 231 \$) divisé par ce nombre de naissances (75 000) donne un coût unitaire de 3,40 \$CA. Si l'on tient compte de la donnée la plus récente sur le nombre de naissances en 2006 (82 500) parue au moment de mettre sous presse [MFACF, 2007], ce coût s'abaisserait alors à 3,09\$ CA

TABLEAU 23

Estimation des coûts différentiels du dépistage néonatal sanguin par la MS/MS pour un laboratoire au Québec (en \$ CA de 2006)			
CATÉGORIES DE COÛTS DU DÉPISTAGE PAR LA MS/MS	COÛT ESTIMÉ	CDAE ¹	CDAE TOTAL
Coûts de mise en place et de l'équipement			100 569 \$ [84 172; 149 902]
Coûts fixes Aménagement des locaux (hottes, tables de laboratoire, etc.)	20 000 \$ ²	2 345 \$ Tous les 10 ans	
Équipement (2 spectromètres de masse en tandem ³)	650 000 \$ ⁴	92 597 \$ (si 8 ans) [141 930 si 5 ans; 76 200 si 10 ans]	
Appareillage de support (compresseur, un générateur d'azote et un UPS)	45 000 \$	5 275 \$ Tous les 10 ans	
Lecteur à codes barres	3 000 \$	352 \$ Tous les 10 ans	
Coûts de fonctionnement et de maintien à niveau			47 959 \$
Coûts fixes Frais de formation ⁵ de base sur place (durée de 4 jours pour environ 5 utilisateurs)	12 000 \$	1 709 \$ (si 8 ans) [2 620 \$ si 5 ans; 1 407 \$ si 10 ans]	
Contrat de service de base pour l'entretien de l'équipement incluant 1 an de garantie (entre 100 000 \$ et 225 000 \$ pour 5 ans)	20 000 \$-45 000 \$	20 000 \$-45 000 \$ Tous les ans	
Coûts variables Réactifs (standard interne, méthanol, butanol, aluminium, acétonitrile), plaques multipuits et embouts multicanaux ⁶	26 250 \$	26 250 \$ Tous les ans	
Coût du personnel⁷			106 703 \$
Coût variable Technicien(ne) de laboratoire ⁸	106 703 \$ [91 460; 121 946]	106 703 \$ Tous les ans	
CDAE total estimé			255 231 \$

1. CDAE : coût différentiel annuel équivalent calculé avec un taux d'actualisation de 3 % [Drummond *et al.*, 2005]. Ces CDAE correspondent ici aux coûts annuels d'opération dans une perspective d'impacts budgétaires pour l'hôpital.

2. Ces frais peuvent varier selon la complexité du bâtiment et pourrait se situer entre 10 000 \$ et 50 000 \$ CA de 2006 (selon un expert du domaine).

3. Un deuxième MS/MS est essentiel pour ne pas interrompre le dépistage lors d'un problème de fonctionnement du premier appareil.

4. Une taxe nette, après remboursement d'une partie de la TPS et de la TVQ de 5 %, est incluse dans le coût d'achat.

5. La formation n'a lieu que lors de l'acquisition d'un nouvel équipement.

6. Le coût total pour les réactifs, les embouts et les plaques multipuits revient à environ 0,35/échantillon x 300 échantillons x 365 jours.

7. Voir annexe L, tableau L2

8. Deux scénarios ont été retenus, soit (1) 1,5 ETC et (2) 2 ETC. Compte tenu du tarif horaire de 31,47 \$, on a, pour le scénario (1) : 1,5 x 31,47 \$/h x 7h45 min x 250 jours = 91 460 \$; et pour le scénario (2) : 121 946 \$.

LES ENJEUX LIÉS AUX PROGRAMMES DE DÉPISTAGE NÉONATAL

La mise en œuvre de programmes de dépistage néonatal soulève de nombreux enjeux d'ordre psychologique, social, juridique, éthique et organisationnel. Ces enjeux peuvent toucher plus particulièrement le patient et sa famille, les professionnels de la santé concernés, le système de santé ou la société en général. Si un transfert technologique vers la spectrométrie de masse en tandem (MS/MS) et l'élargissement éventuel du programme de dépistage néonatal à d'autres maladies ne devraient pas soulever beaucoup de nouveaux enjeux, plusieurs problèmes préexistants risquent néanmoins d'être amplifiés. Le tableau 24 recense les enjeux liés au dépistage néonatal dont il sera question dans ce chapitre; cette énumération ne rend pas nécessairement compte en détail de tous les enjeux potentiellement liés à ce type de programme. Plusieurs points sont essentiellement d'ordre organisationnel et peuvent, par conséquent, être en partie solutionnés lors de l'implantation, alors que d'autres sont plutôt d'ordre psychologique et éthique, se révélant des défis nettement plus difficiles à relever.

8.1 Répercussions de l'incertitude

Dans les programmes de dépistage néonatal, l'incertitude liée au temps d'attente des résultats et à la signification de ceux-ci affecte les parents, tant pour les résultats du test de dépistage que pour ceux du test de confirmation diagnostique (qui peut distinguer les résultats faux positifs des vrais positifs) [Tran *et al.*, 2006]. En raison du stress parental lié à l'attente des résultats et à la nécessité de traiter au plus tôt certaines maladies, des délais d'exécution courts sont essentiels. Bien qu'il soit impossible de totalement apaiser l'angoisse découlant de l'incertitude, l'objectif est de maintenir l'angoisse à un niveau approprié, suivi d'une résolution adéquate de l'angoisse pour les parents ayant reçu un résultat négatif ou faux positif [Green *et al.*, 2004; Pandor *et al.*, 2004; McCabe *et al.*, 2002]. Le stress lié aux résultats faux positifs peut être réduit d'une part par le perfectionnement des techniques de laboratoire et l'emploi de marqueurs plus spécifiques (occasionnant moins de faux positifs) et d'autre part par l'amélioration des modes de communication avec les familles [Green *et al.*, 2004; Kwon et Farrell, 2000; Pollitt *et al.*, 1997]. À cet égard les recommandations divergent d'une région à l'autre, tant sur le plan du nombre effectif de communications, de la qualité des échanges, de la diversité des professionnels de la santé qui y contribuent que sur le plan des mesures de qualité utilisées pour évaluer les communications [Farrell *et al.*, 2001; Kwon et Farrell, 2000]. Certains auteurs allèguent que le poids de l'angoisse passagère liée aux résultats faux positifs, lorsque l'enfant est en définitive en bonne santé, n'a rien à voir avec les épreuves que traversent les familles qui passent une vie entière à prendre soin d'un enfant gravement atteint [Hinman *et al.*, 2001; Howse et Katz, 2000]. En outre, certaines études indiquent que le niveau de stress parental éprouvé à la suite d'un résultat faux positif n'est pas significativement plus élevé, au bout de six mois, que celui de parents ayant reçu un résultat normal au dépistage; elles démontrent aussi que les parents dont l'enfant a été diagnostiqué dans le cadre d'un programme de dépistage néonatal connaissent un niveau de stress moins élevé que ceux dont l'enfant a été diagnostiqué sur la base de signes cliniques [Waisbren *et al.*, 2003]. Bien que les parents n'éprouvent en général ni incertitude ni doute à propos des résultats qui

TABLEAU 24

Enjeux du dépistage néonatal	
ENJEUX (DÉTENTEUR D'INTÉRÊTS)	ASPECTS
Répercussions de la connaissance (parents)	- Temps d'attente des résultats diagnostiques - Compréhension des résultats (faux positifs, vrais positifs, faux négatifs) - Méconnaissance des manifestations cliniques - Déni du diagnostic en l'absence de symptômes
Répercussions de l'information (parents)	- Réactions à un diagnostic précoce - Effets sur la relation parent-enfant - Influence du suivi et du traitement - Répercussions sur les décisions de procréation
Stigmatisation (parents)	- Discrimination génétique par des tierces parties - Découverte inattendue du statut de porteur - Découverte fortuite d'un lien de parenté faussement attribué
Consentement (parents et professionnels de la santé)	- Consentement éclairé et explicite - Taux de participation au dépistage - Moment propice pour l'éducation des parents - Rôles des professionnels dans l'éducation des patients
- Lacunes des connaissances des professionnels (professionnels de la santé) - Impacts sociétaux (la société)	- Formation professionnelle - Formation professionnelle continue - Accessibilité et équité - Enjeux légaux - Participation des acteurs à la planification des services
Recherche et évaluation (système de santé et société)	- Manque de données probantes sur l'efficacité de nouveaux traitements et le risque de maladies selon le groupe ethnique et la pénétrance des mutations - Prestation des soins - Mise en banque des échantillons
Enjeux organisationnels (système de santé)	- Techniques : entretien et assurance de la qualité - Professionnels : disponibilité, interdépendance et expertise - Système intégré : développement et viabilité

leurs sont communiqués, il peut arriver dans de rares cas de résultats faux négatifs (attribuables à une sensibilité imparfaite des tests ou à une erreur humaine dans les procédures de laboratoire, la tenue des dossiers ou la communication des résultats), que des parents soient rassurés à tort. [Tran *et al.*, 2006]. Par ailleurs, l'existence de variantes de certaines maladies ne donnant pas de manifestations cliniques est une source supplémentaire d'incertitude [Kerruish et Robertson, 2005] et le stress parental peut aussi être lié à des effets indésirables causés par un traitement médicalement non justifié [Tran *et al.*, 2006]. Ceci est surtout vrai pour des maladies dépistées depuis peu, comme le MCADD, et pour lesquelles il existe moins de données probantes concernant la pénétrance et le traitement que pour d'autres maladies qui font l'objet de programmes de dépistage depuis plus longtemps [Liebl *et al.*, 2003; Wilcken, 2003]. En dernier lieu, certains parents ont de la difficulté à accepter le diagnostic de leur nouveau-né en l'absence de symptômes, ce qui pourrait mener au déni et au non-respect du traitement proposé au nourrisson qui paraît « normal » [Sewell *et al.*, 2004]. Quel que soit le programme de dépistage, il est impératif de reconnaître les ramifications du dépistage néonatal liées à l'incertitude, notamment la complexité des informations, le manque de données et les façons de communiquer cette incertitude aux parents et aux professionnels de la santé.

8.2 Répercussions de l'information

Une fois le diagnostic confirmé, un autre enjeu qui se présente est celui des répercussions, sur les parents, de cette information. Nous faisons ici référence aux réactions possibles à un diagnostic précoce et aux possibilités thérapeutiques, aux effets sur la relation parent-enfant, et aux conséquences sur les décisions en matière de reproduction. Une retombée positive du diagnostic en période néonatale est d'éviter le stress engendré par une odyssée diagnostique, qui peut comporter une batterie de tests et de visites en clinique, voire d'hospitalisations, dans l'expectative de connaître l'issue en termes de morbidité et de mortalité [Green *et al.*, 2006; Tran *et al.*, 2006; Lloyd-Puryear et Forsman, 2002]. Certains auteurs mentionnent que le diagnostic précoce peut aider les parents à se préparer, sur les plans émotif et pratique, au développement de la maladie chez l'enfant [Tran *et al.*, 2006; Pandor *et al.*, 2004]. Malgré le choc et l'expérience traumatisante vécus par les parents lors d'un dépistage positif chez le nouveau-né, il peut y avoir également des avantages psychologiques du fait de leur participation au traitement préventif. D'après les groupes de discussions de parents, un diagnostic précoce permet aux parents de se renseigner sur l'existence de thérapies expérimentales ou de modalités de prise en charge complémentaires; mais il convient d'ajouter à cela une mise en garde contre les risques potentiels du recours à des thérapies préjudiciables ou non éprouvées [Campbell et Ross, 2003]. Parmi les effets négatifs possibles mentionnons le traumatisme émotionnel subi par les parents suite à l'annonce d'un résultat « inattendu », ainsi que le risque de traiter l'enfant comme un malade et de le surprotéger avant même que n'apparaissent les symptômes (syndrome de l'enfant vulnérable). Le stress parental sera influencé par le type de maladie décelée et par le type de traitement éventuellement disponible. Il se peut qu'un traitement efficace soit connu et que son application soit fort simple ou au contraire fort contraignante. En revanche, il se peut qu'aucun traitement n'existe ou uniquement un traitement peu efficace. Campbell et Ross [2003] décrivent les résultats de groupes de discussion de parents qui, lorsqu'il est question du dépistage néonatal de maladies pour lesquelles il n'existe aucun traitement efficace, estiment que les « parents devraient être les seuls arbitres » en ce qui concerne le droit à l'information. Vu que l'opinion de ces groupes de discussion contraste avec le nombre relativement faible de personnes choisissant de recourir à des tests génétiques pour les maladies d'apparition tardive pour lesquelles il n'existe aucun moyen de

prévention ou de traitement efficace, on s'inquiète du fait que le désir des parents de connaître l'état de leur enfant ne serait, en fait, qu'un besoin d'être rassurés [Campbell et Ross, 2003]. Étant donné que, pour certaines maladies, le traitement est indispensable pour assurer une bonne santé et un développement normal, il est utile de connaître les facteurs qui favorisent ou non la fidélité au traitement. Les déterminants associés à une moins grande adhésion au régime chez les patients atteints de PCU incluent une non-adhésion au régime dans le passé, une difficulté à suivre le traitement et un statut familial d'immigrant [Crone *et al.*, 2005; Ipsiroglu *et al.*, 2005; Knerr *et al.*, 2005].

Il existe une controverse quant à la légitimité d'un dépistage qui comporterait uniquement des bénéfices pour la famille, sans avantages pour la santé de l'enfant. Par exemple, l'*Institute of Medicine* soutient que le dépistage chez les enfants de maladies incurables est inapproprié [Campbell et Ross, 2003]. En revanche, d'autres ont déclaré que lorsqu'une anomalie a été identifiée chez un enfant grâce au dépistage néonatal, même s'il n'y a aucune façon de prévenir la morbidité et (ou) la mortalité, les parents peuvent bénéficier de ces informations car cela leur permettrait de prendre des décisions mieux éclairées en matière de reproduction [Tran *et al.*, 2006; Pandor *et al.*, 2004; Wilken, 2003]. Comme la connaissance des informations générées par le dépistage néonatal a un effet non négligeable sur les parents, ceux-ci méritent un soutien à long terme pour mieux gérer ces répercussions.

8.3 Stigmatisation

L'enjeu de la stigmatisation renvoie notamment au risque que l'information génétique dérivée du dépistage néonatal entraîne une discrimination par des tiers, ou l'identification fortuite d'un statut de porteur ou d'une paternité faussement attribuée [Tran *et al.*, 2006; Green *et al.*, 2004; Carlson, 2004; McCabe et McCabe, 2002]. L'enjeu de la discrimination en ce qui concerne l'assurance-vie ou l'assurance-maladie, l'emploi ou les transactions avec les institutions financières, est une question qui ne relève pas seulement du dépistage néonatal, mais plus largement des tests génétiques. Dans quelques pays et régions, cette question a fait l'objet d'une législation spécifique, alors que dans d'autres la question n'a pas été abordée à ce jour. Le problème de l'identification possible d'un statut de porteur chez un nouveau-né se pose actuellement surtout pour le dépistage de la fibrose kystique et de l'anémie falciforme; mais à mesure que les programmes de dépistage s'élargissent, cela pourrait s'avérer pour d'autres maladies. Il n'existe aucun consensus sur l'obligation de communiquer le statut de porteur d'un bébé aux parents ou de ne pas dévoiler cette information (qui n'est pas directement liée à la santé de l'enfant). Une revue systématique de la littérature visant à évaluer l'effet de la divulgation du statut de porteur d'un nouveau-né aux parents, suite à sa découverte fortuite lors d'un dépistage néonatal, n'a révélé aucun essai clinique comparatif à cet égard. Les auteurs en ont conclu qu'il est nécessaire de mettre au point des interventions afin d'appuyer une telle divulgation et d'en évaluer les effets [Oliver *et al.*, 2004]. Même si les parents sont réellement intéressés à connaître l'état de santé de leur enfant, les informations concernant leur propre statut de porteur et les risques touchant les autres membres de la famille pourraient être inattendues dans le cadre d'un dépistage néonatal. Les parents d'enfants atteints de PCU ont signalé que l'effet psychologique d'apprendre qu'on est porteur est plus important au moment du diagnostic qu'au bout d'un certain temps [Read, 2004]. Comme les parents ne semblaient pas souffrir de conséquences à long terme, Read [2004] en conclut que l'effet psychologique diminue assez rapidement après le diagnostic. Étant donné qu'au moment du diagnostic, les parents doivent déjà s'ajuster aux besoins particuliers de leur enfant, il est probablement difficile de différencier les effets des multiples sources de stress. La révélation d'une paternité faussement attribuée

n'est pas non plus le seul fait des tests de dépistage, puisqu'elle peut survenir suite à d'autres tests génétiques. Dans la mesure où le dépistage néonatal pourrait à l'avenir être réalisé à l'aide de nouvelles techniques d'analyse de l'ADN (en lieu et place de tests biochimiques), ces enjeux, et d'autres encore, pourraient être soulevés. En fait, on estime que même si, pour l'instant, il est difficile d'anticiper l'ensemble des problèmes associés aux futures technologies, une exploration des enjeux éventuels, y compris celui de la stigmatisation, devrait être envisagée bien avant leur avènement et mise en œuvre [Wilcken, 2003].

8.4 Consentement

L'un des enjeux du dépistage néonatal les plus débattus, plus particulièrement du point de vue de la santé publique, est celui du consentement parental⁷⁸. Alors que les pratiques actuelles de dépistage néonatal tendent à se passer de consentement parental explicite [Grosse *et al.*, 2006a; Laflamme *et al.*, 2006; Kenner et Moran, 2005], l'importance grandissante de la transparence dans le domaine médical fait pencher la balance davantage en faveur du consentement parental obligatoire, surtout dans le contexte de l'élargissement du dépistage néonatal [Newson *et al.*, 2006; Avard, 2005; Hargreaves *et al.*, 2005; Clague et Thomas, 2002; Lloyd-Puryear et Forsman, 2002]. Un consentement éclairé implique à la fois information et consentement explicite; pour ce dernier, il existe des modèles avec option de participation ou de désistement.

Du point de vue du patient, le dépistage néonatal est en général considéré comme un soin de santé utile. La recherche indique toutefois que de nombreux parents ont peu de connaissances sur les maladies dépistées et sur les étapes du dépistage néonatal [Pollitt *et al.*, 1997]. Les résultats de groupes de discussion de parents aux États-Unis [Campbell et Ross, 2004] dévoilent que la plupart des gens ne se souviennent pas d'avoir eu recours au dépistage néonatal pour leurs enfants. Or, une fois qu'on leur explique le but du dépistage, les parents en comprennent les avantages et souhaitent obtenir plus de renseignements. D'après ces mêmes groupes de discussion, les parents issus de la population générale appuient fortement le dépistage obligatoire des maladies traitables comme la PCU, en invoquant des raisons comme le manque de connaissances des parents et en s'inquiétant de l'immaturité de certains parents [Campbell et Ross, 2003]. La plupart de ces répondants ont estimé que l'éducation parentale est très importante et qu'elle devrait être proposée le plus tôt possible après le début de la grossesse. Par ailleurs, la plupart d'entre eux étaient davantage préoccupés par la communication effective de l'information aux parents que par la nature du consentement requis. Plus de 90 % des femmes enceintes ont déclaré vouloir participer à nouveau au dépistage néonatal [Feuchtbaum *et al.*, 2006b]. En général, on observe de faibles taux de refus pour les programmes actuels de dépistage néonatal (0,05 % selon une étude américaine de 1982 et 0,116 % en Écosse en 2003); mais la façon dont l'option du refus est offerte aux parents en pratique est sujette à discussion [Newson, 2006]. La position du Royaume-Uni en matière de dépistage néonatal est de « fournir des informations de grande qualité aux parents afin de les aider à faire un choix éclairé, tout en soulignant que le dépistage devrait être recommandé ». Dans un projet pilote mené aux États-Unis et exigeant un

78. Pour le consentement, un continuum existe au sujet du degré de choix parental, du type d'information communiquée aux parents, de son mode de transmission et de la manière dont la décision parentale est exprimée et consignée au dossier [Hargreaves *et al.*, 2005]. L'attribution d'une plus grande responsabilité aux parents doit être appuyée par des informations et communications de meilleure qualité pour permettre un choix éclairé. Pour témoigner d'un choix parental explicite, plusieurs formules peuvent être retenues, soit un consentement ou un refus verbal (note consignée au dossier ou non), soit un consentement ou un refus écrit (note consignée au dossier ou non). À l'autre extrémité du spectre, on a recours à un modèle de consentement implicite qui n'est pas clairement énoncé pour le dépistage. Au Québec, il est déduit du consentement général aux soins et services signé par la parturiente lors de l'admission.

consentement éclairé, le taux de participation a atteint 90 % pour un dépistage néonatal élargi [Feuchtbaum *et al.*, 2006b]. Un projet allemand de dépistage néonatal élargi a également montré un taux élevé de participation, malgré l'exigence d'un consentement parental écrit [Liebl *et al.*, 2002b]. En outre, 48 États américains justifient le dépistage néonatal obligatoire en invoquant l'argument d'une urgence de type santé publique puisqu'on vise à minimiser les chances de non-détection et à prévenir les décès. Pourtant, dans les programmes de dépistage où l'on exige un consentement explicite, la plupart des parents se soumettent au dépistage néonatal [Grosse *et al.*, 2006a]. Il existe de toute évidence une tension entre l'autonomie parentale et ce qui constitue une ingérence raisonnable de l'État. Cependant, légalement, l'intérêt de l'enfant prime dans toute décision qui le concerne. D'aucuns estiment que, malgré la responsabilité morale des parents de soumettre leur enfant au dépistage, la loi ne devrait pas intervenir en raison de la faible prévalence des maladies et de la valeur de l'entité familiale. Au Royaume-Uni, les décideurs appuient les parents qui refusent les tests à condition que l'on offre à ces parents des renseignements supplémentaires et une consultation de suivi pour s'assurer que le refus du dépistage ne découle pas de problèmes de communication [Newson, 2006]. Le refus du dépistage néonatal est toutefois plus difficile à justifier pour une maladie dont la prévalence est élevée, qui a des conséquences sérieuses et qui peut être facilement prévenue.

Deux avis juridiques à propos du droit de refus du dépistage néonatal ont été recensés, en provenance d'Irlande [Laurie, 2002] et d'Australie [Skene et Nisselle, 2003]. La Cour suprême d'Irlande a accueilli favorablement l'appel de parents ne souhaitant pas soumettre leur nouveau-né aux tests de PCU et qui soutenaient que la famille est seule habilitée à décider des meilleurs intérêts de l'enfant. Les auteurs se demandent toutefois si les droits des parents devraient l'emporter sur ceux de l'enfant, et quelle place devrait être accordée à la responsabilité parentale. Ils s'inquiètent également de la brèche ouverte par cette intervention sans précédent de l'État dans le champ de la prise de décision familiale, puisque, pour l'instant, le dépistage de la PCU n'est explicitement obligatoire dans aucune juridiction occidentale. Même si la Cour européenne des droits de l'homme reconnaît le respect de la vie familiale, une dérogation est possible pour protéger la santé. En Australie, les parents ont le droit de refuser le dépistage néonatal, mais les auteurs de cet article, comme d'autres avant eux, se demandent si les parents sont suffisamment renseignés à cet égard [Skene et Nisselle, 2003]. Ces auteurs soutiennent que la question peut se résoudre en envisageant un « continuum dans lequel on favorise la plus grande autonomie parentale possible, sans que préjudice soit porté à l'enfant ». Même si la probabilité de déceler une maladie est faible, rater une occasion d'intervention précoce conduit à de graves conséquences. Ainsi, Spahis et Bowers [2006] se posent la question suivante : si un dépistage est si important que l'État l'exige pour chaque nouveau-né, le consentement est-il alors vraiment nécessaire ? Une autre question surgit par ailleurs : le but véritable du consentement éclairé est-il de fournir des informations et de répondre aux questions des parents, ou bien est-il d'obtenir une permission pour effectuer les tests ?

Les professionnels de la santé considèrent en général le dépistage néonatal comme un service de santé utile. Le professionnel de la santé chargé de fournir les informations et de demander le consentement aux parents peut varier selon le système de soins. Ce consentement éclairé est généralement obtenu dans l'hôpital où a lieu la naissance et ce au moment de procéder au prélèvement sanguin [Kim *et al.*, 2003; Lloyd-Puryear et Forsman, 2002]. Bien que ce soit pratique, ce n'est pas nécessairement le meilleur moment pour obtenir un consentement éclairé. Les participants à des groupes de discussion de parents ou de femmes enceintes [Feuchtbaum *et al.*, 2006b; Campbell

et Ross, 2004] s'accordent à dire que les informations sur le dépistage néonatal systématique devraient être fournies avant l'accouchement et dans le contexte des soins prénataux. Selon ces groupes, l'éducation parentale après l'accouchement n'est pas opportune compte tenu des multiples préoccupations des parents, alors qu'une bonne compréhension peut être escomptée si les renseignements sur le dépistage néonatal sont transmis durant la période prénatale [Campbell et Ross, 2004]. Plusieurs auteurs ont exprimé leur préoccupation quant à la capacité des professionnels de la santé à fournir les détails nécessaires à l'obtention d'un consentement éclairé pour le dépistage élargi du fait des contraintes de temps [Faulkner *et al.*, 2006; Feuchtbaum *et al.*, 2006b; Laing et McIntosh, 2004]. Aux États-Unis, lorsqu'on a questionné des prestataires de soins prénataux sur leur rôle de conseiller en matière de dépistage néonatal, on s'est rendu compte que leur implication était limitée pour les raisons suivantes : ils pensaient que quelqu'un d'autre s'en chargerait (le pédiatre ou un membre du personnel hospitalier); les patients ne les questionnent pas sur le sujet; ils ne possèdent aucune documentation sur le sujet ou bien leurs connaissances en la matière sont limitées; ils n'imaginaient pas qu'il leur revenait de fournir ces informations; ils n'ont pas assez de temps pour cette tâche; ils manquent de directives professionnelles à cet égard; la provision d'information au sujet du dépistage prénatal est prioritaire; les patients n'ont pas les moyens financiers pour participer au dépistage; et ce dépistage aurait un effet négatif sur la possibilité des patients de souscrire à une assurance [Faulkner *et al.*, 2006].

D'après Hargreaves et ses collaborateurs, les informations sur le dépistage néonatal fournies aux parents devraient être « succinctes, factuelles, et clairement exprimées verbalement et par écrit. Elles devraient porter sur les avantages et les limites du dépistage et tenir compte de la nature des renseignements que les parents souhaitent obtenir pour prendre une décision avisée quant au dépistage chez leur bébé ». En outre, des procédures rigoureuses entourant un refus devraient inclure « l'exploration des raisons entourant le refus et la consignation de celui-ci, sans toutefois exiger une signature des parents » [Hargreaves *et al.*, 2005]. En raison de l'influence que peuvent exercer les professionnels de la santé sur les décisions parentales, il est indispensable de prévoir des lignes directrices visant à standardiser les communications reflétant l'autonomie parentale, le bien-être de l'enfant et la politique de l'État sur le sujet. Acharya et ses collègues [2005] ont réalisé un sondage auprès de pédiatres sur leurs comportements à l'égard du dépistage néonatal. Les résultats montrent que, même s'ils se préoccupent des types de maladies visées et de la nature des tests (diagnostiques ou de prédisposition), des traitements disponibles et des coûts du dépistage, leur attitude vis-à-vis de l'élargissement du dépistage néonatal n'est pas corrélée aux caractéristiques professionnelles, mais plutôt à leur attitude à l'égard du dépistage pour leurs propres enfants.

Un autre aspect lié au consentement est celui de l'entreposage des échantillons et de leur utilisation ultérieure. On admet de plus en plus que les parents devraient comprendre et donner leur consentement pour l'entreposage et l'emploi éventuel des échantillons à des fins de recherche future; ceci exigerait des efforts accrus au niveau de la communication de ces informations [Carlson, 2004; McCabe et McCabe, 2004]. L'*American Academy of Pediatrics Newborn Screening Task Force* estime que les pressions d'ordre moral, juridique et social exercées en faveur du consentement écrit pour le dépistage néonatal pourraient augmenter [Lloyd-Puryear et Forsman, 2002]. Enfin, le consentement éclairé n'a fait l'objet que de rares études sur les meilleurs moyens et moments de renseigner les parents [Campbell et Ross, 2003]. Par ailleurs, aucune étude n'existe sur le comportement des parents face au dépistage de la PCU pouvant guider l'implantation du dépistage néonatal élargi [Green *et al.*, 2004]. Compte tenu des besoins des parents et des obstacles existant au sein du système de santé,

diverses solutions visant à transmettre efficacement les informations aux parents afin d'obtenir un consentement éclairé ont été proposées par des représentants du public, du domaine médical ou de la santé publique (annexe M). Plusieurs auteurs ont aussi souligné la nécessité d'augmenter les efforts en matière d'éducation des professionnels de santé de première ligne afin que les parents soient bien informés [Faulkner *et al.*, 2006; Kim *et al.*, 2003]. Il est quasiment certain que les enjeux liés au consentement éclairé seront encore plus accentués et complexes à mesure que les techniques génétiques évoluent et que le nombre de maladies pouvant être dépistées s'accroît [Newson, 2006; Tran *et al.*, 2006].

8.5 Lacunes des connaissances professionnelles

Les connaissances et les technologies génétiques évoluent très rapidement et, leur usage s'intégrant progressivement à la pratique médicale courante, tant les patients que les professionnels de la santé requièrent des connaissances adéquates pour comprendre les options qui leur sont offertes [Alexander et van Dyck, 2006; Kenner et Moran, 2005; Therrell, 2003]. Comme les professionnels formés en génétique sont rares, la transmission d'informations sur les programmes de dépistage néonatal est nécessairement assumée par d'autres professionnels de la santé, soit avant soit après les tests. Des sondages menés auprès de divers professionnels de la santé soulignent toutefois le manque de connaissances de ceux-ci sur le sujet [Faulkner *et al.*, 2006; Feuchtbaum *et al.*, 2006b; Gennaccaro *et al.*, 2005; McCabe et McCabe, 2004; Farrell *et al.*, 2001]; les tenir au courant des maladies dépistées représente par conséquent un défi de taille, surtout si on songe à élargir les programmes de dépistage néonatal [Lukacs et Santer, 2006]. Une évaluation de plusieurs programmes américains de dépistage néonatal a montré que 86 % d'entre eux accordent une formation aux professionnels de la santé, 69 % visant les médecins de première ligne [Kim *et al.*, 2003]. Pour que les programmes de dépistage néonatal soient efficaces, il est primordial de combler le fossé des connaissances professionnelles sur le sujet.

8.6 Impacts sociétaux

Les programmes de dépistage néonatal sont ordinairement des programmes de santé publique et, à ce titre, ont diverses ramifications sociétales au niveau de l'implication des parties prenantes dans la planification des programmes et la recherche, l'accessibilité et l'équité, les coûts et les aspects juridiques.

Alors que les critères établis en 1968 par Wilson et Jungner sont traditionnellement utilisés pour appuyer la prise de décision concernant la mise en œuvre des programmes de dépistage, l'évolution des technologies et des valeurs de la société incite à la révision de ces critères. Jusqu'à maintenant, aucun consensus sur les critères et principes de sélection des maladies à inclure dans le dépistage néonatal n'a été atteint [Roschinger *et al.*, 2003]. Plusieurs auteurs ont appuyé l'idée que différents acteurs devraient être impliqués dans la prise de telles décisions de sorte que diverses pratiques et différentes visions des enjeux soient représentées. McCabe et McCabe [2004] ont déclaré que le public en général devrait également s'impliquer activement dans l'établissement d'une politique de dépistage; Kim et ses collaborateurs [2003] ont proposé que les médecins de première ligne fassent partie des comités consultatifs sur le dépistage néonatal puisque que leur participation est importante pour la réussite de tels programmes. Le dialogue entre communauté professionnelle et grand public est indispensable afin que les directives professionnelles tiennent compte des besoins et des intérêts des parents et des familles [Campbell et Ross, 2003]. Enfin, d'autres auteurs ont laissé entendre qu'il serait avantageux, pour la pertinence de la recherche, d'impliquer des usagers dans

la conception des études [Rutherford et Poustie, 2005; Poustie et Rutherford, 2000a; Poustie et Rutherford, 2000b].

Les enjeux d'accessibilité et d'équité dans le dépistage néonatal ont fait l'objet de rapports dans certains pays. L'*Advisory Committee on Heritable Disorders and Genetic Disease in Newborns and Children*, mis sur pied par le *US Department of Health and Human Services*, a statué en mai 2005, que tous les États devraient procéder au dépistage néonatal de 29 maladies comme proposé par l'*American College of Medical Genetics*. Cette recommandation n'oblige en rien les différents États à réglementer le dépistage néonatal de la sorte, mais elle devrait néanmoins les influencer. Environ 20 États adhèrent actuellement à ces nouvelles recommandations, mais les modalités organisationnelles du dépistage et les coûts supplémentaires engagés par les familles varient selon les États [Alexander et van Dyck, 2006; Spahis et Bowers, 2006; Therrell *et al.*, 2006; ASTHO, 2005]. De plus, les parents ne sont pas toujours renseignés sur l'élargissement du dépistage néonatal à un plus grand nombre de maladies [Spahis et Bowers, 2006]. Dans certains États, un enjeu connexe est celui de la privatisation, certaines entreprises privées participant maintenant au dépistage néonatal, soit en faisant concurrence aux laboratoires publics en offrant des services de dépistage, soit en fournissant des services pour le compte des ministères de la santé des États [Waisbren et Levy, 2004]. Cette situation peut aller à l'encontre d'un dépistage universel puisque certains tests seraient plus accessibles aux parents bien renseignés sur les options qui leurs sont offertes et capables d'en assumer les frais [ASTHO, 2005]. Compte tenu des effets de la privatisation, le besoin de directives pour le dépistage néonatal se fait plus pressant [Green *et al.*, 2006]. Aux États-Unis, plusieurs facteurs, et notamment les initiatives fédérales et des États, la pression publique, le secteur privé et la disponibilité des nouvelles technologies ont accéléré l'élargissement des programmes de certains États, la pression publique étant citée comme la principale force d'entraînement [ASTHO, 2005].

Au Canada, la *Garrod Society* mettait sur pied en mai 2005 un groupe de travail pluridisciplinaire comprenant des décideurs, des prestataires de soins de santé, des consommateurs et des chercheurs pour débattre des enjeux sociaux, éthiques et juridiques entourant l'élargissement du dépistage néonatal [Avard, 2005]. Ses recommandations comptaient entre autres l'élaboration de normes nationales minimales et un soutien plus important à la recherche dans ce domaine. Il est apparu évident que la disparité régionale des ressources aurait une nette incidence sur l'accessibilité aux services, y compris l'introduction de nouvelles technologies, l'ajout d'autres maladies aux programmes de dépistage, le traitement et le suivi adéquats des patients, ainsi que sur l'assurance de qualité et l'évaluation continue des programmes de dépistage. Les auteurs ont cependant soutenu que toute prise de décision devrait se baser sur l'évaluation des données probantes et sur les valeurs sociétales, plutôt que sur la seule disponibilité des ressources.

La prise en compte des coûts est essentielle, particulièrement dans le contexte d'un système universel des soins de santé. Bien que les coûts d'investissement soient importants pour la technologie MS/MS, il convient d'envisager la possibilité pour les laboratoires cliniques de réaliser des économies à long terme (par exemple, par une baisse des coûts des réactifs, la réduction des espaces requis, une diminution du personnel et des délais d'exécution). De surcroît, l'on estime que la précision accrue des mesures de MS/MS pourrait entraîner d'autres économies de temps et d'argent grâce à la baisse du nombre de tests à reprendre et de diagnostics erronés [Dalluge, 2002]. Le dépistage offre d'autres avantages potentiels comme la réduction des coûts attribuable à la rationalisation du processus diagnostique dans le cas d'un enfant dépisté plutôt que

diagnostiqué cliniquement [Green *et al.*, 2006]. Les coûts d'utilisation vont varier d'un endroit à l'autre, selon la prévalence régionale de la maladie, les coûts liés à la prise en charge des personnes symptomatiques, les coûts d'acquisition de la MS/MS, la spécificité de la MS/MS, les coûts du prélèvement, les coûts liés au suivi et à la prise en charge des individus dépistés, les salaires du personnel engagé par le programme de dépistage, et le coût actuel du dépistage néonatal [Tran *et al.*, 2006]. Les points de vue sur les coûts du dépistage néonatal divergent notablement selon les intervenants. Si d'aucuns estiment que les tests de dépistage devraient être réalisés chez tous les nouveau-nés, peu importe le coût, à condition que le dépistage et le diagnostic précoce fassent une différence pour l'enfant atteint [Howse et Katz, 2000], d'autres maintiennent qu'il ne faut pas négliger la question des coûts en matière de santé publique [Hinman *et al.*, 2001].

8.7 Recherche et évaluation

Une tension évidente existe entre les objectifs des services et de la recherche. L'un des obstacles à la mise en œuvre des programmes de dépistage néonatal a été le manque de données factuelles venant appuyer la pertinence d'introduire de tels programmes. Il peut en effet être difficile de mener des projets de recherche évaluant rigoureusement les résultats à long terme du dépistage, mais on admet que de nombreuses données peuvent provenir des programmes actuels de dépistage néonatal élargi [Liebl *et al.*, 2003]. On a ainsi déjà beaucoup appris, *a posteriori*, sur l'hétérogénéité génétique et clinique des maladies identifiées dans les programmes existants de dépistage néonatal (elles sont toutes plus hétérogènes qu'on ne le croyait initialement, par exemple) [Seashore et Seashore, 2005]. Les informations manquantes pour une prise de décision éclairée concernant les programmes de dépistage néonatal peuvent inclure la pénétrance des mutations, les risques relatifs pour différents groupes ethnoculturels et l'efficacité réelle des nouveaux traitements et des nouvelles stratégies de prévention [McCabe et McCabe, 2004; Wilcken, 2004]. Des détails opérationnels comme l'âge au moment du prélèvement et le site du dépistage doivent aussi être pris en compte pour aborder les enjeux d'accessibilité et d'équité. Un des avantages secondaires du dépistage est l'identification de sujets potentiellement intéressés à participer à des essais cliniques de nouvelles interventions [Green *et al.*, 2006]. Les données générées par de telles recherches peuvent en bout de ligne soit justifier la poursuite du dépistage génétique, soit motiver l'arrêt du dépistage pour certaines maladies.

En plus de ces données spécifiques aux maladies, la recherche devrait aussi se pencher sur la prestation des services et développer de nouveaux modèles pour en étudier la qualité et l'efficacité. Il n'existe pas de mesures de la qualité des services de counselling, rendant ainsi difficile l'assurance qualité et l'optimisation des pratiques, alors que ce type de recherche pourrait s'avérer primordial pour les défis que posent, à mesure qu'elles évoluent, les nouvelles technologies de dépistage néonatal [Farrell *et al.*, 2001].

La conservation des prélèvements sanguins, potentiellement utilisables pour la recherche future, risque de poser des problèmes moraux qui doivent faire l'objet de débats [McCabe *et al.*, 2002]. Dans le cadre d'un projet de recherche utilisant des échantillons anonymes provenant d'un dépistage néonatal, des préoccupations ont surgi quant à la pertinence d'informer de leur statut les personnes trouvées porteuses hétérozygotes de la mucoviscidose [Williamson, 2003]. La question clé est la suivante : « les risques théoriques et philosophiques d'atteinte à la vie privée », et par conséquent le droit de ne pas savoir, devraient-ils l'emporter sur l'importance d'informer ces personnes du risque d'avoir un enfant atteint de mucoviscidose [Williamson, 2003]. Nombre de comités d'éthique pour la recherche insistent sur la nécessité d'obtenir un consentement explicite

autorisant l'entreposage des échantillons et leur utilisation pour la recherche future, ainsi qu'un consentement explicite pour être recontacté au cas où des informations médicales importantes seraient découvertes durant ces recherches.

L'utilisation des nouvelles technologies, permettant le dépistage d'un plus grand nombre de maladies, élargira considérablement la nature et la quantité des données factuelles disponibles [Seashore et Seashore, 2005; Khoury *et al.*, 2002]. Toutefois, certains auteurs ont exprimé des inquiétudes à l'effet que le poids des connaissances acquises grâce aux recherches pourrait à l'avenir être éclipsé, dans les décisions concernant la mise en œuvre des programmes de dépistage néonatal, « par les pressions politiques des groupes de parents... et par les poursuites judiciaires » [Liebl *et al.*, 2003].

8.8 Enjeux organisationnels

De nombreux auteurs se sont interrogés sur les conséquences de l'élargissement du dépistage néonatal à un grand nombre de maladies, ce débat étant particulièrement animé aux États-Unis à la lumière de la récente prise de position de l'*American College of Medical Genetics* [Watson *et al.*, 2006]. Une enquête auprès des programmes américains de dépistage néonatal a révélé que les principales difficultés auxquelles font face les États qui envisagent d'introduire la MS/MS sont les problèmes de financement attribuables aux coûts élevés de l'équipement et des réactifs, ainsi que la disponibilité de spécialistes pour assurer le suivi des patients [Feuchtbaum *et al.*, 2006a]. Alors que par endroits on hésite à adopter la technologie MS/MS parce que les principes fondateurs de la santé publique des programmes de dépistage ne sont pas tous satisfaits, on prétend ailleurs que le faible taux de prévalence d'une maladie en particulier devient moins important que la prévalence combinée de l'ensemble des maladies détectées par cette technologie [Lloyd-Puryear et Forsman, 2002]. D'autres hésitations résulteraient des coûts d'acquisition de cette nouvelle technologie, des dépenses liées au diagnostic et au suivi pour de nouvelles maladies qui, bien que rares, nécessitent néanmoins des investissements dans les services médicaux et la formation des professionnels [Comeau *et al.*, 2004]. Un rapport publié aux États-Unis par l'*Association of State and Territorial Health Officials* [ASTHO, 2005] a montré qu'au niveau des laboratoires, l'introduction de la MS/MS représente un choix relativement simple comparativement aux nombreuses décisions sur le plan fiscal, éthique et du système de santé, qu'implique l'implantation d'un programme de dépistage néonatal élargi.

Un usage restreint d'une technologie qui par ailleurs est en mesure de dépister nombre d'autres maladies constitue un enjeu supplémentaire méritant réflexion. Le dépistage du MCADD et l'expansion du dépistage à d'autres maladies devenant graduellement la norme aux États-Unis et dans certaines provinces canadiennes, la question de la responsabilité légale pourrait surgir dans les provinces n'offrant pas ces soins. Selon certains experts, la question de l'iniquité se pose du fait de l'existence de recommandations professionnelles en faveur de l'élargissement du dépistage néonatal, même si les fondements scientifiques à l'appui font parfois défaut. Ils soutiennent dès lors que « un retard déraisonnable est aussi moralement irresponsable qu'une action prématurée » [Cunningham *et al.*, 2005]. À mesure que les technologies évoluent et que davantage de gènes sont découverts, on prévoit une augmentation du nombre de maladies pouvant être dépistées, ainsi qu'une volonté accrue des professionnels de la santé à les inclure dans les programmes de dépistage néonatal. Aujourd'hui, en plus des anomalies repérables par la MS/MS, on a ajouté à certains endroits (ou on est sur le point de le faire) des maladies comme: le déficit en biotinidase, la fibrose kystique, l'hyperplasie surrénalienne congénitale, la surdité congénitale, la galactosémie et

certaines hémoglobinopathies [Spahis et Bowers, 2006; McCabe et McCabe, 2002]. Par ailleurs, des projets de dépistage néonatal ont aussi vu le jour ou sont débattus pour des pathologies comme le syndrome du X fragile, la dystrophie musculaire de Duchenne, le déficit en glucose-6-phosphate déshydrogénase et le diabète de type 1 [Acharya *et al.*, 2005; Campbell et Ross, 2003; Clague et Thomas, 2002].

Comme il est difficile en pratique d'exiger un consentement explicite pour certaines maladies et pas pour d'autres, il convient d'étudier soigneusement l'ajout de toute nouvelle maladie aux programmes de dépistage néonatal [Tran *et al.*, 2006]. Avec l'accroissement du nombre de maladies faisant l'objet du dépistage vient aussi un besoin de diversification des expertises requises pour prendre en charge le dépistage néonatal [Seashore et Seashore, 2005, Carlson 2004]. Enfin, du fait que cette technologie conduit parfois à l'identification de maladies ou de susceptibilités non ciblées par le dépistage, des décisions doivent être prises quant au traitement de tels résultats. En somme, toute la question de la légitimité des programmes de dépistage se pose avec plus d'acuité avec l'avènement de techniques de dépistage dites « multiplex » qui permettent le dépistage de multiples anomalies, comme la MS/MS et, éventuellement, la technologie des micropuces d'ADN.

Passant d'une perspective de politique publique à une perspective plus opérationnelle, mentionnons que plusieurs groupes insistent sur l'importance de concevoir le dépistage néonatal comme un système global et intégré. Un tel système comporte les éléments suivants : le dépistage initial, le suivi à court terme des tests avérés positifs, la confirmation diagnostique, la prise en charge clinique initiale et à long terme, ainsi que l'évaluation de toutes les composantes du système [Kim *et al.*, 2003; Roschinger *et al.*, 2003; Elliman *et al.*, 2002; Lloyd-Puryear et Forsman, 2002; McCabe et McCabe, 2002; McCabe *et al.*, 2002]. Ce système a pour objectif de garantir qu'aucun échantillon, ni élément d'information ne soit perdu. Comme chacune des composantes de ce système doit être à la fois fonctionnelle et interconnectée, tous les professionnels participant aux programmes doivent bien comprendre et s'acquitter de leur rôle. Un projet pilote de dépistage néonatal élargi aux États-Unis a mis en évidence l'importance des liens avec les infirmières coordonnatrices et les spécialistes en maladies métaboliques pour soutenir et informer les prestataires de soins pédiatriques, peu préparés à répondre aux questions des patients [Feuchtbaum *et al.*, 2006b]. Parmi les défis associés aux systèmes intégrés de dépistage néonatal comptent les contraintes législatives régionales, les enjeux portant sur la protection et la confidentialité des informations, le financement et l'entretien à long terme de l'équipement, la disponibilité de l'expertise et des ressources financières et humaines nécessaires, ainsi que la volonté politique et l'atteinte d'une vision partagée des objectifs et des moyens à mettre en œuvre [Kim *et al.*, 2003; Therrell, 2003; Wiley *et al.*, 2003]. D'autres défis connexes, notamment le manque de personnel qualifié et de matériel éducatif, deviendront probablement moins aigus au fil du temps avec l'expérience acquise grâce aux programmes en place [Feuchtbaum *et al.*, 2006a].

L'élargissement du dépistage complique considérablement la gestion des résultats même si, sur le plan technologique, il est facile de détecter plusieurs maladies à partir d'un seul échantillon. Cette complexité ne découle pas seulement de l'absence de thérapies efficaces pour certaines des maladies décelables par la MS/MS. En amont, l'analyse d'un nombre accru de métabolites va déjà donner lieu à davantage de valeurs anormales décelées, nécessitant de nouvelles analyses cliniques et en laboratoire, même si individuellement chaque mesure présente un faible taux de résultats faux

positifs [Seashore et Seashore, 2005]. Des tests de contrôle pour confirmer ou infirmer les résultats du dépistage vont bien sûr résoudre certains problèmes (en éliminant quelques faux positifs), mais cela exige temps et main-d'œuvre. Élargir le spectre du dépistage accroîtra le taux global de détection de maladies [Marsden *et al.*, 2006; Wilken, 2003], mais amplifiera en même temps les risques de non-détection (se traduisant par un taux plus élevé de résultats faux négatifs). Ceux-ci peuvent être causés, entre autres, par des difficultés procédurales liées à l'inadéquation des échantillons ou à des prélèvements trop précoces, ou bien à la difficulté d'assurer le suivi des résultats anormaux [Liebl *et al.*, 2002a].

La mise en œuvre d'un programme de dépistage néonatal entraîne plusieurs problèmes organisationnels qui doivent être résolus tant avant que pendant le fonctionnement du programme, entre autres par l'élaboration de protocoles ou de procédures opérationnelles standardisées (SOP) pour les différentes composantes du système intégré. Une enquête auprès de programmes américains de dépistage néonatal a montré que, pour les États offrant actuellement la MS/MS, les principaux enjeux sont : obtenir un appui au sein de l'organisation, choisir des valeurs seuils adaptées à la population desservie, et s'entendre sur les protocoles et les lignes directrices pour les examens de confirmation diagnostique [Feuchtbaum *et al.*, 2006a]. Spahis et Bowers [2006] ont relevé le manque de protocoles et de normes à propos : de la gestion des valeurs anormales décelées en laboratoire, de la transmission des résultats anormaux, des processus optimaux de confirmation diagnostique, de traitement des nouveau-nés atteints, de consultation génétique, de prise en charge médicale et de suivi à long terme. L'élaboration des objectifs opérationnels du programme, par exemple sur le plan du moment opportun pour les prélèvements, des délais d'exécution des tests et des ressources d'appoint, constitue une étape indispensable dans la planification.

Une fois le programme de dépistage établi, de nombreux défis restent à relever pour le bon fonctionnement des opérations, surtout au niveau de la coordination et de la communication. Un projet allemand de dépistage néonatal par la MS/MS a démontré que le programme pouvait être efficace et relativement peu coûteux grâce à la centralisation, à l'informatisation et à l'intégration du dépistage au sein d'une structure de santé publique [Liebl *et al.*, 2002a]. Pour la gestion des résultats positifs au dépistage, et en particulier pour les rappels, ils ont employé avec succès une procédure coordonnée d'assurance qualité. Avec cette approche centralisée, une seule intervention était nécessaire pour obtenir un second échantillon dans la majorité des cas (80 %). Ce résultat est passé à 98,8 % après communication avec les parents, le médecin ou les autorités régionales de santé publique. Pour être véritablement efficace, un programme de dépistage néonatal doit pouvoir compter sur un mécanisme de communication sans faille entre le système de santé publique et le médecin de première ligne [Comeau *et al.*, 2004; Kim *et al.*, 2003]. Au plan du suivi des résultats, l'enquête auprès des programmes américains de dépistage néonatal a révélé que la majorité des programmes informaient le médecin de première ligne mais aussi les parents directement dans 59 % des cas [Kim *et al.*, 2003]. On a également suggéré que des systèmes d'information électroniques soient mis en place pour faciliter la communication directe entre les autorités de santé publique et le médecin de première ligne.

Plusieurs auteurs insistent sur les avantages de l'informatisation des programmes de dépistage néonatal pour le stockage des données, la classification des résultats, la rédaction

des rapports d'analyse et des lettres, la tenue de registres des maladies, la production des rapports sur la performance du programme (avec des données comme la sensibilité et la spécificité du dépistage, les valeurs prédictives positives, les coûts, les délais d'exécution, l'assurance qualité, etc.), ainsi que l'accès aux données par les professionnels de la santé [Frazier *et al.*, 2006; Kim *et al.*, 2003; Wiley *et al.*, 2003]. Vu le manque de données sur l'évolution naturelle et le pronostic de plusieurs maladies, un suivi à long terme, dans le cadre du monitoring du programme, des patients testés positifs au dépistage aurait l'avantage de documenter l'efficacité du dépistage et du traitement précoce. Ceci comporterait des défis particuliers tels le suivi de patients atteints qui, lorsqu'ils deviendront à leur tour des parents, auront à faire face à un risque accru pour leurs propres enfants, comme pour la PCU maternelle [Kalter, 2003]. En dernier lieu, un registre central pour la diffusion de l'information sur les nouveaux traitements et sur l'avancement des connaissances médicales pourrait être intégré au système [Kim *et al.*, 2003].

8.9 Discussion

La plupart des enjeux psychologiques, sociaux, juridiques et éthiques mentionnés ci-dessus ont trait aux pratiques actuelles du dépistage néonatal. L'élargissement du dépistage, plutôt que de créer de nouveaux problèmes, vient essentiellement exacerber nombre d'entre eux, notamment les enjeux d'ordre organisationnel.

Si l'on considère l'introduction du dépistage néonatal par la MS/MS spécifiquement pour les trois maladies d'intérêt, les enjeux suivants sont susceptibles de revêtir une signification particulière :

- 1) les répercussions de l'incertitude, avec d'une part une réduction possible du nombre de faux positifs pour la PCU, et d'autre part davantage de nouveau-nés recevant un diagnostic de MCADD sans que la pénétrance et le pronostic à long terme soient bien connus;
- 2) le consentement, pour lequel la procédure optimale et ses implications sur le plan de l'offre des services n'ont pas été établies;
- 3) l'offre de services, avec un besoin accru de services de conseil génétique et de suivi par des experts en maladies métaboliques pour les cas additionnels d'enfants atteints de MCADD diagnostiqués;
- 4) l'éducation des professionnels de la santé, avec des besoins accrus de professionnels de première ligne formés pour fournir l'information sur le MCADD avant le dépistage et pour assurer le suivi des patients dont le MCADD a été dépisté en bas âge.

Des problèmes plus aigus se posent toutefois avec la possibilité d'élargir le dépistage à un grand nombre de maladies, en particulier quand l'évolution naturelle et la preuve des bénéfices du traitement précoce sont moins bien établies. Sur ce plan, certains auteurs favorisent le maintien de l'approche classique énoncée par les critères de Wilson et Jungner [1968] qui placent le nouveau-né au centre de l'évaluation des avantages et des inconvénients. D'autres pensent plutôt qu'il est nécessaire d'élargir ces critères afin de prendre en considération les bénéfices familiaux au chapitre des choix de procréation éclairés. Compte tenu de la diversité des maladies au niveau de l'expression phénotypique et de la pénétrance des mutations, il demeure important d'évaluer chaque EIM séparément [Holtzman, 2003]. Toutefois, certains auteurs proposent une approche plus globale, puisque le dépistage néonatal d'une de ces maladies peut en révéler une autre non ciblée par le dépistage [Pollitt, 2006]. Cette dernière possibilité soulève par

ailleurs un problème concret de gestion des résultats. Ici encore les avis sont partagés⁷⁹, opposant ceux qui jugent ce point comme un des enjeux éthiques principaux liés à l'élargissement du dépistage néonatal à ceux qui considèrent que ce problème se pose déjà avec le dépistage de la PCU, par l'identification occasionnelle de troubles du métabolisme de la BH4 [Pollitt, 2006; Matern, 2002]. Ces débats contribuent à la diversité des procédures adoptées par différents pays, diversité qui pourrait aussi s'expliquer par des différences dans l'organisation et le financement des services de dépistage néonatal, la qualité discutable de la littérature et de l'information qui en découle, l'absence de standardisation quant aux critères de dépistage néonatal et la diversité des affiliations professionnelles des membres des comités évaluant ces critères [Pollitt, 2006].

Pour faire face aux enjeux soulevés par le passage à la MS/MS et l'élargissement du dépistage néonatal, que ce soit pour le MCADD considéré dans un premier temps ou pour un éventail plus large de maladies, les approches suivantes sont préconisées : de meilleures stratégies de communication avec les patients, le renforcement des efforts d'éducation des professionnels de la santé, et l'organisation du dépistage néonatal sous forme d'un système intégré de services comprenant un système de surveillance global avec des collectes de données sur l'état de santé des patients et sur l'utilisation des services. Ces approches sont liées, en ce sens qu'une amélioration du niveau de connaissances des professionnels de la santé mènerait à court terme à une meilleure information des patients et réduirait d'autant les enjeux concernant l'incertitude, l'information et le consentement. À long terme, un système intégré de dépistage néonatal conduirait à un accroissement des connaissances relatives aux maladies et à une réduction de l'incertitude quant à l'interprétation des tests et au pronostic. Il s'ensuit qu'une information plus complète et de meilleure qualité serait disponible pour les patients, les professionnels et les gestionnaires du système de santé.

79. La diversité dans les positions entre les pays peut être illustrée par la situation aux EUA et en Allemagne. En effet, la majorité des États américains ont décidé d'exiger la transmission des résultats pour toutes les maladies dépistées. Par contre, l'Allemagne qui a dépisté pour un grand nombre d'EIM lors de projets pilotes a restreint ce nombre à 10 suite à une évaluation réalisée par le 2002 *Interdisciplinary Screening Commission* de la *German Society of Pediatrics*. Parallèlement, le ministère fédéral de la santé et de la sécurité sociale a interdit le dépistage de tout autre EIM et a « décrété que les EIM non ciblées mais dépistées accidentellement doivent être ignorées et que les résultats ne doivent pas être transmis à quiconque » [Pollitt, 2006].

Avec le développement de la spectrométrie de masse en tandem (MS/MS) s'est ouvert un débat dans la communauté scientifique sur la pertinence d'élargir les programmes de dépistage néonatal pour y inclure nombre de maladies liées à des erreurs innées du métabolisme des acides aminés, des acides gras et des acides organiques. Des pressions en ce sens se font sentir des professionnels de la santé, des groupes de patients et de l'industrie. Cette technologie peut être utilisée de façon sélective pour dépister des erreurs innées du métabolisme particulières ou, en mode balayage, pour détecter tous les profils métaboliques liés à plus d'une trentaine de maladies de cette famille. L'enjeu décisionnel comporte deux facettes distinctes, soit le remplacement des technologies actuellement utilisées pour le dépistage néonatal de la PCU et de la TH1 par la MS/MS⁸⁰ et l'élargissement du dépistage à d'autres maladies. Pour ce dernier volet, l'utilité clinique et la pertinence doivent être rigoureusement évaluées pour chaque erreur innée du métabolisme. La maladie qui, d'après la littérature, vient au premier rang des candidats potentiels pour intégration au dépistage néonatal est le déficit en *Medium Chain Acyl-CoA Dehydrogenase* (MCAD), ou MCADD.

Les avantages de la technologie MS/MS mis de l'avant par ses promoteurs sont : sa capacité de dépister un nombre élevé de maladies en une seule étape analytique; sa capacité de détecter des maladies non dépistables par d'autres techniques, comme le MCADD; le caractère automatisé de la technologie, qui est adaptée à un débit élevé; et une meilleure performance que d'autres techniques de dépistage (réduction du nombre de faux positifs pour la PCU, par exemple). Tout en reconnaissant les avantages théoriques de cette technologie, les auteurs des revues systématiques publiées à ce jour ont souligné plusieurs lacunes importantes dans les connaissances qui relativisent les présuppositions de ses promoteurs. Ils mentionnent en particulier que la performance de la MS/MS pour le dépistage néonatal a généralement été évaluée pour des groupes d'erreurs innées du métabolisme et rarement pour des maladies individuelles. Compte tenu des plans d'étude utilisés, l'estimation de la proportion de faux négatifs demeure aléatoire et dépend des modalités d'organisation des services cliniques pour les maladies métaboliques rares. En outre, pour nombre de maladies, les données épidémiologiques sont rares, l'évolution naturelle de la maladie est relativement mal connue, et les bénéfices cliniques du dépistage n'ont pas été établis de façon ferme. Certaines de ces limites tiennent à la difficulté de colliger des données sur des maladies rares dont le diagnostic clinique peut également être complexe.

Compte tenu de ces limites, les auteurs de revues systématiques se sont montrés prudents dans leurs recommandations. Les premières de ces revues systématiques, qui datent de 1997, concordaient pour souligner le potentiel de la technologie sans toutefois recommander le remplacement technologique. Plusieurs auteurs préconisaient la mise en place de projets pilotes de grande envergure sur le dépistage de la PCU et du MCADD⁸¹ pour en évaluer la performance, l'efficacité et les bénéfices pour la santé. La revue de la littérature plus récente montre que davantage d'études présentent des données sur la performance de la MS/MS pour le dépistage de maladies individuelles. Toutefois, aucune nouvelle étude portant spécifiquement sur le dépistage du MCADD n'a été repérée.

80. Rappelons que le dépistage de l'hypothyroïdie congénitale ne peut pas être réalisé par MS/MS.

81. Un des deux rapports britanniques ajoute l'acidémie glutarique de type I à cette liste [Seymour *et al.*, 1997].

Même si des données préliminaires commencent à s'accumuler sur l'effet de la prise en charge précoce après dépistage du MCADD, cette littérature repose sur un nombre de cas et un recul limités, et aucune étude comparative prospective n'a été publiée. Pourtant, les revues systématiques plus récentes tendent à recommander l'implantation de programmes de dépistage pour la PCU et le MCADD, d'autant plus que plusieurs exercices de modélisation économique semblent indiquer que le remplacement technologique serait efficient à partir du moment où le dépistage porte sur au moins deux maladies, dont la PCU. Cette évolution des points de vue ne tient pas tant, semble-t-il, à l'accumulation de nouvelles connaissances qu'à la difficulté d'implanter les projets pilotes qui avaient été recommandés. Cette prudence, qui limite les recommandations à quelques maladies, est loin d'être généralisée, et nombre de revues non systématiques et de publications basées surtout sur des opinions d'experts se sont prononcées en faveur du remplacement technologique et d'un élargissement des indications du dépistage néonatal à une vaste gamme d'erreurs innées du métabolisme. Ces recommandations ont été suivies de décisions allant dans ce sens dans plusieurs États, mais ont également suscité un débat quant à la place des données probantes dans ce type de décision.

Le présent travail considère le remplacement technologique pour le dépistage néonatal de la PCU et de la TH1 au Québec et examine la pertinence d'y ajouter le MCADD. Il repose sur une revue de la littérature sur l'évolution naturelle des trois maladies considérées, leur épidémiologie et l'efficacité de leur traitement, la performance de la technologie MS/MS et les données sur le coût et l'efficacité. Une analyse des coûts ainsi que l'étude des enjeux éthiques, psychosociaux et organisationnels viennent compléter le rapport. Dans un deuxième temps, l'élargissement du dépistage à d'autres maladies pourrait être considéré, selon un ordre de priorité à définir et selon l'information disponible.

Notre revue des données scientifiques sur la performance de la MS/MS vient confirmer les réserves soulevées dans les revues systématiques précédentes quant à la qualité des études. Ces réserves portent particulièrement sur les plans d'étude, la présentation des résultats, la sélection de la population étudiée et l'absence de standardisation par rapport à plusieurs facteurs pouvant affecter la qualité de l'analyse par MS/MS et par rapport aux tests de confirmation diagnostique. Les données scientifiques disponibles dérivent majoritairement d'études de cohortes prospectives provenant de programmes de dépistage néonatal. Cet état de fait tient à la difficulté, soulignée par plusieurs auteurs, de réaliser des études comparatives prospectives avec un groupe témoin approprié. Dans le cadre de ces programmes, la confirmation diagnostique, qui doit servir de test de référence, n'est réalisée que pour les patients ayant eu un résultat positif au test MS/MS, de sorte que la qualité de l'information sur les proportions de faux négatifs reste précaire.

Globalement, les résultats des différentes études révisées indiquent que la sensibilité, la valeur prédictive négative et la spécificité du test par MS/MS sont élevées, que ce soit pour le dépistage néonatal de groupes de maladies ou pour le dépistage néonatal sélectif de la PCU, de la TH1 et du MCADD. Il est toutefois possible que la sensibilité et la valeur prédictive négative aient été surestimées en raison de la précarité des données sur les faux négatifs. Par ailleurs, une variabilité considérable de la valeur prédictive positive a été notée, alors que la variation de la prévalence des erreurs innées du métabolisme d'une étude à l'autre était généralement faible. L'hétérogénéité des caractéristiques des populations étudiées, de l'âge au prélèvement sanguin, des choix des marqueurs métaboliques, des valeurs seuils, des protocoles de classification des résultats de la MS/MS et des tests de confirmation diagnostique peut modifier la spécificité du test et expliquer la variabilité des valeurs prédictives positives.

Ces résultats de performance ne seraient pas automatiquement applicables si des modifications étaient apportées aux protocoles analytiques utilisés dans les études révisées. En effet, la technologie est encore en constante évolution sur le plan des procédés analytiques. Parmi les changements technologiques à l'horizon susceptibles de modifier la performance de la MS/MS de manière notable, notons l'intégration de l'analyse d'autres métabolites (succinylacétone) au protocole déjà utilisé pour le dépistage néonatal de la TH1, et la suppression de l'étape de la butylation dans la préparation des échantillons. La performance de ces nouvelles approches devra être rigoureusement évaluée avant implantation. De plus, le caractère évolutif de la technologie renforce l'importance de bien considérer les choix technologiques lors de l'implantation, de procéder à la validation analytique de toute modification des protocoles et d'instaurer des mécanismes continus d'assurance de la qualité.

Au delà des considérations liées à la performance de la technologie, la décision d'inclure ou non une maladie dans un programme de dépistage néonatal repose essentiellement sur la capacité du diagnostic précoce et de l'intervention subséquente de modifier favorablement le pronostic de la maladie.

Pour la PCU, l'utilité du dépistage néonatal est reconnue. Même si la qualité des études initiales ne répondait pas aux standards les plus élevés, l'expérience accumulée au fil du temps a confirmé le bien-fondé du dépistage. De plus, ce dépistage a fait ses preuves sur le plan du rapport coût-efficacité. Si on se fie aux deux études ayant directement comparé la fluorométrie à la MS/MS pour le dépistage de la PCU, le remplacement technologique permettrait de réduire le nombre de faux positifs grâce à l'utilisation du ratio phénylalanine/tyrosine et, par conséquent, de réduire le nombre de nouveau-nés devant se soumettre à un protocole de confirmation diagnostique, réduisant de ce fait l'anxiété parentale et les coûts. Cependant, comme le mentionne le rapport de l'Institut national de santé publique du Québec (INSPQ), le dépistage actuel a une sensibilité de 100 % et une spécificité de 99,998 %, ce qui se compare avantageusement aux données de la littérature. Dans ces circonstances, l'avantage de la MS/MS sur la fluorométrie n'est pas aussi évident que l'indique la littérature et n'est pas un argument suffisant pour justifier le remplacement technologique si l'on considère la PCU uniquement.

Pour la TH1, le dépistage néonatal a été introduit dans les années 1970 en raison de l'effet fondateur au Québec, alors que l'efficacité de la prise en charge précoce après dépistage n'avait pas été démontrée. Une étude actuellement en cours sur le suivi de plus de 300 enfants atteints tend à montrer un pronostic nettement plus favorable depuis l'introduction du NTBC. Cependant, il ne s'agit pas d'une étude comparative prospective puisque, comme le traitement semblait avoir des effets prometteurs, les enfants ont bénéficié à chaque époque de l'ensemble des traitements disponibles. Les conclusions en faveur de l'efficacité du traitement NTBC reposent donc sur des comparaisons entre des cohortes d'enfants pris en charge à différentes époques. Par ailleurs, cette étude comporte à la fois des enfants diagnostiqués et dépistés, de sorte que le bénéfice du dépistage néonatal avec prise en charge précoce par NTBC est potentiellement sous-estimé. Des données québécoises, non encore publiées, sont toutefois disponibles. Les résultats préliminaires semblent indiquer que le nombre de transplantations hépatiques a beaucoup diminué depuis l'introduction du NTBC. Le nombre de décès lié à la maladie a également diminué de façon significative. À la lumière de l'ensemble de ces résultats, l'utilité clinique du dépistage néonatal de la TH1 n'est pas remise en question.

Sur le plan de la performance, l'utilisation de la MS/MS pour le dépistage de la TH1 n'est envisageable qu'en ajoutant le dosage de la succinylacétone à celui de la tyrosine. Toutefois, l'expérience de par le monde du dépistage de la TH1 par MS/MS est limitée,

surtout en regard du dosage de la succinylacétone. En effet, la validité clinique de la quantification de la succinylacétone par MS/MS n'a été évaluée que par une étude [Sander *et al.*, 2006]. De plus, cette approche pose des problèmes organisationnels, puisqu'une étape d'extraction supplémentaire est requise et que l'analyse de la succinylacétone ne peut être réalisée en même temps que l'analyse des acides aminés et des acylcarnitines. Par ailleurs, des travaux préliminaires sont en cours en vue de mettre au point une analyse simultanée de tous ces métabolites, dont la performance devra toutefois être confirmée. Le Québec constituerait sans doute un contexte favorable pour la réalisation d'études de validation idéalement analytique et clinique.

Dans le cas du MCADD, la MS/MS représente l'unique technologie utilisable pour le dépistage néonatal. Avant l'avènement de la MS/MS, seules les formes symptomatiques étaient diagnostiquées et prises en charge. Lorsque le diagnostic était posé à la suite de complications, la létalité associée aux crises de décompensation métabolique était élevée et les séquelles neurologiques relativement fréquentes. Pour les survivants et les personnes atteintes de formes un peu moins graves, l'évitement du jeûne semblait avoir un effet préventif sur l'apparition des complications. Toutefois, le décours variable de la maladie rend l'évaluation de l'efficacité de la prise en charge difficile. Avec l'instauration de programmes de dépistage du MCADD par MS/MS, des données commencent à s'accumuler sur le pronostic de patients dépistés et pris en charge avant l'apparition de symptômes : la proportion des patients présentant dès leur jeune âge des crises métaboliques et le nombre de décès seraient plus faibles chez les nouveau-nés détectés par dépistage néonatal que chez les enfants diagnostiqués en clinique. De telles comparaisons souffrent cependant d'un biais lié aux différences entre ces deux groupes dans le spectre de la maladie. Ces différences sont appuyées par les études sur le statut génotypique des patients dépistés, selon lesquelles certains d'entre eux auraient une forme moins grave que les patients diagnostiqués. La connaissance de la corrélation génotype/phénotype demeure toutefois très limitée.

Par conséquent, pour le MCADD, il est difficile de tirer des conclusions fermes quant au bénéfice du dépistage pour l'ensemble des patients dépistés à partir du suivi de patients diagnostiqués cliniquement. Néanmoins, pour les patients plus gravement atteints, le bénéfice d'une prise en charge présymptomatique est mieux documenté. Des mesures préventives simples et sécuritaires peuvent radicalement changer le pronostic de ces patients si des soins appropriés sont prodigués en temps opportun. Avec les données actuellement disponibles, et ce, malgré leurs limites, la balance des bénéfices et des inconvénients penche en faveur du dépistage néonatal. En effet, les bénéfices d'un traitement précoce pour les patients gravement atteints sont tellement importants qu'ils semblent l'emporter sur l'incertitude entourant le bénéfice pour les patients qui le sont moins. Par ailleurs, le dépistage néonatal par MS/MS semble avoir une sensibilité et une spécificité très élevées, surtout si on a recours aux ratios C8/C6 et (ou) C8/C10 en plus du métabolite C8. Toutefois, l'identification des faux négatifs est encore plus difficile que pour les autres maladies, puisqu'il y a probablement un sous-diagnostic des formes précoces létales et des formes restant asymptomatiques jusqu'à l'âge adulte. Enfin, plusieurs exercices de modélisation, ayant certes leurs limites, apportent un argument additionnel, soit celui du rapport coût-efficacité du dépistage.

En somme, sur le plan de l'utilité clinique pour les patients et leurs familles, le dépistage néonatal est justifié pour les trois maladies considérées, et ce, malgré les lacunes des données et malgré la diversité des enjeux soulevés par chacune d'elles. Pour le MCADD, le dépistage néonatal passe obligatoirement par la MS/MS, dont la performance compte parmi les meilleures pour cette maladie. Toutefois, il sera indispensable de

réévaluer de façon périodique les bénéfices du dépistage néonatal de cette erreur innée du métabolisme par une collecte continue de données. Pour la PCU, l'utilisation de la MS/MS n'améliorerait pas notablement le niveau de performance du dépistage néonatal enregistré actuellement au Québec, mais ne le compromettrait probablement pas. Si la MS/MS était utilisée pour le dépistage du MCADD, le transfert technologique pour le dépistage de la PCU éviterait un dédoublement des étapes d'analyse et serait sans doute moins coûteux que de poursuivre en parallèle la méthode d'analyse actuelle. De nouvelles approches pour le dépistage néonatal de la TH1, sur la base du dosage de la tyrosine et de la succinylacétone, semblent prometteuses mais doivent cependant encore être validées.

La pertinence d'implanter le dépistage par MS/MS au Québec et le choix du moment le plus propice pour procéder à l'implantation dépendent, en plus des considérations scientifiques et techniques, d'un ensemble de facteurs d'ordre éthique, social, légal, économique et organisationnel. Certains de ces aspects sont abordés dans la présente évaluation, d'autres débordent du cadre de ce travail. C'est pourquoi diverses options sont présentées ci-dessous et les avantages et inconvénients de ces options sont discutés.

Les trois scénarios proposés sont : 1) la réalisation d'une étude pilote sur plusieurs années sur le dépistage des trois maladies; 2) le report de l'introduction de la MS/MS jusqu'à ce que les études de validation du protocole analytique combinant tous les marqueurs analytiques ait été complétées; 3) l'introduction de la MS/MS pour le dépistage de la PCU et du MCADD avec, pour la TH1, soit le maintien des méthodes actuelles de dépistage en attendant les résultats des études de validation précitées, soit un remplacement technologique graduel. Les avantages et inconvénients de chaque option ainsi que les enjeux soulevés sont discutés ci-dessous et résumés à l'annexe N.

- 1) La réalisation d'une étude pilote nécessiterait l'énonciation d'objectifs clairs, un plan d'étude rigoureux et une planification minutieuse. Un tel projet engagerait des coûts considérables, et ses répercussions sur le déroulement du programme de dépistage néonatal actuel méritent réflexion. Il est à noter que le terme « projet pilote » réfère à un large spectre d'options en matière de plans d'étude. Ainsi, une interprétation minimaliste correspondrait à une phase pilote pré-implantation avec réalisation concomitante des deux techniques de dépistage, soit la MS/MS et les techniques classiques, pour la PCU et la TH1. L'avantage en serait de permettre une évaluation sur le terrain des coûts liés aux méthodes actuelles et à la MS/MS, une comparaison de la performance des deux méthodes analytiques pour la PCU et la TH1, et une collecte de données épidémiologiques, génétiques et cliniques pour le MCADD. Les données épidémiologiques et génétiques contribueraient à l'avancement des connaissances sur cette maladie, mais il n'en serait pas nécessairement de même pour les données cliniques. En effet, une telle étude comporterait les mêmes limites que les recherches réalisées ailleurs dans le cadre de programmes de dépistage néonatal. À l'autre extrémité du spectre, on peut envisager une étude pilote comparative avec un groupe témoin qui n'aurait pas de dépistage néonatal par MS/MS mais bénéficierait d'une organisation comparable des services diagnostiques. Outre les avantages précités, une étude pilote comparative permettrait d'évaluer les bénéfices cliniques du dépistage néonatal du MCADD. La réalisation d'études pilotes de ce dernier type avait été proposée en 1997 par les auteurs des revues systématiques britanniques, mais elles n'ont été mises en œuvre que récemment, principalement à cause de contraintes

budgétaires. En mars 2004, on a entrepris au Royaume-Uni une étude prospective⁸² visant le dépistage de 700 000 nouveau-nés, soit environ la moitié des naissances au cours d'une période de recrutement de deux ans, avec une surveillance systématique pendant quatre à cinq ans pour repérer tous les enfants atteints à l'échelle du pays. Chaque enfant atteint sera suivi pendant deux ans, et les issues des enfants dépistés seront comparées à celles des enfants diagnostiqués en clinique. La réalisation d'une étude pilote comparative d'une telle envergure serait difficile au Québec en raison du faible nombre annuel de naissances.

- 2) Dans le second scénario, l'introduction de la MS/MS serait reportée jusqu'à ce que le transfert technologique puisse être effectué en un seul temps pour les trois maladies, soit après les études de validation nécessaires pour la TH1. La transition s'effectuerait ainsi plus simplement. Toutefois, cette option entraîne un délai supplémentaire dans l'offre du dépistage du MCADD et, par conséquent, dans les bénéfices qui lui sont associés pour les familles ayant des nouveau-nés touchés par cette maladie. La planification et les préparatifs, dont il est question plus loin, pourraient toutefois être entrepris à l'avance.
- 3) Le troisième scénario préconise d'introduire d'emblée la MS/MS pour le dépistage de la PCU et du MCADD. Ainsi, il n'y aurait pas de délai pour le dépistage du MCADD, et l'investissement dans la technologie MS/MS sera rentabilisé dès le début, puisque celle-ci devient efficiente dès que deux maladies sont dépistées, dont la PCU. Pour le dépistage néonatal de la TH1, trois modalités sont possibles :
 - a) La première serait le maintien des protocoles actuels pour le dosage de la tyrosine et de la succinylacétone jusqu'à ce que le protocole commun à tous les métabolites ait été entièrement validé⁸³. Cette option comporte donc l'introduction de la MS/MS en deux temps. Son inconvénient est le maintien temporaire de toutes les méthodes analytiques actuelles⁸⁴ parallèlement à l'introduction de la MS/MS;
 - b) La deuxième serait de maintenir les protocoles actuels uniquement pour le dosage de la succinylacétone en se basant sur le dosage de la tyrosine par MS/MS;
 - c) La troisième serait la réalisation du dosage de la succinylacétone par MS/MS, mais selon un protocole et un mode d'analyse séparés (voir le chapitre 5), soit en

82. La *UK Collaborative Study of Newborn Screening – MCADD* est une étude prospective dont le but principal est d'évaluer les issues cliniques et psychologiques pour les enfants atteints de MCADD et leur familles en comparant des groupes d'enfants atteints décelés par le dépistage néonatal par MS/MS et d'autres diagnostiqués cliniquement [Pollitt, 2006; Oerton *et al.*, 2005; Shortland, 2004]. L'étude a débuté en mars 2004 et devrait se terminer en 2008, avec possiblement des résultats intérimaires d'ici là. Les investigateurs ont prévu : une période de deux ans pour le dépistage néonatal du MCADD, le recensement de tous les nouveau-nés atteints de la maladie non dépistés par une surveillance systématique à l'échelle nationale et le suivi pendant deux ans de tous les enfants atteints, qu'ils aient été détectés par dépistage ou diagnostiqués cliniquement. Des entrevues avec les parents seront analysées pour l'évaluation des issues psychologiques. Une analyse économique est également prévue. Certains des résultats de cette étude pourraient être difficilement exportables au contexte québécois, puisque l'âge au prélèvement des échantillons sanguins est plus tardif (cinq à huit jours de vie) qu'au Québec. De plus, l'étude utilise un protocole d'analyse MS/MS sans butylation, contrairement aux études sur lesquelles s'est basée notre évaluation de la performance de cette technologie pour le dépistage néonatal des trois maladies d'intérêt.

83. Il est à noter que dans ce scénario, le dosage de la tyrosine sera aussi effectué par MS/MS pour le dépistage de la PCU pour le calcul du ratio phénylalanine/tyrosine. Nous avons toutefois voulu garder séparées les modalités a et b parce que, selon l'endroit choisi pour implanter le dépistage néonatal par MS/MS, il peut être indiqué ou non de poursuivre la réalisation du dosage de la tyrosine dans le même laboratoire que le dosage de la succinylacétone, et ce, pour permettre une interprétation conjointe des résultats.

84. Celles-ci comportent la fluorométrie pour le dosage de la tyrosine et la méthode semi-quantitative pour le dosage de la succinylacétone.

utilisant le même appareil en alternance⁸⁵, soit en utilisant un autre appareil. Dans ce cas, les coûts liés à l'investissement et (ou) à la durée de vie de l'appareil seraient potentiellement supérieurs.

Pour toutes ces modalités, il faudra s'assurer de coordonner la gestion des échantillons sanguins pour le dépistage de la TH1, d'une part, et le dépistage du MCADD et de la PCU, d'autre part. Ce problème de coordination se pose de toute façon pour le dépistage néonatal de l'hypothyroïdie congénitale, puisque la MS/MS ne dépiste pas cette maladie. La littérature souligne l'importance de prendre des précautions lorsqu'on implante le dépistage néonatal par MS/MS pour que celui-ci n'affecte d'aucune façon le bon déroulement et la performance de celui de l'hypothyroïdie congénitale. Certains auteurs préconisent d'effectuer le dépistage par MS/MS et celui de l'hypothyroïdie congénitale dans le même laboratoire pour éviter les problèmes inhérents au transfert et au partage d'échantillons sanguins entre laboratoires [Clarke, 2002]. Des solutions communes pourraient donc être envisagées pour le dépistage néonatal de la TH1 (modalités a et b) et de l'hypothyroïdie congénitale. De plus, quelle que soit la modalité retenue, une attention particulière devra être accordée sur le plan organisationnel à la réalisation et à la coordination de l'interprétation des tests afin d'éviter des délais dans la communication des résultats. Notons également qu'une étape supplémentaire de transition est à considérer si les études de validation du protocole analytique unique pour l'ensemble des métabolites s'avèrent concluantes. Les répercussions éventuelles de cette transition additionnelle sur le déroulement d'un dépistage par MS/MS déjà en cours devront être débattues, et les problèmes résolus d'avance avec les experts.

Les divers scénarios évoqués ci-dessus ont différentes implications, tant sur le plan organisationnel que sur le plan de l'accès aux soins. Le choix entre ces trois options repose sur des choix de valeurs, certes, mais dépend aussi d'enjeux plus concrets liés aux délais requis pour la mise en œuvre des étapes préparatoires à l'implantation, à la réalisation – au Québec ou ailleurs – de l'étude de validation du protocole simplifié de dépistage de la TH1, et aux difficultés anticipées dans l'éventualité d'une implantation par étapes de la MS/MS. La décision quant au moment le plus opportun pour implanter la MS/MS impliquera un compromis entre privilégier l'introduction de la technologie sur la base de données plus rigoureuses et (ou) applicables au Québec ou favoriser un accès plus rapide aux services.

Quel que soit le choix retenu, l'implantation de la MS/MS ne devra pas se faire de manière précipitée, plusieurs questions d'ordre éthique, organisationnel et économique devant être résolues avant d'y procéder.

- Comme l'a souligné le rapport de l'INSPQ [Laflamme *et al.*, 2006], la politique actuelle du programme de dépistage néonatal concernant le consentement implicite devra être révisée. La question du consentement implicite ou explicite relativement au dépistage néonatal est débattue dans la littérature, et l'ajout d'une maladie à ce dépistage impose une réévaluation dans le contexte particulier du Québec, où la justification du consentement implicite pour le dépistage néonatal a été fondée sur une appréciation de l'importance des bénéfices et du caractère routinier du dépistage.
- Parmi les valeurs qui sous-tendent le système de santé et guident l'allocation des ressources, l'efficience tient une place de choix. La revue de la littérature économique indique que le recours à la MS/MS pour le dépistage néonatal offre un rapport coût-

85. Le dosage de la succinylacétone pourrait être effectué lorsque l'appareil MS/MS n'est pas utilisé pour le dépistage néonatal de la PCU et du MCADD, soit pendant la nuit ou la fin de semaine, soit le lendemain de la réception des échantillons sanguins séchés d'une journée pendant le temps de préparation des échantillons sanguins séchés nouvellement reçus.

efficacité acceptable à partir du moment où le dépistage est effectué pour au moins deux erreurs innées du métabolisme, dont la PCU. La plupart de ces études reposent cependant sur des modélisations souvent grossières souffrant du manque de données détaillées sur les coûts. Les analyses de sensibilité effectuées viennent en partie combler ces lacunes. Bien qu'il soit souhaitable que ce type de modélisation soit réalisé de manière plus approfondie et en tenant compte des derniers développements techniques, ces analyses demeurent tributaires de la disponibilité des données applicables au Québec et des incertitudes entourant les données cliniques sur certaines erreurs innées du métabolisme. Il avait été convenu qu'une telle modélisation ne ferait pas l'objet du présent mandat, d'autant plus que le travail effectué par l'INSPQ avait mis en lumière la difficulté d'obtenir une estimation précise des coûts pour les méthodes de dépistage néonatal actuellement en vigueur. L'estimation du coût différentiel annuel équivalent (CDAE), effectuée dans le cadre du présent rapport, n'est pas modulée selon les divers scénarios évoqués pour l'implantation de la technologie à cause de la rareté des données de terrain et de la publication récente d'un des protocoles discutés. Il est à noter que les seules informations disponibles sur le programme de dépistage néonatal actuel sont d'un tout autre ordre que les CDAE estimés. En effet, les données concernant le budget réservé au programme de dépistage néonatal sanguin [Laflamme *et al.*, 2006] couvrent des frais de nature différente de ceux considérés dans le présent rapport. Une comparaison directe des différentes estimations de coûts de fonctionnement est par conséquent hasardeuse.

L'estimation des coûts discutée ci-dessus ne fournit qu'un des éléments nécessaires à une analyse de faisabilité relative à l'implantation de la MS/MS. Une planification plus détaillée dépasse le cadre du présent travail. Toutefois, nous abordons ci-dessous plusieurs éléments à considérer d'emblée avant que la décision d'aller de l'avant ne soit prise. Ces éléments concernent différentes étapes de la mise en œuvre du dépistage par MS/MS, soit les préparatifs pré-implantation, le fonctionnement du programme et l'évaluation périodique de celui-ci.

Plusieurs étapes seront requises avant le démarrage du programme de dépistage néonatal par MS/MS. La majorité d'entre elles concernent directement le laboratoire, mais les démarches interpellant les autres acteurs concernés ne devront pas être négligées. La préparation au niveau du laboratoire comporte non seulement l'aménagement des lieux et l'acquisition de l'équipement requis, mais également la mise au point et le rodage de l'ensemble des processus. À cet égard seront à prévoir, entre autres, le choix des métabolites et des ratios de métabolites pour le MCADD, la détermination des valeurs seuils, l'étude et la confirmation de la validité analytique des protocoles, l'élaboration des procédures opérationnelles standardisées (SOP) et des mesures d'assurance de la qualité, la préparation d'un plan de dépannage en cas de bris de l'appareil, l'établissement des normes visées⁸⁶ et la mise à l'essai des modalités organisationnelles retenues. Des recommandations relatives aux exigences techniques pour la MS/MS ont été publiées par les Centers for Disease Control and Prevention [CDC, 2001]. Sur le plan de la formation et de l'information, il faut planifier la formation des professionnels du laboratoire pour l'analyse MS/MS et celle de tous les professionnels de la santé appelés à donner de l'information sur le MCADD et à effectuer la collecte des échantillons, ainsi que la préparation du matériel didactique pour les futurs parents. La conduite à tenir à l'égard du dépistage d'erreurs innées du métabolisme non ciblées et du protocole de confirmation diagnostique du MCADD devront faire l'objet d'un consensus. Enfin, une concertation entre les responsables du laboratoire, les cliniciens et les experts en

86. Des normes devront être établies pour les délais de réalisation des tests et de communication des résultats, par exemple.

maladies métaboliques est nécessaire pour déterminer et standardiser l'âge optimal de prélèvement ainsi que le protocole de confirmation diagnostique du MCADD et pour planifier la collecte continue des données. Une attention toute particulière devra être apportée à la nature de l'information à colliger, tant au niveau du laboratoire qu'au niveau des centres spécialisés en maladies métaboliques, et au type d'analyse à prévoir pour la réévaluation périodique du programme. De plus, le ou les systèmes d'information concernés devront être adaptés en conséquence pour faciliter la mise en banque des données de laboratoire et de suivi, la classification des résultats, la production des rapports et de la correspondance y afférent, les données sur la performance du programme et la production de nouvelles connaissances sur les maladies dépistées. Le budget alloué au programme de dépistage néonatal devra être revu en conséquence en prenant en considération les coûts liés à la collecte de données à long terme afin de permettre, surtout pour le MCADD, l'évaluation des bénéfices du dépistage néonatal.

En raison de la complexité et de la sensibilité des appareils, il sera nécessaire de prendre des précautions de manière continue une fois le programme en place. Celles-ci comprennent l'entretien minutieux des appareils et l'application systématique des mécanismes d'assurance de la qualité. La participation à un programme de contrôle externe de la qualité est recommandée. Des efforts soutenus seront nécessaires pour maintenir la communication et la coordination entre les diverses composantes du système intégré de dépistage néonatal. De façon périodique, la performance du programme devra être révisée, et les données relatives aux maladies dépistées devront être réévaluées à la lumière des données du *monitoring*, des nouvelles données scientifiques et des avancées technologiques.

Enfin, on ne peut passer sous silence l'inquiétude que soulève souvent l'utilisation de la technologie MS/MS en mode balayage, qui permet la détection de plus d'une trentaine d'erreurs innées du métabolisme. Une fois la technologie MS/MS en place, une pression accrue s'exercera pour élargir le dépistage néonatal à plusieurs autres erreurs innées du métabolisme. Cette pression viendra des professionnels de la santé, de l'industrie ainsi que d'associations de parents et du grand public, de plus en plus informés grâce à Internet. Les arguments alimentant cette pression incluent les coûts minimes engagés par l'ajout d'autres erreurs innées du métabolisme une fois la technologie en place, l'intérêt de colliger des données pour la recherche, les bénéfices familiaux et l'exploitation de ce qui est considéré comme le principal avantage de la MS/MS, à savoir sa capacité de doser simultanément plusieurs métabolites [Pollitt, 2006; Wilcken, 2006; Chace et Kalas, 2005; Roscher et Olgemoller, 2004; Matern, 2002]. En aucun cas ne devrait-on céder à la tentation d'ouvrir la voie au dépistage d'autres maladies sans procéder à une évaluation des preuves et des critères devant guider l'implantation d'un programme de dépistage populationnel. Enfin, l'élargissement du dépistage néonatal à d'autres erreurs innées du métabolisme doit nécessairement être précédé d'une évaluation préalable et de la mise en place de solutions adéquates aux problèmes soulevés dans le présent rapport, notamment ceux qui touchent l'information des parents et la disponibilité d'un réseau efficace de prise en charge et de suivi par des professionnels compétents.

L'avènement de la MS/MS est à l'origine d'une révolution de la conception du dépistage néonatal parce qu'elle offre la possibilité de l'élargir à un nombre élevé d'EIM, dont certaines non dépistables par d'autres méthodes. Les avantages de la MS/MS sur le plan du débit et de la performance ont aussi été largement publicisés et des pressions se font sentir en faveur de son adoption. Toutefois, l'utilisation de la technologie au maximum de ses capacités soulève un certain nombre d'enjeux puisque l'évolution naturelle et les bénéfices d'une prise en charge précoce sont mal connus pour certaines EIM. L'enjeu décisionnel comporte en fait deux facettes distinctes, soit le remplacement des technologies actuellement utilisées pour le dépistage néonatal de la PCU et de la TH1 par la MS/MS et l'élargissement du dépistage à d'autres maladies. Parmi celles-ci, le MCADD vient au premier rang des candidats potentiels pour intégration au dépistage néonatal.

Pour examiner la pertinence d'introduire la MS/MS au Québec et d'élargir le dépistage néonatal au MCADD, une revue de la littérature a été menée sur l'utilité clinique du dépistage néonatal et sur la performance de la MS/MS pour le dépistage de la PCU, de la TH1 et du MCADD, de même qu'une analyse des principaux enjeux éthiques, sociaux, économiques et organisationnels. Même si les données comportent des lacunes, elles appuient l'utilité clinique du dépistage néonatal pour la majorité des patients et des familles concernés. Quant à la pertinence d'implanter un dépistage par MS/MS au Québec, la situation diffère d'une maladie à l'autre.

- Pour le MCADD, le dépistage néonatal passe obligatoirement par la MS/MS, dont la performance compte parmi les meilleures pour cette maladie. La connaissance de l'ensemble du spectre des formes cliniques est limitée, particulièrement pour les formes moins graves, et la variabilité de l'expression phénotypique rend plus difficile la comparaison du pronostic avec et sans dépistage et prise en charge précoce. Toutefois, pour les formes graves, les avantages d'un traitement précoce sont convaincants. Il sera donc indispensable de réévaluer de façon périodique les bénéfices du dépistage néonatal de cette maladie grâce à une collecte continue de données.
- Pour la PCU, la littérature semble indiquer que la MS/MS génère moins de faux positifs que la technologie actuelle, mais compte tenu des résultats observés au Québec, cet avantage ne serait pas substantiel. D'après la littérature économique, le remplacement technologique serait efficient à partir du moment où il est effectué pour deux maladies, dont la PCU. Si la MS/MS était utilisée pour le dépistage du MCADD, le transfert technologique pour la PCU éviterait un dédoublement des étapes d'analyse et serait sans doute moins coûteux que de poursuivre en parallèle la méthode d'analyse actuelle.
- Pour la TH1, des données en faveur de l'efficacité du NTBC commencent à s'accumuler, corroborant l'utilité du dépistage néonatal au Québec. De nouvelles approches pour le dépistage néonatal de la TH1 sur la base du dosage de la tyrosine et de la succinylacétone semblent prometteuses, mais doivent cependant être validées.

Notre revue confirme l'importance d'une analyse au cas par cas pour chacune des maladies considérées, puisque les options envisageables dépendent des caractéristiques spécifiques de chaque maladie, de l'état d'avancement des connaissances sur la maladie et de l'applicabilité des développements technologiques aux maladies d'intérêt [Holtzman, 2003]. Par conséquent, si l'élargissement à d'autres erreurs innées du

métabolisme devait être envisagé, il faudrait reconsidérer l'ensemble des enjeux soulevés dans le présent rapport.

Pour les trois maladies considérées, trois scénarios distincts sont à considérer par le décideur :

- 1) la réalisation d'une étude pilote sur plusieurs années pour le dépistage des trois maladies;
- 2) le report de l'introduction de la MS/MS jusqu'à ce que les études de validation pour le dosage de la succinylacétone soient complétées et qu'un protocole analytique unique pour le dépistage néonatal des trois maladies puisse être implanté d'emblée;
- 3) l'introduction de la MS/MS pour le dépistage de la PCU et du MCADD avec, pour la TH1, soit le maintien des méthodes actuelles en attendant les résultats des études de validation précitées, soit un remplacement technologique graduel.

Chaque scénario comporte des avantages et des inconvénients et implique différents enjeux organisationnels. Le choix du moment le plus opportun pour implanter la MS/MS repose sur un compromis entre favoriser un accès plus rapide aux services ou privilégier l'introduction de la technologie sur la base de données plus rigoureuses et (ou) applicables au Québec. Des données plus poussées sur les protocoles d'analyse plus récents pour le dépistage de la TH1 pourraient dériver d'une étude de validation. Le Québec serait une région propice pour réaliser une telle étude. Une étude pilote permettrait quant à elle de colliger des données épidémiologiques et génétiques sur le MCADD et d'apprécier les coûts directement applicables au Québec. Par contre, un tel projet pilote ne nous semble pas de nature à apporter dans un délai raisonnable les données requises pour fournir une réponse définitive à la question des bénéfices du dépistage néonatal sur le plan du pronostic à long terme du MCADD. Il sera néanmoins indispensable de réévaluer de façon périodique les bénéfices du dépistage néonatal de cette maladie.

Quel que soit le choix retenu, l'implantation de la MS/MS ne devra pas se faire de manière précipitée, plusieurs questions devant être résolues avant de procéder à l'implantation. La politique concernant le consentement implicite au dépistage néonatal devra être révisée, d'autant plus que la procédure adoptée au Québec pour justifier l'inclusion du dépistage néonatal dans les soins de routine poserait problème si une décision devait être prise quant à l'ajout d'une maladie supplémentaire au programme de dépistage. Une analyse de faisabilité plus poussée sur l'implantation de ce changement technologique devra également être menée, en considérant entre autre les coûts d'implantation et de fonctionnement selon le scénario envisagé et les coûts liés à la formation des professionnels de la santé intervenant tout au long du système intégré de dépistage néonatal. À chacune des étapes de mise en œuvre d'un programme de dépistage néonatal, des considérations organisationnelles devront être prises en compte pour optimiser de façon prospective les pratiques, par exemple par la production de protocoles standards et de lignes directrices, et pour générer les données nécessaires à l'évaluation continue de la performance et à l'évaluation périodique de la pertinence des choix qui seront faits.

Au cours de l'étape finale d'édition de ce rapport, nous avons pris connaissance de la publication d'un article [Wilcken *et al.*, 2007] évaluant les bénéfices du dépistage néonatal du MCADD par MS/MS sur le plan de la fréquence des décès et des décompensations métaboliques ainsi que des issues médicales et neuropsychologiques. L'étude a été réalisée en Australie auprès d'une population d'environ 2 500 000 enfants nés entre avril 1994 et mars 2004, dont 810 000 avaient eu un dépistage du MCADD par MS/MS. Parmi cette population, les auteurs ont pu faire un suivi longitudinal d'au moins quatre ans sur 1 995 000 enfants nés entre 1994 et 2002, dont 460 000 ont été dépistés. Les résultats de cette étude viennent appuyer plusieurs constats discutés dans ce rapport, notamment l'excellente performance de la MS/MS pour le dépistage du MCADD, la différence dans le profil génotypique des groupes de patients dépistés et des groupes diagnostiqués cliniquement, et l'importance d'établir un consensus sur le diagnostic de la maladie. Par ailleurs, Wilcken et ses collaborateurs [2007] ont estimé le risque relatif (RR) de décès ou de décompensation métabolique aiguë pendant les quatre premières années de vie sur une échelle populationnelle. Pour tenir compte du biais potentiel dû aux différences dans le spectre de la maladie entre les groupes de patients dépistés et les groupes diagnostiqués cliniquement, les auteurs ont considéré plusieurs scénarios d'analyse. Ainsi, d'après le scénario le plus conservateur quant au pronostic des cas de MCADD échappant au diagnostic clinique chez les enfants non dépistés, les bénéfices du dépistage néonatal ne seraient pas statistiquement significatifs (RR= 0,44; IC de 95 % : 0,13-1,45). Par contre, les risques de décès ou de décompensation métabolique aiguë étaient significativement moindres dans les groupes de nouveau-nés dépistés que dans les groupes diagnostiqués cliniquement lorsque des scénarios moins conservateurs étaient considérés avec des RR variant entre 0,19 (IC de 95 % : 0,06-0,60) et 0,26 (IC de 95 % : 0,08-0,85). En outre, pour les enfants nés entre 1994 et 2004 et suivis pendant au moins deux ans, les auteurs ont enregistré beaucoup moins de décès ou de décompensations métaboliques graves dans la cohorte de nouveau-nés dépistés (5 %) que dans la cohorte n'ayant pas eu de dépistage (55 %). Toutefois, les données de cette étude soulèvent des doutes quant à la proportion réelle d'enfants qui bénéficieraient du dépistage et d'une prise en charge précoce, puisque quatre décès survenus avant 72 heures de vie ont été enregistrés. Dans un commentaire accompagnant la publication de l'article de Wilcken et ses collègues, Grosse et Dezateux [2007] soulignent que le dépistage préviendrait un décès pour 10 enfants atteints de MCADD, un cas de figure beaucoup plus modeste que celui utilisé dans les analyses coût-efficacité existantes. Ces auteurs insistent sur la nécessité d'étudier les bénéfices à long terme du dépistage néonatal aussi bien pour le MCADD que pour d'autres maladies pour lesquelles les bénéfices sont encore moins bien connus.

ANNEXE A

Algorithmes du dépistage néonatal sanguin actuel au Québec

FIGURE A-1

Algorithme du processus de dépistage sanguin [Laflamme *et al.*, 2006]

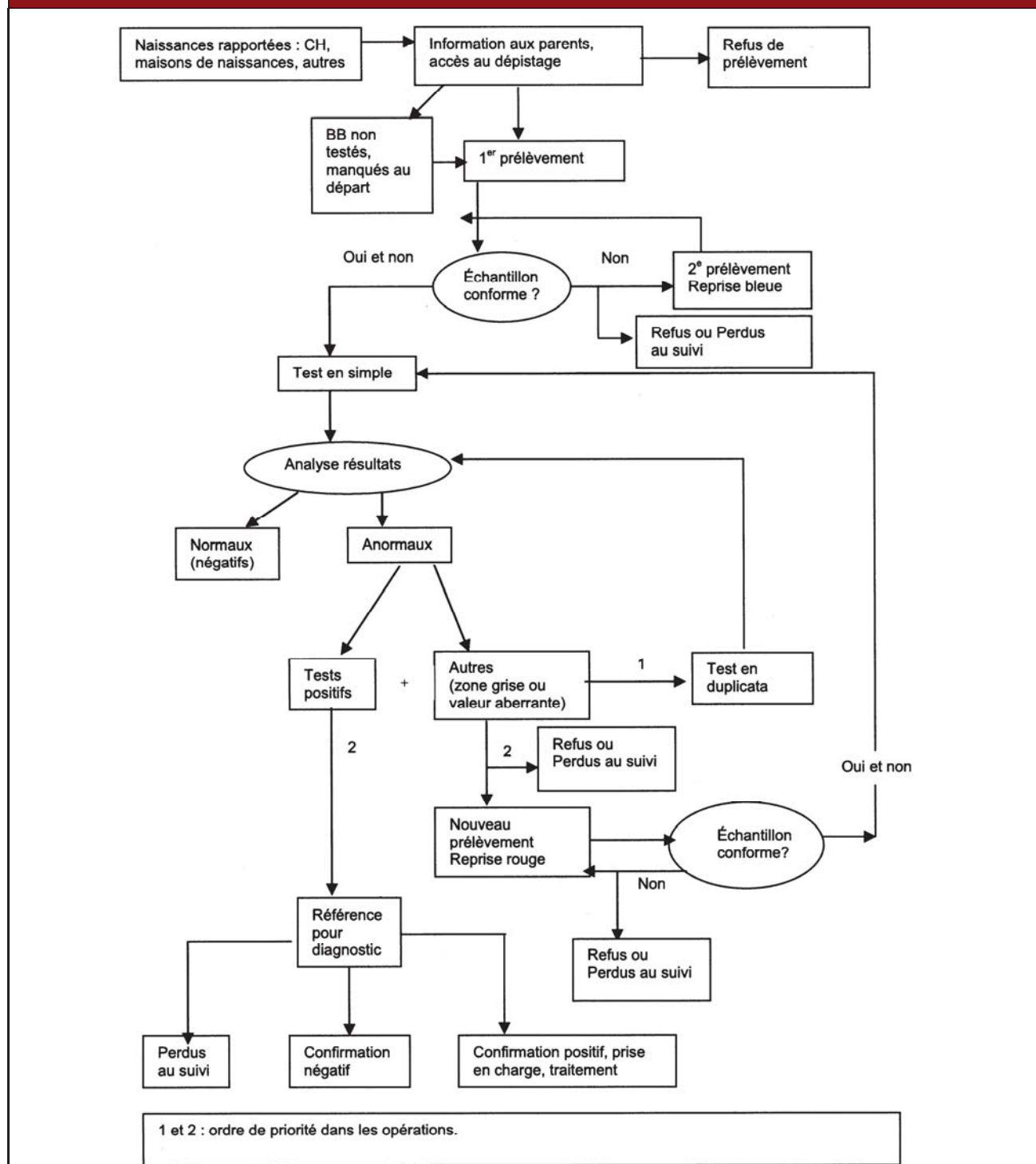
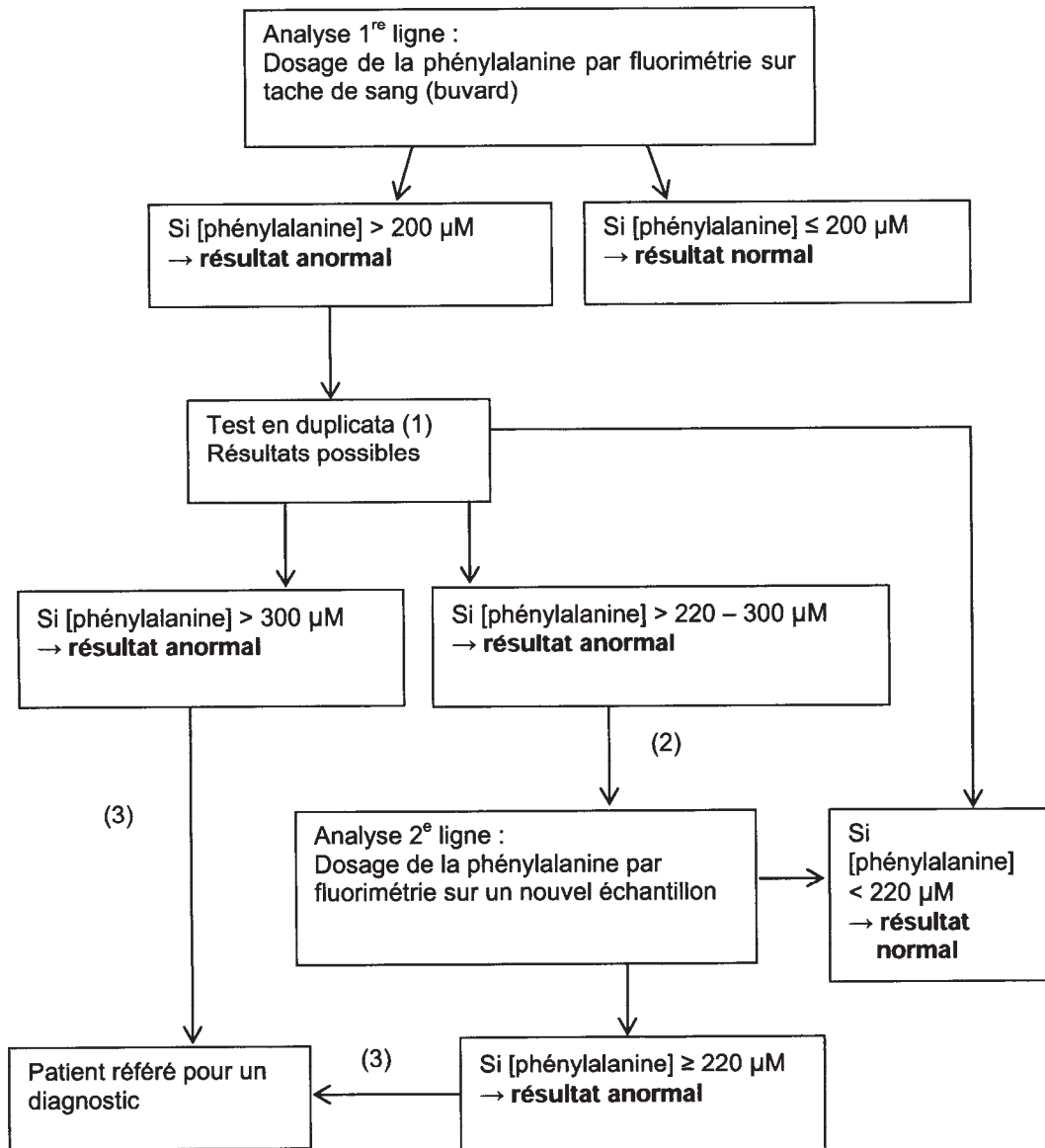


FIGURE A-2

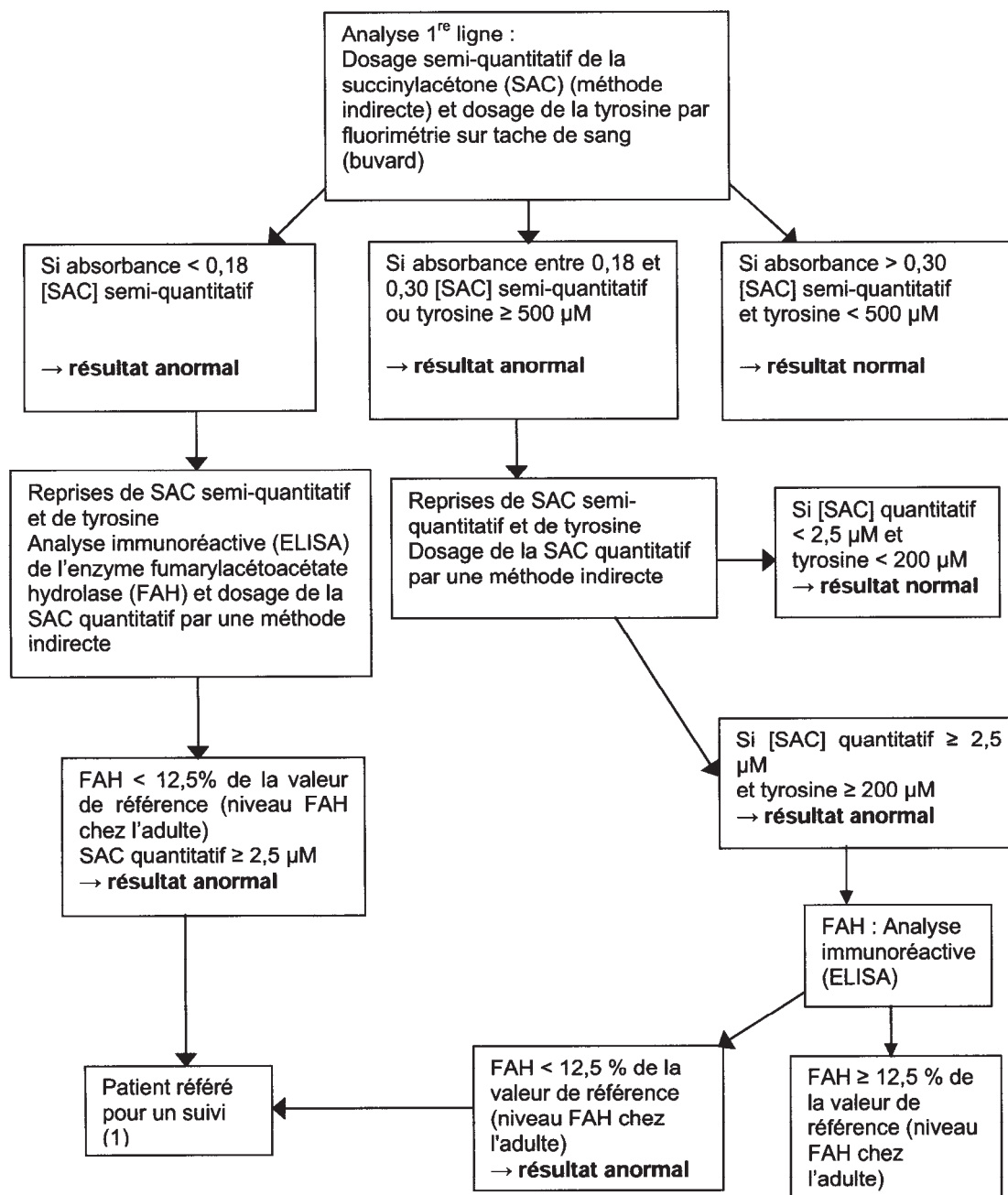
Tests et valeurs seuils pour le dépistage de la PCU [Laflamme et al., 2006]



1. Résultats anormaux ou positifs: test supplémentaire en duplicata sur le même échantillon.
2. Analyse répétée sur un nouvel échantillon.
3. La décision de référer le patient est fonction des résultats biochimiques obtenus dans l'algorithme et du contexte clinique du nouveau-né (ex. : âge du prélèvement, type d'alimentation, prématurité, affections médicales aiguës).

FIGURE A-3

Tests et valeurs seuils pour le dépistage de la TH1 [Laflamme *et al.*, 2006]



1. La décision de référer le patient est fonction des résultats biochimiques obtenus dans l'algorithme et du contexte clinique du nouveau-né (ex. : âge du prélèvement, type d'alimentation, prématurité, affections médicales aiguës).

ANNEXE B

Stratégies de recherche bibliographique pour le thème « performance de la MS/MS pour le dépistage néonatal des erreurs innées du métabolisme »

1) PUBMED

1 infant, newborn [mh]	6 genetic screening[mh:noexp]	16 esims[tiab]	26 tandem[tiab]
2 neo nat*[tiab]	7 mass screening[mh:noexp]	17 fabms[tiab]	
3 neonat*[tiab]	8 multiphasic screening[mh:noexp]	18 maldims[tiab]	
4 new born*[tiab]	9 screen*[tiab]1 infant, newborn[mh]	19 ms[tiab]	
5 newborn*[tiab]		20 sims[tiab]	
		21 spectrum analysis, mass[mh]	
10 neonatal screening [mh:noexp]			
11 metabolism, inborn errors[mh]		22 mass[tiab]	23 spectra*[tiab]
12 genetic diseases, inborn[mh:noexp]			24 spectro*[tiab]
13 metabolic diseases[mh:noexp]			25 spectru*[tiab]
14 inborn*[tiab]	15 error*[tiab]	27 ms ms[tiab]	
		28 msms[tiab]	
		29 ms2[tiab]	
		30 tms[tiab]	
31 tandem repeat sequences[mh:noexp]			

- A [(1 or 2 or 3 or 4 or 5) and (6 or 7 or 8 or 9)] or 10
- B 11 or 12 or 13 or (14 and 15)
- C [(or/16-22) and 26] or (or/27-30)
- D (or/16-21) or [22 and (23 or 24 or 25)] or (or/27-30)
- E [(A or B) and C] or (A and B and D)
- F E NOT 31 NOT (animals [mh:noexp] NOT (humans [mh:noexp] AND animals[mh:noexp]))

2) EMBASE/MEDLINE-DIALOG-155, 73

1 infant, newborn!	6 genetic screening/de	20 esims/ti,ab	27 tandem/ti,ab
2 neo()nat?/ti,ab,id,de	7 mass screening/de	21 fabms/ti,ab	
3 neonat?/ti,ab,id,de	8 multiphasic screening/de	22 maldims/ti,ab	
4 new()born?/ti,ab,id,de	9 screen?/ti,ab	23 ms/ti,ab	
5 newborn?/ti,ab,id,de		24 sims/ti,ab	
		25 spectrum analysis, mass!	
		26 mass spectrometry!	
10 neonatal screening/de			
11 newborn screening/de			
12 metabolism, inborn errors!		28 mass/ti,ab	29 spectra?/ti,ab
13 inborn error of metabolism!			30 spectro?/ti,ab
14 genetic diseases, inborn/de			31 spectru?/ti,ab
15 genetic disorder/de			
16 metabolic diseases/de			
17 metabolic disorder/de			
18 inborn?/ti,ab	19 error?/ti,ab	32 ms()ms/ti,ab	
		33 msms/ti,ab	
		34 ms2/ti,ab	
		35 tms/ti,ab	
		36 tandem mass spectrometry/de	
37 tandem repeat/de			

S1 s infant, newborn!
S2 s neo()nat?/ti,ab,id,de
S3 s neonat?/ti,ab,id,de
S4 s new()born?/ti,ab,id,de
S5 s newborn?/ti,ab,id,de
S6 s genetic screening/de
S7 s mass screening/de
S8 s multiphasic screening/de
S9 s screen?/ti,ab
S10 s neonatal screening/de
S11 s newborn screening/de
S12 s metabolism, inborn errors!
S13 s inborn error of metabolism!
S14 s genetic diseases, inborn/de
S15 s genetic disorder/de
S16 s metabolic diseases/de
S17 s metabolic disorder/de
S18 s inborn?/ti,ab
S19 s error?/ti,ab
S20 s esims/ti,ab
S21 s fabms/ti,ab
S22 s maldims/ti,ab
S23 s ms/ti,ab
S24 s sims/ti,ab
S25 s spectrum analysis, mass!

S26 s mass spectrometry!
 S27 s tandem/ti,ab
 S28 s mass/ti,ab
 S29 s spectra?/ti,ab
 S30 s spectro?/ti,ab
 S31 s spectru?/ti,ab
 S32 s ms()ms/ti,ab
 S33 s msms/ti,ab
 S34 s ms2/ti,ab
 S35 s tms/ti,ab
 S36 s tandem mass spectrometry/de
 S37 s tandem repeat/de
 S38 s ((s1 or s2 or s3 or s4 or s5) and (s6 or s7 or s8 or s9)) or s10 or s11
 S39 s s12 or s13 or s14 or s15 or s16 or s17 or (s18 and s19)
 S40 s ((s20 or s21 or s22 or s23 or s24 or s25 or s26 or s28) and s27) or s32 or s33 or s34 or s35 or s36
 S41 s s20 or s21 or s22 or s23 or s24 or s25 or s26 or (s28 and (s29 or s30 or s31)) or s32 or s33 or s34 or s35 or s36
 S42 s ((s38 or s39) and s40) or (s38 and s39 and s41)
 S43 s s42 NOT s37 NOT (animals/df NOT (humans/df AND animals/df))
 S44 s s43 NOT (nonhuman/df NOT (human/df AND nonhuman/df))
 S45 rd s44
 S45 limit s45/1995:1999
 S46 limit s45/2000:2006

3) COCHRANE

1 infant, newborn [mh]	6 screen* [ti,ab,kw]	14 esims [ti,ab,kw]	
2 neo NEXT nat* [ti,ab,kw]		15 fabms [ti,ab,kw]	
3 neo*nat* [ti,ab,kw]		16 maldims [ti,ab,kw]	
4 new NEXT born* [ti,ab,kw]		17 ms [ti,ab,kw]	
5 new*born* [ti,ab,kw]		18 sims [ti,ab,kw]	
		19 spectrum analysis, mass [mh]	
7 metabolism, inborn errors [mh]		20 mass [ti,ab,kw]	21 spectr* [ti,ab,kw]
8 genetic diseases, inborn [mh:noexp]			22 tandem [ti,ab,kw]
9 metabolic diseases [mh:noexp]			
10 genetic* [ti,ab,kw]	12 in*born*[ti,ab,kw]	23 ms NEXT ms [ti,ab,kw]	
11 error* [ti,ab,kw]	13 metaboli* [ti,ab,kw] [ti,ab,kw]	24 ms*ms [ti,ab,kw]	
		25 ms NEXT 2[ti,ab,kw]	
		26 ms*2 [ti,ab,kw]	
		27 t-ms [ti,ab,kw]	
		28 tms [ti,ab,kw]	

- A (1 or 2 or 3 or 4 or 5) and 6
 B 7 or 8 or 9 or ((10 or 11) and (12 or 13))
 C 14 or 15 or 16 or 17 or 18 or 19 or (20 and (21 or 22)) or 23 or 24 or 25 or 26 or 27 or 28
 D (A AND B) OR [(A OR B) AND C]

ANNEXE C

Stratégies de recherche bibliographique pour les revues sur PCU, TH1 et MCADD

I) PCU

I) PUBMED:

1. phenylketonurias[mh:noexp]
2. phenylketonuri*[ti]
3. pku[ti]

A or/1-3

Pour chaque stratégie, NOT (animals [mh:noexp] NOT (humans [mh:noexp] AND animals[mh:noexp]))

II) EMBASE/MEDLINE-DIALOG (ONTAP):

1. phenylketonuri?/ti,de
2. pku/ti

- S1 s phenylketonuri?/ti,de
S2 s pku/ti
S3 s s1 or s2
S4 s s3 not (animals/df not (humans/df and animals/df))
S5 s s4 not (nonhuman/df not (human/df and nonhuman/df))
S6 rd s5
S7 limit s6/1995:2006
S8 type s7/4/all

III) COCHRANE:

- #1 phenylketonuri* in Record Title in all products
- #2 pku in Record Title in all products
- #3 MeSH descriptor Phenylketonurias, this term only in MeSH products
- #4 (#1 OR #2 OR #3)
- #5 (#4), from 1995 to 1999
- #6 (#4), from 2000 to 2005

2) TH1

I) PUBMED:

1. hydrolases/deficiency[mh:noexp]	2. fumarylacetoacetase[nm]
3. tyrosinemias[mh:noexp]	
4. tyrosinaemi*[tiab]	
5. tyrosinemi*[tiab]	
6. fah deficien*[tiab]	
7. fumarylacetoaceta*[tiab]	12. deficien*[tiab]
8. fumarylhydrolase*[tiab]	
9. fumaryl[tiab]	10. acetoaceta*[tiab]
	11. hydrolase*[tiab]

13. type ii[tiab]		13. type ii[tiab]		17. type i[tiab]
14. type 2[tiab]	NOT	14. type 2[tiab]	AND	18. type 1[tiab]
15. type iii[tiab]		15. type iii[tiab]		
16. type 3[tiab]		16. type 3[tiab]		

A (1 and 2) or (or/3-6)

B {(7 or 8) or [9 and (10 or 11)]} and 12

C (or/13-16) not ((or/13-16) and (17 or 18))

D (A OR B) NOT C

Pour chaque stratégie, NOT (animals [mh:noexp] NOT (humans [mh:noexp] AND animals[mh:noexp]))

II) EMBASE/MEDLINE-DIALOG (ONTAP):

1. tyrosinaemi?/ti,ab,id,de	
2. tyrosinemi?/ti,ab,id,de	
3. fah()deficien?/ti,ab,id,de	
4. fumarylacetoaceta?/ti,ab,id,de	8. deficien?/ti,ab,id,de
5. fumarylhydrolase?/ti,ab,id,de	9. enzyme()defect?/ti,ab,id,de
6. fumaryl(5w)acetoaceta?/ti,ab,id,de	
7. fumaryl(5w)hydrolase?/ti,ab,id,de	
10. type()ii/ti,ab,id,de	14. type()i/ti,ab,id,de
11. type()2/ti,ab,id,de	15. type()1/ti,ab,id,de
12. type()iii/ti,ab,id,de	
13. type()3/ti,ab,id,de	

S1 s tyrosinaemi?/ti,ab,id,de

S2 s tyrosinemi?/ti,ab,id,de

S3 s fah()deficien?/ti,ab,id,de

S4 s fumarylacetoaceta?/ti,ab,id,de

S5 s fumarylhydrolase?/ti,ab,id,de
 S6 s fumaryl(5w)acetoaceta?/ti,ab,id,de
 S7 s fumaryl(5w)hydrolase?/ti,ab,id,de
 S8 s deficien?/ti,ab,id,de
 S9 s enzyme()defect?/ti,ab,id,de
 S10 s type()ii/ti,ab,id,de
 S11 s type()2/ti,ab,id,de
 S12 s type()iii/ti,ab,id,de
 S13 s type()3/ti,ab,id,de
 S14 s type()i/ti,ab,id,de
 S15 s type()1/ti,ab,id,de
 S16 s s1 or s2 or s3 or ((s4 or s5 or s6 or s7) and (s8 or s9))
 S17 s s16 not ((s10 or s11 or s12 or s13) not ((s10 or s11 or s12 or s13) and (s14 or s15)))
 S18 s s17 not (animals/df not (humans/df and animals/df))
 S19 s s18 not (nonhuman/df not (human/df and nonhuman/df))

III) COCHRANE:

- #1 tyrosinaemi* OR tyrosinemi* in All Fields in all products
 #2 *fumaryl* AND deficien* in All Fields in all products
 #3 fah NEXT deficien* in All Fields in all products

3) MCADD

I) PUBMED:

- | | | | |
|-----------------------|--|--|---------------------|
| 1. mcadd[tiab] | | | |
| 2. medium chain[tiab] | 3. acyl-coa dehydrogenase/deficiency[mh:noexp] | | |
| | 4. acyl-coa dehydrogenase[nm] | 5. fatty acid desaturases/deficiency[mh:noexp] | |
| | 6. acylco*[tiab] | 10. dehydrogena*[tiab] | 14. deficien*[tiab] |
| | 7. acyl co a[tiab] | | |
| | 8. acyl coa[tiab] | | |
| | 9. acyl coenzyme[tiab] | | |
| 11. acadm[tiab] | | | |
| 12. mcad[tiab] | | | |
| 13. mcadh[tiab] | | | |

- A 1 or (2 and 3) or (2 and 4 and 5)
 B 2 and (or/6-9) and 10 and 14
 C (or/11-13) and 14
 D A OR B OR C

Pour chaque stratégie, NOT (animals [mh:noexp] NOT (humans [mh:noexp] AND animals[mh:noexp]))

II) EMBASE/MEDLINE-DIALOG (ONTAP):

1. mcadd/ti,ab			
2. medium()chain/ti,ab,id,de	3. acylco?/ti,ab,id,de	7. dehydrogena?/ti,ab,id,de	11. deficient?/ti,ab,id,de
	4. acyl()co()a/ti,ab,id,de		12. enzyme()defect?/
	5. acyl()coa/ti,ab,id,de		ti,ab,id,de
	6 acyl()coenzyme/ti,ab,id,de		
8. acadm/ti,ab			
9. mcad/ti,ab			
10. mcadh/ti,ab			

S1 s mcadd/ti,ab
 S2 s medium()chain/ti,ab,id,de
 S3 s acylco?/ti,ab,id,de
 S4 s acyl()co()a/ti,ab,id,de
 S5 s acyl()coa/ti,ab,id,de
 S6 s acyl()coenzyme/ti,ab,id,de
 S7 s dehydrogena?/ti,ab,id,de
 S8 s acadm/ti,ab
 S9 s mcad/ti,ab
 S10 s mcadh/ti,ab
 S11 s deficient?/ti,ab,id,de
 S12 s enzyme()defect?/ti,ab,id,de
 S13 s s2 and (s3 or s4 or s5 or s6) and s7
 S14 s s11 or s12
 S15 s s1 or ((s8 or s9 or s10 or s13) and s14)
 S16 s s15 not (animals/df not (humans/df and animals/df))
 S17 s s16 not (nonhuman/df not (human/df and nonhuman/df))
 S18 rd s17
 S19 limit s18/1995:2006
 S20 type s19/4/all

III) COCHRANE:

#1	(acadm OR mcad OR mcadh) AND deficient* in All Fields in all products
#2	mcadd in All Fields in all products
#3	(medium NEXT chain*) AND *dehydrogena* AND deficient* in All Fields in all products
#4	(#1 OR #2 OR #3)

**Mots clés et combinaisons utilisés pour les filtres appliqués
à la recherche bibliographique de la revue de la littérature sur les maladies
(PCU, TH1 et MCADD) effectuée dans PUBMED et EMBASE**

FILTRE : DÉPISTAGE LIMITE DE DATE : 1995-2006 LIMITE DE TYPE D'ÉTUDE : AUCUNE	PUBMED	MEDLINE/EMBASE (DIALOG)
Mots clés	1. genetic screening[mh] 2. mass screening[mh:noexp] 3. multiphasic screening[mh] 4. neonatal screening[mh] 5. screen*[ti] 6. diagnostic use[sh] 7. diagnos*[ti] 8. diagnostic errors[mh:noexp] 9. reproducibility of results[mh] 10. sensitivity and specificity[mh:noexp] 11. false negative[tw] 12. false positive[tw] 13. predictive value*[tw]	1. screen?/ti,id,de 2. du/df 3. diagnos?/ti 4. diagnostic(error?/id,de 5. reproducibility/id,de 6. accuracy/id,de 7. reliability/id,de 8. "sensitivity and specificity"/id,de 9. false(negative/ti,ab,id,de 10. false(positive/ti,ab,id,de 11. predictive(value?/ti,ab,id,de
	14. diagnosis[sh:noexp]	12. metabolism, inborn errors! (L) di/MAJ 13. inborn error of metabolism! (L) di/MAJ
	16. diagnos*[tw] 17. accura*[tiab] 18. error*[tiab] 19. reliabilit*[tiab] 20. reproducib*[tiab] 21. sensitiv*[tiab] 22. specificit*[tiab] 23. validit*[tiab]	15. accura?/ti,ab 16. error?/ti,ab 17. reliabilit?/ti,ab 18. reproducib?/ti,ab 19. sensitiv?/ti,ab 20. specificit?/ti,ab 21. validit?/ti,ab 14. diagnos?/ ti,ab,id,de
Combinaisons	(OR/1-13) OR (14 AND 15) OR (16 AND (OR/17-23))	
	(or/1-13) or (14 and (or/15-21))	

FILTRE : DIAGNOSTIC LIMITE DE DATE : 2000-2006 LIMITE DE TYPE D'ÉTUDE : REVUE DE LA LITTÉRATURE, CONSENSUS OU RECOMMANDATIONS	PUBMED		MEDLINE/EMBASE (DIALOG)
	1. diagnosis[sh] 2. diagnos*[tw]	3. consensus development conferences[mh] 4. consensus development conference[pt] 5. guidelines[mh] 6. guideline[pt] 7. review[pt] 8. consensus[ti] 9. guid*[ti] 10. recommend*[ti] 11. statement*[ti]	
Mots clés			1. pa/df 2. ra/df 3. ri/df 4. ul/df 5. diagnos?/ti,ab,id,de 6. consensus(development/id,de 7. dt=consensus development? 8. guideline?/id,de 9. dt=guideline 10. dt=review 11. consensus/ti 12. guid?/ti 13. recommend?/ti 14. statement?/ti
Combinaisons	(1 OR 2) AND (OR/3-11)		(or/1-5) and (or/6-14)

FILTRE : PRONOSTIC LIMITE DE DATE : 2000-2006 LIMITE DE TYPE D'ÉTUDE : REVUE DE LA LITTÉRATURE, CONSENSUS OU RECOMMANDATIONS	PUBMED		MEDLINE/EMBASE (DIALOG)
	1. clinical course[tiab] 2. clinical outcome*[tiab] 3. disease progression*[tw] 4. natural history[tiab] 5. prognos*[tw]	6. consensus develop- ment conferences[mh] 7. consensus develop- ment conference[pt] 8. guidelines[mh] 9. guideline[pt] 10. review[pt] 11. consensus[ti] 12. guid*[ti] 13. recommend*[ti] 14. statement*[ti]	
Mots clés			1. clinical(course/ti,ab,id,de 2. clinical(outcome?/ ti,ab,id,de 3. disease(course/ti,ab,id,de 4. disease()progression?/ ti,ab,id,de 5. natural()history/ti,ab,id,de 6. prognos?/ti,ab,id,de 7. consensus(development/id,de 8. dt=consensus development? 9. guideline?/id,de 10. dt=guideline 11. dt=review 12. consensus/ti 13. guid?/ti 14. recommend?/ti 15. statement?/ti
Combinaisons	(OR/1-5) AND (OR/6-14)		(or/1-6) and (or/7-15)

FILTRE : INCIDENCE/PRÉVALENCE LIMITE DE DATE : AUCUNE SAUF POUR PCU : 2000-2006 LIMITE DE TYPE D'ÉTUDE : AUCUNE SAUF POUR PCU : REVUE DE LA LITTÉRATURE, CONSENSUS OU RECOMMANDATIONS	PUBMED	MEDLINE/EMBASE (DIALOG)
Mots clés	1. incidence[tw] 2. prevalen*[tw]	1. incidence/ti,ab,id,de 2. prevalen?/ti,ab,id,de
Combinaisons	OR/1-2	1 or 2

FILTRE : ÉPIDÉMIOLOGIE LIMITE DE DATE : 2000-2006 LIMITE DE TYPE D'ÉTUDE : AUCUNE SAUF POUR PCU : REVUE DE LA LITTÉRATURE, CONSENSUS OU RECOMMANDATIONS	PUBMED	MEDLINE/EMBASE (DIALOG)
Mots clés	1. epidemiology[sh] 2. survival[mh] 3. survival analysis[mh] 4. survival rate[mh] 5. death rate*[tiab] 6. epidemiolog*[tiab] 7. morbidit*[tw] 8. mortalit*[tw] 9. surviv*[ti]	1. ep/df 2. eh/df 3. mo/df 4. survival/if,df 5. survival analysis! 6. survival(rate/id,de 7. death(rate?/ti,ab 8. epidemiolog?/ti,ab 9. morbidit?/ti,ab,id,de 10. mortalit?/ti,ab,id,de 11. surviv?/ti
Combinaisons	OR/1-9	or/1-11

FILTRE : THÉRAPIE LIMITE DE DATE : 2000-2006 LIMITE DE TYPE D'ÉTUDE : AUCUNE SAUF POUR PCU : REVUE DE LA LITTÉRATURE, CONSENSUS OU RECOMMANDATIONS	PUBMED	MEDLINE/EMBASE (DIALOG)
Mots clés	1. therapeutic use[sh:noexp] 2. therapy[sh] 3. treatment outcome[mh] 4. diet[tw] 5. dietary[tw] 6. dietetic*[tw] 7. diets[tw] 8. nutrition*[tw] 9. surger*[ti] 10. surgic*[ti] 11. management[ti] 12. transplant*[ti] 13. therap*[ti] 14. treat*[ti]	1. tu/df 2. th/df 3. dh/df 4. dt/df 5. su/df 6. tr/df 7. dm/df 8. treatment outcome! 9. diet/ti,ab,id,de 10. dietary/ti,ab,id,de 11. dietetic?/ti,ab,id,de 12. diets/ti,ab,id,de 13. nutrition?/ti,ab,id,de 14. surger?/ti 15. surgic?/ti 16. management/ti 17. transplant?/ti 18. therap?/ti 19. treat?/ti
Combinaisons	OR/1-14	or/1-19

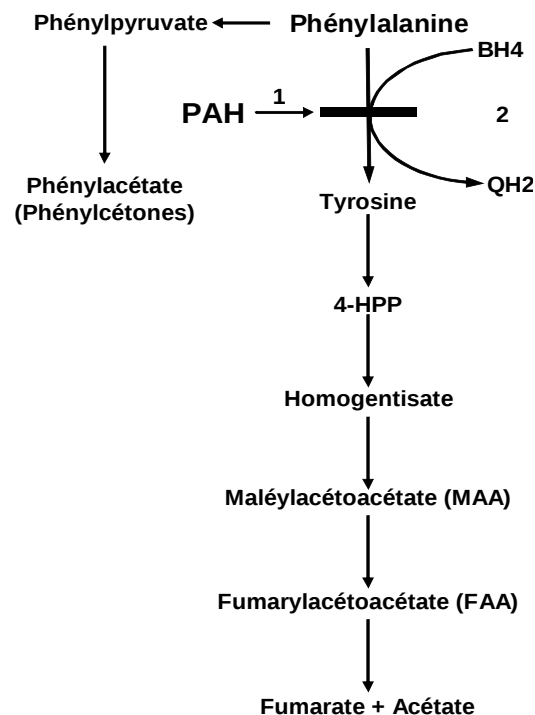
FILTRE : TYPE D'ÉTUDE : REVUE DE LA LITTÉRATURE, CONSENSUS OU RECOMMANDATIONS APPLIQUÉ AUX FILTRES INCIDENCE/PRÉVALENCE, ÉPIDÉMIOLOGIE ET TRAITEMENT POUR LA PCU ET DIAGNOSTIC ET PRONOSTIC POUR LES TROIS MALADIES	PUBMED	MEDLINE/EMBASE (DIALOG)
Mots clés	1. consensus development conferences[mh] 2. consensus development conference[pt] 3. guidelines[mh] 4. guideline[pt] 5. review[pt] 6. consensus[ti] 7. guid*[ti] 8. recommend*[ti] 9. statement*[ti]	1. consensus(development/id,de 2. dt=consensus development? 3. guideline?/id,de 4. dt=guideline 5. dt=review 6. consensus/ti 7. guid?/ti 8. recommend?/ti 9. statement?/ti
Combinaisons	(OR/1-9)	(or/1-9)

ANNEXE E

Voies métaboliques pour la PCU, la TH1 et le MCADD

FIGURE E-1

Métabolisme de la phénylalanine

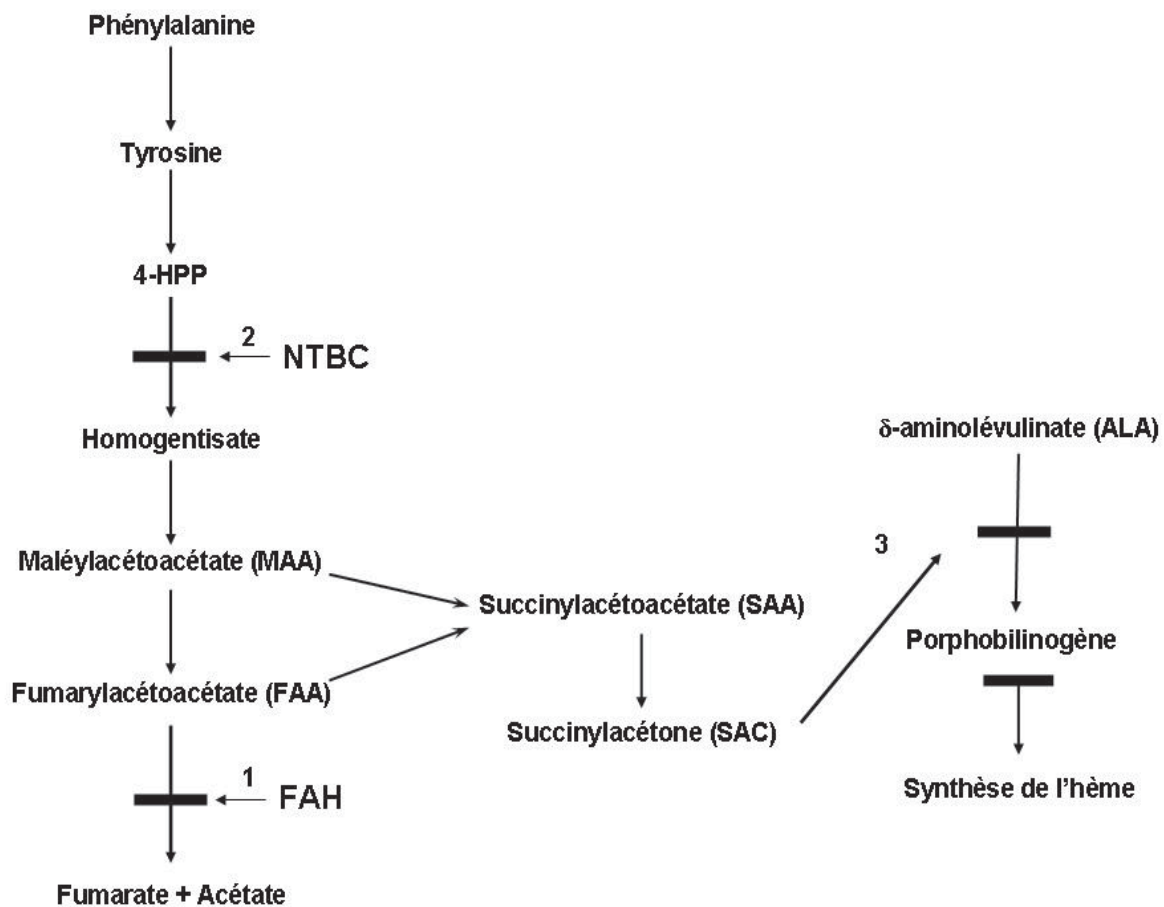


La phénylcétonurie est généralement causée par un déficit de l'enzyme PAH (phénylalanine hydrolase) (1); elle peut aussi être le résultat d'un défaut du métabolisme de la bioptérine (2). La phénylalanine est hydroxylée en tyrosine grâce à la PAH. La BH4 (tétrahydrobioptérine) est le cofacteur indispensable de cette réaction d'hydroxylation. Elle doit être synthétisée puis recyclée pour que la réaction d'hydroxylation puisse avoir lieu. Les déficits de synthèse ou de recyclage de ce cofacteur sont responsables de 2 % des hyperphénylalaninémies.

PAH (phénylalanine hydrolase); 4-HPP (4-hydroxyphénylpyruvate); BH4 (tétrahydrobioptérine); QH2 (quinoïde dihydrobioptérine)

Adapté de Feillet, 2006; Cooper, 2000; Yudkoff, 1999.

FIGURE E-2

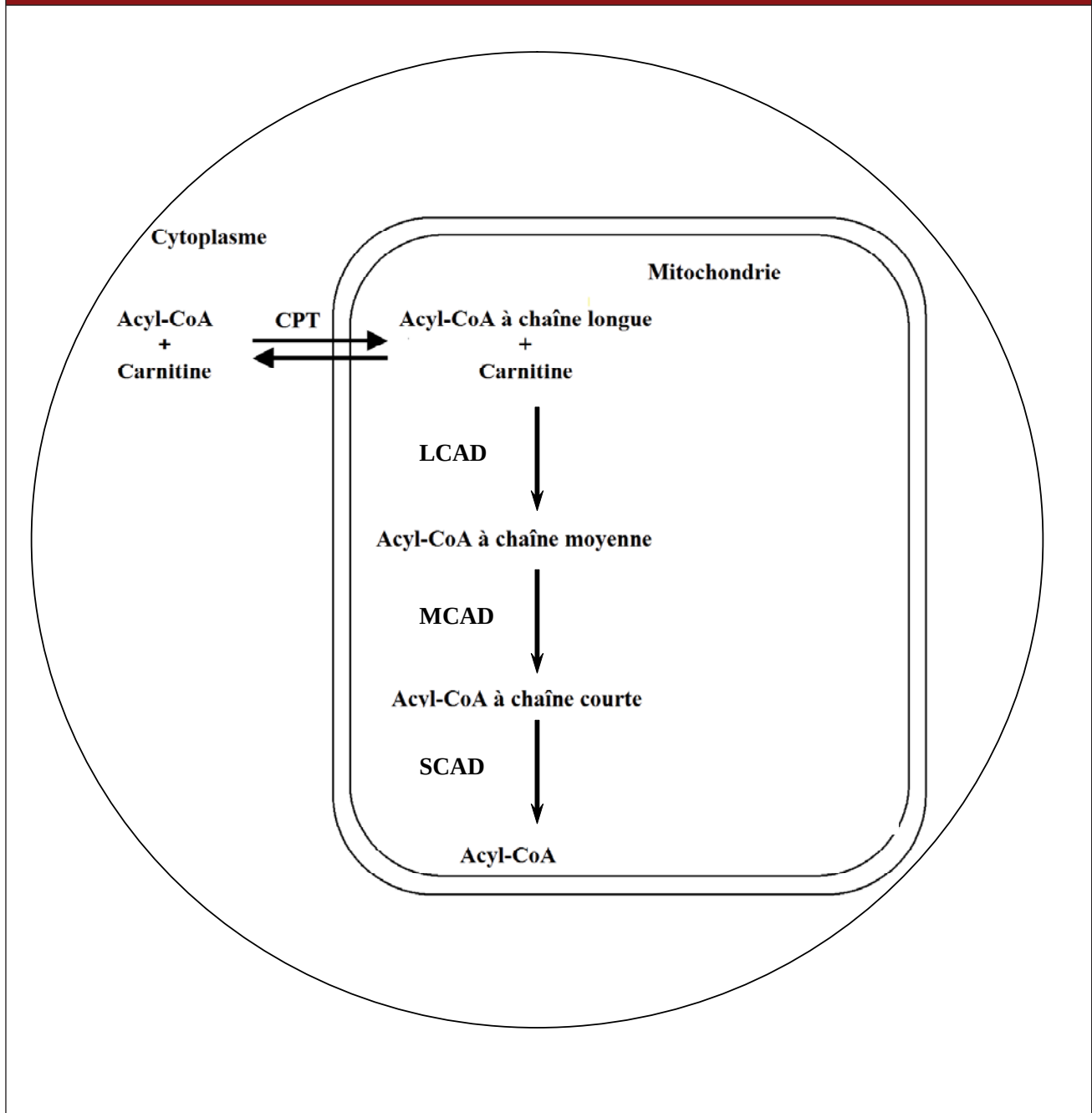
Catabolisme de la tyrosine et synthèse de l'hème

La FAH (fumarylacétoacétate hydrolase) est l'enzyme déficiente dans la TH1 (1). Le 4-HPP (4-hydroxyphenylpyruvate) est métabolisé par l'enzyme 4-HPP dioxygénase. Cette enzyme est le site d'action du 2-(2-nitro-4-trifluorométhylbenzoyl)-1,3-cyclohexanedione (NTBC) (2). L'accumulation de la succinylacétone inhibe les enzymes PBG (porphobilinogène synthase) et δ -aminolévulinate déshydrogénase (ALA-D). Ces enzymes jouent des rôles importants dans la synthèse de l'hème et dans les crises pseudo-porphyriques.

Adapté de Paradis *et al.*, 1996.

FIGURE E-3

Voie métabolique des acides gras : oxydation- β



Les acides gras plasmatiques pénètrent dans les cellules par diffusion. Les esters d'Acyl-CoA des acides gras sont produits dans les cellules, transformés en dérivés d'acylcarnitine gras, puis transportés à travers les membranes mitochondriales par l'enzyme carnitine palmitoyl transférase (CPT). Dans les mitochondries, les molécules d'Acyl-CoA des acides gras sont transformées et catabolisées progressivement en acétyl-CoA par la bêta-oxydation grâce à une série de réactions de déshydrogénation. Il existe trois types d'Acyl-CoA déshydrogénase des acides gras : à chaîne longue (LCAD), à chaîne moyenne (MCAD) et à chaîne courte (SCAD).

Adapté de Vianey-Liaud *et al.*, 1987; Tran *et al.*, 2006.

Articles de type revue de la littérature sur l'efficacité de traitement pour la PCU

ANNEXE F

AUTEURS, ANNÉE OBJECTIF	MÉTHODES DE LA REVUE DE LA LITTÉRATURE	ISSUES CONSIDÉRÉES ET PRINCIPAUX RÉSULTATS (n= nombre d'études à l'appui si différent du nombre total d'études révisées)	CONCLUSIONS RECOMMANDATIONS LIMITES
Rutherford et Poustie, 2005 (Cochrane collaboration) Revue systématique des études évaluant les bénéfices, les effets secondaires, les doses et la fréquence d'administration de substituts protéiniques chez des enfants ou adultes atteints de PCU, ou d'autres formes d'hyperPhe, ayant initié précocement et continué un régime pauvre en Phe	1. Période couverte 2. Sources bibliographiques 3. Critères d'inclusion et d'exclusion 4. Nombre de révisés 5. Évaluation de la qualité 6. Méthodes d'analyses des données 7. Nombre d'études révisées 1. Période couverte : Jusqu'à août 2005 2. Sources bibliographiques : MEDLINE, EMBASE, résumés de conférences, listes de référence, registres d'essais cliniques pertinents, fabricants de produits de régime pour la PCU 3. Critères d'inclusion et d'exclusion : a) Inclusion d'essais cliniques randomisés (publiés ou non) et d'essais quasi-randomisés (si les données sont suffisantes pour indiquer que les groupes expérimentaux et témoins sont comparables en termes d'état clinique et nutritionnel) effectués auprès de patients atteints de PCU pour comparer les interventions suivantes: ■ utilisation <i>versus</i> non utilisation de substituts protéiniques ■ utilisation de substituts protéiniques à doses élevées <i>versus</i> doses plus faibles ■ utilisation de substituts protéiniques à la même dose journalière mais administrés fréquemment en petites quantités <i>versus</i> moins fréquemment en grandes quantités b) Critères d'exclusion : NP	Issues primaires : a) Gain de poids, index de masse corporelle, scores z, centiles et autres indices de l'état nutritionnel et de croissance : Les centiles de taille et de poids ainsi que le statut protéinique ont été mesurés durant l'étude mais les données ne sont pas indiquées clairement. L'étude ne mentionne pas de problèmes particuliers de croissance ou du statut protéinique. Les autres indicateurs de l'état nutritionnel n'ont pas été mesurés b) Performance neuropsychologique: Non mesurée Issues secondaires : a) Variables mesurées mais pour lesquelles l'étude ne présente pas de données détaillées : concentration sérique de Phe et autres acides aminés, apport énergétique et nutritionnel. Toutefois, il est mentionné que les groupes expérimentaux et témoins ne présentaient pas de différences significatives pour les concentrations sériques d'acides aminés b) Variables non mesurées: concentrations cérébrales d'acides aminés, indicateurs du comportement alimentaire, qualité de vie et mortalité.	Conclusions : ■ Les données disponibles sont insuffisantes pour émettre des conclusions à propos de l'efficacité des suppléments protéiniques, à court ou long terme, dans le traitement de la PCU. Cependant, cela ne signifie pas que ces suppléments sont inefficaces. Les auteurs soutiennent que, sans suppléments protéiniques, plusieurs patients atteints de PCU ne consommeraient pas assez de protéines pour les besoins d'une croissance normale. ■ Les procédures actuelles concernant la prise de suppléments protéiniques doivent se poursuivre et il convient d'en faire le suivi jusqu'à l'accumulation d'autres preuves scientifiques à partir de nouveaux essais cliniques Recommandations : ■ Poursuivre les études pour vérifier la quantité de substituts protéiniques nécessaires et les moyens possibles de les administrer. ■ Nécessité de réaliser de façon concomitante des essais cliniques randomisés multicentriques à large échelle afin d'accumuler plus de données. Ces études doivent inclure un nombre adéquat de participants et évaluer les issues à court et à long terme.

AUTEURS, ANNÉE OBJECTIF	MÉTHODES DE LA REVUE DE LA LITTÉRATURE 1. Période couverte 2. Sources bibliographiques 3. Critères d'inclusion et d'exclusion 4. Nombre de réviseurs 5. Évaluation de la qualité 6. Méthodes d'analyses des données 7. Nombre d'études révisées	ISSUES CONSIDÉRÉES ET PRINCIPAUX RÉSULTATS (n= nombre d'études à l'appui si différent du nombre total d'études révisées)	CONCLUSIONS RECOMMANDATIONS LIMITES
	4. Nombre de réviseurs : 2 réviseurs indépendants avec discussion des litiges 5. Évaluation de la qualité : Selon la méthode de Juni, 2001 : l'allocation des sujets, à l'insu des chercheurs et (ou) des participants, et les méthodes de randomisation et d'analyse, par intention thérapeutique et à l'insu de l'allocation des sujets; consignation du nombre de sujets perdus de vue ou exclus de l'étude 6. Méthodes d'analyses des données : Méta-analyse planifiée mais non appliquée pour la présente version de la revue de la littérature car une seule étude a été révisée dont les résultats sont présentés de manière narrative et qualitative. 7. Nombre d'études révisées : Une seule étude ayant comparé les effets de fortes versus faibles doses de substituts protéiniques		■ La participation de patients atteints de PCU et (ou) leur famille pour la conception des études serait bénéfique. Limites : Une seule étude adéquate, incluant un faible nombre de participants (n=28), a été identifiée
Macdonald et al., 2004 Revue narrative d'études ayant documenté divers aspects de l'utilisation des substituts protéiniques comme compléments du régime pauvre en Phe pour les patients atteints de PCU	1. Période couverte : NP 2. Sources bibliographiques : NP 3. Critères d'inclusion et d'exclusion : NP 4. Nombre de réviseurs : NP 5. Évaluation de la qualité : NA 6. Méthodes d'analyses des données : NA 7. Nombre d'études révisées : NP	Quantité : La dose optimale des substituts protéiniques n'a pas été déterminée. En général, des doses plus élevées engendrent des niveaux sériques plus bas de Phe. Des guides de pratique concernant la dose optimale à utiliser n'ont pas été encore développés faute de données probantes sur le sujet. Ainsi, la pratique actuelle diffère d'un pays à l'autre. Fréquence d'administration : L'ajustement de la fréquence d'administration des substituts protéiniques durant le jour uniquement ne réduit pas la variabilité de la concentration sérique de Phe. L'administration des substituts protéiniques toutes les 4 heures a engendré le niveau de Phe sérique le plus stable par rapport aux doses administrées à des intervalles plus longs.	Conclusions : Bien qu'ils soient impopulaires et difficiles d'administration, les suppléments protéiniques sont essentiels pour le régime alimentaire de la PCU. Recommandations : Les chercheurs et les manufacturiers devraient développer une alliance pour essayer d'améliorer la composition et la qualité des substituts protéiniques afin de rendre l'administration de ces produits plus acceptable et efficace et faciliter la qualité de la gestion alimentaire pour les patients atteints de PCU Limites : NP

AUTEURS, ANNÉE OBJECTIF	MÉTHODES DE LA REVUE DE LA LITTÉRATURE 1. Période couverte 2. Sources bibliographiques 3. Critères d'inclusion et d'exclusion 4. Nombre de réviseurs 5. Évaluation de la qualité 6. Méthodes d'analyses des données 7. Nombre d'études révisées	ISSUES CONSIDÉRÉES ET PRINCIPAUX RÉSULTATS (n= nombre d'études à l'appui si différent du nombre total d'études révisées)	CONCLUSIONS RECOMMANDATIONS LIMITES
		Composition : En raison du goût et de l'odeur déplaisants, l'ob-servance aux substituts protéiniques administrés traditionnellement sous forme d'un grand volume de solutions buvables n'est pas satisfaisante. Il est donc prioritaire de développer des produits concentrés à meilleur goût. Certains nouveaux produits plus ac-ceptés incluent des gels, sachets de poudre pré-dosés ou comprimés d'acides aminés avec des vitamines et sels minéraux et des substituts protéiniques tradition-nels contenant des acides gras essentiels ajoutés. Modes d'administration et acceptabilité: Plu-sieurs parents ont exprimé la difficulté d'administrer les substituts protéiniques à leurs enfants. Malgré l'absence d'études formelles sur le sujet, une étude indique qu'il semblerait plus facile d'administrer une pâte plutôt qu'une boisson.	
Spaapen et Rozio-Gozalbo, 2003 Revue narrative de la lit-térature sur la sensibilité à la BH4 chez des patients atteints de PCU	1. Période couverte : NP 2. Sources bibliographiques : NP 3. Critères d'inclusion et d'exclusion : NP 4. Nombre de réviseurs : NP 5. Évaluation de la qualité : NA 6. Méthodes d'analyses des données : NA 7. Nombre d'études révisées: NP	Hypothèse pour le mécanisme d'action de la sen-sibilité à la BH4 : - Diminution de la perturbation de l'arrimage de la BH4 à l'enzyme PAH - Régulation de l'expression du gène PAH - Stabilisation de l'enzyme PAH	Conclusions : La découverte d'une sensibilité à la BH4 chez un sous groupe d'enfants atteints de PCU sug-gère une option thérapeutique additionnelle et une alternative, totale ou partielle, intéressante au régime alimentaire stricte que ces patients doivent suivre. Ce sous groupe de patient sem-ble hétérogène sur le plan du génotype et de la forme clinique d'hyperPhe.

AUTEURS, ANNÉE OBJECTIF	MÉTHODES DE LA REVUE DE LA LITTÉRATURE 1. Période couverte 2. Sources bibliographiques 3. Critères d'inclusion et d'exclusion 4. Nombre de réviseurs 5. Évaluation de la qualité 6. Méthodes d'analyses des données 7. Nombre d'études révisées	ISSUES CONSIDÉRÉES ET PRINCIPAUX RÉSULTATS (n= nombre d'études à l'appui si différent du nombre total d'études révisées)	CONCLUSIONS RECOMMANDATIONS LIMITES
		Caractéristiques des patients sensibles à la BH4 : - La sensibilité à la BH4 varie parmi les patients ayant différents génotypes. Ainsi, on distingue les patients ayant une sensibilité complète (diminution de Phe sérique à des taux normaux 8 à 21h suite à l'administration de BH4) et d'autres à sensibilité partielle (diminution de la Phe sérique mais sans atteindre des taux normaux) - Les données sur la sensibilité à la BH4 parmi les patients ayant un génotype identique sont limitées. Il semblerait que ces patients aient une sensibilité similaire à la BH4 - La sensibilité à la BH4 a été identifiée chez des patients présentant un phénotype modéré d'hyper-Phe, PCU légère ou modérée avec au moins une mutation faux-sens. Cependant, une sensibilité à la BH4 chez des enfants atteints d'une PCU classique a aussi été documentée. - La sensibilité à la BH4 semble dépendre du type de mutation au niveau du gène <i>PAH</i>. Ainsi, les patients ayant 2 mutations nulles ne présentent généralement pas de sensibilité à la BH4, ce qui suggère qu'une certaine activité enzymatique résiduelle est nécessaire pour la stimulation par la BH4. Par contre, les patients ayant une mutation faux-sens à l'état homozygote ou hétérozygote, en association avec une mutation nulle, peuvent présenter une sensibilité à la BH4.	Conclusions (suite) : - Les données actuelles suggèrent que la pertinence clinique d'un traitement par la BH4 est limitée aux patients atteints de PCU nécessitant un traitement diététique. - Les données soulignent l'importance de réaliser une épreuve de charge à la BH4 (test de 24 heures) chez les patients identifiés suite à un dépistage néonatal et un diagnostic de PCU. Recommandations : Nécessité de réaliser de plus amples investigations pour déterminer l'efficacité, la posologie optimale et l'innocuité du traitement BH4 pour les patients atteints de PCU et présentant une sensibilité à ce produit Limites : NP

AUTEURS, ANNÉE OBJECTIF	MÉTHODES DE LA REVUE DE LA LITTÉRATURE 1. Période couverte 2. Sources bibliographiques 3. Critères d'inclusion et d'exclusion 4. Nombre de réviseurs 5. Évaluation de la qualité 6. Méthodes d'analyses des données 7. Nombre d'études révisées	ISSUES CONSIDÉRÉES ET PRINCIPAUX RÉSULTATS (n= nombre d'études à l'appui si différent du nombre total d'études révisées)	CONCLUSIONS RECOMMANDATIONS LIMITES
		Forme de la BH4 : Depuis 1999 il y a eu un changement dans la composition du produit BH4 utilisé touchant surtout la pureté du produit : nouvelle préparation de 6R-BH4 (99.5% 6R) <i>versus</i> l'ancienne préparation de 6R, S-BH4 (69% 6R; 31% 6S). Ce changement pourrait être une explication plausible de la détection de plus de patients atteints de PCU sensibles à la BH4 dans les études réalisées après 1999 par rapport à celles publiées avant cette date. Les auteurs invitent à la considération de tester de nouveau les patients diagnostiqués avant 1999 Dose de BH4 : Les études ont montré des réponses cliniques avec des dosages de 10 et 20 mg/kg/jour. Dans certaines études cette dose a été associée à 100 mg/kg de Phe Pertinence clinique : L'expertise actuelle concernant l'utilisation de la BH4 comme traitement pour les patients atteints de PCU est limitée. Plusieurs auteurs citent toutefois des cas d'enfants qui se sont améliorés sous ce type de traitement.	

AUTEURS, ANNÉE OBJECTIF	MÉTHODES DE LA REVUE DE LA LITTÉRATURE 1. Période couverte 2. Sources bibliographiques 3. Critères d'inclusion et d'exclusion 4. Nombre de réviseurs 5. Évaluation de la qualité 6. Méthodes d'analyses des données 7. Nombre d'études révisées	ISSUES CONSIDÉRÉES ET PRINCIPAUX RÉSULTATS (n= nombre d'études à l'appui si différent du nombre total d'études révisées)	CONCLUSIONS RECOMMANDATIONS LIMITES
Van Spronsen <i>et al.</i>, 2001a Révision des hypothèses sur l'implication de la tyrosine dans la pathogénie et le traitement de la PCU	1. Période couverte : NP 2. Sources bibliographiques : NP 3. Critères d'inclusion et d'exclusion : NP 4. Nombre de réviseurs : NA 5. Évaluation de la qualité : NA 6. Méthodes d'analyses des données : NA 7. Nombre d'études révisées : NP	Le traitement de patients atteints de PCU par la tyrosine, comme une alternative à la diète pauvre en Phe, est basée sur quatre hypothèses : 1) L'hypothèse de justification 2) La synthèse des neurotransmetteurs 3) Le dysfonctionnement du cortex préfrontal 4) La barrière hémato-encéphalique Les études se basant sur ces hypothèses n'apportent pas de preuves concrètes que les concentrations sériques de tyrosine influencent l'issue de patients atteints de PCU, particulièrement les niveaux sériques de Phe, Tyr et autres métabolites.	Conclusions : Il n'est pas recommandé de remplacer la diète pauvre en Phe et enrichie en tyrosine par des suppléments de tyrosine. Recommandations : Nécessité de réaliser de plus amples investigations sur la possibilité de remplacer le régime alimentaire par un traitement à base d'acides aminés larges neutres (Phe, Tyr, tryptophane, méthionine, leucine, isoleucine, valine et histidine) Limites : NP
Van Spronsen <i>et al.</i>, 2001b Revue narrative des données biologiques et pharmacocinétiques relatives au rôle de la tyrosine dans la PCU, y compris la PCU maternelle.	1. Période couverte : Jusqu'à 2001 2. Sources bibliographiques : NP 3. Critères d'inclusion et d'exclusion : NP 4. Nombre de réviseurs : NA 5. Évaluation de la qualité : NA 6. Méthodes d'analyses des données : NA 7. Nombre d'études révisées : NP	Tyrosine sérique : ▪ Des concentrations sériques de tyrosine peuvent être soit très élevées soit très basses chez les patients atteints de PCU ▪ Il n'y a pas de preuves scientifiques claires indiquant que des concentrations sériques élevées de tyrosine ont un effet toxique	Conclusions : Les procédures actuelles d'utilisation des suppléments de tyrosine pour les patients atteints de PCU sont loin d'être optimales Recommandations : ▪ L'auteur propose de réduire le contenu en tyrosine dans les suppléments protéiniques à environ 6 %. ▪ L'amélioration de la palatabilité des substituts protéiniques et une meilleure distribution de l'administration quotidienne de ces produits seraient souhaitables. Limites : NP

AUTEURS, ANNÉE OBJECTIF	MÉTHODES DE LA REVUE DE LA LITTÉRATURE 1. Période couverte 2. Sources bibliographiques 3. Critères d'inclusion et d'exclusion 4. Nombre de réviseurs 5. Évaluation de la qualité 6. Méthodes d'analyses des données 7. Nombre d'études révisées	ISSUES CONSIDÉRÉES ET PRINCIPAUX RÉSULTATS (n= nombre d'études à l'appui si différent du nombre total d'études révisées)	CONCLUSIONS RECOMMANDATIONS LIMITES
Burgard, 2000 Revue narrative des études longitudinales ayant évalué l'intelligence de patients atteints de PCU traités par un régime alimentaire	1. Période couverte : NP 2. Sources bibliographiques : NP 3. Critères d'inclusion et d'exclusion : NP 4. Nombre de réviseurs : NA 5. Évaluation de la qualité : NA 6. Méthodes d'analyses des données : Analyse exploratoire par régression multiple pour tenter d'estimer le déclin en QI attribuable à un taux de Phe sérique plus élevé 7. Nombre d'études révisées : 3 études multicentriques ou basées sur un registre national (Allemagne, États Unis et Grande Bretagne)		Conclusions : ▪ Toutes les études insistent sur l'importance d'un traitement précoce et strict durant les années préscolaires pour un développement normal ▪ De meilleurs niveaux de QI sont obtenus avec l'initiation précoce du traitement et le maintien des niveaux sériques de Phe < 400 µmol/L ▪ Il existe des différences entre les études à propos de l'âge au-delà duquel les niveaux de Phe sérique n'influencent plus le QI, l'auteur estimant que le QI est stable après 10 ans. ▪ Il y a peu de données disponibles sur les issues à long terme. Recommandations : ▪ Nécessité de réaliser de plus amples investigations incluant des comparaisons entre personnes atteintes et non atteintes de PCU ▪ La collaboration internationale devrait être encouragée Limites : NP

AUTEURS, ANNÉE OBJECTIF	MÉTHODES DE LA REVUE DE LA LITTÉRATURE 1. Période couverte 2. Sources bibliographiques 3. Critères d'inclusion et d'exclusion 4. Nombre de réviseurs 5. Évaluation de la qualité 6. Méthodes d'analyses des données 7. Nombre d'études révisées	ISSUES CONSIDÉRÉES ET PRINCIPAUX RÉSULTATS (n= nombre d'études à l'appui si différent du nombre total d'études révisées)	CONCLUSIONS RECOMMANDATIONS LIMITES
Poustie et Rutherford, 2000a (Cochrane Collaboration) Évaluer : (i) les effets d'un régime pauvre en Phe initié tôt dans la vie sur l'issue des patients atteints de PCU (ou d'hyperPhe), surtout l'intelligence et la performance neuro-psychologique (ii) si l'assouplissement ou l'interruption de la diète a des effets néfastes sur l'issue des patients atteints de PCU (ou d'hyperPhe), surtout l'intelligence et la performance neuro-psychologique	1. Période couverte: depuis 1966 (plus récente mise à jour en 2004) 2. Sources bibliographiques: MEDLINE, EMBASE, résumés de conférences, listes de référence, registres d'essais cliniques pertinents, fabricants de produits de régime pour la PCU 3. Critères d'inclusion et d'exclusion : Essais cliniques contrôlés randomisés comparant l'issue de patients ayant poursuivi un régime pauvre en Phe par rapport à ceux l'ayant assoupli ou interrompu 4. Nombre de réviseurs : 2 réviseurs indépendants avec discussion des litiges 5. Évaluation de la qualité : Méthode décrites par Schulz en 1995 prenant en considération : l'allocation des sujets, à l'insu des chercheurs et (ou) des participants, et les méthodes de randomisation et d'analyse, par intention thérapeutique et à l'insu de l'allocation des sujets 6. Méthodes d'analyses des données : Méta-analyse planifiée avec évaluation de l'hétérogénéité entre les études, mais la majorité des résultats analysés portent sur une étude à la fois. 7. Nombre d'études : 4	Phe sérique : Taux significativement plus bas chez les individus ayant poursuivi le régime de façon stricte (n=4) Gain de poids : Aucune différence significative entre les groupes (n=2) QI : Un écart significatif de QI existe entre les participants ayant poursuivi le régime après l'âge de 6 ans et ceux qui l'ont interrompu (n=1) Apport énergétique et protéinique : Aucune différence significative entre les groupes (n=1)	Conclusions : - Compte tenu des résultats des études observationnelles, il n'est pas éthique de ne pas instaurer un régime pauvre en Phe dès la confirmation diagnostique. - Du fait du manque d'études randomisées de bonne qualité, aucune conclusion ne peut être tirée sur l'efficacité relative des diverses modalités du régime alimentaire. Recommandations : - Nécessité de réaliser des études randomisées multicentriques et internationales, à double insu, à large échelle et définies selon un devis rigoureux pour déterminer la teneur optimale en Phe du régime et sa durée. - Les variables à mesurer pour évaluer l'impact du traitement, surtout sur la performance neuro-psychologique, devront faire l'objet d'un consensus au préalable. Limites : - Faible nombre de patients suivis. - Manque de détails sur les méthodes de randomisation. - Seules 2 études sur 4 ont utilisé une analyse par intention thérapeutique. - L'hétérogénéité entre les études en ce qui concerne les variables mesurant la performance neuropsychologique a obligé les auteurs à exclure cette issue de l'analyse. - Peu d'études comportent un suivi à long terme jusqu'à l'âge adulte.

AUTEURS, ANNÉE OBJECTIF	MÉTHODES DE LA REVUE DE LA LITTÉRATURE	ISSUES CONSIDÉRÉES ET PRINCIPAUX RÉSULTATS	CONCLUSIONS RECOMMANDATIONS LIMITES
Poustie et Rutherford, 2000b (Cochrane Collaboration) Évaluer les effets des suppléments alimentaires de tyrosine en complément ou au lieu d'un régime alimentaire pauvre en Phe pour les patients atteints de PCU	1. Période couverte 2. Sources bibliographiques 3. Critères d'inclusion et d'exclusion 4. Nombre de réviseurs 5. Évaluation de la qualité 6. Méthodes d'analyses des données 7. Nombre d'études révisées 1. Période couverte : depuis 1966 (plus récente mise à jour en 2004) 2. Sources bibliographiques : MEDLINE, EMBASE, résumés de conférences, listes de référence, registres d'essais cliniques pertinents, fabricants de produits de régime pour la PCU 3. Critères d'inclusion et d'exclusion : ▪ Inclusions d'essais cliniques randomisés ayant évalué l'usage de supplément de tyrosine versus un placebo avec, ou pour remplacer, un régime pauvre en Phe pour les sujets atteints de PCU. ▪ Exclusion des personnes traitées pour la PCU maternelle. 4. Nombre de réviseurs : 2 5. Évaluation de la qualité : Méthode décrites par Schulz en 1995 prenant en considération : l'allocation des sujets, à l'insu des chercheurs et (ou) des participants, et les méthodes de randomisation et d'analyse, par intention thérapeutique et à l'insu de l'allocation des sujets 6. Méthodes d'analyses des données : Méta-analyse avec évaluation de l'hétérogénéité entre les études 7. Nombre d'études: 3	Phe sérique : aucune différence significative entre le groupe expérimental et le groupe témoin Tyrosine sérique: Significativement plus élevée dans les groupes expérimentaux dans 2 des 3 études	Conclusions : ▪ Les données actuellement disponibles ne permettent de tirer aucune conclusion sur l'efficacité des suppléments de tyrosine au régime alimentaire pour les patients atteints de PCU. ▪ L'administration de suppléments de tyrosine en pratique clinique courante n'est pas encore suggérée car l'efficacité de ces produits doit être préalablement évaluée dans des essais cliniques multicentriques à large échelle Recommandations : ▪ Nécessité de réaliser des essais cliniques randomisés multicentriques à large échelle avec un plan d'étude rigoureux surtout en termes de nombre de participants, le dosage de la tyrosine, la durée de l'intervention et l'identification de variables pertinentes et appropriées pour évaluer l'efficacité de celle-ci. Limites: ▪ Faible nombre de patients suivis ▪ Durée d'intervention trop courte ▪ Certaines variables jugées importantes pour l'évaluation de l'efficacité de l'intervention n'ont pas pu être mesurées

Abréviations : BH4 : tétrahydrobioptérine; EIM : erreurs innées du métabolisme; HyperPhe : hyperphénylalaninémie; NA : Non applicable; NP : non précisé; PCU : phénylcétonurie; Phe : phénylalanine; QI : quotient intellectuel; Tyr : tyrosine

L'analyse MS/MS

G1. Les étapes de l'analyse MS/MS

L'introduction dans l'appareil

Suite à une étape de préparation préalable (décrite plus loin pour l'analyse spécifique des acides aminés et acylcarnitines), la solution contenant les métabolites d'intérêt est placée dans une fiole ou un plateau multipuits et est prélevée automatiquement par un passeur d'échantillons (*auto-sampler*) selon un volume et un débit programmé. La solution est alors injectée dans l'appareil et passe à travers un tube de silice avant d'arriver à la source d'ionisation. La longueur du tube de silice doit être minimale car elle détermine le «*solvent delay time*» qui est le temps que prend l'échantillon pour arriver à la source d'ionisation à partir de l'injecteur [Rashed *et al.*, 1995].

L'ionisation

Ce processus applique une charge aux molécules d'intérêt et permet aux ions d'entrer dans une phase gazeuse, une condition nécessaire pour leur analyse par la MS/MS [McCandless, 2004; Chace *et al.*, 2002]. La ESI-MS/MS utilise une ionisation par pression atmosphérique dont le mécanisme est encore débattu [Dooley, 2003]. Au cours de cette étape, les métabolites d'intérêt, contenus dans une solution tampon, sont pulvérisés par un champ électrique à pression atmosphérique à travers des tubes capillaires hautement chargés. Se forment alors à la sortie de ces tubes des gouttelettes chargées qui s'évaporent et se fragmentent à cause d'une répulsion de charge révélant des ions libres au sein d'une vapeur nuage à l'entrée de la source du premier spectromètre de masse. Seuls les ions libres vont par la suite être dirigés vers la source du premier spectromètre de masse. L'ionisation peut être réalisée en mode positif ou négatif selon la charge du tube capillaire qui va donc déterminer également la charge des ions formés. Cette charge est acquise suite à un gain (charge positive) ou perte (charge négative) de proton. Le choix du mode d'ionisation dépend de la structure chimique des substances analysées qui détermine le type d'ions (positif ou négatif) préférentiellement produit [Cheillan *et al.*, 2004; Adeli, 2003].

Plusieurs éléments peuvent affecter la sensibilité de la procédure ESI. Tout d'abord, la procédure peut être entravée par une interaction entre les métabolites d'intérêt et des ions tels que le sodium ou le chlore et par la compétition entre ces métabolites et les autres molécules dans la solution. La différence entre les matrices d'un spécimen à un autre est la raison pour laquelle la standardisation interne préférentiellement avec les standards internes «*isostructuraux*» marqués isotopiquement est recommandée. Aussi, plusieurs substances comme l'héparine ou le plastifiant des tubes peuvent soit améliorer soit supprimer l'ionisation des métabolites. La sensibilité de l'ESI est aussi variable selon la structure chimique des métabolites. Ainsi, pour améliorer la sensibilité de ESI, certaines manipulations de l'échantillon peuvent s'avérer nécessaires (e.g. l'élimination préalable des ions entravant le processus d'ionisation; la butylation des métabolites pour uniformiser le processus d'ionisation entre des métabolites de structure différentes) [Dooley, 2003].

Le passage dans l'analyseur :

Une fois produits, les ions chargés sont dirigés par un champ électromagnétique vers l'analyseur. Celui-ci est en général constitué de trois chambres en série, correspondant à deux spectromètres de masse, d'où le nom «*en tandem*», séparés par une chambre de collision. Ces chambres ou «*quadripôles*» contiennent quatre électrodes parallèles. Pour les deux spectromètres de masse, ces électrodes appliquent un champ électrique alternatif constant qui détermine la trajectoire de chaque ion selon sa masse et sa charge, permettant ainsi la séparation des molécules ionisées sur la base de leur ratio m/z . Le quadripôle de la chambre de collision quant

à lui, ne sépare pas les molécules mais les fragmente selon un processus appelé « collision activated/induced dissociation » (CID). Sous l'impulsion du CID, les ions subissent une accélération et entrent en collision avec un gaz inerte (généralement l'argon ou le nitrogène) entraînant la formation de fragments ionisés et (ou) neutres. La densité du gaz inerte ainsi que le voltage d'accélération peuvent être modulés afin de contrôler la fragmentation des ions. L'intérêt de ce dispositif à trois quadripôles (Q1, Q2 et Q3 respectivement) réside donc dans l'isolation des molécules intactes ionisées du mélange initial dans le premier spectromètre de masse et dans l'analyse des ions fragments ou fils dans le deuxième spectromètre de masse.

La détection et production des résultats :

Un détecteur d'électrons permet de coupler l'information provenant des deux spectromètres de masse et d'identifier des paires « ion parent-ion fragment », caractéristiques de la substance d'intérêt. Le détecteur d'électrons, qui peut être soit un détecteur conventionnel, soit un photomultiplicateur, capte un signal pour les ions sélectionnés sur la base de leur ratio m/z suite à leur passage dans chaque spectromètre de masse [Cheillan *et al.*, 2004; Rinaldo *et al.*, 2004; Dooley, 2003; Fearing et Levy, 2003; Chace *et al.*, 2002; Clarke, 2002]. Les signaux sont enregistrés et transmis sous forme de courant électrique amplifié au système informatique couplé au détecteur [Clarke, 2002]. Au début des années 1990, on utilisait surtout une analyse visuelle des signaux captés. Par la suite, plusieurs programmes informatiques automatisant les manipulations des données et l'interprétation des résultats ont été développés, comme le programme CAMPA développé par Rashed et ses collaborateurs [1995]. Selon les programmes, les résultats peuvent être présentés sous la forme graphique d'un spectre de masse et (ou) sous la forme d'une base de données (*spreadsheet*). Les algorithmes informatiques sont en mesure d'établir la corrélation entre chaque fragment d'ion fils et l'ion parent correspondant. Il y a eu également développement de formules mathématiques permettant de calculer des ratios de métabolites, comme le ratio d'un métabolite à son standard interne ou le ratio de différents métabolites. Cette option est utilisée pour caractériser certaines EIM, dont la PCU pour laquelle on se sert du ratio phénylalanine/tyrosine. Enfin, les valeurs limites pour chaque métabolite peuvent être automatiquement incorporées aux systèmes informatisés.

G2. Les modes d'analyse MS/MS

Les modes de balayage

- Le balayage des ions produits/fils (*product ion scan*) : ce mode permet la détection de tous les ions fils résultant du même ion parent correspondant à une molécule d'intérêt. Ainsi, Q1 est programmé de manière à ne laisser passer dans Q2 qu'un seul ion parent d'un m/z particulier, et Q3 est ajusté pour détecter tous les ions fils provenant de cet ion parent⁸⁷. Cette méthode est la plus indiquée pour identifier une substance inconnue dans un mélange complexe et est surtout utilisée au cours de la validation de méthodes analytiques.
- Le balayage des ions parents (*precursor ion scan*) : ce mode permet la détection de tous les ions parents dans Q1 qui produisent un même ion fils spécifique. Ce mode est utilisé pour l'analyse spécifique d'une famille de molécules ayant une partie structurale commune, produisant donc un ion fils commun. Q1 est alors programmé pour laisser passer vers Q2 tous les ions parents provenant de l'échantillon alors que Q3 est programmé pour ne laisser passer vers le détecteur que les ions fils d'un m/z particulier. Un spectre de tous les ions parents produisant cet ion fils est alors produit. Dans le cadre du dépistage néonatal des erreurs innées du métabolisme, ce mode est utilisé pour l'analyse des acylcarnitines.
- Le balayage en perte neutre ou perte de fragment neutre (*neutral loss scan*) : ce mode permet la détection de tous les ions parents ayant en commun un fragment neutre perdu après fragmentation. Ainsi, Q1 et Q3 sont programmés par rapport à une différence constante de masse, qui est la différence entre la masse de l'ion parent et celle de l'ion fils et correspond à la masse du fragment neutre⁸⁸. Dans le cadre du dépistage néonatal

87. Les ions fils dans Q3 sont alors détectés du plus faible m/z au m/z de l'ion parent particulier qui est analysé.

88. Le fragment neutre ne peut être détecté directement par le spectromètre de masse car il n'est pas ionisé.

des erreurs innées du métabolisme, on a recours à ce mode de balayage pour le dosage semi-quantitatif des acides aminés.

Le mode d'analyse sélective

Contrairement aux trois modes de balayage précités, basés sur la détection d'une gamme de m/z (soit en Q1, soit en Q3), le mode SRM vise une valeur unique de m/z dans chacun des spectromètres de masse. Ainsi, le mode SRM permet d'identifier pour une molécule déterminée la paire « ions parents-ions fils » qui lui est spécifique. Q1 est programmé de manière à ne laisser passer vers Q2 que l'ion parent spécifique et Q3 est programmé pour ne détecter que l'ion fils spécifique correspondant⁸⁹. Un processus de fragmentation unique pour chaque paire doit donc être réalisé, d'où l'appellation *Single Reaction Monitoring* (SRM). Puisque la MS/MS permet de réaliser des analyses simultanées pour plusieurs paires de ce genre, le terme le plus utilisé pour ce mode d'analyse est le *Multiple Reaction Monitoring* (MRM), qui désigne l'ensemble des SRM réalisés de façon concomitante. Ce mode est surtout utilisé pour quantifier simultanément de très nombreux composés possédant des structures chimiques différentes. Pour ce faire, plusieurs cycles de réglage des champs magnétiques, correspondant chacun à un m/z particulier, se succèdent en quelques secondes grâce au contrôle informatique. Dans le cadre du dépistage néonatal des erreurs innées du métabolisme, le mode MRM est utilisé pour l'analyse sélective des acides aminés et des acylcarnitines qui ne sont pas adéquatement détectés par les balayages en perte neutre (acides aminés) ou le balayage d'ions parents (acylcarnitines)⁹⁰. De plus, le MRM est le mode qui permet de restreindre les analyses à certains métabolites d'intérêt tout en évitant la détection de maladies dont on connaît moins bien l'évolution naturelle et (ou) le traitement.

G3. Profil MS/MS commun pour l'analyse des acides aminés et acylcarnitines

L'utilisation de la MS/MS pour le dépistage néonatal des EIM est simple puisque les métabolites à analyser appartiennent seulement à 2 classes, soit les acides aminés et les acylcarnitines. Les échantillons de sang séché sont d'abord préparés en lots de 60-96 échantillons en 2.5-3h par lot, incluant le temps pour réaliser les étapes d'extraction et de butylation, avant d'être injectés dans la machine et analysés selon un mode qui diffère pour les acides aminés et acylcarnitines.

La préparation de l'échantillon

1) L'extraction

Un ou 2 disques de 3,2mm (1/8") ou 4,8mm (3/16") de diamètre comportant les échantillons de sang séché sont poinçonnés à partir de la carte de Guthrie et placés dans une fiole ou un plateau de 96 puits. Théoriquement, si l'hématocrite est de 55 % à l'origine, ces disques contiennent 3,4 et 7,6 μL de sang, respectivement. Les échantillons sont par la suite élués dans du méthanol pur contenant des concentrations connues d'étalons internes d'acides aminés et acylcarnitines stables isotopiquement marqués (^2H ou ^{13}C) qui sont ajoutés comme marqueurs de référence pour la quantification [Cheillan *et al.*, 2004; Fearing et Levy, 2003; Chace *et al.*, 2002; Clarke, 2002]. Ces standards sont généralement commercialement disponibles individuellement ou en mélange pour les fins du dépistage néonatal. Seuls les acides aminés et acylcarnitines extraits par du méthanol peuvent être mélangés aux standards internes. Dans ces conditions, l'extraction est généralement efficace à 90 % mais la capacité d'extraction varie selon les métabolites. Comme les échantillons de sang séché sont des échantillons secs et que les étalons marqués sont en phase liquide dans le méthanol, le mélange des deux ne sera pas uniforme ce qui cause la perte d'un certain degré de précision par rapport aux traditionnelles méthodes de « isotope-dilution ». Pour cette raison, cette technique est appelée *pseudoisotope dilution* (partielle) pour prendre en considération la perte de précision et d'exactitude liée à l'extraction et l'incertitude quant à la quantité de sang utilisée lors de l'analyse [Chace *et al.*, 2002]. Dans la majorité des profils métaboliques, l'extraction nécessite une trentaine de minute avec ou sans agitation douce

89. L'ion fils choisi est habituellement l'ion le plus abondant provenant de cet ion parent.

90. Cette situation prévaut par exemple pour le dosage du hexose-1 phosphate pour le dépistage de la galactosémie, le dosage de stéroïdes pour le test de 2^e ligne de dépistage de l'hyperplasie congénitale des surrénales, et le dosage de la succinylacétone pour le dépistage néonatal de la TH1.

avec un léger réchauffement du plat en utilisant des sècheuses spécifiques pour cette fonction. Contrairement à l'extraction ultrasonique utilisée historiquement, l'agitation douce permet d'éviter la libération de particules à partir du papier filtre et la rupture de globules rouges ce qui peut résulter en une perte majeure du signal de détection en ESI-MS/MS [Nagy *et al.*, 2003]. Pour le séchage, certains laboratoires utilisent de l'air chaud, ce qui est contestée à cause de l'oxydation possible par la présence d'oxygène et de vapeur d'eau dans l'air, ou une centrifugation à faible pression. En général, les extraits sont transférés manuellement ou automatiquement dans de nouveaux tubes ou plats multipuits afin de séparer les disques de la solution de méthanol. Suite à l'extraction, le méthanol est retiré par évaporation grâce à l'application d'un faible courant de nitrogène sec.

2) La butylation

La plus fréquente méthode de préparation des échantillons d'extraits d'acides aminés et acylcarnitines utilise la butylation. Cette méthode permet l'amélioration de la sensibilité de la procédure d'ionisation avec des sources telle que la *Fast Atom Bombardment* (FAB). Mais avec l'amélioration des procédures d'ionisation, surtout par ESI, plusieurs acides aminés et acylcarnitines peuvent être analysés sans butylation. On ajoute du butanol sec acidifié, qui est disponible commercialement, dans chaque fiole ou puits du plateau d'analyse. La solution est mélangée et scellée puis chauffée à 50-65°C [Chace *et al.* 2003a] durant 15 minutes pour que les métabolites et les étalons standards soient convertis en esters butyliques [Nagy *et al.*, 2003]. Les butylations plus longues et à température plus élevée produisent une hydrolyse plus complète des acylcarnitines. La solution de butanol est par la suite séchée par un courant de nitrogène et les résidus séchés sont reconstitués dans une solution appropriée pour la MS/MS. Ces solutions varient selon le type d'appareil de MS/MS utilisé. Pour ESI-MS/MS, qui nécessite un solvant volatil partiellement organique, acidifié ou non, on utilise généralement un mélange égal d'eau et d'acétonitrile mais certains laboratoires utilisent d'autres solutions. De l'acide formique peut être rajouté en faible pourcentage pour acidifier les solvants et améliorer le processus d'ionisation.

Ce processus de butylation stabilise les composés organiques en des formes volatiles à température appropriée pour l'appareil MS/MS [McCandless, 2004; Carreiro-Lewandowski, 2002; Chace *et al.*, 2002]. De plus, la butylation rend le processus d'ionisation similaire entre les acides aminés basiques, acides et neutres [Casetta *et al.*, 2000] et réalise un gain substantiel sur le plan du seuil de détection des métabolites [Nagy *et al.*, 2003].

L'analyse MS/MS

Une fois préparé, l'échantillon est injecté dans la machine où il subit en premier lieu l'ionisation des molécules puis l'analyse selon trois modes d'analyse réalisés consécutivement [Cheillan *et al.*, 2004; Carpenter et Wiley, 2002; Chace *et al.*, 2002; Rashed *et al.*, 1995] :

- (i) Le mode de balayage d'ions parents à m/z 85 Da pour l'analyse des acylcarnitines. Après passage dans la chambre de collision, les esters butylés d'acylcarnitines produisent tous un ion fragment commun de m/z de 85 Da qui correspond au groupement $\text{CH}_2\text{-CH=CH-COOH}$ qui résulte de la perte d'éléments des extrémités $(\text{CH}_3)_3\text{N}$ et C_4H_8 et RCOOH . Donc, tous les ions parents ayant produit ce type d'ions fragment sont sélectionnés. Cette méthode permet de quantifier tous les acylcarnitines dont la taille varie entre 2 et 20 carbones (C2-C20). Chaque pathologie à l'origine d'une accumulation d'acylcarnitines donnera ainsi un profil caractéristique qui permettra d'évoquer un diagnostic. La MS/MS permet l'analyse non seulement des acylcarnitines (C2 à C20), mais également des hydroxyacylcarnitines (C#OH), des acylcarnitines dicarboxyliques (C#DC) et des espèces insaturées (C#:1OH).
- (ii) Le mode de balayage en perte d'un fragment neutre de 102Da pour l'analyse des acides aminés acides (alanine, sérine, proline, valine, glutamine+acide glutamique, leucine+isoleucine+alloleucine, méthionine, histidine, phénylalanine, tyrosine, asparagine+acide aspartique) [Cheillan *et al.*, 2004; Carpenter et Wiley, 2002; Chace *et al.*, 2002; Rashed *et al.*, 1995]. Le fragment de 102 Da correspond à une molécule neutre de butylformate qui s'est formé à partir de l'estérification du groupe chimique acide formique, commun à tous les acides aminés acides, lors de l'étape de la butylation [Chace *et al.*, 2002]. Donc,

pendant que Q1 scanne les molécules dont le ratio m/z varie entre 125-300 Da, Q3 scanne simultanément des ions produits de masse 102 Da moins élevée, i.e. un ratio m/z entre 23 et 198 Da. Il est important de noter que la glycine produit un signal très faible qui peut facilement être non détecté. C'est pour cela qu'on préconise de la doser individuellement en mode MRM.

- (iii) Le mode de balayage en perte d'un fragment neutre de 119Da pour les acides aminés basiques (citrulline, lysine, arginine, ornithine).

Contrairement au dosage des acylcarnitines qui est quantitatif, celui des acides aminés n'est que semi-quantitatif car il est impossible de quantifier séparément les acides aminés qui sont isomasses. C'est le cas de la leucine, l'isoleucine et l'allo-isoleucine pour lesquelles seule la somme des trois peut être déterminée. De plus, puisque la butylation transforme la glutamine et l'asparagine, respectivement, en acide glutamique et en acide aspartique, la MS/MS ne quantifie que le total de l'acide aminé et de l'acide dérivé correspondant (acide glutamique + glutamine et acide aspartique+asparagine). Toutefois, la quantification semi-quantitative est suffisante pour des fins de dépistage. Par contre, à l'étape de la confirmation diagnostique une séparation chromatographique préalable à l'analyse MS/MS pourrait s'avérer nécessaire.

G4. Inconvénients de la MS/MS

Ci-dessous quelques inconvénients additionnels de la MS/MS à ceux cités dans le texte :

- Pour une quantification précise des métabolites, le recours à des standards internes de même structure chimique que le métabolite d'intérêt correspondant est recommandé mais de tels standards ne sont pas disponibles pour tous les métabolites d'intérêt (par exemple, C6 et C10 qui sont généralement quantifiés en utilisant le standard interne propre à C8).
- Comme il est mentionné plus haut, l'étape de la butylation présente certains inconvénients. Il s'agit d'une étape laborieuse, qui rallonge le temps de préparation des échantillons et expose, comme toute étape analytique, à des risques d'erreurs. Celles-ci peuvent être liées à des problèmes tels que l'instabilité des dérivés ou les interférences avec les réactifs. On attribue en outre à la butylation deux problèmes importants:
 - a) La butylation convertit l'asparagine et la glutamine en acide aspartique et acide glutamique, respectivement, ne permettant ainsi que la quantification combinée de chacun des ces acides aminés avec l'acide correspondant⁹¹ [Garg et Dasouki, 2006; Schulze *et al.*, 2003b; Trinh *et al.*, 2003; Qu *et al.*, 2002].
 - b) La butylation comporte des risques de surestimation des concentrations de carnitine libre en raison de la conversion d'acylcarnitines en carnitine libre. Bien que ces erreurs de quantification de la carnitine libre soient plus prononcées avec les échantillons de sang séché qu'avec les échantillons liquides, leurs conséquences sont probablement négligeables dans les conditions physiologiques. Cependant, les résultats de dosage de la carnitine libre doivent être interprétés avec précautions car le diagnostic d'une déficience en carnitine secondaire peut être masqué en présence d'une EIM avec une concentration élevée d'un ou plusieurs types d'acylcarnitines [Johnson *et al.*, 1999]. Vu les travaux en cours pour la mise au point de profils analytiques excluant la butylation, certains auteurs considèrent que l'analyse du profil des acylcarnitines par la méthode MS/MS avec butylation devrait être complétée par la quantification de la carnitine libre au moyen d'une analyse par la MS/MS sans butylation [Schulze *et al.*, 2003b]. Toutefois, les protocoles MS/MS excluant l'étape de butylation sont encore en cours de validation et d'optimisation
- L'interprétation du profil des acylcarnitines est compliquée du fait que la concentration de certains métabolites, comme la carnitine libre et les acylcarnitines diminue considérablement au cours de la première semaine de vie, si bien que des valeurs seuils âge-dépendants doivent absolument être utilisés pour toutes les erreurs innées du métabolisme des acides gras et acides organiques. Par exemple, l'interprétation des résultats provenant d'un échantillon prélevé après 7 jours de vie ne peut se baser sur les valeurs seuils utilisés pour ceux prélevés à une date antérieure. Chace et ses collaborateurs [2003b] suggèrent d'ailleurs d'avoir

91. La glutamine est un marqueur de choix pour le dépistage néonatal du déficit en ornithine transcarbamylase.

recours à une interprétation visuelle pour les profils d'enfants âgés de plus de 7 jours plutôt qu'à une interprétation automatisée des résultats.

- Plusieurs EIM, telles que l'hypothyroïdie congénitale, la fibrose kystique et les hémoglobinopathies, ne sont pas déposables par la MS/MS
- Certains métabolites sont communs à plusieurs maladies. Par exemple la tyrosine est élevée dans les trois types de tyrosinémie I, II et III si bien que des examens supplémentaires sont nécessaires pour confirmer le diagnostic.
- Un problème de diagnostic différentiel peut se poser du fait de la similarité entre les profils métaboliques d'EIM différentes⁹².

92. C'est le cas par exemple pour l'acidémie méthylmalonique, l'acidémie propionique et le déficit multiple en carboxylase qui se manifestent par une augmentation du taux de propionylcarnitine et (ou) une élévation du ratio propionylcarnitine/acétylcarnitine. La révélation d'un tel profil nécessiterait donc de plus amples investigations pour établir le diagnostic définitif [Al-Dirbashi, 2005]. C'est aussi le cas des déficits en argininosuccinate lyase et synthétase qui sont toutes les deux suspectées devant une élévation de la citrullinémie [Malvagia *et al.*, 2006; Haberle *et al.*, 2003; Koeberl *et al.*, 2003; Sander *et al.* 2003].

ANNEXE H

Autres profils analytiques MS/MS pour le dépistage néonatal d'une erreur innée du métabolisme spécifique selon un test en première ou deuxième ligne

Mention est faite dans la littérature de protocoles MS/MS individuels pour nombre de maladies. Selon les articles de type revue de la littérature consultés, ce nombre, quoique fort variable, se situe fréquemment autour d'une vingtaine de maladies. Ceux qui citent des chiffres plus élevés semblent inclure des maladies pour lesquels les protocoles sont encore à un stade précoce de développement (ces maladies incluent les maladies lysosomales; les troubles des oligosaccharides; la déficience en citrine; l'encéphalopathie méthylmalonique; le syndrome de Smith-Lemli-Opitz; les troubles du métabolisme des purines et pyrimidines; les porphyries; la leucodystrophie métachromatique; et les maladies peroxisomales [Rinaldo *et al.*, 2004; Dooley, 2003; Carpenter *et al.*, 2002]). Nous présentons ci-dessous seulement les protocoles MS/MS les plus cités dans la littérature.

Protocole MS/MS en mode ion négatif pour un test de 1^{ère} ligne

Certaines EIM peuvent être dépistées sur la base d'un test MS/MS de 1^{ère} ligne selon un profil analytique en mode ion négatif, qui n'est pas compatible avec le profil analytique commun pour les acides aminés et acylcarnitines opérant en mode positif. C'est le cas pour la galactosémie [Dooley, 2003], les atrésies biliaires [Dooley, 2003; Pollitt *et al.*, 1997; Seymour *et al.*, 1997], et les maladies hépatobiliaires cholestatiques [Pollitt *et al.*, 1997, Dooley, 2003]. Bien que le spectromètre de masse en tandem puisse être programmé pour réaliser des profils analytiques en mode ion négatif et positif de façon consécutive, le changement rapide entre ces deux modes de programmation semble limiter la durée de vie de la machine en plus de rallonger le temps d'analyse.

Protocole MS/MS pour un test de 2^{ème} ligne en mode ion positif

Récemment, un protocole analytique a été développé pour le dépistage néonatal par la MS/MS de l'hyperplasie congénitale surrénalienne [Rinaldo *et al.*, 2004; Dooley, 2003; Carpenter *et al.*, 2002]. Cette maladie est dépistée dans quelques états sur la base du dosage de la mesure de la 17-hydroxyprogestérone par immunoassay. Comme cette méthode présente une proportion élevée de faux positifs, l'analyse par la MS/MS est proposée comme test de 2^e ligne à réaliser en cas de 17-OHP élevée sur les mêmes échantillons de sang séché pour éviter de devoir recourir à un nouvel échantillon sanguin.

Description de rapports ou articles évaluant l'élargissement de programmes de dépistage néonatal non discutés dans le chapitre 6

ANNEXE I

RÉFÉRENCE ORGANISME MANDATEUR (PAYS)	OBJECTIFS	MÉTHODES	PRINCIPALES CONCLUSIONS ⇒ ACTIONS RECOMMANDÉES	PRINCIPALES LIMITES	NOMBRE D'EIM RECOMMANDÉES POUR DÉPISTAGE PAR LA MS\MS
Seymour <i>et al.</i> , 1997 NHS R&D HTA (Grande Bretagne)	Évaluer les données en faveur de l'élargissement du DN et l'adoption de nouvelles technologies	1) Revue systématique de la littérature publiée ≤1996 sur les nouvelles technologies de DN (dont la MS/MS) et sur les EIM 2) Collecte de données auprès de laboratoires: ▪ Britanniques de DN ▪ Britanniques et américains utilisant la MS/MS pour le DN	Données insuffisantes en faveur de l'adoption de la MS/MS pour le DN des EIM ⇒ Recherche primaire de 5 ans pour évaluer l'efficacité et les rapports coût/efficacité et coût/bénéfices du DN de la PCU, MCADD et GAI par la MS/MS	1) Manque d'information sur la littérature révisée et sur les enquêtes effectuées 2) La candidature d'EIM au DN a été évaluée sur la base de: ▪ données d'incidence britanniques ▪ critères de DN émis par l'OMS en 1968 3) Revue réalisée précocement dans l'utilisation de la MS/MS	0
Pollitt <i>et al.</i> , 1997 NHS R&D HTA (Grande Bretagne)	1) Évaluer les coûts et les bénéfices de: ▪ La MS/MS pour le DN des EIM des acides aminés et acylcarnitines ▪ Le DN individuel de la fibrose kystique et la dystrophie musculaire de Duchenne 2) Revue des enjeux psychologiques et éthiques du DN 3) Revue des critères de DN émis par l'OMS en 1968	1) Revue systématique de la littérature publiée ≤1995 2) Collecte de données sur le terrain (la même que celle réalisée par Seymour et collaborateurs en 1997)	Considération des bénéfices psychologiques familiaux du DN: diagnostic prénatal et conseil génétique ⇒ Étude pilote sur 3 ans sur l'utilisation de la MS/MS pour le DN de la PCU et de certaines EIM (cliniquement bien définies, spécificité précise, test de confirmation disponible) ⇒ « Good Practice Guidelines »: délais, information des parents, consentement	1) Manque d'information sur la littérature révisée 2) Les critères utilisés pour juger de la qualité des données favorisent les données britanniques 3) Revue réalisée précocement dans l'utilisation de la MS/MS	0

RÉFÉRENCE ORGANISME MANDATEUR (PAYS)	OBJECTIFS	MÉTHODES	PRINCIPALES CONCLUSIONS ⇒ ACTIONS RECOMMANDÉES	PRINCIPALES LIMITES	NOMBRE D'EIM RECOMMANDÉES POUR DÉPISTAGE PAR LA MS\MS
MAS, 2002 Ontario Ministry of Health and Long-Term Care (Canada)	Évaluer l'efficacité et le rapport coût/efficacité de la MS/MS dans un programme élargit de DN des EIM (Il est à noter que <u>les résultats de l'analyse coût/efficacité n'ont pas été publiés</u>)	1) Revue des rapports britanniques de 1997 (décrits ci-dessus) 2) Mise à jour de la littérature anglophone publiée entre 1996 et 2002; et recherche sur sites web pertinents 3) Consultations d'experts, industrie de la MS/MS, provinces Canadiennes utilisant la MS/MS	⇒ Recommandation de la MS/MS pour le DN de la PCU et du MCADD Le DN d'autres EIM relève des services cliniques selon les risques de chaque nouveau-né Importance de considérer les enjeux éthiques et organisationnels liés à l'utilisation de la MS/MS	1) Manque d'information sur la littérature révisée 2) Revue non systématique de la littérature 3) Méthodologie de classification des EIM pour candidature au programme de DN basée sur des méthodes non validées	2
Health Council of the Netherlands, 2005 State Secretary of Health, Welfare and Sport (Pays-Bas)	1) Réviser la pertinence des critères de DN (Health Council of the Netherlands 1994) 2) Évaluer la candidature des EIM pour le DN 3) Revue des enjeux éthiques, légaux et sociaux en lien avec l'élargissement du DN	1) Revue de la littérature 2) Consultations d'experts	⇒ Extension du programme de DN à 15 EIM en plus de la PCU, HC, CAH Enjeux à considérer: ▪ Information des parents ▪ Consentement parental ▪ Identification de porteurs sains ▪ Préparation des professionnels de la santé	1) Manque d'information sur la littérature révisée et sur le processus décisionnel 2) Revue non systématique de la littérature	15

RÉFÉRENCE ORGANISME MANDATEUR (PAYS)	OBJECTIFS	MÉTHODES	PRINCIPALES CONCLUSIONS ⇒ ACTIONS RECOMMANDÉES	PRINCIPALES LIMITES	NOMBRE D'EIM RECOMMANDÉES POUR DÉPISTAGE PAR LA MS\MS
Lukacs et Santer, 2006 Northern German Working Group on Neonatal Screening (Allemagne)	Réviser la candidature d'EIM pour le DN par la MS/MS	1) Revue de la littérature 2) Consultations de médecins ayant une expérience de 2 ans avec l'utilisation de la MS/MS	Catégorisation des EIM en lien avec les bénéfices attendus d'une détection précoce : ⇒ Recommandation de la MS/MS pour les mala- dies classifiées dans les catégories 1, 2 et 3 ▪ Catégorie 1 (bénéfice réel, critères classique de l'OMS de Wilson et Jungner [1968]) : PCU, MCADD. ▪ Catégorie 2 (bénéfice partiel car certains en- fants ne bénéficieraient pas du DN précoce en raison de possibilités thérapeutiques actuel- les limitées) : MSUD, GAI, LCHADD, VL- CADD, IVA, CPTI.	1) Manque d'information sur la littérature révi- sée et sur le processus décisionnel 2) Méthode de la revue de la littérature non décrite	16

RÉFÉRENCE ORGANISME MANDATEUR (PAYS)	OBJECTIFS	MÉTHODES	PRINCIPALES CONCLUSIONS ⇒ ACTIONS RECOMMANDÉES	PRINCIPALES LIMITES	NOMBRE D'EIM RECOMMANDÉES POUR DÉPISTAGE PAR LA MS\MS
			■ Catégorie 3 (bénéfice de DN non évident, maladies détectable par la MS\MS avec bénéfice potentiel mais une connaissance limitée de l'effet du traitement) : citrullinémie, PA, MMA, HMG, 3-MCC, TH1, CAT, CPTII. ■ Catégorie 4 (aucun bénéfice, aucune indication d'un avantage pour le patient) : SCADD, GAI, déficit en β-ketothiolase, homocystinurie.		
Watson <i>et al.</i> , 2006 Health Resources and Services Administration (États Unis)	1) Évaluer les données scientifiques sur l'efficacité réelle du DN 2) Recueillir les opinions d'experts sur les maladies à dépister 3) Considérer les conditions d'implantation nécessaires pour atteindre les objectifs du DN	1) Consultations auprès d'experts, de cliniciens et de groupes d'intérêt 2) Constitution d'une liste préalable de 84 EIM potentielles avec priorisation par experts 3) Adaptation des résultats en fonction des opinions d'experts et de la littérature scientifique	⇒ Utilisation de la MS/MS pour le DN élargit de EIM: profil complet des acides aminés et acylcarnitines Enjeux à considérer : ■ Limites: qualité et disponibilité des données ■ Besoin de standardisation de la nomenclature car il existe une hétérogénéité génétique et un chevauchement des voies métaboliques ■ Impact sur les services cliniques ■ Besoin de monitoring à long terme	1) Approche méthodologique non validée et non-conforme aux approches basées sur les données probantes 2) Décision centrée sur les capacités de la plateforme technologique 3) Perspective essentiellement clinique au détriment de la perspective de santé publique 4) Frontière floue entre programme de dépistage et activités de recherche	29 primaires +25 secondaires

Abréviations : 3-MCC : Déficit en 3-méthylcrotonyl-CoA carboxylase; CAH : Hyperplasie congénitale surrénale; CAT : Déficit en carnitine/acylcarnitine translocase; CPTII : Déficit en carnitine palmitoyl transférase de type I; CPTII; Déficit en carnitine palmitoyl transférase de type II; DN : Dépistage néonatal; EIM: Erreurs innées du métabolisme; GAI: Acidémie glutarique de type I; GAI : Acidémie glutarique de type II; HC : Hypothyroïdie congénitale; HMG : Déficit en 3-hydroxy-3-méthylglutaryl-coA lyase; IVA : Acidémie isovalérique; LCHADD : Déficit en 3-hydroxy Acyl-CoA déshydrogénase des acides gras à longues chaînes; MAS : Medical Advisory Secretariat; MCADD : Déficit en Acyl-CoA déshydrogénase des acides gras à chaînes moyennes; MMA : Acidémie méthylmalonique; MS/MS; Spectrométrie de masse en tandem; MSUD : Maladie du sirop d'érable; OMS : Organisation Mondiale de la Santé; PA : Acidémie propionique; PCU : Phénylcétonurie; SCADD : Déficit en Acyl-CoA déshydrogénase des acides gras à très longues chaînes

ANNEXE J

Sélection des articles primaires sur la performance de la MS/MS pour le dépistage néonatal des erreurs innées du métabolisme

FIGURE J-1

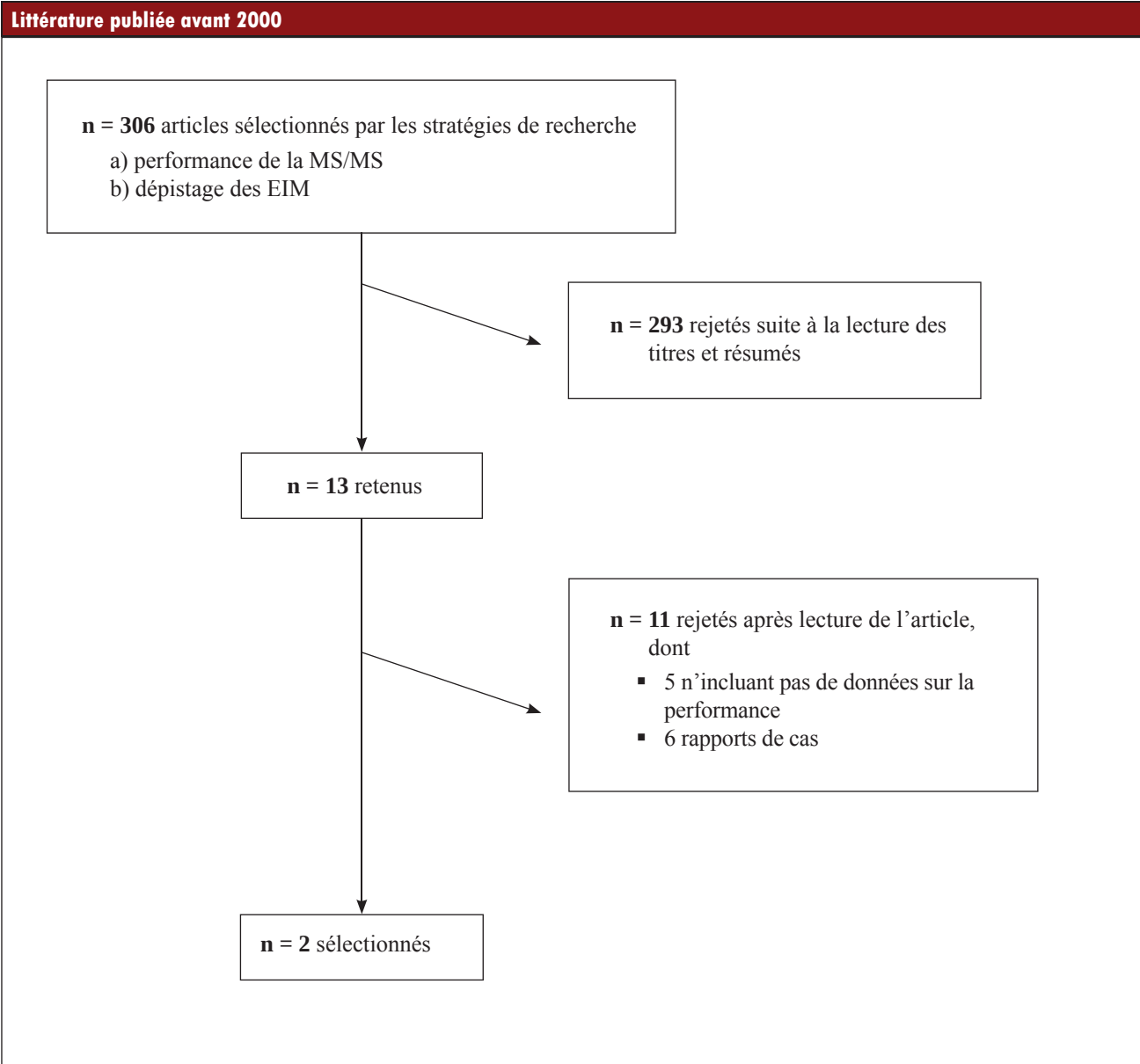
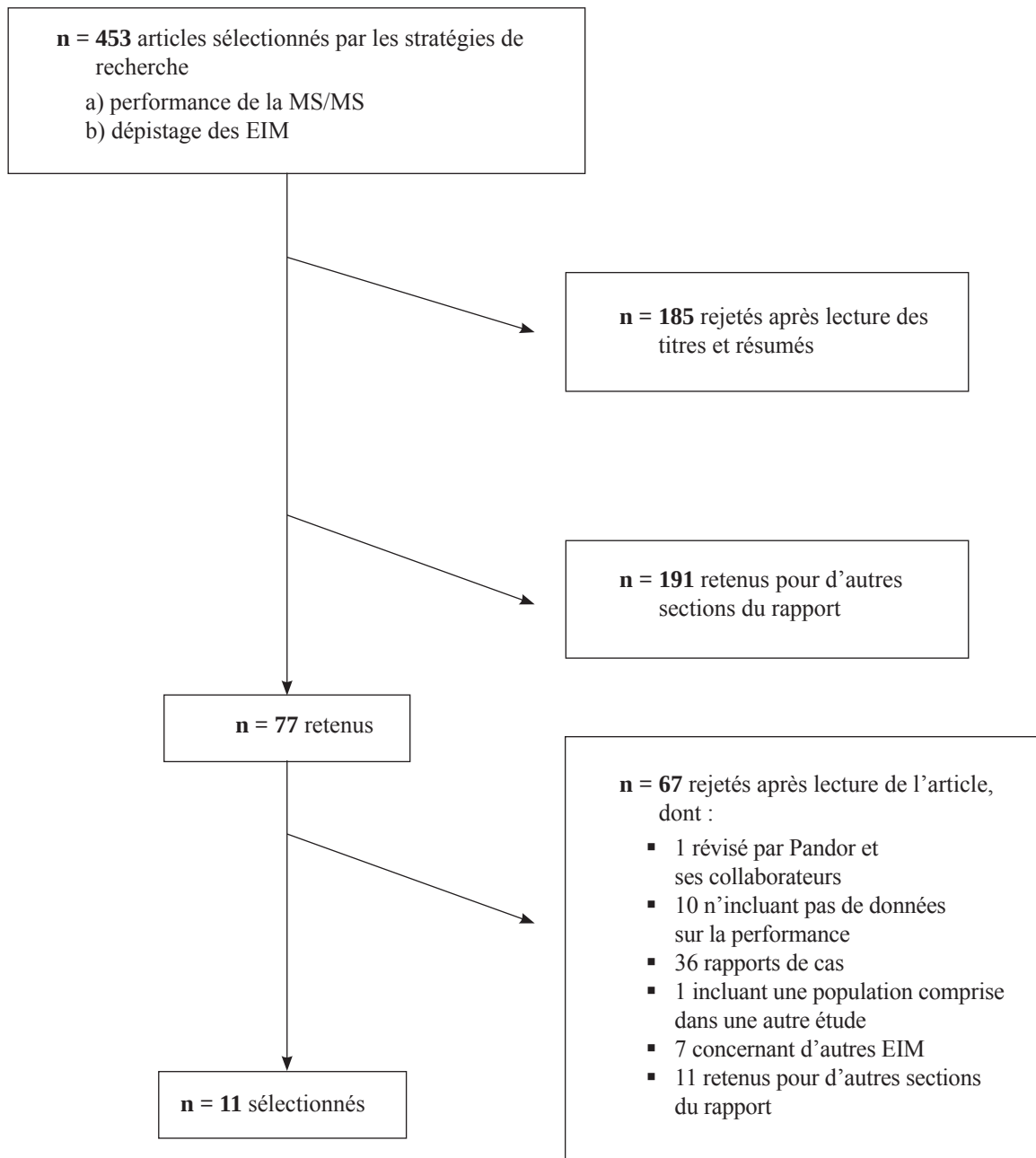


FIGURE J-2

Littérature publiée à partir de 2000



ANNEXE K

Aspects économiques — Revue de la littérature

TABEAU K-1

Description détaillée des études économiques sur le dépistage néonatal sanguin par la MS/MS			
AUTEURS, PAYS	DESCRIPTION DE L'ÉTUDE ET MÉTHODOLOGIE	DÉTAILS SUR LES COÛTS/ EFFICACITÉ CONSIDÉRÉS	PRINCIPAUX RÉSULTATS
Tran <i>et al.</i> , 2006 (OCCETS) Canada	- Revue sur l'utilisation de la MS/MS pour le dépistage néonatal du MCADD comparativement au diagnostic clinique. Deux études économiques retenues selon les critères établis par la <i>BMJ 35-item checklist</i> [Venditti <i>et al.</i>, 2003; Insinga <i>et al.</i>, 2002] - Analyse du rapport coût-efficacité avec modèle de décision (arbre) et analyse de sensibilité (3 scénarios : de base, meilleur et pire) - Perspective du système de santé - Hypothèse : prévalence du MCADD au Canada = 1:16 000 par an - Analyse basée sur l'expérience de la Nouvelle-Écosse (8 533 nouveau-nés par année) - Horizon d'analyse de l'impact budgétaire = 5 ans; modélisation : 77 ans et 66 ans - Seuil = 50 000 \$/AVAQ (littérature) et seuil = 20 000 \$/AVAQ (contexte canadien) - Probabilité de décès de 26 % pour les enfants atteints de MCADD non dépistés	- Coûts (\$ CA de 2005) du laboratoire provincial de Nouvelle-Écosse : un appareil MS/MS, réactifs, personnel, complications, incapacités et décès associés à MCADD - Coût unitaire du dépistage : 2,40 \$ - Taux d'actualisation : 3 % - Modélisation avec cohorte de 330 803 nouveau-nés - Coûts anticipés du dépistage <i>versus</i> aucun dépistage; efficacité escomptée du dépistage <i>versus</i> aucun dépistage (nombre d'AVAQ gagnées, années de vies gagnées, nombre de cas détectés avant symptômes, nombre d'hospitalisations évitées, nombre de cas de morbidité et de mortalité évités; rapport coût-efficacité différentiel (ICER) du dépistage <i>versus</i> aucun dépistage	- La littérature et l'analyse économique montrent que le dépistage par MS/MS consomme plus de ressources mais donne de meilleurs résultats en matière de santé que l'absence de dépistage (morbidité et mortalité réduites). - La majorité des patients atteints de MCADD dépistés étaient asymptomatiques, alors que ceux qui avaient été diagnostiqués en clinique présentaient des dommages irréversibles. - ICER = 2 514 \$/AVAQ. Coût différentiel du meilleur scénario = 389 118 \$; 596 075 \$ pour le pire. ICER = 928 \$/AVAQ pour le meilleur scénario; 11 456 \$/AVAQ pour le pire.

Abréviations : AVAQ : année de vie ajustée par la qualité; ICER : *incremental cost-effectiveness ratio* (rapport coût-efficacité différentiel); MCADD : *Medium Chain Acyl-CoA Dehydrogenase Deficiency*; MS/MS : spectrométrie de masse en tandem.

TABLEAU K-1

Description détaillée des études économiques sur le dépistage néonatal sanguin par la MS/MS (suite)			
AUTEURS, PAYS	DESCRIPTION DE L'ÉTUDE ET MÉTHODOLOGIE	DÉTAILS SUR LES COÛTS/ EFFICACITÉ CONSIDÉRÉS	PRINCIPAUX RÉSULTATS
Venditti <i>et al.</i> , 2003 États-Unis	■ Analyse de l'efficience (rapports coût-efficacité et coût utilité) du dépistage néonatal par MS/MS du MCADD <i>versus</i> absence de dépistage ■ Modèle de Markov pour estimation du coût différentiel actualisé par année de vie sauvée et par AVAQ gagnée, et analyse de sensibilité sur des variables clés (simulations Monte Carlo de second ordre, intervalles de confiance de 95 %) ■ Perspective sociétale ■ Horizons de 20 ans et de 70 ans pour les états de santé estimés ■ Patients classés par catégories en fonction de leur diagnostic; aucune considération de l'état de santé ■ Probabilité d'incapacité neurologique chez les survivants : 10 %	■ Coûts (\$ US de 2001) et probabilités d'une revue rétrospective d'une cohorte de 32 patients traités pendant 30 ans au Children's Hospital de Philadelphie, expérience clinique avec prise en charge de patients atteints de MCADD, entrevues auprès des familles et patients, enquêtes sur les coûts et études publiées ■ Les coûts incluent : dépistage et suivi, test de confirmation, test de carnitine pour les patients atteints de MCADD dépistés et soins aux patients affectés gravement ■ Estimation des ICER ■ Hypothèse : coûts de fonctionnement du MS/MS déjà couverts par son utilisation pour le dépistage de la PCU ■ Taux d'actualisation : 3 %	■ Scénario de base : coût = 11 000 \$/année de vie sauvée pour les 20 premières années; ICER = 5 600 \$/AVAQ <i>versus</i> non dépistage. Sur 70 ans : coût = 300 \$/année de vie sauvée; ICER = 100 \$/AVAQ. Le dépistage néonatal du MCADD réduit la morbidité et la mortalité à un coût différentiel inférieur au coût accepté pour ce genre d'intervention. En 70 ans, tous les coûts additionnels du dépistage sont compensés par les séquelles évitées. ■ La modification des variables du modèle à l'intérieur des intervalles retenus n'affecte pas l'efficience du dépistage.
Medical Advisory Secretariat (MAS), 2002 Canada	Revue systématique sur l'efficience du dépistage néonatal des erreurs innées du métabolisme par MS/MS	■ Pas d'estimations de coûts réalisées ■ Indication selon laquelle les coûts initiaux sont très élevés (acquisition de l'équipement; soutien de la technologie de l'information et personnel expérimenté pour la détermination des valeurs seuils appropriées pour chaque test)	■ Efficience probable d'un programme de dépistage néonatal par MS/MS plus large incluant la PCU et le MCADD

Abréviations : AVAQ : année de vie ajustée par la qualité; ICER : *incremental cost-effectiveness ratio* (rapport coût-efficacité différentiel); MCADD : *Medium Chain Acyl-CoA Dehydrogenase Deficiency*; MS/MS : spectrométrie de masse en tandem; PCU : phénylcétonurie.

TABLEAU K-1

Description détaillée des études économiques sur le dépistage néonatal sanguin par la MS/MS (suite)			
AUTEURS, PAYS	DESCRIPTION DE L'ÉTUDE ET MÉTHODOLOGIE	DÉTAILS SUR LES COÛTS/ EFFICACITÉ CONSIDÉRÉS	PRINCIPAUX RÉSULTATS
Pandor <i>et al.</i> , 2004 Royaume-Uni	- Évaluation de l'efficacité du dépistage néonatal par la MS/MS pour les EIM dont PCU et MCADD. - Mise à jour de la littérature provenant de 2 rapports d'évaluation [Pollit <i>et al.</i>, 1997; Seymour <i>et al.</i>, 1997] plus un exercice de modélisation (simulations Monte Carlo pour analyse de sensibilité) pour investiguer les aspects économiques de l'utilisation du MS/MS à l'intérieur d'un programme de dépistage néonatal au R-U. - Perspective du système de santé (NHS). - Probabilité de décès de 20-25% pour les enfants avec MCADD non dépistés. - Probabilité d'incapacité neurologique chez les survivants : 10%.	- Coûts estimés (£ 1996 valorisées pour 2001) : collecte des spécimens, laboratoire (personnel, capital-l'équipement et fournitures), confirmation des tests, épisodes aigus reliés au diagnostic symptomatique, traitements et coûts sociaux et de santé futurs reliés aux incapacités. - Efficacité mesurée par les vrais cas détectés, les années de vie gagnées et les QALY gagnées. - Taux d'actualisation : 6 % pour les coûts et 1,5 % pour les années de vie gagnées futures.	- Substituer MS/MS aux technologies existantes pour dépistage de PCU seulement n'est pas justifiée. - Dépistage par la MS/MS des déficiences du MCADD et de la PCU combinées générerait une économie de 23 312 £ et un gain additionnel moyen de 59 années de vie pour chaque cohorte de 100 000 nouveau-nés dépistés.
Pandor <i>et al.</i> , 2006b Royaume-Uni	- Analyse du rapport coût-efficacité du dépistage de la PCU et du MCADD par MS/MS - Modélisation probabiliste du dépistage de nouveau-nés dans la perspective du système de santé - Mise à jour du rapport de 2004	- Estimation du coût (£ de 1997 valorisées pour 2001) différentiel et du nombre d'années de vie gagnées - Taux d'actualisation : 6 % pour les coûts et 1,5 % pour les années de vie gagnées	- Substituer la MS/MS aux technologies existantes pour le dépistage de la PCU augmente les coûts sans améliorer les résultats en matière de santé. - L'ajout du MCADD à la PCU générerait une épargne de coûts de 17 298 £ pour chaque cohorte de 100 000 nouveau-nés dépistés. - Une augmentation du nombre d'années de vie est aussi anticipée (57,3 années).

Abréviations : EIM : Erreurs innées du métabolisme; MCADD : *Medium Chain Acyl-CoA Dehydrogenase Deficiency*; MS/MS : spectrométrie de masse en tandem; NHS : *National Health Services*; PCU : phénylcétonurie; QALY : Quality Adjusted Life Years.

TABLEAU K-1

Description détaillée des études économiques sur le dépistage néonatal sanguin par la MS/MS (suite)			
AUTEURS, PAYS	DESCRIPTION DE L'ÉTUDE ET MÉTHODOLOGIE	DÉTAILS SUR LES COÛTS/ EFFICACITÉ CONSIDÉRÉS	PRINCIPAUX RÉSULTATS
Autti-Rämö et al., 2005 Finlande	- Évaluation de l'efficacité d'un dépistage néonatal par MS/MS élargi pour 5 erreurs innées du métabolisme (CAH, MCADD, LCHADD, PCU et GAI) par une étude pilote - Modélisation et analyse de sensibilité à partir de données d'études publiées, de registres de soins de santé et d'opinions d'experts - Perspective du système de santé - Probabilité de décès de 40 % pour les enfants atteints de MCADD non dépistés - Probabilité d'incapacité neurologique chez les survivants : 30 % (forme modérée) et 30 % (forme grave)	- Dans les coûts considérés (€ de 2002) figurent : les coûts liés à la construction d'une nouvelle organisation de dépistage; les coûts de fonctionnement (matériel, temps, personnel, espace de laboratoire, équipement et contrôle de la qualité) - Données sur l'efficacité : données sur l'incidence des maladies (groupe d'experts), données sur l'incidence anticipée (faibles pour la CAH et la LCHADD); effets sur la qualité de vie (<i>profile of health related quality of life</i> [16 D]) - Taux d'actualisation : 5 %	- Le coût annuel du dépistage de 56 000 nouveau-nés est estimé à 2,5 millions € (valeur de 2002), soit 45 € par nouveau-né → pour dépister 5 à 10 cas annuellement. - Les coûts par AVAQ gagnée varient entre 25 500 € (max.) et 5 500 € (min.), selon les données d'incidence et pondérations des AVAQ. - Si les handicaps graves sont considérés, le coût maximal diminue à 18 000 € par AVAQ gagnée (de 3 900 à 18 000 €).
Insinga et al., 2002 États-Unis	- Efficacité du dépistage néonatal par la MS/MS de MCADD, puis de MCADD combinée avec certains déficits de l'oxydation des acides gras (LCAD, VLCAD, SCAD, CPTII, GA2) et aciduries organiques (GA1, PA, MMA, IVA, 3-MCC, b-KT et HMG). - Analyse séquentielle par modélisation avec analyse de sensibilité (scénario de base, reposant sur des hypothèses très conservatrices des données d'incidence, coûts et résultats de santé, et scénario plus réaliste). - Cohorte hypothétique de 100,000 enfants. - Seuil de rentabilité établi à 50,000 \$ / QALY. - Perspective sociétale pour la durée de vie de la cohorte hypothétique. - Probabilité de décès de 16% pour les enfants avec MCADD non dépistés. - Probabilité d'incapacité neurologique chez les survivants : environ 15%.	- Les coûts différentiels exprimés en \$US de 2001 incluent l'équipement, les consommables, le personnel, les frais généraux (coûts communs), les coûts de laboratoire (test positif de confirmation, suppléments de carnitine à l'âge de 18 ans) et de suivi, les coûts des incapacités neurologiques et de décès. - Taux d'actualisation : 3 % - Cinq conséquences en matière de santé : asymp-tomatique; complications aiguës, incapacités neurologiques modérées, incapacités neurologiques graves, décès. - N.B. Comme indiqué par Venditti et al. [2003], le type de coûts utilisés ici ne reflète pas une perspective sociétale.	- Selon hypothèses conservatrices, dépister MCADD seule génère un ICER de 41 862 \$ / AVAQ. Si hypothèses plus réalistes : ICER = 6 008 \$ / AVAQ. - Ajouter les 12 autres EIM tend à générer un ratio coût efficacité se situant dans les normes d'efficacité acceptées, soit 15 252 \$ / AVAQ.

Abréviations : AVAQ : année de vie ajustée par la qualité; β -KT : déficit en « beta-ketothiolase »; CAH : hyperplasie congénitale surrénalienne; CPTII : déficit en carnitine palmitoyltransférase II; GAI : acidémie glutarique de type I; GAI : acidémie glutarique de type II; HMG : déficit en 3-hydroxy-3-méthylglutaryl-CoA lyase; ICER : *incremental cost-effectiveness ratio* (rapport coût-efficacité différentiel); IVA : acidémie isovalérique; LCHADD : *Long Chain Hydroxyacyl-CoA Dehydrogenase Deficiency*; MCADD : *Medium Chain Acyl-CoA Dehydrogenase Deficiency*; 3-MCC : déficit en 3-méthylcrotonyl-CoA carboxylase; MMA : acidémie méthylmalonique; MS/MS : spectrométrie de masse en tandem; PCU : phénylcétonurie; SCADD : *Short Chain Acyl-CoA Dehydrogenase Deficiency*; VLCADD : *Very Long Chain Acyl-CoA Dehydrogenase Deficiency*.

TABLEAU K-1

Description détaillée des études économiques sur le dépistage néonatal sanguin par la MS/MS (suite)			
AUTEURS, PAYS	DESCRIPTION DE L'ÉTUDE ET MÉTHODOLOGIE	DÉTAILS SUR LES COÛTS/ EFFICACITÉ CONSIDÉRÉS	PRINCIPAUX RÉSULTATS
Schoen <i>et al.</i> , 2002 États-Unis	▪ Estimation des coûts et des bénéfices potentiels d'un dépistage néonatal de routine par MS/MS pour PCU, MCADD, MSUD, MMA et PA ▪ Scénario de base et scénarios le plus et le moins favorables (frais de laboratoire plus élevés, plus grand nombre de faux positifs et plus petits effets sur les taux de mortalité et de morbidité) ▪ Perspective du payeur ▪ Probabilité de décès de 2,5 % pour les enfants atteints de MCADD non dépistés ▪ Probabilité d'incapacité neurologique chez les survivants : 0 %	▪ Données sur 32 000 nouveau-nés provenant du programme <i>Kaiser Permanente Medical Care</i> (HMO de la Californie du Nord) ainsi que d'autres données publiées ▪ Coûts (\$ US de 2001) : collecte et laboratoire (incluant faux positifs), traitement, hospitalisation, incapacités et diètes spéciales ▪ Taux d'actualisation : 3 %	▪ Scénario moins favorable (frais de laboratoire = 20 \$/test) : coût/AVAQ = 11 419 \$ ▪ Scénario plus favorable (frais de laboratoire = 7 \$ par test), coût ajusté pour la qualité de vie = 736 \$. Dans le scénario le moins favorable, le coût des faux positifs était plus important : coût moyen par test des faux positifs = 12,25 \$. ▪ Pour scénario de base : coût/AVAQ gagnée = 5 827 \$ (frais de laboratoire = 15 \$/test)

Abréviations : AVAQ : année de vie ajustée par la qualité; HMO : Health Maintenance Organization; MCADD : *Medium Chain Acyl-CoA Dehydrogenase Deficiency*; MMA : acidémie méthylmalonique; MS/MS : spectrométrie de masse en tandem; MSUD : *Maple Syrup Urine Disease*; PA : acidémie propionique; PCU : phénylcétonurie.

ANNEXE L

Aspects économiques—estimation des coûts

TABLEAU L-1

Prix moyen des réactifs utilisés pour le dépistage néonatal sanguin par la MS/MS (\$ CA de 2006)	
RÉACTIFS*	PRIX APPROXIMATIF PAR ÉCHANTILLON
Standards (Isotopes) internes 100 µL par échantillon (800 \$CA pour 500L)	0,01 \$
Méthanol 100 µL par échantillon (100 \$CA pour 4L)	0,01 \$
Butanol 70 µL par échantillon (60 \$CA pour 1L grade HPLC)	0,01 \$
Aluminium	0,01 \$
Acétonitrile 70 µL par échantillon (350 \$CA pour 4L)	0,09 \$
3 Plaques 96 puits** (400 \$CA pour 100 plaques)	0,20 \$
Embouts multicanaux	0,02 \$
Total par échantillon :	0,35 \$

*Ces informations ont été fournies par un biochimiste clinique, spécialisé en génétique et validé par d'autres experts du domaine. Les coûts des pipettes, fioles, poinçons et autres instruments servant à tout type de dépistage n'ont pas été considérés.

**La troisième plaque sert pour la succinylacétone.

TABLEAU L-2

Tarifs horaires utilisés pour les professionnels affectés au dépistage par la MS/MS (\$CA de 2006)		
CATÉGORIE DE PROFESSIONNEL	TARIF HORAIRE	TÂCHE POUR DÉPISTAGE PAR LA MS/MS
Infirmière** (tarif horaire variant entre 23 \$ et 42 \$, incluant les avantages sociaux)	42 \$/heure	Collecte d'échantillons : identique à la pratique habituelle donc non considéré dans les calculs ($\pm$ 15 minutes)
Technicien en informatique*	30 \$/heure	Entrée de données : semblable à la pratique habituelle, donc non considéré dans les calculs (temps inconnu)
Technicien(ne) de laboratoire* (échelon 12) (Si 1,5 équivalent temps complet (ETC) : 31,47 \$ x 7h45 min x 250 jours x 1,5 = 91 460 \$ Si 2 ETC : 31,47 \$ x 7h45 min x 250 jours x 2 = 121 946 \$)	31 \$/heure	Préparation et fonctionnement de l'appareil, vérification et suivi des échantillons (deux scénarios sont retenus, soit 1,5 ETC et 2 ETC puisque le dépistage doit fonctionner sur une base annuelle de 365 jours)
Biochimiste clinique** (tarif horaire variant entre 37,99 \$ et 53,19 \$, incluant les avantages sociaux)	53 \$/heure	Analyse : selon les experts consultés, cette étape du procédé est équivalente à celle du dépistage habituel. Les coûts en découlant ne sont donc pas considérés.

* Ces tarifs incluent les avantages sociaux. Secrétariat du Conseil du trésor du Québec. Échelles de traitement—Santé et services sociaux (2006). Disponible à : http://www.tresor.gouv.qc.ca/fr/publications/ress_humaine/condition/echelle/sss_tech.pdf.

** Gouvernement du Québec. Carrières dans le réseau de la santé et des services sociaux (2006). Disponible à : <http://www.avenirensante.com/index.php?universitaire>.

ANNEXE M

Renseignements aux parents et consentement

TABEAU M-1

Cadres possibles pour transmettre l'information aux parents afin d'obtenir un consentement éclairé
En milieu de soins <u>prénataux</u> : 1) Renseignements fournis par les professionnels de la santé offrant les soins prénataux [Faulkner <i>et al.</i> , 2006; Hargreaves <i>et al.</i> , 2005; Campbell et Ross, 2004; Kim <i>et al.</i> , 2003] 2) Combiner les renseignements sur les dépistages prénataux, anténataux et néonataux [Faulkner <i>et al.</i> , 2006] 3) Transmettre ces renseignements sous forme de dépliants ou de vidéos à visualiser dans les salles d'attente avec, si possible, disponibilité d'un membre auxiliaire pour répondre aux questions [Campbell et Ross, 2004; Laing et McIntosh, 2004] 4) Incorporation de renseignements lors de séances d'orientation en préparation à l'accouchement dans les hôpitaux [Campbell et Ross, 2004]
En milieu <u>pédiatrique</u> : 1) Discussion du dépistage néonatal avec le pédiatre avant l'accouchement [Faulkner <i>et al.</i> , 2006] 2) Incorporation de renseignements lors des séances de préparation à l'arrivée du nouveau-né [Campbell et Ross, 2004]
Par le biais des <u>médias</u> : 1) Augmenter la sensibilisation du public par le biais des médias [Faulkner <i>et al.</i> , 2006]

Scénarios décisionnels proposés

ANNEXE N

TABEAU N-1

Options proposées pour le passage à la spectrométrie de masse en tandem					
OPTION	MODALITÉS	JUSTIFICATION	AVANTAGES	INCONVÉNIENTS	ENJEUX
Étude pilote	a) Phase pilote pré-implantation : ▪ Dépistage néonatal de la PCU et de la TH1 ; MS/MS et méthodes classiques ▪ Dépistage néonatal du MCADD : MS/MS b) Étude pilote comparative : ▪ Groupe expérimental : dépistage néonatal par la MS/MS pour la PCU, la TH1 et le MCADD ▪ Groupe témoin : dépistage néonatal classique pour la PCU et la TH1 ; pas de dépistage néonatal pour le MCADD	Comblent les lacunes dans l'état des connaissances et l'évaluation des coûts	Modalités a et b : ▪ Rodage de l'organisation du dépistage néonatal par la MS/MS ▪ Évaluation terrain des coûts du dépistage néonatal classique et de la MS/MS ▪ Comparaison de la performance de la MS/MS et des méthodes classiques : PCU et TH1 ▪ Avancement des connaissances épidémiologiques et génétiques sur le MCADD ▪ Collecte de données cliniques à court terme sur le MCADD Modalité b : Possibilité d'évaluer les bénéfices du dépistage néonatal du MCADD	Modalités a et b : ▪ Coûts liés à l'évaluation ▪ Maintien des méthodes classiques de dépistage néonatal de la PCU et de la TH1 ▪ Possibilité d'affecter le déroulement du dépistage néonatal ▪ Avancement limité des connaissances cliniques sur le MCADD Modalité a : Impossibilité d'évaluer les bénéfices du dépistage néonatal du MCADD	Modalités a et b : ▪ Objectifs clairs ▪ Plan d'étude rigoureux ▪ Planification minutieuse Modalité b : Difficulté d'identifier un groupe témoin
Transfert technologique différé : PCU, TH1 et MCADD	Ne s'applique pas	Achever les études validant le dosage de la succinylacétone par la MS/MS pour le dépistage néonatal de la TH1 par un protocole commun à tous les métabolites	▪ Transfert technologique concomitant pour les trois maladies, donc plus simple ▪ Exploitation de la période d'attente pour réaliser les étapes pré-implantation nécessaires pour le transfert technologique	Délai dans l'offre du dépistage néonatal du MCADD	Gestion de la pression en faveur du transfert technologique

TABLEAU N-1

Options proposées pour le passage à la spectrométrie de masse en tandem (suite)				
OPTION	MODALITÉS	JUSTIFICATION	AVANTAGES	INCONVÉNIENTS
Transfert technologique progressif : ▪ immédiat : PCU et MCADD ▪ par paliers : TH1	Pour le dépistage néonatal de la TH1 : a) maintien du dosage de la tyrosine et de la succinylacétone par les méthodes classiques b) maintien du dosage de la succinylacétone par les méthodes classiques et dosage de la tyrosine par la MS/MS c) dosage de la succinylacétone par un protocole MS/MS séparé : ▪ en alternant l'utilisation du même appareil* ▪ en utilisant 2 appareils	Achever les études validant le dosage de la succinylacétone par la MS/MS pour le dépistage néonatal de la TH1 par un protocole commun à tous les métabolites	▪ Offre immédiate du dépistage néonatal du MCADD avec rentabilisation d'emblée de l'investissement technologique par l'utilisation de la MS/MS pour le dépistage néonatal de la PCU	▪ Modalité a : Maintien de toutes les méthodes actuelles de dépistage néonatal de la TH1 parallèlement au transfert technologique ▪ Modalité b : Maintien des méthodes actuelles pour le dosage de la succinylacétone parallèlement au transfert technologique ▪ Modalité c : Coûts (investissement et [ou] durée de vie de l'appareil) potentiellement supérieurs avec l'utilisation de la MS/MS pour le dosage séparé de la succinylacétone
				▪ Modalités a, b et c : ▪ Assurer la coordination de la gestion des échantillons sanguins pour le bon déroulement du dépistage néonatal de toutes les maladies, y compris l'hypothyroïdie congénitale. ▪ Gérer les problèmes organisationnels et éviter les délais pour communiquer les résultats ▪ Déceler et résoudre préalablement les problèmes éventuels liés à l'étape de transition supplémentaire si les résultats de validation du protocole commun à tous les métabolites sont concluants. ▪ Modalité c : Déterminer la meilleure stratégie à suivre : utilisation d'un ou de deux appareils MS/MS

Abréviations : MCADD : *Medium Chain Acyl-CoA Dehydrogenase Deficiency*; MS/MS : spectrométrie de masse en tandem; PCU : phénylcétonurie; TH1 : tyrosinémie héréditaire de type 1.
 * Le dosage de la succinylacétone pourrait être effectué lorsque l'appareil MS/MS n'est pas utilisé pour le dépistage néonatal de la PCU et du MCADD, soit pendant la nuit ou la fin de semaine, soit le lendemain de la réception des échantillons sanguins séchés d'une journée pendant la préparation des échantillons sanguins séchés nouvellement reçus.

RÉFÉRENCES

- Abadie V, Berthelot J, Feillet F, Maurin N, Mercier A, Ogier de Baulny H, et al. Consensus national sur la prise en charge des enfants dépistés avec une hyperphénylalaninémie. *Arch Pediatr* 2005;12(5):594-601.
- Acharya K, Ackerman PD, Ross LF. Pediatricians' attitudes toward expanding newborn screening. *Pediatrics* 2005;116(4):e476-84.
- Adeli K. Special reviews issue-August 2003. *Clin Biochem* 2003;36(6):411-2.
- Advisory Committee on Inborn Errors of Metabolism (ACIEM). Phenylketonuria variants in Ontario. *CMAJ* 1976;115(6):509-12.
- Agence d'évaluation des technologies et des modes d'intervention en santé (AETMIS). Guider la prise de décision sur le dépistage populationnel : une approche systématique et multidimensionnelle applicable à la génétique. Rapport préparé par Anne Andermann, Sylvie Beauchamp, Irina Costea et Ingeborg Blancaert. À paraître, 2007.
- Al-Dirbashi OY, Rashed MS, Brink HJ, Jakobs C, Filimban N, Al-Ahaidib LY, et al. Determination of succinylacetone in dried blood spots and liquid urine as a dansylhydrazone by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2006;831(1-2):274-80.
- Al-Dirbashi OY, Jacob M, Al-Hassnan Z, El-Badaoui F, Rashed MS. Diagnosis of methylmalonic acidemia from dried blood spots by HPLC and intramolecular-excimer fluorescence derivatization. *Clin Chem* 2005;51(1):235-7.
- Al-Odaib AN, Abu-Amero KK, Ozand PT, Al-Hellani AM. A new era for preventive genetic programs in the Arabian Peninsula. *Saudi Med J* 2003;24(11):1168-75.
- Alexander D et van Dyck PC. A vision of the future of newborn screening. *Pediatrics* 2006;117(5 Pt 2):S350-4.
- Allard P. Combined analysis of amino acids, acylcarnitines and succinylacetone by tandem mass spectrometry [présentation PowerPoint]. Garrod Association; 2005.
- Allard P, Grenier A, Korson MS, Zytkevich TH. Newborn screening for hepatorenal tyrosinemia by tandem mass spectrometry: analysis of succinylacetone extracted from dried blood spots. *Clin Biochem* 2004;37(11):1010-5.
- Andresen BS, Dobrowolski SF, O'Reilly L, Muenzer J, McCandless SE, Frazier DM, et al. Medium-chain acyl-CoA dehydrogenase (MCAD) mutations identified by MS/MS-based prospective screening of newborns differ from those observed in patients with clinical symptoms: identification and characterization of a new, prevalent mutation that results in mild MCAD deficiency. *Am J Hum Genet* 2001;68(6):1408-18.
- Applegarth DA, Toone JR, Lowry RB. Incidence of inborn errors of metabolism in British Columbia, 1969-1996. *Pediatrics* 2000;105(1):e10.
- Ashorn M, Pitkänen S, Salo MK, Heikinheimo M. Current strategies for the treatment of hereditary tyrosinemia type I. *Paediatr Drugs* 2006;8(1):47-54.
- Association of State and Territorial Health Officials (ASTHO). Financing state newborn screening systems in an era of change. Washington, D.C. : ASTHO; 2005. Disponible à : [http://www.astho.org/pubs/newbornscreening\(3\).pdf](http://www.astho.org/pubs/newbornscreening(3).pdf).
- Autti-Rämö I, Mäkelä M, Sintonen H, Koskinen H, Laajalahti L, Halila R, et al. Expanding screening for rare metabolic disease in the newborn: an analysis of costs, effect and ethical consequences for decision-making in Finland. *Acta Paediatr* 2005;94(8):1126-36.
- Avard D. Policy issues regarding newborn screening and tandem mass spectrometry. Working Group Report. Ottawa : Garrod Society Annual Symposium; 2005.
- Banta-Wright SA et Steiner RD. Tandem mass spectrometry in newborn screening: a primer for neonatal and perinatal nurses. *J Perinat Neonatal Nurs* 2004;18(1):41-58.
- Bergeron A, Jorquera R, Tanguay RM. La tyrosinémie héréditaire : une maladie du stress du réticulum endoplasmique ? *Med Sci (Paris)* 2003;19(10):976-80.
- Bergeron P, Laberge C, Grenier A. Hereditary tyrosinemia in the province of Quebec: prevalence at birth and geographic distribution. *Clin Genet* 1974;5(2):157-62.
- Bhat M, Haase C, Lee PJ. Social outcome in treated individuals with inherited metabolic disorders: UK study. *J Inher Metab Dis* 2005;28(6):825-30.
- Brumm VL, Azen C, Moats RA, Stern AM, Broomand C, Nelson MD, Koch R. Neuropsychological outcome of subjects participating in the PKU adult collaborative study: a preliminary review. *J Inher Metab Dis* 2004;27(5):549-66.
- Burgard P, Link R, Schweitzer-Krantz S. Phenylketonuria: evidence-based clinical practice. Summary of the roundtable discussion. *Eur J Pediatr* 2000;159(Suppl 2):S163-8.

- Camfield CS, Joseph M, Hurley T, Campbell K, Sanderson S, Camfield PR. Optimal management of phenylketonuria: a centralized expert team is more successful than a decentralized model of care. *J Pediatr* 2004;145(1):53-7.
- Campbell E et Ross LF. Incorporating newborn screening into prenatal care. *Am J Obstet Gynecol* 2004;190(4):876-7.
- Campbell E et Ross LF. Parental attitudes regarding newborn screening of PKU and DMD. *Am J Med Genet A* 2003;120(2):209-14.
- Carlson MD. Recent advances in newborn screening for neurometabolic disorders. *Curr Opin Neurol* 2004;17(2):133-8.
- Carpenter KH et Wiley V. Application of tandem mass spectrometry to biochemical genetics and newborn screening. *Clin Chim Acta* 2002;322(1-2):1-10.
- Carpenter K, Wiley V, Sim KG, Heath D, Wilken B. Evaluation of newborn screening for medium chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency in 275 000 babies. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2001;85(2):F105-9.
- Carreiro-Lewandowski E. Newborn screening: an overview. *Clin Lab Sci* 2002;15(4):229-38.
- Casetta B, Tagliacozzi D, Shushan B, Federici G. Development of a method for rapid quantitation of amino acids by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MSMS) in plasma. *Clin Chem Lab Med* 2000;38(5):391-401.
- Cavedon CT, Bourdoux P, Mertens K, Thi HVV, Herremans N, De Laet C, Goyens P. Age-related variations in acylcarnitine and free carnitine concentrations measured by tandem mass spectrometry. *Clin Chem* 2005;51(4):745-52.
- Ceglarek U, Muller P, Stach B, Buhrdel P, Thierry J, Kiess W. Validation of the phenylalanine/tyrosine ratio determined by tandem mass spectrometry: sensitive newborn screening for phenylketonuria. *Clin Chem Lab Med* 2002;40(7):693-7.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Using tandem mass spectrometry for metabolic disease screening among newborns: a report of a work group. *MMWR Recomm Rep* 2001;50(RR-3):1-34.
- Chace DH et Kalas TA. A biochemical perspective on the use of tandem mass spectrometry for newborn screening and clinical testing. *Clin Biochem* 2005;38(4):296-309.
- Chace DH, Kalas TA, Naylor EW. Use of tandem mass spectrometry for multianalyte screening of dried blood specimens from newborns. *Clin Chem* 2003a;49(11):1797-817.
- Chace DH, Pons R, Chiriboga CA, McMahon DJ, Tein I, Naylor EW, De Vivo DC. Neonatal blood carnitine concentrations: Normative data by electrospray tandem mass spectrometry. *Pediatr Res* 2003b;53(5):823-9.
- Chace DH, Kalas TA, Naylor EW. The application of tandem mass spectrometry to neonatal screening for inherited disorders of intermediary metabolism. *Annu Rev Genomics Human Genet* 2002;3:17-45.
- Chace DH, Sherwin JE, Hillman SL, Lorey F, Cunningham GC. Use of phenylalanine-to-tyrosine ratio determined by tandem mass spectrometry to improve newborn screening for phenylketonuria of early discharge specimens collected in the first 24 hours. *Clin Chem* 1998;44(12):2405-9.
- Chace DH, Hillman SL, Van Hove JL, Naylor EW. Rapid diagnosis of MCAD deficiency: quantitative analysis of octanoylcarnitine and other acylcarnitines in newborn blood spots by tandem mass spectrometry. *Clin Chem* 1997;43(11):2106-13.
- Chace DH, Hillman SL, Millington DS, Kahler SG, Adam BW, Levy HL. Rapid diagnosis of homocystinuria and other hypermethioninemias from newborns' blood spots by tandem mass spectrometry. *Clin Chem* 1996;42(3):349-55.
- Chace DH, Hillman SL, Millington DS, Kahler SG, Roe CR, Naylor EW. Rapid diagnosis of maple syrup urine disease in blood spots from newborns by tandem mass spectrometry. *Clin Chem* 1995;41(1):62-8.
- Chace DH, Millington DS, Terada N, Kahler SG, Roe CR, Hofman LF. Rapid diagnosis of phenylketonuria by quantitative analysis for phenylalanine and tyrosine in neonatal blood spots by tandem mass spectrometry. *Clin Chem* 1993;39(1):66-71.
- Cheillan D, Cognat S, Vianey-Saban C, Maire I, Dorche C. La spectrométrie de masse en tandem appliquée au dépistage néonatal des maladies héréditaires du métabolisme : le point sur les utilisations actuelles. *Ann Biol Clin (Paris)* 2004;62(3):269-77.
- Clague A et Thomas A. Neonatal biochemical screening for disease. *Clin Chim Acta* 2002;315(1-2):99-110.
- Clark AG. Metabolic Diseases World Summit 2005. Partnering and deal-making. 29 June-1 July 2005, San Francisco, CA, USA. *IDrugs* 2005;8(9):708-9.
- Clarke S. Tandem mass spectrometry: the tool of choice for diagnosing inborn errors of metabolism? *Br J Biomed Sci* 2002;59(1):42-6.
- Comeau AM, Larson C, Eaton RB. Integration of new genetic diseases into statewide newborn screening: New England experience. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 2004;125C(1):35-41.
- Conne B, Zufferey R, Belin D. The A985G mutation in the medium-chain acyl-CoA dehydrogenase gene: high prevalence in the Swiss population resident in Geneva. *J Inher Metab Dis* 1995;18(5):577-83.

- Conseil d'évaluation des technologies de la santé du Québec (CETS). Tyrosinémie héréditaire de type I : contribution de la génétique moléculaire au dépistage familial des porteurs. Montréal, Qc : CETS; 1998.
- Cooper GM. The cell: a molecular approach. 2e éd. Washington, D.C. ; Sunderland, MA : ASM Press; Sinauer Associates; 2000. Disponible à : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/bv.fcgi?rid=cooper>.
- Crone MR, van Spronsen FJ, Oudshoorn K, Bekhof J, van Rijn G, Verkerk PH. Behavioural factors related to metabolic control in patients with phenylketonuria. *J Inherit Metab Dis* 2005;28(5):627-37.
- Cunningham G, Green NS, Hardelid P, Dezateux C. Neonatal screening for inborn errors of metabolism. *Lancet* 2005;365(9478):2175-6.
- Dalluge JJ. Mass spectrometry: an emerging alternative to traditional methods for measurement of diagnostic proteins, peptides and amino acids. *Curr Protein Pept Sci* 2002;3(2):181-90.
- De Braekeleer M et Larochelle J. Genetic epidemiology of hereditary tyrosinemia in Quebec and in Saguenay-Lac-St-Jean. *Am J Hum Genet* 1990;47(2):302-7.
- Derks TG, Reijngoud DJ, Waterham HR, Gerver WJ, van den Berg MP, Sauer PJ, Smit GP. The natural history of medium-chain acyl CoA dehydrogenase deficiency in the Netherlands: clinical presentation and outcome. *J Pediatr* 2006;148(5):665-70.
- Derks TG, Duran M, Waterham HR, Reijngoud DJ, Ten Kate LP, Smit GP. The difference between observed and expected prevalence of MCAD deficiency in The Netherlands: a genetic epidemiological study. *Eur J Hum Genet* 2005;13(8):947-52.
- de Vries HG, Niezen-Koning K, Kliphuis JW, Smit GP, Scheffer H, ten Kate LP. Prevalence of carriers of the most common medium-chain acyl-CoA dehydrogenase (MCAD) deficiency mutation (G985A) in The Netherlands. *Hum Genet* 1996;98(1):1-2.
- Dezateux C. Newborn screening for medium chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency: evaluating the effects on outcome. *Eur J Pediatr* 2003;162 Suppl 1:S25-8.
- Donlon J, Levy H, Scriver CR. Hyperphénylalaninémie: phénylalanine hydroxylase deficiency. Dans : Scriver CR, Beaudet AL, Sly SW, Valle D, réd. The metabolic and molecular bases of inherited disease. New York, NY : McGraw-Hill; 2004: Chapitre 77.
- Dooley KC. Tandem mass spectrometry in the clinical chemistry laboratory. *Clin Biochem* 2003;36(6):471-81.
- Drummond MF, Sculpher MJ, Torrance GW, O'Brien BJ, Stoddart GL. Methods for the economic evaluation of health care programmes. 3e éd. Oxford : Oxford University Press; 2005.
- Dundar M, Lanyon WG, Connor JM. Scottish frequency of the common G985 mutation in the medium-chain acyl-CoA dehydrogenase (MCAD) gene and the role of MCAD deficiency in sudden infant death syndrome (SIDS). *J Inherit Metab Dis* 1993;16(6):991-3.
- Elgstoen KB, Zhao JY, Anacleto JF, Jellum E. Potential of capillary electrophoresis, tandem mass spectrometry and coupled capillary electrophoresis-tandem mass spectrometry as diagnostic tools. *J Chromatogr A* 2001;914(1-2):265-75.
- Elliman DAC, Dezateux C, Bedford HE. Newborn and childhood screening programmes: criteria, evidence, and current policy. *Arch Dis Child* 2002;87(1):6-9.
- Farrell MH, Certain LK, Farrell PM. Genetic counseling and risk communication services of newborn screening programs. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2001;155(2):120-6.
- Faulkner LA, Feuchtbaum LB, Graham S, Bolstad JP, Cunningham GC. The newborn screening educational gap: what prenatal care providers do compared with what is expected. *Am J Obstet Gynecol* 2006;194(1):131-7.
- Fearing MK et Levy HL. Expanded newborn screening using tandem mass spectrometry. *Adv Pediatr* 2003;50:81-111.
- Feillet F. Phénylcétonurie. *Presse Med* 2006;35(3 Pt 2):502-8.
- Feuchtbaum L, Faulkner L, Verghese S. Tandem mass spectrometry program implementation challenges for state newborn screening programs: national survey of barriers and issues. *Pediatrics* 2006a;117(5 Pt 2):S253-60.
- Feuchtbaum L, Lorey F, Faulkner L, Sherwin J, Currier R, Bhandal A, Cunningham G. California's experience implementing a pilot newborn supplemental screening program using tandem mass spectrometry. *Pediatrics* 2006b;117(5 Pt 2):S261-9.
- François L, Greneche MO, Giraud M, Ogier de Baulny H. Phénylcétonurie : place de la prescription diététique. *Cah Nutr Diet* 2000;35(4):275-84.
- Frazier DM, Millington DS, McCandless SE, Koeberl DD, Weavil SD, Chaing SH, Muenzer J. The tandem mass spectrometry newborn screening experience in North Carolina: 1997-2005. *J Inherit Metab Dis* 2006;29(1):76-85.
- Garg U et Dasouki M. Expanded newborn screening of inherited metabolic disorders by tandem mass spectrometry: Clinical and laboratory aspects. *Clin Biochem* 2006;39(4):315-32.
- Gennaccaro M, Waisbren SE, Marsden D. The knowledge gap in expanded newborn screening: survey results from paediatricians in Massachusetts. *J Inherit Metab Dis* 2005;28(6):819-24.
- Goddard P. Newborn screening for medium chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency (MCADD) in the UK. *J Fam Health Care* 2004;14(4):90-2.

- Golbahar J, Karamizadeh Z, Honardar Z. Selective screening of amino acid disorders in the south-west of Iran, Shiraz. *J Inherit Metab Dis* 2002;25(6):519-21.
- Green JM, Hewison J, Bekker HL, Bryant LD, Cuckle HS. Psychosocial aspects of genetic screening of pregnant women and newborns: a systematic review. *Health Technol Assess* 2004;8(33):iii-87.
- Green NS, Dolan SM, Murray TH. Newborn screening: complexities in universal genetic testing. *Am J Public Health* 2006;96(11):1955-9.
- Greenhalgh T et Donald A. Evidence based health care workbook: understanding research: for individual and group learning. Londres : BMJ Books; 2000.
- Gregersen N, Winter V, Curtis D, Deufel T, Mack M, Hendrickx J, et al. Medium-chain acyl-CoA dehydrogenase (MCAD) deficiency: the prevalent mutation G985 (K304E) is subject to a strong founder effect from northwestern Europe. *Hum Hered* 1993;43(6):342-50.
- Grenier A, Dussault JH, Laberge C, Morissette J. Maladies congénitales et héréditaires : l'importance d'un dépistage précoce. *Le Clinicien* 1988;3:57-69.
- Grompe M, St-Louis M, Demers SI, al-Dhalimy M, Leclerc B, Tanguay RM. A single mutation of the fumarylacetoacetate hydrolase gene in French Canadians with hereditary tyrosinemia type I. *N Engl J Med* 1994;331(6):353-7.
- Grosse SD et Dezateux C. Newborn screening for inherited metabolic disease. *Lancet* 2007;369(9555):5-6.
- Grosse SD, Boyle CA, Kenneson A, Khoury MJ, Wilfond BS. From public health emergency to public health service: the implications of evolving criteria for newborn screening panels. *Pediatrics* 2006a;117(3):923-9.
- Grosse SD, Khoury MJ, Greene CL, Crider KS, Pollitt RJ. The epidemiology of medium chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency: an update. *Genet Med* 2006b;8(4):205-12.
- Guthrie R. Screening for phenylketonuria. *Triangle* 1969;9(3):104-9.
- Guthrie R et Susi A. A simple phénylalanine method for detecting phenylketonuria in large populations of newborn infants. *Pediatrics* 1963;32:338-43.
- Haberle J, Pauli S, Schmidt E, Schulze-Eilfing B, Berning C, Koch HG. Mild citrullinemia in Caucasians is an allelic variant of argininosuccinate synthetase deficiency (citrullinemia type 1). *Mol Genet Metab* 2003;80(3):302-6.
- Hanley WB. Adult phenylketonuria. *Am J Med* 2004;117(8):590-5.
- Hargreaves KM, Stewart RJ, Oliver SR. Informed choice and public health screening for children: the case of blood spot screening. *Health Expect* 2005;8(2):161-71.
- Health Council of the Netherlands. Neonatal screening. La Haye, Pays-Bas : Health Council of the Netherlands; 2005. Disponible à : <http://www.gr.nl/pdf.php?ID=1258&p=1>.
- Hinman AR, Howse J, Katz M. The importance of newborn screening. *Pediatrics* 2001;108(3):821.
- Hoffmann GF, von Kries R, Klose D, Lindner M, Schulze A, Muntau AC, et al. Frequencies of inherited organic acidurias and disorders of mitochondrial fatty acid transport and oxidation in Germany. *Eur J Pediatr* 2004;163(2):76-80.
- Holme E et Lindstedt S. Nontransplant treatment of tyrosinemia. *Clin Liver Dis* 2000;4(4):805-14.
- Holme E et Lindstedt S. tyrosinaemia type I and NTBC (2-(2-nitro-4-trifluoromethylbenzoyl)-1,3-cyclohexanedione). *J Inherit Metab Dis* 1998;21(5):507-17.
- Holtzman NA. Expanding newborn screening: how good is the evidence? *JAMA* 2003;290(19):2606-8.
- Holub M, Tuschl K, Ratschmann R, Strnadova KA, Muhl A, Heinze G, et al. Influence of hematocrit and localisation of punch in dried blood spots on levels of amino acids and acylcarnitines measured by tandem mass spectrometry. *Clin Chim Acta* 2006;373(1-2):27-31.
- Howse JL et Katz M. The importance of newborn screening. *Pediatrics* 2000;106(3):595.
- Hutchesson AC, Bunday S, Preece MA, Hall SK, Green A. A comparison of disease and gene frequencies of inborn errors of metabolism among different ethnic groups in the West Midlands, UK. *J Med Genet* 1998;35(5):366-70.
- Iafolla AK, Thompson RJ, Jr., Roe CR. Medium-chain acyl-coenzyme A dehydrogenase deficiency: clinical course in 120 affected children. *J Pediatr* 1994;124(3):409-15.
- Insinga RP, Laessig RH, Hoffman GL. Newborn screening with tandem mass spectrometry: examining its cost-effectiveness in the Wisconsin Newborn Screening Panel. *J Pediatr* 2002;141(4):524-31.
- Ipsiroglu OS, Herle M, Spoula E, Moslinger D, Wimmer B, Burgard P, et al. Transcultural pediatrics: compliance and outcome of phenylketonuria patients from families with an immigration background. *Wien Klin Wochenschr* 2005;117(15-16):541-7.
- Jaeschke R, Guyatt G, Sackett DL. Users' guides to the medical literature. III. How to use an article about a diagnostic test. A. Are the results of the study valid? Evidence-Based Medicine Working Group. *JAMA* 1994a;271(5):389-91.
- Jaeschke R, Guyatt GH, Sackett DL. Users' guides to the medical literature. III. How to use an article about a diagnostic test. B. What are the results and will they help me in caring for my patients? Evidence-Based Medicine Working Group. *JAMA* 1994b;271(9):703-7.

- Johansson A, Guthenberg C, Ahlman H, Von Dobeln U, Hagenfeldt L. Prevalence of the 985A>G mutation in the medium-chain acyl-CoA dehydrogenase (MCAD) gene in Sweden. *Scand J Clin Lab Invest* 1999;59(4):289-91.
- Johnson DW. Inaccurate measurement of free carnitine by the electrospray tandem mass spectrometry screening method for blood spots. *J Inherit Metab Dis* 1999;22(2):201-2.
- Joshi SN et Venugopalan P. Experience with NTBC therapy in hereditary tyrosinaemia type I: an alternative to liver transplantation. *Ann Trop Paediatr* 2004;24(3):259-65.
- Kalter H. Teratology in the 20th century: environmental causes of congenital malformations in humans and how they were established. *Neurotoxicol Teratol* 2003;25(2):131-282.
- Kaye CI; Committee on Genetics; Accurso F, La Franchi S, Lane PA, Hope N, Sonya P, G Bradley S, Michele A LP. Newborn screening fact sheets. *Pediatrics*. 2006a;118(3):e934-63.
- Kaye CI; Committee on Genetics; Accurso F, La Franchi S, Lane PA, Northrup H, Pang S, Schaefer GB. Introduction to the newborn screening fact sheets. *Pediatrics*. 2006b;118(3):1304-12.
- Kayler LK, Merion RM, Lee S, Sung RS, Punch JD, Rudich SM, et al. Long-term survival after liver transplantation in children with metabolic disorders. *Pediatr Transplant* 2002;6(4):295-300.
- Kenner C et Moran M. Newborn screening and genetic testing. *J Midwifery Womens Health* 2005;50(3):219-26.
- Kerruish NJ et Robertson SP. Newborn screening: new developments, new dilemmas. *J Med Ethics* 2005;31(7):393-8.
- Khoury MJ, Burke W, Atkins D, Gwinn M, Gutmacher A, Haddow J, et al. Genetic test evaluation: information needs of clinicians, policy makers, and the public. *Am J Epidemiol* 2002;156(4):311-8.
- Kim S, Lloyd-Puryear MA, Tonniges TF. Examination of the communication practices between state newborn screening programs and the medical home. *Pediatrics* 2003;111(2):E120-6.
- Kim W, Erlandsen H, Surendran S, Stevens RC, Gamez A, Michols-Matalon K, et al. Trends in enzyme therapy for phenylketonuria. *Mol Ther* 2004;10(2):220-4.
- Knerr I, Zschocke J, Schellmoser S, Topf HG, Weigel C, Dotsch J, Rascher W. An exceptional Albanian family with seven children presenting with dysmorphic features and mental retardation: maternal phenylketonuria. *BMC Pediatr* 2005;5(1):5.
- Koch R, Burton B, Hoganson G, Peterson R, Rhead W, Rouse B, et al. Phenylketonuria in adulthood: a collaborative study. *J Inherit Metab Dis* 2002;25(5):333-46.
- Kozak L, Hrabincova E, Rudolfova J, Vrabelova S, Freiberg T. Screening of the most common medium-chain acyl CoA dehydrogenase (MCAD) deficiency mutation (K329E) in the Czech newborn population. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1999;30(Suppl 2):49-50.
- Koeberl DD, Millington DS, Smith WE, Weavil SD, Muenzer J, McCandless SE, et al. Evaluation of 3-methylcrotonyl-CoA carboxylase deficiency detected by tandem mass spectrometry newborn screening. *J Inherit Metab Dis* 2003;26(1):25-35.
- Kvittingen EA. Hereditary tyrosinemia type I: an overview. *Scand J Clin Lab Invest, Suppl* 1986;46(184):27-34.
- Kwon C et Farrell PM. The magnitude and challenge of false-positive newborn screening test results. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2000;154(7):714-8.
- Laberge AM, Michaud J, Richter A, Lemyre E, Lambert M, Brais B, Mitchell GA. Population history and its impact on medical genetics in Quebec. *Clin Genet* 2005;68(4):287-301.
- Laberge C, Ferreira P, Grenier A, Laframboise R, Morissette J. Hyperphénylalaninémies : expérience canadienne et québécoise. *Arch Fr Pediatr* 1987;44:643-7.
- Laflamme N, Fortier M, Lindsey C, Turgeon J. Rapport d'évaluation du Programme québécois de dépistage sanguin des maladies génétiques chez le nouveau-né. Québec, Qc : Institut national de santé publique du Québec (INSPQ); 2006. Disponible à : <http://www.inspq.qc.ca/pdf/publications/484-Rapport-DepistageSanguin.pdf> (consulté le 22 juin 2006).
- Laing IA et McIntosh N. Practicalities of consent. *Lancet* 2004;364(9435):659.
- Landolt MA, Nuoffer JM, Steinmann B, Superti-Furga A. Quality of life and psychologic adjustment in children and adolescents with early treated phenylketonuria can be normal. *J Pediatr* 2002;140(5):516-21.
- Laurie G. Better to hesitate at the threshold of compulsion: PKU testing and the concept of family autonomy in Eire. *J Med Ethics* 2002;28(3):136-7.
- Lecoq I, Mallet E, Bonte JB, Travert G. The A985 to G mutation of the medium-chain acyl-CoA dehydrogenase gene and sudden infant death syndrome in Normandy. *Acta Paediatr* 1996;85(2):145-7.
- Lecoq I, Mallet E, Bonte JB, Laroche D, Travert G. Dépistage de la mutation A985→G du gène de la médium-chain acyl-CoA déshydrogénase (MCAD) en Normandie. Evaluation du rôle du déficit en MCAD dans la mort subite du nourrisson. *C R Seances Soc Biol Fil* 1995;189(2):295-301.
- Lee PJ, Harrison EL, Jones MG, Jones S, Leonard JV, Chalmers RA. L-carnitine and exercise tolerance in medium-chain acyl-coenzyme A dehydrogenase (MCAD) deficiency: a pilot study. *J Inherit Metab Dis* 2005;28(2):141-52.

- Leuzzi V, Carducci C, Carducci C, Chiarotti F, Artiola C, Giovanniello T, Antonozzi I. The spectrum of phenylalanine variations under tetrahydrobiopterin load in subjects affected by phenylalanine hydroxylase deficiency. *J Inher Metab Dis* 2006;29(1):38-46.
- Levin ML, Zhang YH, Adams V, Schwartz EI, McCabe ER. MCAD K329E mutant allele frequency in Russia: unselected sampling with newborn screening specimens and need for automation. *Am J Hum Genet* 1992;51(Suppl):A172 (abstract).
- Liebl B, Nennstiel-Ratzel U, Roscher A, von Kries R. Data required for the evaluation of newborn screening programmes. *Eur J Pediatr* 2003;162(Suppl 1):S57-61.
- Liebl B, Nennstiel-Ratzel U, von Kries R, Fingerhut R, Olgemoller B, Zapf A, Roscher AA. Very high compliance in an expanded MS-MS-based newborn screening program despite written parental consent. *Prev Med* 2002a;34(2):127-31.
- Liebl B, Nennstiel-Ratzel U, von Kries R, Fingerhut R, Olgemoller B, Zapf A, Roscher AA. Expanded newborn screening in Bavaria: tracking to achieve requested repeat testing. *Prev Med* 2002b;34(2):132-7.
- Lindner M, Ho S, Fang-Hoffmann J, Hoffmann GF, Kolkner S. Neonatal screening for glutaric aciduria type I: strategies to proceed. *J Inher Metab Dis* 2006;29(2-3): 378-82.
- Lindstedt S, Holme E, Lock EA, Hjalmarson O, Strandvik B. Treatment of hereditary tyrosinaemia type I by inhibition of 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase. *Lancet* 1992;340(8823):813-7.
- Lloyd-Puryear MA et Forsman I. Newborn screening and genetic testing. *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs* 2002;31(2):200-7.
- Lukacs Z et Santer R. Evaluation of electrospray-tandem mass spectrometry for the detection of phenylketonuria and other rare disorders. *Mol Nutr Food Res* 2006;50(4-5):443-50.
- Macdonald A, Daly A, Davies P, Asplin D, Hall SK, Rylance G, Chakrapani A. Protein substitutes for PKU: what's new? *J Inher Metab Dis* 2004;27(3):363-71.
- Mackner LM, McGrath AM, Stark LJ. Dietary recommendations to prevent and manage chronic pediatric health conditions: Adherence, intervention, and future directions. *J Dev Behav Pediatr* 2001;22(2):130-43.
- Magera MJ, Gunawardena ND, Hahn SH, Tortorelli S, Mitchell GA, Goodman SI, et al. Quantitative determination of succinylacetone in dried blood spots for newborn screening of tyrosinemia type I. *Mol Genet Metab* 2006;88(1):16-21.
- Maier EM, Liebl B, Roschinger W, Nennstiel-Ratzel U, Fingerhut R, Olgemoller B, et al. Population spectrum of ACADM genotypes correlated to biochemical phenotypes in newborn screening for medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency. *Hum Mutat* 2005;25(5):443-52.
- Malvagia S, la Marca G, Casetta B, Gasperini S, Pasquini E, Donati MA, Zammarchi E. Falsely elevated C4-carnitine as expression of glutamate formiminotransferase deficiency in tandem mass spectrometry newborn screening. *J Mass Spectrom* 2006;41(2):263-5.
- Marsden D. Expanded newborn screening by tandem mass spectrometry: the Massachusetts and New England experience. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2003;34(Suppl 3):111-4.
- Marsden D, Larson C, Levy HL. Newborn screening for metabolic disorders. *J Pediatr* 2006;148(5):577-84.
- Matern D. Tandem mass spectrometry in newborn screening. *Endocrinologist* 2002;12(1):50-7.
- Matsubara Y, Narisawa K, Tada K, Ikeda H, Yao YQ, Danks DM, et al. Prevalence of K329E mutation in medium-chain acyl-CoA dehydrogenase gene determined from Guthrie cards. *Lancet* 1991;338(8766):552-3.
- McCabe LL et McCabe ER. Genetic screening: carriers and affected individuals. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2004;5:57-69.
- McCabe LL et McCabe ER. Newborn screening as a model for population screening. *Mol Genet Metab* 2002;75(4):299-307.
- McCabe LL, Therrell Jr BL, McCabe ER. Newborn screening: rationale for a comprehensive, fully integrated public health system. *Mol Genet Metab* 2002;77(4):267-73.
- McCandless SE. A primer on expanded newborn screening by tandem mass spectrometry. *Prim Care* 2004;31(3):583-604, ix-x.
- Medical Advisory Secretariat (MAS). Neonatal screening of inborn errors of metabolism using tandem mass spectrometry. Health Technology Literature Review. Toronto, ON: Ontario Ministry of Health and Long-Term Care; 2002. Disponible à : http://www.health.gov.on.ca/english/providers/program/mas/tech/reviews/pdf/rev_tandms_090102.pdf.
- Millington DS. Newborn screening for metabolic diseases. *American Scientist* 2002;90(1):40-7.
- Millington DS, Kodo N, Norwood DL, Roe CR. Tandem mass spectrometry: a new method for acylcarnitine profiling with potential for neonatal screening for inborn errors of metabolism. *J Inher Metab Dis* 1990;13(3):321-4.

- Ministère de la Famille, des Aînés et de la Condition Féminine (MFACF). Le Québec soutient ses familles : des politiques généreuses et innovatrices, des résultats significatifs. Québec : Gouvernement du Québec; 2007.
- Ministry of Health and Long-Term Care (MOHLTC). Tyrosinemia (type I) – Amino acid disorder. Toronto, ON : Ontario Ministry of Health and Long-Term Care; 2006. Disponible à : http://www.health.gov.on.ca/english/providers/program/child/screening/pdf/fs_tyro.pdf.
- Mitchell GA, Grompe M, Lambert M, Tanguay RM. Hyper-tyrosinemia. Dans : Scriver CR, Beaudet AL, Sly SW, Valle D, réd. The metabolic and molecular bases of inherited disease. 8e éd. New York, NY : McGraw-Hill; 2001: 1777-805.
- Mitchell GA, Larochelle J, Lambert M, Michaud J, Grenier A, Ogier H, et al. Neurologic crises in hereditary tyrosinemia. *N Engl J Med* 1990;322(7):432-7.
- Mitchell JJ et Scriver CR. Phénylalanine hydroxylase deficiency. GeneReviews sur le site web de GeneTests; dernière mise à jour : 19 juillet 2005. Disponible à : <http://www.genetests.org/query?dz=pku>.
- Nagy K, Takats Z, Pollreis F, Szabo T, Vekey K. Direct tandem mass spectrometric analysis of amino acids in dried blood spots without chemical derivatization for neonatal screening. *Rapid Commun Mass Spectrom* 2003;17(9):983-90.
- National Health and Medical Research Council (NHMRC). How to review the evidence: systematic identification and review of the scientific literature. Canberra, Australie : NHMRC; 2000. Disponible à : http://www.nhmrc.gov.au/publications/_files/cp65.pdf.
- Nennstiel-Ratzel U, Arenz S, Maier EM, Knerr I, Baumkötter J, Roschinger W, et al. Reduced incidence of severe metabolic crisis or death in children with medium chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency homozygous for c.985A>G identified by neonatal screening. *Mol Genet Metab* 2005;85(2):157-9.
- Newson A. Should parental refusals of newborn screening be respected? *Camb Q Healthc Ethics* 2006;15(2):135-46.
- NIH Consensus Development Panel. National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement: phenylketonuria: screening and management, October 16-18, 2000. *Pediatrics* 2001;108(4):972-82.
- Oerton J, Downing M, Andresen BS, Champion M, Cleary M, Chakrapani A, et al. Predictive value, clinical status and genotype of medium chain acyl CoA dehydrogenase deficiency (MCADD) ascertained by screening at one week of age using electrospray tandem mass spectrometry of underivatized blood spots: findings from a UK multicentre. *J Inherit Metab Dis* 2005;28(Suppl 1):9 (abstract 018-P).
- Oliver S, Dezateux C, Kavanagh J, Lempert T, Stewart R. Disclosing to parents newborn carrier status identified by routine blood spot screening. *Cochrane Database Syst Rev* 2004;(4):CD003859 Disponible à : <http://www.mrw.interscience.wiley.com/cochrane/clsysrev/articles/CD003859/frame.html>.
- Olpin SE. Implications of impaired ketogenesis in fatty acid oxidation disorders. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2004;70(3):293-308.
- Pandor A, Eastham J, Chilcott J, Paisley S, Beverley C. Newborn screening using tandem mass spectrometry: A systematic review. *Health Economics and Decision Science*. Sheffield, Royaume-Uni: University of Sheffield; 2006a. Disponible à : <http://www.sheffield.ac.uk/content/1/c6/01/87/47/0603FT.pdf>.
- Pandor A, Eastman J, Chilcott J, Paisley S, Beverley C. Economics of tandem mass spectrometry screening of neonatal inherited disorders. *Int J Technol Assess Health Care* 2006b;22(3):321-6.
- Pandor A, Eastham J, Beverley C, Chilcott J, Paisley S. Clinical effectiveness and cost-effectiveness of neonatal screening for inborn errors of metabolism using tandem mass spectrometry: a systematic review. *Health Technol Assess* 2004;8(12):iii, 1-121.
- Paradis K. Tyrosinemia: the Quebec experience. *Clin Invest Med* 1996;19(5):311-6.
- Pollitt RJ. International perspectives on newborn screening. *J Inherit Metab Dis* 2006;29(2-3):390-6.
- Pollitt RJ et Leonard JV. Prospective surveillance study of medium chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency in the UK. *Arch Dis Child* 1998;79(2):116-9.
- Pollitt RJ, Green A, McCabe CJ, Booth A, Cooper NJ, Leonard JV, et al. Neonatal screening for inborn errors of metabolism: cost, yield and outcome. *Health Technol Assess* 1997;1(7):i-iv, 1-202.
- Poudrier J, St-Louis M, Lettre F, Gibson K, Prevost C, Larochelle J, Tanguay RM. Frequency of the IVS12 + 5G-->A splice mutation of the fumarylacetoacetate hydrolase gene in carriers of hereditary tyrosinaemia in the French Canadian population of Saguenay-Lac-St-Jean. *Prenat Diagn* 1996;16(1):59-64.
- Pourfarzam M, Morris A, Appleton M, Craft A, Bartlett K. Neonatal screening for medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency. *Lancet* 2001;358(9287):1063-4.
- Poustie VJ et Rutherford P. Dietary interventions for phenylketonuria. *Cochrane Database Syst Rev* 2000a;(2):CD001304.
- Poustie VJ et Rutherford P. Tyrosine supplementation for phenylketonuria. *Cochrane Database Syst Rev* 2000b;(2):CD001507.

- Qu J, Wang Y, Luo G, Wu Z, Yang C. Validated quantitation of underivatized amino acids in human blood samples by volatile ion-pair reversed-phase liquid chromatography coupled to isotope dilution tandem mass spectrometry. *Anal Chem* 2002;74(9):2034-40.
- Raghuveer TS, Garg U, Graf WD. Inborn errors of metabolism in infancy and early childhood: an update. *Am Fam Physician* 2006;73(11):1981-90.
- Rashed MS, Ozand PT, Bucknall MP, Little D. Diagnosis of inborn errors of metabolism from blood spots by acylcarnitines and amino acids profiling using automated electrospray tandem mass spectrometry. *Pediatr Res* 1995;38(3):324-31.
- Read CY. Using the impact of event scale to evaluate psychological response to being a phenylketonuria gene carrier. *J Genet Couns* 2004;13(3):207-19.
- Rinaldo P, Tortorelli S, Matern D. Recent developments and new applications of tandem mass spectrometry in newborn screening. *Curr Opin Pediatr* 2004;16(4):427-33.
- Roe CR et Ding J. Mitochondrial fatty acid oxidation disorders. Dans : Scriver CR, Beaudet AL, Sly WL, Valle D, réd. *The metabolic and molecular bases of inherited disease*. 8e éd. New York, NY : McGraw-Hill; 2001: 2297-326.
- Roscher AA et Olgemöller B. Newborn screening for inborn errors of metabolism with tandem spectrometry in Bavaria, Germany. *LaboratoriumsMedizin* 2004;28(6):521-4.
- Roschinger W, Olgemoller B, Fingerhut R, Liebl B, Roscher AA. Advances in analytical mass spectrometry to improve screening for inherited metabolic diseases. *Eur J Pediatr* 2003;162(Suppl 1):S67-76.
- Rutherford P et Poustie VJ. Protein substitute for children and adults with phenylketonuria. *Cochrane Database Syst Rev* 2005;(4):CD004731.
- Sander J, Janzen N, Peter M, Sander S, Steuerwald U, Holtkamp U, et al. Newborn screening for hepatorenal tyrosinemia: tandem mass spectrometric quantification of succinylacetone. *Clin Chem* 2006;52(3):482-7.
- Sander J, Janzen N, Sander S, Steuerwald U, Das AM, Scholl S, et al. Neonatal screening for citrullinaemia. *Eur J Pediatr* 2003;162(6):417-20.
- Sander S, Janzen N, Janetzky B, Scholl S, Steuerwald U, Schafer J, Sander J. Neonatal screening for medium chain acyl-CoA deficiency: high incidence in Lower Saxony (northern Germany). *Eur J Pediatr* 2001;160(5):318-9.
- Santer R, Fingerhut R, Lassker U, Wightman PJ, Fitzpatrick DR, Olgemoller B, Roscher AA. Tandem mass spectrometric determination of malonylcarnitine: diagnosis and neonatal screening of malonyl-CoA decarboxylase deficiency. *Clin Chem* 2003;49(4):660-2.
- Santer R, Gregersen N, Tanaka K, Hinck-Kneip C, Krawinkel M, Schaub J. The prevalence of the G985 allele of medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency among sudden infant death victims and healthy newborns in northern Germany. *Eur J Pediatr* 1995;154(6):497.
- Schoen E, Baker J, Colby C, To T. Cost-benefit analysis of universal tandem mass spectrometry for newborn screening. *Pediatrics* 2002;110(4):781-6.
- Schulze A, Lindner M, Kohlmüller D, Olgemoller K, Mayatepek E, Hoffmann GF. Expanded newborn screening for inborn errors of metabolism by electrospray ionization-tandem mass spectrometry: results, outcome, and implications. *Pediatrics* 2003a;111(6 Pt 1):1399-406.
- Schulze A, Schmidt C, Kohlmüller D, Hoffmann GF, Mayatepek E. Accurate measurement of free carnitine in dried blood spots by isotope-dilution electrospray tandem mass spectrometry without butylation. *Clin Chim Acta* 2003b;335(1-2):137-45.
- Scott CR. The genetic tyrosinemias. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 2006;142(2):121-6.
- Scriver CR. Translating knowledge into practice in the "post-genome" era. *Acta Paediatr* 2004;93(3):294-300.
- Scriver CR, réd. *The metabolic and molecular bases of inherited disease*. 8e éd. New York, NY : McGraw-Hill; 2001.
- Seashore MR et Seashore CJ. Newborn screening and the pediatric practitioner. *Semin Perinatol* 2005;29(3):182-8.
- Seddon HR, Gray G, Pollitt RJ, Iltis A, Green A. Population screening for the common G985 mutation causing medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency with Eu-labeled oligonucleotides and the DELFIA system. *Clin Chem* 1997;43(3):436-42.
- Sewell AC, Gebhardt B, Herwig J, Rauterberg EW. Acceptance of extended newborn screening: the problem of parental non-compliance. *Eur J Pediatr* 2004;163(12):755-6.
- Seymour CA, Thomason MJ, Chalmers RA, Addison GM, Bain MD, Cockburn F, et al. Newborn screening for inborn errors of metabolism: a systematic review. *Health Technol Assess* 1997;1(11):i-iv, 1-95.
- Shigematsu Y, Hirano S, Hata I, Tanaka Y, Sudo M, Sakura N, et al. Newborn mass screening and selective screening using electrospray tandem mass spectrometry in Japan. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2002;776(1):39-48.
- Shortland GJ. Evidence-based neonatal screening for inborn errors of metabolism. *Curr Paediatr* 2004;14(5):394-9.
- Skene L et Nisselle P. Could parental refusal of newborn screening be overridden by a court? *Med Today* 2003;4(1):60-2.

- Spaapen LJ et Rubio-Gozalbo ME. Tetrahydrobiopterin-responsive phenylalanine hydroxylase deficiency, state of the art. *Mol Genet Metab* 2003;78(2):93-9.
- Spahis JK et Bowers NR. Navigating the Maze of Newborn Screening. *MCN Am J Matern Child Nurs* 2006;31(3):190-6.
- Therrell BL, Johnson A, Williams D. Status of newborn screening programs in the United States. *Pediatrics* 2006;117(5 Pt 2):S212-52.
- Therrell BL. Challenges and opportunities in establishing and maintaining newborn screening systems. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2003;34(Suppl 3):6-12.
- Thompson JR, Manchur D, Gregory C, Dilling L, Lacson A, Seargeant L, Greenberg CR. DNA analysis for detection of medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency in a Manitoba newborn population. *Screening* 1995;4(1):9-15.
- Tran K, Banerjee S, Li H, Noorani HZ, Mensinkai S, Dooley K. Newborn screening for medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency using tandem mass spectrometry: clinical and cost-effectiveness. Technology report n° 62. Ottawa, ON : OCCETS; 2006. Disponible à : http://www.cadth.ca/media/pdf/297_tandemmass_tr_e_no-appendices.pdf.
- Trinh MU, Blake J, Harrison JR, Gerace R, Ranieri E, Fletcher JM, Johnson DW. Quantification of glutamine in dried blood spots and plasma by tandem mass spectrometry for the biochemical diagnosis and monitoring of ornithine transcarbamylase deficiency. *Clin Chem* 2003;49(4):681-4.
- van Spronsen FJ, Smit PG, Koch R. Phenylketonuria: tyrosine beyond the phenylalanine-restricted diet. *J Inherit Metab Dis* 2001a;24(1):1-4.
- van Spronsen FJ, van Rijn M, Bekhof J, Koch R, Smit PG. Phenylketonuria: tyrosine supplementation in phenylalanine-restricted diets. *Am J Clin Nutr* 2001b;73(2): 153-7.
- van Spronsen FJ, Thomasse Y, Smit GP, Leonard JV, Clayton PT, Fidler V, et al. Hereditary tyrosinemia type I: a new clinical classification with difference in prognosis on dietary treatment. *Hepatology* 1994;20(5): 1187-91.
- Venditti LN, Venditti CP, Berry GT, Kaplan PB, Kaye EM, Glick H, Stanley CA. Newborn screening by tandem mass spectrometry for medium-chain Acyl-CoA dehydrogenase deficiency: a cost-effectiveness analysis. *Pediatrics* 2003;112(5):1005-15.
- Vianey-Liaud C, Divry P, Gregersen N, Mathieu M. The inborn errors of mitochondrial fatty acid oxidation. *Journal of inherited metabolic disease* 1987;10 Suppl 1:159-200.
- Waisbren SE, Levy HL, Holtzman NA. Expanded screening of newborns for genetic disorders. *JAMA* 2004;291(7):820-1.
- Waisbren SE, Albers S, Amato S, Ampola M, Brewster TG, Demmer L, et al. Effect of expanded newborn screening for biochemical genetic disorders on child outcomes and parental stress. *JAMA* 2003;290(19):2564-72.
- Walter JH. L-carnitine in inborn errors of metabolism: what is the evidence? *J Inherit Metab Dis* 2003;26(2-3): 181-8.
- Walter JH, White FJ, Hall SK, MacDonald A, Rylance G, Boneh A, et al. How practical are recommendations for dietary control in phenylketonuria? *Lancet* 2002;360(9326):55-7.
- Watson MS, Lloyd-Puryear MA, Mann MY, Rinaldo P, Howell RR. Main report. *Genet Med* 2006;8(5 Suppl):12S-25S.
- Whiting P, Weswood ME, Rutjes AW, Reitsma JB, Bossuyt PN, Kleijnen J. Evaluation of QUADAS, a tool for the quality assessment of diagnostic accuracy studies. *BMC Med Res Methodol* 2006;6:9. Disponible à : <http://www.biomedcentral.com/content/pdf/1471-2288-6-9.pdf>.
- Whiting P, Rutjes AW, Reitsma JB, Bossuyt PM, Kleijnen J. The development of QUADAS: a tool for the quality assessment of studies of diagnostic accuracy included in systematic reviews. *BMC Med Res Methodol* 2003;3:25. Disponible à : <http://www.biomedcentral.com/content/pdf/1471-2288-3-25.pdf>.
- Wilcken B. Mini-Symposium: Newborn screening for inborn errors of metabolism—Clinical effectiveness. *J Inherit Metab Dis* 2006;29(2-3):366-9.
- Wilcken B. Screening of newborns for metabolic disorders with mass spectrometry. *JAMA* 2004;291(12):1444; author reply -5.
- Wilcken B. Ethical issues in newborn screening and the impact of new technologies. *Eur J Pediatr* 2003;162(Suppl 1): S62-6.
- Wicken B, Haas M, Joy P, Wiley V, Chaplin M, Black C, et al. Outcome of neonatal screening for medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency in Australia: a cohort study. *Lancet* 2007;369(9555):37-42.
- Wilcken B, Wiley V, Hammond J, Carpenter K. Screening newborns for inborn errors of metabolism by tandem mass spectrometry. *N Engl J Med* 2003;348(23):2304-12.
- Wilcken B, Carpenter K, Wiley V. Neonatal screening for medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency. *Lancet* 2002;359(9306):627-8.
- Wilcken B, Hammond J, Silink M. Morbidity and mortality in medium chain acyl coenzyme A dehydrogenase deficiency. *Arch Dis Child* 1994;70(5):410-2.

- Wiley V, Carpenter K, Bennetts B, Wilcken B. Information overload – new technologies, can we store the data? *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2003;34(Suppl 3):59-62.
- Williamson R. The balance between privacy, safety and community health. *J Paediatr Child Health* 2003;39(7):507-8.
- Wilson CJ, Champion MP, Collins JE, Clayton PT, Leonard JV. Outcome of medium chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency after diagnosis. *Arch Dis Child* 1999;80(5):459-62.
- Wilson JM et Jungner G. Principles and practice of screening for disease. *Public Health Papers*, n° 34. Genève, Suisse : World Health Organization; 1968.
- Yoon HR, Lee KR, Kang S, Lee DH, Yoo HW, Min WK, et al. Screening of newborns and high-risk group of children for inborn metabolic disorders using tandem mass spectrometry in South Korea: a three-year report. *Clin Chim Acta* 2005;354(1-2):167-80.
- Yudkoff M. Diseases of amino acid metabolism. Dans : Siegel GJ, éd. *Basic neurochemistry: molecular, cellular, and medical aspects*. 6e éd. Philadelphie, PA : Lippincott Williams and Wilkins; 1999: 887-915.
- Ziadeh R, Hoffman EP, Finegold DN, Hoop RC, Brackett JC, Strauss AW, Naylor EW. Medium chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency in Pennsylvania: neonatal screening shows high incidence and unexpected mutation frequencies. *Pediatr Res* 1995;37(5):675-8.
- Zschocke J, Schulze A, Lindner M, Fiesel S, Olgemoller K, Hoffmann GF, et al. Molecular and functional characterisation of mild MCAD deficiency. *Hum Genet* 2001;108(5):404-8.
- Zytkovicz TH, Fitzgerald EF, Marsden D, Larson CA, Shih VE, Johnson DM, et al. Tandem mass spectrometric analysis for amino, organic, and fatty acid disorders in newborn dried blood spots: a two-year summary from the New England Newborn Screening Program. *Clin Chem* 2001;47(11):1945-55.

**Agence d'évaluation
des technologies
et des modes
d'intervention en santé**

Québec

