

ACADÉMIE D'ORLÉANS-TOURS

UNIVERSITÉ DE TOURS

FACULTÉ DE PHARMACIE « Philippe-Maupas »

Année 2024-2025

N° 76

THESE D'EXERCICE

Pour le

DIPLÔME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Par

MUREAU Nicolas

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE VENDREDI 18 OCTOBRE 2024

**Mise en place du dépistage néonatal du déficit en
déshydrogénase des acides gras à chaîne longue (VLCAD) :**
Étude de la distribution des biomarqueurs.

JURY

Président : **Professeur Karine MAHEO** – Professeur des Universités – UMR
INSERM U1069 – Nutrition, Croissance et Cancer (N2C) – UFR de Sciences
Pharmaceutiques – UFR de Médecine – Tours

Membres :

Professeur Hélène BLASCO, Professeur des Universités Praticien Hospitalier –
UMR Inserm U1253 - Génomique et Physiopathologie des troubles du
Neurodéveloppement et du Motoneurone – UFR de Médecine – Service de Biochimie
et Biologie Moléculaire – CHRU de Tours

Professeur François LABARTHE, Professeur des Universités Praticien Hospitalier,
UMR INSERM U1069 – Nutrition, Croissance et Cancer (N2C) – UFR de Médecine –
Médecine Pédiatrique – CHRU de Tours

Directeur de thèse : **Docteur Diane DUFOUR**, Maître de Conférence des Universités
Praticien Hospitalier – UMR Inserm U1253 – Génomique et Physiopathologie des
troubles du Neurodéveloppement et du Motoneurone – UFR de Médecine – Chef de
service de Médecine Nucléaire In Vitro – CHRU de Tours

ANNEE : 2024 - 2025

Directeur : Pr Denys BRAND

Directeur Adjoint : M. Matthieu JUSTE

Assesseurs : M. Gildas PRIE, Mme Mélanie BOUVIN PLEY, Mme Emilie ALLARD-VANNIER, M. Bruno GIRAudeau, Mme Claire POUPLARD, Mme Audrey OUDIN, Mme GERMON Stéphanie

ENSEIGNANTS

16 PROFESSEURS D'UNIVERSITÉ

ALLARD-VANNIER	Emilie	PHARMACIE GALENIQUE
ALLOUCHI	Hassan	CHIMIE PHYSIQUE
BOUDESOCQUE-DELAYE	Leslie	PHARMACOGNOSIE
BRAND	Denys	MICROBIOLOGIE
BRAIBANT	Martine	MICROBIOLOGIE
CHEVALIER	Stéphane	BIOCHIMIE GENERALE & BIOTHERAPIE
CHOURPA	Igor	CHIMIE ANALYTIQUE
CLASTRE	Marc	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
DIMIER-POISSON	Isabelle	PARASITOLOGIE & MYCOLOGIE MEDICALES, IMMUNITE ANTI-
ENGUEHARD-GUEIFFIER	Cécile	CHIMIE THERAPEUTIQUE
MAHEO	Karine	PHYSIOLOGIE
MAUPOIL-DAVID	Veronique	PHARMACOLOGIE
MUNNIER	Émilie	PHARMACIE GALENIQUE
TAUBER	Clovis	BIOPHYSIQUE & BIOINFORMATIQUE
VELGE-ROUSSEL	Florence	IMMUNOLOGIE PARASITAIRE
VIAUD-MASSUARD	Marie-Claude	CHIMIE ORGANIQUE

6 PROFESSEURS D'UNIVERSITÉ ET PRATICIENS HOSPITALIERS

ANTIER	Daniel	PHARMACIE CLINIQUE
ARLICOT	Nicolas	BIOPHYSIQUE & BIOINFORMATIQUE
EMOND	Patrick	BIOPHYSIQUE & BIOINFORMATIQUE
GIRAudeau	Bruno	SANTÉ PUBLIQUE, BIostatistique & ÉPIDÉMIologie
LANOTTE	Philippe	MICROBIOLOGIE
POUPLARD	Claire	HEMATOLOGIE

2 PROFESSEURS ÉMERITES

BARIN	Francis	MICROBIOLOGIE
THIBault	Gilles	IMMUNOLOGIE

33 MAITRES DE CONFÉRENCES

AUBREY	Nicolas	BIOCHIMIE GENERALE & BIOTHERAPIE
BESSON	Pierre	PHYSIOLOGIE
BIRER-WILLIAMS	Caroline	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
BONNIER (disponibilité)	Franck	CHIMIE ANALYTIQUE
BORDY	Romain	PHARMACOLOGIE & TOXICOLOGIE
BOUVIN-PLEY	Mélanie	MICROBIOLOGIE
BREDELOUX	Pierre	PHARMACOLOGIE
DAVID	Stéphanie	PHARMACIE GALENIQUE
DEBIERRE-GROCKIEGO	Françoise	PARASITOLOGIE & MYCOLOGIE MEDICALES, IMMUNITE ANTI-
DELAYE	Pierre-Olivier	CHIMIE THERAPEUTIQUE
DENEVAULT	Caroline	CHIMIE THERAPEUTIQUE
DOUZIECH-EYROLLES	Laurence	AFFAIRE REGLEMENTAIRE ET MANAGEMENT DE LA QUALITE

DUMAS	Jean-François	BIOCHIMIE GENERALE ET BIOTHERAPIE
GERMON	Stéphanie	PARASITOLOGIE & MYCOLOGIE MEDICALES, IMMUNITE ANTI-
GLEVAREC	Gaëlle	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
HERVE-AUBERT	Katel	CHIMIE ANALYTIQUE
JUSTE	Matthieu	PARASITOLOGIE & MYCOLOGIE MEDICALES, IMMUNITE ANTI-
LAJOIE	Laurie	IMMUNOLOGIE
LANOUE	Arnaud	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
MARC	Jillian	BIOMOLECULES ET BIOTECHNOLOGIES VEGETALES
MAVEL	Sylvie	CHIMIE THERAPEUTIQUE
LOUDIN	Audrey	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
POUPET	Cyril	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
PASQUALIN	Côme	PHARMACOLOGIE
PRIE	Gildas	CHIMIE ORGANIQUE
SAHLI	Ramla	PHARMACOGNOSIE
SIEROCKI	Pierre	CHIMIE ORGANIQUE
SOUCE	Martin	CHIMIE ANALYTIQUE
VERCOUILLIE	Johnny	BIOPHYSIQUE & BIOINFORMATIQUE
VERGER	Alexis	PHARMACIE GALENIQUE
VERGOTE	Jackie	AFFAIRE REGLEMENTAIRE ET MANAGEMENT DE LA QUALITE
VIERRON	Emilie	SANTÉ PUBLIQUE, BIostatistique & ÉPIDÉMIologie
ZHANG	Bei-Li	PHARMACOLOGIE

1 MAST

CAMUS GABRIEL	Mathilde	<i>Filière Officine</i>
---------------	----------	-------------------------

5 MAITRES DE CONFÉRENCES ET PRATICIENS HOSPITALIERS

FOUCAULT-FRUCHARD	Laura	PHARMACIE CLINIQUE
FOUCAULT	Amélie	HEMATOLOGIE
MARLET	Julien	MICROBIOLOGIE
POUPIN	Pierre	SANTÉ PUBLIQUE, BIostatistique & ÉPIDÉMIologie
VEYRAT DUREBEX	Charlotte	BIOCHIMIE CLINIQUE

3 AHU (Assistant Hospitalier Universitaire)

BOULARD	Pierre	IMMUNOLOGIE
DOUEZ	Emmanuel	PHARMACIE GALENIQUE
TULOUP	Vianney	PHARMACIE CLINIQUE

1 PRAG

WALTERS-GALOPIN	Susan	ANGLAIS
-----------------	-------	---------

1 CONTRAT D'ENSEIGNEMENT

GERBIER	Soledad	ANGLAIS
---------	---------	---------

3 CHARGÉS DE RECHERCHE

EPARDAUD	Mathieu	INRAE
MEVELEC	Marie-Noëlle	INRAE
MOIRE	Nathalie	INRAE



SERMENT DE GALIEN

En présence des Maitres de la Faculté, je fais le serment :

D'honorer ceux qui m'ont instruit(e) dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle aux principes qui m'ont été enseignés et d'actualiser mes connaissances ;

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de Déontologie, de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers la personne humaine et sa dignité ;

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels ;

De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession ;

De faire preuve de loyauté et de solidarité envers mes collègues pharmaciens ;

De coopérer avec les autres professionnels de santé ;

Que les Hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert(e) d'opprobre et méprisé(e) de mes confrères si j'y manque.

Date : 18/10/2024

L'étudiant

MUREAU Nicolas

Le Doyen de la Faculté
Professeur Denys BRAND

Table des matières

Remerciements.....	7
Abréviations	9
Liste des figures.....	11
Liste des tableaux	12
A) Le dépistage néonatal en France	13
1) L'histoire du dépistage néonatal	13
a) Le début du dépistage néonatal en France	13
b) Un programme de santé publique	15
c) Les critères de Wilson et Jungner et les critères HAS	15
2) Le test de Guthrie	16
a) Le principe du test de Guthrie	16
b) Les avantages du papier buvard	17
c) La prise en charge du papier buvard	18
3) Les maladies héréditaires du métabolisme du dépistage néonatal.....	19
a) La phénylcétonurie	19
b) Le déficit en MCAD	20
c) L'extension de 7 maladies héréditaires du métabolisme.....	20
4) Le dépistage néonatal en Europe	22
a) La France face aux autres pays européens.....	22
b) La réévaluation de 2023.....	24
c) La généralisation du dépistage de la drépanocytose	24
d) Evaluation des déficits immunitaires communs sévères	25
B) Le déficit en Very Long Chain Acyl-CoA Dehydrogenase (VLCAD)	26
1) La beta-oxydation des acides gras.....	26
a) Le rôle énergétique des acides gras.....	26
b) Le transport intra mitochondrial des acides gras activés.....	28
c) L'hélice de Lynen	29
d) L' ω -oxydation microsomale	31
2) Le déficit en VLCAD	33
a) Epidémiologie du déficit en VLCAD.....	33
b) L'enzyme déficitaire : la Very Long Chain Acyl-CoA Dehydrogenase	34
c) Physiopathologie du déficit en VLCAD	35

3) Manifestations cliniques du déficit en VLCAD	37
a) La forme aiguë néonatale.....	37
b) La forme infantile tardive	38
c) La forme adulte chronique.....	38
4) Le diagnostic biologique du déficit en VLCAD.....	39
a) Le diagnostic biochimique	39
b) La mesure de l'activité enzymatique.....	44
c) L'anatomopathologie	44
d) La biologie moléculaire.....	45
5) Prise en charge du déficit en VLCAD	46
a) Prise en charge diététique.....	46
b) Supplémentation et médicament	47
C) Dépistage néonatal du déficit en VLCAD : étude de la distribution des biomarqueurs	49
1) Les marqueurs du déficit en VLCAD	49
a) Les marqueurs utilisés pour le dépistage néonatal	49
b) L'évaluation des ratios.....	50
c) Les sources de faux positifs et de faux négatifs	52
2) Etude de la distribution du C14 :1 et des ratios au CRDN de la région Centre Val de Loire	53
a) Matériel et méthode.....	53
b) Résultats	54
c) Discussion.....	57
d) Proposition d'un algorithme décisionnel	58
e) Conclusion	61
Annexe 1 : Certificat d'urgence des déficits de la β -oxydation des acides gras à chaîne longue.....	62
Bibliographie.....	64

Remerciements

A Madame le Docteur Diane DUFOUR, pour avoir accepté de diriger cette thèse. Merci pour le temps accordé à ce projet et tes conseils pour mener à bien ce travail. Un remerciement particulier à l'accueil dans le service de Médecine Nucléaire In Vitro, pour tous ces semestres, pour le temps que tu as pu trouver pour t'impliquer dans ma formation.

A Madame le Professeur Karine MAHEO, pour me faire l'honneur de présider ce jury et d'évaluer cette thèse. Les conseils que vous pourrez m'apporter seront pris en considération.

A Monsieur le Professeur François LABARTHE, pour me faire l'honneur d'être dans ce jury et d'évaluer ce travail. Un grand merci pour l'accueil chaleureux lors des staffs métabo, dont l'ambiance et la bonne humeur n'ont fait que confirmer mon choix de faire partie du monde des maladies métaboliques.

A Madame le Professeur Hélène BLASCO, merci pour l'accueil sur le secteur métabo, la formation, la confiance accordée et m'avoir autant impliqué en métabo. Pour le temps que tu arrives à trouver pour répondre à mes (nombreuses) questions. Pour avoir confirmé mon choix de me spécialiser dans ce domaine incroyablement stimulant.

A JBD, EE, PE, et toute l'équipe de Médecine Nucléaire In Vitro et du CRDN, pour l'accueil et tout ce que j'ai pu apprendre à vos côtés. Merci pour la bonne ambiance, et pour ces (très) nombreux petits-déjeuners.

A toute l'équipe de Biochimie, merci pour l'accueil et la formation au cours de ces deux semestres, pour m'avoir donné envie de me spécialiser dans ce domaine si vaste.

A toute l'équipe du secteur métabo, pour l'intégration dans l'équipe, pour m'avoir appris tout le côté pratique. A Hélène, Isabelle et Diane pour m'avoir laissé être en première ligne, que ce soit pour la routine ou les urgences, il n'y a rien de plus formateur. Et évidemment aux techniciens, Thomas, Simon, Marie, Gaëlle et Enola, pour la super bonne ambiance de ce secteur, et votre réactivité face à toutes les urgences.

A ma famille, pour tout ce que vous avez fait pour moi, pour le soutien toutes ces années, cette fois j'arrive vraiment à la fin de mes études. Et à papi, qui nous regarde de là-haut.

A mes co-internes, pour tous ces bons moments passés avec vous au cours de ces 3 années d'internat.

A Laura, pour tous ces cafés, bien que maintenant que tu sois Docteur, les responsabilités t'appellent et ton temps pour les pauses café soit devenu si rares.

A Inès (mon pire ennemi) et Manjot, pour ces six mois avec vous, pour toute ces pauses, tous les plats que vous m'avez fait découvrir. PS : sortez un peu de chez vous, vous allez voir, Tours c'est bien mieux que votre capitale.

A la team midi pile, pour avoir pu manger (presque) tous les midis à midi pile, pour la maturité gagnée au cours de ces repas et pour avoir rendu ce semestre de thèse plus sympa.

A gentil n'a qu'un œil, mes copains débiles (sauf Julie et Caro), pour ces fous rires et ces années.

A tout le Crew, Adri, Marco, Arnaud, Valou, Loulou, Paulo, Coco, Zette et Clemou, malgré le temps et la distance rien ne change lorsqu'on se retrouve, c'est toujours un pur plaisir de vous revoir.

A Arthur, mon super pote, pour ces randos géniales et complètement foireuse, ces balades nocturnes insensées, pour la coloc orléanaise, pour toutes ces soirées, pour ces fous rires, pour tout cet internat.

A Margaux, un tout petit remerciement car tu n'en veux pas un gros ♥

Abréviations

CACT : Carnitine Acylcarnitine translocase

ADA : Adénosine désaminase

AFDPHE : Association française pour le dépistage et la prévention des handicaps de l'enfant

AG : Acide gras

AGCL : Acide gras à chaîne longue

AMM : Acidurie méthylmalonique

ANAES : Agence nationale d'évaluation et d'accréditation de la santé

AP : Acidurie propionique

ARDPHE : Association régionale pour le dépistage et la prévention des handicaps de l'enfant

ATP : Adénosine triphosphate

CAOU : Chromatographie des acides organiques urinaire

CBS : Cystathionine β -synthase

CIT-1 : Citrullinémie de type 1

CMV : Cytomégalovirus

CNAMTS : Caisse nationale de l'assurance maladie des travailleurs salariés

CNCDN : Centre national de coordination du dépistage néonatal

CPT-1 : Carnitine palmitoyl transférase 1

CPT-2 : Carnitine palmitoyl transférase 2

CRDN : Centre régional du dépistage néonatal

CSH : Cellule souche hématopoïétique

CUD : Déficit en captation de la carnitine

DGS : Direction générale de la santé

DICS : Déficit immunitaire commun sévère

ETF : Electrons transferring flavoprotein

FABP : Fatty acid binding protein

FAD : Flavine adénine dinucléotide

GA-1 : Acidurie glutarique de type 1

GC-MS : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

HCS : Homocystinurie

HIV : Virus de l'immunodéficience humaine

HTLV : Virus T-lymphotropique humain

IVA : Acidurie isovalérique

JAK3 : Janus adénosine kinase 3

LCAD : Long chain acyl-CoA dehydrogenase

LCEH : Long chain enoyl-CoA hydratase

LCHAD : Long chain hydroxyacyl-CoA dehydrogenase
LCKAT : Long chain 3-ketoacyl-CoA thiolase
MCAD : Medium chain acyl-CoA dehydrogenase
MCKAT : Medium chain 3-ketoacyl-CoA thiolase
MHM : Maladie héréditaire du métabolisme
MTP : Protéine trifonctionnelle mitochondriale
NAD : Niacine adénine dinucléotide
NAGS : N-acétylglutamate synthase
OCTN2 : Organic cation / carnitine transporter 2
OMS : Organisation mondiale de la santé
OTC : Ornithine carbamyl-transférase
PCR : Polymerase chain reaction
PCU : Phénylcétonurie
PPAR : Peroxisome proliferator-activated receptor
SCAD : Short chain acyl-CoA dehydrogenase
SCHAD : Short chain hydroxyacyl-CoA dehydrogenase
SFBC : Société française de biologie clinique
SFEIM : Société française des erreurs innées du métabolisme
SM/SM : Spectrométrie de masse en tandem
SMA : Amyotrophie spinale infantile
TCM : Triglycéride à chaîne moyenne
TCR : T-cell receptor
TREC : T-cell receptor excision circles
TSH : Thyroid stimulation hormone
TYR-1 : Tyrosinémie de type 1
VHC : Virus de l'hépatite C
VLCAD : Very long chain acyl-CoA dehydrogenase
VPN : Valeur prédictive négative
VPP : Valeur prédictive positive
VUS : Variant de signification indéterminée
XLE : Leucinose

Liste des figures

Figure (1) : Carte des CRDN et de leurs antennes en France en 2021

Figure (2) : Buvard recto-verso (2021)

Figure (3) : Buvard conforme et buvards non conformes

Figure (4) : Maladies proposées, à réévaluer et non proposées à la HAS pour l'intégration au dépistage néonatal

Figure (5) : Maladies incluses dans le programme de dépistage néonatal, recommandées pour inclusion et incluses dans un programme pilote des différents pays européens, en 2022.

Figure (6) : Structure d'un acide gras à n carbones

Figure (7) : Représentation du passage intracellulaire des acides gras via le CD36

Figure (8) : Représentation de la navette carnitine

Figure (9) : Les étapes de l'hélice de Lynen

Figure (10) : Les différentes étapes de l' ω -oxydation microsomale

Figure (11) : Vue globale de la β -oxydation des acides gras et rôle de la VLCAD

Figure (12) : structure 3D de la VLCAD

Figure (13) : Profil des acylcarnitines obtenu par ESI-MS/MS sur sérum d'un patient ayant un déficit en VLCAD

Figure (14) : Chromatogramme des acides organiques urinaires d'une patiente en décompensation de VLCAD

Figure (15) : Variation génétique du gène *ACADVL*

Figure (16) : Durée maximale de jeûne du patient déficitaire en VLCAD

Figure (17) : Analyse ROC des ratios entre le C14 :1 et les autres acylcarnitines

Figure (18) : C14 :1 en fonction du poids de naissance

Figure (19) : Proposition d'un algorithme décisionnel pour le dépistage du déficit en VLCAD

Liste des tableaux

Tableau (1) : Marqueurs utilisés pour le dépistage néonatal du déficit en VLCAD

Tableau (2) : Distribution du C14 :1 et des différents ratios, sur 15 137 échantillons

Tableau (3) : Distribution du C14 :1 et des différents ratios, par sexe, sur 15 137 échantillons

Tableau (4) : Distribution du C14 :1 et des différents ratios chez les prématurés, sur 923 échantillons

A)Le dépistage néonatal en France

1) L'histoire du dépistage néonatal

En 1934, Asbjørn Fölling, médecin et biochimiste norvégien, décrit chez une famille une maladie à l'origine d'un retard mental. On retrouve chez ces patients un changement de couleur des urines lorsqu'elles sont mélangées au chlorure ferrique, traduisant la présence en excès de phénylpyruvate (1). Au niveau sanguin, le marqueur caractéristique de cette maladie est la présence anormalement élevée d'un acide aminé, la phénylalanine. Il faudra attendre les travaux de Horst Bickel, en 1958 pour constater une amélioration de la maladie de Fölling – autrement appelée phénylcétonurie (PCU) – lors d'un régime appauvri en phénylalanine.

Robert Guthrie montrera en 1963 une méthode simple et efficace pour détecter la phénylcétonurie chez le nouveau-né à partir d'une goutte de sang, sur un simple papier buvard (2). Pour cela, il se base sur une bactérie : le *Bacillus subtilis*, dont la croissance est inhibée par la β 2-thiénylalanine, un analogue de la phénylalanine, entraînant la formation de protéines inactives. Cette inhibition est ainsi levée par loi d'action de masse en cas de présence importante de phénylalanine sur le buvard, permettant l'incorporation de cet acide aminé dans la trame protéique et la croissance bactérienne.

a) Le début du dépistage néonatal en France

Des études françaises sont lancées dès 1966 à Paris, Lille et Lyon, et devant les résultats prometteurs, une équipe de pédiatres proposa une action de prévention néonatale de la PCU. Dès 1972, la Caisse nationale d'Assurance maladie des travailleurs salariés apporte son soutien et ce projet sera systématisé à partir de 1975 (3). En 1978, le dépistage néonatal devient un programme national coordonné et organisé par une association loi 1901 : l'Association Française pour le Dépistage et la Prévention des Handicaps de l'Enfant (AFDPHE) et est financé par la Caisse Nationale de l'Assurance Maladie des Travailleurs Salariés (CNAMTS). Dans chaque région est retrouvée une Association Régionale pour le Dépistage et la Prévention des Handicaps de l'Enfant (ARDPHE), qui organise la campagne de dépistage.

En 1978, le dépistage néonatal s'étend avec l'ajout du dépistage de l'hypothyroïdie congénitale via le dosage de TSH, de la drépanocytose dans les populations à risque en 1988 par électrophorèse de l'hémoglobine, de l'hyperplasie congénitale des surrénales en 1995 par dosage de la 17-hydroxyprogestérone, et la mucoviscidose en 2002 avec le dosage de la Trypsine immunoréactive.

Le dépistage néonatal est désigné comme un programme de santé national selon les dispositions de l'article R.1131-21 du Code de la santé publique, tel que modifié par le décret n°2008-321 du 4 avril 2008. La liste des maladies dépistées étant établie par l'arrêté du 22 janvier 2010. En 2018 l'AFDPHE et les ARDPHE sont dissoutes, et ont été succédées par le Centre National de Coordination du Dépistage Néonatal (CNCDN) à Tours, qui permet la coordination à l'échelle nationale des Centres Régionaux de Dépistage Néonatal (CRDN), placés sous la direction des ARS qui permettent leurs financement (3) (**figure 1**).

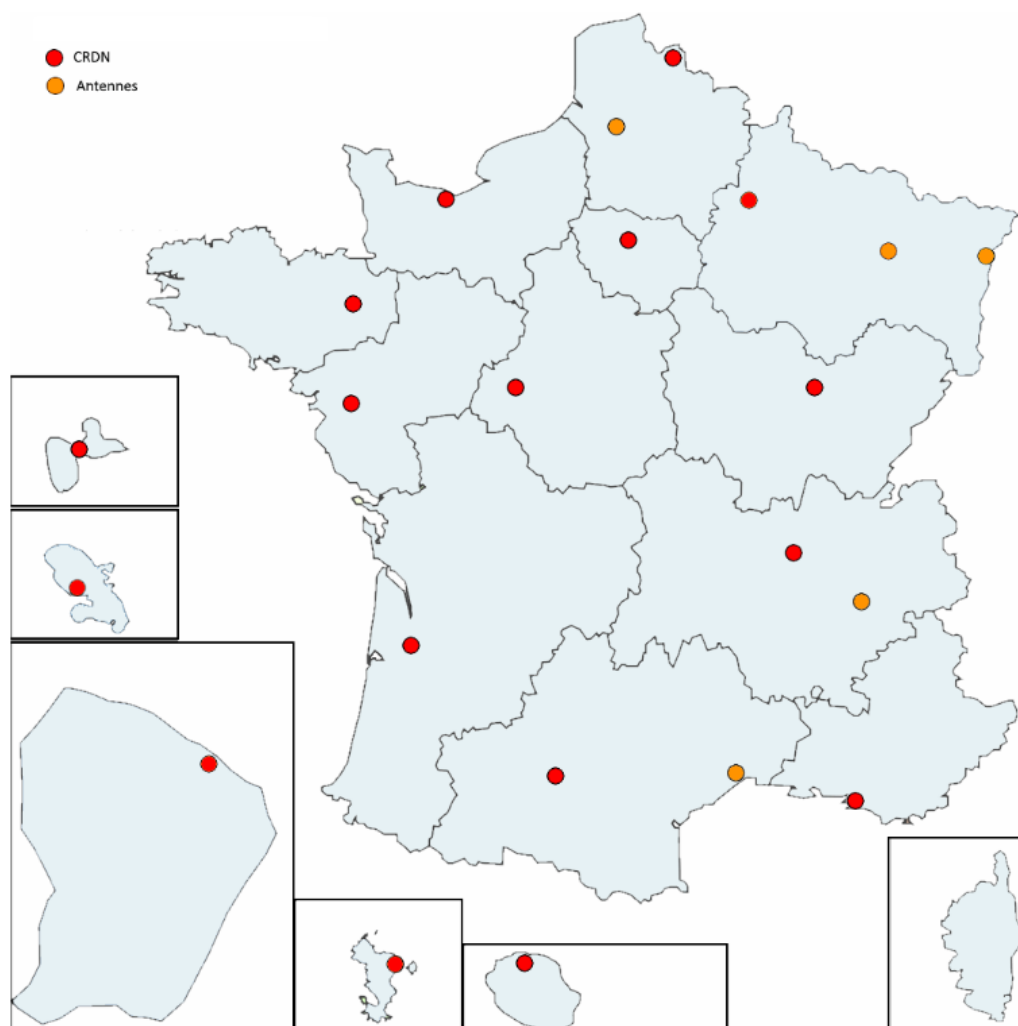


Figure (1) : Carte des CRDN et de leurs antennes en France en 2021

D'après le Rapport d'activité du CNCDN, 2021

b) Un programme de santé publique

Le dépistage néonatal n'est pas une obligation et les parents sont en droit de refuser le dépistage. Le refus est cependant très rare, et doit être déclaré via un formulaire de refus, envoyé au CRDN, souvent accompagné d'un buvard « blanc », exempt de prélèvement sanguin et sera conservé par le CRDN. Le refus n'a pas besoin d'être justifié, et vaut pour l'ensemble des maladies dépistées. Il n'est pas possible de refuser le dépistage d'une seule maladie (4), hormis le test de seconde intention pour la mucoviscidose.

Il est cependant obligatoire pour les professionnels de santé d'informer les parents sur le programme de dépistage néonatal et de recueillir un consentement oral de l'un des deux parents, permettant de réaliser la partie biochimique du dépistage néonatal. Le consentement des deux parents, écrit, est cependant nécessaire en cas de positivité de la trypsine immunoréactive, marqueur de la mucoviscidose. Un examen de 2^e intention de biologie moléculaire est alors réalisé, et conformément aux lois de bioéthique françaises, il ne peut être réalisé que si un consentement est obtenu. Il est donc tout à fait possible pour les parents d'accepter le dépistage néonatal de leur enfant, mais de refuser le test de biologie moléculaire. Le cas échéant, l'enfant sera tout de même pris en charge en cas de suspicion de mucoviscidose, via contrôle sur un second buvard, et en cas de positivité et de maintien du refus, par la réalisation de tests à la sueur.

Les CRDN vérifient que chaque naissance déclarée ait pu bénéficier du dépistage néonatal, et que les formulaires de refus aient été envoyés pour conservation. En 2022, 378 cas de refus ont été recensés sur 750 000 naissances (5).

c) Les critères de Wilson et Jungner et les critères HAS

Les fondements du choix des pathologies à inclure dans les différents programmes de dépistage néonatal ont été érigés via les 10 critères historiques de Wilson et Jungner (6), parus en 1968 sous l'égide de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS). Il existe toutefois une forte hétérogénéité des pathologies dépistées suivant les pays, chaque pays ayant ses propres critères. En France, l'Agence Nationale d'Evaluation et d'Accréditation de la Santé (ANAES) rédigea en 2004 un guide méthodologique d'évaluation *a priori* d'un programme de dépistage (7).

Ce guide adapte les critères de Wilson et Jungner à la politique de santé publique française et il s'agit de ceux utilisés aujourd'hui :

- 1- Bonne connaissance de la maladie
- 2- Temps d'apparition des symptômes supérieur à 7 jours
- 3- La maladie est une maladie grave
- 4- Il existe une prise en charge efficace
- 5- L'intervention précoce montre un bénéfice individuel
- 6- L'examen de dépistage est fiable en matière de spécificité et sensibilité

2) Le test de Guthrie

a) Le principe du test de Guthrie

Le terme employé couramment de « Test de Guthrie » est un abus de langage. Le test à proprement parler de Robert Guthrie est, comme vu précédemment, un dépistage de la phénylcétonurie par inhibition de la croissance bactérienne à partir de sang recueilli sur papier buvard. Aujourd'hui, ce terme est généralement associé à la recherche des autres maladies proposées par le programme de dépistage néonatal.

Le dépistage néonatal repose sur un prélèvement simple et peu invasif à effectuer chez le nouveau-né. Il s'agit d'un prélèvement réalisé à partir de la 48^e heure de vie, idéalement à la 72^e heure et s'effectue après une légère incision sur le talon ou les mains du nouveau-né, permettant de récupérer du sang capillaire. Le sang est ensuite déposé sur un papier buvard et l'imbibera par capillarité.

Après prélèvement, le papier buvard est séché à température ambiante et les buvards de chaque maternité sont acheminés au laboratoire du centre régional de dépistage néonatal pour y être enregistrés et techniqués. L'identification du patient, des parents, et le consentement afin de réaliser des analyses génétiques en cas de résultats en faveur d'une mucoviscidose ont lieu directement sur le buvard (**figure 2**). On y retrouve également un code maternité permettant de retrouver le lieu de naissance, et un encart permettant de noter les résultats du dépistage de la surdité permanente bilatérale.

Les papiers buvards possèdent un marquage « in vitro diagnostic », de ce fait ils sont strictement contrôlés et possèdent tous les mêmes caractéristiques rhéologiques.

2027-06-30
Ahlstrom
PerkinElmer 226

Ne pas toucher la surface de dépôt de l'échantillon. Assurez-vous que le sang a bien traversé.

LOT 114691 / 30470006
2300000001

LOT 114691 / 30470006
Ahlstrom
2300000001

2027-06-30 PerkinElmer 226
2300000001

ENFANT

NOM : _____
(Nom déclaré à l'état civil)

Prénom : _____

Sexe : M ☐ F ☐

Né(e) le : _____

Né(e) à : _____ h _____ min Terme : _____ SA + _____ jours Poids : _____ g

Nom de naiss. de la mère : _____

Maternité naissance : _____

Code Maternité : _____

PRÉLÈVEMENT INITIAL ☐ 2° PRÉLÈVEMENT ☐

Prélevé le : _____ à : _____ h _____ min

Nom Préleveur : _____

Lieu prélèvement : Maternité de ☐ Domicile ☐ Autre ☐

si autre Lieu / Code : _____

DRÉPANOCYTOSE N-NÉ À RISQUE Oui ☐ Non ☐

Transfusion globules rouges ☐ Si oui, Date : _____

Accouchement à domicile ☐

Grossesse multiple ☐

Si Grossesse multiple Rang de naissance : _____

N° NAISSANCE _____

VÉRIFICATION AUDITION

☐ N-né à risque de surdité. Si OUI, précisez :

1 ^{er} test		Re-test	
Date : _____	Date : _____	Date : _____	Date : _____
Lieu : _____	Lieu : _____	Lieu : _____	Lieu : _____
OEA ☐	PEA ☐	OEA ☐	PEA ☐
Normal	À surveiller	Normal	À surveiller
OD ☐	OG ☐	OD ☐	OG ☐

Rendez-vous le : _____

Lieu : _____

Avec : _____

Tél : _____

☐ Le dépistage auditif n'a pas pu être réalisé car :

CONTACT DES PARENTS

Adresse des parents : _____

CP : _____ Ville : _____

Tél (1) : _____ Tél (2) : _____

Email : _____

Professionnel de santé à contacter en cas de besoin :

Nom : _____ Fonction : _____

Code Postal : _____ Ville : _____

CONSENTEMENT PARENTAL MUCOVISCIDOSE

Après avoir été informés, nous soussignés, (noms, prénoms) :

Parent 1 : _____

Parent 2 : _____

de l'enfant : _____ Né(e) le : _____

Autorisons ☐ N'autorisons pas ☐ les médecins responsables du dépistage à réaliser, si nécessaire, un test génétique pour le dépistage de la mucoviscidose.

Fait le : _____ Signature(s) obligatoires(s)

PerkinElmer Health Sciences, Inc.
17 Pond Hollow, Greenville, SC 29615 USA

Energy Europe B.V. Phosphorgraph 20
2514 AP The Hague, The Netherlands

CE, IVD, RoHS, REACH, ISO 9001, ISO 13485

Cadre réservé CRDN

23000000001

CNCDN
CHRU de Tours
2 Bd Tonnelié
37044 TOURS cedex 9
Téléphone : 02 47 47 80 97

Figure (2) : Buvard recto-verso (2021)

b) Les avantages du papier buvard

Le papier buvard présente de nombreux avantages : le prélèvement est simple, une goutte de sang correspond à environ 50 μ L de sang total (8). Actuellement, les papiers buvards contiennent 5 à 6 emplacements, ce qui correspond à un volume de sang total à prélever d'environ 250 à 300 μ L, peu invasif et peut être réalisé à domicile. Le séchage à l'air libre permet une inactivation virale, notamment du HIV, CMV, HTLV et VHC, réduisant

drastiquement le risque infectieux. La conservation est aisée, peut se faire à température ambiante ou bien plusieurs années à -20 °C et les paramètres utilisés pour le dépistage néonatal sont relativement stables (8).

c) La prise en charge du papier buvard

L'acheminement est réalisé via la Poste par enveloppe postale, en étant exonéré de la norme de transport de matière biologique catégorie B / UN3373. L'acheminement des prélèvements est réalisé en 24 à 48h au laboratoire agréé pour les analyses. Au-delà de 4 jours d'acheminement, on considère qu'il y a un risque de retard de prise en charge de l'enfant en cas de résultat positif.

Au laboratoire, les papiers buvards sont « punchés » à l'emporte-pièce à l'aide d'un système de poinçonnage (puncheur) après vérification de la qualité du prélèvement. Cela implique de la part des services de soin de remplir convenablement le papier buvard, l'échantillon doit être conforme, assez rempli et visible des deux côtés du buvard sans pour autant le saturer, bien séché et non souillé (**figure 3**).

Buvard conforme	Buvard non conforme
	 Quantité insuffisante
	 Prélèvement non sec
	 Prélèvement saturé

Figure (3) : Buvard conforme et buvard non conformes

D'après le manuel de prélèvement des examens de dépistage néonatal de l'APHP

3) Les maladies héréditaires du métabolisme du dépistage néonatal

Les maladies héréditaires du métabolisme (MHM) représentent un vaste groupe de maladies héréditaires, dues à une mutation génétique, souvent de transmission autosomique récessive. Bien qu'individuellement rares, leur prévalence collective est élevée et estimée à 1 naissance sur 800 (9). Dans les années 1990, l'essor technologique de la spectrométrie de masse en tandem (SM/SM) a permis de faciliter le diagnostic des maladies héréditaires du métabolisme, notamment de certaines aminoacidopathies et aciduries organiques, et les troubles de la β -oxydation mitochondriale des acides gras via la réalisation d'un profil des acylcarnitines. Cette technique permet à partir d'un simple échantillon sur papier buvard, ou de plasma, de réaliser la recherche de tout un panel de maladies métaboliques.

Certaines maladies héréditaires du métabolisme sont mortelles ou très handicapantes. Cependant, un traitement comme un régime d'éviction de certains acides aminés permet pour certaines une amélioration de la qualité de vie et des complications, voire une vie normale.

a) La phénylcétonurie

Première maladie du dépistage néonatal, la phénylcétonurie (PCU) est une maladie héréditaire du métabolisme se traduisant par un sévère retard intellectuel et du neurodéveloppement. Le gène en cause est le gène *PAH*, localisé en 12q22, codant pour la phénylalanine hydroxylase. En cas de mutation de ce gène entraînant une faible activité de l'enzyme, la phénylalanine n'est plus métabolisée en tyrosine et son accumulation, toxique, est responsable de la maladie (10). Il existe cependant des formes plus modérées, en cas de mutation permettant tout de même une activité résiduelle, en cas de défaut concernant le cofacteur de l'enzyme, ou encore de sa protéine chaperonne. Ces formes sont responsables d'une accumulation moindre de phénylalanine et sont considérées comme des hyperphénylalaninémie, moins symptomatiques, avec une concentration de phénylalanine supérieure à 120 μ M mais inférieure à 360 μ M, seuil à partir duquel il s'agit d'une phénylcétonurie (11).

Le dépistage de la phénylcétonurie était réalisé par technique fluorimétrique, jusqu'à fin 2020, puis est passé à la spectrométrie de masse en tandem (SM-SM) fin 2020 avec l'ajout du dépistage du déficit en MCAD. Depuis 1972, c'est environ 2 300 patients dépistés pour la phénylcétonurie, et 1 600 pour l'hyperphénylalaninémie. Cela représente une incidence pour la PCU de 1 nouveau-né sur 16 300 (5).

b) Le déficit en MCAD

En 2011, après avoir été saisie par la Direction Générale de la Santé (DGS), l'AFDPHE, la Société Française de Biologie Clinique (SFBC) et la Société Française des Erreurs Innées du Métabolisme (SFEIM), la HAS a rendu son avis favorable (12) quant à l'introduction du dépistage néonatal du déficit en acyl-CoA déshydrogénase à chaîne moyenne (MCAD) par SM/SM par dosage de l'octanoylcarnitine, ainsi que du dépistage de la PCU par cette même méthode.

Le déficit en MCAD est l'anomalie de la β -oxydation mitochondriale des acides gras la plus fréquente en Europe, avec une incidence en France aux alentours des 1 : 26 000 naissances (5). Il entraîne chez les patients atteints des décompensations métaboliques graves, notamment lors des périodes cataboliques, comme le jeûne ou les infections. Le pronostic vital est souvent engagé lors de ces décompensations, alors qu'une simple éviction des périodes de jeûne et une supplémentation en L-carnitine permet une excellente évolution.

A l'issue de cet avis favorable, il a cependant été nécessaire de réorganiser les structures de dépistage néonatal, avec la dissolution de l'AFDPHE et de l'ARDPHE afin de laisser place au CNCND et aux CRDN en 2018 et l'achat des spectromètres de masse pour chaque centre. Le dépistage systématique du déficit en MCAD sera réalisé en France à partir du 1^{er} décembre 2020, après un retard dû à la pandémie du COVID-19 et marque le début de l'utilisation de la spectrométrie de masse en tandem pour le dépistage des maladies héréditaires du métabolisme chez le nouveau-né.

c) L'extension de 7 maladies héréditaires du métabolisme

Le plan national Maladies Rares 2018-2022 préconise d'augmenter les tests de dépistages précoces pour diminuer l'errance diagnostique, parfois longue pour certaines maladies métaboliques rares, et pour diminuer la morbidité associée à ces pathologies et aux complications, parfois facilement évitables.

Un groupe d'expert réquisitionné par la HAS a évalué 24 maladies héréditaires du métabolisme, avant d'en soumettre 7 à la HAS qui rendra son avis favorable en janvier 2020 pour l'ajout de nouvelles maladies métaboliques au programme de dépistage néonatal (13).

Les 7 maladies rajoutées sont :

- L'homocystinurie classique (HCY) par déficit en cystathionine β -synthase, via le dosage de la méthionine et de l'homocystéine
- La leucinose (XLE), via le dosage de la leucine totale, comprenant les différentes isoformes de la leucine (Leucine, Isoleucine, Alloisoleucine et Hydroxyproline)
- La tyrosinémie de type 1 (TYR1), via la succinylacétone
- L'acidurie isovalérique (IVA), via l'isovalérylcarnitine (C5)
- L'acidurie glutarique de type 1 (GA-1), via la glutarylcarnitine (C5DC)
- Le déficit en déshydrogénase des hydroxyacyl-CoA de chaîne longue (LCHAD), via l'hydroxypalmitoylcarnitine (C16OH)
- Le déficit primaire en captation de la carnitine (CUD), via la carnitine libre (C0)

Les autres pathologies ont été jugées à réévaluer ou simplement non proposées, devant l'absence de marqueurs fiables pour le dépistage néonatal, ou l'absence de données concernant un véritable avantage de la mise en place du dépistage néonatal (**figure 4**).

Maladies	Aminoacidopathies	Aciduries organiques	Déficits de bêta-oxydation
Proposées	HCY Homocystinurie MSUD Leucinose TYR1 Tyrosinémie type 1	GA-1 Acidurie glutarique de type 1 IVA Acidurie isovalérique	LCHAD déficit en déshydrogénase des hydroxyacyl-CoA de chaîne longue CUD déficit en captation de carnitine
Non proposées à réévaluer	CIT1 Citrullinémie type 1 OTC Ornithine transcarbamylase	PA Acidurie propionique MMA Ac. méthylmalonique	VLCAD déficit en déshydrogénase des acyl-CoA à très longues chaînes
Non proposées	ASA Acidurie argininosuccinique ARG Argininémie	3MCC Méthylcrotonyl glycinurie HMG Ac. hydroxyméthylglutarique MCD Holocarboxylase Synthétase BKT β -cétotiolase	SCAD déficit en déshydrogénase des acyl-CoA à chaîne courte CPT1 déficit en carnitine palmitoyl transférase I CPT2 déficit en carnitine palmitoyl transférase II CACT déficit en carnitine-acylcarnitine translocase MTP déficit en protéine trifonctionnelle mitochondriale MADD Déficit multiple en acyl-CoA déshydrogénases

Figure (4) : Maladies proposées, à réévaluer et non proposées à la HAS pour l'intégration au dépistage néonatal

D'après la HAS, 2020

4) Le dépistage néonatal en Europe

a) La France face aux autres pays européens

La France compte parmi les premiers pays d'Europe à organiser une campagne de dépistage néonatal (14). Cependant, seulement 13 pathologies sont incluses en France début 2023, montrant une politique de santé publique bien différente par rapport aux autres pays d'Europe. La **figure 5**, datant de 2022, n'incluant donc pas les 7 nouvelles maladies dont le dépistage a commencé au 1er janvier 2023, met bien en évidence cette absence d'homogénéisation politique en Europe. L'Italie par exemple dépistant plus de 40 maladies avec leurs programmes de dépistage néonatal. Cette différence s'explique notamment par l'importance que consacre la France, via le guide méthodologique de l'ANAES de 2004, à la possibilité d'une prise en charge de l'enfant dépisté, et d'une preuve du bénéfice de cette prise en charge. Les maladies métaboliques étant rares, beaucoup d'entre elles n'ont que peu de données concernant ce bénéfice, ne permettant pas aux instances de santé publique et aux groupes d'experts travaillant sur le sujet de conclure à un avantage de l'intégration de certaines maladies au dépistage néonatal.

b) La réévaluation de 2023

En 2023, la HAS s'est autosaisie, faisant suite au dernier volet examinant 24 maladies métaboliques, dont 5 étaient proposées à une réévaluation dans les 3 ans. Il s'agit de la Citrullinémie de type 1 (CIT-1), le déficit en Ornithine Carbamyl Transférase (OTC), l'Acidurie propionique (AP), l'Acidurie méthylmalonique (AMM), et le déficit en déshydrogénase des acyl-CoA à chaîne longue (VLCAD). L'évaluation reposa sur 2 critères généraux : l'amélioration de la survie et la réduction des séjours hospitaliers (en unité de soin prolongé et aux urgences), ainsi que la réduction de la morbidité, sur des critères propres à la clinique et aux complications de chaque pathologie (15).

La HAS ne retiendra qu'une seule pathologie, le déficit en VLCAD, qui est le sujet de travail de cette thèse. Bien que le bénéfice du traitement précoce ne soit pas parfaitement établi et que le marqueur de la maladie, le tétradecenoylcarnitine (C14 :1) puisse être normal en période néonatale, le groupe d'expert a cependant déterminé la nécessité d'inclure le déficit en VLCAD dans le programme de dépistage néonatal. En effet, la prise en charge précoce permettrait de diminuer les complications chez les patients ayant une forme sévère, et l'errance diagnostique peut parfois être longue.

Pour les autres pathologies, les résultats ne sont pas rendus en temps utile, alors que la maladie se déclenche avant les résultats du dépistage néonatal, et le bénéfice d'un traitement précoce occasionné par le dépistage n'est pas établi. Il existe également des asymptomatiques qui pourraient être traités toute leur vie avec un régime contraignant, alors qu'ils n'auraient jamais développé de symptômes. De plus, de nombreux faux positifs peuvent entraîner des profils suggérant une acidurie propionique ou méthylmalonique comme un déficit en vitamine B12. Pour le déficit en OTC, il n'y a pas de marqueur sanguin spécifique accessible sur buvard dosable en SM/SM (15).

c) La généralisation du dépistage de la drépanocytose

La drépanocytose est la maladie génétique la plus répandue en France et fait partie des hémoglobinopathies, caractérisée par la présence d'hémoglobine S. Si elle n'est pas pathologique à l'état hétérozygote, les patients homozygotes S/S sont malades et cette dernière et très handicapante : la falciformation de l'hémoglobine expose le patient à une anémie hémolytique chronique, un retard staturo-pondéral, l'apparition de douloureuses crises vaso-occlusives et une réduction importante de l'espérance de vie (16).

Il s'agit également de la seule pathologie du dépistage néonatal dont l'incidence augmente, et est ciblée sur une population. Les enfants ciblés sont ceux issus de parents ayant des origines à risque, et il existe une très forte hétérogénéité suivant les régions. De ce fait, il n'est pas rare que des enfants éligibles au dépistage de la drépanocytose échappent au dépistage, à l'origine d'une perte de chance.

La HAS recommandera fin 2022 la systématisation du dépistage néonatal de la drépanocytose à l'ensemble de la population (17). Conformément aux recommandations de la Société Française de Biologie Clinique (SFBC), l'étude de l'hémoglobine doit se faire par deux techniques, dont une électrophorèse de l'hémoglobine (18). Concernant le dépistage néonatal, les recommandations actuelles imposent seulement une deuxième technique en cas d'hémoglobine non A/F (5).

d) Evaluation des déficits immunitaires communs sévères

Les déficits Immunitaires Communs Sévères (DICS) sont un groupe de maladies rares et graves à l'origine d'une hypersensibilité aux infections, dû à une profonde lymphopénie T. Le DICS le plus fréquent est le déficit en chaîne gamma commune du récepteur des lymphocytes T, lié à l'X. On retrouve d'autres déficits comme le déficit en Adénosine Désaminase (ADA), en Janus Kinase 3 (JAK3), et d'autres, bien plus rares (19).

Le dépistage peut se faire par quantification des TRECs (T-cell Receptor Excision Circles) à partir de sang séché sur buvard. Les TRECs sont des petites séquences d'ADN obtenues suite au réarrangement du gène alpha des T-Cell Receptor (TCR) lors de la maturation des lymphocytes T, et sont un marqueur de leur production (20). Le traitement précoce consiste en une greffe de cellules souches hématopoïétiques, avant 2 mois de vie.

Suite à une saisine de la Direction Générale de la Santé, la HAS s'est prononcée en 2022 pour l'ajout du dépistage néonatal des DICS en utilisant les TRECs comme marqueur biologique. Un test de confirmation sera réalisé par cytométrie en flux et biologie moléculaire en cas de résultat positif (21). A ce jour, le dépistage n'est pas encore en place et nécessite que chaque CRDN soit doté d'un thermocycleur permettant de réaliser des PCR en temps réel. Les pays dépistant les DICS via la quantification des TRECs sont cependant confrontés à un manque de spécificité important : l'Allemagne, après 2,5 ans de dépistage des DICS et 1,9 millions d'enfants dépistés, aura diagnostiqué 88 enfants atteints d'une lymphopénie T congénitale, dont 25 DICS. Les autres lymphopénies collatérales retrouvées étant des lymphopénies T idiopathiques ou des syndromes congénitaux (22).

B) Le déficit en Very Long Chain Acyl-CoA Dehydrogenase (VLCAD)

1) La beta-oxydation des acides gras

a) Le rôle énergétique des acides gras

Les acides gras (AG) sont des composants essentiels au maintien de l'homéostasie énergétique, tout comme les acides aminés et le glucose. Ils sont constitués d'un acide carboxylique et d'une chaîne carbonée, de 2 à 36 carbones (**figure 6**), mais rares sont ceux ayant plus de 28 carbones. La majorité d'entre eux sont à nombre pair de carbones. Ils constituent une réserve importante d'énergie sous forme de triglycérides dans le tissu adipeux, contrairement au glucose, dont les stocks sous forme de glycogène musculaire et hépatique sont rapidement épuisés en cas de jeûne prolongé ou de demande énergétique importante.

En cas de nécessité, la lipolyse se met en marche, libère les acides gras, ces derniers seront ensuite activés en acyl-CoA et seront oxydés par la voie mitochondriale pour produire de l'Acétyl-CoA. L'Acétyl-CoA est un point de pivot, permettant de rejoindre le cycle de Krebs permettant son oxydation en deux molécules de dioxyde de carbone (CO₂) et la production d'ATP, ou bien d'être transformé en corps cétoniques qui rejoindront la circulation sanguine afin d'atteindre divers organes, notamment ceux ne pouvant pas utiliser les acides gras comme source énergétique, comme le cerveau.

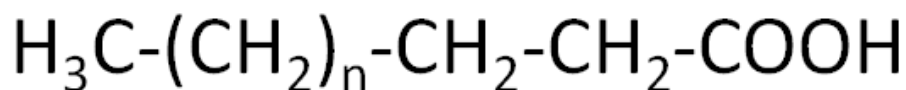


Figure (6) : Structure d'un acide gras à n carbones

À l'état nourri, la glycémie monte et l'insuline est sécrétée. Cette hormone joue un rôle important dans le métabolisme énergétique, car elle favorise la lipogenèse et a une action anti-lipolytique. Le point de départ de la lipogenèse est la formation du malonyl-CoA, inhibiteur de la carnitine-palmitoyltransférase de type 1 (CPT-1), plaque tournante du contrôle de la β -oxydation des acides gras. Ainsi, lorsque la lipogenèse est stimulée, la β -oxydation des acides gras est inhibée (23).

En cas de carence énergétique, le rapport insuline/glucagon est bas, et la triglycéride lipase est activée permettant de libérer les acides gras des tissus adipeux. Les acides gras libres circulants à longue chaîne (la majorité des acides gras) sont captés par les cellules via le CD36. S'ensuit une translocation de l'AG du feuillet externe vers le feuillet interne puis une désorption, avant de se lier à une Fatty Acid Binding Protein (FABP) ou une acyl-CoA synthase (**figure 7**). La présence d'insuline ou la contraction musculaire permettent d'augmenter le recyclage des CD36, et donc l'incorporation cellulaire des AG sur le court terme. À plus long terme, l'augmentation de la concentration intracellulaire des AG est à l'origine d'une augmentation de la synthèse du CD36 (24).

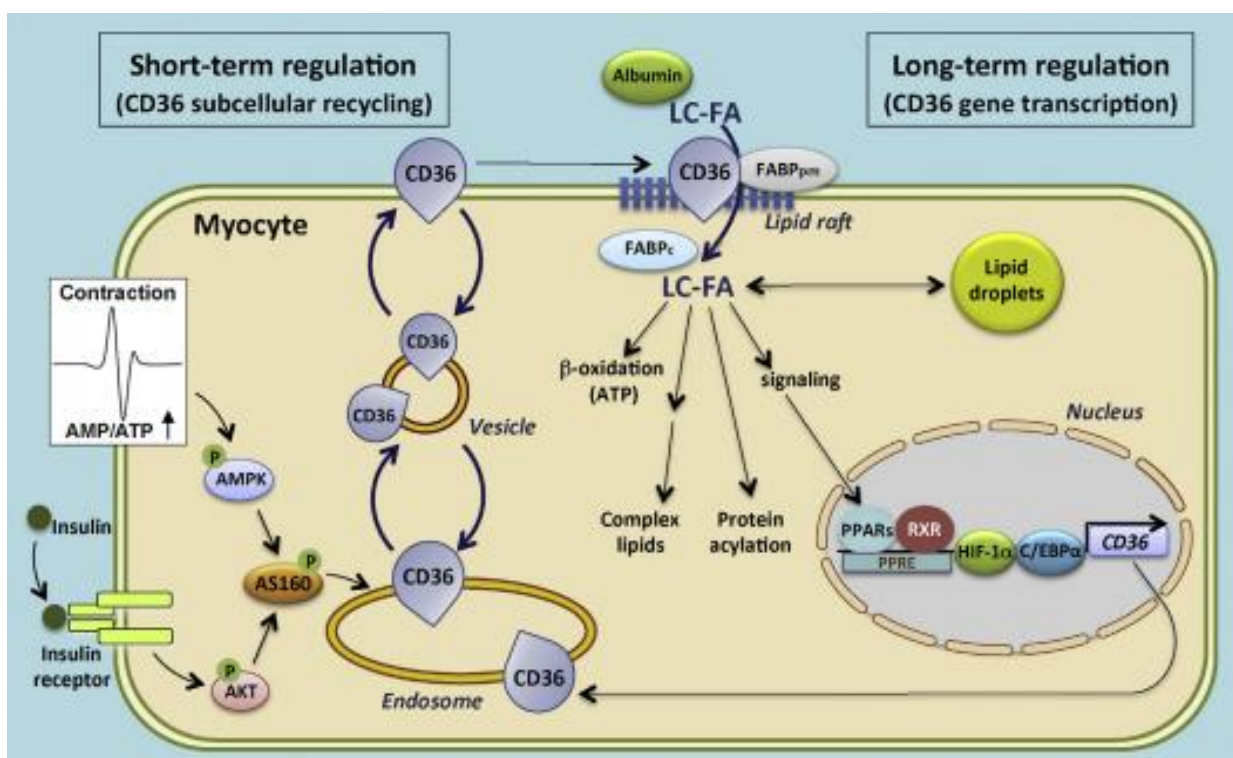


Figure (7) : Représentation du passage intracellulaire des acides gras via le CD36
D'après GlatzJF, LuikenJJ. Biochimie. 2017;136:21–26.

Le catabolisme des acides gras a lieu en majorité au niveau mitochondrial. Les AG à très longue chaîne et les AG atypiques, comme l'acide phytanique, sont oxydés au niveau peroxysomal. Le réticulum endoplasmique permet également une dégradation des acides gras via l' ω -oxydation microsomale. Les acides gras sont activés dans le cytoplasme par une acyl-CoA synthase, à l'origine d'une thioestérification à partir d'une molécule de coenzyme A. Cette réaction nécessite la transformation d'un ATP en AMP. Les acides gras de moins de 10 carbones peuvent librement traverser la membrane mitochondriale, mais ceux de 12 carbones et plus nécessitent un système de transport particulier : la navette carnitine.

b) Le transport intra mitochondrial des acides gras activés

La carnitine est un métabolite essentiel au processus de β -oxydation des acides gras à longue chaîne, permettant leur internalisation dans la matrice mitochondriale. Environ 25 % de la carnitine résulte d'une synthèse endogène, par condensation de deux acides aminés : la lysine et la méthionine. Les 75 % restants sont obtenus via l'alimentation, la carnitine étant retrouvée dans les produits animaux. L'absorption digestive et intracellulaire de la carnitine nécessite un transporteur, l'Organic Cation/Carnitine Transporter 2 (OCTN2), dont le défaut entraîne une faible concentration cellulaire de carnitine et un déficit généralisé de l'oxydation mitochondriale des acides gras (25).

La carnitine intervient pour être estérifiée à l'acyl-CoA, formant un acylcarnitine pouvant s'insérer dans l'espace intermembranaire de la mitochondrie. Une enzyme de la membrane externe de la mitochondrie, la CPT-1, permet cette réaction. Il existe plusieurs isoformes de cette enzyme selon leur localisation tissulaire, notamment la CPT-1a au niveau hépatique et la CPT-1b au niveau musculaire (25).

Dans l'espace intermembranaire, la carnitine-acylcarnitine transférase (CACT), située sur la membrane interne, permet l'internalisation d'une acylcarnitine contre la sortie d'une molécule de L-carnitine. Dans la matrice mitochondriale, l'acylcarnitine est retransformée en acyl-CoA par la carnitine palmitoyl transférase de type 2 (CPT-2), localisée sur la membrane interne de la mitochondrie (**figure 8**). Cette suite de réactions permet l'internalisation des acides gras à longue chaîne tout en recyclant une molécule de carnitine à chaque fois.

Un autre rôle de la carnitine est la détoxification des acyl-CoA de toute longueur de chaîne accumulés dans la mitochondrie. Ces derniers peuvent alors rejoindre la circulation sanguine avant d'être éliminés.

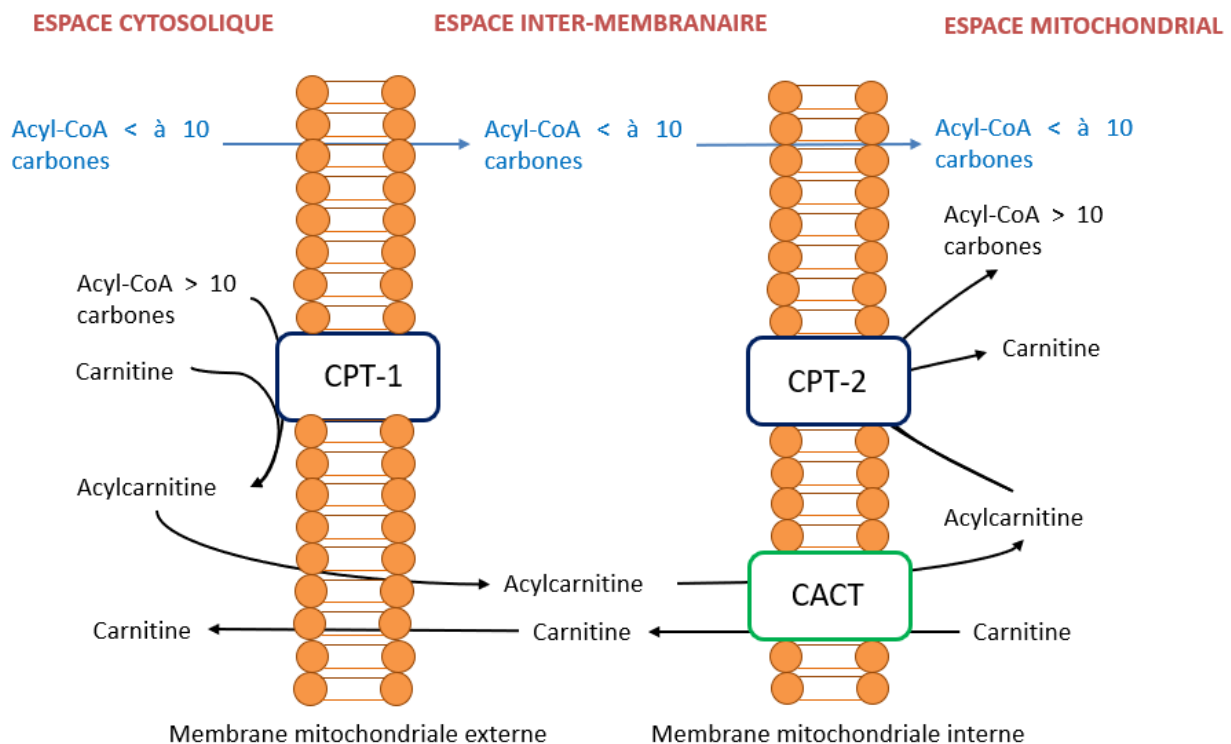


Figure (8) : Représentation de la navette carnitine

c) L'hélice de Lynen

L'acyl-CoA à n atomes de carbone dans la matrice mitochondriale va pouvoir rejoindre l'hélice de Lynen pour y être dégradé par β -oxydation. Quatre étapes se succèdent pour former, à chaque tour, un acyl-CoA à $n-2$ atomes de carbone, libérant un acétyl-CoA. L'oxydation est complète une fois que le dernier acétyl-CoA est formé si le point de départ est un acide gras à nombre pair de carbones, ou par formation de propionylcarnitine si l'acide gras comprend un nombre impair de carbones. Celui-ci sera transformé en propionyl-CoA, qui pourra rejoindre le cycle de Krebs après transformation en succinyl-CoA.

Comme le montre la **figure 9**, différentes enzymes sont impliquées à chaque étape en fonction de la taille de l'acylcarnitine (25). La première étape est une déshydrogénation en trans- Δ^2 -enoyl-CoA, catalysée par une acyl-CoA déshydrogénase qui utilise comme cofacteur la flavine-adénine-dinucléotide (FAD) et forme du FADH_2 . Les différentes enzymes utilisées sont :

- **C4 à C6** : Short-Chain Acyl-CoA Dehydrogenase (SCAD)
- **C6 à C12** : Medium-Chain Acyl-CoA Dehydrogenase (MCAD)
- **C10 à C24** : Very Long Chain Acyl-CoA Dehydrogenase (VLCAD)

Le trans- Δ^2 -enoyl-CoA formé est transformé en 3-hydroxyacyl-CoA par une enoyl-CoA-hydratase, dont le type diffère selon la longueur de chaîne, et consomme une molécule d'eau à chaque tour d'hélice :

- **C4 à C12** : Crotonase
- **C10 à C24** : Long Chain Enoyl-CoA Hydratase (LCEH)

Le 3-hydroxyacyl-CoA est métabolisé ensuite par une 3-hydroxy-acyl-CoA déshydrogénase, transformant également un NAD^+ en $\text{NADH} + \text{H}^+$ à chaque tour. Une fois encore, l'enzyme diffère selon le nombre de carbones :

- **C4 à C12** : Short Chain Hydroxy-Acyl-CoA Dehydrogenase (SCHAD)
- **C10 à C24** : Long Chain Hydroxy-Acyl-CoA Dehydrogenase (LCHAD)

La dernière étape de l'hélice de Lynen est le retrait d'un acétyl-CoA du squelette carboné, formant un acyl-CoA à $n-2$ atomes de carbone. Cette réaction nécessite une molécule de CoA et l'enzyme impliquée est une β -cétotliolase, qui varie encore une fois selon le nombre de carbones de l'acylcarnitine :

- **C4 à C6** : Acétoacétyl-CoA thiolase
- **C6 à C12** : Medium Chain 3-ketoacyl-CoA thiolase (MCKAT)
- **C10 à C24** : Long Chain 3-ketoacyl-CoA thiolase (LCKAT)

Chaque tour d'hélice permet ainsi la formation d'un acétyl-CoA, d'un FADH_2 et d'un $\text{NADH} + \text{H}^+$. Les électrons récupérés par la FAD sont transportés par un système de transport d'électron, l'ETF (Electrons Transferring Flavoprotein) qui alimentera ensuite la chaîne respiratoire mitochondriale (26).

La LCEH, la LCHAD et la LCKAT sont les sous-unités d'un seul complexe enzymatique, la protéine trifonctionnelle mitochondriale (MTP) située sur la membrane mitochondriale comme l'enzyme VLCAD. Les autres enzymes sont situées dans la matrice mitochondriale. L'acétyl-CoA produit peut ainsi rejoindre le cycle de Krebs ou être utilisé comme substrat pour la cétogenèse.

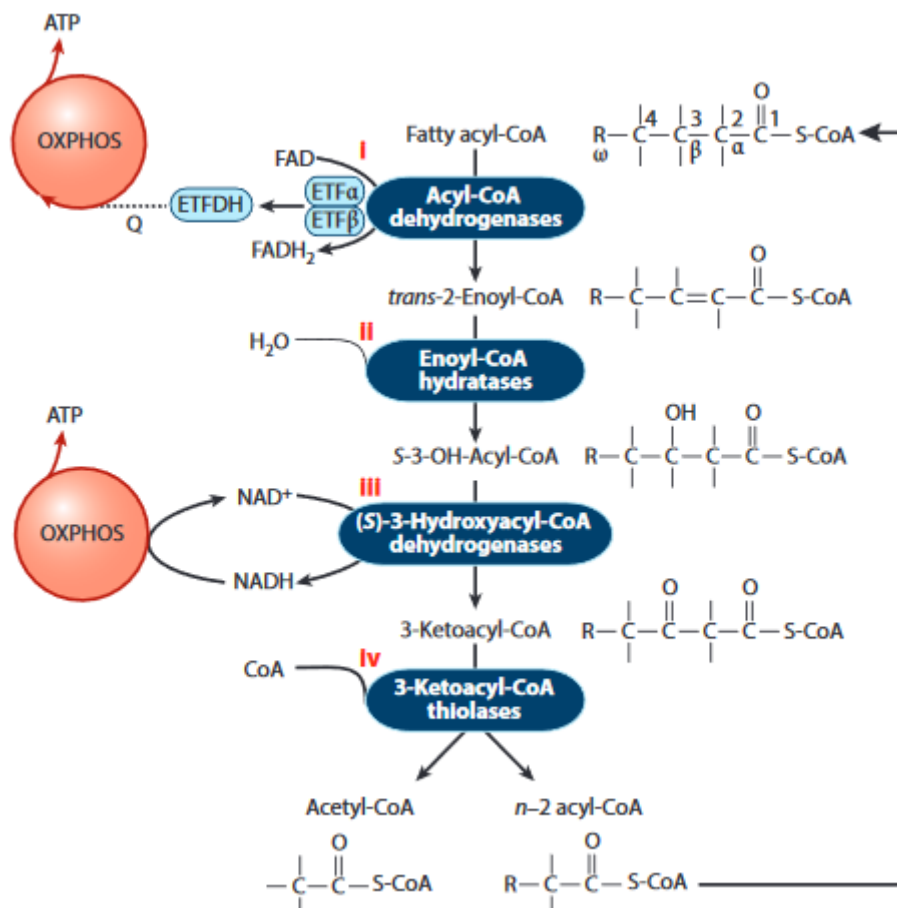


Figure (9) : Les étapes de l'hélice de Lypen

D'après *The Biochemistry and Physiology of Mitochondrial Fatty Acid β -Oxidation and Its Genetic Disorders*, Sander.M & All, *Journal of inherited metabolic disease*

d) L' ω -oxydation microsomale

L'oxydation microsomale des acides gras, ou ω -oxydation, est une voie métabolique alternative à la β -oxydation, se déroulant non pas dans la mitochondrie mais dans le réticulum endoplasmique, principalement au niveau hépatique et rénal. Elle devient particulièrement importante lorsque la β -oxydation est saturée ou inhibée. Ce processus commence par l'hydroxylation du carbone ω de l'acide gras (27), le plus distant du groupement carboxylique, via les enzymes du cytochrome P450. L'alcool formé est alors oxydé en aldéhyde par une alcool déshydrogénase, puis en acide carboxylique par une aldéhyde déshydrogénase (**figure 10**). Les acides dicarboxyliques ainsi produits peuvent ensuite être métabolisés par la β -oxydation mitochondriale, permettant de fournir des intermédiaires au cycle de Krebs, contournant d'éventuels déficits de la β -oxydation des acides gras (28).

La ω -oxydation joue un rôle crucial lorsque la β -oxydation est déficiente, en offrant une voie alternative pour la dégradation des acides gras accumulés, évitant ainsi leur toxicité potentielle. On observe ainsi une augmentation des acides dicarboxyliques lors des chromatographies des acides organiques urinaires, notamment du sébacate, de l'adipate et du subérate, permettant parfois d'orienter le diagnostic. En cas de jeûne, la synthèse et l'utilisation des acides dicarboxyliques sont également augmentées, par stimulation des ω -hydroxylases (28).

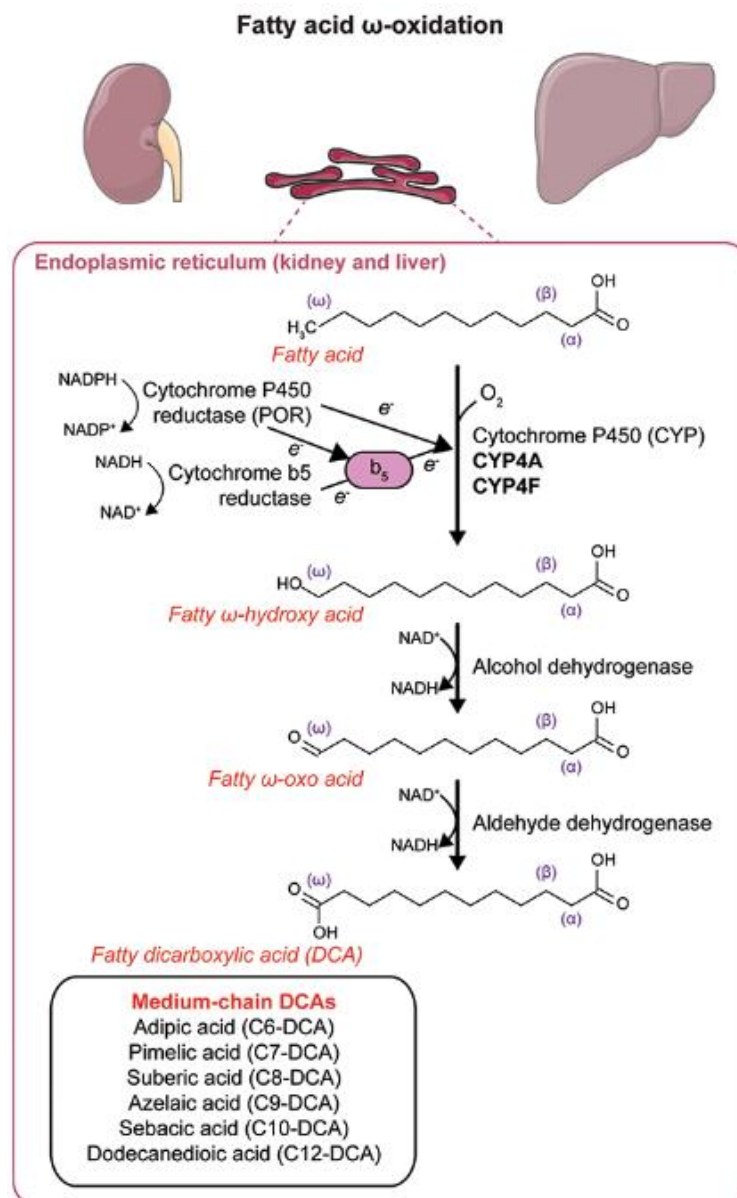


Figure (10) : Les différentes étapes de l' ω -oxydation microsomale

D'après The biochemistry and physiology of long-chain dicarboxylic acid metabolism, Ranea-Robles P. The Biochemical journal

2) Le déficit en VLCAD

a) Épidémiologie du déficit en VLCAD

En 1993, Aoyoma *et al.* mettent en évidence à partir de fibroblastes de la peau, que la déshydrogénation du palmitoyl-CoA, acide gras activé à 16 atomes de carbone, est majoritairement réalisée par une enzyme récemment découverte : la Very Long Chain Acyl-CoA Dehydrogenase (VLCAD), et non par la Long Chain Acyl-CoA Dehydrogenase (LCAD), qui était l'enzyme admise comme responsable de cette réaction. Une mesure de la déshydrogénation du palmitoyl-CoA montre une réduction d'activité de seulement 8% en cas d'inhibition de la LCAD, et jusqu'à 75 % en cas d'inhibition de la VLCAD (29). Selon les tissus étudiés, la VLCAD serait responsable jusqu'à 99 % de la déshydrogénation du palmitoyl-CoA (30). Après la découverte de cette enzyme et de la faible importance de la LCAD dans le métabolisme des acyl-CoA à longue chaîne, des patients étiquetés avec un déficit en LCAD ont été réévalués comme déficitaires en VLCAD (31). Le gène *ACADVL* codant pour la VLCAD sera ensuite identifié sur le bras court du chromosome 17, en position 13.1 (32).

Le déficit en VLCAD est la 2^e pathologie de la β -oxydation des acides gras la plus fréquente. Selon la population étudiée, la mutation la plus fréquente retrouvée dans ce déficit varie : aux USA, la mutation c.848T>C (p.V283A) est la plus fréquente (33). Une thymine est remplacée par une cytosine en position 848. Cela entraîne une substitution sur la séquence d'acides aminés de l'enzyme, une valine en position 283 est remplacée par une alanine. Au Japon, l'extension du dépistage néonatal au déficit en VLCAD met en évidence la mutation c.1820G>C (p.C607S) comme étant la plus fréquente (34). La maladie présente un mode de transmission autosomique récessif. Plus de 280 variants, dont au moins 90 pathogènes, ont été découverts. L'incidence globale est estimée entre 1 / 30 000 et 1 / 100 000 (35) mais varie énormément selon les pays :

- **1 / 93 000** naissances au Japon (36)
- **1 / 1 392 000** naissances à Taiwan (36)
- **1 / 383 000** naissances en Corée (36)
- **1 / 76 000** naissances en Allemagne (36)
- **1 / 18 877** naissances en Arabie Saoudite (37)
- **1 / 31 500** naissances aux USA (38)

b) L'enzyme déficitaire : la Very Long Chain Acyl-CoA Dehydrogenase

La VLCAD est une oxydoréductase intervenant dans la β -oxydation des acides gras, permettant la déshydrogénation des acyl-CoA de 10 à 24 carbones, avec une activité majorée pour ceux de 14 à 20 carbones. Il s'agit d'une flavoenzyme, nécessitant le FAD comme cofacteur. On retrouve 2 FAD par enzyme, là où les autres acyl-CoA déshydrogénases (MCAD, SCAD) en portent 4 (39). Tout comme les autres acyl-CoA déshydrogénases, la VLCAD catalyse la première étape de la β -oxydation mitochondriale des acides gras : l'introduction d'une double liaison en position $\Delta 2,3$ dans la chaîne carbonée des acyl-CoA (40). La **figure 11** montre une vue d'ensemble de la β -oxydation mitochondriale.

Contrairement aux autres déshydrogénases de la β -oxydation mitochondriale qui sont des tétramères présents dans la matrice mitochondriale d'environ 40 kDa, la VLCAD mature est un homodimère de 70 kDa (39) (**figure 12**), localisé sur la membrane interne de la mitochondrie et composé de 655 acides aminés. La séquence N-terminale montre une forte homologie de séquence avec les autres acyl-CoA déshydrogénases, contrairement à la séquence C-terminale qui possède une queue résiduelle de 180 acides aminés permettant l'interaction membranaire (41). Le site actif de l'enzyme est localisé en Glu-422, proche des carbones C2 et C3 de l'acyl-CoA. Le site actif est similaire à celui du MCAD, tout en étant plus long de 12 Å, ce qui permet aux acyl-CoA avec une chaîne carbonée plus longue de s'y fixer (42).

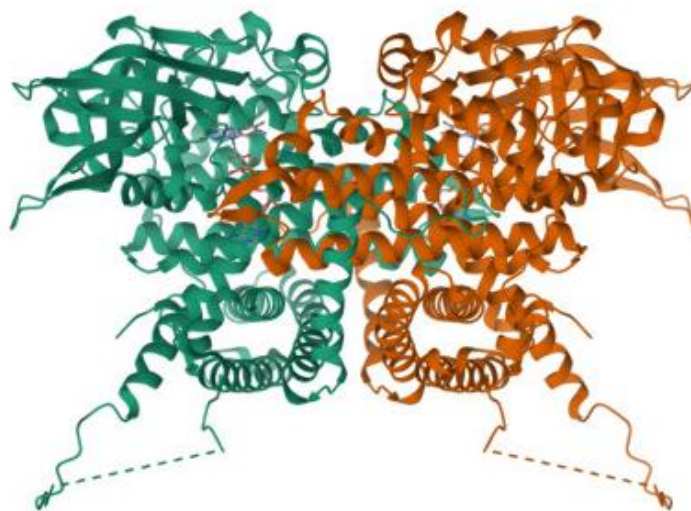


Figure (12) : structure 3D de la VLCAD

D'après RCSB Protein Data Bank

i) Maladie par carence énergétique

Chaque tour d'hélice lors de la β -oxydation des acides gras produit de l'acétyl-CoA, substrat du cycle de Krebs. En cas de déficit sur cette voie métabolique, il s'ensuit alors une altération du cycle de Krebs, entraînant une baisse des fonctions mitochondriales avec une diminution de la respiration cellulaire, de la formation d'ATP et une augmentation du stress oxydant par production d'ions superoxyde (43). Le défaut d'oxydation des acides gras induit un déficit en FADH_2 et NADH , H^+ ainsi qu'en acétyl-CoA. Le déficit en acétyl-CoA conduit à son tour à une diminution de la synthèse d'ATP via le cycle de Krebs avec une baisse des intermédiaires du Krebs (28), notamment du succinate, du fumarate et du citrate. Ce déficit potentialise également le déficit en FADH_2 et NADH , H^+ . La carence de ces deux transporteurs d'électrons est à l'origine d'un défaut de synthèse d'ATP par la chaîne respiratoire mitochondriale lors de la phosphorylation oxydative, entraînant ainsi une carence énergétique.

Le cycle de Krebs semble être impacté par d'autres voies que la carence en acétyl-CoA : des études protéomiques sur fibroblastes montrent une diminution du 2-oxoglutarate déshydrogénase et du dihydrolipoamide succinyltransférase (44), toutes deux étant des sous-unités du complexe 2-oxoglutarate déshydrogénase, catalysant la conversion du 2-oxoglutarate en succinyl-CoA, un des intermédiaires du Krebs. En compensation à ces mécanismes, il existe chez les patients atteints de VLCAD une plus forte utilisation du glucose (43).

ii) Maladie par intoxication

Au-delà de la carence énergétique, l'accumulation d'acylcarnitines à longue chaîne montre un rôle toxique, étant associé à une diminution de la consommation d'oxygène, et une diminution de la synthèse d'ATP (45). L'accumulation d'acylcarnitines à longue chaîne montre également un allongement de l'intervalle QT et une diminution de la synthèse de l'acide docosahéxaénoïque dans les phospholipides des membranes de cardiomyocytes (46). Ces deux phénomènes sont corrélés à une augmentation du risque d'infarctus du myocarde.

Plus spécifiquement, la tétradecanoylcarnitine (C14) et la tétradécénoylcarnitine (C14 :1), deux acylcarnitines fortement augmentés dans le déficit en VLCAD, montrent une relation dose-dépendante dans la diminution du potentiel membranaire mitochondrial, diminuent les concentrations en NAD(P)H intra-mitochondrial, l'homéostasie du calcium

mitochondrial, la consommation d'O₂, la production d'ATP... Le tout entraîne une augmentation de l'apoptose des cardiomyocytes (47).

L'hexadécénoylcarnitine (C16:1) semble montrer une toxicité similaire sur les cardiomyocytes, cependant l'accumulation d'oleylcarnitine (C18:1) ne montre pas de toxicité (48).

3) Manifestations cliniques du déficit en VLCAD

Le déficit en VLCAD est à l'origine d'une diversité clinique relativement importante en fonction des mutations en cause. Comme les autres troubles de la β -oxydation, on y retrouve la triade cœur-foie-muscle. L'activité enzymatique résiduelle est fortement corrélée au risque de développer une forme sévère. On distingue trois types de manifestations, décrites ci-dessous (49) :

- **La forme aiguë néonatale**, associée à un tableau de défaillance multiviscérale.
- **La forme infantile tardive**, se traduisant par une hépatopathie et des épisodes d'hypoglycémies hypocétosiques.
- **La forme chronique adulte**, avec une prédominance musculaire.

a) La forme aiguë néonatale

La forme aiguë néonatale était la manifestation la plus fréquente du déficit en VLCAD jusqu'à la mise en place du dépistage néonatal de la maladie. Depuis, on observe bien plus de formes à révélation tardives. Les mutations à l'origine d'une activité enzymatique nulle, comme les mutations non-sens, sont responsables du phénotype sévère néonatal (50). La maladie se révèle principalement après 7 jours de vie et avant la fin du 1^{er} mois de vie. Les principales manifestations sont une atteinte cardiaque et péricardique. On retrouve fréquemment une cardiomyopathie qui peut être hypertrophique (51) ou dilatée, associée à une fibrillation, une tachycardie ventriculaire et un bloc atrioventriculaire. La symptomatologie cardiaque de la forme néonatale peut être fatale si la prise en charge n'est pas précoce (52), et les chances de survie sont estimées à 50 % lors de ce premier épisode de décompensation (53). On observe fréquemment un coma hypotonique associé à une hyperammoniémie et une acidose lactique lors de cet épisode.

L'hypoglycémie hypocétosique peut être présente, mais n'est pas forcément retrouvée lors du diagnostic, tout comme l'hépatomégalie et la rhabdomyolyse (49). Ces

signes seront majoritairement observés en cas de décompensation, dans toute situation de demande énergétique élevée (infection, jeûne prolongé...).

b) La forme infantile tardive

La forme tardive infantile est souvent associée à des épisodes d'hypoglycémie hypocétosique en cas de décompensation et est fréquemment associée à des troubles hépatiques. Les patients présentent principalement des myalgies et des accès de rhabdomyolyse intermittente, déclenchés par l'exercice prolongé, les infections et les périodes de jeûne. La cardiomyopathie peut être observée dans ces formes tardives à révélation infantile, mais elle reste relativement rare (54).

Il est rapporté une plus grande fréquence d'hospitalisation (55), notamment due à la faible tolérance du jeûne pendant la petite enfance et une sensibilité accrue aux infections, générant un état catabolique et favorisant les crises de décompensation. Une homozygotie pour la mutation c.848T>C, la plus fréquente en Europe et aux USA, est associée à un phénotype peu symptomatique et de bon pronostic.

c) La forme adulte chronique

La forme chronique adulte, également appelée forme myopathique, débute en général pendant l'adolescence, voire à l'âge adulte. Les patients présentent une intolérance à l'effort associée à des myalgies et des rhabdomyolyses chroniques, majorées en cas d'effort prolongé ou de jeûne. Pendant les crises de rhabdomyolyse, une myoglobulinurie peut être observée (56). Cliniquement, la forme myalgique ressemble au déficit en CPT-2 de l'adulte et doit être recherchée en parallèle pour le diagnostic différentiel.

Il s'agissait autrefois de la forme la moins fréquente, car sous diagnostiquée. Cependant, le dépistage néonatal du déficit en VLCAD a augmenté le nombre de cas tardifs, correspondant soit à la forme infantile tardive, soit à la forme myalgique.

Bien que de meilleur pronostic, ces formes ne sont pas à négliger : chez 10 à 40 % des patients, les rhabdomyolyses peuvent se compliquer d'insuffisance rénale aiguë (57) pouvant mettre en jeu le pronostic vital. En raison du risque potentiel d'une cardiotoxicité des acides gras à chaîne longue, il est également nécessaire de suivre la fonction cardiaque (58).

4) Le diagnostic biologique du déficit en VLCAD

a) Le diagnostic biochimique

i) La biochimie de routine

En cas de décompensation, il est fréquemment retrouvé une atteinte hépatique avec élévation des transaminases, voire une insuffisance hépatocellulaire. Une hypoglycémie hypocétosique est également observée, souvent associée à une acidose métabolique à trou anionique augmenté, avec accumulation de lactates (59). En cas de rhabdomyolyse, la créatine kinase est fortement augmentée (49), pouvant entraîner une insuffisance rénale aiguë chez certains patients, objectivée par une augmentation de la créatinine, de l'urée et d'une baisse du débit de filtration glomérulaire. Une hyperammoniémie est fréquemment observée (53). Cela peut s'expliquer par une carence en acétyl-CoA, activateur de la N-acétylglutamate synthase (NAGS), première étape du cycle de l'urée.

La présence d'une faible cétose n'élimine cependant pas un déficit en VLCAD, les acides gras à chaîne courte et moyenne, bien que minoritaires par rapport aux acides gras à chaîne longue, peuvent tout de même servir de substrat à la β -oxydation mitochondriale, permettant la production de corps cétoniques. Le dosage des acides gras libres, marqueur de lipolyse, montre une augmentation de ce métabolite, associé à une absence ou une faible production de β -hydroxybutyrate, traduisant le déficit de cétogenèse associé.

ii) Le profil des acylcarnitines

Le profil des acylcarnitines peut être réalisé sur plasma ou sur sang total, à l'aide de papier buvard. L'analyse est effectuée par spectrométrie de masse en tandem. Dans tous les tissus, les acyl-CoA accumulés se condensent avec la carnitine pour passer dans la mitochondrie ou pour être éliminés. Ainsi, le profil des acylcarnitines permet d'obtenir une photographie à un moment donné de l'état de la β -oxydation mitochondriale du patient (**figure 13**). Ce profil peut cependant être normal en dehors des épisodes de décompensation ou en cas de carence en carnitine. Cette dernière entraîne une diminution du couplage des acyl-CoA accumulés avec la carnitine, et donc une baisse des acylcarnitines, ne reflétant plus l'état de la β -oxydation mitochondriale. Il est donc important de répéter les examens pendant les périodes symptomatiques et après supplémentation en L-carnitine en cas de carnitine basse.

Lors du déficit en VLCAD, on observe une accumulation des acylcarnitines à longue chaîne (60), principalement du tétradecanoylcarnitine (C14), du tétradécénoylcarnitine (14 :1), du tétradécadiénoylcarnitine (C14: 2), du palmitoylcarnitine (C16), et de l'oléylcarnitine (C18:1) (61). Dans certains cas, l'utilisation de ratios semble améliorer les performances diagnostiques, notamment le C14:1/C2, le C14:1/C12, le C14:1/C18 ou encore le C14:1/C16 (49). Contrairement à d'autres déficits de la β -oxydation comme le déficit en MCAD, les ratios utilisés pour le déficit en VLCAD n'ont pas de valeur prédictive quant à la sévérité de la pathologie et permettent seulement d'améliorer les performances diagnostiques.

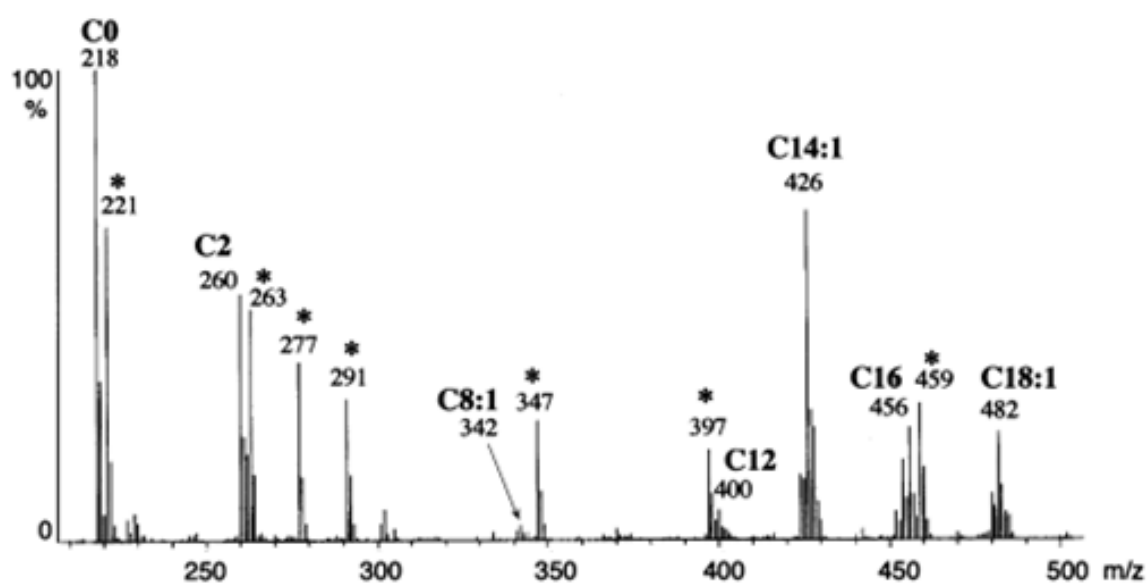


Figure (13) : Profil des acylcarnitines obtenu par ESI-MS/MS sur sérum d'un patient ayant un déficit en VLCAD

Les pics indiqués d'une étoile représentent les étalons internes.

D'après Yosuke Shigematsu, doi:10.1016/S1570-0232(03)00281-2

iii) La chromatographie des acides organiques urinaire

Les acides organiques sont des composés intermédiaires du métabolisme des acides aminés, des acides gras et des glucides. L'accumulation de certains acides organiques permet de révéler un défaut sur une voie métabolique, et permet d'orienter le diagnostic de certaines MHM. La chromatographie des acides organiques urinaires (CAOU) se réalise généralement en chromatographie en phase gazeuse couplée avec une détection par spectrométrie de masse (GC-MS). Dans les anomalies de la β -oxydation des acides gras, deux types de composés non spécifiques peuvent être détectés : les acylglycines et les acides dicarboxyliques. On notera également la présence, souvent importante d'intermédiaires du cycle de Krebs (fumarate, malate, 2-cétoglutarate), non spécifiques et traduisant une souffrance mitochondriale.

Dans le déficit en VLCAD, il est possible de retrouver à la CAOU une acidurie dicarboxylique non spécifique (61) mais permettant tout de même d'orienter vers un défaut de la β -oxydation mitochondriale des acides gras. Comme vu précédemment dans la partie B.1.d, l' ω -oxydation microsomale des acides gras peut prendre une part importante du catabolisme des acides gras lorsque la β -oxydation mitochondriale est inhibée, permettant d'éviter l'accumulation toxique d'acides gras. La chromatographie des acides organiques permet alors de montrer une acidurie dicarboxylique, notamment de l'adipate (C6) parfois à plus de 10 fois la norme (62), du subérate (C8) et du sébacate (C10), sans cétonurie associée (63).

La chromatographie des acides organiques peut dans certains déficits de la β -oxydation des acides gras, notamment dans le déficit en MCAD, montrer une élévation des acylglycines. Les acylglycines sont produits dans la mitochondrie suite à l'accumulation d'acyl-CoA, lorsque ces derniers sont conjugués à la glycine via une glycine-N-acyltransférase, favorisant leur élimination. Ces métabolites, bien que non spécifiques, sont utiles pour le diagnostic de déficit en MCAD car certains comme l'hexanoylglycine persistent même lors des états asymptomatiques. Cependant, pour le déficit en VLCAD, il n'y a pas d'augmentation associée des acylglycines (64).

La **figure 14** représente un chromatogramme des acides organiques urinaires d'une patiente présentant une décompensation de déficit en VLCAD. On y note une augmentation importante des dicarboxyliques et une absence de cétose, ainsi qu'une augmentation des intermédiaires du cycle de Krebs.

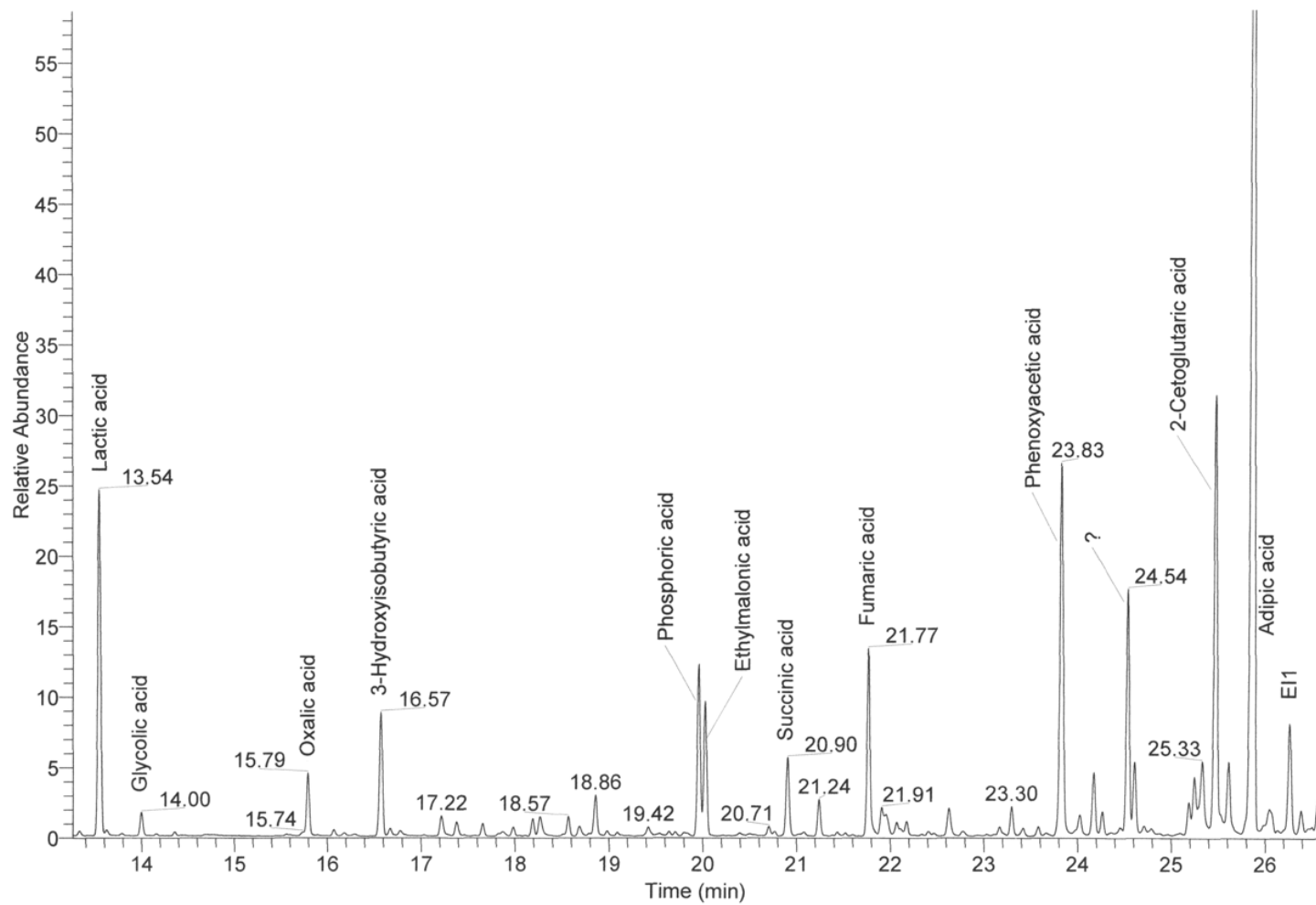


Figure (14) : Chromatogramme des acides organiques urinaires d'une patiente en décompensation de VLCAD (page 1).

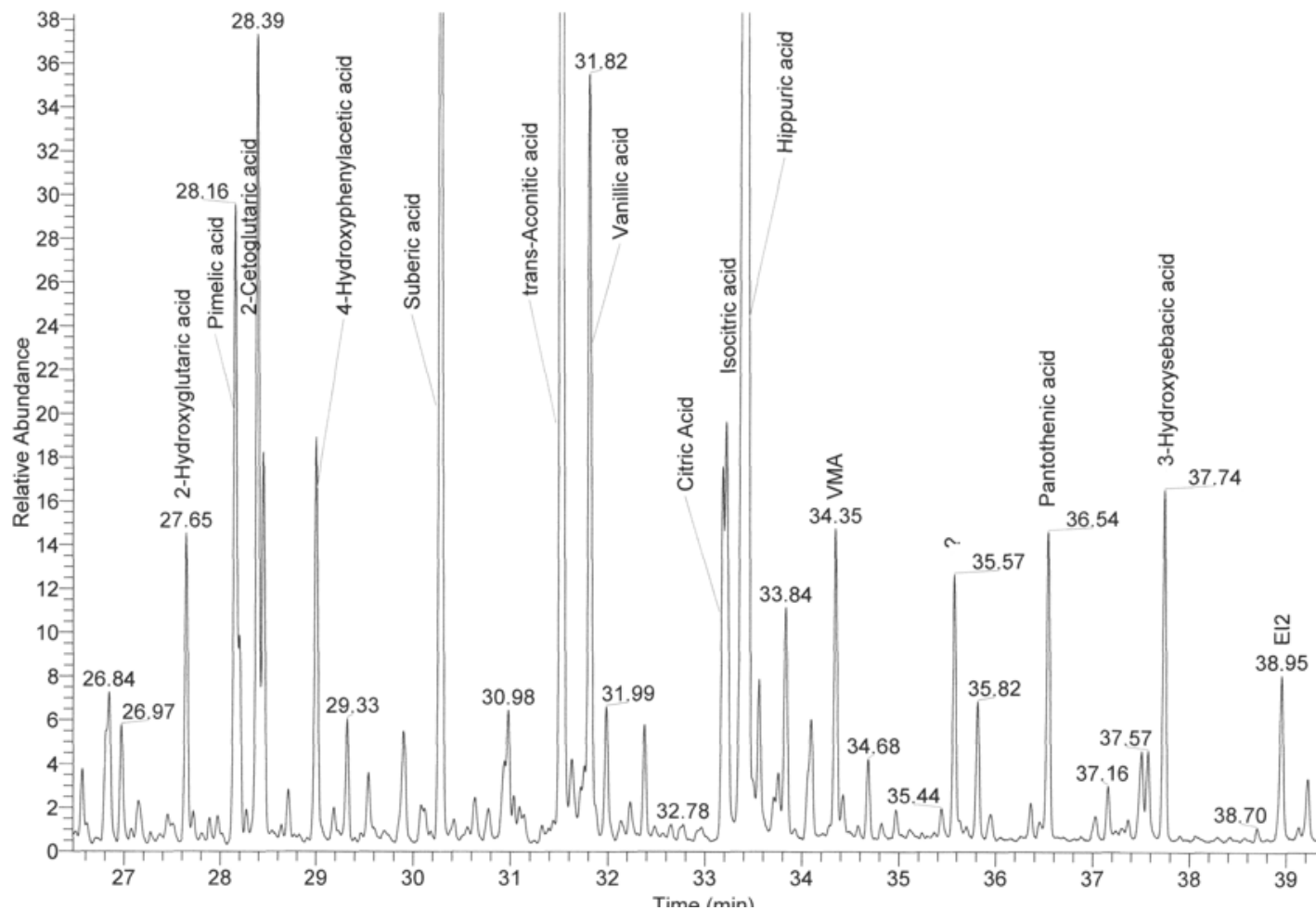


Figure (14) : Chromatogramme des acides organiques urinaires d'une patiente en décompensation de VLCAD (page 2).

Ce profil montre une augmentation majeure des dicarboxyliques (adipate, subérate, sébacate, pimélate) entrainant une saturation du signal. On retrouve également une absence de cétose et une élévation des intermédiaires du cycle de Krebs (Malate, fumarate, 2-cétoglutarate)

b) La mesure de l'activité enzymatique

La mesure de l'activité enzymatique n'est plus un test fréquemment utilisé aujourd'hui devant l'essor de la biologie moléculaire. Cette mesure peut cependant s'avérer utile, notamment pour la caractérisation des variants de signification indéterminée (VUS). La mesure s'effectue via des fibroblastes ou leucocytes du patient mis en culture (49). L'activité enzymatique est déterminée par la mesure des produits formés de l'enzyme. Pour la VLCAD, le substrat utilisé est le palmitoyl-CoA (C16) et le produit formé et dosé par SM/SM est l'hexadecenoyl-CoA (C16 :1). Le ratio substrat/produit est ensuite comparé à celui d'un témoin sain pour obtenir le pourcentage d'activité (65). Pour vérifier l'intégrité du prélèvement, une autre enzyme dont le patient n'est pas déficient peut être évaluée.

L'activité enzymatique est dépendante des mutations retrouvées et présente une forte corrélation avec la gravité de la pathologie, et une activité enzymatique supérieure à 20 % est corrélée à une faible voire absence de symptomatologie clinique. La mutation la plus fréquente, c.848T>C (p.V243A), de bon pronostic, est associée à une activité résiduelle supérieure à 10 % (65).

c) L'anatomopathologie

Aujourd'hui, les biopsies hépatiques ou musculaires ne sont plus nécessaires pour le diagnostic des déficits de la β -oxydation. La biopsie musculaire peut parfois montrer la présence non spécifique de vacuoles lipidiques dans le cytoplasme des cellules musculaires (66), mais celles-ci ne sont pas retrouvées chez tous les patients (67). L'utilisation de l'immunohistochimie peut s'avérer utile : on observe une diminution de la coloration lors de l'utilisation de marqueurs mitochondriaux par rapport à un témoin (68). Concernant le foie, une stéatose est fréquemment retrouvée.

d) La biologie moléculaire

Localisé sur le bras court du chromosome 17, en position 13.1 (32), le gène *ACADVL* code pour l'enzyme VLCAD. Plus de 280 variants ont été découverts, dont environ 90 sont pathogènes et plus de 130 sont considérés comme variants de signification indéterminée (33). La majorité des mutations sont des mutations faux-sens, généralement de meilleur pronostic que les mutations non-sens. En effet, ces dernières sont associées à une absence d'activité résiduelle enzymatique et à un phénotype clinique plus sévère. Il existe une très forte variabilité génétique du gène *ACADVL*, comme le montre la **figure 15**, mais quelques variants prédominent en termes de fréquence. En Europe et aux USA, le variant le plus fréquemment retrouvé est le variant c.848T>C (p.V283A), présent chez environ 10 % des patients lors du dépistage néonatal (33). Ce variant est associé à une activité enzymatique d'environ 10 % et est de bon pronostic, répondant bien au traitement, mais tout de même sujet à des épisodes d'hypoglycémie hypocétoïque en cas de décompensation (65).

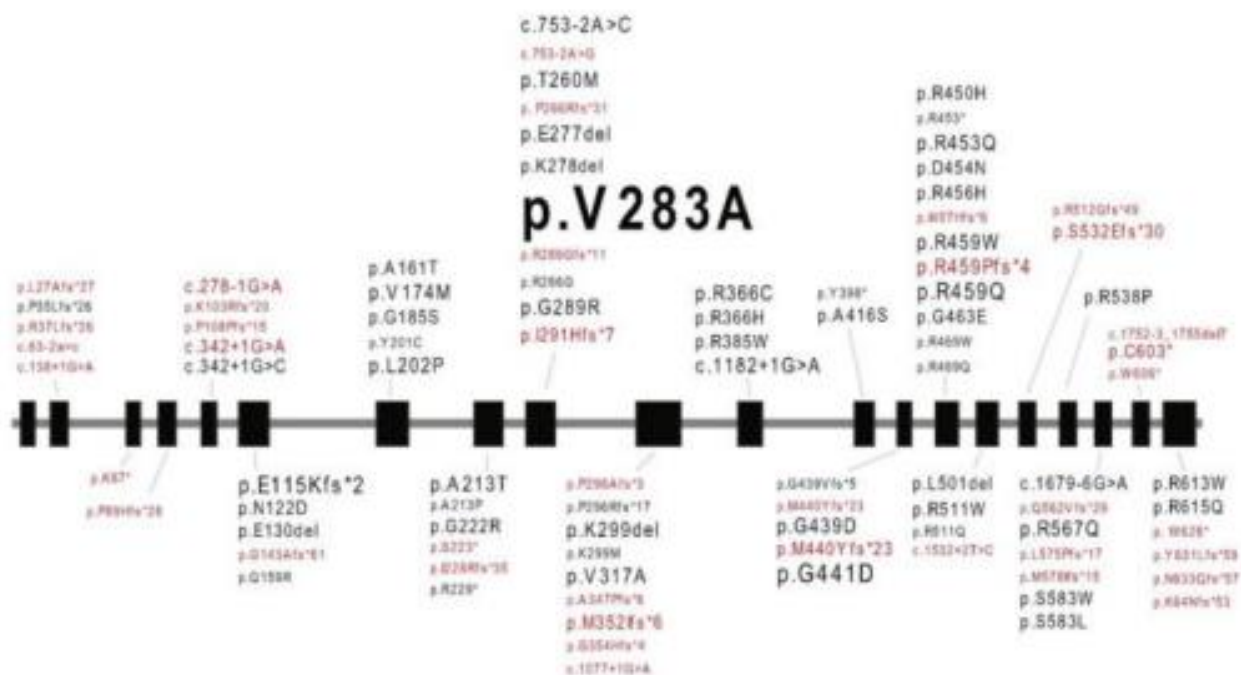


Figure (15) : Variation génétique du gène *ACADVL*

D'après Marcus J. Miller, Mol Genet Metab. 2015 November

5) Prise en charge du déficit en VLCAD

a) Prise en charge diététique

La prise en charge diététique est un pilier fondamental du traitement de certaines maladies héréditaires du métabolisme, notamment des déficits de la β -oxydation des acides gras. Différents types de régimes existent, comme l'éviction de certains macronutriments dans les maladies d'intoxication ou l'apport fréquent de certains nutriments dans les déficits énergétiques. Pour le déficit en VLCAD, l'objectif du régime est, d'une part, d'éviter l'accumulation de composés toxiques en limitant l'apport de certaines graisses, et d'autre part, de limiter les périodes de carence énergétique en apportant d'autres sources d'énergie facilement mobilisables (69).

Chez le nouveau-né asymptomatique suspect de déficit en VLCAD, un régime d'éviction du jeûne doit être mis en place en attendant la confirmation du diagnostic, afin d'éviter toute carence énergétique. Idéalement, il convient de limiter l'apport d'acides gras à chaîne longue, mais le lait maternel reste possible en attendant la confirmation diagnostique et en l'absence de signes cliniques (70). Si le diagnostic de déficit en VLCAD est confirmé, il convient de limiter l'apport d'acides gras à chaîne longue à 10 % de l'apport calorique total maximum (69). Le temps de jeûne est variable selon la sévérité du déficit et l'âge du patient, comme le montre la **figure 16**.

Age	Sévérité de la maladie	Durée maximale de jeun
0 à 4 mois	sévère	3 heures
	modérée	3 à 4 heures
	bénigne	4 heures
4 à 6 mois	sévère	4 heures
	modérée	4 à 6 heures
	bénigne	4 à 6 heures
6 à 9 mois	sévère	6 heures
	modérée	6 à 8 heures
	bénigne	6 à 8 heures
9 à 12 mois	sévère	8 heures
	modérée	8 à 10 heures
	bénigne	8 à 10 heures
plus de 12 mois	sévère	10 heures
	modérée	10 à 12 heures
	bénigne	10 à 12 heures

Figure (16) : Durée maximale de jeûne du patient déficitaire en VLCAD

D'après S.C. Van Calcar, Molecular Genetics and Metabolism, 2020

Certaines publications préconisent d'utiliser le poids du nouveau-né comme critère de temps de jeûne et non l'âge. La durée de jeûne préconisée est alors de 1 heure par kilogramme, jusqu'à 8 heures (pour 8 kilogrammes) (71).

Il n'est pas nécessaire de modifier le régime protéique en cas de déficit en VLCAD. Certaines études suggèrent cependant qu'un apport accru en protéines permet de réduire le taux de masse grasse (72). Il existe néanmoins un risque d'hyperammoniémie lors des épisodes de décompensation, dans ce cas il est nécessaire de diminuer les apports protéiques (69).

Selon l'âge et le phénotype du patient, les apports en acides gras recommandés varient entre 20 et 55 % des apports caloriques totaux (70). Comme le bloc enzymatique du déficit en VLCAD se fait sur le métabolisme des AGCL, il convient alors de faire consommer et de supplémenter le patient en acides gras à chaîne moyenne. Ceux-ci étant moins fréquents dans l'alimentation, une supplémentation à base d'huiles enrichies en triglycérides à chaîne moyenne (TCM) est souvent nécessaire (69).

En cas de décompensation, il est nécessaire de mettre en place un régime d'urgence avec un resucrage pour limiter la carence énergétique. Un certificat d'urgence (**annexe 1**) rédigé par la filière Maladies Rares est remis à chaque patient, et doit être présenté lors de l'arrivée aux urgences.

b) Supplémentation et médicament

i) La supplémentation en L-carnitine

La supplémentation en L-carnitine est fréquente dans les déficits de la β -oxydation, pour éviter le déficit en carnitine et favoriser l'élimination des acyl-CoA. Dans le déficit en VLCAD, il est fréquemment observé une faible concentration de carnitine libre pouvant motiver la prescription de L-carnitine à faible dose (73). Cependant, dans le déficit en VLCAD, il existe un risque d'augmentation de la synthèse des acylcarnitines responsables de cardiotoxicité, la supplémentation en L-carnitine est donc encore débattue. Il ne semble pas nécessaire de supplémenter en L-carnitine en l'absence de carnitine libre basse, et il convient d'éviter la supplémentation en présence de troubles cardiaques (70).

ii) La triheptanoïne

La triheptanoïne est un triglycéride constitué de 3 acides gras à 7 atomes de carbone. Lorsqu'elle entre dans la β -oxydation mitochondriale des acides gras, elle présente un effet anaplérotique par la formation d'acétyl-CoA et d'une molécule de propionyl-CoA, précurseur du succinyl-CoA, un des intermédiaires du cycle de Krebs. Son utilisation aux alentours de 30% de l'apport calorique total, semble montrer un intérêt, notamment dans l'amélioration de la tolérance musculaire (74). Cependant des effets indésirables comme une mauvaise tolérance digestive sont fréquents, compliquant la compliance au traitement du patient (75).

iii) La supplémentation en acides gras essentiels

Lors du régime pauvre en AGCL, un déficit en acides gras essentiels (acide linoléique, α -linolénique, arachidonique, docosahéaénoïque) est observé chez les patients présentant un déficit en VLCAD, mais la traduction clinique est peu décrite. Ces acides gras peuvent être fournis via certaines huiles (noix, soja, colza...) (69). En cas de carence en acides gras essentiels érythrocytaires, une supplémentation doit être envisagée (70).

iv) Le bézafibrate

Le bézafibrate est un agoniste des PPAR α (peroxisome proliferator-activated receptor), classiquement utilisé comme médicament hypolipémiant. L'action agoniste des PPAR α est à l'origine d'une augmentation de la synthèse de CPT2 et de VLCAD (76). Certaines publications ont montré un effet positif chez certains patients, au niveau biologique et clinique, mais d'autres études suggèrent une absence d'efficacité (77). Son utilisation hors protocole de recherche n'est pas recommandée.

C) Dépistage néonatal du déficit en VLCAD : étude de la distribution des biomarqueurs

1) Les marqueurs du déficit en VLCAD

a) Les marqueurs utilisés pour le dépistage néonatal

D'après les données de l'International Society of Newborn Screening de 2022, le dépistage néonatal est réalisé dans 21 pays d'Europe : Allemagne, Autriche, Belgique, Croatie, Danemark, Estonie, Espagne, Finlande, Hongrie, Islande, Israël, Italie, Norvège, Pays-Bas, Pologne, Portugal, République Tchèque, Slovaquie, Slovénie, Suède et Ukraine. Dans le monde, ce déficit est notamment dépisté aux Etats-Unis, dans les différentes provinces de Chine et au Japon.

Le marqueur le plus fréquemment utilisé en première intention est le C14 :1. Il est souvent associé au ratio C14 :1/C2. Dans certains cas, comme aux Pays-Bas, il suffit qu'un seul des deux marqueurs (C14 :1 ou C14 :1/C2) soit supérieur au seuil pour que le résultat soit considéré comme positif. D'autres acylcarnitines et ratios comme le C14, C14 :2, C14 :1/C12 :1 et C14 :1/C16 sont parfois utilisés en complément du C14 :1.

Il est difficile de réaliser un état des lieux exhaustif des seuils utilisés à l'étranger, car au sein d'un même territoire, le dépistage néonatal est parfois extrêmement variable. Dans certains pays où le dépistage néonatal est organisé par régions, les valeurs seuils diffèrent selon les laboratoires. De plus, le prélèvement n'a pas forcément lieu entre la 48^e et 72^e heure de vie du nouveau-né, certains pays ; comme le Portugal et les Pays-Bas ont un intervalle bien plus large, ce qui peut modifier les valeurs seuils.

Le **tableau 1** ci-dessous récapitule les marqueurs utilisés, ainsi que les seuils lorsqu'ils ont été identifiés. L'intervalle autorisé concernant l'heure de prélèvement est également indiqué. « N.D » (Non défini) signifie que les marqueurs utilisés pour le dépistage du VLCAD sont mentionnés, mais qu'aucun seuil n'a été retrouvé.

Tableau (1) : Marqueurs utilisés pour le dépistage néonatal du déficit en VLCAD

Pays	Age au prélèvement (Heures)	C14 (μM)	C14 :1 (μM)	C14 :2 (μM)	C14 :1/C2	C14 :1/C12 :1	C14 :1/C16
Allemagne (78)			0,36				
Italie (79)	48 – 72	0,80	0,70	ND	ND		ND
Portugal (80)	72-144		0,46	0,17		6,0	
Pays-Bas (81)	72-144		0,60		0,023		
République Tchèque (82)	48-72		ND				ND
Suède (83)	48-72		0,39		0,015		
Japon (84)	96-120		0,40		0,017		

b) L'évaluation des ratios

La sensibilité et la valeur prédictive positive (VPP) du C14 :1 varie énormément suivant le cut-off utilisé et les publications. Par exemple, les Pays-Bas utilisaient jusqu'en 2007 un seuil à 0,80 μM pour le C14 :1, dont la sensibilité est évaluée à 50% et la VPP à 66%. La baisse du seuil du C14 :1 après un faux négatif à 0,60 μM augmentera la sensibilité à 58%, mais a réduit la VPP à 47%. L'ajout du ratio C14 :1/C2 avec un seuil à 0,020 permettra d'atteindre une sensibilité de 93%, et diminuera la VPP à 16%. Une augmentation de ce ratio à 0,023 augmentera la VPP à 37% (85). L'enjeu du dépistage néonatal réside dans l'intérêt de trouver un marqueur ayant la plus haute sensibilité possible, en limitant la baisse de la VPP. C'est sur ce postulat que de nombreux ratios ont été étudiés. Les patients diagnostiqués avec le ratio C14 :1/C2 n'avaient pas tous un C14 :1 supérieur au seuil, même lorsque l'activité enzymatique résiduelle était < 20 %.

Dans une publication de 2024 (84), Tajima *et al.* ont comparé les ratios entre le C14 :1 et divers acylcarnitines sur 214 enfants testés positifs lors du dépistage néonatal du déficit en VLCAD. Après confirmation génétique, les patients ont été classés en différents groupes (homozygotes, hétérozygotes, non atteints) puis en sous-groupes selon l'activité enzymatique résiduelle. Les résultats montrent que le C14 :1 est souvent pris en défaut, étant parfois positif chez les patients hétérozygotes et chez ceux non porteurs de mutation, ainsi que négatif chez certains patients homozygotes. Leurs résultats sont en accord avec l'étude de Diekman *et al.* concernant le ratio C14 :1/C2, ce dernier étant un marqueur plus sensible que le C14 :1. Les auteurs ont également testé d'autres ratios dont les résultats sont affichés dans la **figure 17** ci-dessous.

Characteristic	Acylcarnitine Ratios												
	C14:1/ C18:1	C14:1/ C18	C14:1/ C16	C14:1/ C16-OH	C14:1/ C14	C14:1/ C12	C14:1/ C10	C14:1/ C8	C14:1/ C6	C14:1/ C4	C14:1/ C3	C14:1/ C2	C14:1/ C0
Optimal cutoff	0.319	0.600	0.153	19.444	1.398	1.264	1.905	3.725	8.828	1.959	0.394	0.023	0.025
Sensitivity	0.788	0.634	0.915	0.926	0.709	0.941	0.978	0.989	0.986	0.914	0.559	0.895	0.696
Specificity	0.949	0.854	0.976	1.000	0.805	0.902	1.000	1.000	1.000	0.892	0.951	0.951	0.610
Area under the ROC curve	0.919	0.797	0.972	0.991	0.814	0.972	0.992	0.999	0.997	0.942	0.768	0.978	0.694

Figure (17) : Analyse ROC des ratios entre le C14 :1 et les autres acylcarnitines

Tajima et al, 2024, International Journal of Neonatal Screening

Ces résultats montrent que les ratios C14 :1/C6, C14 :1/C8 et C14 :1/C10 montrent une meilleure sensibilité et spécificité que le ratio C14 :1/C2. Cependant cette étude est réalisée seulement sur échantillons de patients positifs au dépistage néonatal, et ces marqueurs doivent être évalués à plus grande échelle.

Yamada *et al.* en 2019 ont évalué sur sérum et sur buvard le C14 :1, les ratios C14 :1/C2, C14 :1/C12 :1 et C14 :1/C16 à partir de 23 patients VLCAD, 15 hétérozygotes et un groupe contrôle de 251 buvards négatifs. Ils concluent à une meilleure sensibilité du sérum, notamment du C14 :1/C12 :1, permettant d'exclure les faux positifs dus aux hétérozygotes. Concernant les buvards, ils sont moins sensibles que le plasma, et l'utilisation d'un ratio tel que le C14 :1/C2 permet de limiter les faux négatifs comparativement à un C14 :1 seul (86).

c) Les sources de faux positifs et de faux négatifs

Les faux positifs liés à une augmentation du C14 :1 ainsi que du ratio C14 :1/C2, les deux marqueurs les plus fréquemment utilisés pour le dépistage néonatal du déficit en VLCAD, sont nombreux.

Une source fréquente de faux positifs est les patients en état de jeûne : il est rapporté une augmentation du C14 :1, ainsi que du C14 :2 lors de ces états de jeûne (87), mais le ratio C14 :1/C12 :1 semble permettre une différence entre cet état physiologique et le déficit enzymatique. En cas de déficit en VLCAD, le ratio C14 :1/C12 :1 est augmenté, alors qu'il est normal en cas de jeûne, l'oxydation des acides gras en C12 ne dépendant pas de cette enzyme.

Il existe une variabilité ethnique des biomarqueurs du déficit en VLCAD, pouvant conduire à de faux positifs. Mais cette dernière n'est pas assez marquée pour justifier une prise en compte de l'ethnie (88). On retrouve également plus de faux positifs chez les prématurés ainsi que chez les patients ayant un petit poids de naissance. Il n'y a aucune différence selon le sexe du nouveau-né (88). Les résultats faux positifs sont également plus souvent associés à une baisse du poids du patient dans les premiers jours de vie (89).

Les patients hétérozygotes, non malades, peuvent également être à l'origine de faux positifs, sans élévation du ratio C14 :1/C12 :1 (86). Au vu de ces causes non exhaustives de faux positifs, il semble que le ratio C14 :1/C12 :1 puisse être utilisé en seconde intention pour limiter le nombre de faux positifs, ce dernier permettant de s'affranchir des patients hétérozygotes et des patients en état de jeûne.

Les faux négatifs sont dépendants du seuil utilisé pour les biomarqueurs. Une perfusion de glucose, réduisant le catabolisme et l'accumulation d'acylcarnitines, ou une carnitine libre basse pouvant être liée à un régime végétarien de la mère, diminuant le couplage des acyl-CoA en acylcarnitines, sont des sources possibles de faux négatifs.

2) Etude de la distribution du C14 :1 et des ratios au CRDN de la région Centre Val de Loire

a) Matériel et méthode

Dans le but d'établir des valeurs de référence pour le C14 :1 ainsi que pour les différents ratios pertinents cités dans la littérature scientifique, nous avons entrepris une étude de distribution des biomarqueurs du VLCAD à partir des échantillons sanguins recueillis sur papier buvard. Ces échantillons ont été collectés dans le cadre du programme de dépistage néonatal au sein de la région Centre-Val de Loire. Nous avons opté pour un échantillonnage systématique, incluant l'ensemble des buvards enregistrés sur une période s'étendant du 19 septembre 2023 au 7 juillet 2024. Cette période de collecte nous a permis de réunir un total de 15 137 buvards. Une extraction des données démographiques (sexe, poids, semaines d'aménorrhée) a été réalisée sur la même période à partir du centralisateur du site voozanoo, utilisé par le CRDN pour la validation du dépistage néonatal.

Les échantillons ont été anonymisés, garantissant ainsi la confidentialité des participants. Seules les données démographiques et cliniques inscrites sur le buvard ont été collectées. Afin d'assurer la conformité légale et éthique, la population étudiée a fait l'objet d'une déclaration auprès de la Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés (CNIL). De plus, ces informations sont enregistrées dans le registre des traitements informatiques du Centre Hospitalier Régional Universitaire (CHRU) de Tours, sous le numéro d'enregistrement n°DC-2021-4594.

Les échantillons ont été préparés et analysés en suivant la méthode détaillée par le fournisseur du kit de dosage. Ils ont été analysés dans le cadre du dépistage néonatal des maladies héréditaires du métabolisme, en utilisant le kit MassChrom® Amino Acids and Acylcarnitines from Dried Blood / Non Derivatised - LC-MS/MS (57000/FR Chromsystems®).

Les échantillons extraits ont été analysés par FIA-MS/MS. L'équipement de spectrométrie de masse utilisé est un Xevo TQD (Waters®) piloté par le logiciel Ionlynx.

Les patients dépistés pour un trouble de la β -oxydation des acides gras sur la période sélectionnée ont été retirés afin de limiter l'impact de valeurs extrêmes.

b) Résultats

L'étude a porté sur une population de 15 137 échantillons sanguins recueillis sur papier buvard. Les données démographiques sont exhaustives pour l'ensemble des patients. Les termes des naissances varient de 23 à 42 semaines d'aménorrhées, avec une médiane à 39. Les prématurés, dont le terme est inférieur à 37 semaines d'aménorrhées, représentent 6% des patients. Le poids de naissance est variable, de 404 à 5 400g, avec une médiane à 3 285g. Les dossiers des nouveau-nés présentant des poids extrêmes (supérieur à 5 000g) ont été recherchés afin de s'assurer qu'il s'agissait bien de buvards prélevés au 3^e jour de vie. L'effectif comporte 47,9% de filles et 52,1% de garçons.

Distribution des biomarqueurs dans la population générale

Le **tableau (2)** présente les résultats du C14 :1 et des ratios C14 :1/C2, C14 :1/C8 et C14 :1/C12 :1 obtenus sur la totalité de la population étudiée.

Le nouveau-né présentant un C14 :1 à 0,731 μ M montre aussi un ratio C14 :1/C2 et un ratio C14 :1/C8 supérieur aux 99,9^e percentiles. Cependant, après recherche de son dossier, il s'agissait d'un nouveau-né en état de jeûne, comme en témoigne son ratio C14 :1/C12 :1 normal.

Le nouveau-né présentant un ratio C14 :1/C2 à 0,041 ne présente pas d'augmentation du C14 :1, et son C2 est autour du 1^{er} percentile sur la population étudiée.

Le nouveau-né présentant un ratio C14 :1/C8 à 10,59 présente également une légère augmentation du C14 :1 (0,413 μ M), un ratio C14 :1/C2 légèrement supérieur au 99,9^e percentile (0,019) et un ratio C14 :1/C12 :1 à 5,3.

Tableau (2) : Distribution du C14 :1 et des différents ratios, sur 15 137 échantillons

	C14 :1 (μ M)	C14 :1/C2	C14 :1/C8	C14 :1/C12 :1
Minimum	0,018	0,001	0,02	0,25
Maximum	0,731	0,041	10,59	7,64
Moyenne	0,092	0,004	1,57	1,72
Médiane	0,083	0,004	1,49	1,61
Ecart-type	0,040	0,002	0,58	0,52
99^e percentile	0,231	0,011	3,31	3,41
99,5^e percentile	0,264	0,013	3,66	3,76
99,9^e percentile	0,363	0,018	4,74	4,86

Impact du sexe sur la distribution des biomarqueurs

Le **tableau (3)** présente les résultats obtenus dans la sous-population chez les filles et les garçons d'après les données démographiques, sur 15 137 patients. Un test de Student permet de montrer une différence significative entre les moyennes pour le C14 :1 ainsi que pour les ratios C14 :1/C8 et C14 :1/C12 :1 ($p < 0,0001$). Le ratio C14 :1/C2 ne montre pas de différence entre les hommes et les femmes ($p = 0,947$).

Tableau (3) : Distribution du C14 :1 et des différents ratios, par sexe, sur 15 137 échantillons

	C14 :1 (µM)		C14 :1/C2		C14 :1/C8		C14 :1/C12 :1	
	F	H	F	H	F	H	F	H
Minimum	0,023	0,018	0,001	0,001	0,02	0,25	0,51	0,25
Maximum	0,549	0,731	0,033	0,041	10,59	7,53	5,91	7,64
Moyenne	0,088*	0,096*	0,004	0,004	1,55*	1,59*	1,69*	1,74*
Médiane	0,080	0,087	0,004	0,004	1,47	1,51	1,59	1,63
Ecart-type	0,037	0,041	0,002	0,002	0,58	0,57	0,50	0,53
99e Percentile	0,218	0,243	0,011	0,011	3,28	3,30	3,31	3,49
99,5e Percentile	0,242	0,279	0,013	0,013	3,62	3,66	3,65	3,80
99,9e Percentile	0,352	0,363	0,018	0,019	4,84	4,69	4,45	5,06

*Différence statistiquement significative entre H et F ($p < 0,0001$).

Impact de la prématurité sur la distribution des biomarqueurs

Le **tableau (4)** présente les résultats obtenus dans la sous-population des nouveau-nés prématurés, nés avant 37 semaines d'aménorrhées. L'effectif est de 923 échantillons. La moyenne du C14 :1 et les ratios associés chez le nouveau-né prématuré sont statistiquement moins élevés que chez le nouveau-né à terme (p -values $< 0,0001$). Le 99,9^e percentile du C14 :1 et du C14 :1/C12 :1 sont cependant légèrement plus élevés chez les prématurés. Ceci est dû à quelques valeurs extrêmes tirant les quartiles vers les hautes valeurs. On remarque également que la médiane est sensiblement identique à celle des nouveau-nés à terme, bien que la moyenne soit différente.

Tableau (4) : Distribution du C14 :1 et des différents ratios chez les prématurés, sur 923 échantillons

	C14 :1 (μM)	C14 :1/C2	C14 :1/C8	C14 :1/C12 :1
Minimum	0,018	0,001	0,25	0,25
Maximum	0,646	0,017	5,19	7,64
Moyenne	0,049	0,002	0,78	1,37
Médiane	0,083	0,004	1,41	2,12
Ecart-type	0,045	0,002	0,56	,073
99e Percentile	0,231	0,012	3,11	4,43
99,5e Percentile	0,321	0,013	3,44	4,78
99,9e Percentile	0,472	0,016	4,72	6,29

Impact du poids sur la distribution du C14 :1

La **figure 18** ci-dessous présente le C14 :1 en fonction du poids de naissance. Il n'y a aucune corrélation retrouvée entre ces deux paramètres. Le nouveau-né présentant un C14 :1 à 0,646 μM pour un poids de 1100g affiche des ratios normaux. Il s'agit d'un patient prématuré, sous perfusion.

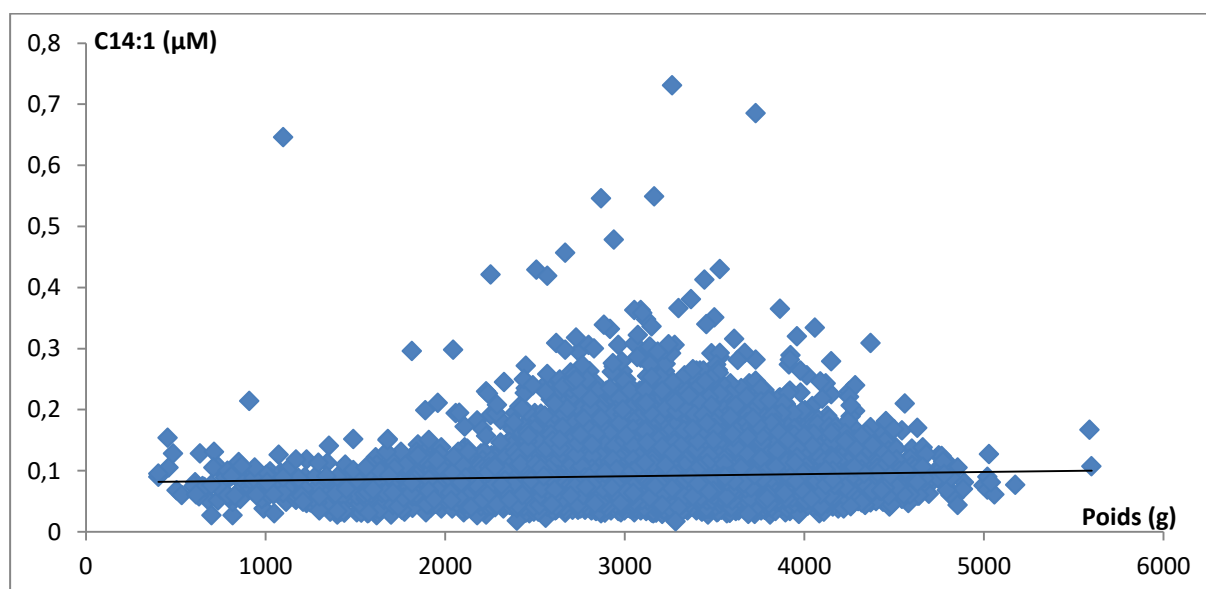


Figure (18) : C14 :1 en fonction du poids de naissance

c) Discussion

Ce travail a permis d'obtenir des données de distribution du C14 :1 ainsi que des ratios utiles d'après la littérature, notamment du C14 :1/C2, du C14 :1/C8 et du C14 :1/C12 :1. Généralement, le seuil décisionnel utilisé pour les pathologies incluses dans le programme de dépistage néonatal correspond au 99,9^e percentile, avant d'être réévalué et adapté à la population française par la suite. Cette réévaluation, souvent à la hausse, permet de limiter le nombre de faux positifs.

Contrairement aux données de la littérature, on observe une différence significative de la moyenne du C14 :1 ainsi que des ratios C14 :1/C8 et C14 :1/C12 :1 entre les hommes et les femmes. La moyenne du C14 :1 et des ratios sont également significativement plus faibles chez les prématurés. Le 99,9^e percentile est plus élevé dans cette population suite à une valeur extrême. On ne retrouve pas d'impact du poids sur le C14 :1 ce qui est cohérent avec les données de la littérature. Bien qu'il existe des différences statistiques au sein de ces sous-populations étudiées, elle n'est pas assez grande pour avoir une répercussion sur la mise en place de seuils spécifiques.

En pratique, tous les pays proposant le dépistage néonatal du déficit en VLCAD utilisent comme biomarqueur de première intention le C14 :1. Les ratios, notamment le C14 :1/C2 sont utilisés comme co-marqueurs de première intention. Ainsi, si nous utilisons le 99,9^e percentile du C14 :1 comme cut-off, soit 0,36 μ M, nous obtenons 15 patients « positifs » sur les 15 137 échantillons. En utilisant seulement ce biomarqueur et ce cut-off, et en généralisant nos données à la population française entière, soit 750 000 naissances annuelles, cela représenterait la convocation de 740 enfants, pour une pathologie dont l'incidence est estimée aux alentours de 1 à 9 / 100 000 en Europe.

L'utilisation des ratios en cas de positivité du C14 :1 permet ainsi de diminuer le nombre de convocations, et de faux positifs. On retrouve 5 patients ayant le C14 :1 et le rapport C14 :1/C2 supérieur aux 99,9^e percentiles, et 6 présentant un C14 :1 et un rapport C14 :1/C8 supérieur aux seuils. Parmi ces 6 patients, on retrouve 3 patients ayant le C14 :1 et le ratio C14 :1/C2 positifs. L'un d'eux présente un C14 :1 et une augmentation des deux ratios, associés à un C14 :1/C12 :1 supérieur au cut-off.

Bien que le ratio C14 :1/C8 soit présenté dans la littérature comme étant le ratio le plus sensible et spécifique, notamment dans l'article de Tajima *et al.* aucun pays de l'utilise en pratique courante et les études sur le sujet sont peu nombreuses. De plus, il ne semble pas montrer de plus-value sur notre population, et sa positivité dans notre population est associée à une augmentation du C14 :1 dans seulement 50% des cas.

Le choix d'un marqueur de dépistage néonatal est complexe : Il doit être le plus sensible possible avec la VPN la plus proche de 100%. Mais il faut éviter au mieux de sacrifier la spécificité et la VPP, afin de limiter le nombre de faux positifs et de convocations, source de stress pour les parents. Il nous est ici possible de faire une estimation de la VPP, en utilisant l'incidence de la maladie en Europe, et en extrapolant notre population à la population française. Ainsi, en utilisant le C14 :1 et le ratio C14 :1/C2 avec comme cut-off les 99,9^e percentiles de notre population, nous arrivons à une convocation annuelle d'environ 250 enfants. L'incidence estimée étant entre 1 et 9 enfants pour 100 000 naissances en Europe, la VPP estimée oscille alors entre 3 et 37%. La VPP est faible, mais est semblable à celle des autres pathologies du dépistage néonatal, d'après le rapport d'activité 2023 (en cours de validation). Une VPP autour de 37% correspond à celle évaluée aux Pays-Bas (85), qui utilisent un seuil de C14 :1 et de C14 :1/C2 bien supérieur à notre 99,9^e percentile : 0,60 μ M pour le C14 :1 et 0,023 pour le ratio C14 :1/C2. Pour la VPN, il n'est pas possible de l'estimer, le nombre de faux négatifs n'étant pas connu dans notre population.

d) Proposition d'un algorithme décisionnel

Ce travail permet de proposer un algorithme décisionnel à destination des CRDN. Cet outil est inspiré de ceux utilisés en pratique courante et réalisés par la Commission Biologie. A la vue des données de la littérature, des résultats de ce travail et de la pratique des pays dépistant le déficit en VLCAD, il semble optimal d'opter pour le C14 :1 comme marqueur de première intention, et d'utiliser ensuite le ratio C14 :1/C2 pour limiter les faux positifs. Cet algorithme correspond à la **figure 19**. Il pourra servir de base de travail et sera à étoffer par la Commission Biologie et la filière Maladies Rares.

PROPOSITION D'ARBRE DECISIONNEL DU DEPISTAGE DU DEFICIT EN VLCAD

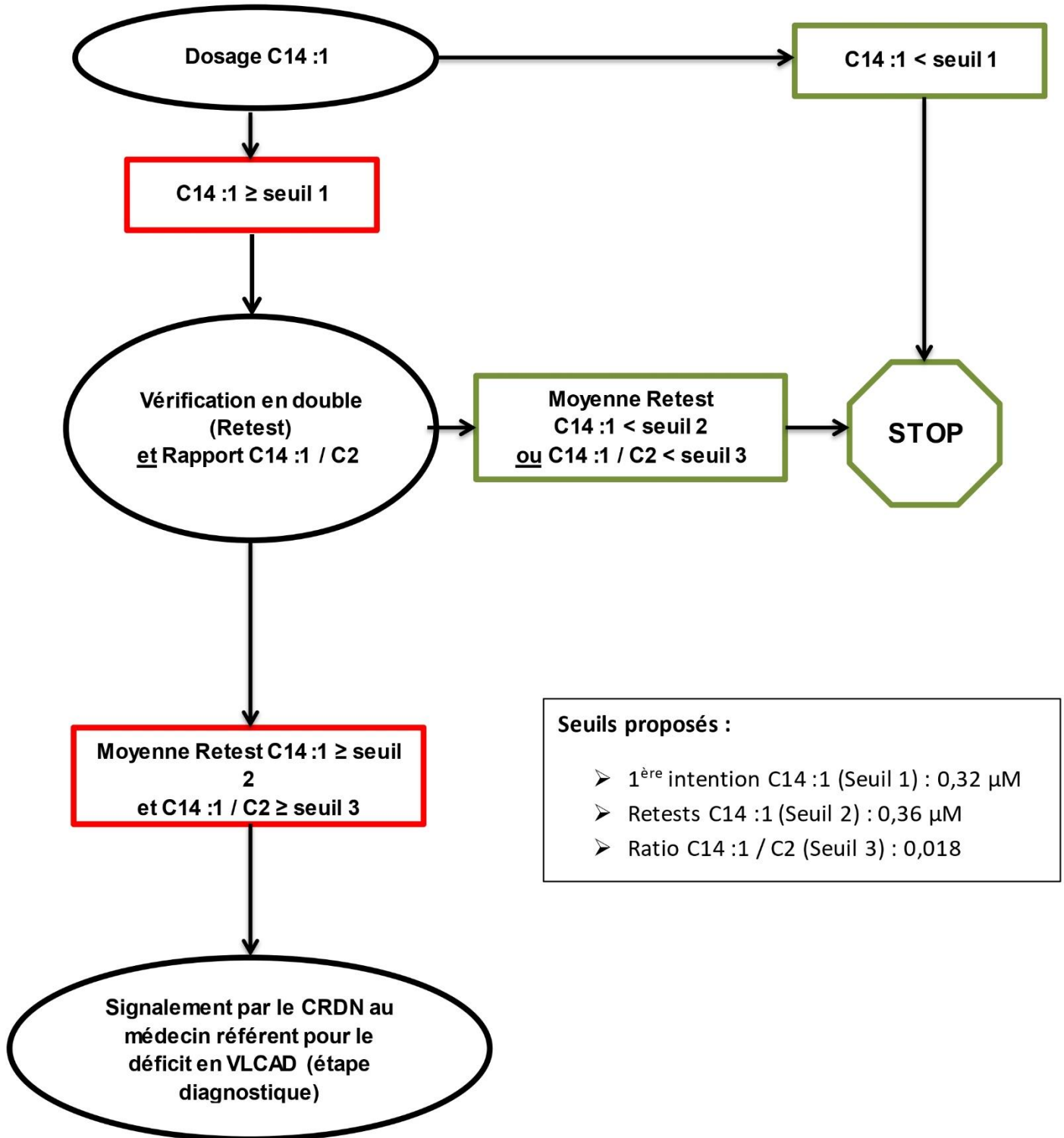


Figure (19) : Proposition d'un algorithme décisionnel pour le dépistage du déficit en VLCAD

Le seuil 1, ou seuil de retest, est usuellement le 99,5^e percentile, soit 0,26 μM . Le seuil 2, ou seuil d'action, correspond au 99,9^e percentile, soit 0,36 μM . Cependant, ce seuil de 0,26 μM étant assez éloigné du seuil d'action, il est nécessaire de le rehausser afin de limiter le nombre de retests. Nous proposons un ajustement de 10 % par rapport au seuil d'action, soit un seuil de retest de 0,32 μM . Cet ajustement de 10 % correspond au coefficient de variabilité analytique du C14 :1, obtenu à partir du passage de 25 CIQ. Le seuil d'action, de 0,36 μM est cohérent avec le cut-off utilisé à l'étranger, bien que relativement bas par rapport à certains pays (Italie, Pays-Bas). Il semble plus sûr de partir sur un seuil relativement bas, qui sera réévalué et adapté à la population française en cas de nécessité.

Si le résultat du premier dosage est supérieur à ce seuil, alors le buvard est réanalysé en double. Si la moyenne des retests est supérieure au seuil 2, il est nécessaire d'utiliser le ratio C14 :1/C2. Le seuil semblant le plus pertinent ici est le 99,9^e percentile, soit 0,018. Il est cohérent avec les cut-offs utilisés dans les pays utilisant ce marqueur pour le dépistage néonatal du déficit en VLCAD et concorde avec les données de la littérature.

En cas de résultat positif, le résultat est alors signalé par le CRDN au médecin référent pour convocation de l'enfant. Le C14 :1 étant un marqueur qui peut être augmenté en cas de jeûne, il semble utile de communiquer à titre informatif le ratio C14 :1/C12 :1 au médecin référent : si ce ratio est supérieur à 5, alors l'augmentation du C14 :1 ne semble pas liée à un état de jeûne. Dans notre population, 5 patients sont considérés comme suspects et nécessiteraient une consultation pédiatrique. Parmi ces 5 patients, un seul présente un ratio C14 :1/C12 :1 supérieur au seuil.

Une fois convoqué, l'enfant est examiné et des dosages complémentaires (profil des acylcarnitines, chromatographie des acides aminés, chromatographie des acides organiques urinaires) sont effectués afin de confirmer ou d'infirmer les résultats obtenus lors du dépistage néonatal. Si les résultats obtenus sont en faveur du déficit en VLCAD, une analyse génétique du gène *ACADVL* est proposée, permettant de poser le diagnostic. La prise en charge diététique de l'enfant débutera avant l'obtention des résultats afin d'éviter tout risque de décompensation.

e) Conclusion

Le dépistage néonatal évolue parallèlement aux avancées médicales et technologiques, notamment dans le secteur des maladies héréditaires du métabolisme. Le déficit en VLCAD, de physiopathologie complexe et aux tableaux cliniques variés, présente tout particulièrement un intérêt à être dépisté précocement. Le dépistage néonatal permettrait une prise en charge précoce du déficit en VLCAD, avec une mise en place rapide de règles hygiéno-diététique (mise en place d'un régime d'urgence, éviction des AGCL, éviction du jeûne, éducation des parents). Cela permettra de diminuer la morbidité notamment autour de la forme néonatale, pouvant se révéler fatale.

L'objectif de ce travail de thèse est d'étudier sur une population française, la distribution des marqueurs clés du dépistage néonatal du VLCAD. En ressort des 99,9^e percentiles comparables aux seuils utilisés à l'étranger et cohérents avec les données de la littérature. Nous pouvons alors proposer un arbre décisionnel, sous la forme de ceux utilisés pour les autres maladies métaboliques incluses dans le programme national de dépistage néonatal. Nous proposons ainsi, au vu des marqueurs utilisés à l'étranger, des données de la littérature et des résultats de notre étude, d'utiliser le C14 :1 en première intention avec un seuil de retest de 0,32 μM . Après un retest en double, si la moyenne des retests est supérieure au seuil d'action de 0,36 μM et que le ratio C14 :1/C2 est supérieur à 0,018, le patient est considéré suspect et doit être pris en charge par le pédiatre référent. Le ratio C14 :1/C12 :1 devrait être communiqué à titre indicatif, permettant d'éliminer une augmentation du C14 :1 liée à un état de jeûne.

Ces données de répartition ainsi que cet arbre décisionnel pourront servir de support pour la Commission Biologie lors du choix des biomarqueurs et des cut-offs à utiliser lors du déploiement du dépistage néonatal du déficit en VLCAD.

Annexe 1 : Certificat d'urgence des déficits de la β -oxydation des acides gras à chaîne longue

CERTIFICATS URGENCE — FILIERE G2M

V2 – Dec 2023

Déficits de la β -oxydation mitochondriale des acides gras VLCAD, LCHAD, CPT2, Translocase, Trifonctionnelle, Acidurie Glutarique de type 2 (AG2)

Etiquette

Patient prioritaire: ne doit pas attendre aux urgences

En cas de fièvre, vomissements, diarrhée, situation de jeûne
Risque d'hypoglycémie, coma, trouble du rythme cardiaque et/ou insuffisance cardiaque, insuffisance hépatique, rhabdomyolyse

Ne pas attendre les signes de décompensation, débiter systématiquement la prise en charge ci-dessous

1 BILAN EN URGENCE

Glycémie capillaire et veineuse, **CPK**, Ammoniémie, ionogramme sanguin, **kaliémie**, calcémie, urée, créatinine, gaz du sang, lactate, ASAT, ALAT, GGT, TP - **Facteur V**. Si **signe cardiaque** ou anomalie sur le scope : ECG, BNP, Troponine +/- échographie cardiaque. Ne doit pas retarder la perfusion.

2 TRAITEMENT A METTRE EN PLACE EN URGENCE, sans attendre les résultats du bilan

- Si **hypoglycémie** $<60\text{mg/dL}$ (3.3mmol/L) : Resucrage 1ml/kg de G30% (max 30mL) per os ou entéral si conscient ou 3mL/kg de G10% IV si inconscient (G30% également possible en IV).
- Si **hypovolémie**, **remplissage** avec Ringer Lactate ou NaCl 0.9% à **10ml/kg** (maximum 500 ml) en l'absence de signes cardiaque, à réévaluer et compléter si besoin.
- Mettre en place une perfusion sans attendre les résultats du bilan pour assurer un **débit glucidique continu** : Perfusion à base de sérum glucosé **G10%** + NaCl 6g/L (100 meq/L) SANS POTASSIUM jusqu'à exclusion d'une rhabdomyolyse.
- Contre-indication aux lipides IV

Age	0-3 mois	3-24 mois	2- 4 ans	4-14 ans	>14 ans - adulte	DEBIT MAX
Débit de perfusion	7ml/kg/h (12mg/kg/min)	6ml/kg/h (10mg/kg/min)	5ml/kg/h (8mg/kg/min)	3,5ml/kg/h (6mg/kg/min)	2,5ml/kg/h (4mg/kg/min)	<u>120ml/h</u> (3L/24h)

Si patient impossible à perfuser=> Sonde nasogastrique: préparer les solutés IV ci-dessus et les passer par la sonde aux mêmes débits chacun en Y

- En l'absence de troubles digestifs et si préparation disponible : à la place de la perfusion, **régime d'urgence** en nutrition entérale continue sur SNG ou gastrostomie (préparation connue des parents selon feuille diététique)
- En l'absence de rhabdomyolyse (si CPK<1000) et d'insuffisance rénale : remettre du potassium dans la perfusion selon les apports standards (ex: Polyionique, Bionolyte, B45, Glucidion...)
- L-carnitine (LEVOCARNIL)** : poursuivre la carnitine per os. Si PO impossible, donner doses habituelles du patient en IV continu. Arrêter si trouble du rythme
- Poursuivre les autres traitements habituels (riboflavine, corps cétoniques...) si disponibles et si PO possible. Si huile spéciale (TCM, triheptanoïne...) la donner per os dès que le patient peut manger, même si perfusion glucosée.
- Traitement spécifique de l'éventuelle infection intercurrente
- Si **NH3** $>150\mu\text{M}$ (enfants) ou $>100\mu\text{M}$ (adultes) : faire un contrôle et sans attendre le résultat, débiter **Benzoate de Sodium IV** continu (ou PO / SNG si pas de voie, d'abord) : dose de charge 250 mg/kg sur 2 heures (Max 8g) puis 250 mg/kg/24h (Max 12g/24h).

3 SIGNES DE GRAVITE= Avis/transfert en réanimation

- Trouble neurologique, prostration, coma** ou **hyperammoniémie sévère** : Nouveau-né $>200\mu\text{mol/L}$ – Enfant & Adulte $>150\mu\text{mol/L}$
- Trouble du rythme**: arrêter le levocarnil, et prise en charge habituelle selon le protocole local
- Signes ECG** d'hyperkaliémie, **hyperkaliémie** $>7\text{ mmol/L}$: arrêter le potassium, traitements hypo-kaliémants
- CPK** $>15\text{ 000 UI/L}$ → **Hyperhydratation**: laisser les apports glucidiques comme ci-dessus et compléter avec NaCl 0,09% et Bicarbonate de Sodium 14 % en quantités équivalentes pour atteindre 3L/m²/j (si non atteint avec la perfusion ci-dessus dans le tableau). Surveillance de la fonction cardiaque indispensable.
- Défaillance hémodynamique et/ou insuffisance rénale**
- Insuffisance hépatique sévère**: TP<50% facteur V<30%
- Dans tous les cas, veiller à maintenir les apports glucidiques**

4 SURVEILLANCE

- Scope, ECG** - Echocardiographie en cas de signe évocateur d'insuffisance cardiaque
- Dextro /4h** : objectifs 1 à 1.8g/L. Si glycémie $>2\text{g/L}$ et glycosurie, envisager l'insuline 0.01UI/kg/h à adapter /h. Envisager la réduction d'apports en sucre (20-25%) si hyperglycémie malgré une insulinothérapie à 0.05UI/kg/h
- Bilan biologique** de contrôle CPK, iono, NH3, TP, bilan hépatique :
 - si bilan initial normal et stabilité clinique. Contrôle du bilan entre H12 et H24
 - dans toutes les autres situations : surveillance rapprochée, et réévaluation des apports hydriques et ioniques. Adapter les apports de potassium à la kaliémie (en l'absence d'apport dans la perfusion, il existe également un risque d'hypokaliémie)

PHYSIOPATHOLOGIE

L'oxydation des acides gras (OAG) est une voie de production d'énergie majeure de l'organisme, en particulier au jeûne et dans les états inflammatoires, dans le cœur, les muscles et le foie.

Le traitement au long cours des déficits de l'OAG repose sur :

- Régime PAUVRE en graisses, enrichi en glucose (sauf pour les déficits en MCAD)
- TCM et/ou huile triheptanoïne (sauf pour les déficits en MCAD et AG2)
- Limitation du temps de jeûne. Le temps de jeûne a été déterminé par le service spécialisé ; Il est régulièrement évalué en fonction de l'âge et de la tolérance spécifique de l'enfant (NEDC nocturne pour nourrisson, Maïzena crue au coucher chez l'enfant)
- Supplémentation en carnitine (LEVOCARNIL 10- 50 mg/kg/j en 2 à 4 prises PO, et jusqu'à 200-600mg/kg/j pour les déficits en translocase.
- +/- Supplémentation en corps cétoniques de synthèse (3-OH- BUTYRATE).
- Supplémentation en riboflavine (MADD / AG2) 100 à 200 mg/j

AIDE POUR L'ADMINISTRATION PRATIQUE DES TRAITEMENTS :

- LEVOCARNIL IV (amp. 1g=5ml), à passer pur ou dilué dans sérum phy, en Y de la perfusion
- LEVOCARNIL PO (amp. 1g=10ml), en 3 à 4 prises orales/j
- BENZOATE DE SODIUM IV (amp. 1g=10ml), à diluer volume à volume dans du G10%. Attention contient 7 meq de sodium par gramme de benzoate.

CIRCONSTANCES A RISQUE DE DECOMPENSATION

- Jeûne prolongé, infection intercurrente, fièvre, anorexie, vomissements, chirurgie, déshydratation, **soit tout état de jeûne, d'amaigrissement ou de catabolisme**. Rarement effort intense.
- **Dans toutes ces situations, le patient sera gardé en hospitalisation. Il s'agit d'une urgence :** technique le patient aux urgences avant de le transférer en hospitalisation. **AGIR VITE** évite une hypoglycémie sévère ou une atteinte cardiaque.

SIGNES CLINIQUES ET BIOLOGIQUES DE DECOMPENSATION : Ne pas attendre ces signes !

- Hypoglycémie sans cétose, insuffisance hépato cellulaire, hyperammoniémie
- **Troubles digestifs, vomissements**
- Troubles de la conscience, prostration, coma
- Trouble du rythme cardiaque, trouble hémodynamique
- Rhabdomyolyse, douleurs musculaires

Retrouver la rubrique
Urgence du site G2M

**CONTRE-INDICATIONS MEDICAMENTEUSES / CONSEILS GENERAUX :**

Interdits : acide acétylsalicylique (aspirine), acide valproïque (Dépakine®...), Corticothérapie : peser l'indication si durée >3j. pas de frein à l'usage de l'HSHC si nécessité réanimatoire.

- Tous les vaccins sont préconisés (notamment la grippe)
- **Jeûne prolongé contre-indiqué, ne jamais laisser le patient sans apport glucidique (perfusion ou NEDC)**
- Ne pas oublier les vitamines et oligo-éléments en cas d'apports parentéraux exclusifs.
- **En cas d'hospitalisation** (ou de consultation aux urgences) : les patients doivent prendre avec eux leurs traitements habituels et les produits spéciaux qu'ils ont pour préparer un régime d'urgence.
- Le traitement d'urgence sera réévalué avec le métabolicien de référence en journée.

CHIRURGIE avec Anesthésie Générale:

ATTENTION ne jamais laisser le patient à jeun sans perfusion. Appliquer le protocole d'urgence avec la perfusion ci-dessus en préparation de la chirurgie, et la poursuivre jusqu'à reprise d'une alimentation correcte (à voir avec le service référent)

- Les perfusions continues de propofol et d'étiomidate sont à éviter car présentées sous forme d'émulsion lipidique (possible en injection unique pour l'induction), les gaz anesthésiants peuvent être utilisés

NUMEROS ET MEDECINS REFERENTS

Les numéros d'astreinte téléphonique pour les urgences métaboliques de :

La nuit, seule les équipes médicales peuvent appeler pour des situations d'urgence et **seulement si** le certificat d'urgence n'est pas compris ou si l'état clinique ou le résultat du bilan sont inquiétants. Anticiper les appels avant la nuit autant que possible.

Les questions de secrétariat se traitent via le secrétariat médical en semaine ou par un e-mail adressé au médecin métabolicien référent du patient.

Certificat remis le

Dr

Bibliographie

1. Fölling A. Über Ausscheidung von phenylbrenztraubensäure in der harm ab skoffwechselanomalie in verbindung mit imbezillität. *Ztichr Physiol Chem.* 1934;
2. Guthrie R, Susi A. A simple phenylalanine method for detecting phenylketonuria in large populations of newborn infants. *Pediatrics.* sept 1963;32:338-43.
3. Farriaux JP. Histoire et organisation du programme français de dépistage néonatal systématique (1967-2020). *médecine/sciences.* mai 2021;37(5):433-40.
4. Haute Autorité de Santé. Dépistage néonatal par examens biologiques - Délivrer l'information et recueillir le consentement des parents - Guide pour les professionnels. 2021.
5. Centre National de Coordination du Dépistage Néonatal. Rapport d'activité : Programme National du dépistage néonatal - Année 2021 [Internet]. 2021. Disponible sur: <https://depistage-neonatal.fr/wp-content/uploads/2023/01/Rapport-Activite-2021.pdf>
6. Haute Autorité de Santé. Critères d'évaluation pour l'inté-gration de nouvelles maladies au programme national du dépistage à la naissance [Internet]. 2023 [cité 13 mai 2024]. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2023-03/guide_methodologique_depistage_neonatal.pdf
7. Agence nationale d'accréditation et d'évaluation en santé. Comment évaluer à priori un programme de dépistage ? Guide méthodologique. [Internet]. 2004 [cité 13 mai 2024]. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/guide_programme_depistage_rap.pdf
8. Hirtz C, Lehmann S. Blood sampling using “dried blood spot”: a clinical biology revolution underway? *Ann Biol Clin (Paris).* janv 2015;73(1):25-37.
9. Wilcox G. Impact of pregnancy on inborn errors of metabolism. *Rev Endocr Metab Disord.* mars 2018;19(1):13-33.
10. Himmelreich N, Ramón-Maiques S, Navarrete R, Castejon-Fernandez N, Garbade SF, Martinez A, et al. Significance of utilizing in silico structural analysis and phenotypic data to characterize phenylalanine hydroxylase variants: A PAH landscape. *Mol Genet Metab.* juill 2024;142(3):108514.
11. Öktem RM, İnci A, Bayrak H, Demir F, Biberoğlu G, Maviş ME, et al. Pterin Profiling in Serum, Dried Blood Spot, and Urine Samples Using LC-MS/MS in Patients with Inherited Hyperphenylalaninemia. *Mol Syndromol.* 2024;15(3):185-93.
12. Haute Autorité de Santé. Évaluation a priori de l'extension du dépistage néonatal à une ou plusieurs erreurs innées du métabolisme par la technique de spectrométrie de masse en tandem en population générale en France 1er volet : dépistage du déficit en MCAD [Internet]. 2011. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2011-07/argu_depistage_neonatal_vf.pdf
13. Haute Autorité de Santé. Évaluation a priori de l'extension du dépistage néonatal à une ou plusieurs erreurs innées du métabolisme par la technique de spectrométrie de masse en tandem en population générale en France (volet 2) [Internet]. 2020. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2020-01/synthese_dnn_eim.pdf
14. Loeber JG, Platis D, Zetterström RH, Almashanu S, Boemer F, Bonham JR, et al. Neonatal Screening in Europe Revisited: An ISNS Perspective on the Current State and Developments Since 2010. *Int J Neonatal Screen.* 5 mars 2021;7(1):15.
15. Haute Autorité de Santé. Dépistage néonatal : Réévaluation de l'opportunité d'intégrer cinq erreurs innées du métabolisme au programme de DNN. 2024.
16. Connes P, Nader E. Le globule rouge drépanocytaire : données fonctionnelles. *Rev Médecine Interne.* nov 2023;44(4):4S18-23.

17. Haute Autorité de Santé. La HAS recommande la généralisation du dépistage de la drépanocytose à la naissance [Internet]. 2022. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/jcms/p_3385623/fr/la-has-recommande-la-generalisation-du-depistage-de-la-drepanocytose-a-la-naissance
18. Bardakdjian-Michau J, Dhondt JL, Ducrocq R, Galactéros F, Guyard A, Huchet FX, et al. [Good practices for the study of hemoglobin]. *Ann Biol Clin (Paris)*. 2003;61(4):401-9.
19. Kalman L, Lindegren ML, Kobrynski L, Vogt R, Hannon H, Howard JT, et al. Mutations in genes required for T-cell development: IL7R, CD45, IL2RG, JAK3, RAG1, RAG2, ARTEMIS, and ADA and severe combined immunodeficiency: HuGE review. *Genet Med Off J Am Coll Med Genet*. 2004;6(1):16-26.
20. Marakhonov AV, Efimova IY, Mukhina AA, Zinchenko RA, Balinova NV, Rodina Y, et al. Newborn Screening for Severe T and B Cell Lymphopenia Using TREC/KREC Detection: A Large-Scale Pilot Study of 202,908 Newborns. *J Clin Immunol*. 5 avr 2024;44(4):93.
21. Haute Autorité de Santé. Évaluation a priori de l'extension du dépistage néonatal au déficit immunitaire combiné sévère par la technique de quantification des TRECs en population générale en France. 2022.
22. Speckmann C, Nennstiel U, Hönig M, Albert MH, Ghosh S, Schuetz C, et al. Prospective Newborn Screening for SCID in Germany: A First Analysis by the Pediatric Immunology Working Group (API). *J Clin Immunol*. juill 2023;43(5):965-78.
23. Norton L, Shannon C, Gastaldelli A, DeFronzo RA. Insulin: The master regulator of glucose metabolism. *Metabolism*. avr 2022;129:155142.
24. Glatz JFC, Luiken JJFP. From fat to FAT (CD36/SR-B2): Understanding the regulation of cellular fatty acid uptake. *Biochimie*. mai 2017;136:21-6.
25. Houten SM, Violante S, Ventura FV, Wanders RJA. The Biochemistry and Physiology of Mitochondrial Fatty Acid β -Oxidation and Its Genetic Disorders. *Annu Rev Physiol*. 2016;78:23-44.
26. Bastin J, Djouadi F. Anomalies de la β -oxydation mitochondriale des acides gras: Maladies rares et maladies communes. *médecine/sciences*. oct 2019;35(10):779-86.
27. Ranea-Robles P, Houten SM. The biochemistry and physiology of long-chain dicarboxylic acid metabolism. *Biochem J*. 15 mai 2023;480(9):607-27.
28. Radzikh I, Fatica E, Kodger J, Shah R, Pearce R, Sandler YI. Metabolic Outcomes of Anaplerotic Dodecanedioic Acid Supplementation in Very Long Chain Acyl-CoA Dehydrogenase (VLCAD) Deficient Fibroblasts. *Metabolites*. 13 août 2021;11(8):538.
29. Aoyama T, Uchida Y, Kelley RI, Marble M, Hofman K, Tonsgard JH, et al. A Novel Disease with Deficiency of Mitochondrial Very-Long-Chain Acyl-CoA Dehydrogenase. *Biochem Biophys Res Commun*. mars 1993;191(3):1369-72.
30. Aoyama T, Souri M, Ushikubo S, Kamijo T, Yamaguchi S, Kelley RI, et al. Purification of human very-long-chain acyl-coenzyme A dehydrogenase and characterization of its deficiency in seven patients. *J Clin Invest*. 1 juin 1995;95(6):2465-73.
31. Yamaguchi S, Indo Y, Coates PM, Hashimoto T, Tanaka K. Identification of Very-Long-Chain Acyl-CoA Dehydrogenase Deficiency in Three Patients Previously Diagnosed with Long-Chain Acyl-CoA Dehydrogenase Deficiency. *Pediatr Res*. juill 1993;34(1):111-3.
32. Aoyama T, Wakui K, Fukushima Y, Orii KO, Hashimoto T. Assignment of the Human Mitochondrial Very-Long-Chain Acyl-CoA Dehydrogenase Gene (LCACD) to 17p13 by in Situ Hybridization. *Genomics*. oct 1996;37(1):144-5.
33. Miller MJ, Burrage LC, Gibson JB, Strenk ME, Lose EJ, Bick DP, et al. Recurrent ACADVL molecular findings in individuals with a positive newborn screen for very long chain acyl-coA dehydrogenase (VLCAD) deficiency in the United States. *Mol Genet Metab*. nov 2015;116(3):139-45.

34. Osawa Y, Kobayashi H, Tajima G, Hara K, Yamada K, Fukuda S, et al. The frequencies of very long-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency genetic variants in Japan have changed since the implementation of expanded newborn screening. *Mol Genet Metab.* mai 2022;136(1):74-9.
35. D'Annibale OM, Koppes EA, Sethuraman M, Bloom K, Mohsen A, Vockley J. Characterization of exonic variants of uncertain significance in very long-chain acyl-CoA dehydrogenase identified through newborn screening. *J Inher Metab Dis.* mai 2022;45(3):529-40.
36. Shibata N, Hasegawa Y, Yamada K, Kobayashi H, Purevsuren J, Yang Y, et al. Diversity in the incidence and spectrum of organic acidemias, fatty acid oxidation disorders, and amino acid disorders in Asian countries: Selective screening vs. expanded newborn screening. *Mol Genet Metab Rep.* sept 2018;16:5-10.
37. Mohamed S, Elsheikh W, Al-Aqeel AI, Alhashem AM, Alodaib A, Alahaideb L, et al. Incidence of newborn screening disorders among 56632 infants in Central Saudi Arabia: A 6-year study. *Saudi Med J.* juill 2020;41(7):703-8.
38. Arnold GL, Van Hove J, Freedenberg D, Strauss A, Longo N, Burton B, et al. A Delphi clinical practice protocol for the management of very long chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency. *Mol Genet Metab.* mars 2009;96(3):85-90.
39. Zhang LF, Ding JH, Yang BZ, He GC, Roe C. Characterization of the bidirectional promoter region between the human genes encoding VLCAD and PSD-95. *Genomics.* déc 2003;82(6):660-8.
40. Hisahara S, Matsushita T, Furuyama H, Tajima G, Shigematsu Y, Imai T, et al. A Heterozygous Missense Mutation in Adolescent-Onset Very Long-Chain Acyl-CoA Dehydrogenase Deficiency with Exercise-Induced Rhabdomyolysis. *Tohoku J Exp Med.* 2015;235(4):305-10.
41. Prew MS, Camara CM, Botzanowski T, Moroco JA, Bloch NB, Levy HR, et al. Structural basis for defective membrane targeting of mutant enzyme in human VLCAD deficiency. *Nat Commun.* 27 juin 2022;13(1):3669.
42. McAndrew RP, Wang Y, Mohsen AW, He M, Vockley J, Kim JJP. Structural Basis for Substrate Fatty Acyl Chain Specificity. *J Biol Chem.* avr 2008;283(14):9435-43.
43. Seminotti B, Leipnitz G, Karunanidhi A, Kochersperger C, Roginskaya VY, Basu S, et al. Mitochondrial energetics is impaired in very long-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency and can be rescued by treatment with mitochondria-targeted electron scavengers. *Hum Mol Genet.* 15 mars 2019;28(6):928-41.
44. Raimo S, Zura-Miller G, Fezelinia H, Spruce LA, Zakopoulos I, Mohsen AW, et al. Mitochondrial morphology, bioenergetics and proteomic responses in fatty acid oxidation disorders. *Redox Biol.* mai 2021;41:101923.
45. Lefort B, Gouache E, Acquaviva C, Tardieu M, Benoist JF, Dumas JF, et al. Pharmacological inhibition of carnitine palmitoyltransferase 1 restores mitochondrial oxidative phosphorylation in human trifunctional protein deficient fibroblasts. *Biochim Biophys Acta BBA - Mol Basis Dis.* juin 2017;1863(6):1292-9.
46. Gélinas R, Thompson-Legault J, Bouchard B, Daneault C, Mansour A, Gillis MA, et al. Prolonged QT interval and lipid alterations beyond β -oxidation in very long-chain acyl-CoA dehydrogenase null mouse hearts. *Am J Physiol-Heart Circ Physiol.* sept 2011;301(3):H813-23.
47. Cecatto C, Amaral AU, Da Silva JC, Wajner A, Schimit MDOV, Da Silva LHR, et al. Metabolite accumulation in VLCAD deficiency markedly disrupts mitochondrial bioenergetics and Ca^{2+} homeostasis in the heart. *FEBS J.* avr 2018;285(8):1437-55.
48. Hoffmann L, Seibt A, Herebian D, Spiekerkoetter U. Monounsaturated 14:1n-9 and 16:1n-9 Fatty Acids but not 18:1n-9 Induce Apoptosis and Necrosis in Murine HL-1 Cardiomyocytes. *Lipids.* janv 2014;49(1):25-37.
49. Leslie ND, Saenz-Ayala S. Very Long-Chain Acyl-Coenzyme A Dehydrogenase Deficiency. In: Adam MP, Feldman J, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJ, et al., éditeurs. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle

(WA): University of Washington, Seattle; 1993 [cité 25 juin 2024]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK6816/>

50. Andresen BS, Olpin S, Poorthuis BJHM, Scholte HR, Vianey-Saban C, Wanders R, et al. Clear Correlation of Genotype with Disease Phenotype in Very-Long-Chain Acyl-CoA Dehydrogenase Deficiency. *Am J Hum Genet.* févr 1999;64(2):479-94.
51. Kim YM, Kim G, Ko H, Yoo HW, Lee HD. Treatable massive pericardial effusion and hypertrophic cardiomyopathy in an infant with a novel homozygous ACADVL mutation: A case report. *Medicine (Baltimore).* mai 2018;97(20):e10813.
52. Bonnet D, Martin D, Pascale De Lonlay, Villain E, Jouvet P, Rabier D, et al. Arrhythmias and Conduction Defects as Presenting Symptoms of Fatty Acid Oxidation Disorders in Children. *Circulation.* 30 nov 1999;100(22):2248-53.
53. Baruteau J, Sachs P, Broué P, Brivet M, Abdoul H, Vianey-Saban C, et al. Clinical and biological features at diagnosis in mitochondrial fatty acid beta-oxidation defects: a French pediatric study of 187 patients. *J Inherit Metab Dis.* sept 2013;36(5):795-803.
54. Doi T, Abo W, Tateno M, Hayashi K, Hori T, Nakada T, et al. Milder childhood form of very long-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency in a 6-year-old Japanese boy. *Eur J Pediatr.* 20 nov 2000;159(12):908-11.
55. Ambrose A, Sheehan M, Bahl S, Athey T, Ghai-Jain S, Chan A, et al. Outcomes of mitochondrial long chain fatty acid oxidation and carnitine defects from a single center metabolic genetics clinic. *Orphanet J Rare Dis.* 15 sept 2022;17(1):360.
56. Bennett MJ, Rinaldo P, Strauss AW. Inborn Errors of Mitochondrial Fatty Acid Oxidation. *Crit Rev Clin Lab Sci.* janv 2000;37(1):1-44.
57. Kumthekar GV, Shukla U, Purandare V. Rhabdomyolysis-Induced Acute Kidney Injury Treated with Medium Cut-Off Membrane: A Case Report. *Indian J Nephrol.* 2023;33(6):468-71.
58. Knottnerus SJG, Bleeker JC, Ferdinandusse S, Houtkooper RH, Langeveld M, Nederveen AJ, et al. Subclinical effects of long-chain fatty acid β -oxidation deficiency on the adult heart: A case-control magnetic resonance study. *J Inherit Metab Dis.* sept 2020;43(5):969-80.
59. Aliefendioğlu D, Dursun A, Coşkun T, Akçören Z, Wanders RJA, Waterham HR. A newborn with VLCAD deficiency Clinical, biochemical, and histopathological findings. *Eur J Pediatr.* 24 août 2007;166(10):1077-80.
60. Spiekerkoetter U, Tokunaga C, Wendel U, Mayatepek E, Exil V, Duran M, et al. Changes in blood carnitine and acylcarnitine profiles of very long-chain acyl-CoA dehydrogenase-deficient mice subjected to stress. *Eur J Clin Invest.* mars 2004;34(3):191-6.
61. Shigematsu Y, Hirano S, Hata I, Tanaka Y, Sudo M, Tajima T, et al. Selective screening for fatty acid oxidation disorders by tandem mass spectrometry: difficulties in practical discrimination. *J Chromatogr B.* 15 juill 2003;792(1):63-72.
62. Kouremenos KA, Pitt J, Marriott PJ. Metabolic profiling of infant urine using comprehensive two-dimensional gas chromatography: Application to the diagnosis of organic acidurias and biomarker discovery. *J Chromatogr A.* janv 2010;1217(1):104-11.
63. Sluysmans T, Tuerlinckx D, Hubinont C, Verellen-Dumoulin C, Brivet M, Vianey-Saban C. Very long chain acyl-coenzyme A dehydrogenase deficiency in two siblings: Evolution after prenatal diagnosis and prompt management. *J Pediatr.* sept 1997;131(3):444-6.
64. Bonafé L, Troxler H, Kuster T, Heizmann CW, Chamoles NA, Burlina AB, et al. Evaluation of Urinary Acylglycines by Electrospray Tandem Mass Spectrometry in Mitochondrial Energy Metabolism Defects and Organic Acidurias. *Mol Genet Metab.* avr 2000;69(4):302-11.

65. Hoffmann L, Haussmann U, Mueller M, Spiekerkoetter U. VLCAD enzyme activity determinations in newborns identified by screening: a valuable tool for risk assessment. *J Inher Metab Dis.* mars 2012;35(2):269-77.
66. Minetti C, Garavaglia B, Bado M, Invernizzi F, Bruno C, Rimoldi M, et al. Very-long-chain acyl-coenzyme A dehydrogenase deficiency in a child with recurrent myoglobinuria. *Neuromuscul Disord.* févr 1998;8(1):3-6.
67. Scholte HR, Van Coster RNA, De Jonge PC, Poorthuis BJHM, Jeneson JAL, Andresen BS, et al. Myopathy in very-long-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency: clinical and biochemical differences with the fatal cardiac phenotype. *Neuromuscul Disord.* juill 1999;9(5):313-9.
68. Ohashi Y, Hasegawa Y, Murayama K, Ogawa M, Hasegawa T, Kawai M, et al. A new diagnostic test for VLCAD deficiency using immunohistochemistry. *Neurology.* 22 juin 2004;62(12):2209-13.
69. Haute Autorité de Santé. Protocole National de Diagnostic et de Soins (PNDS) Déficit en MCAD (Acyl-CoA déshydrogénase des acides gras à chaîne moyenne) et autres déficits de la β -oxydation mitochondriale des acides gras. 2021 juin.
70. Van Calcar SC, Sowa M, Rohr F, Beazer J, Setlock T, Weihe TU, et al. Nutrition management guideline for very-long chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency (VLCAD): An evidence- and consensus-based approach. *Mol Genet Metab.* sept 2020;131(1-2):23-37.
71. Arnold GL, Van Hove J, Freedenberg D, Strauss A, Longo N, Burton B, et al. A Delphi clinical practice protocol for the management of very long chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency. *Mol Genet Metab.* mars 2009;96(3):85-90.
72. Evans M, Andresen BS, Nation J, Boneh A. VLCAD deficiency: Follow-up and outcome of patients diagnosed through newborn screening in Victoria. *Mol Genet Metab.* août 2016;118(4):282-7.
73. Cox GF, Souri M, Aoyama T, Rockenmacher S, Varvogli L, Rohr F, et al. Reversal of severe hypertrophic cardiomyopathy and excellent neuropsychologic outcome in very-long-chain acyl-coenzyme A dehydrogenase deficiency. *J Pediatr.* août 1998;133(2):247-53.
74. Vockley J, Burton B, Berry GT, Longo N, Phillips J, Sanchez-Valle A, et al. UX007 for the treatment of long chain-fatty acid oxidation disorders: Safety and efficacy in children and adults following 24 weeks of treatment. *Mol Genet Metab.* avr 2017;120(4):370-7.
75. Triheptanoïn. In: *LiverTox: Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury* [Internet]. Bethesda (MD): National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; 2012 [cité 1 juill 2024]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK604395/>
76. Aoyama T, Peters JM, Iritani N, Nakajima T, Furihata K, Hashimoto T, et al. Altered Constitutive Expression of Fatty Acid-metabolizing Enzymes in Mice Lacking the Peroxisome Proliferator-activated Receptor α (PPAR α). *J Biol Chem.* mars 1998;273(10):5678-84.
77. Yamada K, Shiraishi H, Oki E, Ishige M, Fukao T, Hamada Y, et al. Open-label clinical trial of bezafibrate treatment in patients with fatty acid oxidation disorders in Japan. *Mol Genet Metab Rep.* juin 2018;15:55-63.
78. Spiekerkoetter U, Mueller M, Sturm M, Hofmann M, Schneider DT. Lethal undiagnosed very long-chain acyl-coa dehydrogenase deficiency with mild C14-acylcarnitine abnormalities on newborn screening. In: SSIEM, éditeur. *JIMD Reports - Case and Research Reports, 2012/3* [Internet]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2012 [cité 9 juill 2024]. p. 113-5. (JIMD Reports; vol. 6). Disponible sur: http://link.springer.com/10.1007/8904_2012_129
79. Ruoppolo M, Malvagia S, Boenzi S, Carducci C, Dionisi-Vici C, Teofoli F, et al. Expanded Newborn Screening in Italy Using Tandem Mass Spectrometry: Two Years of National Experience. *Int J Neonatal Screen.* 9 août 2022;8(3):47.

80. Gonçalves MM, Marcão A, Sousa C, Nogueira C, Fonseca H, Rocha H, et al. Portuguese Neonatal Screening Program: A Cohort Study of 18 Years Using MS/MS. *Int J Neonatal Screen*. 20 mars 2024;10(1):25.
81. Hagemijer MC, Oussoren E, Ruijter GJG, Onkenhout W, Huidekoper HH, Ebberink MS, et al. Abnormal VLCADD newborn screening resembling MADD in four neonates with decreased riboflavin levels and VLCAD activity. *JIMD Rep*. sept 2021;61(1):12-8.
82. Kouřil Š, De Sousa J, Fačevicová K, Gardlo A, Muchlmann C, Nordhausen K, et al. Multivariate Independent Component Analysis Identifies Patients in Newborn Screening Equally to Adjusted Reference Ranges. *Int J Neonatal Screen*. 20 oct 2023;9(4):60.
83. Olsson D, Barbaro M, Haglind C, Halldin M, Lajic S, Tucci S, et al. Very long-chain ACYL-CoA dehydrogenase deficiency in a Swedish cohort: Clinical symptoms, newborn screening, enzyme activity, and genetics. *JIMD Rep*. mars 2022;63(2):181-90.
84. Tajima G, Aisaki J, Hara K, Tsumura M, Kagawa R, Sakura F, et al. Using the c14:1/medium-chain acylcarnitine ratio instead of c14:1 to reduce false-positive results for very-long-chain acyl-coa dehydrogenase deficiency in newborn screening in japan. *Int J Neonatal Screen*. 20 févr 2024;10(1):15.
85. Diekman E, De Sain-van Der Velden M, Waterham H, Kluijtmans L, Schielen P, Van Veen EB, et al. The Newborn Screening Paradox: Sensitivity vs. Overdiagnosis in VLCAD Deficiency. In: Morava E, Baumgartner M, Patterson M, Rahman S, Zschocke J, Peters V, éditeurs. *JIMD Reports, Volume 27* [Internet]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2015 [cité 3 juill 2024]. p. 101-6. (*JIMD Reports*; vol. 27). Disponible sur: http://link.springer.com/10.1007/8904_2015_476
86. Yamada K, Osawa Y, Kobayashi H, Hasegawa Y, Fukuda S, Yamaguchi S, et al. Serum C14:1/C12:1 ratio is a useful marker for differentiating affected patients with very long-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency from heterozygous carriers. *Mol Genet Metab Rep*. déc 2019;21:100535.
87. Burrage LC, Miller MJ, Wong LJ, Kennedy AD, Sutton VR, Sun Q, et al. Elevations of C14:1 and C14:2 Plasma Acylcarnitines in Fasted Children: A Diagnostic Dilemma. *J Pediatr*. févr 2016;169:208-213.e2.
88. Peng G, Tang Y, Gandotra N, Enns GM, Cowan TM, Zhao H, et al. Ethnic variability in newborn metabolic screening markers associated with false-positive outcomes. *J Inherit Metab Dis*. sept 2020;43(5):934-43.
89. Bo R, Awano H, Nishida K, Fujioka K, Nishiyama A, Miyake O, et al. False positive cases of elevated tetradecenoyl carnitine in newborn mass screening showed significant loss of body weight. *Mol Genet Metab Rep*. sept 2020;24:100634.

ENGAGEMENT DE NON PLAGIAT

Je, soussigné MUREAU Nicolas

Déclare être pleinement conscient que le plagiat de documents ou d'une partie d'un document publiés constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée. (*Décret n°92-657 du 13 juillet 1992*)

En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées pour écrire ce mémoire.

Signature :



SIGNATURES DU DIRECTEUR DE THESE ET DU DOYEN

N° Étudiant : 22114423

N° Thèse : 76

Nom et Prénom : Mureau Nicolas

Sujet : Mise en place du dépistage néonatal du déficit en déshydrogénase des acides gras à chaîne longue (VLCAD) : Etude de la distribution des biomarqueurs.

Tours, le : 18/10/2024

Le(s) Directeur(s) de Thèse :
Nom(s) et signature(s)

DUFOUR Diane



**Vu et
Transmis :Le
Doyen**

Le directeur de la Faculté
des Sciences Pharmaceutiques

Pr Denys BRAND



MUREAU Nicolas

N°76

TITRE DE LA THÈSE

Mise en place du dépistage néonatal du déficit en déshydrogénase des acides gras à chaîne longue (VLCAD) :
Etude de la distribution des biomarqueurs.

RÉSUMÉ DE LA THÈSE

Le dépistage néonatal évolue de concert avec la recherche sur les maladies métaboliques, les avancées médicales et technologiques. Elles permettent aujourd'hui, notamment avec l'essor de la spectrométrie de masse, le dépistage de nombreuses maladies héréditaires du métabolisme. En France, depuis janvier 2023, 13 maladies sont dépistées via le programme de dépistage néonatal, dont 9 maladies héréditaires du métabolisme, par spectrométrie de masse. Récemment, la Haute Autorité de Santé a recommandé la mise en place du dépistage néonatal d'un trouble de la β -oxydation des acides gras, le déficit en déshydrogénase des acides gras à chaînes longues – ou VLCAD. En l'absence de prise en charge, certaines formes à révélation néonatale sont à l'origine d'une défaillance multiviscérale, entraînant rapidement le décès. Les formes à révélation pédiatrique, plus tardives, présentent une hépatopathie associée à des hypoglycémies hypocétosiques pouvant mettre en jeu le pronostic vital du patient lors des épisodes de décompensation. Enfin, les formes tardives sont responsables de douleurs et de faiblesse musculaire chez l'adulte, dont le diagnostic difficile est souvent à l'origine d'une longue errance diagnostique. L'objectif de cette thèse est de préparer le prochain déploiement du dépistage du déficit en VLCAD. Pour cela, une première partie est consacrée à l'étude bibliographique du déficit en VLCAD et des biomarqueurs utilisés dans les pays dépistant cette pathologie. Une seconde partie étudie la distribution de ces biomarqueurs sur une population de nouveau-nés, à partir d'une collection de 15 137 buvards. A partir de ces résultats et des données bibliographiques, des seuils décisionnels et un algorithme similaire à ceux utilisés pour le programme de dépistage néonatal sera proposé.

MOTS-CLÉS SIGNIFICATIFS DE SON CONTENU, ATTRIBUÉS PAR LE CANDIDAT EN LIAISON AVEC LA BIBLIOTHÈQUE UNIVERSITAIRE ET LES MEMBRES DU JURY

« Dépistage néonatal », « VLCAD », « β -oxydation », « Biomarqueurs », « C14 :1 »

JURY

PRÉSIDENT : Professeur Karine MAHEO – Professeur des Universités – UMR INSERM U1069 – Nutrition, Croissance et Cancer (N2C) – UFR de Sciences Pharmaceutiques – UFR de Médecine – Tours

MEMBRES :

Professeur Hélène BLASCO, Professeur des Universités Praticien Hospitalier – UMR Inserm U1253 - Génomique et Physiopathologie des troubles du Neurodéveloppement et du Motoneurone – UFR de Médecine – Service de Biochimie et Biologie Moléculaire – CHRU de Tours

Professeur François LABARTHE, Professeur des Universités Praticien Hospitalier, UMR INSERM U1069 – Nutrition, Croissance et Cancer (N2C) – UFR de Médecine – Médecine Pédiatrique – CHRU de Tours

Directeur de thèse : Docteur Diane DUFOUR, Maître de Conférence des Universités Praticien Hospitalier – UMR Inserm U1253 – Génomique et Physiopathologie des troubles du Neurodéveloppement et du Motoneurone – UFR de Médecine – Chef de service de Médecine Nucléaire In Vitro – CHRU de Tours

DATE ET LIEU DE SOUTENANCE : Vendredi 18 octobre 2024, faculté de pharmacie Philippe Maupas, Tours