



//

24 avril 2012

## MAI 2012

En raison des fériés des **mardi 1<sup>er</sup> et 8 mai** et du **jeudi 17 mai 2012**, nous vous rappelons de ne pas prélever ni transmettre d'échantillons les **lundi 30 avril et 7 mai** et le **mercredi 16 mai 2012**, pour les analyses suivantes :

- Marqueurs lymphocytaires CD4 et CD8
- Culture virale
- G6PD
- Pyruvate kinase
- Immunophénotypage lymphocytaire

### avril 2012

l	m	m	j	v	s	d
					1	1
2	3	4	5	6	7	8
9	10	11	12	13	14	15
16	17	18	19	20	21	22
23	24	25	26	27	28	29
30						

### mai 2012

l	m	m	j	v	s	d
	1	2	3	4	5	6
7	8	9	10	11	12	13
14	15	16	17	18	19	20
21	22	23	24	25	26	27
28	29	30	31			

**Attention** : Egalement ne pas transmettre de Protéine TAU le **vendredi 18 mai**

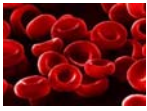
## NOUVELLE ANALYSE :

- **Calprotectine fécale** : diagnostic différentiel des maladies inflammatoires chroniques intestinales
  - Nécessite un échantillon de selles du matin (préférentiellement) : 1 à 2g
  - Réalisation : 2 fois / Mois
  - Tarif : BHN 160 soit 43.20 €

## ACTUALITES MEDICALES

Vous trouverez également en annexe des notes :

- Exploration d'une hémoglobinopathie
- Intérêts du génotypage de l'IL28B dans la prise en charge des hépatites C chroniques



# EXPLORATION D'UNE HEMOGLOBINOPATHIE

## Quels tests? Quelles indications ?

## Quels renseignements joindre à la demande ?

Dr. François LOISELEUR

Pôle de Biologie Pathologie Génétique. CHRU de Lille

### RAPPEL

Les chaînes de globine sont codées par des gènes situés :

- Sur le chromosome 11 pour les chaînes  $\gamma$ ,  $\delta$  et  $\beta$  (1 gène par chaîne et par chromosome)
- Sur le chromosome 16 pour les chaînes  $\alpha$  (2 gènes  $\alpha$  par chromosome)

Chez l'adulte, un profil normal retrouve :

- 97% environ d'hémoglobine A ( $\alpha 2 \beta 2$ )
- Entre 2,2 et 3,2 % d'hémoglobine A2 ( $\alpha 2 \delta 2$ )
- Parfois des traces (<1%) d'hémoglobine foetale ( $\alpha 2 \gamma 2$ )

### LES HEMOGLOBINOPATHIES SONT :

- Soit une anomalie de structure d'une chaîne de globine (hémoglobinose ou variant)  
Les plus répandues sont Hb S, Hb C, Hb E ou Hb D (à ce jour, plus de 800 variants d'hémoglobine)
- Soit un défaut de synthèse des globines ( $\alpha$  ou  $\beta$  thalassémie)  
Les formes mineures pouvant se traduire par une diminution ou une augmentation de l'Hb A2
- Soit une association des deux

Les hémoglobinopathies sont des maladies génétiques autosomiques récessives très répandues dans le monde, surtout pour les populations originaires d'Afrique, du Bassin méditerranéen, d'Asie et des Antilles.

Bien qu'asymptomatiques le plus souvent chez des adultes, elles peuvent provoquer des anomalies sévères voire mortelles chez les nouveau-nés. La recherche de ces anomalies est donc très importante.

### QUAND RECHERCHER UNE ANOMALIE DE L'HEMOGLOBINE ?

- En bilan diagnostique s'il existe des signes d'appel « classiques » :
  - Anémie
  - Microcytose
  - Hémolyse
  - Polyglobulie
  - Cyanose
- En consultation prénatale chez des patientes originaires :
  - D'Afrique
  - Du Bassin méditerranéen
  - D'Asie
  - Des Antilles
- Pour confirmer les résultats d'un dépistage néonatal
- Découverte fortuite d'une anomalie lors d'un dosage d'HbA1c

### RENSEIGNEMENTS A JOINDRE POUR TOUTE DEMANDE DE TYPAGE D'UNE HEMOGLOBINOPATHIE :

Certains paramètres ou circonstances cliniques peuvent influencer les taux des différentes hémoglobines.

C'est pourquoi il est **impératif** de fournir un minimum d'informations pour permettre une interprétation. Il est donc nécessaire de **remplir une fiche de prescription (voir pièce jointe)** ou de renseigner les points suivants :

- Hémogramme
- Statut martial (fer sérique et ferritine) et vitaminique (B12 et folates)
- Age
- Origine ethnique
- Grossesse en cours
- Transfusion récente de moins de 4 mois

### Exemples de difficultés d'interprétation en l'absence de données cliniques et biologiques :

- Un taux pourtant normal d'Hb A2, mais avec une microcytose isolée sans carence martiale, peut évoquer une  $\alpha$  thalassémie mineure (2 gènes absents sur 4) qui, si elle est présente également chez le conjoint, peut conduire dans 1 cas sur 4 à la mort in utero d'un fœtus ayant un déficit complet en chaînes  $\alpha$  (Hydrops foetalis).
- Après transfusion, un drépanocytaire majeur (S/S) peut passer pendant 3 à 4 mois pour un drépanocytaire hétérozygote (A/S)

L'interprétation ne se fait donc pas uniquement sur les taux ou les types d'hémoglobines retrouvés, mais sur l'ensemble des données. Il est donc difficile de conclure une étude de l'hémoglobine sans données hématologiques, biochimiques, cliniques et ethniques.

## Techniques utilisées :

Pour chaque demande de typage d'une anomalie de l'hémoglobine, 3 techniques différentes sont réalisées en routine au laboratoire :

- Electrophorèse capillaire de zone (SEBIA)
- Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP BIORAD)
- Isoélectrofocalisation (IEF PERKIN ELMER)

Le laboratoire fait partie du **Centre de compétence des maladies rares du globule rouge** pour le Nord de la France



## **CENTRE DE COMPETENCE DES MALADIES RARES DU GLOBULE ROUGE**

Drépanocytose, thalassémies, autres hémoglobinopathies,  
dysérythropoïèses congénitales, autres pathologies bénignes  
érythrocytaires rares



Ce centre comprend des Biologistes disponibles pour l'aide à l'interprétation, mais également des Cliniciens pour vos patients adultes ou enfants de la région Nord-Pas-de-Calais

### **BIOLOGISTES REFERENTS** : Pôle de Biologie Pathologie Génétique du CHRU de Lille.

- Diagnostic des pathologies du globule rouge : typage d'une anomalie de l'hémoglobine par électrophorèse capillaire, CLHP et IEF, diagnostic moléculaire des hémoglobinopathies :
  - Dr François LOISELEUR : 03 20 44 52 08
  - Dr Patrice MABOUDOU : 03.20.44.65.46
  - Dr Claude MEREAU : 03 20 44 54 54 poste 38349
- Laboratoire d'Hématologie cellulaire ; microscopie électronique :
  - Dr Martine FOURNIER 03 20 44 41 79
- Laboratoire de dépistage périnatal :
  - Dr Jean-Marc PERINI et Dr Gilles RENOM : 03 20 44 49 87

### **CENTRES ET MEDECINS REFERENTS**

#### **ADULTE**

- Service des Maladies du Sang du CHRU de Lille Hôpital Claude Huriez, 5<sup>ème</sup> Est
  - Consultation Hématologie Adulte : 03 20 44 42 85
  - Pr Christian ROSE
- Service d'Hématologie : Hôpital Saint Vincent de Paul, boulevard de Belfort, Lille.
  - Accueil hospitalisation et consultations : 03 20 87 45 32
  - Pr Christian ROSE

#### **PEDIATRIE**

- Service d'Hématologie pédiatrique de l'Hôpital Jeanne de Flandre du CHRU de Lille.
  - Accueil hospitalisation et consultations : 03 20 44 41 05
  - Dr Anne LAMBILLIOTTE



**LABORATOIRE DES HEMOGLOBINOPATHIES ☎ 03.20.44.54.54 Poste 34097**

**BIOLOGISTES : Dr François LOISELEUR: 03.20.44.52.08 - Dr Patrice MABOUDOU: 03.20.44.65.46 - Dr Claude MEREAU 03.20.44.54.54 Poste 38349**

IDENTITE PATIENT (ETIQUETTE)	MEDECIN PRESCRIPTEUR (TAMPON)	ORGANISME DEMANDEUR (TAMPON)
Nom: ..... Nom d'épouse: .....	Nom: ..... Adresse: .....	Nom: ..... Adresse: .....
Prénom: ..... Né(e) le: <input type="text"/>		Votre référence: .....
Sexe: <input type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/> M	☎ .....	☎ .....

**PRELEVEMENT(S)**

Date  et heure  de prélèvement

**EXAMENS DEMANDES**

- ETUDE STANDARD DE L'HEMOGLOBINE ET/OU RECHERCHE D'UN VARIANT D'HEMOGLOBINE
  - DOSAGE HEMOGLOBINE S       DOSAGE HEMOGLOBINE F       AUTRE DOSAGE (PRECISER): .....
  - RECHERCHE D'HEMOGLOBINE INSTABLE (Test à l'isopropanol) (prendre RDV avec le Laboratoire)
  - CARACTERISATION MOLECULAIRE      Diagnostic de l'HEMOGLOBINOPATHIE: .....
- + Renseignements cliniques obligatoires (origine géographique, lien de parenté pour les études familiales)  
+ consentement signé obligatoire pour chaque personne testée

**RENSEIGNEMENTS CLINIQUES**

Diagnostic connu ou présumé :     THALASSEMIE       DREPANOCYTOSE       VARIANT DE L'HEMOGLOBINE

**RENSEIGNEMENTS INDISPENSABLES POUR LA REALISATION DES EXAMENS**

- DONNEES HEMATOLOGIQUES (ou joindre copie d'une numération récente) :  
HEMATIES: ..... Hb: ..... VGM: ..... TCMH: ..... CCMH: ..... PLAQ: .....  
LEUCOCYTES: ..... RETICULOCYTES: ..... MORPHOLOGIE DES GR: ..... CORPS DE HEINZ ? : .....
- DONNEES BIOCHIMIQUES (préciser unité et valeurs normales) (ou joindre copie des résultats):  
FER SERIQUE: ..... FERRITINE: ..... Bilirubine: ..... Ac Folique: ..... Vit B12: .....
- ORIGINE DES PARENTS :    Père : ..... Mère: .....
- HEMOGLOBINOPATHIE(S) CONNUE(S) DANS LA PARENTE ?     OUI    Si oui, préciser: .....     NON
- GROSSESSE EN COURS ?     OUI    Si oui, terme: .....     NON
- HEMOLYSE ?     OUI     NON      SPLENOMEGALIE ?     OUI     NON
- CARENCE MARTIALE ?     OUI     NON      Traitée ?     OUI     NON
- TRAITEMENTS : .....
- Transfusion < à 4 mois ?     OUI    Si oui, nombre de culots: .....     NON
- Autres (Préciser) .....



# INTERETS DU GENOTYPAGE DE L'IL28B DANS LA PRISE EN CHARGE DES HEPATITES C CHRONIQUES



Pr F. Broly

Pôle de Biologie Pathologie Génétique, CHRU de Lille

Récemment, la prise en charge des patients atteints d'hépatite chronique à VHC a beaucoup évolué. De nouvelles molécules thérapeutiques ciblant la protéase NS3 (bocéprévir et télaprévir) ont obtenu leur AMM en 2011 pour les patients infectés par un VHC de type I. Parallèlement, l'efficacité des traitements associant l'interféron  $\alpha$  pégylé et la ribavirine a été reliée au polymorphisme du gène IL28B.

## CONTEXTE DE L'ANALYSE

Récemment, des études indépendantes multiethniques réalisées chez des patients infectés par le virus de l'hépatite C (VHC génotype I et 4), ont clairement mis en évidence un lien fort entre un polymorphisme nucléotidique (rs12979860), situé en amont du promoteur du gène de l'interféron lambda 3 (IL28B), et l'efficacité du traitement antiviral combinant l'interféron alpha pégylé et la ribavirine (peg-IFN $\alpha$ /ribavirine). Ce polymorphisme constituerait également un important facteur de modulation de l'efficacité du traitement peg-IFN $\alpha$ /ribavirine chez les patients co-infectés par le VHC et le VIH. Le mécanisme moléculaire responsable de cette association n'est actuellement pas encore clairement établi.

Ce polymorphisme rs12979860 correspond à la substitution d'une Cytosine (C) par une Thymine (T), 3181 nucléotides en amont du codon de début de la traduction du gène IL28B (g.-3182G>A, séquence de référence : ENSG00000197110, A de l'ATG considéré comme le nucléotide +1). Ce polymorphisme sépare la population en 3 groupes d'individus, selon leur génotype: T/T, T/C et C/C. Dans la population caucasienne, la fréquence des génotypes T/T, T/C et C/C est, respectivement, de 12%, 51% et 37%. Cette fréquence varie selon l'origine ethnique des populations. Le génotype C/C est plus fréquent dans les populations asiatiques et plus rare chez les individus d'origine subsaharienne.

C'est ce variant nucléotidique rs12979860 que nous recherchons chez les patients infectés par le VHC afin d'améliorer l'efficacité et la sécurité de leur traitement. Cette analyse est effectuée à l'aide d'une méthode basée sur la PCR en temps réel, d'un automate à haut débit (TaqMan 7900, Applied Biosystems) et l'utilisation d'un kit TaqMan SNP Genotyping Assay (Applied Biosystems) fait à façon (ref4331349 Custom, Primers : SNPI-F GCC TGT CGT GTA CTG AAC CA et SNPI-R GCG CGG AGT GCA ATT CAA C ; Probes : SNPI-V VIC TGG TTC GCG CCT TC et SNPI-M FAM CTG GTT CAC GCC TTC). L'extraction d'ADN est réalisée à l'aide d'un kit pour sang et cellules en culture de type GE Healthcare illustra™ RPN-8512 selon les instructions du fournisseur.

## INTERPRETATION DES RESULTATS

Chez les patients naïfs, porteurs d'un VHC de type I et 4, le génotype rs12979860 C/C est un facteur prédictif indépendant fort d'une meilleure réponse à la bithérapie antivirale (peg-IFN $\alpha$ /ribavirine), comparé au génotype T/T et C/T. La probabilité d'un traitement efficace générée par ce génotype, approche celle des patients infectés par un VHC de type 2 ou 3 ( $\neq$  80%). Les patients du génotype rs12979860 C/C ne tireraient par contre que peu ou pas de bénéfice de l'ajout d'un inhibiteur de protéase (telaprévir et surtout bocéprévir) à la bithérapie (peg-IFN $\alpha$  + ribavirine). Par ailleurs, chez les patients naïfs, porteurs d'un virus C de type 2 et 3, le génotype rs12979860 C/C n'a que peu d'influence sur la réponse au traitement. Il ne semble pas, non plus, avoir de valeur prédictive de l'efficacité de la bithérapie peg-IFN $\alpha$ /ribavirine chez les patients réputés « difficile à traiter » (non-répondeurs ou ayant préalablement échappé à la bithérapie peg-IFN $\alpha$ /ribavirine).

**Il faut noter** que l'ajout d'un inhibiteur de protéase (telaprévir ou bocéprévir) à la bithérapie peg-IFN $\alpha$ /ribavirine n'est pas sans coût supplémentaire et sans risques additionnels pour le patient (effets indésirables, résistance virale...). Il faut aussi noter que de nombreux facteurs susceptibles de moduler l'efficacité de la bithérapie peg-IFN $\alpha$ /ribavirine, autres que le génotype de l'IL28B, existent. Ces facteurs sont à prendre en considération dans le choix du traitement. Des algorithmes permettant de déterminer la probabilité de réponse d'un patient à la bithérapie peg-IFN $\alpha$ /ribavirine en combinant les résultats du génotypage rs12979860 à ceux d'autres facteurs de variabilité de réponse au traitement (génotype VHC, quantification de l'ARN sérique du VHC, évolution de la fibrose hépatique...), ont été développés dans ce but. L'algorithme développé par Medrano et al. (Medrano, Clin Infect Dis. 2010) en est un exemple. Il est proposé à l'adresse suivante:

<http://ideasydesarrollo.com/fundacion/prometheusindex.php?lang=ing>

## En pratique

La recherche du polymorphisme IL28B, comme toutes les analyses de génétique humaine, se fait à partir d'un échantillon de sang prélevé sur EDTA accompagné du consentement éclairé du patient et du certificat de consultation. L'analyse est réalisée dans le service de Biochimie des Génopathies (Pr F. Broly)

## Références

Medrano J. et al. Modeling the probability of sustained virological response to therapy with pegylated interferon plus ribavirin in patients coinfecting with hepatitis C virus and HIV. Clin Infect Dis. 2010; 51:1209-16

## Pour en savoir plus :

Clark JC & Thompson AJ. Host genomics and VHC treatment response. J Gastroenterol Hepatol. 2012 Feb;27(2):212-22

Lange CM & Zeuzen S. IL28B single nucleotide polymorphisms in the treatment of hepatitis C J Hepatol 2011;55:692-701