

Annales du Contrôle National de Qualité des Analyses de Biologie Médicale

Mucoviscidose (gène CFTR)
Hémochromatose (gène HFE)
Thrombophilies (gènes F2 et F5)

Caractéristiques génétiques à des fins médicales **07CGM1** *Novembre 2007*

Edition : décembre 2008

Caractéristiques génétiques à des fins médicales

07CGM1

Jocelyne OTZ (Afssaps)
Martine ALHENC-GELAS (Hôpital européen Georges Pompidou - Paris)
Véronique DAVID (CHU de Rennes)
Claude FEREC (CHU de Brest)

Expédition : 14 novembre 2007

Clôture : 17 décembre 2007

Edition des compte-rendus individuels : 05 mai 2008

Paramètres contrôlés :

MUC004, MUC005 : recherche des mutations du gène CFTR (mucoviscidose)

HFE004, HFE005 : recherche des mutations du gène HFE (hémochromatose)

THR004, THR005 : recherche des mutations des gènes F2 et F5 (thrombophilies)

Nombre de laboratoires concernés* : 112

Nombre de laboratoires participants** : 106

* Laboratoires ayant déclaré à l'Afssaps pratiquer les analyses concernées par l'envoi

** Laboratoires ayant retourné un bordereau-réponse correctement identifié par le code laboratoire, avant la date de clôture de l'opération

Résumé de l'opération

L'opération 07CGM1 du Contrôle national de qualité « Caractéristiques génétiques à des fins médicales » a été organisée en novembre 2007.

En fonction des analyses qu'ils ont déclaré pratiquer, des solutions d'ADN déjà extrait ont été adressées aux laboratoires pour recherche des mutations du gène CFTR (MUC004 et MUC005), du gène HFE (HFE004 et HFE005), du gène F2 et du gène F5 (THR004 et THR005). A chaque échantillon correspondait un cas clinique brièvement décrit.

Pour chaque échantillon, les laboratoires devaient annoncer les mutations recherchées, préciser les réactifs ou les techniques utilisés, indiquer le génotype trouvé et le commenter et/ou l'interpréter en fonction du cas présenté.

Pour cette seconde opération « Caractéristiques génétiques à des fins médicales » du Contrôle national de qualité, la première ayant été organisée en 2005, pour chaque échantillon, les génotypes rendus par les laboratoires ont été comparés à la réponse attendue. Le couple génotype trouvé et le commentaire/interprétation a été évalué par rapport au génotype attendu et au commentaire « type ».

Dans l'ensemble, les résultats (génotypes et commentaires) de cette opération sont satisfaisants ; il faut toutefois noter que pour les recherches des mutations des gènes des facteurs II (F2) et V (F5) ou du gène HFE, les laboratoires ne commentent pas systématiquement les génotypes observés, contrairement à la pratique constatée pour les recherches des mutations du gène CFTR. Par ailleurs, on regrette qu'un nombre important de laboratoires n'applique pas les recommandations internationales de nomenclature pour exprimer les génotypes.

Méthode statistique et expression des résultats

Pour chaque échantillon, les laboratoires devaient indiquer le génotype trouvé. Cependant, aucune pré-formulation du génotype trouvé n'était proposée ; aussi, les tableaux de résultats présentent les nombres et/ou les pourcentages de génotypes similaires.

Les mutations et les génotypes sont exprimés selon la nomenclature internationale et/ou usuelle.

MUC004, MUC005

Recherche des mutations du gène CFTR (mucoviscidose)

Définition des échantillons

Les échantillons MUC004 et MUC005 sont des solutions d'ADN déjà extrait ; à chacun des échantillons correspond un cas brièvement décrit (tableau I).

tableau I – définition des échantillons

| Echantillon | Génotype (*) | Cas clinique |
|-------------|-----------------------------|---|
| MUC004 | p.[Phe508del]+p.[Ala455Glu] | Monsieur R. MUC004, 30 ans, consulte pour une stérilité due à une agénésie des canaux déférents. Une analyse du gène CFTR est demandée. Préciser vos résultats et conclusions. |
| MUC005 | p.[Gly551Asp]+[=] | Monsieur D. MUC005, 25 ans, est le conjoint de Mme F., porteuse à l'état hétérozygote de la mutation F508del. Préciser votre résultat et la conclusion pour le couple. |

(*) pour les mutations les plus fréquentes

Résultats des participants

En l'absence d'une liste pré-établie, les génotypes reportés par les laboratoires ont été encodés pour être exploités ; ils sont présentés dans le tableau II.

tableau II – génotypes exprimés

| Echantillon | Génotype | Nombre de génotypes semblables/génotypes exprimés (%) |
|-------------|-----------------------------|---|
| MUC004 | p.[Phe508del]+p.[Ala455Glu] | 35/36 (97%) |
| | p.[Phe508del] | 1/36 (3%) |
| MUC005 | p.[Gly551Asp]+[=] | 36/36 (100%) |

Les réactifs ou techniques utilisés devaient être indiqués dans la zone du formulaire de réponse prévue à cet effet. Les laboratoires ont cité un ou plusieurs réactifs ou techniques (tableau III) ; les réactifs commerciaux sont les plus cités (75% des dispositifs).

tableau III – réactifs ou techniques utilisés

| Réactif ou technique | Nombre d'utilisateurs (*) |
|--|---------------------------|
| ABBOTT Cystic Fibrosis V.3.0 | 14 |
| INNOGENETICS CFTR Twin Set | 1 |
| INNOGENETICS INNO LIPA CFTR17 | 11 |
| INNOGENETICS INNO LIPA CFTR19 | 12 |
| TEPNEL ELUCIGENE CF30 | 5 |
| TEPNEL ELUCIGENE CF-HT v.2 | 1 |
| PCR-DGGE (protocole "local") | 2 |
| PCR-DHPLC (protocole "local") | 1 |
| PCR-hétéroduplex ou PCR-PAGE (protocole "local") | 4 |
| PCR-RFLP - enzyme x (protocole "local") | 1 |
| PCR-Séquençage | 7 |

(*) : un ou plusieurs réactifs cités par laboratoire

Les laboratoires avaient la possibilité de commenter et/ou d'interpréter leurs résultats (mutation détectée, génotype trouvé). Les commentaires-types attendus, compte tenu de la définition des échantillons (tableau I) figurent dans le tableau suivant (tableau IV).

tableau IV : commentaires-types attendus

| Echantillon | Commentaire-type attendu |
|-------------|---|
| MUC004 | M. R. MUC004 consulte pour une stérilité due à une agénésie des canaux déférents. La recherche de mutations du gène CFTR , montre que ce patient est porteur des mutations F508del et A455E. Ce génotype est généralement associé à des formes mineures de mucoviscidose. Afin de vérifier si cette agénésie des canaux déférents est isolée ou si elle est associée à d'autres signes évocateurs de mucoviscidose, Monsieur R. devrait bénéficier d'un test de la sueur et d'une exploration de ses fonctions pulmonaire et pancréatique au niveau d'un Centre de ressources et de compétences de la mucoviscidose (CRCM). Par ailleurs, il est important que le patient soit reçu en consultation de conseil génétique. |
| MUC005 | M. D. MUC005 est le conjoint d'une femme hétérozygote F508del. L'analyse du gène CFTR chez ce patient a révélé la présence de la mutation G551D à l'état hétérozygote. Le risque de mucoviscidose pour la descendance de ce couple est de ¼. Un diagnostic prénatal de mucoviscidose peut être proposé dans le cadre d'une consultation de conseil génétique. |

Compte tenu de la diversité des commentaires, il n'est pas possible de les reproduire ici dans leur intégralité. Toutefois, on remarque que tous les laboratoires ont commenté au moins un de leurs résultats ; lors de la précédente opération en 2005, seuls 90% (26/29) des laboratoires l'avaient fait.

On a noté également que :

- pour l'échantillon MUC004, 14 laboratoires sur 36 recommandent d'étudier les parents pour vérifier la ségrégation familiale des mutations. Ce qui paraît indispensable dans le cadre d'un diagnostic réalisé chez un enfant, mais plus discutable dans le cas d'un homme de 30 ans qui consulte pour une stérilité.
- pour l'échantillon MUC005,

- 4 laboratoires sur 36 recommandent de vérifier le statut de la conjointe avant la réalisation d'un diagnostic prénatal (DPN). En effet, il est recommandé que le laboratoire qui réalise le diagnostic prénatal ait étudié au préalable les échantillons des parents et que les parents soient ré-analysés, ainsi que le cas index (s'il y en a un) lors du DPN (selon le Guide de bonnes pratiques des études du gène CFTR - Référentiel à l'usage des laboratoires de génétique moléculaire, en cours de validation par les laboratoires de Référence du Réseau français des laboratoires qui réalisent le diagnostic moléculaire de la mucoviscidose)
- Un laboratoire parle de « dépistage » prénatal ; or, ce terme n'est pas approprié.

Commentaires

En ce qui concerne les génotypes observés, 35 laboratoires sur les 36 qui ont participé à cette opération ont répondu correctement ; un laboratoire a typé l'échantillon MUC004 p.[Phe508del] au lieu de p.[Phe508del]+p.[Ala455Glu]. Il a séquencé les exons 3, 4, 7, 10, 11, 19, 20, 21 et commenté son résultat par « ... *Cependant, l'étude moléculaire du gène entier, ainsi que la recherche de l'allèle 5T, sera nécessaire afin de vérifier la présence éventuelle d'une seconde mutation rare.* ».

Comme en 2005, aucune recommandation particulière n'a été donnée pour ce qui concerne les modalités de rédaction des résultats et des commentaires. Malgré une assez grande hétérogénéité dans les réponses apportées, le couple génotype observé et commentaire/interprétation a été évalué pour chaque échantillon et chaque laboratoire. La conclusion de cette évaluation est rendue sous forme de lettres : A, B, C ou D. Cette conclusion de l'évaluation (A, B, C ou D) figurait sur le compte-rendu individuel du laboratoire ; elle était en règle générale complétée par un commentaire de l'expert-évaluateur.

Pour l'échantillon MUC004, la « note » A a été attribuée à tous les laboratoires qui avaient un génotype correct et qui recommandaient d'adresser le patient à un Centre de ressources et de compétences de la mucoviscidose (CRCM) pour un bilan plus approfondi, soit 14 laboratoires.

Dans la mesure où une zone spécifique était prévue sur le formulaire de réponse, l'absence d'information quant à la technique utilisée dans le commentaire proprement dit n'a pas eu d'incidence sur l'évaluation. Néanmoins, 5 laboratoires l'ont rappelée au niveau de leur commentaire. De même, l'absence d'interprétation explicite du génotype n'a pas eu d'incidence sur l'évaluation ; cependant, 28 laboratoires sur 36 donnent des indications sur l'effet délétère de la mutation A455E.

La « note » B a été attribuée à 21 laboratoires qui n'ont pas recommandé que le patient bénéficie d'une exploration clinique plus approfondie.

La « note » D a été attribuée au seul laboratoire qui n'a pas identifié la mutation A455E.

Pour l'échantillon MUC005, la note A a été attribuée à tous les laboratoires. Il n'y a pas d'erreur de génotypage. On rappelle que ce type de prescription, c'est-à-dire l'analyse du gène CFTR chez une personne asymptomatique, doit être faite par un généticien (article 145-15-5 du code de la santé publique créé par le décret n°2000-570).

Conclusion

Les résultats de cette seconde opération du Contrôle national de qualité réalisée dans le cadre du diagnostic moléculaire de la mucoviscidose sont satisfaisants : les analyses génotypiques sont globalement correctes (35 sur 36 pour MUC004 et 36 sur 36 pour MUC005) et tous les laboratoires ont commenté ou interprété les résultats de leurs analyses.

L'hétérogénéité des réponses (mode d'expression des génotypes, commentaire ...) reflète, sans doute, comme en 2005, les différences des habitudes et des relations que les laboratoires ont avec leur réseau de praticiens.

HFE004, HFE005

Recherche des mutations du gène HFE (hémochromatose)

Définition des échantillons

Les échantillons HFE004 et HFE005 sont des solutions d'ADN déjà extrait ; à chacun des échantillons correspond un cas brièvement décrit (tableau V).

tableau V – définition des échantillons

| Echantillon | Génotype | Cas clinique |
|-------------|-----------------------------|---|
| HFE004 | p.[Cys282Tyr] + [Cys282Tyr] | Monsieur G. HFE004, 41 ans, consulte son médecin traitant en raison d'une fatigue chronique et de douleurs au niveau des articulations des doigts. L'examen clinique révèle une hypertrophie du foie. Le bilan biologique met en évidence une élévation du fer sérique (35 µmol/l) et du coefficient de saturation de la transferrine (95%). Le diagnostic d'hémochromatose génétique est évoqué. |
| HFE005 | p.[Cys282Tyr] + [=] | Madame L. HFE005, 36 ans, consulte son médecin traitant suite à la découverte d'une hémochromatose de type 1 chez son frère. L'examen clinique est normal et le bilan biologique ne montre pas d'anomalie du bilan martial : fer sérique 20 µmol/l, coefficient de saturation de la transferrine 32%, ferritine 130 µg/l. |

Résultats des participants

En l'absence d'une liste pré-établie, les génotypes reportés par les laboratoires ont été encodés pour être exploités ; ils sont présentés dans le tableau VI.

tableau VI – génotypes exprimés

| Echantillon | Génotype | Nombre de génotypes semblables/génotypes exprimés (%) |
|-------------|-----------------------------|---|
| HFE004 | p.[Cys282Tyr] + [Cys282Tyr] | 51/51 (100%) |
| HFE005 | p.[Cys282Tyr] + [=] | 51/51 (100%) |

Les réactifs ou techniques utilisés devaient être indiqués dans la zone du formulaire de réponse prévue à cet effet. Les laboratoires ont cité un ou plusieurs réactifs ou techniques (tableau VII) ; comme en 2005, la technique PCR- RFLP (protocole « local ») est la plus citée.

tableau VII – réactifs ou techniques utilisés

| Réactif ou technique | Nombre d'utilisateurs |
|--|-----------------------|
| PCR-RFLP - enzyme x (protocole "local") | 26 |
| PCR- temps réel (protocole "local") ou non précisé | 6 |
| PCR-Séquençage | 3 |
| PCR-SSO (protocole "local") | 4 |
| PCR-SSO (temps réel) | 6 |
| Autres techniques PCR non précisée | 1 |
| Autres techniques PCR-SSP (protocole "local") | 1 |
| VIENNALAB Haemochromatosis StripAssay A | 3 |
| VIENNALAB Haemochromatosis StripAssay B | 1 |

Les laboratoires avaient la possibilité de commenter leurs résultats (mutation détectée, génotype trouvé). Les commentaires-types attendus, compte tenu de la définition des échantillons (tableau V), figurent dans le tableau suivant (tableau VIII).

tableau VIII – commentaires-types attendus

| Echantillon | Commentaire- type attendu |
|-------------|--|
| HFE004 | L'homozygotie pour la mutation p.Cys282Tyr du gène HFE confirme le diagnostic d'hémochromatose de type I. Une évaluation de la surcharge en fer doit être faite afin d'adapter le traitement. Une enquête familiale doit être proposée aux apparentés au premier degré de M. G HFE0004. -Remarque : Quand il existe des enfants mineurs, il est recommandé de tester le conjoint. Si le conjoint est porteur de la mutation p.[Cys282Tyr], un test phénotypique sera réalisé chez les enfants dans un premier temps ; le test génotypique ne sera effectué qu'à leur majorité, sauf si une surcharge en fer est diagnostiquée. |
| HFE005 | Mme L. HFE005 est hétérozygote pour la mutation p.Cys282Tyr du gène HFE. L'hémochromatose est une maladie autosomique récessive et l'hétérozygotie p.Cys282Tyr ne peut à elle seule conférer la pathologie. Cependant, un suivi du bilan martial peut être préconisé. La recherche de la mutation p.Cys282Tyr peut être proposée à son conjoint afin d'évaluer chez les enfants le risque de développer une hémochromatose de type I. |

Compte tenu de la diversité des commentaires, il n'est pas possible de les reproduire ici dans leur intégralité. Toutefois, on remarque que 92% (47/51) des laboratoires ont commenté ou interprété au moins un de leurs résultats ; lors de la précédente opération en 2005, 87% (40/46) d'entre eux l'avaient fait. On constate que le nombre de commentaires varie en fonction du génotype observé : ils ont été plus nombreux pour l'échantillon HFE004 (homozygotie C282Y) – 47 commentaires sur 51– que pour l'échantillon HFE005 (hétérozygotie C282Y) – 43 commentaires sur 51–.

Commentaires

En ce qui concerne les génotypes observés, tous les laboratoires participants ont déterminé correctement le génotype des deux échantillons.

Comme en 2005, aucune recommandation particulière n'a été donnée pour ce qui concerne les modalités de rédaction des résultats et des commentaires ou interprétation. Malgré une assez grande hétérogénéité dans les réponses apportées, l'ensemble génotype observé et commentaire/interprétation a été évalué pour chaque échantillon et chaque laboratoire. La conclusion de cette évaluation est rendue sous forme de lettres : A, B, C ou D. Cette conclusion de l'évaluation (A, B, C ou D) figurait sur le compte-rendu individuel du laboratoire ; elle était en règle générale complétée par un commentaire de l'expert-évaluateur.

Pour les deux échantillons, d'une part, une remarque sur le fait que la nomenclature internationale n'était pas utilisée a été rajoutée dans presque tous les cas ; cette remarque a été sans incidence sur l'évaluation. D'autre part, les traductions « littérales » du génotype observé sans conclusion ou autre commentaire n'ont pas été considérées comme de véritables commentaires/interprétation et cette absence a eu une incidence sur l'évaluation. Le détail par échantillon est le suivant :

- pour l'échantillon HFE004 :

La « note » A a été attribuée à 45 laboratoires qui avaient un génotype correct et un commentaire satisfaisant.

La « note » B a été attribuée à 5 laboratoires qui avaient un génotype correct, mais ne commentaient pas le résultat ou le commentaient de façon imprécise.

La note C a été attribuée à 1 laboratoire qui donnait la position du codon sans préciser la nature de la mutation et ne commentait pas le résultat.

La remarque « *la mutation p.His63Asp ne doit pas être recherchée quand il existe une homozygotie pour la mutation p.Cys282Tyr* » n'a pas été pénalisante pour les 21 laboratoires qui ont recherché cette mutation. Parmi eux, six laboratoires ont également recherché la mutation S65C. En effet, la Haute autorité de santé (HAS) estime dans un avis rendu en avril 2006, que « *Il n'y a pas de donnée identifiée montrant un intérêt diagnostique de la recherche de ces mutations [autres que la p.Cys282Tyr]* ».

- pour l'échantillon HFE005 :

La « note » A a été attribuée à 35 laboratoires qui avaient un génotype correct et un commentaire satisfaisant.

La « note » B a été attribuée à 14 laboratoires qui avaient un génotype correct, mais ne commentaient pas le résultat ou le faisaient de façon confuse. Par exemple, un laboratoire a été noté ainsi car dans un contexte d'enquête familiale d'hémochromatose de type I, il a rendu un résultat de mutation concernant le gène de la ferroportine sans le préciser.

La note C a été attribuée à 2 laboratoires qui avaient un génotype correct mais un commentaire incorrect, l'un faisant référence au cas HFE004, l'autre donnant la position du codon sans préciser la nature de la mutation.

Conclusion

Les résultats de cette seconde opération du Contrôle national de qualité réalisée dans le cadre du diagnostic moléculaire de l'hémochromatose sont satisfaisants. D'une part, toutes les analyses génotypiques sont correctes, ce qui confirme l'excellente maîtrise technique des laboratoires déjà constatée en 2005. D'autre part, 92% des laboratoires ont commenté et interprété leurs résultats ; cependant, il semble que face à une hétérozygotie C282Y, les laboratoires hésitent plus à interpréter leurs résultats que quand il s'agit d'une homozygotie C282Y. Il est toutefois regrettable de constater qu'un nombre important de laboratoires n'applique pas les recommandations internationales de nomenclature (HGVS - human genome variation society) pour exprimer les génotypes.

THR004 et THR005

Recherche des mutations du gène F2 et du gène F5 (thrombophilies)

Définition des échantillons

Les échantillons THR004 et THR005 sont des solutions d'ADN déjà extrait ; à chacun des échantillons correspond un cas clinique brièvement décrit (tableau IX).

tableau IX – définition des échantillons

| Echantillon | Génotype | Cas clinique |
|-------------|---|--|
| THR004 | <ul style="list-style-type: none">• gène F2 : g.[20210G>A]+[=]• gène F5 : absence de mutation | Recherche demandée dans le contexte d'un bilan de thrombose réalisé chez Monsieur THR004, 45 ans, ayant souffert d'une thrombose profonde d'un membre inférieur en post-opératoire (prothèse totale du genou) malgré une prévention par HBPM |
| THR005 | <ul style="list-style-type: none">• gène F2 : absence de mutation• gène F5 : absence de mutation | Recherche demandée dans le contexte d'un bilan de fausses couches tardives à répétition pour Madame THR005, 32 ans |

Résultats des participants

En l'absence d'une liste pré-établie, les génotypes reportés par les laboratoires ont été encodés pour être exploités ; ils sont présentés dans le tableau X.

tableau X – génotypes exprimés

| Echantillon | Génotype | Nombre de génotypes semblables/génotypes exprimés (%) |
|-------------|-------------------------------|---|
| THR004 | g.[20210G>A]+[=] | 48/48 (100%) |
| | absence de mutation (gène F5) | 49/49 (100%) |
| THR005 | absence de mutation (gène F2) | 49/49 (100%) |
| | absence de mutation (gène F5) | 50/50 (100%) |

Les réactifs ou techniques utilisés devaient être indiqués dans la zone du formulaire de réponse prévue à cet effet. Les laboratoires ont cité un ou plusieurs réactifs ou techniques (tableau XI). Pour cette opération, les

réactifs commerciaux ont été les plus utilisés. Par contre, le nombre d'utilisateurs de la technique PCR- RFLP (protocole « local ») a diminué par rapport à 2005 (10 utilisateurs sur 50 en 2007 contre 15 sur 48 en 2005).

tableau XI – réactifs ou techniques utilisés

| Réactif ou technique | Nombre d'utilisateurs |
|---|-----------------------|
| PRONTO DIAGNOSTICS ThromboRisk | 1 |
| ROCHE DIAGNOSTICS FACTOR II (PROTHROMBIN) G20210A KIT | 19 |
| ROCHE DIAGNOSTICS FACTOR V LEIDEN KIT | 18 |
| VIENNALAB FV-PTH StripAssay | 1 |
| PCR- temps réel (protocole "local") ou non précisé | 4 |
| PCR-RFLP - enzyme x (protocole "local") | 10 |
| PCR-SSO (protocole "local") | 4 |
| PCR-SSO (temps réel) | 8 |
| PCR-SSP (protocole "local") | 2 |
| PCR non précisée | 2 |

Pour faire un état des lieux, les laboratoires ont été interrogés sur la technique qu'ils utilisent habituellement. Parmi les 42 laboratoires qui ont répondu à la question : « travaillez-vous sur de l'ADN purifié ? », 39 laboratoires ont répondu par l'affirmative ; les techniques d'extraction qu'ils ont citées sont récapitulées dans le tableau XII.

tableau XII : techniques d'extraction citées par les laboratoires

| Techniques d'extraction | Nombre d'utilisateurs (*) |
|---|---------------------------|
| Amersham - Nuclear extraction kit ou Autre | 2 |
| Biomérieux Nuclisens ou non précisé | 2 |
| Biorad - Instagène | 1 |
| Extraction chloroforme/phénol | 1 |
| Extraction saline | 2 |
| Fujifilm - Quickgène DNA whole blood kit | 1 |
| Macherey-Nagel - NucléoSpin blood quick pure | 1 |
| Promega - Ready genomic DNA purification system | 2 |
| Qiagen - Flexigène ou DN Easy blood and tissue ou Biosprint ou autre | 4 |
| Qiagen - QiAmp | 18 |
| Roche - High pure PCR template determination ou Autre | 5 |
| Technique maison non précisée | 1 |
| Viennalab - kit d'extraction fourni avec réactif pour la recherche de la mutation | 1 |

(*) : une ou plusieurs techniques citées par les laboratoires

Les laboratoires avaient la possibilité de commenter leurs résultats (mutation détectée, génotype trouvé). Les commentaires-types attendus, compte tenu de la définition des échantillons (tableau IX), sont les suivants (tableau XIII).

tableau XIII – commentaires-types attendus

| Echantillon | Commentaire- type attendu |
|-------------|---|
| THR004 | La mutation g.20210G>A de la prothrombine est un facteur de risque très modéré de thrombose veineuse profonde (risque relatif de l'ordre de 2-3 pour une hétérozygotie) ; dans l'objectif d'évaluer le potentiel thrombotique individuel, la recherche des autres facteurs de risque établis de thrombose (déficits en inhibiteurs de la coagulation, anticoagulant lupique et anticorps du syndrome des antiphospholipides) est indispensable. Une enquête familiale est à discuter en fonction de l'ensemble des résultats de ce bilan, du contexte clinique personnel et familial. |
| THR005 | Les mutations thrombogènes du FV et du FII sont absentes. D'autres facteurs de risque établis de thrombose veineuse (déficits inhibiteurs de la coagulation, anticoagulants lupiques et anticorps antiphospholipides du syndrome des antiphospholipides et hyperhomocystéinémie) peuvent être impliqués dans la survenue de fausses couches spontanées récidivantes. D'après la conférence de consensus Thrombophilie et Grossesse 2003, la recherche de ces anomalies peut être indiquée dans de tels contextes cliniques. |

Compte tenu de la diversité des commentaires, il n'est pas possible de les reproduire ici dans leur intégralité. Aucune recommandation particulière quant aux modalités de rédaction des commentaires/interprétation n'a été faite. Toutefois, on remarque que 80% (40/50) des laboratoires ont commenté ou interprété au moins un de leurs résultats ; lors de la précédente opération en 2005, seuls 60% (29/48) d'entre eux l'avaient fait. On constate que le nombre de commentaires varie en fonction du génotype observé : ils ont été plus nombreux pour l'échantillon THR004 (hétérozygote G20210A) – 38 commentaires – que pour l'échantillon THR005 (absence des mutations R506Q et G20210A) – 28 commentaires –.

Commentaires

En ce qui concerne la recherche des mutations thrombogènes, les résultats des génotypages rendus étaient corrects pour 100% des laboratoires. Quatre laboratoires ont mentionné la concentration d'ADN jugée trop faible dans les échantillons ; toutefois, un seul d'entre eux a attribué l'échec de génotypage pour la mutation du gène du facteur II à cette faible concentration d'ADN.

Malgré une très grande hétérogénéité dans les réponses apportées, l'ensemble génotype observé et commentaire/interprétation a été évalué pour chaque échantillon et chaque laboratoire. La conclusion de cette évaluation est rendue sous forme de lettres : A, B, C ou D. Cette conclusion de l'évaluation (A, B, C ou D) figurait sur le compte-rendu individuel du laboratoire ; elle était en règle générale complétée par un commentaire de l'expert-évaluateur. Cependant, les traductions « littérales » du génotype observé sans conclusion ou autre commentaire n'ont pas été considérées comme de véritables commentaires/interprétation et n'ont pas été évaluées.

La note A a été attribuée quand le commentaire/interprétation était correct, B quand il était imprécis, C quand il contenait une erreur ; la note D aurait été attribuée si le génotype avait été faux.

Tous échantillons confondus, on note une grande hétérogénéité inter-laboratoires dans le mode d'expression des résultats qui peut parfois nuire à leur compréhension. Il serait souhaitable d'adopter un mode d'expression harmonisé en utilisant la nomenclature internationale (HUGO gene nomenclature). Ce problème avait déjà été signalé lors de l'opération de contrôle de qualité précédente en 2005.

Le détail par échantillon des remarques suscitées par les commentaires/interprétations des laboratoires est le suivant.

THR004

- 11 laboratoires ne commentent pas le résultat.

- 4 laboratoires demandent qu'un deuxième prélèvement soit réalisé pour contrôle de l'hétérozygotie pour la mutation g.20210G>A de la prothrombine. Cette attitude peut être justifiée par le fait que le résultat d'un génotypage va suivre un patient tout au long de son existence. Il n'y a pas, à notre connaissance, d'obligation légale à réaliser un tel contrôle mais dans le domaine de l'hémophilie, certains groupes de travail préconisent une attitude similaire.
- Seuls 18 laboratoires signalent que la mutation mise en évidence est un facteur de risque de thrombose veineuse ; or, il serait souhaitable que tous les laboratoires signalent ce fait et donnent le risque relatif de thrombose associé à la présence de l'anomalie constatée.
- 9 laboratoires signalent l'existence d'autres facteurs de risque biologique de thrombose veineuse qu'il convient de rechercher compte tenu du caractère multifactoriel de la pathologie thrombotique veineuse ; cette demande est en accord avec les connaissances et recommandations actuelles. Il convient cependant de préciser que les facteurs de risque biologique établis à ce jour sont outre les mutations thrombogènes du FII et du FV, les déficits en antithrombine, protéine C, protéine S, la présence des anticoagulants lupiques et des anti-phospholipides (IgG anticardiolipine et anti bêta2glycoprotéine I) de titres forts permanents. La place du dosage du FVIII dans le bilan de thrombose n'est pas totalement définie. L'hyperhomocystéinémie modérée est un facteur de risque modéré mais le risque thrombotique perdure après normalisation thérapeutique de l'homocystéinémie ce qui fait discuter l'intérêt de ce test au sein de ce bilan.
- 4 laboratoires envisagent, 1 autre conseille et 1 impose une enquête familiale pour recherche de la mutation de la prothrombine ; l'attitude actuelle est de juger, au cas par cas, de l'intérêt d'une proposition de dépistage familial tenant compte de l'histoire clinique personnelle et familiale d'autant plus que cette mutation est un facteur de risque faible.
- 4 laboratoires proposent une consultation en centre spécialisé.
- quelques laboratoires font des commentaires peu ou mal appropriés :
 - o 1 laboratoire affirme sans nuance que la mutation de la prothrombine est un facteur de risque de récurrence de thrombose alors que cet impact reste discuté
 - o 1 laboratoire demande (-seul commentaire-) un dosage d'antithrombine dans l'objectif de dépister un déficit qui rendrait les traitements hépariniques inefficaces ce qui selon lui ferait traiter le patient par AVK. Ce commentaire est peu approprié car les traitements hépariniques restent très généralement efficaces chez les sujets porteurs d'un déficit en AT (même si l'on est parfois obligé d'utiliser des posologies plus fortes) et l'on ne traite jamais les patients d'emblée par des AVK
 - o 1 laboratoire propose une recherche de thrombopénie immunologique induite par héparine. La survenue de thromboses sous héparine peut dans certains cas faire évoquer ce diagnostic mais pas dans ce cas précis en première intention d'autant plus qu'aucune thrombopénie n'est mentionnée. On pense d'abord à un problème de posologie insuffisante pour le « potentiel prothrombotique » du patient (ce qui a d'ailleurs été suggéré par 2 laboratoires).

THR005

- 22 laboratoires n'ont fait aucun commentaire.
- 21 commentaires ont signalé que la pathologie étant multifactorielle, d'autres facteurs de risque sont à rechercher.
- 1 laboratoire mentionne les instructions de la conférence de consensus 2003 (Conférence de consensus « Thrombophilie et grossesse. Prévention des risques thrombotiques maternels et placentaires » en mars 2003 à Paris ; disponible sur le site Internet de l'HAS).
- 2 laboratoires mentionnent l'intérêt d'une consultation spécialisée.
- quelques laboratoires font des commentaires peu ou mal appropriés :

- 1 laboratoire mentionne la maladie thrombo-embolique comme étiologie des fausses couches spontanées (FCS)
- 1 laboratoire précise qu'il ne faut pas rechercher les déficits en protéine S (PS). Il s'agit probablement d'une mauvaise compréhension du texte de consensus qui demande de ne pas évaluer la protéine S au cours de la grossesse compte tenu des difficultés d'interprétation des résultats dans ce contexte
- 1 laboratoire préconise le dosage de la protéine Z et un autre la recherche de la mutation V617F de Jak2 : les données de la littérature en faveur du rôle de ces facteurs dans cette pathologie sont trop peu nombreuses pour que l'on puisse se permettre de donner ce conseil
- 1 laboratoire considère que la recherche des mutations du FII et du FV est inappropriée dans ce contexte clinique.

Conclusion

Les résultats de cette seconde opération du Contrôle national de qualité réalisée dans le cadre du diagnostic moléculaire des thrombophilies sont satisfaisants. D'une part, toutes les analyses génotypiques sont correctes ; et d'autre part, 80% des laboratoires ont commenté et interprété leurs résultats, soit une augmentation par rapport à 2005. Toutefois, il faut continuer à rappeler qu'un génotype clairement exprimé et un commentaire pertinent sont des éléments importants en génétique moléculaire et ce, quel que soit le génotype observé.