

Annales du contrôle national de qualité des analyses de biologie médicale

**Recherche de l'allèle
HLA-B*57:01**

16B57-1 DECEMBRE 2016

JUILLET 2017

Anne GUYARD (Ansm)
Chantal GAUTREAU (Hôpital Saint-Louis - Paris)
Pascale LOISEAU (Hôpital Saint-Louis - Paris)

Expédition : 7 décembre 2016

Clôture : 3 janvier 2017

Edition des compte-rendus individuels : 9 mars 2017

Paramètres contrôlés : **Recherche de l'allèle HLA-B*57:01** : échantillons B57-A1, B57-A2 et B57-A3

Nombre de laboratoires concernés* : 29

Nombre de laboratoires participants** : 29

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

**Laboratoires ayant saisi leurs résultats sur le site de l'ANSM avant la date de clôture de l'opération

Résumé de l'opération

L'opération 16B57-1 comportait trois échantillons d'ADN, étiquetés B57-A1, B57-A2 et B57-A3 adressés aux 29 laboratoires concernés pour recherche de l'allèle HLA-B*57:01.

Les techniques de PCR-SSP et PCR-SSO sont les plus utilisées, le séquençage et la PCR en temps réel étant peu utilisées. Sur l'ensemble des trois échantillons (deux échantillons positifs et un échantillon négatif), les résultats sont satisfaisants avec 97,7 % de réponses attendues.

Définition des échantillons

Les échantillons B57-A1, B57-A2 et B57-A3 sont des échantillons d'ADN déjà extrait (au minimum 4 µg par aliquot). Il était rappelé aux laboratoires de mesurer la concentration en ADN de chaque échantillon afin d'adapter la dilution à leur technique. Les échantillons ont été testés par les experts et les résultats attendus figurent dans le tableau I.

tableau I – échantillons HLA-B*57:01

| Echantillon | Recherche de l'allèle HLA-B*57:01 |
|-------------|-----------------------------------|
| B57-A1 | Négative |
| B57-A2 | Positive |
| B57-A3 | Positive |

Résultats des participants

Un questionnaire a été réalisé en mai 2016 afin de recenser les laboratoires pratiquant la recherche de l'allèle HLA-B*57:01 par biologie moléculaire : 29 laboratoires ont été identifiés et ont été destinataires des échantillons B57-A1, -A2 et -A3.

1 – Techniques et réactifs

Le détail des techniques utilisées figurent dans le tableau II.

tableau II – techniques utilisées par les participants

| Technique 1 | Technique 2 | Effectif |
|----------------|-------------|----------|
| PCR-SSP | - | 10 |
| PCR-SSP | PCR-SSP | 1 |
| PCR-SSO | - | 3 |
| PCR-SSO | PCR-SSP | 9 |
| PCR-SSO | Séquençage | 4 |
| Séquençage | - | 1 |
| PCR temps réel | - | 1 |
| | total | 29 |

Parmi les différentes techniques de biologie moléculaire utilisées, la technique de PCR-SSP est la plus fréquente avec 20 laboratoires, autant en technique unique qu'en technique de 2^{ème} intention. Ensuite la PCR-SSO avec 16 laboratoires est utilisée uniquement en 1^{ère} intention et est complétée par une PCR-SSP pour 9 laboratoires. Le séquençage est utilisé par 5 laboratoires et la PCR en temps réel par un seul.

Les réactifs utilisés figurent dans les tableaux III et IV.

tableau III – couples de réactifs utilisés par les participants

| Réactif 1 | | Réactif 2 | | Nb |
|--|---------|--|---------|----|
| BIONOBIS Olerup SSP HLA-B*57:01 | SSP | | | 6 |
| INGEN Labtype HD class I B typing test | SSO | BIONOBIS Olerup SSP HLA-B*57:01 | SSP | 5 |
| | | BIONOBIS Olerup SSP HLA-B*57 | SSP | 2 |
| | | MEDIANE Protrans S4 HLA-B* Cyclostrip | PCR SBT | 2 |
| BIONOBIS Olerup SSP (non précisé) | SSP | | | 2 |
| MEDIANE BAG Histo Spot B | SSO | BIONOBIS Olerup SSP HLA-B low resolution | SSP | 1 |
| INGEN Labtype HD class I B typing test | SSO | PCR-SEQ protocole local | PCR SBT | 1 |
| | | | | 1 |
| INGEN Labtype XR class I B typing test | SSO | | | 1 |
| INGEN Labtype SSO (non précisé) | SSO | MEDIANE Protrans S4 HLA-B* Cyclostrip | PCR SBT | 1 |
| | SSO | BIONOBIS Olerup SSP (non précisé) | SSP | 1 |
| | SSO | | | 1 |
| RT-PCR protocole local | RT-PCR | | | 1 |
| BEDIAGENOMICS Allèle SEQR HLA-B | PCR SBT | | | 1 |
| PCR SSP autre | SSP | BIONOBIS Olerup SSP HLA-B*57 | SSP | 1 |
| | | | | 1 |
| PCR-SSP protocole local | SSP | | | 1 |
| | | | | 29 |

tableau IV – liste des réactifs utilisés par les participants par technique et par fréquence

| Réactifs | Nb |
|--|----|
| PCR SSP | |
| BIONOBIS Olerup SSP HLA-B*57:01 | 11 |
| BIONOBIS Olerup SSP HLA-B*57 | 3 |
| BIONOBIS Olerup SSP (non précisé) | 3 |
| BIONOBIS Olerup SSP HLA-B low resolution | 1 |
| PCR-SSP protocole local | 1 |
| PCR SSP autre | 2 |
| PCR SSO | |
| INGEN Labtype HD class I B typing test | 11 |
| INGEN Labtype XR class I B typing test | 1 |
| INGEN Labtype SSO (non précisé) | 3 |
| MEDIANE BAG Histo Spot B | 1 |
| PCR temps réel (RT-PCR) | |
| RT-PCR protocole local | 1 |
| PCR SBT | |
| MEDIANE Protrans S4 HLA-B* Cyclerstrips | 3 |
| BEDIAGENOMICS Allèle SEQR HLA-B | 1 |
| PCR-SEQ protocole local | 1 |
| | |
| Total | 43 |

2 – Résultats

Les résultats des laboratoires sont satisfaisants (tableau V) : 100% de bonnes réponses sur l'échantillon B57-A2 et une réponse erronée provenant d'un même laboratoire sur les échantillons B57-A1 et B57-A3. Le laboratoire a identifié la cause de cette erreur comme étant une inversion d'échantillons.

Tous résultats cumulés, le nombre de réponses correctes est de 85 sur 87 soit 97,7 %.

tableau V – résultats des participants

| Echantillon | Réponse attendue | Réponses des laboratoires | | % de réponses correctes |
|-------------|------------------|-----------------------------------|----------|-------------------------|
| | | Recherche de l'allèle HLA-B*57:01 | | |
| | | Négative | Positive | |
| B57-A1 | Négative | 28 | 1 | 96,6 % |
| B57-A2 | Positive | 0 | 29 | 100 % |
| B57-A3 | Positive | 1 | 28 | 96,6 % |

Commentaires

La recherche de l'allèle HLA-B*5701 par une technique de biologie moléculaire (acte 1691 du chapitre Médicaments - Toxiques de la NABM) est indiquée chez les patients infectés par le virus de l'immunodéficience humaine devant recevoir un traitement incluant de l'abacavir et doit être réalisée avant la première prescription. La recherche de l'allèle de susceptibilité à l'hypersensibilité à l'abacavir fait partie des examens de pharmacogénétique.

Conclusion

A l'exception de deux résultats erronés dus à une inversion d'échantillons, les résultats de l'ensemble des laboratoires sont très satisfaisants car conformes aux résultats attendus.

Bibliographie

Association between presence of HLA-B*5701, HLA-DR7, and HLA-DQ3 and hypersensitivity to HIV-1 reverse-transcriptase inhibitor abacavir. Mallal S, Nolan D, Witt C, Masel G, Martin AM, Moore C, Sayer D, Castley A, Mamotte C, Maxwell D, James I, Christiansen FT. *Lancet*. 2002 Mar 2;359(9308):727-32

Immune responses to abacavir in antigen-presenting cells from hypersensitive patients. Martin AM, Almeida CA, Cameron P, Purcell AW, Nolan D, James I, McCluskey J, Phillips E, Landay A, Mallal S. *AIDS*. 2007 Jun 19;21(10):1233-44

Abacavir induces loading of novel self-peptides into HLA-B*57:01: an autoimmune model for HLA-associated drug hypersensitivity. Norcross MA, Luo S, Lu L, Boyne MT, Gomarteli M, Rennels AD, Woodcock J, Margulies DH, McMurtrey C, Vernon S, Hildebrand WH, Buchli R. *AIDS*. 2012 Jul 17;26(11)

Drug hypersensitivity caused by alteration of the MHC-presented self-peptide repertoire. Ostrov DA, Grant BJ, Pompeu YA, Sidney J, Harndahl M, Southwood S, Oseroff C, Lu S, Jakoncic J, de Oliveira CA, Yang L, Mei H, Shi L, Shabanowitz J, English AM, Wriston A, Lucas A, Phillips E, Mallal S, Grey HM, Sette A, Hunt DF, Buus S, Peters B. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012 Jun 19;109(25):9959-64