

G. Baccar (1), A. Boughanmi (1), R. Dorboz (1), MW. Khemiri (1), K. Ghniya (1), R. Nabli (1), M. Makhlouf (1), T. Ben Romdhane (1), I. Sassi (1), C. Kallala (1), S. Ben Boujemaa (1), R. Bardi (1), T. Ben Abdallah (1), Y. Gorgi (1), I. Sfar (1) Laboratoire de Recherche en Transplantation Rénale et en Immunopathologie (LR03SP01), Hôpital Charles Nicolle.

INTRODUCTION

L'antigène HLA-B*27 est un antigène de surface de classe I, codé par le locus B du complexe majeur d'histocompatibilité. Il est fortement associé à diverses maladies auto-immunes [1]. Il est souvent indiqué dans le cadre du diagnostic positif de la spondylarthrite ankylosante. Différentes techniques peuvent être utilisées pour réaliser ce typage. Plusieurs kits commerciaux moléculaires sont actuellement disponibles dans le marché avec des sensibilités et des spécificités variables

OBJECTIF

Performance du Kit GENESMART ??

PCR en temps réel

PCR-SSP

METHODES

MATERIELS

39 échantillons d'ADN de patients ayant bénéficié d'un typage du locus HLA-B par PCR-SSP (One Lambda™)

5 échantillons HLA-B*27 négatifs

34 échantillons HLA-B*27 positifs

17 échantillons HLA B*27 : 02

14 échantillons HLA B*27 : 01

3 échantillons HLA B*27 : 12

Technique moléculaire PCR-SSP

Le principe de cette méthode est basé sur le choix d'amorces d'allèles spécifiques qui doivent générer un produit d'amplification si l'allèle est présent

Technique moléculaire PCR en temps réel

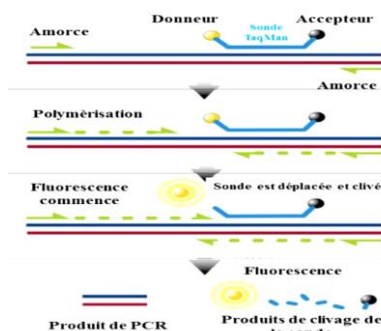


Figure 1 : Principe de la PCR en temps réel

RESULTATS ET DISCUSSIONS

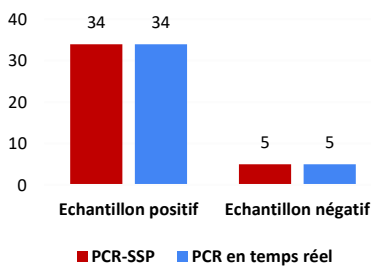
Concentration de l'ADN (ng/μL)	Ct	p = 0,7
20	21,18	
50	20,08	
100	21,32	

Allèle	Ct	p = 0,83
HLA B27 : 01	21,3	
HLA B27 : 02		
HLA B27 :12	20,6	

Aucune différence de Ct par rapport à la concentration de l'ADN et la spécificité allélique

= Une meilleure sensibilité et spécificité

Comparaison des résultats par PCR en temps réel et PCR-SSP



Une concordance parfaite de 100% entre les deux tests moléculaires (PCR en temps réel versus PCR-SSP)

PCR en temps réel

PCR-SSP

- Plus rapide et sensible [2, 3]
- Détecte de faibles quantités d'acide nucléique
- Les sondes utilisées: technique plus spécifique [4]
- Usage de réactif non cancérigène (BET pour la PCR-SSP)

Plus coûteuse

CONCLUSION

- Les résultats préliminaires de cette étude attestent des bonnes performances analytiques du kit GENESMART™ comparativement à la PCR-SSP
- Le typage HLA-B*27 par PCR en temps réel offre l'avantage d'être une technique plus rapide, plus simple, plus sensible et plus spécifique[2,3]
- Une étude portant sur un plus large effectif est nécessaire pour confirmer ces constatations, en testant d'autres allèles rares HLA-B*27

Références

- [1] Cesbron-Gautier A, Gagne K, Retière C, Devys A, Bignon JD. Système HLA. EMC, Hématologie 2007; 13-000-M-53.
- [2] V. Veron, S. Simon, B. Carme. Multiplex real-time PCR detection of P. falciparum, P. vivax and P. malariae in human blood samples. Exp Parasitol (2009); 121:346-351.
- [3] F. de Monbrion, C. Angei, A. Staal, K. Kaiser, S. Picot. Simultaneous identification of the four human Plasmodium species and quantification of Plasmodium DNA load in human blood by real-time polymerase chain reaction. Trans R Soc Trop Med Hyg (2003); 97:387-390.
- [4] Carless C.E, Guiver R, Barrow V, Edwards-Jones A, Fox J and Kaczmarek E.B. Simultaneous Detection of Neisseria meningitidis Haemophilus influenzae and Streptococcus pneumoniae in suspected case of Meningitis and Septicemia Using Real Time PCR. Journal of clinical Microbiology. 2011; 39:1553-1558.