

FICHE REFERENTIEL SFH - 2018

Recherche des polymorphismes *F5 G1691A* (facteur V Leiden) (Code NABM 1029) et *F2 G20210A* du gène la prothrombine (Code NABM 1030)

Signification biologique du paramètre	
<p>Le polymorphisme Arg506Gln (<i>F5 R506Q</i>) dû à la transition <i>G1691A</i> dans le gène du facteur 5 (<i>F5</i>) est responsable du <i>F5</i> Leiden. La transition <i>F2 G20210A</i> est située en position 3' non traduite du gène de la prothrombine. Le <i>F5</i> Leiden est à l'origine d'une résistance à la protéine C activée alors que la transition <i>G20210A</i> est associée à une augmentation modérée du taux plasmatique de la prothrombine. La prévalence du <i>F5</i> Leiden est de 3 à 5% en Europe avec un gradient nord/sud et est associée à une augmentation du risque relatif de maladie thrombo-embolique de 3 à 8 à l'état hétérozygote et de 80 à l'état homozygote. La prévalence de la transition <i>G20210A</i> est de 2 à 4% en Europe avec une augmentation du risque relatif de 3 à l'état hétérozygote.</p>	
Objectifs de l'analyse et principales indications de prescription	
<p>Ces 2 variants sont des facteurs de risque de thrombose veineuse dont la recherche fait partie du bilan de thrombophilie constitutionnelle. Il s'agit de marqueurs de génétique constitutionnelle qui doivent être prescrits dans le cadre d'une consultation de thrombophilie et qui nécessitent le recueil du consentement éclairé et signé du patient. La prescription de ces bilans est encadrée, tenant compte notamment de l'âge au premier événement thrombo-embolique, de son sexe et du caractère provoqué ou non de chaque épisode (cf recommandations).</p>	
Place dans la hiérarchie d'un bilan d'exploration	
<p>La recherche de ces deux polymorphismes doit être réalisée en première ligne du bilan de thrombophilie en complément du dosage de l'activité de l'antithrombine, des protéines C et S et de la recherche d'anticorps antiphospholipides, en plus de l'hémogramme. La recherche du <i>F5</i> Leiden doit se substituer en première intention à la recherche d'une résistance à la protéine C activée souvent sensible aux interférences et traitements anticoagulants, sauf cas particuliers (patients greffés).</p>	
Nature du prélèvement	Sang total EDTA ou tout échantillon permettant une extraction d'ADN génomique
Recommandations pour la qualité du prélèvement	Aucune
Contraintes d'acheminement	<48h
Mode de conservation	Température ambiante, ou +4°C
Principe méthodologique	<p>Les techniques de génotypage sont nombreuses et sont commerciales (souvent marquage CE-IVD, validation de méthode en portée A pour le Cofrac) ou « maison » (validation portée B). Il s'agit souvent de techniques de PCR (réaction d'amplification de l'ADN) couplées à une détection sur gel d'agarose ou sur support solide (microplaque ou billes) avec une révélation colorée ou fluorescente. Les plus utilisées utilisent le FRET, le reverse Dot-Blot, l'amplification spécifique d'allèle, la PCR en temps réel de type TaqMan® ou la RFLP. Ces analyses sont réalisées selon les directives du décret n°2008-321 du 04/04/2008 et de l'arrêté du 27/05/2013 relatifs à « l'examen des caractéristiques génétiques d'une personne à des fins médicales ». Les biologistes réalisant ces analyses de génétique constitutionnelle sont agréés par l'agence de la Biomédecine et les locaux dédiés sont autorisés par l'ARS.</p>
Type de méthode	Automatisée mais parfois manuelle
Type de mesure	Qualitatif (absence ou présence de la mutation à l'état hétérozygote ou homozygote)
CIQ	Des contrôles homozygote sain, hétérozygote et homozygote muté doivent être intégrés à chaque série analytique
EEQ	Oui (RFB-ECAT)
Performances du test	Sensibilité et spécificité proche de 100% pour les deux mutations
Causes d'erreur, limites du test	<p>Il s'agit d'un diagnostic de quasi-certitude quant à la présence ou l'absence de ces mutations. Les causes d'erreur sont rares et pourraient théoriquement être du à des polymorphismes de type SNP présents sous le site des amorces ou des sondes de révélation et empêchant leur fixation, par exemple le variant <i>C20209T</i> du gène de la prothrombine mais qui est très rare. Chez les greffés de moelle osseuse, l'ADN ne doit pas être extrait des leucocytes.</p>
Références	<ul style="list-style-type: none"> - Bertina RM, Koeleman BP, Koster T, Rosendaal FR, Dirven RJ, de Ronde H, van der Velden PA, Reitsma PH. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. <i>Nature</i>. 1994 May 5;369(6475):64-7. - Poort SR, Rosendaal FR, Reitsma PH, Bertina RM. A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis. <i>Blood</i>. 1996 Nov 15;88(10):3698-70 - Pernod G, Biron-Andreani C, Morange PE, Boehlen F, Constans J, Couturaud F, Drouet L, Jude B, Lecompte T, Le Gal G, Trillot N, Wahl D; French group on haemostasis and thrombosis; French Society of vascular medicine.

	Recommendations on testing for thrombophilia in venous thromboembolic disease: a French consensus guideline. J Mal Vasc. 2009 May;34(3):156-203.
--	--