

Etude du chimérisme post allogreffe de cellules souches hématopoïétiques par PCR quantitative

M.CHEKKAL^[1,2], N.BENNAOUM^[1,2], M. LARGAT^[2], I. BENMIR^[2], A.ADDA^[1,2], R. ABIAYAD^[1,4], A. BENDIMERAD^[1,3], S. BOUNOUA^[1,3], N.YAFOUR^[1,3]



¹Faculté de médecine. Université Oran1. Oran. Algérie.

² Service d'hémobiologie et banque de sang, EHU Oran, Oran. Algérie

³ Service d'hématologie, EHU Oran. Oran. Algérie

⁴ Service de Bactériologie.. EHU Oran. Oran. Algérie

INTRODUCTION

L'étude du chimérisme est une étape importante dans le suivi de l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH).

Plusieurs techniques de biologie moléculaire sont utilisables pour déterminer et quantifier le chimérisme : la technique Short Tandem Repeats (STR) considérée comme la méthode de référence, la PCR quantitative (qPCR), la PCR digitale et le séquençage de nouvelle génération (NGS).

Pour la première fois en Algérie, nous allons utiliser les marqueurs de polymorphisme Insertion/ délétion (INDEL) par qPCR pour l'étude du chimérisme.

Connaissant l'hétérogénéité des marqueurs génétiques entre les populations, quels seront les marqueurs INDEL les plus informatifs dans notre population ?

L'objectif de ce travail est de déterminer le chimérisme à 90 (+/-10) jours de la greffe de CSH et de calculer l'informativité des marqueurs INDEL étudiés.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Pour chaque couple donneur/ receveur HLA compatibles, un génotypage a été réalisé sur des échantillons pré greffe en utilisant 19 marqueurs puis les marqueurs discriminants donneur et receveur ont été quantifiés chacun à J90 par analyse relative à un échantillon calibrateur (l'échantillon pré greffe).

Le génotypage et la quantification ont été réalisés par PCR en temps réel sonde Taq Man sur système QuantStudio 5, Applied Biosystems®,

Les résultats du chimérisme à J90 ont été exprimés en pourcentage de cellules donneur. Le chimérisme a été considéré comme complet donneur lorsque le pourcentage de cellules donneur était supérieur à 95%.

RÉSULTATS

21 patients ayant reçu une greffe de CSH ont été étudiés. Un chimérisme complet donneur a été observé chez 47,6 % des patients greffés à J90.

Le tableau 1 compare l'informativité des marqueurs génétiques dans notre population d'étude avec l'étude d'origine d'Alizadeh *et al* (Blood, 2002).

Marqueur génétique	Notre population d'étude, %	Etude d'Alizadeh et al, %
S 01a	14,3	23,6
S 01b	2,4	/
S 02 (Ch Y)	16,7	36,4
S 03	7,1	16,4
S 04a	7,1	23,6
S 04b	16,7	12,7
S 05a	00	1,8
S 05b	11,9	27,3
S 06	9,5	31,0
S 07a	4,8	31,0
S 07b	16,7	21,8
S 08a	4,8	16,4
S 08b	9,5	20,2
S 09b	21,4	14,5
S 10a	7,1	25,5
S 10b	11,9	20,2
S 11a	16,7	25,5

Tab1. Informativité des marqueurs génétiques

Lors du génotypage pré greffe, aucun marqueur discriminant n'a été retrouvé chez 14,3% des donneurs et pareil pour les receveurs. Néanmoins, dans 100% des cas, au moins un marqueur discriminant soit donneur ou receveur ou les deux a été retrouvé permettant à chaque fois une quantification du chimérisme donneur.

Dans les cas où il n'y avait pas de marqueur discriminant donneur, le chimérisme du donneur en pourcentage a été calculé comme 100 moins le chimérisme du receveur en pourcentage.

DISCUSSION

A l'exception des marqueurs « S 04b et S 09b », tous les marqueurs génétiques étudiés avaient une informativité nettement inférieure à celle calculée dans l'étude originelle d'Alizadeh *et al* et ceci pourrait s'expliquer par le fait que 100% des couples donneur/receveur de notre étude sont apparentés contrairement à l'étude originelle où 14,5% des couples sont non apparentés augmentant ainsi le pouvoir discriminant des marqueurs génétiques.

CONCLUSION

Cette mise en place concluante de la technique d'étude du chimérisme par qPCR, nous permettra de passer à l'étude de la cinétique du chimérisme à fin de prédire précocement le risque de rechute et d'en décider de la thérapeutique adéquate.

REMERCIEMENTS

Nos vifs remerciements à la société HTDS ALGERIE pour l'accompagnement de ce projet