

**DEMANDE D'EXPLORATIONS MOLECULAIRES et/ou
BIOCHIMIQUES DES MALADIES MITOCHONDRIALES**

SERVICE DE GENETIQUE MEDICALE
Unité de Génétique Moléculaire
Centre de Référence des Pathologies Mitochondriales
Pôle Biologie-Pathologie

Hôpital de l'Archet 2 (niveau -3)
151 route de Saint Antoine de Ginestiere
CS 23079 - 06202 NICE CEDEX 3
Téléphone 04 92 03 64 60 / **Fax** 04 92 03 64 65
Email ar-genetique-sec@chu-nice.fr

Biologistes Génétique Moléculaire : Pr. Véronique PAQUIS – Chef de service
Dr. Samira AIT EL MKADEM-SAAFI, Pr. Sylvie BANNWARTH, Dr. Bruno FRANCOU, Dr. Cécile ROUZIER
Biologiste Biochimie de la chaîne respiratoire : Dr. Konstantina FRAGAKI
Clinicien : Dr. Annabelle CHAUSSENOT

<p>PRESCRIPTEUR (sénior obligatoire)</p> <p>Nom, prénom, fonction :</p> <p>Service :</p> <p>Adresse :</p> <p>Téléphone : Fax :</p> <p>courriel : Signature du prescripteur :</p>	<p>PRÉLEVEUR</p> <p>Nom et prénom :</p> <p>Service :</p> <p>Date : Heure :</p>
--	---

<p align="center">PATIENT (ou étiquette)</p> <p>Nom :</p> <p>Prénom :</p> <p>Nom de jeune fille :</p> <p>Date de naissance :</p> <p>Sexe : <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> F</p> <p>Consanguinité <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non</p> <p>Ce patient est : <input type="checkbox"/> un cas index <input type="checkbox"/> un apparenté <input type="checkbox"/> un conjoint</p> <p>Si c'est un apparenté, nom du cas index :</p>	<p align="center">NATURE DU PRELEVEMENT</p> <p align="center"><i>(cf. conditions de prélèvements pour conditionnement et transport)</i></p> <p><input type="checkbox"/> Sang (2 tubes EDTA ou 8mL, température ambiante)</p> <p><input type="checkbox"/> Biopsie musculaire <input type="checkbox"/> Biopsie hépatique</p> <p><input type="checkbox"/> Biopsie cutanée</p> <p><input type="checkbox"/> Frottis buccal <input type="checkbox"/> Urines</p> <p><input type="checkbox"/> Autre.....</p>
--	---

RENSEIGNEMENTS CLINIQUES	
<p>Pathologie suspectée : Age de début :</p> <p>Antécédents familiaux (Joindre un arbre généalogique) :</p>	
<p>Descriptions des atteintes :</p> <p><input type="checkbox"/> Neurologique :</p> <p><input type="checkbox"/> retard psychomoteur :</p> <p><input type="checkbox"/> Epilepsie :</p> <p><input type="checkbox"/> Ataxie : <input type="checkbox"/> cérébelleuse <input type="checkbox"/> proprioceptive</p> <p><input type="checkbox"/> Neuropathie : type <input type="checkbox"/> axonale <input type="checkbox"/> démyélinisante / <input type="checkbox"/> sensitive <input type="checkbox"/> motrice</p> <p><input type="checkbox"/> autre :</p> <p><input type="checkbox"/> Myopathie : <input type="checkbox"/> proximale <input type="checkbox"/> distale / <input type="checkbox"/> ophtalmoparésie <input type="checkbox"/> ptosis</p> <p>CPK :</p> <p><input type="checkbox"/> Ophtalmologique : <input type="checkbox"/> Rétinite pigmentaire / <input type="checkbox"/> Atrophie optique / <input type="checkbox"/> Autre</p> <p><input type="checkbox"/> Surdité : <input type="checkbox"/> unilatérale <input type="checkbox"/> bilatérale/ <input type="checkbox"/> neurosensorielle <input type="checkbox"/> transmission</p> <p><input type="checkbox"/> Hépatique : Type :</p> <p><input type="checkbox"/> Cardiaque : <input type="checkbox"/> CMH <input type="checkbox"/> CMD <input type="checkbox"/> NCVG Autre :</p> <p><input type="checkbox"/> Endocrine : <input type="checkbox"/> Diabète : type :/ <input type="checkbox"/> Insulinotraité / <input type="checkbox"/> Surpoids, IMC :</p> <p><input type="checkbox"/> Autres :</p> <p><input type="checkbox"/> Rénale : Type :</p> <p><input type="checkbox"/> Retard Statur pondéral : <input type="checkbox"/> RCIU / <input type="checkbox"/> Post-natal</p> <p><input type="checkbox"/> Autres :</p>	<p>Éléments paracliniques :</p> <p>IRM cérébrale (Spectro) :</p> <p>.....</p> <p>EMG :</p> <p>Biochimie :</p> <p>Lactates..... Lactates / pyruvates.....</p> <p>CAA sanguins :</p> <p>CAA urinaires :</p> <p>CAO urinaires :</p> <p>Autres :</p> <p>Histologie des biopsies tissulaires (fournir compte rendu):</p> <p><input type="checkbox"/> RRF....., <input type="checkbox"/> COXneg, <input type="checkbox"/> surcharge lipidique</p>

DOCUMENTS A JOINDRE OBLIGATOIREMENT
<ul style="list-style-type: none"> • COMPTE-RENDUS CLINIQUE de consultation ou d'hospitalisation (les demandes de panel ne seront pas réalisées en l'absence de ces documents) • CONSENTEMENT ECLAIRE ou à défaut ATTESTATION DE CONSULTATION ET DE RECUEIL DU CONSENTEMENT • BON DE COMMANDE

**DEMANDE D'EXPLORATIONS MOLECULAIRES et/ou
BIOCHIMIQUES DES MALADIES MITOCHONDRIALES**

Analyses proposées par le laboratoire

Etude biochimique de la chaîne respiratoire

Etude par spectrophotométrie sur tissus (muscle, foie, cellules à partir d'une biopsie cutanée (fibroblastes), rein, cœur)
(P064x5 :RIHN2500)

Etude polarographique sur cellules (fibroblastes) (P070 :RIHN1200)

Etude de l'assemblage des complexes de la chaîne respiratoire par BN-PAGE (muscle, fibroblastes)
(P059 :RIHN1000)

Diagnostic des maladies mitochondriales par mutation de l'ADN mitochondrial

Recherche des mutations fréquentes, **MELAS** (3243), **MERFF** (8344) et **Leigh** (8993) par RFLP (sang ou tissus)(B500)

Recherche des mutations fréquentes, **Diabète mitochondrial** (3243, 8344 et 14709) par RFLP et séquençage Sanger
(de préférence urines)(B500)

Etude exhaustive de l'ADNmt par séquençage haut débit (N350 :RIHN3270):

- **Diagnostic de la Neuropathie Optique Héritaire de Leber (NOHL) et apparentés** (sang)
- **Autres maladies mitochondriales** (de préférence à partir du tissu atteint, **muscle**, foie ou à défaut **urines** ou biopsie cutanée)

Diagnostic des maladies mitochondriales par délétion de l'ADN mitochondrial (N318 :RIHN870):

Recherche de **délétion(s) de l'ADNmt** par XL et Southern blot (à partir du tissu atteint, muscle, foie, ... ou d'autres tissus, **impossible** à partir d'un prélèvement sanguin **sauf pour suspicion de syndrome de Pearson**)

Diagnostic des maladies mitochondriales par mutation de gènes nucléaires : Etude d'un panel de plus de 350 gènes nucléaires par séquençage haut débit ou exome clinique (sang) (N352 :RIHN8170)

Possibilité de filtre sur gènes d'atrophies optiques et gènes d'instabilité

**Tous les renseignements concernant les modalités de prélèvement sont disponibles sur le site internet :
<https://chu-nice.manuelprelevement.fr/Default.aspx>**

L'équipe est à votre disposition pour toute question.

**DEMANDE D'EXPLORATIONS MOLECULAIRES et/ou
BIOCHIMIQUES DES MALADIES MITOCHONDRIALES**

PROCEDURE DE PRELEVEMENT ET D'ENVOI

CENTRE DE REFERENCE DES PATHOLOGIES MITOCHONDRIALES

Pr. Véronique Paquis

Laboratoire de génétique médicale (niv -3)

Hôpital de l'Archet II

151, route de St. Antoine de Ginestière,

CS 23079, 06202 Nice Cedex 3

Tous les prélèvements doivent être accompagnés du consentement éclairé du patient ou des parents en cas de patient mineur, ainsi que du bon de prescription. Ces documents sont disponibles sur demande.

En cas de prélèvement extérieur au CHU de Nice, joindre également un bon de facturation.

Prélèvements	Procédure de prélèvement	Procédure d'envoi
Sanguin	Sur tube EDTA : 8 ml de sang pour un adulte, et quelques ml pour un enfant	- Envoyer à l'adresse ci-dessus - à température ambiante dès recueil des prélèvements - par un service de livraison rapide (ex : chronopost) Pour les urines, préférer les envois en début de semaine. Délais d'acheminement : - sang : < 10 jours - urines : rapide <48 heures - frottis buccal : < 10 jours - cutané : <4 jours
Urinaire	Minimum 50 ml d'urines du matin dans un pot stérile	
Frottis buccal	- Utiliser préférentiellement le kit salivaire Oragene (cf. mode d'emploi fourni avec le kit « Oragene DNA for collection of human DNA ») Le patient ne doit pas boire, manger, fumer, ou mâcher du chewing-gum dans les 30 minutes qui précèdent le prélèvement de salive - Si impossible, possibilité de faire sur palette : gratter la face interne de la joue avec une palette en plastique (4 à 5 fois) et la déposer dans un pot stérile (NE PAS utiliser d'écouvillon en coton ou de palette en bois)	
Cutané	- Conditions stériles : nettoyage de la peau avec un produit désinfectant non iodé - Prélèvement cutané immédiatement plongé dans un tube stérile rempli de sérum physiologique - <u>Spécifier la suspicion de maladie mitochondriale</u> pour que la biopsie soit mise dès réception dans un milieu de culture adapté	
Culture de fibroblastes	- Les fibroblastes doivent être cultivés en milieu enrichi en <u>uridine pyruvate</u> pour tout étude de la chaîne respiratoire	
Tissulaire (muscle, foie, rein, cœur...)	Deux morceaux tissulaires d'une taille minimum de 5 mm de côté doivent être placés <u>immédiatement</u> dans un tube sec (type NUNC) préalablement étiqueté et congelé <u>immédiatement</u> dans l'azote liquide (penser à amener un container plein dans le bloc avant le début de la biopsie). Une fois congelé, le prélèvement doit être stocké <u>en permanence à -80°C</u> , en attendant son acheminement vers le laboratoire.	
		- Envoyer rapidement à l'adresse ci-dessus Obligatoirement : - Dans la carboglace (ou dans l'azote liquide si acheminé directement depuis le bloc) - Et <u>surtout sans rupture de la chaîne du froid.</u>