



**HAL**  
open science

## Dépistage du déficit en alpha1-antitrypsine sur sang capillaire recueilli sur papier-filtre : bilan des 20 premiers mois

C. Chapuis Cellier, C. Narjoz, F. Zerimech, M.-F. Odou, P. Joly, C. Lombard, J.-F. Mornex, M. Balduyck

### ► To cite this version:

C. Chapuis Cellier, C. Narjoz, F. Zerimech, M.-F. Odou, P. Joly, et al.. Dépistage du déficit en alpha1-antitrypsine sur sang capillaire recueilli sur papier-filtre : bilan des 20 premiers mois. *Revue des Maladies Respiratoires*, 2020, 37 (8), pp.633-643. 10.1016/j.rmr.2020.08.001 . hal-03154614

**HAL Id: hal-03154614**

**<https://hal.inrae.fr/hal-03154614>**

Submitted on 26 Sep 2022

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial 4.0 International License

Rmr200086  
Fascicule vert  
Article original

**Dépistage du déficit en alpha1-antitrypsine sur sang capillaire recueilli sur papier-filtre : bilan des 20 premiers mois.**

**Screening for alpha1-antitrypsin deficiency using dried blood spot: assessment of the first 20 months.**

C. Chapuis Cellier<sup>1</sup>, C. Narjoz<sup>2</sup>, F. Zerimech<sup>3</sup>, M.-F. Odou<sup>3, 4</sup>, Ph. Joly<sup>5,6</sup>, C. Lombard<sup>1</sup>, J-F Mornex<sup>7,8</sup>, M Balduyck<sup>3,9</sup>

1. Centre de Biologie Sud, Laboratoire d'Immunologie, Centre hospitalier Lyon Sud, Hospices Civils de Lyon & Université Claude Bernard-Lyon 1, Lyon, France.
2. Assistance publique des Hôpitaux de Paris (AP HP), Hôpital Européen Georges-Pompidou, Service de Biochimie, Paris, France.
3. CHU Lille, Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire (HMNO), Lille, France
4. Laboratoire de Bactériologie Virologie, Faculté de Pharmacie, Inserm U1286-Infinite, Université de Lille, Lille, France.
5. UF « Biochimie des pathologies érythrocytaires », Laboratoire de Biochimie et Biologie moléculaire Grand-Est, Groupement hospitalier Est, Hospices Civils de Lyon, Bron, France.
6. Laboratoire Interuniversitaire de Biologie de la Motricité (LIBM) EA7424, Equipe "Biologie vasculaire et du globule rouge", Université Claude Bernard Lyon 1, COMUE, Lyon, France
7. Service de Pneumologie, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
8. Université de Lyon, Université Lyon 1, INRAE, IVPC, UMR 754, F-69007, Lyon, France
9. Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, Faculté de Pharmacie et EA 7364 RADEME, Université de Lille, Lille, France

**Titre court**

Dépistage du déficit en alpha1-antitrypsine

**Auteur correspondant :**

Farid Zerimech

Laboratoire de Biochimie Biologie Moléculaire, Centre de Biologie Pathologie, Bd du Pr. Jules Leclercq, 59037 Lille CEDEX

Téléphone : 03 20 44 61 54

Fax : 03 20 44 56 93

Courriel : farid.zerimech@chru-lille.fr

Reçu le : 20.04.20

Accepté le : 17.06.20

### **Déclaration de liens d'intérêts**

Convention de parrainage avec le LFB Biomédicaments pour l'ensemble des auteurs.

F. Zerimech, M-F. Odou et C. Lombard déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts

- Au cours des 5 dernières années, Colette Chapuis-Cellier a perçu des honoraires pour des participations à des groupes d'experts et des financements de travaux de recherche et de participation à des congrès de la part des laboratoires LFB Biomédicaments
- Au cours des 5 dernières années, Céline Narjoz a perçu des financements pour participation à des congrès, communications, actions de formation, participation à des groupes d'experts, travaux de recherche, de la part des Laboratoires LFB Biomédicaments
- Philippe Joly a participé en décembre 2016 à un colloque d'une journée organisé à Paris par le LFB sur le thème des modificateurs génétiques du déficit en alpha-1 antitrypsine.
- Au cours de ces 5 dernières années, Jean-François Mornex a perçu des honoraires ou financements pour participation à des congrès, communications, / actions de formation / conseils / participation à des groupes d'experts / travaux de recherche, de la part des Laboratoires / entreprises : LFB Biomédicaments, CSL Behring  
Au cours de ces 5 dernières années, Jean-François Mornex a été investigateur principal / coordonnateur / responsable scientifique d'études cliniques promues par les Laboratoires / entreprises : LFB Biomédicaments, CSL Behring, Grifols
- Au cours de ces 5 dernières années, Malika Balduyck a perçu des financements pour participation à des congrès de la part des Laboratoires LFB Biomédicaments.

### **Soutien financier**

Pour la mise au point de ce test diagnostique et pour son application à l'ensemble des prélèvements reçus, les trois laboratoires engagés dans cette collaboration ont bénéficié d'un soutien financier par le LFB Biomédicaments (Les Ulis, Courtabœuf, France) sous forme d'une Convention de parrainage

## Résumé

**Introduction :** Sous-diagnostiqué, le déficit en alpha-1 antitrypsine est un facteur de prédisposition aux pathologies bronchopulmonaires. Nous rapportons ici les résultats d'un dépistage ciblé chez des individus à la sémiologie respiratoire pouvant relever de ce déficit.

**Méthodes :** De mars 2016 à octobre 2017, les patients ont été sélectionnés et le sang capillaire prélevé au cours d'une consultation chez un pneumologue, puis expédié au laboratoire pour la détermination de la concentration, du phénotype et du génotype de l'alpha1-antitrypsine.

**Résultats :** En 20 mois, 3728 trousses ont été demandées par 566 pneumologues et 718 prélèvements envoyés (19%) : parmi eux, 708 étaient analysables dont 613 accompagnés de renseignements cliniques relatifs au statut bronchopulmonaire. Au sein des 708 prélèvements, 70% ne présentaient aucun phénotype associé à un déficit de l'alpha-1 antitrypsine, 7% présentaient un phénotype associé à un déficit sévère et 23% un phénotype associé à un déficit intermédiaire. Cent huit porteurs d'au moins une copie de PI\*Z donc à risque hépatique ont été détectés.

**Conclusions :** Les résultats de ce programme de dépistage du déficit en alpha-1 antitrypsine sur sang capillaire séché reflètent une amélioration du diagnostic précoce du déficit dans les pathologies pulmonaires et montrent l'intérêt d'une bonne adhésion des pneumologues à cette campagne.

**Mots clés :** Alpha-1 antitrypsine, dépistage sur goutte de sang séché, bronchopneumopathie chronique obstructive, emphysème, dilatation des bronches

## **Screening for alpha1-antitrypsin deficiency using dried blood spot: assessment of the first 20 months.**

### Summary

Introduction: Alpha1-antitrypsin deficiency is a predisposing factor for pulmonary disease and under-diagnosis is a significant problem. The results of a targeted screening in patients with respiratory symptoms possibly indicative of severe deficiency are reported here.

Methods: Data were collected between March 2016 to October 2017 on patient who had a capillary blood sample collected during a consultation with a pulmonologist and sent to the laboratory for processing to determine alpha1-antitrypsin concentration, phenotype and possibly genotype.

Results: In 20 months, 3728 test kits were requested by 566 pulmonologists and 718 (19%) specimens sent: among these, 708 were analyzable and 613 were accompanied by clinical information. Of the 708 samples, 70% had no phenotype associated with quantitative alpha-1 antitrypsin deficiency, 7% had a phenotype associated with a severe deficiency and 23% had a phenotype associated with an intermediate deficiency. One hundred and eight patients carried at least one *PI\*Z* allele which is considered to be a risk factor for liver disease.

Conclusions: The results of this targeted screening program for alpha-1 antitrypsin deficiency using a dried capillary blood sample reflect improvement in early diagnosis of this deficiency in lung disease with good adherence of the pulmonologists to this awareness campaign.

Key words : Alpha1-antitrypsin, dried blood spot testing, chronic obstructive pulmonary disease, emphysema, bronchiectasis

## Introduction

Le déficit en alpha1-antitrypsine (DAAT) est une maladie génétique à transmission autosomique codominante résultant de la transmission de deux allèles pathologiques du gène *SERPINA1*. Ce déficit est défini comme sévère lorsque la concentration sérique de l'alpha1-antitrypsine (AAT) est inférieure à 0,57 g/L (11 µmol/L) considéré comme seuil protecteur [1]. Il est qualifié d'intermédiaire pour des concentrations d'AAT comprises entre 0,57 et 0,90 g/L [2] en l'absence d'inflammation, cette dernière pouvant entraîner, selon son intensité, un doublement ou triplement de la concentration basale.

L'AAT se caractérise par un très riche polymorphisme génétique au sein duquel ont été individualisés à l'heure actuelle plus de 150 allèles différents dont le variant le plus ancien et le plus fréquent dans la population d'ascendance européenne est le variant M qui est associé à une concentration sérique et une activité antiélastasique adaptées aux besoins physiologiques.

Les variants déficitaires les plus fréquents sont les variants S (Glu264Val) et Z (Glu342Lys) qui sont associés à une concentration sérique en AAT respective d'environ 50% et 15% de la concentration basale observée pour le variant M. La mutation *PI\*Z* est également à l'origine d'une altération de la fonctionnalité de la protéine, avec une activité antiélastasique 5 fois plus faible, ce qui explique une mauvaise protection des alvéoles pulmonaires contre l'action protéolytique de l'élastase du neutrophile libérée in situ au cours des processus inflammatoires [3, 4]. Le mécanisme de polymérisation et d'agrégation intrahépatocytaire bien connu pour le variant Z est également incriminé pour des variants sévèrement déficitaires plus rares ( $M_{\text{Malton}}$  et  $S_{\text{Iiyama}}$ ). Les variants définis comme « null » (ou Q0) sont quant à eux associés à un déficit d'autant plus sévère qu'il se traduit par une absence totale d'AAT circulante [5, 6].

Le DAAT entraîne par ordre de fréquence décroissante, une augmentation du risque de développer une atteinte du poumon, du foie et du pannicule [7, 8]. Le poumon est l'organe le plus fréquemment touché, son atteinte pouvant se manifester notamment par une bronchite chronique (BC), une bronchopneumopathie chronique obstructive, un emphysème, pathologies regroupées sous le terme de bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO) [1]. Les symptômes pulmonaires du déficit apparaissent d'autant plus tôt que se surajoutent des facteurs environnementaux, comme l'exposition à la fumée de cigarette ou à la pollution atmosphérique [9]. L'espérance de vie des patients ZZ non-fumeurs est identique à celle de la population générale des non-fumeurs [10]

Dans 10 à 30% des cas de déficit sévère avec polymérisation intra-hépatocytaire de la protéine, il y a une atteinte hépatique qui peut se traduire au cours de la première année de vie par des tests biologiques hépatiques perturbés avec dans 10% des cas un ictère néonatal cholestatique dont 2% évoluent vers une cirrhose [1]. Parmi les causes les plus fréquentes de survenue d'une cirrhose chez l'adulte, on retrouve par ordre de fréquence décroissante l'alcoolisme, les hépatites virales, la stéatose hépatique non alcoolique (NASH), les hépatopathies auto-immunes et certaines maladies génétiques dont le DAAT; plus de 15% des adultes ZZ présentent, en effet, des signes biologiques, échographiques ou histologiques d'atteinte hépatique [11, 12] ainsi qu'une susceptibilité accrue au développement d'un carcinome hépatocellulaire [13]. Selon le Registre européen des transplantations hépatiques, 1% de ces dernières seraient dues à un DAAT, populations adulte et pédiatrique confondues [14].

Tous les travaux portant sur le DAAT s'accordent sur la nécessité d'un dépistage précoce, mais un dosage d'AAT sérique n'est prescrit à titre systématique que dans 5% des cas de BPCO et 30% des cas d'emphysème [15]. Or on estime que 1% des patients présentant une BPCO ont un DAAT. De plus, compte tenu des fréquences des variants déficitaires Z et S, il y aurait approximativement en

France, 10 000 personnes de génotype *PI\*ZZ* et 60 000 de génotype *PI\*SZ* qui seraient prédisposées aux pathologies hépatiques et pulmonaires.

Un kit de dépistage précoce du DAAT sur sang capillaire a été développé au sein de trois laboratoires français, le laboratoire de Biochimie de l'hôpital européen Georges Pompidou, le Centre de Biologie Pathologie du CHU de Lille et le Centre de Biologie Sud du CHU de Lyon [16].

L'objectif de la mise à disposition de ce kit aux pneumologues était de les sensibiliser à l'existence du déficit et de permettre la généralisation du dépistage à la population plus particulièrement concernée.

Dans ce travail, sont donc rapportés non seulement les caractéristiques de cette population sélectionnée essentiellement en fonction du type d'atteinte bronchopulmonaire, notamment en matière de phénotypes/génotypes d'AAT et du niveau de concentration circulante mais également les éléments permettant de juger de l'efficacité d'une telle campagne de sensibilisation.

## II. Matériel et Méthodes

### II. 1 Description du kit Alphaspot® et modalités d'utilisation

Le kit Alphaspot® est un kit de prélèvement de type « DBS (dried blood spot) » développé par LFB Biomédicaments après validation méthodologique [16]. Ce kit est mis à disposition des pneumologues en faisant la demande, une information leur ayant été préalablement délivrée directement par les délégués commerciaux de ce groupe pharmaceutique et indirectement par le biais de présentations orales à différents congrès spécialisés, dont le Congrès annuel de Pneumologie de langue française [17] et le Congrès international de l'European Respiratory Society [18].

Ce kit inclut une notice explicative des modalités de prélèvement et tout le matériel nécessaire au prélèvement et à son dépôt sur des cercles prédéfinis sur le papier-filtre. Il contient également un feuillet comportant la prescription des analyses à effectuer (dosage et phénotypage de l'AAT,



séquençage du gène *SERPINA1*), les données démographiques du patient, son consentement, les données cliniques concernant la sphère pulmonaire et hépatique et enfin, les coordonnées du prescripteur.

On y trouve également une carte de France permettant l'identification du laboratoire assurant les analyses et correspondant à la zone géographique du praticien ainsi que des enveloppes libellées à son adresse.

Un prélèvement conforme aux exigences analytiques généralement requises pour l'ensemble des analyses nécessite un remplissage complet des cercles et une diffusion homogène et régulière au *recto* et au *verso*, ce qui correspond à un volume de 30 µL de sang capillaire par dépôt (*fig. 1A*).

Une fois le sang déposé sur le papier-filtre et après séchage complet, le volet de protection est rabattu, la fiche accompagnant le prélèvement est remplie et l'ensemble mis dans un sachet en plastique hermétiquement fermé puis dans l'enveloppe portant l'adresse du laboratoire correspondant à la région d'exercice du pneumologue. A son arrivée au laboratoire, le prélèvement est conservé à + 4°C jusqu'à son analyse.

## II. 2 Population étudiée

Les patients ont été sélectionnés au cours d'une consultation chez un pneumologue sur des critères cliniques en conformité avec les recommandations [19]. Ils ont été inscrits sur le registre CNIL des Hospices Civils de Lyon sous le n°18-098.

## II.3 Dosage, phénotypage de l'AAT et séquençage du gène *SERPINA1*

Le dosage, le phénotypage et le séquençage du gène *SERPINA1* ont été réalisés conformément aux méthodes et techniques précédemment validées [16, 20, 21]. L'analyse du gène *SERPINA1* par séquençage complet du gène a été réalisée par méthode Sanger dans les cas d'interprétation difficile

ou de discordance entre un phénotype non déficitaire et une concentration en AAT plus faible qu'attendue comme précédemment décrit [16].

#### II.4 Etude statistique

Elle s'est appuyée sur le logiciel Graphpad Prism<sup>®</sup> version 6.07. et MedCalc<sup>®</sup> version 19.1. Les résultats ont été exprimés dans tous les cas en g/L, sous forme de minimum, maximum, médiane, moyenne et écart-type (ET).

### III Résultats

#### III.1 Etude de la participation des pneumologues

Au cours de cette période de 20 mois, sur 2718 pneumologues recensés en France métropolitaine en 2017 (<https://fr.statista.com>), 498 d'entre eux et 68 centres hospitaliers ont reçu 1783 et 1945 kits respectivement.

Deux cent trois pneumologues libéraux et/ou hospitaliers identifiés (41%) ont effectivement participé au dépistage et ont donc utilisé le kit au moins une fois au cours de l'étude. Néanmoins, il existe une grande variabilité de cette participation en fonction des régions (*fig.2*). Par ailleurs, un accroissement de la sensibilisation des pneumologues à l'existence du DAAT a pu être observé, en se basant sur l'augmentation progressive du nombre de prélèvements mensuellement adressés aux 3 laboratoires, 16 le premier mois de l'étude et 58 le dernier.

#### III.2 Caractéristiques de la population étudiée

Du 1er mars 2016 au 30 octobre 2017, les trois laboratoires ont réceptionné 718 prélèvements sur les 3728 escomptés (19%) ; dix ne remplissant pas les critères pré-analytiques requis (*fig. 1B à 1E*) ont d'emblée été éliminés. Le diagramme d'inclusion des prélèvements est décrit dans la figure 3. L'étude a donc été menée sur 708 patients d'âge moyen  $56,1 \pm 15,4$  ans (min : 9,5 ; max : 94 ans) composée de 59% d'hommes et de 55% de non-fumeurs. Pour 79 patients, aucun renseignement clinique n'a été fourni et pour 6 autres, aucune pathologie broncho-pulmonaire n'a été relevée,

l'exploration ayant été prescrite dans le cadre d'une atteinte hépatique. Pour 2 patients, seule la case « autre » était cochée sur la fiche excluant toute atteinte de la sphère hépato-pulmonaire. Une notion de dépistage pour histoire familiale de DAAT sans pathologie associée était notée pour 8 patients et une exposition professionnelle était signalée mais non documentée pour 72 patients. Enfin pour 613 patients, l'atteinte bronchopulmonaire était précisée.

Les données cliniques relatives à l'ensemble des patients sont rassemblées dans le tableau 1.

### III.3 Etude de la concentration en AAT en fonction des phénotypes ou génotypes observés

Sur les 708 échantillons inclus dans cette étude, la mesure de l'AAT a pu être réalisée sur 706 d'entre eux car 2 échantillons étaient en quantité insuffisante et le phénotypage a été privilégié pour ceux-ci. Sept ont été exclus de l'étude des concentrations ; en effet, 3 prélèvements de bonne qualité apparente de phénotype M se sont avérés de concentration très faible (concentration  $\leq 0,50$  g/L) laissant supposer la présence d'un variant M déficitaire mais de séquençage impossible en raison d'un rendement trop faible en ADN extrait.

Pour 3 autres prélèvements de phénotype MM et MS, un rabat trop précoce du volet de protection des spots avait entraîné une perte de matériel à l'origine d'une concentration anormalement faible pour les phénotypes concernés. Enfin pour 1 prélèvement de phénotype MS, la diffusion et l'imprégnation recto- verso étaient trop irrégulières pour que la concentration puisse être prise en compte, sans gêner pour autant la réalisation du phénotypage. En définitive, la concentration en AAT de 699 échantillons a pu être prise en compte sur les 706 d'origine. La relation phénotype-concentration en AAT est représentée dans le tableau 2.

Le phénotypage de l'AAT réalisé sur 708 échantillons a mis en évidence 5 variants usuels M, S, Z, I et F et le séquençage complet du gène *SERPINA1* réalisé sur 40 prélèvements a permis d'identifier, à l'état hétérozygote, 6 variants déficitaires très rares : *PI\*M<sub>Palermo</sub>*, *PI\*M<sub>Procida</sub>*, *PI\*M<sub>Malton</sub>*, *PI\*P<sub>Lowell</sub>*, *PI\*M<sub>Würzburg</sub>* et un variant nul *PI\*Q0*. Le tableau 3 détaille les 708 phénotypes observés.

Le seuil de concentration sérique en AAT à partir duquel il y a suspicion de déficit varie selon les équipes entre 1,04 [22] et 1,10 g/L [2]. Le seuil de 1,10 g/L a été choisi dans cette étude. Ainsi, selon les critères généralement admis dans la littérature, 4 groupes ont été définis dans cette étude : déficit sévère pour une concentration sérique en AAT  $\leq 0,57$  g/L, déficit intermédiaire pour une concentration en AAT comprise entre 0,57 et 0,90 g/L ; déficit léger pour une concentration en AAT comprise entre 0,90 et 1,10 g/L ; absence de déficit si la concentration en AAT est  $> 1,10$  g/L. Un déficit sévère était observé pour 51 patients sur les 304 ayant une concentration  $\leq 1,10$  g/L, soit 17%.

Néanmoins ce seuil de 1,10 g/L ne peut être appliqué qu'en l'absence de syndrome inflammatoire associé. En effet, parmi les prélèvements analysés, 2 de phénotype FM, 30 MS, 3 MZ et 1 SS avaient une concentration circulante en A1AT  $> 1,10$  g/L.

La figure 4 décrit la distribution des phénotypes identifiés chez ces patients en fonction des concentrations sériques en AAT correspondantes.

Dans le groupe du déficit sévère, sont retrouvés 100% des phénotypes ZZ, 100% des phénotypes associant 2 variants déficitaires et 68% des phénotypes SZ. Il est à noter que le phénotype SZ est retrouvé aussi chez 32% des patients avec déficit intermédiaire.

Les phénotypes MZ sont associés à un déficit intermédiaire pour 67% et un déficit léger pour 20% d'entre eux, respectivement.

Les phénotypes MS sont retrouvés dans le groupe du déficit intermédiaire pour 35% d'entre eux, dans le groupe du déficit léger pour 29% et dans le groupe avec absence de déficit pour 36% d'entre eux.

Les phénotypes MM sont retrouvés majoritairement associés à l'absence de déficit (73%), à un déficit léger pour 20% d'entre eux et à un déficit intermédiaire pour 7% d'entre eux. L'étude

comparative de nos résultats et de ceux obtenus par Greulich et al [23] est représentée dans la figure 5.

III.4 Répartition des phénotypes, génotypes et du déficit en AAT en fonction de la pathologie respiratoire.

III 4 1 Patients sans renseignements cliniques et/ou sans pathologie respiratoire.

Sur les 79 patients pour lesquels aucun renseignement n'était fourni et pour les 2 apparemment dépourvus de toute atteinte hépato-pulmonaire, 56 ne présentaient pas de déficit (69%), tous étant de phénotype MM. Un déficit léger était observé pour 8 patients (10%), tous de phénotype MS, un déficit intermédiaire pour 12 d'entre eux (15%) avec individualisation de 9 MZ, 2 SS, 1 MQ0 et enfin un déficit sévère pour 5 patients (6%) avec identification de 1 ZZ, 3 SZ et 1 M<sub>Würzburg</sub>Z.

Chez 6 patients, l'analyse avait été prescrite pour l'exploration d'une cirrhose chez l'un d'entre eux de phénotype MM, et d'une cytolyse hépatique avec cholestase chez les 5 autres (3 MZ et 2 MS).

Aucun autre renseignement n'était fourni pour 8 patients parmi les 46 ayant des antécédents familiaux de DAAT.

Par conséquent, 613 patients ont été inclus dans l'étude portant sur la relation DAAT-pathologie respiratoire.

III 4 2 Pathologie respiratoire et DAAT.

Pour les 613 patients concernés, la pathologie respiratoire documentée pouvait être représentée par un seul item ou l'association de 2, 3 ou 4 items. Le tableau 4 regroupe l'ensemble des items cochés pour chacun des patients ainsi que le type de déficit correspondant. Sur 299 patients dont la concentration en AAT était  $\leq 1,10$  g/L, 262 avaient une atteinte bronchopulmonaire. Les résultats obtenus pour ces 262 patients montrent notamment que l'emphysème est la pathologie respiratoire la plus fréquemment retrouvée dans le groupe présentant un déficit sévère (61%) comparativement à la BPCO (22%), la BC (14%), l'asthme (12%), et la DDB (14%) tandis qu'aucun patient

présentant un pneumothorax (PNO) (0%) n'a été identifié dans ce groupe. Si l'on considère les patients avec un déficit intermédiaire en AAT (n=93), il est retrouvé une proportion plus importante de patients avec BPCO (40%), BC (24%), asthme (20%), PNO (12%) et DDB (11%). Une répartition sensiblement identique est retrouvée chez les patients présentant un déficit léger (118 patients).

Si l'on étudie la proportion du déficit sévère au sein de chacune des différentes pathologies respiratoires, la proportion la plus élevée est retrouvée dans le groupe DDB : 15% des patients vs 7% des patients avec emphysème et 7% des patients avec asthme.

La répartition globale des phénotypes observés en fonction des atteintes respiratoires est présentée dans le tableau 5.

Quelle que soit la pathologie respiratoire, 72% des patients présentaient un phénotype MM. Le phénotype déficitaire SS était retrouvé chez 1% des patients avec atteinte respiratoire, quelle que soit sa nature. Les phénotypes déficitaires ZZ et SZ étaient retrouvés à la fois chez des patients avec DDB, emphysème, asthme, BC et BPCO. Le phénotype MZ était retrouvé proportionnellement plus fréquemment chez les patients présentant une DDB (13%) et un asthme (12%) qu'une BPCO (5%), un emphysème (5%), un PNO (5%) ou une BC (4%).

Parmi les 47 patients avec des antécédents familiaux de DAAT, 23% n'avaient aucun déficit (11 MM), 13% un DAAT léger (6 MS), 30% un DAAT intermédiaire (13 MZ, 1 SS) et 21% un DAAT sévère (5 SZ, 8 ZZ, 1 M<sub>Würzburg</sub>Z et 1 M<sub>Malton</sub>Z). Vingt et un de ces patients présentaient un emphysème soit isolé (14 cas) soit associé à d'autres atteintes pulmonaires, 71% d'entre eux ayant un DAAT intermédiaire ou sévère (5 MZ, 3 SZ, 6 ZZ, 1 M<sub>Malton</sub>Z). Huit autres patients avaient une BC, isolée (4 cas) ou non, dont 3 avec DAAT intermédiaire ou sévère. Sept présentaient une BPCO toujours associée à une autre atteinte pulmonaire et 4 d'entre eux avaient un DAAT intermédiaire ou sévère. Enfin, 2 patients étaient atteints d'asthme (1 MS, 1 ZZ).

#### IV. Discussion

Le DAAT est actuellement sous diagnostiqué : on estime en effet que seulement 5 à 10% des patients ZZ sont identifiés avec en plus un diagnostic tardif posé en moyenne 10 ans après l'apparition des symptômes [24, 25].

Les résultats concernant le nombre de kits demandés et envoyés sont en faveur d'une bonne adhésion des pneumologues au dépistage ciblé du DAAT via ce kit Alphaspot® et jouent en faveur du maintien du programme. En effet, la simplicité relative du prélèvement et de son envoi sont des facteurs qui favorisent cette adhésion. Cependant la justesse des mesures de concentration sont étroitement dépendantes du prélèvement, près de 4% des envois étant rejetés en raison de leur mauvaise qualité. Par ailleurs, la technicité mise en œuvre pour le traitement des échantillons est plus délicate et contraignante que celle appliquée au sérum.

Un certain nombre de programmes de dépistage du DAAT dans des populations ciblées sur la pathologie pulmonaire et faisant appel à des DBS ont été réalisés dont le plus emblématique est celui préalablement initié par Bals [26] puis finalisé par Greulich [22, 23]. Afin d'évaluer l'efficacité de notre campagne de 20 mois de dépistage du DAAT, nos résultats ont été comparés à ceux obtenus en 12 ans par ces études ciblées.

Il est à noter que ces études allemandes avaient été précédées d'une très importante étape de sensibilisation à l'existence du DAAT de l'ensemble de la communauté médicale allemande par un envoi nominatif comportant une lettre et une brochure. Était joint à cet envoi une feuille de demande de kit à remplir seulement si la concentration en AAT préalablement mesurée sur sérum était plus basse qu'attendue, sans plus de précision. Cette première étape d'information avait été suivie d'un mailing aux pneumologues, pédiatres, gastroentérologues et généralistes. Enfin, outre la création d'un site spécifique à l'université de Marburg, une information avait été donnée à de nombreuses réunions scientifiques et meetings médicaux.

Des 50 000 kits demandés suite à ces multiples interventions, plus de 19 000 avaient été retournés. En tout 18683 échantillons avaient été analysables en 13 ans soit un retour de plus de 37%, valeur double de celle observée dans ce travail mais qui peut s'expliquer par la durée et l'étendue de l'étude.

La comparaison des résultats obtenus par ces programmes allemands et français, une fois le seuil de 1,04 g/L et 1,10 g/L appliqués respectivement, montre leur bonne efficacité, plus grande cependant en ce qui concerne le programme français puisque 16% de DAAT sévère ont été découverts versus 9,8% pour le programme germanique [23]. D'autre part, les caractéristiques de ces deux populations ne diffèrent pas quant à la proportion de phénotypes non déficitaires, 70% vs 70%. En revanche, on observe une différence significative entre la répartition des MS et MZ au sein de chaque population : 5% de MS dans l'étude de Greulich et al. [23] et 12% dans ce travail, et inversement pour les MZ, 21,5% vs 9% dans cette étude. En ce qui concerne la répartition des variants déficitaires Z et S à l'état homozygote ou hétérozygote composite SZ, cette étude montre un pourcentage de Z de 3% vs 6,9% et de 3% pour les SZ vs 1,8% [23]. De même, le pourcentage de S est plus élevé dans ce travail (1% vs 0,3%). Ces résultats sont en accord avec la répartition géographique européenne des variants S et Z [27].

Un autre argument en faveur de l'utilisation du kit Alphaspot® est la détection de patients avec déficit sévère ou intermédiaire et porteur de variants rares ( $M_{\text{Malton}}$ ,  $P_{\text{Lowell}}$ ,  $M_{\text{Würzburg}}$ ,  $M_{\text{Procida}}$ ,  $M_{\text{Palermo}}$ ,  $M_{\text{Q0}}$ ) : ici, 8 patients (1%) étaient porteurs de variants rares déficitaires associés à un allèle  $PI^*M$  dans 6 cas et à un allèle  $PI^*Z$  dans 2 cas. Cette proportion de variants rares est plus faible que celle observée dans d'autres études [28, 29] mais portant sur un plus grand nombre de patients.



Ce travail illustre également l'intérêt du dépistage systématique lors de la mise en évidence d'antécédents familiaux de DAAT : sur les 46 patients avec ce type d'antécédent on retrouve plus de 30% de sujets avec un DAAT sévère.

Selon les recommandations européennes, le dosage de l'AAT circulante est toujours la première étape du diagnostic biologique du DAAT [19]. Comme montré dans la figure 4, la majorité des phénotypes non déficitaires MM sont, comme attendu, associés à une concentration en AAT supérieure à la valeur seuil de 1,10 g/L définie dans cette étude soit 73%. Il est cependant à noter que les phénotypes associés à des concentrations inférieures à 1,10 g/L sont pour 27% d'entre eux des phénotypes non déficitaires MM. Enfin, 83% des phénotypes avec variant déficitaire S ou Z à l'état homozygote ou hétérozygote ont un DAAT avéré. Ces résultats confortent l'intérêt du dosage en étape préliminaire à l'exploration des DAAT.

Les limites de cette étude résident d'une part sur le nombre limité de patients et d'autre part sur le défaut de renseignements cliniques pour un nombre non négligeable d'entre eux.

Cette étude multicentrique (Lille, Lyon, Paris) menée de mars 2016 à octobre 2017 démontre que le kit Alphaspot® peut être utilisé facilement par les pneumologues libéraux et hospitaliers. Par ailleurs, ce kit présente un certain nombre d'avantages pour le patient : dosage réalisable même en cas de précarité veineuse, pas de nouveau déplacement pour la réalisation du prélèvement et un seul prélèvement utilisable pour l'ensemble des analyses phénotypiques et génotypiques. Une détection précoce d'un DAAT chez les patients souffrant de pathologies pulmonaires permettrait de les faire bénéficier de recommandations visant à améliorer leur qualité de vie, éventuellement d'un traitement substitutif et d'une surveillance de leur fonction hépatique susceptible d'être altérée ; en particulier 108 porteurs d'au moins un allèle *PI\*Z* ou *PI\*M<sub>Malton</sub>* avec un risque hépatique ont été détectés. Dans un futur plus ou moins proche et à l'instar de l'expérience allemande, ce programme

de dépistage pourrait être élargi et concerner d'autres spécialités médicales telle la gastroentérologie adulte et pédiatrique.

Remerciements :

Nous remercions Mesdames Nadine Houriez, Catherine Lelorne, Véronique Lemaire, techniciennes du Laboratoire de Biochimie Biologie Moléculaire du CHU de Lille, pour leur investissement dans le développement de ce test.

Nous remercions Mesdames Dominique Morel et Nadège Serres du Centre de biologie Sud du CHU de Lyon pour leur participation à ce travail.

Nous remercions l'ensemble des techniciens du Laboratoire de Biochimie, Assistance Publique - Hôpitaux de Paris, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, pour leur participation à ce travail.

## Bibliographie :

1. Strnad P, McElvaney NG, Lomas DA. Alpha1-Antitrypsin Deficiency. *N Engl J Med* 2020;382:1443-55.
2. Ferrarotti I, Thun GA, Zorzetto M, Ottaviani S, Imboden M, Schindler C, et al. Serum levels and genotype distribution of alpha1-antitrypsin in the general population. *Thorax* 2012;67:669-74.
3. Klumpp T, Bieth JG. Automated measurement of the elastase-inhibitory capacity of plasma with a centrifugal analyzer. *Clin Chem* 1979;25:969-72.
4. Ogushi F, Fells GA, Hubbard RC, Straus SD, Crystal RG. Z-type alpha 1-antitrypsin is less competent than M1-type alpha 1-antitrypsin as an inhibitor of neutrophil elastase. *J Clin Invest* 1987;80:1366-74.
5. Renoux C, Odou MF, Tosato G, Teoli J, Abbou N, Lombard C, et al. Description of 22 new alpha-1 antitrypsin genetic variants. *Orphanet J Rare Dis* 2018;13:161.
6. Ferrarotti I, Carroll TP, Ottaviani S, Fra AM, O'Brien G, Molloy K, et al. Identification and characterisation of eight novel SERPINA1 Null mutations. *Orphanet J Rare Dis* 2014;9:172.
7. Kohnlein T, Welte T. Alpha-1 antitrypsin deficiency: pathogenesis, clinical presentation, diagnosis, and treatment. *Am J Med* 2008;121:3-9.
8. Ortiz PG, Skov BG, Benfeldt E. Alpha1-antitrypsin deficiency-associated panniculitis: case report and review of treatment options. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2005;19:487-90.
9. Ioachimescu OC, Stoller JK. A review of alpha-1 antitrypsin deficiency. *COPD* 2005;2:263-75.
10. Tanash HA, Ekstrom M, Ronmark E, Lindberg A, Piitulainen E. Survival in individuals with severe alpha 1-antitrypsin deficiency (PiZZ) in comparison to a general population with known smoking habits. *Eur Respir J* 2017;50.
11. Guillaud O, Dumortier J, Traclet J, Restier L, Joly P, Chapuis-Cellier C, et al. Assessment of liver fibrosis by transient elastography (Fibroscan(R)) in patients with A1AT deficiency. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2019;43:77-81.

12. Morer L, Choudat L, Dauriat G, Durand F, Cazals-Hatem D, Thabut G, et al. Liver Involvement in Patients With PiZZ-Emphysema, Candidates for Lung Transplantation. *Am J Transplant* 2017;17:1389-95.
13. Clark VC, Dhanasekaran R, Brantly M, Rouhani F, Schreck P, Nelson DR. Liver test results do not identify liver disease in adults with alpha(1)-antitrypsin deficiency. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2012;10:1278-83.
14. Adam R, Karam V, Cailliez V, JG OG, Mirza D, Cherqui D, et al. 2018 Annual Report of the European Liver Transplant Registry (ELTR) - 50-year evolution of liver transplantation. *Transpl Int* 2018;31:1293-317.
15. Mornex JF, Balduyck M, Curran Y, Cuvelier A. Evaluation des pratiques de prescription du dosage pondéral de l'alpha-1-antitrypsine. *Rev Mal Respir* 2014;204:A71-A72.
16. Balduyck M, Chapuis Cellier C, Roche D, Odou MF, Joly P, Madelain V, et al. Diagnostic biologique du déficit en alpha-1-antitrypsine : développement d'un test simplifié sur goutte de sang recueillie sur papier-filtre. *Ann Biol Clin* 2014;72:689-704.
17. Chapuis Cellier C, Zerimech F, Narjoz C, Jabet A, Lombard C, Balduyck M. Dépistage au cabinet du pneumologue du déficit sévère en alpha-1 antitrypsine: premier bilan très prometteur. *Rev Mal Respir* 2017;37:A62-A3.
18. Chapuis Cellier C, Zerimech F, Narjoz C, Balduyck M. Screening for  $\alpha$ 1-antitrypsin deficiency in the pneumologist's office using a dried blood spots kit: promising first results. *Eur Respir J* 2017;50 (suppl 61):PA4464.
19. Miravittles M, Dirksen A, Ferrarotti I, Koblizek V, Lange P, Mahadeva R, et al. European Respiratory Society statement: diagnosis and treatment of pulmonary disease in alpha1-antitrypsin deficiency. *Eur Respir J* 2017;50:1700610.
20. Canva V, Piotte S, Aubert JP, Porchet N, Lecomte-Houcke M, Huet G, et al. Heterozygous M3Mmalton alpha1-antitrypsin deficiency associated with end-stage liver disease: case report and review. *Clin Chem* 2001;47:1490-6.

21. Zerimech F, Hennache G, Bellon F, Barouh G, Lafitte JJ, Porchet N, et al. Evaluation of a new Sebia isoelectrofocusing kit for alpha 1-antitrypsin phenotyping with the Hydrasys System. *Clin Chem Lab Med* 2008;46:260-3.
22. Greulich T, Averyanov A, Borsa L, Rozborilova E, Vaicius D, Major T, et al. European screening for alpha1 -antitrypsin deficiency in subjects with lung disease. *Clin Respir J* 2017;11:90-7.
23. Greulich T, Nell C, Herr C, Vogelmeier C, Kotke V, Wiedmann S, et al. Results from a large targeted screening program for alpha-1-antitrypsin deficiency: 2003 - 2015. *Orphanet J Rare Dis* 2016;11:75.
24. Campos MA, Wanner A, Zhang G, Sandhaus RA. Trends in the diagnosis of symptomatic patients with alpha1-antitrypsin deficiency between 1968 and 2003. *Chest* 2005;128:1179-86.
25. Stoller JK, Sandhaus RA, Turino G, Dickson R, Rodgers K, Strange C. Delay in diagnosis of alpha1-antitrypsin deficiency: a continuing problem. *Chest* 2005;128:1989-94.
26. Bals R, Koczulla R, Kotke V, Andress J, Blackert K, Vogelmeier C. Identification of individuals with alpha-1-antitrypsin deficiency by a targeted screening program. *Respir Med* 2007;101:1708-14.
27. de Serres FJ, Blanco I. Prevalence of alpha1-antitrypsin deficiency alleles PI\*S and PI\*Z worldwide and effective screening for each of the five phenotypic classes PI\*MS, PI\*MZ, PI\*SS, PI\*SZ, and PI\*ZZ: a comprehensive review. *Ther Adv Respir Dis* 2012;6:277-95.
28. Ferrarotti I, Baccheschi J, Zorzetto M, Tinelli C, Corda L, Balbi B, et al. Prevalence and phenotype of subjects carrying rare variants in the Italian registry for alpha1-antitrypsin deficiency. *J Med Genet* 2005;42:282-7.
29. Greulich T, Ottaviani S, Bals R, Lepper PM, Vogelmeier C, Luisetti M, et al. Alpha1-antitrypsin deficiency - diagnostic testing and disease awareness in Germany and Italy. *Respir Med* 2013;107:1400-8.

## Légende des figures

Figure 1 : Aspects des prélèvements acceptés et rejetés Légendes des figures :

Dépôt correct en A ; Dépôt incorrect en B, le verso étant mal imprégné ; Dépôt incorrect en C car diffusion irrégulière et mauvaise imprégnation du verso ; Dépôt incorrect en D car volume insuffisant pour la réalisation de l'ensemble des analyses malgré la régularité de la tache ; Dépôt incorrect en E car aspect de double dépôt et diffusion très irrégulière ; Dépôt incorrect en E car séchage incomplet avec perte de matériel par "buvardage".

Figure 2 : Nombre et pourcentage de pneumologues ayant participé au dépistage par rapport au nombre de pneumologues de la région concernée

Figure 3 : Diagramme d'inclusion de l'étude : acquisition des données biologiques et cliniques

Figure 4 : Distribution des concentrations en AAT selon les phénotypes observés

Figure 5 : Etude comparative des résultats du dépistage du DAAT obtenus dans deux programmes ciblés : allemand (Greulich et al. 2016) et français respectivement.

Tableau 1 :

Caractéristiques cliniques de la population étudiée (n = 708)

Sexe	290 F / 418 H	41% / 59%
Age (ans) moy (+/- SD, min - max)	56,1 (15,4 ; 9,5 - 94,0)	
Statut tabagique		
Fumeur actif	317	45%
Ancien fumeur ou non-fumeur	385	55%
Non renseigné	6	
Renseignements cliniques		
Emphysème	431	61%
BPCO	223	32%
Bronchite chronique	177	25%
Dilatation des Bronches	47	7%
Asthme	86	12%
Pneumothorax	57	8%
Atteinte hépatique (*)	6	1%
Non renseigné	79	
Histoire familiale	46	9%
Non renseigné	212	
Exposition professionnelle	72	28%
Non renseigné	454	

BPCO : Bronchopneumopathie chronique obstructive

(\*) Atteinte hépatique : fibrose, cytolyse, cirrhose, hémochromatose)

Comme chez 284 patients, il a été rapporté plus d'une pathologie, la somme des pourcentages dépasse 100%

Tableau 2 :

Concentration (g/L) en AAT des principaux phénotypes observés dans une population de 699 sujets

Phénotypes n = 699	MM	MS	MZ	SS	SZ	ZZ	Autres
Nombre d'échantillons	489	84	60	7	22	22	15
Minimum	0,65	0,57	0,47	0,35	0,22	0,10	0,22
Moyenne	1,34	1,04	0,79	0,80	0,48	0,27	0,68
Médiane	1,29	1,01	0,77	0,83	0,50	0,24	0,66
Maximum	3,33	1,81	1,37	1,27	0,74	0,54	1,23
Ecart-type	0,37	0,29	0,18	0,31	0,14	0,09	0,28

Phénotypes « Autres » : IM, FM, IS, IZ, MM<sub>Malton</sub>, MP<sub>Lowell</sub>, MM<sub>Palermo</sub>, MM<sub>Procida</sub>, MQ0, M<sub>Malton</sub>Z,

M<sub>Palermo</sub>Z, M<sub>Würzburg</sub>Z



Tableau 3 :

Détails des variants d'AAT identifiés chez les 708 patients

Variants	Nombre	%
MM	495	70%
MS	86	12%
MZ	61	9%
SS	7	1%
SZ	22	3%
ZZ	22	3%
FM	2	0,3%
IM	2	0,3%
FZ	1	0,1%
IZ	1	0,1%
MP <sub>Lowell</sub>	1	0,1%
MM <sub>Malton</sub>	1	0,1%
MM <sub>Palermo</sub>	1	0,1%
MM <sub>Procida</sub>	1	0,1%
MQ0	2	0,3%
M <sub>Palermo</sub> Z	1	0,1%
M <sub>Malton</sub> Z	1	0,1%
M <sub>Würzburg</sub> Z	1	0,1%
Total	708	100.0%

Tableau 4 :

Distribution des affections respiratoires identifiées chez les patients selon la concentration sérique d'AAT

Classes d'AAT (g/l)	Nbr	Emphysème		BPCO		BC		Asthme		PNO		DDB	
		Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%
> 1,10	351	246	70	136	39	104	30	48	14	36	10	25	7
> 0,90 et <=1,10	118	88	75	37	31	41	35	11	9	8	7	4	3
> 0,57 et < =0,90	93	60	65	37	40	22	24	19	20	11	12	10	11
<= 0,57	51	31	61	11	22	7	14	6	12	0	0	7	14
Total général	613	425		221		174		84		55		46	

BPCO : Bronchopneumopathie chronique obstructive

BC : Bronchite chronique

PNO : Pneumothorax

DDB : Dilatation des bronches

Tableau 5 :

Répartition des phénotypes d'AAT par pathologie respiratoire.

Phénotypes Pathologie	Nombre (%)	MM	MS	MZ	SS	SZ	ZZ	Autre
Emphysème	425 (69)	305 (72)	52 (12)	23 (5)	5 (1)	16 (4)	18 (4)	6 (1)
BPCO	221 (36)	163 (74)	28 (13)	12 (5)	0 (0)	6 (3)	6 (3)	6 (3)
Bronchite chronique	174 (28)	130 (75)	23 (13)	7 (4)	1 (1)	7 (4)	4 (2)	2 (1)
Asthme	84 (14)	59 (70)	8 (10)	10 (12)	1 (1)	1 (1)	4 (5)	1 (1)
Pneumothorax	55 (9)	38 (69)	10 (18)	3 (5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	4 (7)
Dilatation des bronches	46 (8)	31 (67)	2 (4)	6 (13)	0 (0)	2 (4)	4 (9)	1 (2)
Total	613							

BPCO : Bronchopneumopathie chronique obstructive

Comme chez 284 patients il a été rapporté plus d'une pathologie, la somme des pourcentages dépasse 100%

**Recto**

**Verso**



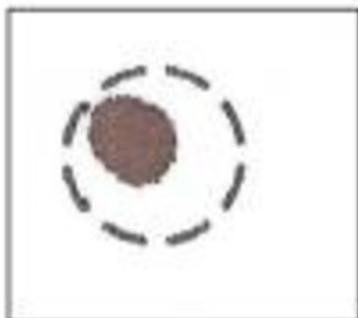
**A**



**B**



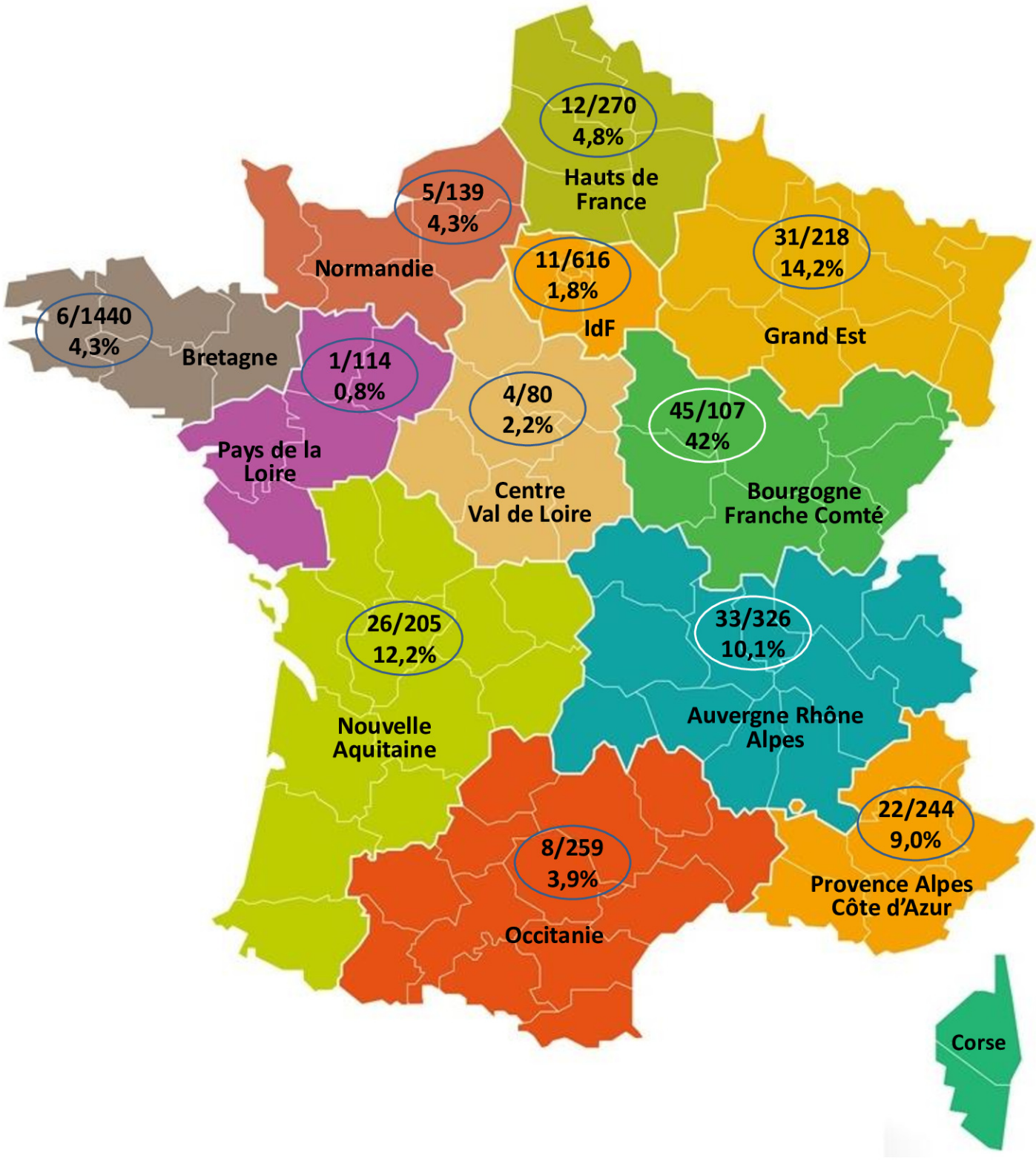
**C**

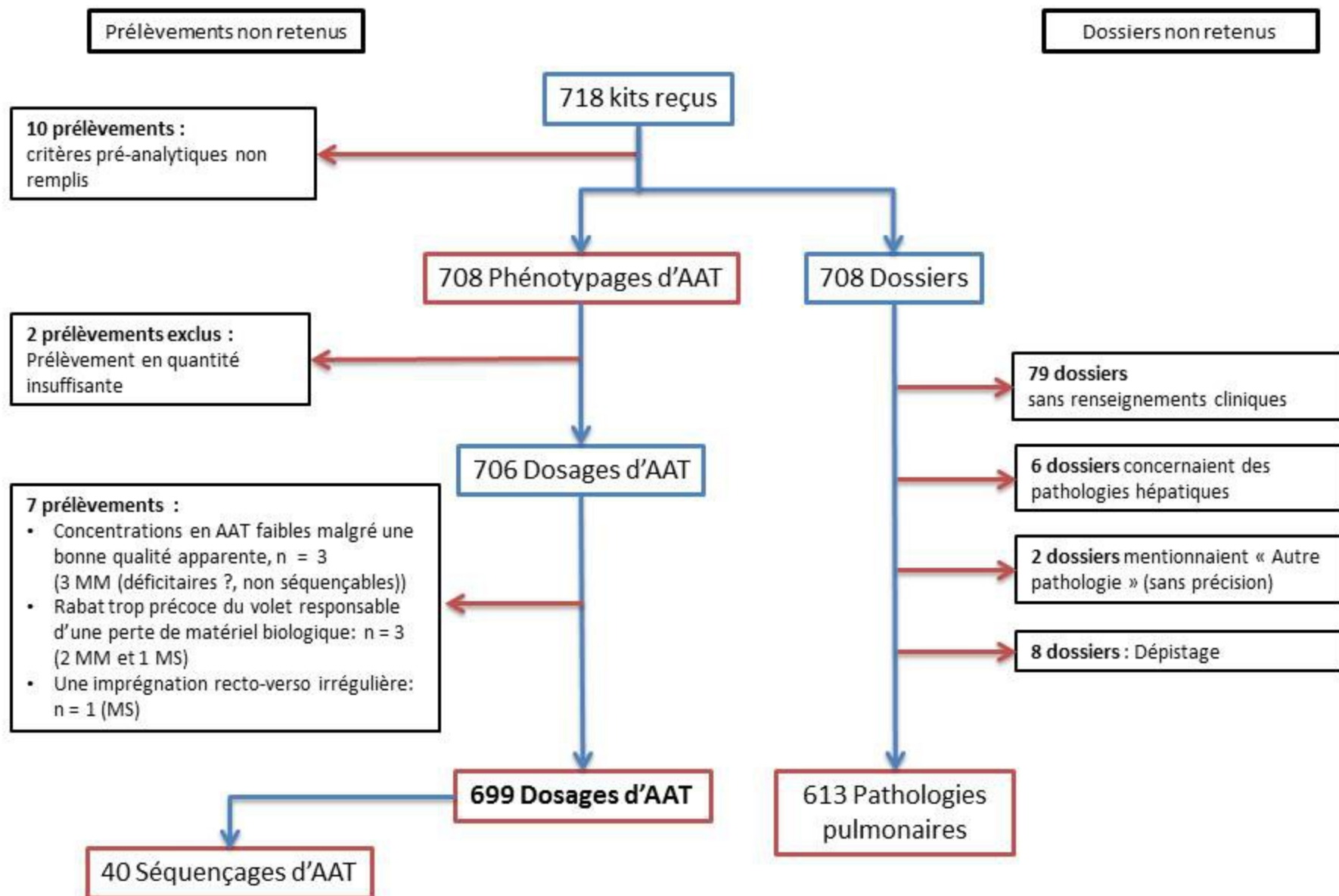


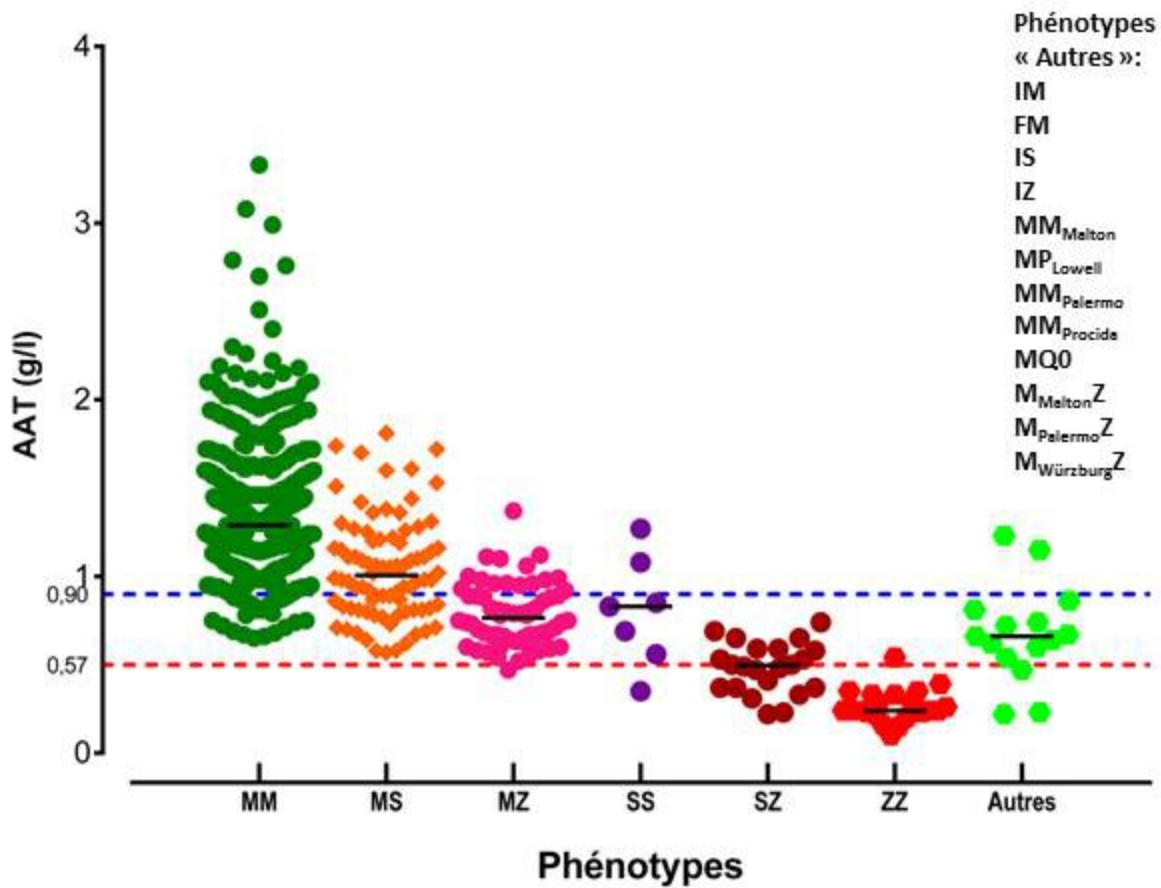
**D**



**E**







0,57 g/L



0,90 g/L



1,10 g/L



49

1 IZ  
1 M<sub>Malton</sub>Z  
1 M<sub>Palermo</sub>Z  
1 MS  
1 M<sub>Würzburg</sub>Z  
5 MZ  
2 SS  
15 SZ  
22 ZZ

120

1 FZ  
2 IM  
32 MM  
1 MM<sub>Palermo</sub>  
1 MM<sub>Procida</sub>  
2 MQ0  
1 MP<sub>Lowell</sub>  
29 MS  
40 MZ  
3 SS  
7 SZ

135

98 MM  
24 MS  
12 MZ  
1 SS

395

2 FM  
359 MM  
30 MS  
3 MZ  
1 SS

