



1. Objet

Cette procédure décrit la démarche préalable à effectuer par un service demandeur, auprès de notre laboratoire, le CDiReC, pour demander les analyses permettant le diagnostic de la granulomatose septique chronique ou CGD (phénotype et génotype).

Il est à noter que ce document est valable pour les demandes d'exploration d'autres immunodéficiences innées affectant les fonctionnalités des neutrophiles (défaut de chimiotactisme, de bactéricidie ou de dégranulation) en cas de suspicion de déficit en rac2, de syndrome de Job, de déficit en Arp1, de déficience en granule spécifique, de syndrome de Chediak Higashi...

Ces explorations se feront en seconde intention après dialogue avec le biologiste.

2. Domaine d'application

2.1 Personnel concerné

Toute personne habilitée pour la prescription de tests biologiques d'un service médical privé ou public.

2.2 Localisation

Régionale, nationale, internationale.

3. Définition

Lors d'une suspicion de CGD posée par un service médical, différentes modalités sont à exécuter par ce service afin que notre laboratoire réalise l'investigation biologique permettant le diagnostic de la CGD dans les meilleures conditions.

4. Documents associés

- ARS Rhône-Alpes : www.ars.rhonealpes.sante.fr
- Centre CGD-Nomenclature des analyses
- Manuel d'Assurance Qualité du Laboratoire de Biologie Médicale

5. Démarche pour le diagnostic fonctionnel, biochimique et génétique

5.1 Prise de rendez-vous - Documents exigés

- **Examen effectué uniquement sur rendez-vous :**

Téléphoner au Centre Diagnostic CGD au 04.76.76.54.83 ou 04.76.76.63.46 le plus tôt possible, au minimum la veille de l'envoi.

- Possibilité de nous joindre par mail : CGD-LABO@chu-grenoble.fr
- Une prescription médicale est nécessaire à toute demande d'analyse, à laquelle est joint un résumé du dossier médical.
- Un consentement pour chacun des membres de la famille subissant un examen génétique est exigé (pas nécessaire pour un simple diagnostic fonctionnel) (modèle ci-joint p3).

En cas de neutropénie constatée, il est impératif de contacter les biologistes afin d'adapter le volume de sang prélevé selon les analyses demandées.



5.2 Prélèvements et envoi

- Les prélèvements sont réalisés sur tubes citratés (bouchon bleu ciel) : 2 tubes de 7 ml soit **entre 7 et 14 ml de sang total**, moins pour les nouveaux-nés (1 à 5 ml).
- **Nécessité d'un prélèvement-témoin (non apparenté au patient et sain) et de même volume que le prélèvement patient**, prélevé le même jour (entre 7 à 14 ml sur citrate, pas nécessairement du même âge ni du même sexe que le malade), pour constituer un contrôle ayant voyagé dans les mêmes conditions.
- L'envoi des prélèvements se fait à température ambiante, **sous 24H maximum avec une réception avant midi le lendemain**, en triple emballage.
- Afin de limiter au maximum le temps de prise en charge des prélèvements merci d'utiliser des sachets rouges si vous en disposez et de joindre à l'intérieur du sachet le message en annexe (p5) de manière à ce qu'il soit visible par la réception centralisée du laboratoire du CHU Grenoble Alpes.
- Utilisez l'adresse suivante :

Pour Chronopost

Dr Marie-José Stasia, Centre Diagnostic CGD, BEP 1^{er} étage
Institut de Biologie et Pathologie – Réception centralisée des prélèvements
CHU de Grenoble Alpes
CS 10217, 38043 Grenoble cedex 11

Pour un transporteur type DHL, Fedex, TSE, Ciblex, il faut indiquer l'adresse géographique et non postale :

Dr Marie-José Stasia, Centre Diagnostic CGD, BEP 1^{er} étage
Institut de Biologie et Pathologie – Réception centralisée des prélèvements
CHU de Grenoble Alpes
Boulevard de la Chantourne
38700 La Tronche

- Il est préférable de **confirmer l'envoi le jour même** en téléphonant au **04.76.76.63.46** ou **04.76.76.54.83**. Possibilité de nous joindre également par mail : CGD-LABO@chu-grenoble.fr

5.3 Facturation

La tarification des examens de biologie médicale est effectuée selon la cotation en vigueur au titre de la NABM, de la CCAM, du référentiel Hors Nomenclature, du RIHN (Référentiel des actes Innovants Hors Nomenclature) et de la liste complémentaire des actes de Biologie (disponible sur demande). Il est préférable que les prélèvements soient effectués dans le cadre d'une hospitalisation normale ou de jour.

5.4 Rendu de résultats

- Les résultats des tests fonctionnels sont communiqués oralement le soir même ou le lendemain par le biologiste du laboratoire au service médical.
- Dans le cas d'impossibilité de joindre l'équipe médicale, un e-mail peut être envoyé directement au médecin prescripteur.
- La validité des résultats fonctionnels et biochimiques est effective après validation sur le SIL du laboratoire, complétée par un courrier du biologiste adressé au médecin prescripteur.
- Les résultats de génétique sont rendus uniquement par courrier adressé au médecin prescripteur.
- Pour tout renseignement complémentaire, veuillez joindre le Dr Stasia ou le Dr Plazy au **04.76.76.54.83** ou au **04.76.76.63.46**



SITE SB2TE

Diagnostic de la granulomatose septique chronique (CGD) et le déficit en rac2: modalités pratiques

SBBECG.PRO.002
Version : 5
Applicable le : 05-03-2026



Identification du patient
Prélevé (étiquette)

CONSENTEMENT EN VUE D'UN EXAMEN A FINALITE MEDICALE DES CARACTERISTIQUES GENETIQUES CHEZ UNE PERSONNE

Article 16-10 du Code civil et articles L.1131-1-2 et L.1111-2 du Code de la Santé Publique, L6211-2, R.1131-4/5 modifiés selon la loi de Bioéthique.
Arrêté du 27 mai 2013. Recommandations de BP HAS « délivrance de l'information à la personne sur son état de santé » mai 2012. Décret n° 2013-527 du 20 juin 2013 relatif aux conditions de mise en œuvre de l'information de la parentèle dans le cadre d'un examen des caractéristiques génétiques à finalité médicale

Je soussigné (e) Né(e) le

patient majeur parent ou représentant légal de Né(e)le

- Déclare avoir reçu les informations nécessaires du Docteur / Conseiller en Génétique (1).....

(sous la responsabilité du Dr))

- Accepte que soit réalisée sur ma personne mon enfant la personne sus-nommée

les examens concernant le **diagnostic de**

par analyse cytogénétique / cytogénétique moléculaire par analyse de biologie moléculaire

Ces examens seront réalisés par des praticiens agréés dans un laboratoire autorisé à cet effet.
Les résultats de l'analyse me seront transmis et expliqués par le médecin qui me les a prescrits.

Je déclare être conscient(e) de la signification de l'anomalie éventuellement détectée, pour moi-même, mes proches et mes apparentés et de l'obligation légale de transmettre cette information à mes apparentés si celle-ci peut permettre d'assurer une prévention. Lors du rendu des résultats, je devrai choisir entre assurer moi-même la transmission de l'information génétique aux membres de ma famille ou autoriser le médecin à le faire. Dans ce cas, je lui communiquerai les coordonnées des membres de ma famille.

Ces examens peuvent révéler d'autres affections que celle recherchée initialement chez moi-même. J'en serai informé uniquement si ces informations comportent un bénéfice direct pour ma personne ou ma famille en l'état actuel des connaissances comme par exemple une possibilité de prévention et /ou de traitement.

● **J'autorise / je n'autorise pas (1)** la conservation des échantillons biologiques prélevés à des fins de diagnostics ultérieurs. Le médecin prescripteur des examens assure la responsabilité de l'utilisation de ces échantillons. Je garde la liberté de demander à tout moment la destruction du matériel biologique conservé sans avoir à me justifier.

● **J'autorise / je n'autorise pas (1)** la conservation et l'utilisation de manière anonyme des échantillons biologiques prélevés, à des fins de recherche scientifique ou médicale.

Je consens au recueil, à la saisie et au traitement des données contenues dans mon dossier médical par des personnes tenues au secret professionnel. Les données qui me concernent resteront strictement confidentielles. Je n'en autorise la consultation qu'aux personnes qui participent à l'analyse génétique. Je pourrai à tout moment demander à être retiré de l'analyse sans aucune conséquence. Les données concernant mon dossier devront être détruites.

Conformément à la loi informatique et liberté, les données contenues dans mon dossier médical peuvent faire l'objet d'un traitement informatique et sont protégées par ces dispositions (Loi N° 78-17 de janvier 1978, modifiée). Vous disposez à tout moment d'un droit d'accès et de rectification.

Fait à, le

Signature :

(1) rayer la mention inutile

ATTESTATION DE CONSULTATION MEDICALE

Je soussigné(e), Docteur / Conseiller en Génétique (1).....(sous la responsabilité du Dr) certifie avoir reçu en consultation ce jour Monsieur/Madame, l'enfantet avoir apporté les informations définies selon les articles L.1111-2, L.1131-1-2, R.1131-5 du code de la santé publique (caractéristiques de la maladie recherchée, moyens de la détecter, degré de fiabilité des analyses, possibilités de prévention et de traitement, modalités de transmission génétique de la maladie recherchée, possibles conséquences chez d'autres membres de sa famille), et avoir recueilli le consentement éclairé conformément aux articles R.1131-4 du Code de la Santé Publique.

Fait à....., le.....

Signature du médecin / Conseiller en Génétique

Cachet du médecin



6. Références

ARS Rhône-Alpes : Laboratoire agréé pour le diagnostic génétique de la granulomatose septique chronique, activité non limitée -Arrêté 2019-17-0625 du 5 Décembre 2019. Renouvellement en date du 18 juin 2024.

Laboratoire de Biologie Médicale Référent (LBMR) pour le diagnostic de la granulomatose septique chronique et le déficit en Rac2 (phénotype-génotype) Arrêté du 15 Juillet 2021.

Agence de Biomédecine : Praticien agréé pour la pratique des examens des caractéristiques génétiques à des fins médicales (article L-1131-3 du code de la santé publique). Renouvellement en date du 3 avril 2024.

1. Mahlaoui N, Picard C, Bach P, Costes L, Courteille V, Ranohavimparany A, Alcaïs A, Jais JP, Fischer A; CEREDIH French PID study group. Genetic diagnosis of primary immunodeficiencies: A survey of the French national registry. *J Allergy Clin Immunol.* (2019), 143(4):1646-1649.e10.

2. Roos D, van Leeuwen K, Hsu AP, Priel DL, Begtrup A, Brandon R, Rawat A, Vignesh P, Madkaikar M, Stasia MJ, Bakri FG, de Boer M, Roesler J, Köker N, Köker MY, Jakobsen M, Bustamante J, Garcia-Morato MB, Shephard JLV, Cagdas D, Tezcan I, Sherkat R, Mortaz E, Fayezi A, Shahrooei M, Wolach B, Blancas-Galicia L, Kanegane H, Kawai T, Condino-Neto A, Vihinen M, Zerbe CS, Holland SM, Malech HL, Gallin JI, Kuhns DB. Hematologically important mutations: The autosomal forms of chronic granulomatous disease (third update). *Blood Cells Mol Dis.* (2021), 92:102596. doi: 10.1016/j.bcmd.2021.102596.

3. Roos D, van Leeuwen K, Hsu AP, Priel DL, Begtrup A, Brandon R, Stasia MJ, Bakri FG, Köker N, Köker MY, Madkaika M, de Boer M, Garcia-Morato MB, Shephard JLV, Roesler J, Kanegane H, Kawai T, Di Matteo G, Shahrooei M, Bustamante J, Rawat A, Vignesh P, Mortaz E, Fayezi A, Cagdas D, Tezcan I, Kitcharoensakkul M, Dinauer MC, Meyts I, Wolach B, Condino-Neto A, Zerbe CS, Holland SM, Malech HL, Gallin JI, Kuhns DB. Hematologically important mutations: X-linked chronic granulomatous disease (fourth update). *Blood Cells Mol Dis.* (2021):102587. doi: 10.1016/j.bcmd.2021.102587. Epub 2021 Jun 2. PMID: 34175765

4. Mollin M, Beaumel S, Vigne B, Brault J, Roux-Buisson N, Rendu J, Barlogis V, Catho G, Dumeril C, Fouyssac F, Monnier D, Gandemer V, Revest M, Brion JP, Bost-Bru C, Jeziorski E, Eitenschenc L, Jarrasse C, Drillon Haus S, Houachée-Chardin M, Hancart M, Michel G, Bertrand Y, Plantaz D, Kelecic J, Traberg R, Kainulainen L, Fauré J, Fieschi F, Stasia MJ. Clinical, functional and genetic characterization of 16 patients suffering from chronic granulomatous disease variants-identification of 11 novel mutations in CYBB. *Clin Exp Immunol.*(2021); 203(2):247-266. doi: 10.1111/cei.13520.

5. Bakri FG, Mollin M, Beaumel S, Vigne B, Roux-Buisson N, Al-Wahadneh AM, Alzyoud RM, Hayajneh WA, Daoud AK, Shukair MEA, Karadshe MF, Sarhan MM, Al-Ramahi JAW, Fauré J, Rendu J, Stasia MJ. Second Report of Chronic Granulomatous Disease in Jordan: Clinical and Genetic Description of 31 Patients From 21 Different Families, Including Families From Lybia and Iraq. *Frontiers in Immunology* (2021) Vol 12, Article 639226. doi: 10.3389/fimmu.2021.639226 eCollection 2021.

6. Van den Berg JM, van Koppen E, Ahlin A, Belohradsky BH, Bernatowska E, Corbeel L, Español T, Fischer A, Kurenko-Deptuch M, Mouy R, Petropoulou T, Roesler J, Seger R, Stasia MJ, Valerius NH, Weening RS, Wolach B, Roos D, Kuijpers TW. Chronic granulomatous disease: the European experience. *PLoS One* (2009), 4(4):e5234.



*A joindre impérativement avec le prélèvement,
Visible de l'extérieur du sachet*

PRELEVEMENT URGENT



Contactez le **laboratoire CGD** au **66 346** pour qu'un technicien vienne
récupérer le prélèvement **le plus rapidement possible**

ou

Si pas de réponse téléphonique transférer directement au
laboratoire **CGD (R+1)**



Centre CGD - Nomenclature des analyses
Etablie selon l'instruction de la DGOS Version 2022

ANALYSES	Mnémoniques Informatiques	Techniques	B	BHN	Codes
DIAGNOSTIC FONCTIONNEL et BIOCHIMIQUE					
Traitement des neutrophiles et des lymphocytes à partir du sang total					
Purification des lymphocytes et des neutrophiles	PREP	Numération cellulaire Isolement des polynucléaires Isolement des leucocytes	1250	35 150 200	G188 G181 E004
Immortalisation des lymphocytes par EBV Congélation des lymphocytes	CULLB CONL	Culture cellulaire Préparation des cellules en vue de leur congélation		50 x 5	4030 G183
Décongélation des lymphocytes	DECON	Conservation en azote liquide Décongélation et remise en culture		30 x 5 100	G185 G184
Activité NADPH Oxydase dans les neutrophiles					
Cytométrie en flux (Dihydrorhodamine DHR) - Production d'H₂O₂	CYTOS	Stimulation au PMA Stimulation au fMLP Stimulation au Zymosan		400 400 400	G074 G074 G074
Test de réduction du NBT et phagocytose sur lame de billes de latex opsonisé	NBT	Stimulation au latex opsonisé Stimulation au PMA		380 400	G075 G068
Chimiluminescence (luminol/isoluminol)	LUMIN	Stimulation au PMA Stimulation au Zymosan Stimulation au fLMP		300 400 400	G076 G068 G068
Réduction du Cytochrome C - Production d'anions superoxyde	CYT C	Stimulation au PMA Stimulation au Zymosan Stimulation au fMLP		800 400 400	G073 G068 G068
Fluorimétrie (Amplex Red[®]) - Production d'H₂O₂	ARED	Stimulation au PMA Stimulation au Zymosan Stimulation au PAF/fMLP		400 400 400	G068 G068 G068
Détermination immunochimique					
Expression des composants du complexe NADPH oxydase par cytométrie en flux	MARQ 1 MARQ 2 MARQ 3 MARQ 4	gp91phox ou NOX2 p22phox p47phox p67phox		100 100 100 100	G070 G070 G065 G065
Préparation extrait soluble Triton X100	EXTRI			0	
Dosage des protéines	DPROT		70		1634
Immunodétection des composants de la NADPH oxydase des neutrophiles	WBPN RAC	Western blot des 5 sous-unités du complexe NADPH oxydase : gp91phox ou NOX2, p22phox, p47phox, p67phox, p40phox. Petite G protéine Rac2		800 200	G072 G153
Quantification du Cytochrome b₅₅₈	CYTOB	Spectrophotométrie différentielle		100	G070



ANALYSES	Mnémoniques Informatiques	Techniques	B	BHN	Codes		
Autres fonctions des neutrophiles							
Etude de la phagocytose des neutrophiles Cytométrie en flux (<i>S. aureus</i>)	PHAG 4	Index de Phagocytose MOI 5		400	G074		
		Index de Phagocytose MOI 2		400	G074		
Etude du chimiotactisme des neutrophiles Fluorimétrie à 37°C	CHIMI	Stimulation au serum activé		950	G067		
		Stimulation au fMLF		400	G068		
		Stimulation à l'IL8		400	G068		
Etude du pouvoir bactéricide des neutrophiles Bactéricidie avec <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ou <i>Staphylococcus aureus</i> ou <i>Escherichia coli</i> ou <i>Candida albicans</i>	BACTE			950	G078		
		Etude de la dégranulation des neutrophiles, exocytose des neutrophiles	DEGR	Activation des PN par fMLP		400	G068
				Activation des PN par Zymosan		400	G068
				Dosage dans le surnageant d'exocytose :	7		1521
LDH				120	J018		
MMP9	60		1519				
Lysosyme (par assimilation)		50	G063				
MPO des PN		140	E028				
Lactoferrine		50	J042				
Glucuronidase							
DIAGNOSTIC GENETIQUE DES IMMUNODEFICIENCES INNEES DES PHAGOCYTES (CGD, déficit Rac2, EROS, Aip1, ...)							
Contrôle et enregistrement des données du patient	PAT	Contrôle préanalytique du dossier (consentement, indication)		30	N200		
		Enregistrement des données du patient dans les bases informatiques (hors SGL)		50	N206		
		Discussion clinico-biologique		100	N207		
Analyse de variants non classés	NMUT	Etude par des logiciels standards de prédiction		50	N210		
		Recherche dans les bases de données		100	N211		
		Intégration des données clinico-biologiques		500	N215		
		Saisie d'un nouveau variant		50	N216		
Préparation d'ARN	ARNT	Extraction d'ARN + Dosage d'acides nucléiques		500	N315		
	ARNM	Préparation des ARNs messagers		50	N018		
	RTARN	RT Reverse transcription		400	N138		



ANALYSES	Mnémoniques Informatiques	Techniques	B	BHN	Codes
Recherche de mutations dans l'ARNm NOX2 ou gp91phox p22phox p47phox p67phox p40phox Rac2 Aip1	ARN91 ARN22 ARN47 ARN67 ARN40 ARNRA ARNAI	Forfait tests fonctionnels PCR pour < 10 couples amorces Forfait séquençage	500	500 500	N315 N131 9007
Préparation d'ADN génomique	ADN	Extraction d'ADN + Dosage d'acides nucléiques		500	N315
Recherche de mutations dans l'ADNg Gène CYBB Gène CYBA Gène NCF1 Gène NCF2 Gène NCF4 Gène codant Rac2 Gène WDR1	CYBB CYBA NCF1 NCF2 NCF4 RAC2 WDR1	PCR pour < 10 couples amorces ou PCR > 10couples amorces Forfait séquençage	500	500 1000	N131 N156 9007
Microsatellites	MSAT	Etude de microsatellites		140	N903
Mutagenèse dirigée	MUTAG	Forfait Tests fonctionnels ex vivo par mutagenèse dirigée		3000	N314
Northern blot ou Southern blot	NORB ou SOUB	Northern ou Southern blot (par puits nécessaire pour l'étude d'un patient)		830 830	N037 N037