

AOR "Assistance médicale à la procréation, Médecine Fœtale et Diagnostic génétique"

Résumés et résultats

2006 - 2026

Cliquer sur les titres pour accéder au détail des projets

Nom et institution	Titre	Année AOR
DUPONT Jean-Michel - Histologie Embryologie Cytogénétique - Cochin - APHP	Application de l'hybridation génomique comparative sur puce à ADN au diagnostic prénatal des anomalies chromosomiques cryptiques.	2006
JONVEAUX Philippe - Laboratoire de génétique - CHU de Nancy	Détection d'aneusomies segmentaires dans les syndromes polyformatifs fœtaux par hybridation génomique comparative sur micro réseau d'ADN.	2006
DOCO-FENZY Martine - HMB - CHU de Reims	Création d'une plateforme informatique sécurisée pour la gestion du contrôle de qualité externe en cytogénétique (CPICQE).	2006
JULIAN-REYNIER Claire - INSERM UMR379 - MARSEILLE	Attitudes envers diagnostic prénatal et pré-implantatoire dans les familles ayant une prédisposition génétique au cancer du sein et/ou de l'ovaire (gènes BRCA1/2)	2007
FLORI Elizabeth - Cytogénétique - CHU de Strasbourg	Recherche, par CGH-array, d'anomalies chromosomiques au premier trimestre de la grossesse chez des fœtus porteurs d'hygroma colli.	2007
BATEMAN Simone - CERSES - UMR8137 -PARIS 5	Cancers héréditaires et procréation. La place de l'histoire et des préférences familiales dans la décision de recourir au DPN ou au DPI	2007
VASSY Carine - UMR 723 CRESP/IRIS - EHESS - Paris 13	Dépistage prénatal de la trisomie 21 : enjeux éthiques de la communication entre les femmes enceintes et les professionnels	2007
RAY Pierre - Biochimie génétique et moléculaire - CHU de Grenoble	Optimisation et validation d'un protocole d'isolement de cellules fœtales à partir du sang maternel en vue d'un diagnostic prénatal non-invasif	2007
BAHON-RIEDINGER Isabelle - CHU Rennes	Dosage des Auto-anticorps anti-récepteurs des folates chez les mères d'enfants atteints de Spina Bifida ou d'Anencéphalie	2008
LEPORRIER Nathalie - CHU CAEN	Etude des micro-remaniements chromosomiques chez des fœtus polymalformés par CGH-array sur ADN fœtal libre du surnageant de liquide amniotique.	2008
LEVY-MOZZICONACCI - AP-HM	Génotypage plaquettaire fœtal : Diagnostic prénatal non invasif sur sang maternel	2008

Nom et institution	Titre	Année AOR
BOURROUILLOU Georges - CHU de TOULOUSE	Diagnostic anténatal des remaniements chromosomiques par CGH array utilisant l'ADN fetal libre circulant dans le liquide amniotique	2008
DOMMERGUES Marc - Pitié-Salpêtrière -APHP	Elaboration d'un indicateur de qualité des images d'échographie fœtale au deuxième trimestre de la grossesse. Impact sur les pratiques	2008
LUCAS Josette - CHU RENNES	Etude rétrospective par CGHarray de 50 cas de clarté nucale ≥ 4 mm ou d'hygroma kystique du 1er trimestre à caryotype normal	2008
BONNEFONT Jean-Paul - Hôpital NECKER - Paris	Amélioration des procédures de diagnostic prénatal des maladies génétiques résultant de mutations de l'ADN mitochondrial	2008
VILLE Isabelle - Paul- Brousse -APHP	Du test prénatal à l'expérience du handicap : les mécanismes de la traduction en France, au Pays-Bas et au Brésil	2009
COSTA Jean-Marc - Laboratoire Pasteur Cerba	Diagnostic prénatal non invasif de l'achondroplasie	2009
PATERLINI-BRECHOT Patrizia - Institut Necker	Extension de validation clinique d'une méthode non invasive de DPN de l'amyotrophie spinale	2009
DUPONT Jean-Michel - Institut Cochin - INSERM U 567, UMR CNRS 8104	Diagnostic par puces à ADN des aneuploïdies fœtales à partir du sang maternel	2010
SARDA Pierre - Génétique Médicale - CHU Montpellier	Evaluation médico-économique de 3 différentes puces à ADN dans le cadre du diagnostic prénatal	2010
COSTA Catherine - Henri Mondor - APHP	Diagnostic prénatal non invasif de l'hémophilie : Nouvelle prise en charge des femmes avec néomutation	2011
DAVID Véronique - Université de Rennes 1	Amélioration du diagnostic de l'holoprosencéphalie : identification de nouveaux gènes par séquençage haut-débit	2012
FREOUR Thierry - AMP - CHU de Nantes	Combinaison de l'Embryoscope et du dosage du G-CSF folliculaire comme biomarqueurs pronostiques du potentiel implantatoire	2012
VINCENT Marie-Claire - CHU de Montpellier	Diagnostic Prénatal Non Invasif (DPNI) de la Mucoviscidose par MEMOPCR en temps réel	2012
BEAUQUIER Bérengère - AP-HP	Soigner, soulager, revisiter le deuil prénatal et accompagner la famille lors de la grossesse suivante. Quelles traces du prénatal dans le lien à l'enfant puîné ?	2012
JOUANNIC Jean-Marie - APHP	Etude DACCI : Devenir des enfants après diagnostic prénatal d'agénésie isolée du corps calleux	2012
MULLER Françoise - Robert Debré -APHP	Impact du dépistage de la trisomie 21 par les marqueurs sériques maternels du 1er trimestre sur le diagnostic prénatal du spina bifida	2013

Nom et institution	Titre	Année AOR
ATTIE-BITACH Tania - Necker - APHP	Explorations moléculaires des anomalies du corps calleux par séquençage haut débit	2013
STEFFANN Julie - INSERM, hôpital Necker	Amélioration des procédures de diagnostic prénatal des maladies génétiques résultant de mutations de l'ADN mitochondrial	2013
WHALEN Sandra - Pitié-Salpêtrière - APHP	Nature et fréquence des étiologies associées aux pieds bots varus équin d'apparence isolée diagnostiqués en période prénatale	2013
RIVIERE Jean-Baptiste - Université de Bourgogne	Détection prénatale non invasive d'aneuploïdies sur plasma maternel par séquençage haut débit ciblé	2013
NECTOUX Juliette - Cochin - APHP	Mise en place du diagnostic prénatal non invasif des maladies monogéniques rares et sévères	2013
COSTA Jean-Marc - Laboratoire CERBA	Evaluation de la performance du dépistage prénatal non invasif des trisomes 13, 18 et 21 au cours des grossesses obtenues après assistance médicale à la procréation	2014
DRUNAT Séverine - Robert Debré - APHP	Diagnostic prénatal non invasif de la drépanocytose par séquençage nouvelle génération (NGS)	2014
ROORYCK THAMBO Caroline - CHU de Bordeaux	Dépistage prénatal non invasif d'aneuploïdies foetales dans le plasma maternel par séquençage haut débit par la technologie des semi-conducteurs	2014
SERMET-GAUDELUS Isabelle - Necker - APHP	Exploration des nouveaux-nés présentant un diagnostic non conclu au dépistage néonatal de la mucoviscidose en vue du conseil génétique	2015
STEFFANN Julie - Necker - APHP	Faisabilité du diagnostic prénatal de maladies génétiques par séquençage haut débit de l'ADN fœtal circulant dans le sang maternel	2015
BENACHI Alexandra - Fédération CPDPN	Evaluation de la sécurité et de la qualité des pratiques de diagnostic prénatal en cas de suspicion d'un retard de croissance intra-utérin	2016
CAPRI Yline - Robert Debré - APHP	RASopathies et morts foetales/périnatales et implications pour le diagnostic prénatal	2016
BUFFIN-MEYER Bénédicte - Inserm U1048 I2MC Toulouse	METAPhOR : METabolome Amniotique pour la Prédiction de la fonction Rénale postnatale	2017
DURR Alexandra - ICM CNRS UMR7225 La pitié - Paris	L'information à la parentèle dans les maladies dominantes neurogénétiques et neuromusculaires. Le DPN/DPI sont-ils un enjeu dans l'information à la parentèle ? (RISQUINFO)	2017
LE REY Camille - INSERM U 1153 - EPOPé - La Sorbonne	Issues prénatales et maternelles des grossesses gémellaires selon le mode de conception	2017
ROMANA Serge - INSERM U1163 - Institut Imagine	Diagnostic prénatal combiné des CNVs et SNV par séquençage haut débit	2017

Nom et institution	Titre	Année AOR
DEBARGE Véronique - Clinique obstétrique - Lille	Impact psychologique du diagnostic anténatal chez les parents d'enfants opérés d'une atrésie	2018
MALNOU Cécile - INSERM UMR1043 - CHU de Toulouse	Identification d'un biomarqueur prédisant l'état placentaire et les conséquences fœtales lors d'infections congénitales	2019
NOIVILLE Christine - Institut des sciences juridiques UMR 8103 - La Sorbonne	Quel avenir pour le dépistage prénatal non-invasif en France? Analyse des normes et des pratiques médicales françaises au prisme du modèle belge	2019
ATTIE-BITACH Tania - Service HEC- Necker Enfants - APHP	Panels virtuels ciblant les Signes d'Appel Fœtaux Echographiques (SAFE-App) : mise en place d'une base dynamique et collaborative	2020
LACHAUD Matthias - Génétique et Procréation - CHU GRENOBLE	Dépistage PRÉcoce des CARDiopathies sévères chez les FOETus à risque élevé de cardiopathie (PRÉCAFOET)	2021
CHATRON Nicolas - Génétique - CHU de Lyon	Apport de la détection non-invasive d'anomalies chromosomiques fœtales lors d'une récurrence de fausses-couches	2022
NECTOUX Juliette - Médecine Génomique - Cochin	Haplotypage direct à partir de données de séquençage Nanopore : application au diagnostic non invasif des maladies monogéniques	2022
CHARBIT-HENRION Fabienne - Médecine Génomique - Necker Enfants - APHP	PRENATOME : Développement d'un DPNI d'exclusion pour 99 maladies monogéniques par séquençage haut débit	2023
GOUMY Carole - Cytogénétique Médicale - CHU ESTAING	Apport de la cartographie optique du génome dans le diagnostic prénatal des clartés nucales élevées	2023
GUILBAUD Lucie - Hôpital Saint-Louis - UTC - UMR 976	Développement de la thérapie cellulaire dans le traitement prénatal des myéloméningocèles	2023
LAUER ZILLHARDT Julia - DPI - CHU de Strasbourg	Adaptation de la technique de puces SNP au Diagnostic Préimplantatoire en France	2023
MONIER Isabelle - EPOPé Inserm - Maternité Port-Royal	Dépistage des anomalies congénitales par l'échographie systématique du troisième trimestre et impact sur les résultats de santé	2023
VIVANTI Alexandre - CPDPN- Hôpital Antoine Béclère	Dépistage Prénatal Non Invasif par analyse de l'ADN libre circulant et cancers maternels	2023
BEZIEAU Stéphane - Laboratoire de génétique moléculaire CHU de Nantes	Mise au point de l'extraction d'ADN à partir de prélèvements sanguins pour le séquençage du génome à des fins de dépistage néonatal	2024
MALNOU Cécile - INSERM UMR1291 – CNRS UMR5051 - Toulouse	Vésicules extracellulaires placentaires et infection congénitale par le cytomégalovirus : un nouveau biomarqueur ?	2024

Nom et institution	Titre	Année AOR
BRIS Céline - Génétique - CHU d'Angers	PRESAGE : Etude Pilote sur la faisabilité du séquençage d'ARN pour le diagnostic prénatal de la Sclérose Tubéreuse de Bourneville	2025
CHOUCHANA Laurent - Pharmacologie périnatale pédiatrique et adulte - Cochin - APHP	Dydrogestérone et risque de malformations congénitales et d'issues de grossesse défavorables : étude DYDRO-MALFO	2025
DHOMBRES Ferdinand - GRC IMAGES - Trousseau - APHP Paris	Qualité de l'imagerie échographique prénatale pour la caractérisation phénotypique des dysraphismes spinaux (Quali-SBoD)	2025
DIETERICH Klaus - Génétique, Génomique et Procréation - CHU de Grenoble	Décrypter les anomalies cérébrales du développement fœtal précoce grâce à des approches d'imagerie combinée	2025
FUCHS Florent - WILLEMS Marjolaine - CHU de Montpellier	Diagnostic anténatal et devenir postnatal des foetus ayant présenté une HYperéchogénicité COLique (PRECOLHY)	2025
LE RAY Camille - INSERM U1153 équipe EPOPé Maternité Port-Royal	Evaluation de la prise d'acide folique en péri-conceptionnel en France pour réduire les anomalies de fermeture du tube neural : étude nationale en population appariée au SNDS (FolicAcid-ENP2021)	2025
STEFFANN Julie - Génétique - Necker- Enfants Malades - APHP	Le séquençage long-read: Une approche innovante pour élargir l'accès au diagnostic préimplantatoire (DPI)	2025
VAYSSIERE Christophe - Hôpital Paule de Viguier Toulouse	Impact sur la santé mentale maternelle des faux positifs à l'échographie de dépistage: exemple du petit périmètre crânien	2025
FOURNIER Thierry - FPRM, UMR-S1139 - Paris	Biomarqueurs Retard de Croissance intra-Uterin- Pré-éclampsie-Preuve de concept : BioReCUP	2026
GOURONC Aurélie - Diagnostic Génétique - CHRU de STRASBOURG	GenTonic - Diagnostic moléculaire simultané des causes génétiques d'hypotonie néonatale par séquençage haut débit long read.	2026
HEIDE Solveig - Génétique - Pitiés Salpêtrière - APHP	Etude de faisabilité du séquençage de génome long read sur Nanopore en prénatal dans les anomalies fœtales	2026
ROLLIER Paul - Génétique - CHU de Rennes	Évaluation de l'approche génome Long Read en diagnostic prénatal étiologique des malformations cérébrales fœtales (PRELOGEN-BRAIN)	2026

Application de l'hybridation génomique comparative sur puce à ADN au diagnostic prénatal des anomalies chromosomiques cryptiques.

DUPONT Jean-Michel - Laboratoire d'Histologie Embryologie Cytogénétique - Hôpital Cochin - PARIS

[Retour tableau](#)

Résumé

Le caryotype fœtal réalisé sur liquide amniotique ou biopsie de villosités chorales constitue actuellement la technique de référence pour le diagnostic des anomalies chromosomiques, son principal avantage résidant dans sa capacité à analyser l'ensemble du génome fœtal. Cependant, la sensibilité du caryotype (environ 10 à 20 Mb pour un caryotype standard) est parfois insuffisante pour le diagnostic de certaines anomalies de petite taille en postnatal, on a recours à l'hybridation in situ à l'aide de sondes fluorescentes spécifiques de la région à analyser, déterminée d'après les signes cliniques. Malheureusement, pour beaucoup de syndromes microdélétionnels, les manifestations prénatales sont insuffisantes ou méconnues, ce qui ne permet pas d'orienter les analyses en hybridation in situ. Une alternative consiste à utiliser l'ADN du patient comme sonde pour mettre en évidence ces remaniements déséquilibrés. L'ADN du patient est co-hybridé avec un ADN témoin (CGH : hybridation génomique comparative) afin d'identifier les régions en excès ou en défaut chez le patient par rapport au témoin. Cette approche prend une nouvelle dimension avec l'apparition des puces à ADN (CGH array) puisque la résolution dépend alors du nombre de fragments déposés sur la puce. Il existe actuellement des puces comprenant plus de 3000 fragments d'ADN ce qui représente un fragment toutes les mégabases et représente une sensibilité plus de 10 fois supérieure à celle du caryotype standard. Le CGH array a permis d'identifier de nombreux remaniements cryptiques en diagnostic post natal. Malheureusement la très grande sensibilité de la technique a également mis en évidence des polymorphismes génomiques de grande taille (de l'ordre de plusieurs mégabases) totalement méconnus jusqu'alors. Ces polymorphismes compliquent l'établissement d'un lien entre une anomalie chromosomique et des manifestations cliniques associées. De ce fait, l'application de cette technologie au diagnostic prénatal nécessite un travail de sélection des régions chromosomiques à tester afin à la fois d'améliorer la qualité et la sensibilité du diagnostic prénatal chromosomique et la spécificité des résultats obtenus qui doivent permettre d'assurer un conseil génétique efficace. Le but de cette étude prospective est double :

- Evaluer la pertinence de la technique de CGH array dans le cadre du diagnostic prénatal ; deux aspects sont particulièrement importants : la sensibilité de la technique pour identifier des microremaniements non détectés par le caryotype standard et son adaptabilité aux contraintes de temps inhérentes au DPN.
- Mieux cibler les régions d'intérêt pour orienter la fabrication de puces dédiées au diagnostic prénatal. Ces puces dédiées n'ont en effet pas vocation à avoir une sensibilité maximale mais au contraire la meilleure spécificité possible quant aux conséquences des anomalies dépistées.

Sur une période de deux ans, 50 fœtus à caryotype normal seront testés, sélectionnés parmi les prélèvements reçus pour signe d'appel échographique. La technique de CGH array sera réalisée sous la direction de l'équipe d'Integrigen et les vérifications en FISH effectuées par les laboratoires de cytogénétique. D'après les études réalisées en post natal ou sur des fœtus après mort fœtale in utero ou interruption médicale de grossesse, un taux de 15 % d'anomalies cryptiques est attendu.

[Retour tableau](#)

Détection d'aneusomies segmentaires dans les syndromes polyformatifs fœtaux par hybridation génomique comparative sur micro réseau d'ADN.

JONVEAUX Philippe - Laboratoire de génétique - CHU de Nancy - VANDOEUVRE LES NANCY

[Retour tableau](#)

Résumé

Un déséquilibre chromosomique identifiable par les techniques conventionnelles est observé dans environ 10 à 15 % des mort-nés et nouveau-nés vivants avec des malformations. Toutefois plus de 50 % des syndromes polymalformatifs fœtaux restent inexpliqués malgré l'ensemble des explorations cliniques et paracliniques effectuées. Un nouveau champ de la pathologie chromosomique est apparu depuis peu grâce au développement de technologies autorisant l'étude des anomalies quantitatives du génome à un seuil de résolution 50 à 100 fois supérieur à celui du caryotype. Nous proposons d'utiliser la technique d'hybridation génomique comparative sur microréseau d'ADN (array-CGH) ou puce ADN afin de rechercher des aneusomies segmentaires pathogènes, de novo, à partir d'une étude rétrospective chez 50 fœtus avec un syndrome polymalformatif grave ayant conduit à une interruption médicale de grossesse jugée recevable par le centre pluridisciplinaire de diagnostic prénatal de Lorraine. Nous souhaitons établir la fréquence de ces remaniements génomiques dans la population ciblée et en définir les caractéristiques cliniques et moléculaires. L'objectif ultime est d'utiliser ces loci remaniés dans un deuxième temps, comme cibles diagnostiques pour améliorer la prise en charge précoce de grossesses avec des syndromes malformatifs et ainsi améliorer le conseil génétique. Nous utiliserons une puce 1Mb, constitué de 3696 cibles de type BAC/PAC. Chaque anomalie décelée est systématiquement contrôlée avec une technique indépendante. Hybridation in situ en fluorescence (FISH) à l'aide de sondes BAC spécifiques (sur métaphase et sur noyau interphasique dans le cas d'une éventuelle duplication) et/ou moléculaire (marqueurs microsatellites, dosage génique par QMPSF) sur les prélèvements fœtaux et sur les prélèvements parentaux. Ce contrôle a pour but de vérifier la nature de novo, délétère du déséquilibre, ou héritée et donc reflet d'un polymorphisme. Notre interprétation des résultats reposera aussi sur les bases de données dédiées à la technique d'array-CGH : DECIPHER (www.sanger.ac.uk/PostGenomics/decipher) et Genome Variation Database, sur les variants génomiques recensés actuellement

(<http://projects.tcag.ca/variation/>). Ce contrôle s'inscrit aussi dans la recherche d'une anomalie chromosomique équilibrée cryptique (translocation, insertion) chez l'un des parents qui conditionne le risque de récurrence et le conseil génétique pour les apparentés à risque. Les anomalies identifiées comme pathogènes feront l'objet dans un deuxième temps d'une cartographie plus précise pour borner les points de cassure et mieux cerner les gènes impliqués dans le déséquilibre.

Résultats

Valduga, M., C. Philippe, P. Bach Segura, O. Thiebaugeorges, A. Miton, M. Beri, C. Bonnet, C. Nemos, B. Foliguet, et P. Jonveaux. 2010. « A Retrospective Study by Oligonucleotide Array-CGH Analysis in 50 Fetuses with Multiple Malformations ». *Prenatal Diagnosis* 30: 333-41.

[Retour tableau](#)

Année: 2006

Création d'une plateforme informatique sécurisée pour la gestion du contrôle de qualité externe en cytogénétique (CPICQE).

DOCO-FENZY Martine - Pour l'ACLF

HMB - CHU de Reims

[Retour tableau](#)

Résumé

L'objectif du projet est de créer un outil sécurisé permettant aux cytogénéticiens français de réaliser un contrôle qualité externe (CQE) dans les meilleures conditions de confidentialité. Le CQE en cytogénétique s'est développé en France depuis 2005 à l'initiative du GFCH (groupe Français de Cytogénétique Hématologique) et de l'ACLF (Association des Cytogénéticiens de Langue Française). La difficulté est liée au grand nombre de laboratoires et à la gestion d'un grand nombre d'images à expertiser. La création de la plateforme informatique permettra une gestion des dossiers rapide, fiable, sécurisée. Elle permettra de faire l'économie d'un local pour la réception et le stockage des dossiers. Il s'agit d'un support technique indispensable pour le succès du CQE initié début 2006.

Nous demandons une subvention de 23000 € afin de créer une base de données avec une interface via un site web. Ce système doit permettre aux différents laboratoires de cytogénétique français de transmettre leurs dossiers de cytogénétique sous format électronique (fichiers texte et image) et de les anonymiser. Il permettra aux experts examinateurs de consulter les dossiers après anonymisation et de transmettre leurs évaluations sur la même base commune sans avoir obligatoirement à se déplacer pour cela. Les résultats pourront être consultés directement sur la base de données. Nous désirons recruter un informaticien pendant une année pour créer cette base de données. Il sera encadré par le responsable du site web de l'ACLF. Cette base sera créée conformément au cahier des charges défini par les membres du bureau de l'ACLF. Ce cahier des charges sera inspiré des systèmes sécurisés de contrôle de qualité existant déjà en Europe. Il sera validé suivant les recommandations de l'AFSSAPS, de la CNIL et la réglementation en vigueur. Le but est donc de mettre en réseau les cytogénéticiens qui seront tous acteurs de ce contrôle car ils interviendront en tant que testés et experts. La conséquence en sera la formation des praticiens afin d'homogénéiser et d'améliorer la pratique de la cytogénétique. Ce système pourra être adapté à la fois pour la cytogénétique constitutionnelle pré et post natale, la cytogénétique hématologique et la cytogénétique des tumeurs solides.

[Retour tableau](#)

Attitudes envers diagnostic prénatal et pré-implantatoire dans les familles ayant une prédisposition génétique au cancer du sein et/ou de l'ovaire (gènes BRCA1/2)

JULIAN-REYNIER Claire - INSERM UMR 379 - Institut Paoli-Calmette - MARSEILLE

[Retour tableau](#)

Résumé

Les prédispositions génétiques au cancer constituent des indications potentielles de diagnostic prénatal et de diagnostic pré-implantatoire pour lesquelles existe à l'heure actuelle au niveau international un débat législatif, économique, social et éthique. Objectif général : mesurer de manière descriptive les attitudes et les intentions théoriques envers le diagnostic prénatal et le diagnostic préimplantatoire de personnes prédisposées génétiquement à un cancer du sein et/ou de l'ovaire et pouvant de par leur âge avoir un projet familial personnel. Il consiste par ailleurs à estimer leurs critères de décision de recourir à de tels diagnostics et le degré d'implication souhaité dans le contexte d'un projet reproductif ainsi que leur recherche d'information et leurs attentes envers la prise en charge médicale. Cette description sera réalisée par l'intermédiaire de scénarios hypothétiques afin de ne pas suggérer la possibilité de ces interventions dans un contexte national d'autorisation incertain. Méthodologie : A partir de la cohorte nationale Française GENEPSO, mise en place par le Groupe Génétique et Cancer de la FNCLCC et coordonnée par le Dr C Noguès, regroupant plus de 1200 personnes appartenant à des familles ayant une prédisposition génétique au cancer du sein et/ou de l'ovaire (BRCA1/2), nous réaliserons une enquête transversale par courrier et par autoquestionnaires auprès des 411 femmes de moins de 40 ans et des 73 hommes de moins de 50 ans ayant une prédisposition génétique (mutation BRCA1/2). Un groupe de 171 femmes non mutées (≤ 40 ans) appartenant à ces familles sera aussi étudié et comparé au groupe des femmes ayant une mutation. Les résultats de cette étude quantitative permettront d'estimer l'acceptabilité et la demande théoriques de diagnostic prénatal et de diagnostic pré-implantatoire du point de vue des couples à risque dans le contexte des prédispositions génétiques aux cancers pour lesquelles la question de la curabilité de la pathologie, peut poser actuellement la question de la légitimité médicale des indications.

Résultats

Julian-Reynier, Claire, Roxane Fabre, Isabelle Coupier, Dominique Stoppa-Lyonnet, Christine Lasset, Olivier Caron, Emmanuelle Mouret-Fourme, et al. 2012. « BRCA1/2 carriers: their childbearing plans and theoretical intentions about having preimplantation genetic diagnosis and prenatal diagnosis ». *Genetics in Medicine* 14 (5): 527-34.

[Retour tableau](#)

Recherche, par CGH-array, d'anomalies chromosomiques au premier trimestre de la grossesse chez des fœtus porteurs d'hygroma colli.

FLORI Elizabeth - Service de Cytogénétique - Hôpital de Hautepierre - Hôpitaux Universitaires de Strasbourg

[Retour tableau](#)

Résumé

Le protocole proposé a pour but d'essayer de mettre en évidence, grâce à une technique de CGHarray, de très fines anomalies déséquilibrées du génome non accessibles aux techniques de cytogénétique conventionnelle chez des fœtus porteurs d'hygroma colli. L'hygroma colli se caractérise par la présence de logettes paracervicales à contenu liquidien séparées par des cloisons; il est présent au premier trimestre de la grossesse, disparaît le plus souvent spontanément ensuite et s'accompagne, dans près de 40% des cas, d'anomalies chromosomiques mises en évidence par le caryotype standard. Une étude récente que nous avons menée sur une série personnelle de 316 observations d'hygromas colli a montré que, pour les 198 cas où le caryotype était normal, le suivi de grossesse a révélé, dans 9 cas des morts fœtales in utero, dans 31 cas des malformations multiples qui ont conduit à une interruption médicale de grossesse sans qu'une étiologie ait été mise en évidence et que 19 enfants ont présenté des pathologies plus ou moins sévères, parfois malformatives, pour lesquelles, là encore, l'étiologie est restée méconnue. Nous souhaitons savoir si ces tableaux sont à mettre en relation avec de fines anomalies chromosomiques déséquilibrées. La reconnaissance précoce d'une telle anomalie permettrait de donner aux parents un pronostic plus précis pour la grossesse en cours ainsi qu'un conseil génétique adapté, lequel pourrait aussi, le cas échéant, concerner d'autres membres de la famille. Cette étude concernera les femmes qui auront un prélèvement de villosités choriales vers 13 semaines d'aménorrhée en raison d'un hygroma colli et chez lesquelles le caryotype fœtal n'aura montré aucune anomalie. Dans ces situations, nous mettrons en œuvre une technique de CGH-array, grâce à une puce permettant d'explorer 1000 régions du génome parmi lesquelles celles correspondant aux principaux syndromes microdélétionnels et aux régions subtélomériques. Toute suspicion d'anomalie sera confirmée ou infirmée par l'utilisation de sondes spécifiques des régions concernées ou par biologie moléculaire. En cas de confirmation, l'examen sera complété par une analyse des parents, seule à même de faire la différence entre polymorphisme sans conséquence phénotypique et remaniement parental équilibré à l'origine d'un déséquilibre dans la descendance ou encore anomalie fœtale de novo. Compte tenu du peu de données disponibles dans la littérature, il est pour l'instant difficile de connaître la fréquence des anomalies chromosomiques dépistées par la CGH-array dans les hygromas colli à caryotype standard normal mais, à partir de différents travaux préliminaires, on peut considérer qu'un chiffre de 20% constitue sans doute une approximation valable. Dans cette hypothèse, le nombre de sujets nécessaires serait de 50.

[Retour tableau](#)

Cancers héréditaires et procréation. La place de l'histoire et des préférences familiales dans la décision de recourir au DPN ou au DPI

BATEMAN Simone - Centre de recherches Sens, Ethique et Société CERSES - UMR8137 -PARIS 5

[Retour tableau](#)

Résumé

Lorsqu'un individu apprend qu'il porte une version mutée d'un gène qui le prédispose à un cancer, la question qu'il pourrait d'abord se poser, s'il est encore en âge de procréer, serait celle de savoir s'il souhaite procréer, compte tenu du risque de transmettre sa prédisposition à ses descendants. Se pose alors la question du recours à différentes solutions, dont les techniques de DPN et DPI. Dans ce contexte, les dispositions juridiques relatives à ces techniques posent comme condition d'accès à celles-ci qu'il y ait une forte probabilité de transmettre à l'enfant une « affection d'une particulière gravité reconnue comme incurable au moment du diagnostic ». Cette disposition juridique peut se traduire en termes pratiques sous la forme de trois critères « objectifs » définissant cette gravité - à savoir, l'âge précoce d'apparition de la maladie, la probabilité élevée de développer la maladie, et l'absence de mesures de prévention ou de traitements. Ces critères permettent aux médecins de décider pour un grand nombre de maladies s'ils peuvent ou non proposer à leurs patients le recours à ces techniques ; mais ces critères sont mis en question dans le cas de certaines prédispositions à des cancers héréditaires. En effet, la notion de « particulière gravité » est appréciée de manière subjective par ceux qui sont confrontés à l'expérience de la maladie, mais aussi par les médecins eux-mêmes. Cette recherche vise à identifier les normes en jeu dans la décision que prennent ou que prendraient des individus qui se savent porteurs d'une prédisposition à un cancer, lorsqu'ils envisagent de procréer et éventuellement de recourir à un DPI ou à un DPN. Parmi ces normes, nous accorderons une attention particulière aux préférences familiales définies comme ce qu'on estime devoir à ses apparentés et à ses proches d'un point de vue éthique, et à la manière dont ces préférences sont influencées par l'histoire familiale. Notre projet porte notamment sur des indications problématiques d'un point de vue éthique, telles que des cancers héréditaires dont la révélation est tardive, la pénétrance incomplète, et qui font l'objet de mesures de surveillance et de prévention ou de traitements curatifs. Nous pourrions ainsi comparer ces normes à celles qui sont énoncées dans les recommandations de bioéthique. Nous chercherons à répertorier les principes mobilisés dans les recommandations bioéthiques en matière de DPN et de DPI. Nous mènerons une enquête qualitative exploratoire au moyen d'entretiens semi-directifs auprès d'individus qui savent qu'ils peuvent transmettre soit un gène prédisposant à la maladie de von Hippel Lindau, soit un gène prédisposant aux cancers du sein et des ovaires dits héréditaires, ou enfin un gène de prédisposition au rétinoblastome. Enfin, nous réaliserons des entretiens avec les équipes médicales qui prennent en charge ces patients, pour mieux comprendre leur propre perception de la gravité de ces maladies et la comparer avec celle des patients. Nous espérons obtenir ainsi des données empiriques qui donnent une plus grande consistance au raisonnement et aux normes mobilisées par des individus à risque de transmettre un gène de prédisposition à un cancer lorsqu'ils envisagent de procréer. Ces normes spécifiquement familiales pourraient éclairer autrement le problème de ce qui est acceptable en matière de sélection d'embryons et de fœtus, et contribuer à renouveler les termes de ce débat.

Résultats

Dekeuwer, Catherine, et Simone Bateman. 2013. « Much More than a Gene: Hereditary Breast and Ovarian Cancer, Reproductive Choices and Family Life ». *Medicine, Health Care and Philosophy* 16 (2): 231-44.

Dépistage prénatal de la trisomie 21 : enjeux éthiques de la communication entre les femmes enceintes et les professionnels

VASSY Carine - UMR 723 CRESP/IRIS Institut de Recherche Interdisciplinaire sur les enjeux Sociaux INSERM - EHESS - Université Paris 13

[Retour tableau](#)

Résumé

Objectifs : Le but de ce projet est d'analyser les échanges d'information sur le dépistage prénatal entre les femmes enceintes et les professionnels de la santé pendant les consultations hospitalières en France. Les données recueillies devraient permettre de clarifier le débat éthique sur la difficulté pour les femmes enceintes de donner un consentement éclairé aux examens de dépistage de la trisomie 21.

Résultats attendus : Ce projet devrait permettre d'identifier trois types de facteurs qui influencent la qualité des informations échangées entre les femmes enceintes et professionnels de la santé : attitude des femmes enceintes, attitude des praticiens, politique du service d'obstétrique. La recherche devrait pouvoir déboucher sur des suggestions pour améliorer la communication entre femmes enceintes et professionnels de la santé. **Méthodologie :** L'enquête se déroulera dans trois sites, deux en région parisienne et un en province. Les responsables des services d'obstétrique de l'hôpital de Poissy et de l'hôpital Saint-Antoine (Paris) ont déjà donné leur accord de principe pour la réalisation de cette étude. La méthodologie utilisée est qualitative. Il s'agit de la technique de l'observation non participante, fréquemment utilisée en sociologie (Péretz, 1998 ; Baud et Weber, 2003). L'objectif est de faire accepter la présence de l'observateur aux personnes enquêtées et de recueillir des données en introduisant le moins de perturbation possible par rapport à la situation habituelle sans observateur. Dans un premier temps, nous avons l'intention d'observer une dizaine de consultations avec des professionnels de la santé intéressés par notre démarche et des femmes enceintes acceptant notre présence. Cette étape permettra d'avoir des données préliminaires et de voir si des documents écrits sont utilisés en complément des informations orales. Dans un second temps, la recherche consiste à enregistrer des consultations avec un magnétophone, sans aucune présence de chercheur. Ce dispositif est plus facilement acceptable par les femmes enceintes et les professionnels car il est discret. Il permet d'analyser ensuite plus rigoureusement les informations échangées. Il permet d'éviter les éventuelles perturbations induites par la présence d'un observateur. Nous avons l'intention d'enregistrer ainsi une vingtaine de consultations par site. Ce dispositif a déjà été utilisé par des sociologues britanniques qui étudient les informations échangées sur le dépistage lors des consultations d'obstétrique (Marteau, 1992 ; Pilnick, 2004). L'analyse des enregistrements permettra de mettre en évidence des variations d'un professionnel à l'autre, et d'une femme enceinte à l'autre, sur un même site. Puis nous procéderons à une analyse comparative entre les trois sites.

Résultats

Champenois-Rousseau, Bénédicte, et Carine Vassy. 2012. « Les échographistes face au dépistage prénatal de la trisomie 21. Le difficile arbitrage entre excellence professionnelle et éthique du consentement ». *Sciences sociales et santé* Vol. 30 (4): 39-63.

Vassy, Carine, Sophia Rosman, et Bénédicte Rousseau. 2014. « From Policy Making to Service Use. Down's Syndrome Antenatal Screening in England, France and the Netherlands ». *Social Science & Medicine* 106 (avril): 67-74.

[Retour tableau](#)

Optimisation et validation d'un protocole d'isolement de cellules fœtales à partir du sang maternel en vue d'un diagnostic prénatal non-invasif

RAY Pierre - UF de Biochimie génétique et moléculaire - Hôpital de la Tronche - CHU de Grenoble

[Retour tableau](#)

Résumé

Les résultats rapportés par la littérature scientifique démontrent qu'un très petit nombre de cellules fœtales est présent dans la circulation sanguine de la femme enceinte dès la 9ème semaine de grossesse. Les progrès réalisés en biologie moléculaire et en cytogénétique permettent maintenant de réaliser des diagnostics génétiques à partir d'une seule cellule. L'analyse des cellules fœtales circulantes pourrait donc à terme permettre de remplacer les diagnostics prénataux (DPN) classiques réalisés à partir de prélèvements invasifs (biopsie de trophoblastes ou amniocentèse) qui présentent toujours un risque vital pour le fœtus. Au cours d'expériences préliminaires nous avons déterminé les conditions permettant d'obtenir le meilleur enrichissement possible : un maximum de cellules cibles (fœtales) dans un minimum de cellule maternelles contaminantes. Ces expériences ont été principalement réalisées en mélangeant un petit nombre de cellules de cordon maternel avec un volume important de sang périphérique provenant d'une donneuse non gestante. Après enrichissement, l'efficacité de la technique testée était évaluée en analysant toutes les cellules obtenues par l'Hybridation Fluorescente In Situ (FISH) de sondes pour les chromosomes X et Y. Le facteur d'enrichissement et le rendement étaient déduits du nombre de cellules fœtales (XY) et de cellules contaminantes (XX) obtenues après le tri. Pour les techniques et anticorps testés nous avons observé que nos résultats étaient meilleurs:

- pour les érythroblastes fœtaux plutôt que pour les cellules trophoblastiques
- avec un tri magnétique plutôt que par cytométrie en flux
- avec l'anticorps CD71 plutôt que la Glycophorine A
- avec un couplage direct des particules magnétiques à l'anticorps
- avec un marquage de l'anticorps sur sang total plutôt qu'après une séparation cellulaire (Ficoll) ou une lyse érythrocytaire.

A l'issue de ces mises au point nous avons pu estimer que le protocole développé permettait, après dilution de 200 érythroblastes fœtaux extrait de sang de cordon dans 2ml de sang contrôle (11 millions de cellules), de recouvrer un total de 6000 cellules contenant environ 159 érythroblastes, soit un facteur d'enrichissement de 1375 avec un rendement de 80%. Des mises au point fines de ce protocole sont encore nécessaires pour améliorer sa fiabilité et reproductibilité. Jusqu'à présent la confirmation de l'origine fœtales des cellules s'est faite par l'identification d'un signal du chromosome Y par FISH. Nous espérons par la suite pouvoir identifier les cellules fœtales plus facilement grâce à un marquage immuno-fluorescent par les hémoglobines fœtales epsilon et gamma. Ce marquage devrait nous permettre d'identifier les cellules fœtales et de réaliser un diagnostic d'aneuploidie quel que soit le sexe du fœtus. Quand ces nouvelles mises aux points auront été réalisées nous testerons l'efficacité de ce protocole sur 100 femmes enceintes de 9 à 22 semaines d'aménorrhée. Pour pouvoir corréler rapidement nos résultats au sexe fœtal nous déterminerons le sexe de la grossesse en cours par l'amplification en temps réel de l'ADN fœtal extrait du plasma. A l'issue de cette étude nous aurons donc pu évaluer le nombre d'érythroblastes qu'il nous est possible d'isoler grâce à notre protocole et déterminer si il est applicable cliniquement. Si les résultats sont satisfaisants nous aurons également pu déterminer le terme optimal de prélèvement et la quantité de sang nécessaire au diagnostic.

[Retour tableau](#)

Dosage des Auto-anticorps anti-récepteurs des folates chez les mères d'enfants atteints de Spina Bifida ou d'Anencéphalie

BAHON-RIEDINGER Isabelle - CHU Rennes

[Retour tableau](#)

Résumé

Les auto-anticorps anti-récepteurs des folates sont associés à la survenue de malformations du tube neural. Cet examen n'est actuellement pas pratiqué en France.

Objectif 1 : Il s'agit de mettre au point les dosages d'Auto-anticorps anti-récepteurs des folates, examen indispensable aux processus de prise en charge et d'accompagnement des mères et des couples. Il faut parfaire la méthode : simplification, comparaison à plusieurs populations témoins dont des femmes présentant des maladies auto-immunes.

Objectif 2 : Il s'agit de détecter l'évolution des taux d'Auto-anticorps anti-récepteurs des folates chez les mères d'enfant spina bifida. Nous ignorons tout actuellement de l'apparition, de la persistance et de la disparition de ces anticorps.

Objectif 3 : Il s'agit de déterminer si l'acide folinique pourrait être utilisé en prévention des risques de récurrences (ce dérivé n'est pas bloqué par les anticorps) mieux que par l'acide folique actuellement recommandé. Le statut sérique en folates peut-être simplement associé aux résultats auto-immuns. Objectif 4 : Il s'agit de réaliser une recherche cohérente sur les causes des malformations du tube neural, en étudiant le polymorphisme des gènes (et notamment des récepteurs) du métabolisme des folates chez ces mères et dans ces familles, et ultérieurement étude des gènes du développement embryonnaire du système nerveux central ; ces études étant conjointes avec le centre maladie rare des anomalies du développement de l'Ouest.

Résultats attendus : On s'attend à environ 50% de cas positifs chez les patientes au cours ou au décours d'une grossesse, contre moins de 10% chez les témoins. On ignore si les taux sont stables ou décroissants dans le temps. Ces données seront croisées avec les données biologiques (dosages sériques des folates), et les durées écoulées entre grossesse et prélèvement. Méthodologie : Recrutement d'environ 100 femmes ayant ou ayant eu un enfant avec malformation du tube neural par les centres de diagnostic prénatal, les centres de génétique et les centres de suivi des enfants ou adultes atteints de spina bifida. Trois cohortes de témoins : 100 femmes vues dans les mêmes conditions (grossesses, génétique ou suivi adulte), mais qui n'ont aucun antécédent de malformation du tube neural ; une trentaine de femmes ayant une maladie avec forte présence d'auto-anticorps (maladie lupique), et une centaine de témoins donneuses de sang appariées pour l'âge. Les prélèvements concernent des sérums, pour dosage des folates sanguins, et du sang total pour étudier le polymorphisme des gènes du métabolisme des folates. La mise au point du dosage des autoanticorps se fait selon une méthode dérivée de celle décrite par Rothenberg et Ramaekers.

Poster

Blocking Folate Receptor(FR α) Auto-Antibodies in women with a pregnancy complicated by a neural tube defect (NTD).

I.Bahon-Riedinger(1) M.Corolleur(2) H.Journal(3)

1 Auto-immunity Laboratory CHU RENNES FRANCE 2 Immunology Laboratory CHU RENNES FRANCE 3 Geneticist CH VANNES FRANCE

Introduction:

Neural Tube Defects occur in approximately 1 per 1000 births in France and Folate metabolism is implicated in this problem. Although folic acid supplementation reduces the occurrence, the underlying mechanism is not well understood, as pregnant women with fetus with NTD do not have clinical folate deficiency. Rothenberg SP (1) identified Autoantibodies against FR α in sera of women with a pregnancy complicated by NTD, but Molloy AM (2) couldn't find any significant association between antibodies and NTD. The assays used receptor extracted from human placenta tissue radiolabeled with [3 H] Folic Acid (1), ED27 and KB cell culture (1) and/or folate receptor purified from cow's milk in an ELISA assay (2).

Objective:

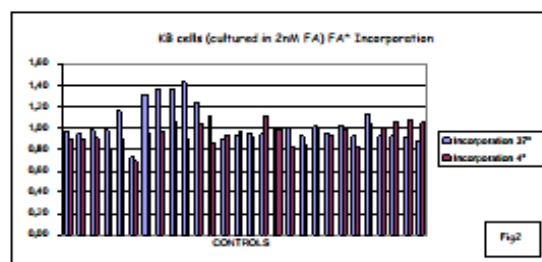
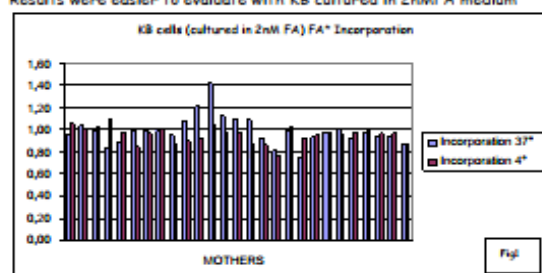
The aim of our study was to work without extracting FR α . We decided to use cell culture and to observe direct effect of antibodies on cultured cells, but cultured cells are very resistant to folate depletion and direct effect of Anti-FR α was difficult to demonstrate. Finally, inhibition of [3 H] Folic Acid incorporation by KB cells in presence or absence of suspected autoantibodies was used. KB cells were used because of high density of FR α and nonfunctional Reduced Folate Carrier (3). The amount of receptor activity increases markedly when cells are depleted of folate through growth in folate depleted medium (4,5,6). So we chose two culture media: normal RPMI with 2300nM folate and folate depleted medium RPMI with 2nM Folate.

Material and methods:

- 24 sera of women with pregnancy complicated by NTD
 - 16 sera from fathers and 10 healthy (7 women and 3 men) as control cases.
 - KB were grown in two medium : normal (high folate concentration = 2300nM) and depleted (reduced folate concentration = 2nM). In this depleted medium, density of FR α on the cell surface is increased and [3 H] Folic Acid incorporation is three to four higher than with normal medium.
- Inhibition of binding of FA H $^{[3]}$ by FR α Ab was demonstrated by incubating KB with serum (previously devoid of serum folate by charcoal) prior to incubation with FA*. Cell associated reactivity was counted and the percentage of H $^{[3]}$ FA blocked from binding to the FR (as compared with medium alone) was determined within four conditions: with KB cultured in normal medium and in depleted medium and with FA* incubation at 37° and 4°. Incubation at 4° avoid release of the FR(FBP) from the cell membrane (7,8).

Results and Discussion: Results are expressed as percent inhibition relative to the control wells (without serum). As shown in fig1 (mothers with NTD fetus) and fig2 (controls), none of the results found in conditions mentioned above showed a significant difference between mother's sera and controls. Unlike the study of Rothenberg (1) using ED27 and KB cells with two antibodies positive sera, we were not able to demonstrate the FR α Auto-antibodies inhibition of incorporation of H $^{[3]}$ FA in a cell culture model in our population of mothers. More work needs to be done to solve this vexed question.

Results were easier to evaluate with KB cultured in 2nMFA medium



References:

- Rothenberg S P NEJM 2004 350; p 134-142 Autoantibodies against FR in women with a pregnancy complicated by a neural tube defect
- Molloy A M NEJM 2009 361 p 152-160 Lack of association between FR Ab and neural-tube defects
- Antony A A Blood 1992 79; p2807-2820 The biological chemistry of Folate Receptors
- Deucette M M J Nutrition 2001; 131 p 2819-2825 FR function is regulated in response to different cellular growth rates in cultured mammalian cells
- Kamen R A PNAS 1986 83 p 5983-5987 Receptor mediated folate accumulation is regulated by the cellular folate content
- Kane H A J Clin Invest 1988 81 p 1398-1406 Influence on immunoreactive FBP of extracellular folate concentration in cultured human cells
- Antony A A J of Biol Chemistry 1985 260 p 14911-14917 Studies of the role of a particulate FBP in the uptake of 5MT-HF by cultured human KB cells
- Kane H A J of Biol Chemistry 1986 261; p15625-15631 The interrelationship of the soluble and membrane associated FBP in human KB cells

This project was supported with a research grant from "Agence de Biomédecine" France

Etude des micro-remaniements chromosomiques chez des fœtus polymalformés par CGH-array sur ADN fœtal libre du surnageant de liquide amniotique.

LEPORRIER Nathalie - CHU CAEN

[Retour tableau](#)

Résumé

En diagnostic prénatal un caryotype fœtal pratiqué en raison d'un signe d'appel échographique décèle 12,8% d'anomalies chromosomiques. Ce taux est sous estimé car le caryotype standard ne décèle pas les micro-remaniements responsables d'une partie des syndromes malformatifs. L'application de la CGH (comparative genomic hybridization) sur une puce (array) décrite par Solinas Toldo en 1997 paraît la plus appropriée des techniques pour les mettre en évidence. Elle est utilisée actuellement en cytogénétique clinique, notamment pour identifier la localisation et la taille de réarrangements subtélomériques et sub-microscopiques chez des sujets avec retards mentaux idiopathiques, mais peu encore en prénatal car elle doit être interprétée avec prudence. Elle nécessite une validation par une autre technique, FISH ou QMPSF (quantitative multiplex PCR of short fluorescent) ce qui en prénatal rallonge encore le délai de réponse surtout si elle est pratiquée sur l'ADN extrait de cellules cultivées. Appliquer la CGH-array sur l'ADN des cellules cultivées de liquide amniotique dont le caryotype est normal améliorerait la détection d'anomalies chromosomiques déséquilibrées en décelant les anomalies sub-microscopiques mais la faisabilité de cette procédure est souvent incompatible avec le délai requis pour un diagnostic anténatal. Très récemment, Lapaire en 2007 a montré qu'il est possible d'identifier les anomalies chromosomiques sur de l'ADN fœtal libre par CGH-array à partir d'un volume de 10 ml de surnageant de liquide amniotique frais ou congelé à -80°C . Ce procédé se prête donc à la détection d'anomalies chromosomiques sans dépendre d'une culture de cellules. Il est donc particulièrement bien approprié au diagnostic prénatal du fait du gain de temps qu'il permet. En outre, si elle est validée dans la mise en évidence de micro-remaniements dans les syndromes polymalformatifs, cela permettrait de faire des recherches d'anomalies chromosomiques sur des liquides amniotiques du troisième trimestre de grossesse, quand la culture n'est plus réalisable. Le premier objectif de notre travail est de confirmer que la CGH-array utilisée en complément de la cytogénétique classique sur des fœtus polymalformés augmente le taux de détection des anomalies de 10% et de tenter d'évaluer la responsabilité de ces anomalies dans la genèse des malformations en confrontant l'ADN fœtal aux ADN parentaux. Ce travail sera réalisé à partir de 45 ADN issus d'amniocytes congelés remis en culture, provenant de grossesses avec un fœtus polymalformé et un caryotype normal. Ces ADN sont actuellement étudiés par la technique MLPA dans le cadre d'un appel d'offre interne. Le second objectif est d'appliquer la technique CGH-array sur de l'ADN fœtal libre du surnageant du liquide amniotique afin d'identifier plus rapidement, sans attendre la culture cellulaire, les micro-remaniements dans le cadre de syndromes malformatifs décelés par échographie. Cette étude sera réalisée avec les deux ADN, fœtal libre et cellulaire, du même liquide amniotique correspondant à 30 grossesses avec fœtus polymalformé et caryotype normal. Par ailleurs, l'ADN cellulaire et fœtal libre (surnageant congelé à -80°) de toutes les anomalies chromosomiques retrouvées après caryotype, seront testés sur les puces. Ceci permettra de valider la technique CGHarray pour les anomalies habituelles.

Résultats

Gruchy, Nicolas, Matthieu Decamp, Nicolas Richard, Corinne Jeanne-Pasquier, Guillaume Benoist, Hervé Mittre, et Nathalie Leporrier. 2012. « Array CGH Analysis in High-Risk Pregnancies: Comparing DNA from Cultured Cells and Cell-Free Fetal DNA: Array-CGH in Prenatal Diagnosis Using Cell Free Fetal DNA ». *Prenatal Diagnosis* 32 (4): 383-88.

Poster

Appel d'Offres « AMP, diagnostic prénatal et diagnostic génétique »

CGH-array sur l'ADN fœtal libre du surnageant de liquide amniotique

Nathalie Leporrier, Nicolas Gruchy Service de génétique-CHU Caen

Introduction

L'hybridation génomique comparative sur puces à ADN (CGH-array) est une nouvelle technique de cytogénétique de résolution plus élevée que celle du caryotype classique. Elle permet de détecter des modifications cryptiques identifiées comme des variations de nombre de copies (CNVs).

En diagnostic prénatal, elle est appliquée majoritairement sur l'ADN extrait des cellules cultivées du liquide amniotique (LA). L'avantage de l'utiliser sur l'ADN fœtal libre (Cff) du surnageant de LA est de réduire les délais de réponse puisqu'elle épargne le temps de culture.

Objectif

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer la faisabilité de la technique de CGH-array sur l'ADN fœtal libre du surnageant de LA congelé en comparant les résultats obtenus à ceux de la CGH-array sur l'ADN des cellules du LA cultivées.

Méthodologie

Quarante-huit cas de grossesses ont été sélectionnées du fait d'un risque élevé d'anomalie chromosomique :

- retard de croissance intra-utérin (RCIU),
- et/ou au moins 2 malformations.

Sur ces 48 cas, 10 avec anomalie au caryotype ont été exclus de l'étude.

	> 1 malformation	RCIU ± malformations	total
Nombre de cas	32	16	48
Anomalies du caryotype	9 (28%)	1 (6%)	10 (21%)

38 échantillons d'ADN, ADN fœtal libre du surnageant (Cff) congelé du LA et ADN des cellules cultivées ont été analysés sur une puce BlueGnome® (puces de chromosomes artificiels de bactéries (BACs).

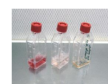
Les résultats des CGH-array sur ces deux sources d'ADN ont été comparés.

Conclusion

Cette étude comparative démontre la faisabilité de la technique CGH-array (sur puces type BACs) à partir de l'ADN fœtal libre du surnageant de liquide amniotique. On obtient une hybridation plus homogène et une meilleure qualité des profils.

L'intérêt d'utiliser l'ADN fœtal libre réside dans la rapidité du résultat qui s'abstrait de la culture de cellules et la recherche éventuelle d'anomalies chromosomiques lorsque le caryotype nécessitant une culture cellulaire n'est plus possible, notamment en raison d'un terme trop avancé de la grossesse.

Méthodologie

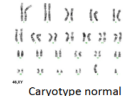


10 ml surnageant ADN fœtal libre (Cff)

1200 tours/min Congélation à -80°C

mise en culture ADN cellulaire

Extraction des 2 ADN
38 cas

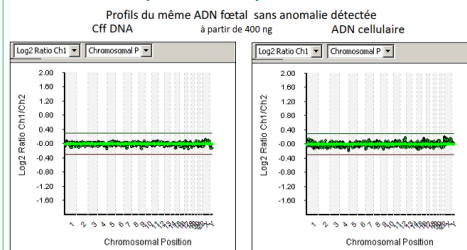


Caryotype normal

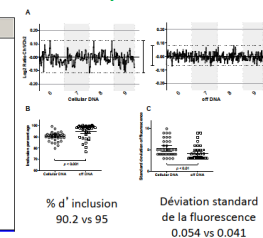
Cff DNA	ADN cellulaire	Vérification de la qualité de l'ADN
Après congélation (1-162j) (moyenne 2 mois)	Pas de congélation	1. Spectromètre Nanovue® ratio 260/280: pas significativement différent
Kit Qiagen® QIA Amp DNA Blood Maxi incluant traitement par protéase	Kit nucleon Bacc 2 Amersham® Traitement protéinase K	2. migration sur gel
Concentration et purification dans colonne microcon PCR jusqu'à un volume de 20-30 µl	Pas de concentration	
Pas d'amplification	Pas d'amplification	
Quantité moyenne d'ADN obtenu : 6 µg (0.4-26 µg)	Quantité moyenne d'ADN obtenu : 13 µg (4-22 µg)	

Résultats

Comparaison des profils obtenus



Comparaison de la qualité de l'hybridation

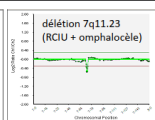
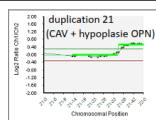


Résultats CGH-array

	> 1 malformation	RCIU ± malformations	total
Nombre de cas	32	16	48
Anomalies du caryotype	9 (28%)	1 (6%)	10 (21%)
Sélection CGH	23	15	38
Anomalies CGH	1 (4%)	2 (13%)	3 (8%)

Dans la population sélectionnée :

- 3 CNV pathogènes
- 1 CNV décrit comme polymorphisme
- 0 VOUS (variation of undetermined significance)



Hybridation de l'ADN fœtal libre de meilleure qualité

- déviation standard de la fluorescence plus faible
- pourcentage d'inclusion plus grand

Détection de 8% d'anomalies en plus du caryotype conventionnel Plus importante en cas de RCIU (13%)

Génotypage plaquettaire fœtal : Diagnostic prénatal non invasif sur sang maternel

LEVY-MOZZICONACCI - AP-HM

[Retour tableau](#)

Résumé

La thrombopénie néonatale par allo-immunisation foetomaternelle (TNAF) est liée à une immunisation maternelle contre les plaquettes fœtales portant des antigènes d'origine paternelle non présents chez la mère. L'incidence de cette pathologie est d'environ 1 sur 800 à 1000 naissances. Les formes les plus graves s'associent à un risque majeur d'hémorragie cérébrale (20% à 25% des cas) pouvant entraîner le décès de l'enfant (15%) ou laisser des séquelles neurologiques graves (15 à 30%). Cette pathologie peut se manifester dès la 20ème semaine de grossesse par la découverte d'une dilatation ventriculaire cérébrale majeure voire d'une porencéphalie à l'échographie reflet d'une hémorragie cérébrale. Les alloanticorps responsables de l'atteinte fœtale sont dirigés contre les alloantigènes plaquettaires : ce sont les antigènes des systèmes HPA (human platelet antigen). Les corrélations génotype-phénotype ont été réalisées pour 22 des 24 alloantigènes et montrent que le polymorphisme antigénique résulte de la substitution d'une base au niveau du gène codant pour la glycoprotéine ce qui correspond à la présence d'un SNP (single-nucleotide polymorphism) au niveau de la séquence du gène. Nous nous proposons de développer le diagnostic non invasif du génotypage plaquettaire fœtal (HPA-1, HPA-3 et HPA-5) à partir du sang maternel. En effet, la seule approche actuelle pour identifier le génotypage plaquettaire fœtal nécessite un geste invasif inutile depuis le développement de l'analyse de l'ADN fœtal dans le sang maternel. Pour cela, différentes étapes sont envisagées : Dessin (« design ») des outils moléculaires de sondes LNA utilisables en PCR quantitative en temps réel, création de gammes plasmidiques d'étalonnage incluant le SNP d'intérêt permettant de tester les outils dans un contexte de chimérisme, analyse des plasmas maternels de patientes présentant un risque prouvé ou suspecté d'allo-immunisation plaquettaire fœto-maternelle, La collaboration étroite avec le centre pluridisciplinaire de diagnostic prénatal (CPDPN) de l'Hôpital Nord et l'EFS PACA permettra le recrutement et l'analyse phénotypique et moléculaire des patientes enceintes. Environ 60 patientes seront recrutées pour ce projet

[Retour tableau](#)

Diagnostic anténatal des remaniements chromosomiques par CGH array utilisant l'ADN fœtal libre circulant dans le liquide amniotique

BOURROUILLOU Georges - CHU de TOULOUSE

[Retour tableau](#)

Résumé

Ce projet consiste en l'utilisation d'un nouveau matériel, l'ADN fœtal libre issu de surnageant de liquide amniotique, pour l'hybridation sur CGH array bien connue dans le domaine du diagnostic post natal, afin de l'appliquer au diagnostic anténatal pour la recherche de perte ou de gain de matériel chromosomique. Cette étude comporte deux parties :

- Une partie qui définit un protocole d'extraction et d'obtention de cffDNA utilisable en CGH array. 2 équipes dans la littérature, Miura et al et Lapaire et al ont déjà décrit cette méthode et utilisé ce substrat pour l'hybridation sur puces à ADN. Le but ici est d'optimiser ces résultats pour définir un protocole reproductible d'obtention d'un matériel utilisable en pratique hospitalière courante. Nous nous proposons ensuite de tester 40 cffDNA issus de LA, 20 normaux et 20 anormaux dont les caryotypes auront préalablement été déterminés, (analyse rétrospective) sur les puces de CGH array Cytochip* Blue Gnome* déjà utilisées dans le laboratoire. L'utilisation de ce type d'ADN présente un grand intérêt clinique, puisque contrairement au caryotype, méthode de référence, il ne nécessite pas de mise en culture et permet donc l'obtention de résultats beaucoup plus rapides (de 3 semaines à 3 jours). De plus par cette absence de culture, le risque de sélection de clones maternels est très faible. Elle possède en outre un pouvoir de résolution théorique supérieur à la FISH interfascique, et évite la restriction de la recherche à des remaniements connus ou fréquents.

- Une deuxième partie permettra la caractérisation des performances de la CGH array en prénatal, qui elle-même peut se diviser en 2 parties :

- a) une évaluation de la sensibilité de la méthode, c'est-à-dire la capacité de cette méthode à dire que le résultat est anormal quand il existe effectivement une anomalie, par les tests en CGH array. 20 liquides amniotiques seront analysés. Ils seront issus de fœtus porteurs d'une anomalie chromosomique reconnue par la technique de référence, et recrutés selon les critères médico-légaux habituels amenant à un diagnostic anténatal. Une confrontation des résultats obtenus par le caryotype et la CGH array sera réalisée

- b) une évaluation de la spécificité de la méthode, c'est-à-dire la capacité qu'a ce test de dire que le résultat est normal quand il n'existe pas d'anomalie. 20 LA analysés en CGH array alors qu'aucune anomalie n'a été retrouvée selon les méthodes standards que sont le caryotype et la FISH seront testés. La possibilité de faux positifs (résultats anormaux donnés par la CGH array alors qu'ils n'existent pas) sera évaluée par la vérification systématique de toute anomalie en FISH, par l'utilisation des BACs décrits comme anormaux utilisés comme sonde en FISH.

Au total nous nous proposons donc de réaliser une étude préliminaire visant à établir un protocole d'utilisation de cffDNA utilisable en CGH array et d'évaluer cette méthode d'analyse au cours de diagnostics anténatals. Cette étude préliminaire ouvrira les portes à une deuxième étude prospective, visant à prouver la reproductibilité de la technique, et de mieux définir les critères d'analyse.

[Retour tableau](#)

Elaboration d'un indicateur de qualité des images d'échographie fœtale au deuxième trimestre de la grossesse. Impact sur les pratiques

DOMMERGUES Marc - AP-HP - Pitié-Salpêtrière -Paris

[Retour tableau](#)

Résumé

Etat de la question. Du fait du caractère dynamique de l'échographie fœtale, l'interprétation des images se fait en temps réel. Il n'est pas possible d'améliorer les performances du dépistage par une double lecture de chaque examen visant à repérer des anomalies. En revanche, la production de clichés échographiques standardisés conforme à des schémas de référence serait une voie pour améliorer le dépistage des malformations fœtales. Objectifs. (1) Elaborer un indicateur appréciant la conformité des clichés échographiques au schéma du référentiel du Comité National Technique de l'Echographie de Dépistage Prénatal pour l'échographie du deuxième trimestre de la grossesse. (2) Etudier l'impact sur les pratiques professionnelles de la restitution aux praticiens des scores de conformité de leurs clichés. Méthode. (1) Une grille de lecture aboutissant à un score de cotation sera établie empiriquement pour chacun des 9 clichés recommandés, par consensus entre les investigateurs. Une gamme de clichés sera cotée par 3 échographistes-cotateurs. La faisabilité sera évaluée notamment par le pourcentage d'items non cotés, la reproductibilité intra coteur et inter cotateurs. On sélectionnera ainsi les critères les plus pertinents pour l'élaboration d'un score de conformité au référentiel. La grille de lecture sera modifiée pour optimiser la concordance, puis testée sur une gamme de cliché par des cotateurs n'ayant pas participé à sa mise au point. (2) Grâce à l'outil de cotation des images mis au point, une évaluation des pratiques sera effectuée à trois niveaux : réseau inter hospitalier de l'Est parisien, territoire de santé 75-2 (12000 naissances), évaluation ouverte sans base géographique via internet. L'impact de la restitution aux professionnels des scores de conformité de leurs clichés sera évalué. La moitié des échographistes, tirés au sort, recevront les résultats de leur cotation, l'autre moitié ne recevant pas leurs résultats. Une deuxième évaluation des clichés sera alors réalisée. Résultats attendus : (1) Disposer d'une grille de lecture permettant une cotation fidèle des clichés d'échographie de dépistage du deuxième trimestre. (2) Montrer une amélioration des scores de conformité chez les échographistes ayant reçu les résultats de l'évaluation de leurs clichés, contrairement aux échographistes n'ayant pas reçu ces résultats. Perspectives : Contribuer à améliorer la conformité au référentiel des clichés d'échographie de dépistage du deuxième trimestre de la grossesse par la mise au point d'un outil d'évaluation fiable, dans la perspective d'augmenter la performance du dépistage échographique des anomalies fœtales au deuxième trimestre de la grossesse.

Résultats

Jaudi, S., S. Tezenas Du Montcel, N. Fries, J. Nizard, V. Halley Desfontaines, et M. Dommergues. 2011. « Online Evaluation of Fetal Second-Trimester Four-Chamber View Images: A Comparison of Six Evaluation Methods ». *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology* 38 (2): 185-90.

[Retour tableau](#)

Année: 2008

Etude rétrospective par CGHarray de 50 cas de clarté nucale ≥ 4 mm ou d'hygroma kystique du 1er trimestre à caryotype normal

LUCAS Josette - CHU RENNES

[Retour tableau](#)

Résumé

La mesure de la clarté nucale à l'échographie de 12 SA représente un outil majeur de diagnostic cytogénétique prénatale. Une anomalie chromosomique est présente dans plus de 50% des hygromas kystiques. Dans l'autre moitié des cas, l'analyse cytogénétique conventionnelle (caryotype) et en hybridation in situ en fluo (FISH) n'indique pas la présence d'une anomalie. Or ce groupe de patients représente une population à risque élevé d'anomalie chromosomique submicroscopique accessible à la méthode des puces à ADN. Cette fréquence peut être estimée entre 10 et 15% compte tenu de l'importance du nombre des anomalies détectées et du taux d'issues défavorables, même si le caryotype est normal. Notre objectif est d'analyser rétrospectivement 50 cas d'hyperclarté nucale avec caryotype normal, sur 24 mois, en étudiant l'ADN de fœtus sur puce oligonucléotidique 4x44K Agilent, afin d'évaluer le pourcentage de cas pour lesquels un déséquilibre submicroscopique peut être mis en évidence. Ces informations seront utiles pour informer les couples confrontés durant une grossesse à un problème de clarté nucale augmentée ainsi que pour le conseil génétique lors des grossesses ultérieures.

[Retour tableau](#)

Amélioration des procédures de diagnostic prénatal des maladies génétiques résultant de mutations de l'ADN mitochondrial

BONNEFONT Jean-Paul - Hôpital NECKER - Paris

[Retour tableau](#)

Résumé

La chaîne respiratoire mitochondriale est constituée de 5 complexes enzymatiques dont certaines sous-unités sont codées par l'ADN mitochondrial (ADNmt). Les maladies résultant d'une mutation de l'ADNmt (syndromes « NARP », « MELAS », « MERRF »...) revêtent une grande hétérogénéité clinique, liée à la coexistence de molécules d'ADNmt normales et mutées en proportion variable dans les différents tissus, cellules, mitochondries d'un individu (hétéroplasmie). Il s'agit d'affections graves, avec atteinte cérébrale fréquente, risque élevé de transmission à la descendance des femmes « mutées » (hérédité « maternelle »), et sans traitement efficace à ce jour. De ce fait, les couples à risque sollicitent fréquemment une procédure de diagnostic préimplantatoire (DPI) ou de diagnostic prénatal (DPN). Du fait du recrutement important de telles familles à Necker, nous avons pu réaliser 3 DPI de ces affections, les seuls rapportés à ce jour. Cependant, la lourdeur et le faible taux de succès de cette procédure amènent les couples à se diriger vers le DPN. Le DPN de ces affections est techniquement délicat, repose sur une évaluation du taux d'hétéroplasmie sur plusieurs tissus fœtaux à plusieurs termes de la grossesse, et la valeur prédictive d'un taux d'hétéroplasmie prénatal vis-à-vis du phénotype postnatal demeure incertaine. De ce fait, nous sommes à notre connaissance le seul groupe susceptible de proposer un DPN de ces affections. L'objectif de ce projet est d'améliorer la fiabilité et simplifier la procédure de DPN chez les femmes portant une mutation de l'ADNmt. Nous avons entrepris, après recueil du consentement parental, de collecter des prélèvements maternels (cellules lymphocytaires, du tractus urinaire, buccales, follicules pileux, peau), fœtaux dans le cadre d'actes de DPN [placenta (10-12 SA), amniocytes (14-16 SA et 24-26 SA, sang de cordon et placenta dans sa totalité à la naissance], et des tissus fœtaux (cerveau, cœur, muscle, foie, reins, pancréas, ovaires à 14-22 SA) récupérés lors d'IMG en cas de DPN « défavorable », et ce pour diverses mutation de l'ADNmt (NARP, MELAS, mutation ND3). Après recueil du consentement des parents à l'étude de leur ADN, de celui des enfants à naître ou des fœtus après IMG, nous nous proposons : 1/ d'améliorer la précision de notre mode de mesure du taux d'hétéroplasmie (passage d'une approche PCR-restriction à une approche PCR en temps réel) ;

2/ d'établir, pour différentes mutations de l'ADNmt, si le taux d'hétéroplasmie :

a/ mesuré sur prélèvement unique de trophoblaste est un reflet fidèle de celui du placenta dans sa globalité b/ est stable i) à différents termes de la grossesse ii) dans les différents tissus fœtaux analysés (tissus et cellules uniques de trophoblaste, amniocytes, et autres tissus), ce qui est suggéré par nos données préliminaires

c/ mesuré en période prénatale est un bon outil prédictif de l'état clinique postnatal (suivi clinique prolongé et à intervalle régulier des enfants nés après DPN)

3/ d'établir pour différentes mutations de l'ADNmt,

a/ l'existence éventuelle de lésions neurodégénératives apoptotiques dans le cerveau de fœtus ayant fait l'objet d'une IMG (suggérée par nos données préliminaires)

b/ la relation éventuelle entre l'intensité de ces lésions et le taux d'hétéroplasmie dans le cerveau fœtal.

Il s'agit d'un projet avec bénéfice direct, dans la mesure où les familles impliquées bénéficieront de l'amélioration des procédures de DPN générée par ce travail, lors d'une grossesse ultérieure.

Résultats

Monnot, Sophie, Nadine Gigarel, David C. Samuels, Philippe Burlet, Laetitia Hesters, Nelly Frydman, René Frydman, et al. 2011. « Segregation of MtDNA throughout Human Embryofetal Development: M.3243A>G as a Model System ». Human Mutation 32 (1): 116-25.

[Retour tableau](#)

Du test prénatal à l'expérience du handicap : les mécanismes de la traduction en France, au Pays-Bas et au Brésil

VILLE Isabelle - INSERM ADR Paris 11, hôpital Paul Brousse

[Retour tableau](#)

Résumé

Dans une perspective sociologique, le projet vise à étudier les mécanismes de la traduction à l'œuvre dans la pratique du diagnostic prénatal (DPN) qui, à partir du résultat d'un test ou d'une image échographique aboutissent à l'anticipation de l'expérience d'un handicap. Il s'agit, en quelque sorte, de compléter les travaux existants en y introduisant une dimension importante et souvent négligée que sont les significations du handicap. En effet, la question du handicap a fait l'objet, au cours des trente dernières années, de nombreux débats qui ont largement nourri les politiques nationales et internationales et ont contribué à transformer l'expérience quotidienne de la vie avec des déficiences. Et puisque les pratiques du DPN sont, pour une part, destinées à prévenir les handicaps, il apparaît essentiel d'analyser les différentes acceptations qui sont produites et qui circulent dans l'espace défini par ces pratiques.

La démarche suppose de rassembler des expertises dans le domaine du handicap et des pratiques du suivi des grossesses ainsi que dans les méthodes d'investigation du travail médical « en actes », expertises réunies dans l'équipe de recherche. Les mécanismes de la traduction sont complexes et sont médiés par différents acteurs (professionnels, parents...) et différents dispositifs (outils techniques, règles d'organisation des services, cadres législatifs...). La comparaison des mêmes pratiques en France, aux Pays-Bas et au Brésil permet de faire varier les contextes législatifs et réglementaires, très différents dans ces trois pays.

La recherche s'appuiera sur une méthodologie qualitative (observations ethnographiques et entretiens auprès des femmes et des professionnels). En suivant une série de 10 situations dans chaque pays, depuis l'admission dans le centre de DPN pour anomalie non létale suspectée ou diagnostiquée, jusqu'à l'issue de la grossesse, il s'agira d'étudier finement, à partir des assemblages entre acteurs et dispositifs, les différentes significations du handicap qui sont produites, la façon dont elles circulent et sont partagées ou, au contraire, controversées. L'analyse des données s'appuiera sur l'approche de la Grounded Theory.

Cet intérêt pour la production et la circulation des significations du handicap dans l'espace de travail quotidien du suivi des grossesses, à travers l'analyse des associations entre professionnels, femmes et couples, objets techniques et dispositifs de régulations locaux et nationaux, devrait permettre de dépasser le dualisme entre une analyse pragmatique et locale des actions, centrée sur les pratiques professionnelles, et une analyse éthique, davantage préoccupée par les questions morales universelles et les grands choix de société.

Résultats

Mirlesse, Veronique, Frederique Perrotte, François Kieffer, et Isabelle Ville. 2011. « Women's Experience of Termination of Pregnancy for Fetal Anomaly: Effects of Socio-Political Evolutions in France ». *Prenatal Diagnosis* 31 (11): 1021-28.

Mirlesse, Véronique, et Isabelle Ville. 2013. « The uses of ultrasonography in relation to foetal malformations in Rio de Janeiro, Brazil ». *Social Science & Medicine* 87 (juin): 168-75.

Du test prénatal à l'expérience du handicap:
Les mécanismes de la traduction en France, aux Pays-Bas et au Brésil
 V. Mirlesse - J. Ville - S. Rosman Cermes 3 - Villejuif

Journées de l'Agence
30-31 mai 2013

Diagnostic prénatal non invasif de l'achondroplasie

COSTA Jean-Marc - Laboratoire Pasteur Cerba

[Retour tableau](#)

Résumé

Objectifs :

Développement et validation clinique d'un test de génétique moléculaire non invasif pour le diagnostic prénatal de l'achondroplasie à partir du sang maternel par analyse et l'ADN fœtal circulant.

Ce test reposera sur :

- Une méthode d'enrichissement de l'ADN fœtal plasmatique déjà évaluée
- Une méthode fiable et sécurisée (automatisée) de l'extraction des acides nucléiques déjà évaluée
- Une méthode de détection fiable et sensible de mutations ponctuelles par PCR en temps réel (complétée si nécessaire par la validation et identification de la mutation détectée par une méthode de mini-séquençage) incluant le contrôle de la présence d'ADN fœtal dans l'échantillon analysé.

La méthode proposée s'inspire des tests développées par notre laboratoire dans le cadre de la recherche de mutations « somatiques » (gènes KRAS et JAK2) et dont le niveau de sensibilité habituel (de l'ordre de 1 à 2 % d'allèles mutés au sein d'un génome « normal ») est compatible avec les caractéristiques de l'ADN fœtal circulant, représentant environ 3 à 5 % de l'ADN circulant.

Résultats attendus

Définition de la sensibilité et de la spécificité du test après étude comparative des résultats obtenus à partir d'un tissu de référence. Le diagnostic prénatal de l'achondroplasie est essentiellement échographique. Toutefois, la preuve formelle de ce diagnostic est génétique. De l'ADN fœtal circulant dans le sang des femmes enceintes, il devrait être envisageable de mettre en évidence l'anomalie moléculaire quasi-unique du gène FGFR3 à des fins de confirmation biologique du diagnostic évoqué évitant ainsi le recours à un geste invasif.

Méthodologie

Etude multicentrique nationale non interventionnelle

Résultats

Vivanti, A. J., J.-M. Costa, A. Rosefort, P. Kleinfinger, L. Lohmann, A.-G. Cordier, et A. Benachi. 2019. « Optimal Non-Invasive Diagnosis of Fetal Achondroplasia Combining Ultrasonography with Circulating Cell-Free Fetal DNA Analysis ». *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology* 53 (1): 87-94.

Poster

Diagnostic prénatal moléculaire non invasif de l'achondroplasie par analyse de l'ADN fœtal circulant

Sophie PEDRONNO⁽¹⁾, Alexandra BENACHI⁽²⁾, Monique KOHLER⁽³⁾, Héliane STORA DE NOVION⁽⁴⁾, Bernard LE FIBLEC⁽⁵⁾, Michel VOULGARPOULOS⁽⁶⁾, Romain FAVRE⁽³⁾, Jean-Marc COSTA⁽¹⁾

⁽¹⁾Laboratoire Cerba, Cergy-Pontoise, France (jmcosta@lab-cerba.com/Fax:0134402029/Tel:0134402111)

⁽²⁾Service de Gynécologie-Obstétrique, Hôpital Bécélère, Clamart, France

⁽³⁾CMCO-SIHUS, Schiltigheim, France

⁽⁴⁾Laboratoire Genazur, Nice, France

⁽⁵⁾Service de Gynécologie-Obstétrique, Centre Hospitalier, Saint-Brieuc, France

⁽⁶⁾Service de Gynécologie-Obstétrique, Centre Hospitalier, Gonesse, France

INTRODUCTION

L'achondroplasie est la chondrodysplasie la plus fréquente qui touche environ 1 enfant sur 15.000. Il s'agit d'une maladie dont la transmission est de type autosomique dominante et qui résulte dans la majorité des cas d'une mutation de novo (la mutation G380R du gène FGFR3 dans plus de 99 % des cas). En période prénatale, le diagnostic d'achondroplasie est évoqué généralement au troisième trimestre de la grossesse devant des signes d'appels échographiques évocateurs (principalement association de fémurs courts et d'un diamètre bipartit normal ou augmenté). Ces signes conduisent en principe à des explorations complémentaires, soit non invasives (scanner 3D dont l'objectif est de conforter le diagnostic), soit invasives (amniocentèse afin d'apporter la preuve formelle de ce diagnostic par analyse du gène FGFR3).

Nous présentons les résultats de la détection des mutations c.1138G>A et c.1138G>C du gène FGFR3 par PCR en temps réel et fusion haute résolution (High Resolution Melting) dans le plasma de femmes enceintes.

MATERIELS & METHODES

I - Prélèvement maternel

- Prélèvement sanguin : sang total EDTA
- Plasma maternel obtenu après centrifugation (10 min à 4.000 tr/min)
- Extraction de l'ADN total : à partir de 1 ml de plasma, extraction automatique sur MagNaPure au moyen du kit MagNaPure Compact Nucleic Isolation Kit (large volume) Compact (Roche Diagnostics). ADN total recueilli sous un volume de 50 µl de tampon d'éluion.

II - Amplification PCR HRM : LightCycler 480 (Roche Diagnostics)

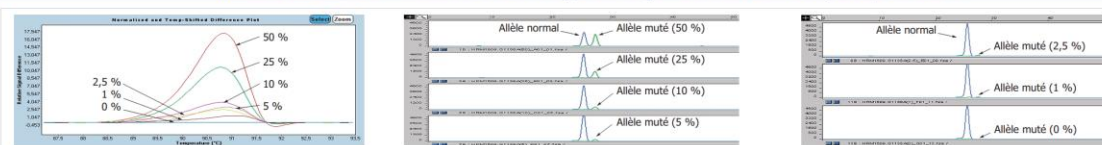
- Réaction de PCR sous un volume final de 20 µl (LC480 HRM master 1x, MgCl2 3mM, Primers 0.25 µM, ADN 5 µl)
- Paramètres d'amplification : dénaturation initiale 10 min 95°C puis 50 cycles 95°C 10 sec, 68°C 10 sec, 72°C 15 sec
- Paramètres de courbe de fusion : 1 min 95°C puis 1 min 40°C puis acquisition de fluorescence de 65°C à 95°C (1°C/s et 25 acquisitions par °C)

III - Mini-séquençage

- Purification par ExoSAP-IT (USB) de 5µl de réaction de PCR selon protocole fournisseur
- Mini-séquençage au moyen du kit SNaShot Multiplex (Applied Biosystems) selon protocole fournisseur
- Analyse sur ABI3100 analyzer et logiciel Genescan (Applied Biosystems)

RÉSULTATS

1. Sensibilité de détection - Détection de la mutation G380R du gène FGFR3 : gamme de dilution d'un ADN muté (G1138A) dans un ADN WT



2. RÉSULTATS PATIENTES



Remerciements

Projet soutenu par un financement de l'Agence de la Biomédecine.

CONCLUSION

Le diagnostic prénatal non invasif de l'achondroplasie a été réalisé avec succès chez 5 patientes par analyse de l'ADN fœtal plasmatisé au troisième trimestre de grossesse.

Une étude multicentrique est actuellement en cours afin de valider cette approche en vue de son utilisation en routine clinique. Ce test pourrait éviter le recours à une amniocentèse tardive et viendrait compléter avantageusement (diagnostic génétique spécifique de certitude) les examens échographiques (scanner 3D)

La possibilité de détecter par une méthode simple et rapide un SNP absent du génome maternel ouvre de nouvelles perspectives. L'approche peut être étendue :
 - aux autres anomalies génétiques de survenue de novo responsables d'autres chondrodysplasies de révélation tardive ;
 - à la détection de SNP d'origine paternelle.

BIBLIOGRAPHIE

- Truillo-Felipe HJ, Penwell-Cortés M, Landa-Sánchez L, Diaz-Rodríguez J, Carrillo-Rodríguez A, Ramon-Correa C, Arias C. Prenatal diagnosis of skeletal dysplasia due to FGFR3 gene mutations: a 9-year experience - Prenatal diagnosis in FGFR3 gene. J Anat. 2009;205:455-460.
- Schwarz T, Glöckner M, Hübner S, Dammann C, Hübner A, Kerker A, Tüschke B. Prenatal ultrasonographic diagnosis of skeletal dysplasia. Ultrasound Obstet Gynecol. 2009;24:150-176.
- Boulet S, Allouet M, Nguyen F, Schaeff J, Jank PS. Prenatal diagnosis of achondroplasia: new specific signs. Prenat Diagn. 2009;29:697-702.
- Boulet S, Legrand-Huet L, Finkler G, Carlier-Delrie Y, Le Penven H. Achondroplasia. Best Pract Res Clin Rheumatol. 2008;22:3-18.
- Li Y, Page-Christiansen GC, Gile JJ, Helgerson V, Nishii S. Non-invasive prenatal detection of achondroplasia in size-fractionated cell-free DNA by MALDI-TOF MS analysis. Prenat Diagn. 2007;27:11-17.
- Li Y, Helgerson V, Page-Christiansen GC, Gile JJ, Nishii S. Improved prenatal detection of a fetal point mutation for achondroplasia by the use of size-fractionated circulating DNA in maternal plasma - case report. Prenat Diagn. 2004;24:886-888.
- Ruano R, Molloy H, Roume J, Ville Y. Prenatal diagnosis of total skeletal dysplasia by combining two-dimensional and three-dimensional ultrasound and tridimensional helical computer tomography. Ultrasound Obstet Gynecol. 2004;24:139-140.
- Kaloupek D, Williams J, 3rd, Pheasant M, Ramon DA, Platt LD. Use of three-dimensional ultrasound imaging in the diagnosis of prenatal-onset skeletal dysplasia. Ultrasound Obstet Gynecol. 2003;22:407-412.
- Goldberg JC, Beaton E, Thompson RE, Haddad D, Thompson CA, Bleicher BB. Issues surrounding prenatal genetic testing for achondroplasia. Prenat Diagn. 2002;22:933-940.
- Hongler O, Benoit B. Three-dimensional sonographic aspects in the antenatal diagnosis of achondroplasia. Ultrasound Obstet Gynecol. 2001;18:41-43.
- Sato H, Sakazaki A, Horiuchi T, Suzuki H, Yoshitani T. Prenatal DNA diagnosis of a single-gene disorder from maternal plasma. Lancet. 2000;356:1170.

Année: 2009

Extension de validation clinique d'une méthode non invasive de DPN de l'amyotrophie spinale

PATERLINI-BRECHOT Patrizia - Institut Necker

[Retour tableau](#)

Résumé

L'objectif principal de ce projet est une étude de validation clinique de phase 3, en analogie avec les protocoles de validation clinique thérapeutiques (1), d'une méthode non invasive de diagnostic prénatal de l'amyotrophie spinale (SMA) par analyse des cellules fœtales circulantes, après sa validation clinique déjà réalisée avec succès en novembre 2007 (2). Il s'agit d'une application de la méthode contrôlée à 33 couples à risque d'avoir un enfant atteint de la maladie, en collaboration avec le laboratoire de génétique médicale. Le sang des femmes incluses dans cette étude, et ayant donné leur consentement éclairé, sera prélevé (20 ml) et envoyé à notre laboratoire (INSERM Unité 807/Laboratoire de Biochimie A Hôpital Necker, Paris). Nous allons ensuite isoler les cellules susceptibles d'être des cellules fœtales circulantes, analyser leur génome pour vérifier leur nature fœtale (par leur génotypage à l'aide de marqueurs microsatellites) et effectuer l'analyse génétique par étude indépendante de au moins dix cellules fœtales circulantes par mère, appliquant la méthode précédemment décrite (2). Le Laboratoire de Génétique Médicale effectuera le diagnostic prénatal. L'ouverture de l'aveugle permettra de comparer les résultats de la méthode non invasive avec ceux de la méthode invasive (par biopsie des villosités choriales).

[Retour tableau](#)

Diagnostic par puces à ADN des aneuploïdies foetales à partir du sang maternel

DUPONT Jean-Michel - Institut Cochin - INSERM U 567, UMR CNRS 8104, équipe 21, Faculté Cochin

[Retour tableau](#)

Résumé

La technique de référence pour le diagnostic prénatal des anomalies chromosomiques est aujourd'hui encore le caryotype réalisé après prélèvement invasif de matériel biologique fœtal, le plus souvent une amniocentèse. Cette approche qui offre une excellente fiabilité présente cependant l'inconvénient d'un risque de perte foetale qui en limite l'utilisation aux situations les plus à risque. La mise au point d'une méthodologie fiable et reproductible de diagnostic non invasif des aneuploïdies fœtales se heurte depuis de nombreuses années à l'impossibilité d'isoler de manière spécifique le matériel biologique fœtal présent dans le sang maternel, qu'il s'agisse de cellules ou d'ADN libre circulant. Notre objectif est de contourner cette étape de tri et d'enrichissement et de mettre à profit la technologie des puces à ADN pour réaliser une analyse pan génomique de l'ADN libre circulant dans le sang maternel afin de détecter une aneuploïdie foetale. Notre projet repose sur l'utilisation de puces SNP qui, par leur capacité à identifier les allèles présents dans un échantillon d'ADN, nous permettront d'identifier les allèles fœtaux en comparant les allèles présents dans les lymphocytes maternels (ADN maternel uniquement) et dans le plasma (ADN fœtal + ADN maternel). Au niveau de ces allèles fœtaux, l'analyse du ratio d'intensité de fluorescence entre allèle paternel et allèle maternel et sa comparaison après normalisation pour le chromosome entier avec le reste des chromosomes devrait nous permettre d'en déduire le nombre d'exemplaire de chaque paire. Une première étude de faisabilité a été réalisée en mélangeant de l'ADN fœtal trisomique pour le chromosome 21 à de l'ADN lymphocytaire de sa mère dans une proportion de 20% / 80% qui reflète la situation in vivo. L'analyse des intensités de fluorescence montre une variation significative du ratio pour les marqueurs du chromosome 21 par rapport à ceux des autres chromosomes prouvant ainsi la validité de l'approche.

Les objectifs du projet de recherche sont d'une part d'évaluer la faisabilité de l'analyse à partir d'ADN fœtal circulant dont la qualité est moins bonne que l'ADN lymphocytaire utilisé dans l'étude préliminaire et d'autre part d'analyser le sang de 30 femmes enceintes dont le caryotype fœtal a été obtenu par ailleurs.

Résultats

1 brevet

Poster

SNP microarray and digital PCR as alternatives to NGS in non invasive prenatal testing for fetal aneuploidies : a feasibility study

Laïla El Khattabi^{1,2}, Nicolas Cagnard^{1,3}, Aurélie Coussement², Nathalie Le Dû², Valérie Serazin^{4,5}, Aziza Lebbar², Christelle Le Sciellour⁴, Fatma Abdelhedi², Franck Letourneur¹, Vassilis Tsatsaris⁶, François Vialard^{4,5}, Jean-Michel Dupont^{1,2}

¹Inserm, U1016, Institut Cochin, CNRS UMR8104, Université Paris Descartes, Paris, France, ²Laboratoire de Cytogénétique, CHU Cochin-Maternité Port-Royal, AP-HP, Paris, ³Plateforme de Bioinformatique, Université Paris Descartes, Paris, ⁴Fédération de Génétique, CHI de Poissy St Germain, ⁵Faculté des Sciences de la Santé, UVSQ, Versailles, ⁶Département d'Obstétrique et de Gynécologie, CHU Cochin, Université Paris Descartes, Paris.

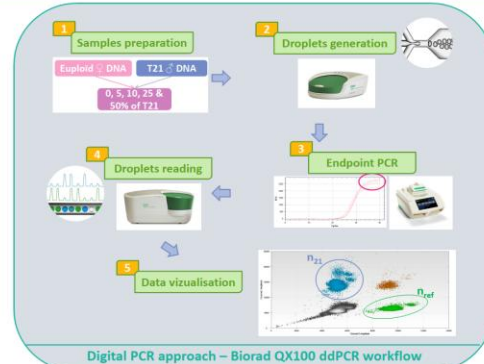
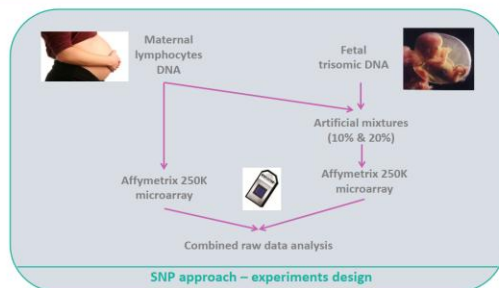
E-mail: laila.el-khattabi@cch.aphp.fr, laila.el-khattabi@inserm.fr

INTRODUCTION

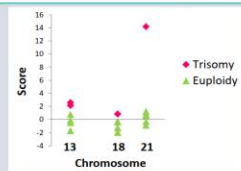
Most of works on Non Invasive Prenatal Testing (NIPT) for fetal aneuploidies were based on Next Generation Sequencing (NGS) resulting in a commercial screening test available in USA and some european countries. NGS proved to be highly sensitive and specific in published series of high risk pregnancies (Srinivasan et al. 2013, Dan et al. 2012, Bianchi 2012, Chiu 2011) but its use of NGS in large population is limited because of the complexity of the workflow, the excessive cost and ethical concerns.

Hence, we sought to develop new approaches either based on SNO allelic ratio (Dhallan et al. 2007) or digital PCR (dPCR), but no clinical study has been based on yet, because of technical limitations. We aimed to adjust the use of SNP array and digital droplet PCR (ddPCR) to set up a targeted test with easier and quicker technical and bioinformatic workflow ending with a reduced cost.

MATERIALS & METHODS



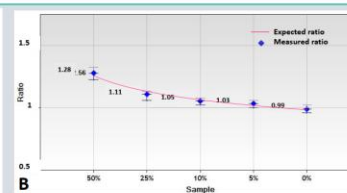
RESULTS



SNP approach – 6 samples (3 euploid, 1 T18, 1 T21 & 2 T13) have been analyzed using an inhouse algorithm. Each chromosome has been scored based on allelic ratio.



Results of ddPCR for chromosome 21 - A. Number of accepted droplets. Each sample (0%, 5%, 10%, 25% and 50% of T21). Each sample is characterized by n_{tot} =all droplets (green) and n_{21} =droplets positive for chromosome 21 (blue). B. Chromosomal ratio (chromosome 21/reference) obtained for each sample after Poisson correction. The curve in pink represents the expected ratio.



CONCLUSION & PERSPECTIVES

Here we presented a feasibility study for the NIPT of foetal aneuploidies by two original ways. First, by diverting the use of SNP microarray technology and the second is based on a molecular counting high sensitive technology, ddPCR. In this initial step of our work, we tested both approaches on artificial mixtures of euploid and trisomic 21 DNA mimicking plasmatic DNA conditions (low amounts and fraction of cfDNA). In contrast with the concept proposed by Dhallan et al., we used whole genome SNP arrays and developed an algorithm integrating information of maternal and plasmatic DNA for all SNPs without needing the identification of paternal alleles. We are now validating our algorithm on a new microarray (OncoScan FFPE®, Affymetrix) (Wang et al. 2009) using MIP (Molecular Inversion Probe) technology which fits well with the fragmented and small amounts of cfDNA.

Digital PCR couldn't be used in the field of fetal aneuploidy NIPT up to now because of the thousands of PCR needed to reliably detect the small increment in the number of molecules originating from the trisomic chromosome. We took advantage of a newly available ddPCR platform to design an optimized PCR assay giving the required positive events to distinguish between a ratio of 1 and 1.025.

Our results show that these approaches have a potential to meet the requirements for aneuploidy NIPT. We are conducting now a validation study on plasmatic DNA from high risk pregnancies to test their accuracy.

Evaluation médico-économique de 3 différentes puces à ADN dans le cadre du diagnostic prénatal

SARDA Pierre - Dpt de génétique médicale, hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier

[Retour tableau](#)

Résumé

Le dépistage des maladies génétique avec handicap, en particulier avec un retard psychomoteur, constitue un enjeu majeur de santé publique. Le diagnostic prénatal de ces pathologies est extrêmement important et leur étiologie génétique difficile à identifier. Une anomalie chromosomique est retrouvée dans environ 10% des caryotypes fœtaux réalisés pour anomalie(s) échographique(s) et ce taux varie selon la ou les malformations constatées. Un caryotype fœtal normal ne permet pas d'éliminer une cause chromosomique, de plus en plus d'anomalies cryptiques (microremaniements) indétectables sur un caryotype classique étant décrites. Pour pallier cette insuffisance du caryotype à identifier plus d'anomalies chromosomiques lors d'un diagnostic prénatal, se développe depuis quelques années une nouvelle technique utilisant des puces à ADN. Cette méthode a révolutionné la génétique clinique et la cytogénétique car elle offre une meilleure résolution et permet de détecter plus d'anomalies chromosomiques que la cytogénétique classique. Son utilisation pour le diagnostic prénatal est encore limitée à quelques équipes et il n'y a pas encore eu d'évaluation des différentes puces disponibles sur le marché.

Notre projet actuel a pour objectifs :

1. de comparer 2 nouvelles puces à ADN, Cytogenetics Focused Array (Affymetrix) et 60K (Agilent), entre elles et avec notre puce de référence « GeneChip® Human Mapping 6.0 Set » (Affymetrix) pour la mise en évidence de déséquilibres chromosomiques (CNV) dans le cadre du diagnostic prénatal,
2. de comparer leur facilité d'utilisation (protocole, temps techniques, rendu du résultat),
3. d'évaluer leur coût dans le cadre du diagnostic prénatal.

Nous espérons ainsi doubler, par rapport au caryotype fœtal seul, le pourcentage d'anomalies chromosomiques identifiées en diagnostic prénatal pour malformations fœtales.

Dans une étude précédente, nous avons étudié la faisabilité de la réalisation d'un diagnostic prénatal des microremaniements chromosomiques chez des fœtus présentant au moins deux malformations dépistées lors d'une échographie obstétricale par la technique d'hybridation génomique sur puces à ADN. Nous utiliserons les ADN de cette étude et les résultats obtenus (puce de référence) pour comparer les nouvelles puces entre elles (concordance des résultats, facilité et simplicité technique, coût). Nous évaluerons également le délai de rendu des résultats, qui ne devrait pas être supérieur à celui du caryotype fœtal.

[Retour tableau](#)

Année: 2011

Diagnostic prénatal non invasif de l'hémophilie : Nouvelle prise en charge des femmes avec néomutation

COSTA Catherine - CHU Mondor

[Retour tableau](#)

Résumé

Objectif primaire

Développement d'un test de génétique moléculaire permettant :

- La détection de mosaïques somatiques chez les mères de patients atteints de maladies génétiques liées à l'X avec néomutation. Ce test reposera sur une méthode de détection fiable et sensible de mutations ponctuelles par PCR en temps réel couplée à la validation par miniséquençage.
- Le diagnostic prénatal non invasif des formes sporadiques vraies de ces maladies, sans mosaïque somatique chez la mère, par étude de l'ADN fœtal circulant à partir du sang maternel.

Ce test reposera sur une méthode déjà utilisée pour le génotypage fœtal non invasif fondée sur :

- une méthode d'enrichissement de l'ADN fœtal plasmatique selon un protocole publié
- une extraction fiable et sécurisée de l'ADN dans un système fermé - un contrôle de la présence d'ADN fœtal dans l'échantillon analysé

Objectif secondaire

Validation d'une nouvelle approche dans la prise en charge des femmes enceintes ayant donné naissance à un premier enfant hémophile par survenue d'une mutation de novo (absence de la mutation délétère par méthode conventionnelle (séquençage))

Résultats attendus

- Détermination de la sensibilité du test sur les différents types de mutations.
- Identification des femmes en mosaïques somatiques et évaluation du pourcentage de mosaïcisme. Le nombre de femmes conductrices est actuellement sous-estimé du fait du peu de sensibilité des techniques utilisées. Réévaluation des formes sporadiques vraies.
- Nouvelle proposition de prise en charge des patientes dans les cas sporadiques. Les patientes négatives dans cette première étude, mais qui restent à risque de mosaïque germinale et/ou somatique localisée à d'autres tissus, pourront bénéficier d'un diagnostic prénatal non invasif sur sang maternel en lieu et place du diagnostic prénatal conventionnel invasif par amniocentèse.

Méthodologie

Etude collaborative et multicentrique nationale non interventionnelle

Poster

Appel d'Offres « AMP, diagnostic prénatal et diagnostic génétique »

Diagnostic prénatal non invasif de l'hémophilie : Nouvelle prise en charge des femmes avec néomutation

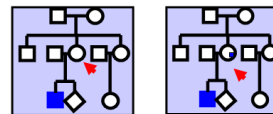
Costa C^{1,2}, Goossens M^{1,2}, Costa JM³, Delpech M²

¹APHP, CHU Henri Mondor, Génétique Moléculaire, ²APHP, CHU Cochin, Biochimie et Génétique Moléculaire, ³Laboratoire CERBA, Saint-Ouen L'Aumône, France

Introduction: L'Hémophilie est maladie génétique liée au chromosome X, qui touche les garçons → hémophiles. Les filles ne sont pas atteintes sauf exceptions → conductrices. Les formes sporadiques représentent 30% des cas d'hémophilie et sont dues généralement à des mutations de novo. Seule l'analyse génétique des mères permet d'établir avec certitude le diagnostic de conductrice et de distinguer ainsi les vrais cas sporadiques avec néomutation, des cas isolés correspondant à des formes familiales méconnues. La prévalence des mères non porteuses de la mutation est estimée à environ 12% mais est largement sous estimée. Ces mères restent cependant à risque de présenter une mosaïque somatique et/ou germinale.

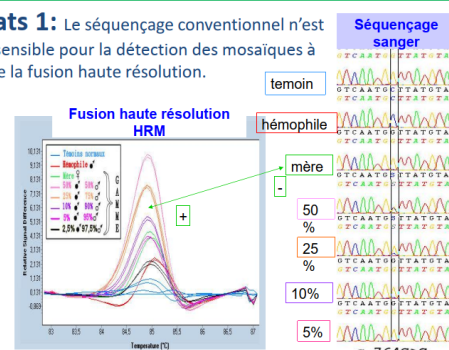
Objectifs: Développer un test de génétique moléculaire pour:
La détection de mosaïques somatiques chez les mères de patients atteints de maladies génétiques liées à l'X avec néomutation.
Le diagnostic prénatal non invasif des formes sporadiques vraies de ces maladies, par étude de l'ADN foetal circulant à partir du sang maternel.

Conductrice en mosaïque ?



Méthode: Ce test repose sur une méthode utilisée pour le génotypage foetal non invasif fondée sur :
-une méthode d'enrichissement de l'ADN foetal
-une extraction fiable et sécurisée de l'ADN dans un système fermé
-un contrôle de la présence d'ADN foetal dans l'échantillon analysé
-Test de détection sensible de la mutation par PCR en temps réel, HRM, High Resolution Melting
-Test de confirmation par mini séquençage, snapshot
-Evaluation du pourcentage de mosaïcisme
-Test de sensibilité préalable au diagnostic prénatal non invasif par dilution au 1/100 et 1/1000 de la gamme de mosaïque artificielle préalablement établie.
-Corrélation avec le séquençage haut débit NGS, technologie PGM Ion torrent

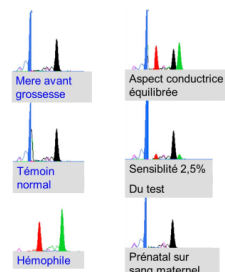
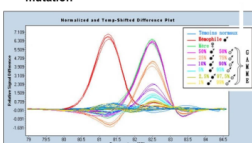
Résultats 1: Le séquençage conventionnel n'est pas assez sensible pour la détection des mosaïques à l'inverse de la fusion haute résolution.



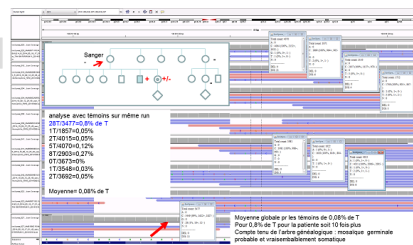
Exclusion de mosaïque
impérativement avant grossesse avec la même approche technologique que pour le DPNI

HRM : sensible mais non spécifique → artefacts

Snapshot : pour confirmer la mutation



Résultats 2



Trente-neuf mères sans mutation. Mosaïque étudiée chez 25 patientes.
Mosaïque positive : 5/25 = 20% (7% de plus que la littérature)
Attention: mutations homopolymères (8/39) = problème technique pour PCR-Snapshot.
La technologie NGS : + performante mais + de calculs statistiques pour valider et sécuriser les calculs d'estimation.
Diagnostic prénatal non invasif DPNI proposé aux 39 patientes, 3/5 réalisés. Pas de faux positifs ni faux négatifs.

Mise au point de tests de détection ciblés sur 16 mutations différentes par PCR en temps réel → évolution vers séquençage haut débit NGS. La sensibilité des deux méthodes est semblable, estimée entre 1 et 5% suivant les mutations étudiées (n=25).

Conclusion: Par cette nouvelle approche nous avons pu montrer :

Le diagnostic des patientes en mosaïque est plus performant, 20% comme attendu. Les deux approches PCR-temps réel couplée au miniséquençage et NGS présentent la même sensibilité mais cette dernière ne demande pas le développement d'un test « mutation spécifique ».

Le diagnostic prénatal non invasif de l'hémophilie a été réalisé avec succès chez 3 patientes par analyse de l'ADN foetal plasmatique, dans les cas sporadiques. Compte tenu de l'évolution technologique le protocole recherche DPNI hémophilie n'est plus réservé au néomutations mais peut-être étendu à toutes les patientes dans les cas sporadiques et familiaux.

Amélioration du diagnostic de l'holoprosencéphalie : identification de nouveaux gènes par séquençage haut-débit

DAVID Véronique - Université de Rennes 1

[Retour tableau](#)

Résumé

L'holoprosencéphalie (HPE) résulte d'un défaut de clivage de la ligne médiane cérébrale et représente la plus fréquente des anomalies du développement du cerveau (1/10000 naissances, 1/250 conceptions). Elle est caractérisée par une expressivité phénotypique variable au niveau de la face et du cerveau et son étiologie est à la fois environnementale et génétique. Son mode de transmission d'abord considéré comme dominant, est maintenant établi comme multigénique. Le CHU de Rennes est le centre de référence national pour cette pathologie. Plus de 1000 échantillons de patients issus de l'ensemble du territoire français et de différents pays européens ont été regroupés au sein de notre CRB, et les données cliniques collectées dans une base de données (HPE isolée ou syndromique avec anomalies associées). Des mutations et des délétions hétérozygotes des gènes majeurs (SHH, ZIC2, SIX3 et TGIF) et mineurs (PATCHED-1, GLI2, DISP1, FOXH1, NODAL, TDGF1, CDON, GAS1) n'ont été retrouvées que dans 30% des cas d'origine génétique. Une analyse par CGH array a mis en évidence un fort taux de réarrangements chez les sujets HPE (17%). Le but de notre équipe est donc l'identification de nouveaux gènes candidats, puisque dans plus de 50% des cas les bases moléculaires de l'HPE restent inconnues. Les mutations identifiées peuvent être héritées ou de novo. Les mutations SHH ou SIX3 sont héritées dans 70% des cas de parents asymptomatiques ou avec phénotype mineur suggérant un deuxième événement chez le probant. A l'inverse, les mutations de ZIC2 sont le plus souvent de novo et associées à des phénotypes plus sévères. L'étude proposée consiste donc 1) à sélectionner des trios constitués d'un enfant avec HPE sévère et de ses parents 2) à les soumettre à une stratégie de séquençage exomique afin d'identifier chez le probant un variant dans un nouveau gène responsable du phénotype sévère chez l'enfant atteint.

L'objectif est de réaliser le séquençage exomique de 10 trios enfant-parents, dans lequel le probant est atteint d'une forme sévère d'HPE et exempt de toute mutation d'un gène HPE connu, afin d'identifier de nouveaux gènes candidats. Ce projet doit permettre d'améliorer le diagnostic de cette pathologie grave.

Méthodes : séquençage haut débit de l'ADN de 10 cas sporadiques atteints d'HPE et des parents. Une stratégie de capture d'exons portant sur les gènes codants, les ARN non traduits et les microARN de la totalité du génome sera d'abord mise en œuvre avant d'effectuer le séquençage massif de ces exomes sur la plateforme Biogenouest de Rennes.

Résultats attendus: Identification de mutations dans de nouveaux gènes responsables de l'holoprosencéphalie ; amélioration du diagnostic et du conseil génétique et du diagnostic prénatal de cette pathologie ; contribution à une meilleure connaissance de la physiopathologie de cette maladie complexe du développement cérébral.

Résultats

Mouden, C., C. Dubourg, W. Carré, S. Rose, C. Quelin, L. Akloul, H. Hamdi-Rozé, et al. 2016. « Complex Mode of Inheritance in Holoprosencephaly Revealed by Whole Exome Sequencing ». *Clinical Genetics* 89 (6): 659-68.

Mouden, Charlotte, Marie de Tayrac, Christèle Dubourg, Sophie Rose, Wilfrid Carré, Houda Hamdi-Rozé, Marie-Claude Babron, et al. 2015. « Homozygous STIL Mutation Causes Holoprosencephaly and Microcephaly in Two Siblings ». Édité par Coro Paisan-Ruiz. *PLOS ONE* 10 (2): e0117418.

[Retour tableau](#)

Combinaison de l'Embryoscope et du dosage du G-CSF folliculaire comme biomarqueurs pronostiques du potentiel implantatoire

FREOUR Thierry - Direction de la Recherche Clinique – CHU de Nantes

[Retour tableau](#)

Résumé

Malgré le contexte de recours croissant à l'Assistance Médicale à la Procréation et la progression des matériels et techniques, les résultats restent relativement décevants, avec des taux d'implantation souvent limités mais des taux de grossesse multiples élevés. Ainsi, une amélioration des conditions de choix de l'embryon à transférer au laboratoire de FIV pourrait constituer une aide précieuse pour l'amélioration globale des résultats.

L'évaluation de la qualité embryonnaire reste largement basée sur l'étude ponctuelle de la morphologie. Cependant, l'intérêt de cette méthode est limité par son aspect ponctuel reflétant très imparfaitement le processus complexe et dynamique du développement embryonnaire précoce, et par l'obligation de sortir les embryons de l'incubateur pour les observer sous le microscope.

Récemment, des méthodes non invasives d'évaluation de la qualité embryonnaire ont été développées. Parmi celles-ci, le suivi en continu du développement embryonnaire (time lapse) et le dosage du G-CSF dans le liquide folliculaire semblent prometteuses et pourraient permettre d'améliorer les connaissances sur la qualité ovocytaire et/ou embryonnaire, aboutissant ainsi à un choix plus pertinent de l'embryon à transférer.

L'objectif de cette étude observationnelle est d'évaluer l'intérêt prédictif respectif du time lapse et du dosage du G-CSF, ainsi que l'intérêt de leur association pour la prédiction de l'implantation embryonnaire. L'inclusion prospective de 100 couples pris en charge en FIV ICSI avec suivi individuel du follicule à l'ovocyte puis à l'embryon avec transfert d'embryon unique après culture dans l'Embryoscope permettra d'évaluer la capacité respective de chaque technique (et de leur association) à aider le biologiste dans le choix de l'embryon ayant la meilleure compétence implantatoire.

Résultats

Fréour, Thomas, Nicolas Le Fleuter, Jenna Lammers, Carole Splingart, Arnaud Reignier, et Paul Barrière. 2015. « External validation of a time-lapse prediction model ». Fertility and Sterility 103 (4): 917-22.

[Retour tableau](#)

Diagnostic Prénatal Non Invasif (DPNI) de la Mucoviscidose par MEMOPCR en temps réel

VINCENT Marie-Claire - CHRU de Montpellier

[Retour tableau](#)

Résumé

La possibilité récente d'analyser l'ADN fœtal circulant dans le sang maternel a ouvert une nouvelle ère en matière de diagnostic prénatal (DPN). Le DPN « non invasif » (DPNI) est devenu désormais l'approche de choix pour la détermination du sexe fœtal (maladies génétiques liées au chromosome X) et du génotype RhD. Le DPNI commence à trouver des applications dans le diagnostic de maladies monogéniques pour les mutations de transmission paternelle. Cependant de nombreuses mises au point d'ordre technologique restent encore à faire avant de proposer ces tests en routine, en tenant compte de divers aspects connexes (coût, fiabilité (faux négatif..), complexité des équipements et des analyses bioinformatiques...).

Nous proposons de développer et de valider analytiquement et cliniquement un test de DPNI de la mucoviscidose à partir de sang maternel par l'analyse de l'ADN fœtal libre circulant (cff-DNA, cell-free fœtal DNA) en recherchant la mutation paternelle dans les familles présentant une hétérozygotie composite au niveau du gène CFTR).

Le test reposera sur la méthode MEMO associée à une plateforme de PCR en temps réel, pour la détection de traces d'ADN mutant. Cette technique est utilisée avec succès pour les mutations en mosaïque (moins de 1%) des gènes communs de cancers. Une détection positive de la mutation paternelle sera systématiquement vérifiée par une seconde technique de mini-séquençage.

Préalablement au test spécifique CFTR, le profil d'ADN de chaque échantillon sera déterminé à l'aide d'un kit commercial de miniSTR adapté aux analyses délicates. Un profil tri-allélique sur plusieurs marqueurs attestera de la présence d'ADN fœtal dans le spécimen étudié et limitera ainsi les faux négatifs liés à l'absence ou à un taux insuffisant de cff-DNA. L'étape de validation analytique de nos méthodes sera réalisée sur des échantillons témoins d'ADN chimériques créés artificiellement. Elle sera suivie d'une phase de validation clinique par étude rétrospective de sérums maternels de femmes enceintes ayant fait l'objet d'une demande de DPN ou DPI (diagnostic préimplantatoire) de mucoviscidose au laboratoire pendant la période d'étude (2012– 2013), notre structure étant un centre référant pour le DPI, le DPN et le DNN (dépistage néonatal) de la mucoviscidose. Les échantillons seront recueillis en respectant la réglementation en vigueur.

La validation des tests proposés permettra :

- de disposer d'un contrôle de qualité (CQ) externe attestant de la présence d'un ADN minoritaire dans l'échantillon à analyser. Ce CQ sera associable à tout test de DPNI consistant à rechercher une séquence génomique absente du génome maternel
- de disposer d'une méthode ultrasensible pour détecter un ADN mutant à l'état de trace, la maîtrise de cette méthode permettra de développer facilement de nouveaux tests DPNI pour d'autres maladies monogéniques par la recherche de mutations de même nature.

Notre projet, limité à la recherche de l'allèle paternel dans les familles avec hétérozygotie composite CFTR, est une première étape dans le développement d'une approche non invasive de DPN de la mucoviscidose.

Résultats

Guissart, C., C. Dubucs, C. Raynal, A. Girardet, F. Tran Mau Them, V. Debant, C. Rouzier, et al. 2016. « Non-Invasive Prenatal Diagnosis (NIPD) of Cystic Fibrosis: An Optimized Protocol Using MEMO Fluorescent PCR to Detect the p.Phe508del Mutation ». Journal of Cystic Fibrosis, décembre. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2016.12.011>.

Guissart, Claire, Vanessa Debant, Marie Desgeorges, Corinne Bareil, Caroline Raynal, Caroline Toga, Victoria Pritchard, Michel Koenig, Mireille Claustres, et Marie-Claire Vincent. 2015. « Non-invasive prenatal diagnosis of monogenic disorders: an optimized protocol using MEMO qPCR with miniSTR as internal control ». Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM) 53 (2).

Guissart, Claire, Frédéric Tran Mau Them, Vanessa Debant, Victoria Viart, Charlotte Dubucs, Victoria Pritchard, Cécile Rouzier, et al. 2018. « A Broad Test Based on Fluorescent-Multiplex PCR for Noninvasive Prenatal Diagnosis of Cystic Fibrosis ». Fetal Diagnosis and Therapy, août, 1-10.

Poster

C. Guissart, C. Debucq, V. Debant, F. Trau Mau Them, A. Girardet, C. Raynal, C. Rouzier, A. Boureau-Wirth, E. Haquet, J. Puechberty, P. Khau Van Kien, E. Bieth, D. Dupin Deguine, MP Bréhard, C. Toga, M. Koenig, M. Claustres, **MC Vincent**

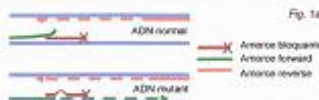
Contexte

Limiter le risque de perte fœtale lors d'un diagnostic prénatal de la mucoviscidose par recherche de l'allèle muté paternel au niveau du sang maternel dans les couples à risque de mucoviscidose par hétérozygotie composite.

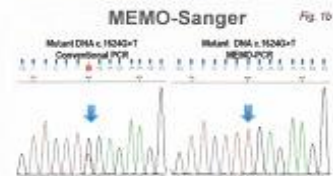
Matériels et Méthodes

Figure 1 : MEMO-PCR (Lee et al 2011).

1a: schéma du principe d'enrichissement du produit de PCR en allèle muté par blocage de l'amplification de l'allèle normal à l'aide d'une amorce spécifique supplémentaire.

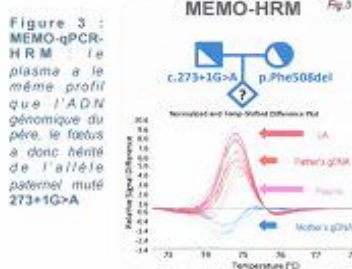


1b: comparaison de séquence d'un produit de PCR conventionnelle avec celle d'un produit de MEMO PCR qui illustre l'enrichissement par une non visualisation de la base normale en MEMO PCR au profit de la base mutée.



Résultats et discussion

- Utilisation validée sur 43 plasmas, du kit AmpFSTR™ MiniFiler PCR Amplification, comme contrôle de qualité de la présence de cfDNA dans l'échantillon analysé (Guissart et al 2015).
- Validation de la MEMO-PCR en association aux outils de biologie moléculaire classique comme test simple, rapide et efficace de DPNNI (Figure 3 et 4)



Conclusions et perspectives

- Réduction du nombre de gestes invasifs pour le DPN des familles avec hétérozygotie composite par recherche de l'allèle muté paternel p.Phe508del selon le logigramme ci dessus.
- Maîtrise d'outils diagnostiques pour le développement de tests de DPNNI « à façon » pour d'autres maladies monogéniques.

1^{ère} phase : Validation analytique des méthodes à partir de chimères d'ADN témoins créés artificiellement pour mimer l'ADN extrait du plasma maternel

2^{ème} phase : Validation clinique par une étude rétrospective de plasmas de femmes enceintes ayant fait l'objet d'une demande de DPN de mucoviscidose [ASNM 2012-AC1183-40, CPP Sud Méditerranée 3 -2013/01/05, UF9039], soit 31 plasmas de femmes enceintes entre la 9^{ème} et 36^{ème} SA (18 sur signes d'appels échographiques et 13 pour antécédents familiaux).

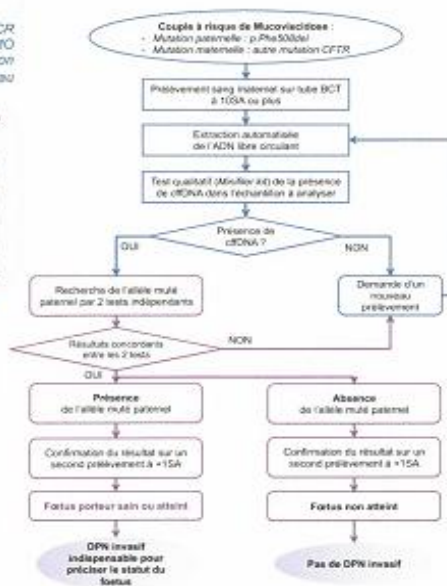
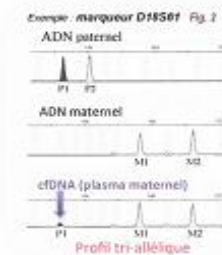
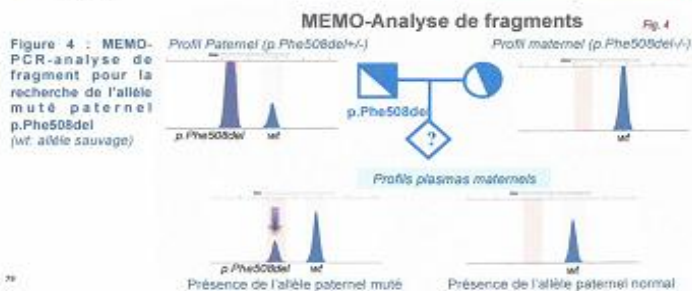


Figure 2 : exemple de contrôle, présence au niveau de l'ADN libre circulant extrait du plasma de la femme enceinte des 2 allèles maternels majoritaires (M1 et M2) et d'un allèle minoritaire (P1) hérité du père. Ce profil tri-allélique confirme la présence de cfDNA dans l'échantillon analysé.



Mutations validées :
p.Gly542*
p.Ser42Phe
p.Gln220*
p.Leu88Ilefs*22
p.Phe508del



Année: 2012

Soigner, soulager, revisiter le deuil prénatal et accompagner la famille lors de la grossesse suivante. Quelles traces du prénatal dans le lien à l'enfant puîné ?

BEAUQUIER Bérengère - AP-HP

[Retour tableau](#)

Résumé

Introduction

La grossesse suivant un décès prénatal sera empreinte des traces de l'expérience précédente. Les représentations parentales activées auront un impact sur l'attachement à l'enfant puîné.

Hypothèse principale

La grossesse suivant une interruption médicale de grossesse est une grossesse à risque psychique dans la construction du lien avec l'enfant à venir. La réactivation du processus de deuil fait osciller la femme enceinte entre deux polarités : élaboration créative et deuil pathologique figé. L'élaboration du deuil sera un facteur déterminant dans la construction du lien « fœtusbébé »/parents.

Objectif principal

Evaluation des remaniements psychiques lors de la grossesse suivant un deuil périnatal, en fonction de la prise en charge au moment du décès et durant la grossesse actuelle et observation de l'impact de ce travail psychique sur le lien avec l'enfant à naître.

Objectifs secondaires

Evaluation de l'impact de la prise en charge lors du décès périnatal (rencontre ou non avec le bébé décédé, inscription à l'état civil, obsèques, suivi psychologique) alors que la prise en charge médicale de la grossesse suivante entre en résonance avec les représentations parentales. Evaluation de l'attachement à l'enfant puîné en fonction de l'attachement prénatal, lui-même corrélé aux antécédents obstétricaux, au deuil (dépression, anxiété, stress post-traumatique) Evaluation de la dynamique de couple et de la dynamique familiale.

Critère d'évaluation principal

Analyse qualitative à partir d'entretien semi-structurés de la narrativité des femmes sur leur vécu du deuil, de la grossesse suivante et de l'attachement à l'enfant puîné et leurs représentations.

Critères d'évaluation secondaires

Evaluation :

- du deuil périnatal au moyen de la Perinatal Grief Scale
- de la dépressivité des femmes au moyen de l'Edinburgh Postnatal Depression Scale (EPDS) adaptée au prénatal.
- de l'anxiété des femmes au moyen de STAI, échelle permettant de distinguer l'anxiété trait de l'anxiété état.
- du risque de survenue d'un syndrome de stress post-traumatique au moyen de l'échelle PPQ.
- de la satisfaction conjugale au moyen de l'échelle DAS.
- des représentations prénatales de l'attachement parental.

- de la perception du tempérament de l'enfant au moyen de l'échelle EITQ.
- des interactions familiales au moyen du Lausanne triadic play.
- de l'attachement aux figures maternelle et paternelle au moyen de la Strange Situation.

Méthodologie : Recherche – action.

Etude prospective avec une part rétrospective, observationnelle et qualitative.

Constitution d'un groupe de patientes ayant un antécédent d'IMG à la grossesse précédente et d'un groupe témoin de patientes enceintes de leur deuxième grossesse.

Les évaluations auront lieu à 17, 27 et 35 semaines de grossesse, puis à 3 mois et 18 mois de l'enfant. Nombre de sujets nécessaires : 80 patientes.

Critères d'inclusion :

Femmes âgées de 18 à 43 ans, parlant français, ayant un antécédent d'IMG pour pathologie fœtale à la grossesse précédente après 14SA ou enceinte de leur deuxième grossesse.

L'IMG aura eu lieu au maximum 2 ans auparavant. Patiente ayant une couverture sociale.

Consentement signé.

Critères de non inclusion : Pathologie psychiatrique avérée.

Déroulement de l'étude : inclusion de 2 patientes par mois dans chaque site.

Durée totale de l'étude : 44 mois

Période d'inclusion : 20 mois

Durée de participation pour un patient : 24 mois –

Risque : aucun

Lieu de la recherche : service de maternité de Necker et de Trousseau. Retombées scientifiques et en terme de santé publique :

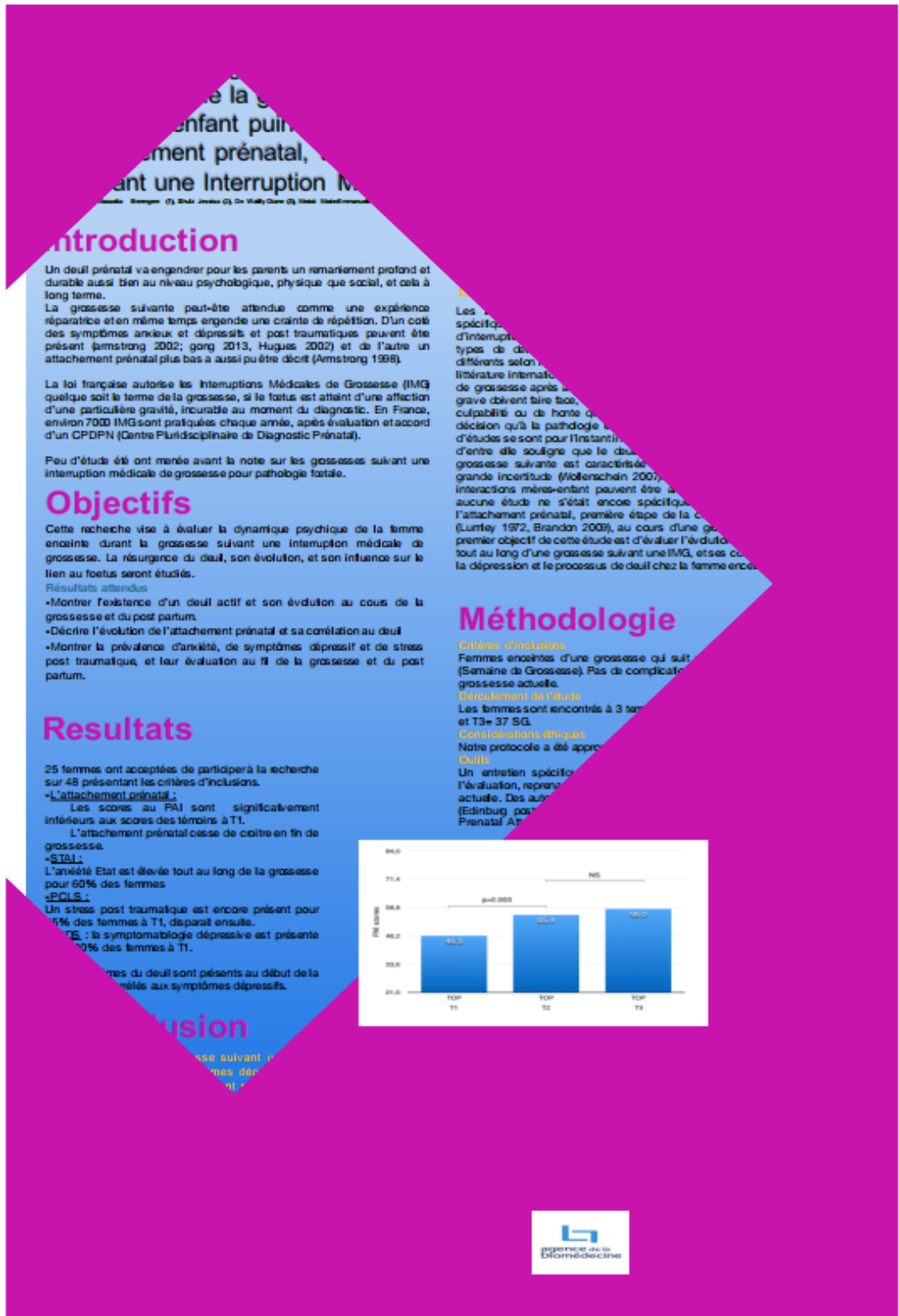
Modèle d'élaboration du deuil périnatal. Meilleure connaissance des représentations des familles permettant un meilleur ajustement des soins en vue d'une protocolisation du suivi d'une grossesse suivant un décès périnatal. Prévention de la dépression du post-partum et de ses conséquences sur le bébé.

Point de vue éthique : Bénéfices attendues pour les patientes de par la recherche-action. Un suivi psychologique complémentaire est possible si besoin (à la demande de la patiente ou de l'équipe soignante) .

Résultats

Shulz, Jessica, Bérengère Beauquier-Maccotta, Marie-José Soubieux, Marie-Emmanuelle Mériot, Diane de Wailly, et Sylvain Missonnier. 2016. « Honte et culpabilité chez la femme enceinte suite à une interruption médicale de grossesse ». La psychiatrie de l'enfant 59 (2): 361-424.

Poster



Etude DACCI : Devenir des enfants après diagnostic prénatal d'agénésie isolée du corps calleux

JOUANNIC Jean-Marie - APHP

[Retour tableau](#)

Résumé

Population concernée

L'agénésie du corps calleux représente la malformation cérébrale la plus fréquente. Cette anomalie peut être associée à un retard mental et à des anomalies du développement. L'incidence et la sévérité de ces troubles est actuellement inconnue.

Cette malformation est accessible au diagnostic prénatal par échographie. Dans environ la moitié des cas cette anomalie est apparemment isolée en prénatal. Dans cette situation, l'absence de données prospectives sur la santé de l'enfant à venir rend impossible un conseil prénatal loyal et éclairé aux couples. Ainsi, les pratiques médicales des Centres Pluri-Disciplinaires de Diagnostic Prénatal (CPDP) devant ce diagnostic prénatal (taux d'interruption médicale de la grossesse, IMG) sont très disparates avec des taux d'IMG variant de 20 à 80% en fonction des centres.

Objectifs et critères d'évaluation principaux

L'objectif principal est d'étudier le devenir d'enfants nés vivants après diagnostic prénatal d'agénésie calleuse isolée avec une évaluation neuro-psychologique à l'âge de 3 ans. Les points principaux de l'étude concerneront la fréquence de survenue et le type d'anomalies diagnostiquées après la naissance et une comparaison du devenir neuro-développemental de ces enfants à l'âge de 3 ans avec une population d'enfants témoins.

Objectifs et critères d'évaluation secondaires

Un recueil complet des issues de grossesse suivant le diagnostic prénatal d'agénésie calleuse sera organisé afin (1) d'évaluer les données concernant les circonstances de diagnostic prénatal de cette anomalie ainsi que sa prise en charge en cours de grossesse, (2) d'évaluer la pertinence de l'imagerie prénatale par IRM sur le caractère isolé ou non de l'agénésie grâce à un protocole de relecture standardisée des examens pré- et postnataux (3) d'étudier les motifs de réalisation d'une IMG dans cette circonstance. Ces nouvelles connaissances devraient permettre de d'homogénéiser l'information délivrée aux parents avant une décision éventuelle d'IMG, de redéfinir les modalités de prise en charge prénatale de cette anomalie. Elles permettront également un travail de réflexion des professionnels impliqués dans le diagnostic prénatal de cette anomalie.

Critères d'inclusion

Les critères d'inclusion sont représentés par un diagnostic prénatal confirmé par un examen échographique de référence : d'une agénésie complète du corps calleux ou d'une agénésie partielle avec absence d'une partie du corps calleux, la partie restante étant d'aspect normal ou d'un corps calleux d'aspect anormal (fin, épais ou irrégulier). Le diagnostic d'agénésie calleuse isolée en prénatal sera défini par : échographie de référence et IRM cérébrale ne mettant pas en évidence d'autres anomalies, caryotype fœtal normal et absence d'antécédent familial de retard mental ou d'épilepsie.

Méthode

Le devenir de 60 enfants avec agénésie calleuse isolée diagnostiquée en prénatal sera comparé à un groupe de 120 enfants témoin avec une évaluation neuro-pédiatrique à l'âge de 3 ans évaluant les capacités intellectuelles et les

fonctions motrices (Echelle WPPSI-III), la coordination interhémisphérique (Echelle Vineland) et le comportement (test d'Achenbach).

Résultats attendus

L'absence de donnée contrôlée sur le devenir postnatal des cas avec agénésie calleuse isolée en prénatal conduit à une information aux parents et un taux d'IMG très variable d'un centre à l'autre et pouvant atteindre jusqu'à 80% des cas.

Nous proposons d'améliorer les connaissances médicales sur cette malformation afin de délivrer une information homogène et de permettre un conseil prénatal loyal et éclairé aux couples. Le suivi d'un effectif suffisant d'enfants avec agénésie calleuse isolée permettra d'évaluer l'incidence réelle et la sévérité d'un retard mental, et d'anomalies du développement. Un meilleur repérage des enfants à risque permettrait par ailleurs une prise en charge précoce afin d'assurer un meilleur apprentissage de ces enfants.

Centres participants

20 Centre pluridisciplinaires de Diagnostic Prénatal (Ile de France : 9, Région : 11)

[Retour tableau](#)

Impact du dépistage de la trisomie 21 par les marqueurs sériques maternels du 1er trimestre sur le diagnostic prénatal du spina bifida

MULLER Françoise - Hôpital Robert Debré

[Retour tableau](#)

Résumé

Objectifs. Le diagnostic prénatal du spina bifida repose en France sur deux méthodes complémentaires, le dosage de l'alpha-fœtoprotéine (AFP) sérique maternelle réalisé lors du dépistage de la trisomie 21 par les marqueurs sériques maternels au 2ème trimestre de la grossesse (entre 15 et 18 SA) et l'échographie morphologique fœtale (entre 20 et 25 SA).

L'objectif principal de notre étude est d'évaluer à l'échelon national l'impact sur le dépistage anténatal du spina bifida, de la nouvelle politique de dépistage de la trisomie 21 mise en place en 2010. Cette stratégie repose sur le dosage au 1er trimestre de la grossesse de deux marqueurs sériques maternels PAPP-A et hCG combinés à la mesure de la clarté nucale et donc n'incluant plus l'AFP.

Méthodologie. Il s'agit d'une étude rétrospective portant sur des données nationales et sur une période de trois ans, l'année 2009 pendant laquelle l'AFP sérique maternelle était utilisée à la fois pour le dépistage de la trisomie 21 et pour le dépistage du spina bifida et les années 2010 et 2011 pendant lesquelles la stratégie du 1er trimestre a été progressivement mise en place donc avec perte progressive de l'utilisation de l'AFP.

Plusieurs phases successives d'enquête vont être mises en œuvre :

La première étape consiste à répertorier le nombre de cas d'enfants atteints de spina bifida dépistés en France au cours des trois années, 2009, 2010 et 2011. L'année 2009 servira de référence. La deuxième étape consistera à étudier chaque dossier en détail sur le plan biochimique (résultats du dosage de l'AFP), échographique et clinique.

Résultats attendus. Nous étudierons à la fois l'impact de la perte de l'AFP sur le nombre de cas dépistés mais également sur l'âge gestationnel au moment du diagnostic de la malformation, sur la décision maternelle concernant la poursuite ou non de la grossesse et sur pronostic postnatal des enfants nés.

Cette analyse permettra de réévaluer la politique du dépistage prénatal du spina bifida et, en cas de diminution significative du nombre de cas dépistés en prénatal, de proposer différentes stratégies biochimique et /ou échographiques.

[Retour tableau](#)

Explorations moléculaires des anomalies du corps calleux par séquençage haut débit

ATTIE-BITACH Tania - INSERM, hôpital Necker

[Retour tableau](#)

Résumé

Objectifs : Le corps calleux (CC) est la principale commissure cérébrale connectant les aires corticales homologues des deux hémisphères. La prévalence de l'agénésie du corps calleux (ACC) est de 1/4,000 naissances, alors qu'elle est présente chez 3-5% des individus avec anomalie neuro-développementale. Les malformations du corps calleux (MCC) sont très hétérogènes avec plus de 300 entités répertoriées. De plus, le devenir neuro-développemental des enfants porteurs de ces anomalies reste incertain et rend difficile un conseil prénatal précis. Nous souhaitons entreprendre une étude multidisciplinaire, à la fois foetopathologique, clinique, cytogénétique et génétique pour améliorer le diagnostic des MCC.

Méthodologie : L'exploration globale du génome par la CGH, et le séquençage haut débit sont des outils puissants qui permettent désormais d'envisager un projet ambitieux et innovant qui pourrait permettre une meilleure compréhension des causes génétiques des MCC. Il est indispensable dans un tel projet s'attaquant à une malformation aussi fréquente, de colliger les données clinico-radio-histologiques précises indispensables à l'interprétation des données massives générées par les techniques nouvelles et d'établir des corrélations génotype/phénotype. Ainsi, notre projet s'adresse à deux cohortes extrêmement bien phénotypées, avec une CGH array normale et sans diagnostic qui donneront des informations complémentaires: des fœtus issus d'IMG ayant eu un examen foetopathologique et neuropathologique, et une cohorte postnatale d'enfants et d'adultes avec MCC et retard mental suivis dans le cadre d'un PHRC. Afin de minimiser le nombre de données difficilement interprétables, nous avons choisi deux approches :

1/ le séquençage cible de gènes connus responsables d'anomalies du corps calleux chez l'homme (formes syndromiques, maladies métaboliques) ou chez la souris, et dont la mise en place pourrait être transférée au diagnostic pré et postnatal à moyen terme, après validation et optimisation.

2/ Une approche plus fondamentale sur l'implication du cil primaire dans les MCC dans la continuité de nos travaux récents ayant sur le syndrome acro-calleux et l'identification du gène KIF7.

Résultats attendus : Ainsi, par une approche globale et multidisciplinaire et à l'aide des techniques de séquençage haut débit nous espérons accélérer le démantèlement des causes génétiques des ACC. Ces résultats devraient permettre d'ouvrir la voie à des corrélations cliniques pour une meilleure information prénatale et conseil génétique ciblé. Cet aspect constitue probablement l'enjeu de la prochaine décennie pour améliorer le diagnostic et l'information prénatale des couples dont le fœtus présente une MCC.

Résultats

Alby, Caroline, Lucile Boutaud, Bettina Bessières, Valérie Serre, Marlene Rio, Valerie Cormier-Daire, Judith de Oliveira, et al. 2018. « Novel de Novo ZBTB20 Mutations in Three Cases with Primrose Syndrome and Constant Corpus Callosum Anomalies ». American Journal of Medical Genetics Part A 176 (5): 1091-98.

Alby, Caroline, Valérie Malan, Lucile Boutaud, Maria Angela Marangoni, Bettina Bessières, Maryse Bonniere, Amale Ichkou, et al. 2016. « Clinical, Genetic and Neuropathological Findings in a Series of 138 Fetuses with a Corpus Callosum Malformation ». Birth Defects Research. Part A, Clinical and Molecular Teratology 106 (1): 36-46.

Chartier, Suzanne, Caroline Alby, Lucile Boutaud, Sophie Thomas, Nadia Elkhartoufi, Jelena Martinovic, Josseline Kaplan, et al. 2018. « A Neuropathological Study of Novel RTTN Gene Mutations Causing a Familial Microcephaly with Simplified Gyral Pattern ». *Birth Defects Research* 110 (7): 598-602.

Heide, Solveig, Boris Keren, Thierry Billette de Villemeur, Sandra Chantot-Bastaraud, Christel Depienne, Caroline Nava, Cyril Mignot, et al. 2017. « Copy Number Variations Found in Patients with a Corpus Callosum Abnormality and Intellectual Disability ». *The Journal of Pediatrics* 185 (juin): 160-166.e1.

Mignot, Cyril, Marie-Laure Moutard, Agnès Rastetter, Lucile Boutaud, Solveig Heide, Thierry Billette, Diane Doummar, et al. 2016. « ARID1B Mutations Are the Major Genetic Cause of Corpus Callosum Anomalies in Patients with Intellectual Disability ». *Brain* 139 (11): e64-e64.

Poster

— Appel d'offres

Anomalies du corps calleux chez les fœtus: de la pathologie fœtale, au NGS et phénotypage inverse



C. Alby¹, L. Boudaud^{1,2}, V. Malan^{1,2}, L. Mouton¹, A. Achaïa², C. Gordon¹, N. Bahi-Buisson^{1,3}, J. de Oliveira¹, K. Piquand¹, P. Nitschke⁴, C. Bole⁵, P. Sonigo⁶, A. Millischer⁶, M. Moutard⁷, C. Depienne^{8,9}, D. Héron^{8,9}, S. Lyonnet^{1,10}, Y. Ville¹¹, S. Thomas¹, F. Encha-Razavi^{1,2}, M. Vekemans^{1,2}, T. Attié-Bitach^{1,2}

¹INSERM U1163, Institut Imagine, Paris Descartes Sorbonne Paris Cité, ²Service d'Histologie-Embryologie-Cytogénétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, APHP, Paris, ³Service de Neuropédiatrie, Hôpital Necker-Enfants Malades, ⁴Plateforme de Bioinformatique, Institut Imagine, Paris Descartes, ⁵Plateforme de Génétique, Institut Imagine, Paris Descartes, ⁶Service de Radiologie Pédiatrique, Hôpital Necker-Enfants Malades, ⁷Service de Neuropédiatrie, Hôpital Trousseau, APHP, Paris, ⁸Service de Génétique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, APHP, Paris, ⁹INSERM U975, UPMC, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, ¹⁰Service de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, ¹¹Service de Gynécologie-Obstétrique, Hôpital Necker-Enfants Malades

Objectifs

Le corps calleux (CC) est la commissure cérébrale principale connectant les aires homologues des deux hémisphères. Les malformations du corps calleux (MCC) sont les malformations cérébrales les plus fréquentes avec une incidence de 1/4000 nouveau-nés, souvent associées avec des anomalies chromosomiques ou des syndromes mendéliens.

Une récurrence est observée dans 5% des cas. Les enfants présentant une MCC ont un pronostic neuro-développemental incertain.

Ainsi, le conseil aux parents reste complexe, surtout au niveau prénatal.

Méthodologie

Nous avons systématiquement analysé les données de **138 fœtus** ayant une MCC isolée ou associée suite aux conclusions d'une autopsie dans notre centre.

Dans un premier temps, nous avons réalisé une analyse cytogénétique par CGH array, puis nous avons utilisé la technique de séquençage de l'exome entier ou ciblé sur un panel de gènes impliqués dans les MCC chez l'homme et chez les modèles animaux.

Résultats (1)

➤ Etudes cliniques:

L'examen neuro-pathologique a révélé un spectre de MCC :

- I: Agénésie du corps calleux (55 fœtus)
- II: Hypoplasie du corps calleux (30 fœtus)
- III: Dimorphisme du corps calleux (24 fœtus)
- IV: MCC due à des malformations du développement cortical (29 fœtus).

Résultats (2)

➤ Etudes cliniques:

Après examen fœtopathologique, seulement **16/40** MCC restaient isolées, soulignant l'importance de la réalisation d'une autopsie après l'interruption de grossesse

23 diagnostics d'absence d'implication d'une anomalie chromosomique ont pu être posés : 5 durant la grossesse et 18 après l'examen fœtopathologique

➤ Analyses cytogénétiques:

Dans cette série, un réarrangement chromosomique a été détecté pour 21 fœtus suite à la réalisation d'un caryotype standard ou par CGH array. Ces réarrangements concernent des loci décrits comme étant impliqués dans les MCC (Schell-Apacik et al., 2008).

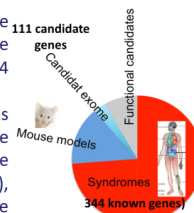
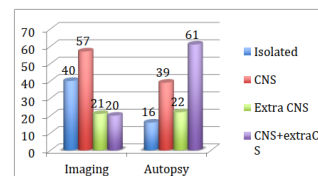
L'imagerie fœtale combinée, l'autopsie fœtale et les analyses cytogénétiques est moléculaires ont permis d'identifier la cause de la MCC pour 44 fœtus, 30% de fœtus avec 15% d'anomalie chromosomique et 15% de désordre mendélien

➤ Séquençage de nouvelle génération (NGS)

Pour les cas non-diagnostiqués, nous avons utilisé le séquençage d'exome de 10 trios et une stratégie de séquençage ciblé à haut débit incluant 423 gènes pour 64 fœtus.

Le NGS a permis de poser un diagnostic dans 12% des cas impliquant: Une déficience en PDH (*PDHA1*); hypoplasie pontocérébelleuse avec agénésie du CC (*AMPD2*); syndrome génito-patellaire (*KAT6B*); syndrome de Primrose (*ZBTB20*), Syndrome de Coffin-Siris (*ARID1A* et *ARID1B*); Syndrome de Chudley Mac Cullough (*GPSM2*).

De façon intéressante, certains diagnostics n'ont pas pu être posés avant la naissance par manque de signes spécifiques, mais la réévaluation des données fœtopathologiques (phénotypage inverse) a permis de confirmer les résultats du NGS.



Conclusion

Le développement rapide du CGH et du NGS a permis l'identification de plusieurs nouveaux gènes impliqués dans des pathologies humaines touchant le développement du corps calleux.

L'application du NGS au diagnostic clinique est prometteuse et devrait permettre d'identifier des variants pathogènes et donc influencera le diagnostic, le conseil génétique et l'identification de nouveaux gènes impliqués dans les MCC.

Ensemble, l'imagerie fœtale combinée, la nécropsie fœtale et les analyses cytogénétiques et moléculaires ont permis d'identifier la cause dans 40% des cas de notre cohorte fœtale. Les anomalies additionnelles découvertes après autopsie dans 17% des fœtus pour lesquels l'examen prénatal avait révélé une MCC isolée et le phénotypage inverse rendu nécessaire par les résultats de NGS soulignent l'importance réaliser une autopsie fœtale après une interruption de grossesse.

Amélioration des procédures de diagnostic prénatal des maladies génétiques résultant de mutations de l'ADN mitochondrial

STEFFANN Julie - INSERM, hôpital Necker

[Retour tableau](#)

Résumé

Les maladies génétiques liées à des mutations de l'ADN mitochondrial (ADNmt) sont des affections graves, à hérédité maternelle, et sans traitement efficace. La grande hétérogénéité clinique de ces maladies tient à la coexistence de molécules d'ADNmt normales et mutées en proportion variable dans les différents tissus, cellules, mitochondries d'un individu (hétéroplasmie), avec un « effet seuil » dont le niveau dépend du tissu considéré.

Les couples à risque de transmettre de telles affections sollicitent fréquemment une procédure de diagnostic préimplantatoire (DPI) ou de diagnostic prénatal (DPN) afin de revenir la récurrence d'une telle affection dans leur descendance. La fiabilité de ces procédures demeure actuellement incertaine, dans la mesure où l'impact de mutations de l'ADNmt sur le développement in utero est mal connu. En raison de la complexité de la génétique mitochondriale durant le développement embryo-fœtal, seules quelques équipes, dont nous faisons partie, sont impliquées dans cette activité de recherche au plan international.

L'objectif de ce travail est d'améliorer les procédures actuelles du DPN des maladies mitochondriales. Nous tenterons de répondre aux questions suivantes :

1/ Le placenta, tel qu'il est analysé dans le contexte du DPN des mitochondriopathies (prélèvement d'un fragment unique de trophoblaste à 12 SA) est-il un reflet fiable du taux de mutation du fœtus ?

Nous comparerons les taux de mutation de l'ADNmt à partir de prélèvements multiples de placentas entiers porteurs de diverses mutations de l'ADNmt afin de détecter une éventuelle variabilité intra-placentaire de ces taux. Cette étude sera menée sur des placentas recueillis, soit entre 12 et 20 semaines d'aménorrhée (SA) dans le cadre d'une interruption médicale de grossesse (IMG, taux élevé de mutation), soit à terme chez des enfants nés après DPN favorable (taux faible de mutation). En parallèle, nous mesurerons les taux de mutations sur des tissus somatiques de fœtus dont le placenta a été analysé, à savoir amniocytes et divers tissus collectés à partir des produits d'IMG, ou cellules de sang de cordon chez les nouveau-nés. Nous comparerons les valeurs obtenues sur les placentas et les tissus fœtaux.

2/ Y'a-t-il un impact du taux de mutation de l'ADNmt sur la quantité totale d'ADNmt (nombre de copies d'ADNmt) durant le développement fœtal humain ? Nous avons récemment montré chez des embryons préimplantatoires porteurs de mutations de l'ADNmt l'existence occasionnelle d'une augmentation du nombre de copies d'ADNmt, fonction du taux d'hétéroplasmie et de la nature de la mutation. Il s'agit vraisemblablement d'un phénomène compensatoire, en réaction à la dysfonction mitochondriale induite par certaines mutations.

Nous réaliserons des tests de PCR quantitative permettant de quantifier simultanément le taux d'hétéroplasmie et la quantité totale d'ADNmt pour une mutation donnée, sur les échantillons placentaires et fœtaux évoqués précédemment, afin de déterminer s'il existe une corrélation entre ces 2 paramètres. Le nombre de copies d'ADNmt sera comparé à celui présent dans les tissus correspondants de fœtus témoins.

La quantité d'ADNmt mesurée dans le cadre d'un DPN pourrait constituer, en association avec le taux d'hétéroplasmie, un critère prédictif supplémentaire de la survenue et de la gravité d'une maladie mitochondriale

en période postnatale. Ces données sont donc susceptibles d'avoir un impact important sur les procédures de DPN des mitochondriopathies.

Résultats

Steffann, Julie, Nadine Gigarel, David C. Samuels, Sophie Monnot, Roxana Borghese, Laetitia Hesters, Nelly Frydman, et al. 2014. « Data from Artificial Models of Mitochondrial DNA Disorders Are Not Always Applicable to Humans ». Cell Reports 7 (4): 933-34.

Vachin, Pauline, Elodie Adda-Herzog, Gihad Chalouhi, Caroline Elie, Marlène Rio, Sophie Rondeau, Nadine Gigarel, et al. 2017. « Segregation of Mitochondrial DNA Mutations in the Human Placenta: Implication for Prenatal Diagnosis of MtDNA Disorders ». Journal of Medical Genetics, juillet, jmedgenet-2017-104615.

[Retour tableau](#)

Nature et fréquence des étiologies associées aux pieds bots varus équin d'apparence isolée diagnostiqués en période prénatale

WHALEN Sandra - Hôpital Pitié Salpêtrière

[Retour tableau](#)

Résumé

Introduction

Les pieds bots varus équin (PBVE) sont une malformation congénitale fréquente. La prévalence est estimée à 1 à 3 pour mille. Le diagnostic est fait le plus souvent en anténatal. Les causes connues de PBVE sont hétérogènes et de sévérité variable : causes génétiques (neuromusculaires et neurologiques, chromosomiques, anomalies de tissu conjonctif ou maladies osseuses, formes isolées monogéniques, syndromes ou associations malformatives), causes acquises ou environnementales, et probables causes multifactorielles. Malgré plusieurs études de cohortes, rétrospectives dans la plupart des cas, il n'existe pas de données claires concernant la nature et fréquence exacte des étiologies associées aux PBVE, particulièrement dans les PBVE en apparence isolés en anténatal. De ce fait, l'information donnée aux parents en prénatal lors de la détection de PBVE chez leur enfant à naître est difficile, et les explorations proposées sont hétérogènes selon les différents CPDPN et l'expérience des équipes.

Objectifs

Les objectifs principaux de cette étude sont de i) évaluer la nature et la fréquence des pathologies associées aux PBVE en apparence isolés en prénatal, ii) proposer une conduite à tenir homogène et adaptée et donner une meilleure information aux parents en prénatal. L'objectif secondaire est d'identifier de nouveaux gènes impliqués dans les PBVE isolés.

A cet effet, nous proposons de réaliser une étude prospective concernant des fœtus chez qui un diagnostic prénatal de PBVE en apparence isolés est porté.

Méthodologie

Cette étude sera prospective, multicentrique et observationnelle, avec un suivi longitudinal d'enfants nés chez qui des PBVE en apparence isolés sont diagnostiqués en anténatal. Les explorations étiologiques en prénatal comprendront un bilan systématique (recherche de certaines maladies neuromusculaires) et un bilan complémentaire pourra être discuté en fonction des habitudes de chaque équipe médicale et du souhait des couples (caryotype fœtal, IRM cérébrale et médullaire). Le suivi postnatal sera effectué jusqu'à l'âge de 2 ans ½, et sera multidisciplinaire (orthopédistes, neuropédiatres, généticiens). Si les PBVE se révèlent finalement être complexes au cours du suivi ultérieur de la grossesse et qu'une interruption médicale de la grossesse est réalisée, les données foetopathologiques seront recueillies.

Résultats attendus

Avec cette étude, nous espérons confirmer que la plupart des PBVE isolés au moment du diagnostic prénatal ont une bonne évolution. Les patients seront divisés en plusieurs sous-groupes : formes isolées sporadiques ou familiales, pathologies neuromusculaires ou neurologiques, anomalies chromosomiques, syndromes ou associations malformatives (associées ou non à un retard de développement). Dans chaque groupe, nous allons évaluer précisément les étiologies, lorsqu'elles sont connues, et leurs fréquences respectives. Nous réaliserons des investigations supplémentaires afin d'identifier de nouveaux gènes lorsque cela est possible (puce SNP, exome) en particulier dans les formes familiales.

[Retour tableau](#)

Détection prénatale non invasive d'aneuploïdies sur plasma maternel par séquençage haut débit ciblé

RIVIERE Jean-Baptiste - Université de Bourgogne

[Retour tableau](#)

Résumé

Objectifs : L'objectif de ce projet pilote est la détection prénatale non invasive d'aneuploïdies fœtales (trisomies 13, 18 et 21) par séquençage haut débit ciblé à partir d'ADN plasmatique non cellulaire issu du sang maternel. Notre but est de développer une technologie innovante et peu coûteuse appliquée à la détection prénatale non invasive d'aneuploïdies.

Résultats attendus : Cette étude permettra la mise au point d'une technologie de séquençage haut débit ciblée appliquée à la détection prénatale non invasive de trisomies 13, 18 et 21. Le principal résultat attendu est la mise en évidence des 72 aneuploïdies fœtales à l'étude par le séquençage massif en parallèle d'ADN plasmatique issu du sang maternel. Cette méthode permettra également d'estimer la proportion d'ADN fœtal non cellulaire circulant dans le plasma maternel par le génotypage des polymorphismes d'un seul nucléotide (SNP) localisés dans les régions ciblées.

Méthodologie : Nous proposons d'analyser de manière rétrospective l'ADN plasmatique non cellulaire issu de 96 grossesses à risque élevé d'aneuploïdie fœtale, incluant 24 fœtus euploïdes, 48 trisomies 21, 18 trisomies 18 et 6 trisomies 13 dont la ploïdie aura été préalablement identifiée par diagnostic cytogénétique. La capture des régions ciblées sera basée sur 900 sondes moléculaires inversées (300 pour chacun des chromosomes 13, 18 et 21). Chacune de ces sondes permettra de capturer et d'amplifier des fragments de 60 paires de bases contenant un SNP dont l'allèle mineur présente une fréquence élevée. Plus d'un million de séquences de qualité seront générées par échantillon (375 000 par chromosome) à l'aide d'un MiSeq (Illumina). La présence d'une aneuploïdie sera évaluée grâce à un dosage chromosomique relatif des chromosomes d'intérêt basé sur la profondeur de séquençage. L'estimation de la proportion d'ADN fœtal non cellulaire dans le plasma maternel s'appuiera sur la quantification allélique des SNPs informatifs séquencés lors de la même expérience. Les équipes impliquées possèdent toutes les connaissances requises pour mener ce projet.

Originalité et impact : Nous proposons une méthode de séquençage ciblé basée sur des technologies de pointe et appliquée à un domaine à fort potentiel clinique. Les applications potentielles de cette technique innovante et peu coûteuse en diagnostic prénatal non invasif sont multiples, allant de la détection d'aneuploïdies au génotypage de mutations ponctuelles. Cette étude pourra servir de projet pilote pour le développement d'outils en diagnostic prénatal, et pourra mener à une large étude de validation multicentrique. Les progrès rapides dans le domaine du diagnostic prénatal non invasif indiquent que son utilisation fera à terme partie intégrante de la routine de plusieurs centres de diagnostic prénataux. Il est donc impératif de développer un savoir-faire et des outils innovants autant au niveau national que local, pour une meilleure prise en charge des patientes et de leur famille.

Résultats

Bronicki, Lucas M, Claire Redin, Severine Drunat, Amélie Piton, Michael Lyons, Sandrine Passemard, Clarisse Baumann, et al. 2015. « Ten new cases further delineate the syndromic intellectual disability phenotype caused by mutations in DYRK1A ». European Journal of Human Genetics 23 (11): 1482-87.

[Retour tableau](#)

Mise en place du diagnostic prénatal non invasif des maladies monogéniques rares et sévères

NECTOUX Juliette - INSERM, hôpital Cochin

[Retour tableau](#)

Résumé

Objectifs

La présence d'ADN fœtal dans le plasma des femmes enceintes a permis le développement du diagnostic prénatal non invasif (DPNi) des aneuploïdies et de certaines maladies monogéniques sévères grâce au recueil d'un échantillon sanguin maternel, s'affranchissant ainsi des risques de perte fœtale entraînés par la biopsie de trophoblaste et l'amniocentèse. Les applications du DPNi encadrées à ce jour par la Haute Autorité de Santé sont limitées à la recherche de séquences normalement absentes du génome maternel (détermination du sexe et du rhésus D fœtal). La détection de mutations portées par l'ADN fœtal libre représente un véritable défi technologique du fait de la coexistence et de la prédominance de séquences d'ADN similaires d'origine maternelle. Le développement de technologies innovantes de biologie moléculaire telles que le séquençage de nouvelle génération (NGS) ou la PCR digitale (PCRd), permet désormais la détection, le séquençage et la quantification simultanée de milliers de séquences. L'utilisation de ces technologies dans la pratique clinique courante nécessite une évaluation précise de la performance diagnostique de ces tests, et de leur faisabilité dans un contexte de laboratoire de diagnostic moléculaire hospitalier.

Résultats attendus

Dans le cadre de la récente création d'une plateforme de NGS et PCRd dans le groupe hospitalier Cochin-Broca-Hôtel Dieu, nous envisageons de développer le DPNi de certaines maladies monogéniques rares et sévères pour lesquelles les laboratoires de génétique des hôpitaux Cochin-Broca-Hôtel Dieu (Paris) et Henri Mondor (Créteil) sont laboratoires de référence, grâce à la mise au point de :

- la détection de mutations absentes du génome maternel, pour les maladies de novo (achondroplasie) ou les maladies dominantes lorsqu'elles sont transmises par le père (neurofibromatose de type 1, NF1)
- la détection et/ou le séquençage et la quantification des mutations d'origine maternelle et/ou paternelle pour les maladies liées à l'X (myopathie de Duchenne DMD et hémophilie), récessives (mucoviscidose), ou dominantes lorsqu'elles sont transmises par la mère (NF1).

Nous envisageons la généralisation ultérieure de ces stratégies diagnostiques à l'ensemble des maladies monogéniques sévères, dans l'objectif d'améliorer la prise en charge du diagnostic prénatal en France.

Méthodologie

Il s'agit d'une étude prospective multicentrique non interventionnelle avec collection biologique, à visée diagnostique. Compte tenu de la fréquence de chaque maladie, de leur risque de transmission ($\frac{1}{2}$ à $\frac{1}{4}$ selon les cas), et des possibilités de recrutement de l'ensemble des centres impliqués dans cette étude, nous envisageons de tester environ 5DPNi/an pour l'achondroplasie, 20 DPNi/an pour la mucoviscidose et l'hémophilie, et 30 DPNi/an pour NF1 et DMD, ce qui représente donc approximativement 210 tests sur 2 ans. En fonction de la pathologie, du type de mutation, du parent transmetteur et du sexe du fœtus, la proportion d'ADN fœtal sera évaluée et la mutation pathogène sera détectée et/ou séquencée par PCRd et/ou NGS. Les performances diagnostiques de chaque stratégie seront évaluées en termes de sensibilité et spécificité.

Résultats

Gruber, Aurélia, Mathilde Pacault, Laila Allach El Khattabi, Nicolas Vaucouleur, Lucie Orhant, Thierry Bienvenu, Emmanuelle Girodon, et al. 2018. « Non-Invasive Prenatal Diagnosis of Paternally Inherited Disorders from Maternal Plasma: Detection of NF1 and CFTR Mutations Using Droplet Digital PCR ». *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* 56 (5): 728-38. <https://doi.org/10.1515/cclm-2017-0689>.

Miller, Rachael, Elias Garcia-Pelegrin, et Emily Danby. s. d. « Non-Invasive Prenatal Diagnosis of Single Gene Disorders with enhanced Relative Haplotype Dosage Analysis for diagnostic implementation ».

Nectoux, Juliette. 2018. « Current, Emerging, and Future Applications of Digital PCR in Non-Invasive Prenatal Diagnosis ». *Molecular Diagnosis & Therapy* 22 (2): 139-48. <https://doi.org/10.1007/s40291-017-0312-x>.

Orhant, Lucie, Olivia Anselem, Mélanie Fradin, Pierre Hadrien Becker, Caroline Beugnet, Nathalie Deburgrave, Gilles Tafuri, et al. 2016. « Droplet Digital PCR Combined with Minisequencing, a New Approach to Analyze Fetal DNA from Maternal Blood: Application to the Non-Invasive Prenatal Diagnosis of Achondroplasia ». *Prenatal Diagnosis* 36 (5): 397-406. <https://doi.org/10.1002/pd.4790>.

Orhant, Lucie, Sophie Rondeau, Aurélie Vasson, Olivia Anselem, François Goffinet, Laïla Allach El Khattabi, France Leturcq, et al. 2016. « La PCR digitale, une nouvelle approche pour analyser l'ADN fœtal à partir du sang maternel : application à la détermination du génotype RHD fœtal ». *Annales de Biologie Clinique* 74 (3): 269-77. <https://doi.org/10.1684/abc.2016.1139>.

Pacault, Mathilde, Camille Verebi, Maureen Lopez, Nicolas Vaucouleur, Lucie Orhant, Nathalie Deburgrave, France Leturcq, et al. 2022. « Non-invasive Prenatal Diagnosis of Single Gene Disorders by Paternal Mutation Exclusion: 3 Years of Clinical Experience ». *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology* 129 (11): 1879-86. <https://doi.org/10.1111/1471-0528.17201>.

[Retour tableau](#)

Année: 2014

Evaluation de la performance du dépistage prénatal non invasif des trisomes 13, 18 et 21 au cours des grossesses obtenues après assistance médicale à la procréation

COSTA Jean-Marc - Laboratoire CERBA

[Retour tableau](#)

Résumé

Objectif :

L'objectif primaire de l'étude est donc de déterminer les performances d'un dépistage de la trisomie 21 fœtale par analyse de l'ADN circulant par séquençage massif en parallèle, comparativement à la procédure habituelle de dépistage, dépistage combiné au premier trimestre ou dépistage échographique selon les cas de figure (grossesse singleton ou multiple) afin d'évaluer le mode dépistage le plus efficace dans cette population et de définir la place éventuelle de cette approche innovante dans le dépistage de la trisomie 21,

Résultats attendus :

On devrait noter avec le test génétique non invasif de la trisomie 21 fœtale en comparaison avec une prise en charge habituelle de ces patientes :

Un nombre accru de patientes pour lequel un dépistage sanguin pourrait être proposée : efficacité du test non invasif chez les patientes avec grossesse gémellaire et taux de non rendu qui n'induirait pas un nombre de gestes invasifs élevé (taux attendu inférieur à 10/0)

Un nombre de patiente classé dans un groupe à risque significativement inférieur à celui généré par le dépistage combiné du premier trimestre

Méthodologie :

L'étude est conduite de manière prospective ; elle est observationnelle multicentrique afin de refléter et d'intégrer au mieux les contraintes liées à la prise en charge des patientes et aux transferts des échantillons vers un laboratoire spécialisé de « routine diagnostique ». La collection et l'analyse de l'ensemble des résultats des tests (analyse de l'ADN circulant et caryotype fœtal), ainsi que l'ensemble des données démographiques des patientes, seront réalisées par le centre coordinateur clinique de l'étude. L'interprétation des résultats de l'analyse de l'ADN circulant sera réalisée par conséquent en aveugle sans connaissance a priori du résultat du caryotype fœtal. Tous les échantillons sanguins maternels (2 fois 10ml de sang total) seront collectés au décours de la prise en charge habituelle des patientes et avant tout geste invasif afin de ne pas induire un biais d'augmentation « artéfactuelle » du taux d'ADN fœtal circulant qui pourrait être induit par un geste invasif (amniocentèse ou biopsie de villosités chorales)

Les femmes enceintes seront recrutées au cours des consultations habituelles dans les différents centres, pour la quasi-totalité Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal associés à des Centre Clinicobiologiques de Médecine de la Reproduction, participants à cette étude pour évaluation du risque d'anomalie chromosomique. Celles qui se verront proposer et accepteront un dépistage combiné au 1er trimestre suivi ou non d'un diagnostic prénatal invasif soit par amniocentèse, soit par biopsie de villosités chorales en raison d'un risque particulier seront éligibles pour cette étude.

L'ensemble du réseau prend en charge environ 15.000 grossesses et 2300 consultations prénatales annuels ; le potentiel d'inclusion pour les patientes est estimé à 500 au moins pour 3 mois.

Résultats

Costa, Jean-Marc, Alexandra Letourneau, Romain Favre, Laurent Bidat, Joelle Belaisch-Allart, Jean-Marie Jouannic, Edwin Quarello, et al. 2018. « Cell-Free Fetal DNA versus Maternal Serum Screening for Trisomy 21 in Pregnant Women with and without Assisted Reproduction Technology: A Prospective Interventional Study ». Genetics in Medicine, mars.

[Retour tableau](#)

Diagnostic prénatal non invasif de la drépanocytose par séquençage nouvelle génération (NGS)

DRUNAT Séverine - Hôpital Robert Debré

[Retour tableau](#)

Résumé

Les objectifs de ce projet sont de développer le diagnostic prénatal non invasif de la drépanocytose sur ADN fœtal circulant dans le sang maternel et de démontrer la faisabilité de cette stratégie, pour une utilisation clinique, dans un laboratoire de diagnostic. Le recrutement a concerné des couples vus en conseil génétique pour un diagnostic prénatal invasif en raison d'un risque de drépanocytose S/S avec ou sans antécédent familial de drépanocytose auquel a été proposé la participation à l'étude. Le critère d'évaluation principal était la concordance des résultats du génotypage fœtal obtenu à partir du sang maternel aux résultats obtenus par les techniques de diagnostic prénatal de drépanocytose réalisé sur liquide amniotique ou trophoblaste.

Nous avons validé l'étape pré-analytique d'extraction de l'ADN plasmatique avec le kit QIAamp MinElute ccfDNA (Qiagen) choisi pour l'application clinique. La mise au point de la quantification de la fraction fœtale a été réalisée par un panel de marqueurs polymorphes en PCR digitale. Cette approche est robuste et facile à mettre en œuvre pour l'application clinique. La détermination du génotype fœtal a été réalisé selon deux stratégies, directe et indirecte, que nous avons décidé de combiner afin d'obtenir une sensibilité et une spécificité maximale de l'analyse. Au total, sur 19 plasmas de femme enceinte analysés, notre étude montre n=1 discordance de résultat avec le DPN (AS au lieu SS), n=4 plasmas avec une faible FF (4.25% en moyenne) dont le résultat sur sang maternel n'est pas concluant et n=14 plasmas concordants avec le résultat du DPN. Actuellement les résultats de notre étude montrent que le DPNI de la drépanocytose sur sang maternel en PCR digitale est réalisable en pratique clinique mais à plusieurs conditions : d'une part que la fraction fœtale soit suffisante (> 6%) et qu'un cas index existe afin qu'un diagnostic indirect conforte les résultats du diagnostic direct.

[Retour tableau](#)

Dépistage prénatal non invasif d'aneuploïdies foetales dans le plasma maternel par séquençage haut débit par la technologie des semi-conducteurs

ROORYCK THAMBO Caroline - CHU Bordeaux

[Retour tableau](#)

Résumé

Objectifs : L'objectif de ce projet pilote est la détection prénatale non invasive d'aneuploïdies foetales de type trisomies 21, 13, et 18, par séquençage haut débit ciblé de l'ADN non cellulaire présent dans le plasma maternel, en utilisant la technologie des semi-conducteurs (Ion Torrent).

Résultats attendus : Cette étude permettra la mise au point d'une technologie de séquençage haut débit ciblée appliquée à la détection prénatale non invasive de trisomies 21, 18 et 13. Le principal résultat attendu est la mise en évidence des 28 aneuploïdies foetales parmi 50 prélèvements, par le séquençage massif en parallèle d'ADN plasmatique issu du sang maternel. Cette méthode permettra également d'estimer la proportion d'ADN foetal non cellulaire circulant dans le plasma maternel par le génotypage des polymorphismes (SNP) localisés dans les régions ciblées.

Méthodologie : Nous proposons d'analyser de manière rétrospective l'ADN plasmatique non cellulaire issu de 50 grossesses à risque élevé d'aneuploïdie foetale, incluant 22 fœtus euploïdes, 20 trisomies 21, 5 trisomies 18 et 3 trisomies 13. La population à risque correspond aux patientes avec un risque combiné supérieur ou égal à 1/250. Ces patientes bénéficieront donc, dans le cadre du diagnostic anténatal de routine, d'un caryotype foetal permettant de définir la ploïdie de leur fœtus. Le séquençage haut débit ciblé des régions d'intérêt sera effectué après amplification ciblée (Ampliseq custom, Life Technologies) de l'ADN plasmatique de la mère. Au préalable les régions à amplifier seront définies à partir du design Ampliseq exome, et de nouvelles régions seront choisies de telle sorte qu'elles incluent un SNP dont l'allèle mineur présente une fréquence élevée (environ 1000 régions, 330 régions pour chacun des chromosomes 13, 18 et 21). Plus d'un million de séquences de qualité seront générées par échantillon à l'aide d'une puce PI du Proton (Life Technologies). La présence d'une aneuploïdie sera évaluée grâce à un dosage chromosomique relatif des chromosomes d'intérêt basé sur la profondeur de séquençage (au minimum 1000x). L'estimation de la proportion d'ADN foetal non cellulaire dans le plasma maternel s'appuiera sur la quantification allélique des SNPs informatifs séquencés lors de la même expérience, ainsi que par une deuxième technique de génotypage sur puces à SNPs.

Originalité et impact : Du fait de la spécificité de notre centre de médecine foetale pratiquant principalement des biopsies du trophoblaste à un terme de grossesse précoce (à partir de 12 SA), il nous faut mettre au point ce dépistage non invasif d'aneuploïdie foetale dès ce terme plus précoce. De plus, la méthode de séquençage haut débit ciblé est basée sur des technologies moléculaires de pointe dont chaque centre académique doit acquérir le savoir-faire car elles constituent les méthodes d'avenir en génétique biologique. En particulier, l'utilisation de la technologie des semi-conducteurs que nous allons mettre au point est prometteuse pour ce type d'application prénatale car les durées de run sont inférieures à celles des autres technologies. Les applications potentielles de cette technique innovante et peu couteuse en diagnostic prénatal non invasif sont multiples, allant de la détection d'aneuploïdies au génotypage de mutations ponctuelles. Cette étude pourra servir de projet pilote pour le développement d'outils en diagnostic prénatal, et pourra mener à une large étude de validation multicentrique.

Poster



Comparison of two academic softwares (WISECONDOR and RAPIDR) for aneuploidies detection using semiconductor sequencing data in a NIPT process

Nectoux J¹, Schütz S², Chatron N³, Brun S⁴, Gueguen P², El Khattabi L⁵, Pipoli Da Fonseca J⁶, Dumont F⁶, Sorlin A⁷, Quere M⁸, Boudjarane J⁹, Bonnet C⁷, Letourneur F⁶, Lagarde A⁹, Schluth Bolard C³, Guichoux E¹⁰, Campan-Fournier A¹¹, Arveiler B¹², Jonveaux P⁷, Goossens M¹, Badens C⁹, Dupont JM⁵, Sanlaville D³, Ferec C², Bardel C¹¹, Vidaud M¹, Rooryck C¹²

1. Service de Biochimie et Génétique Moléculaire, HUPC Hôpital Cochin, Paris, France, 2. Laboratoire de Génétique Moléculaire, INSERM U1078, CHU de Brest, France, 3. HCL, Service de Génétique, UCBIL, Lyon, France, 4. Maternité Centre Aléon d'Aquitaine, CHU Bordeaux, France, 5. Service de Cytogénétique, APHP-HUPC, INSERM U1016, Université Paris Descartes, France, 6. Plateforme Génomique, Inserm U1016, Paris, France, 7. Service de Génétique, CHU Nancy-INSERM U954 Université de Lorraine, France, 8. Service de Génétique Médicale, Hôpital de l'Archet II, CHU de Nice, France, 9. Département de Génétique Moléculaire, CHU de Marseille, Marseille, France, 10. Plateforme Génomique de Bordeaux, INRA Cestas, France, 11. HCL, Service de Biostatistique, UCBIL, Lyon, France, 12. Service de Génétique Médicale, CHU Bordeaux, Bordeaux, France

INTRODUCTION

Based on a statistical analysis of low coverage genome sequencing data, non-invasive prenatal testing (NIPT) of aneuploidies is being provided in a growing numbers of countries. It has proved a major improvement versus classic screening strategies but still requires invasive procedures when positive. Several publications have established NIPT's effectiveness using mainly the Illumina sequencing technology. The French H+ Consortium, bringing together seven academic hospitals, collaborated to validate a common protocol and to evaluate the efficiency and reliability of NIPT of the most common chromosomal aneuploidies using a semiconductor-sequencing platform. Here we compare two different academic softwares available in open source developed for this application : WISECONDOR¹ and RAPIDR².

MATERIALS AND METHODS

Since April 2014, a total of 386 pregnant women, who presented either a high risk of aneuploidy during the first trimester, an abnormality at the ultrasound scan, or a history of chromosomal abnormality and/or genetic disease and underwent fetal karyotyping were included in a prospective study. For each patient, peripheral venous blood was collected prior to invasive testing, circulating DNA was extracted using the QIAamp® Circulating Nucleic Acid kit (Qiagen®), libraries were prepared using an optimized protocol of the Ion Plus Fragment Library Kit (Life technologies®), and semiconductor-sequencing was performed using an Ion Proton sequencer (Life technologies®). Then, data were analyzed using two different academic softwares available in open source (WISECONDOR¹ and RAPIDR²), a collection of 16 euploid pregnancies included in the H+ Consortium study being used to construct our reference set.

The general principle of NIPT bioinformatics for the detection of aneuploidies via whole genome sequencing is to compare the read count of the sample to a reference euploid data set (n=16 in our study) used as a baseline. As GC content is known to bias read counts, the analysis is generally preceded by a GC correction step. To facilitate the comparison, both programs were used with their default parameters.

WISECONDOR

WISECONDOR (Within Sample Copy Number aberration DetectOR) uses a LOWESS function for GC correction of read counts and computes per bin z-scores using a within sample reference. A set of euploid sample is first used to define, for a given bin k (1 Mb) on chromosome i, a set of reference bin with similar read frequencies as bin k and located on all the other autosome. The z-score for bin k of patient j is defined as:

$$z_k = (R_k - M_{ref,k}) / SD_{ref,k}$$

R_k is the number of reads in bin k of patient j

$M_{ref,k}$ and $SD_{ref,k}$ are the mean and standard deviation of the number of reads computed on the set of reference bin for bin k in patient j

The bin is called aberrant if z_k is over a given threshold (3 in our analysis) and an aneuploidy is called at the chromosome level if more than 80% of the bins are aberrant. Moreover, a whole-autosome profile representing the per-bin z-score along the chromosome is also generated and was visually interpreted by cytogeneticists for every sample.

RAPIDR

RAPIDR (Reliable Accurate Prenatal non-Invasive Diagnosis R package) was developed and tested using data from the RAPID project. For the GC bias correction step, we used the Principal Component Analysis (PCA) which is considered to have a higher sensitivity. The idea is to reduce systematic noise by regressing the count ratios in each 20 kb bin of the genome with the first 10 principal components defined using an euploid reference set.

Then, for each chromosome i of the tested patient j, a chromosome wide z-score is computed:

$$z_{i,j} = (R_{i,j} - M_i) / SD_i$$

Ratio of the number of reads mapped to chromosome i in the jth sample compared to the number of reads mapped to all the autosomes in the jth sample

M_i and SD_i are the mean and standard deviation of the same ratios computed on a reference set of euploid samples. A trisomy is called if the z-score exceeds a given threshold (3 in our analysis)

RESULTS

All 386 patients included in the study were sequenced and analyzed with both WISECONDOR and RAPIDR softwares. A common set of 16 samples was used for the creation of the two reference baselines.

Trisomy	Number of cases	NIPT via WISECONDOR	NIPT via RAPIDR
Trisomy 21	39 of 370 (11%)	% (95% CI)	% (95% CI)
Sensitivity		100% (91-100)	100% (91-100)
Specificity		100% (98.8-100)	98% (95.8-99)
Positive predictive value		100%	85%
Negative predictive value		100%	100%
Trisomy 18	12 of 370 (3%)		
Sensitivity		100% (75.8-100)	100% (75.8-100)
Specificity		100% (99.9-100)	99% (96.8-99.4)
Positive predictive value		100%	71%
Negative predictive value		100%	100%
Trisomy 13	9 of 370 (2%)		
Sensitivity		100% (70.1-100)	100% (70.1-100)
Specificity		100% (98.9-100)	98% (96.5-99.2)
Positive predictive value		100%	60%
Negative predictive value		100%	100%

Table 1. Test performance

DISCUSSION

The PCA method used herein with RAPIDR is known to be more sensitive, generating more false positive than WISECONDOR in our study. The number of false negative cases, main concern for a screening test, is comparable between the two strategies. The same 16 samples were used for the creation of the two reference baselines. Increasing the number of patients used for the reference should generate even more accurate results. Both programs require relatively low computing power, compatible with routine practice on a NGS platform. Initially developed with Illumina dye sequencing data, we have demonstrated that these two algorithms are compatible with semiconductor sequencing data. Further bioinformatics explorations are necessary to select the most efficient strategy for NIPT with semiconductor sequencers.

The authors declare no conflict of interest.

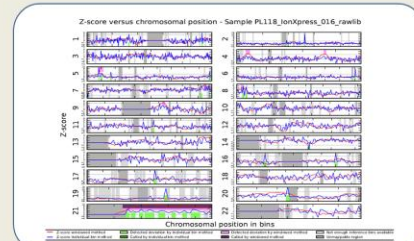


Figure 1. Example of detection of trisomy 21 using WISECONDOR algorithm

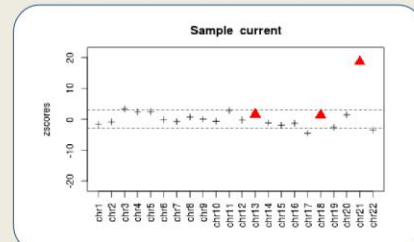


Figure 2. Example of detection of trisomy 21 using RAPIDR algorithm

- (1) StraverR, Sistersmans EA, Holstege H, Visser A, Oudejans CB, Reinders MJ. WISECONDOR: detection of fetal aberrations from shallow sequencing maternal plasma based on a within-sample comparison scheme. Nucleic Acids Res. 2014; 42(5). <https://github.com/rstraver/wisecondor>
- (2) Lo KK, Boustred C, Chitty LS, Plagnol V. RAPIDR: an analysis package for non-invasive prenatal testing of aneuploidy. Bioinformatics. 2014; 30(20):2965-7. <http://cran.r-project.org/web/packages/RAPIDR/index.html>

Exploration des nouveaux-nés présentant un diagnostic non conclu au dépistage néonatal de la mucoviscidose en vue du conseil génétique

SERMET-GAUDELUS Isabelle - Inserm, Institut Necker enfants malades, Univ Paris 5

[Retour tableau](#)

Résumé

Objectifs:

En France, depuis la mise en place du dépistage systématique pour la mucoviscidose, 277 enfants présentent un diagnostic non conclu. Ces enfants de diagnostic incertain sont habituellement asymptomatiques mais constituent une population à risque qui peut secondairement développer une forme typique de mucoviscidose ou une atteinte modérée et retardée, d'autres enfin resteront asymptomatiques. Cette incertitude diagnostique génère des demandes de conseil anténatal et de procréation médicale assistée auxquels on ne peut pas répondre actuellement faute de certitude diagnostique. Ceci est particulièrement problématique dans le cadre législatif français qui restreint le diagnostic prénatal ou le diagnostic préimplantatoire aux mutations du gène CFTR d'une particulière gravité. L'objectif principal de cette étude est de clarifier le diagnostic de ces patients et ainsi d'adapter la stratégie de conseil génétique délivrée aux familles en cas de grossesse ultérieure.

Méthodologie:

Nous utiliserons une investigation couplée fonctionnelle et génétique particulièrement novatrice, car elle permet de valider les variants du gène CFTR dont l'interprétation est délicate en détectant leurs conséquences physiopathologiques chez le cas index lui-même. En effet, les patients dont les épithélia révèlent une dysfonction de la protéine CFTR, sont à risque de développer des signes cliniques de mucoviscidose. L'exploration fonctionnelle de CFTR sera réalisée in ou ex vivo sur l'épithélium nasal (différence de potentiel nasal), rectal (courant de court circuit sur biopsie rectale) et sudoral (test de la sueur) et permettra d'étudier le transport trans-épithélial actif des ions chlorure (Cl-) et sodium (Na+).

Les épithélia des patients atteints de mucoviscidose ont une sécrétion de Cl- diminuée et une absorption excessive de Na+. La détection de ces anomalies fonctionnelles permettra de cibler les patients présentant une anomalie génétique pathogène et à risque de développer une atteinte clinique.

L'ADN de ces patients sera ensuite étudié par les techniques de séquençage haut débit permettant une étude complète du gène CFTR (soit la totalité des introns/exons et les séquences régulatrices, en plus de la séquence codante). Cette étude constitue un projet pilote destiné à investiguer les 40 cas repérés dans la base génétique CFTR France.

Résultats attendus:

Ces deux stratégies, fonctionnelle et génétique, n'ont encore jamais été couplées alors que seule leur association valide le diagnostic de mucoviscidose dans ce cadre diagnostique complexe. Cette approche permettra d'économiser des explorations génétiques lourdes et coûteuses. Surtout, elle apportera des conclusions valides dans le cadre de l'aide à la prise en charge d'un diagnostic prénatal ou d'un diagnostic préimplantatoire.

Résultats

Hatton, Aurelie, Anne Bergougnoux, Katarzyna Zybert, Benoit Chevalier, Myriam Mesbahi, Jean Pierre Altéri, Katarzyna Walicka-Serzysko, et al. 2022. « Reclassifying inconclusive diagnosis after newborn screening for cystic fibrosis. Moving forward ». Journal of Cystic Fibrosis 21 (3): 448-55. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2021.12.010>.

Poster

Reclassification des bébés dont le diagnostic reste non conclus au dépistage néonatal de la mucoviscidose.

I Sermet-Gaudelus, M Claustres, C Raynal. U INSERM 1151 et U1046

Le dépistage néonatal de la mucoviscidose est associé à des situations où le diagnostic de la maladie ne peut

Nous rapportons une série de cas de 25 enfants avec un diagnostic non conclu après un dépistage néonatal de la mucoviscidose. Des investigations approfondies comprenant le séquençage complet du gène *CFTR*, des investigations fonctionnelles *in vivo* par mesure du courant intestinal (ICM) et la différence de potentiel nasal (NPD), ainsi qu'une étude fonctionnelle *in vitro* de variants de signification inconnue ont conduit à reclasser les patients. Cette classification a été reliée au suivi clinique à long terme.

Criblage génétique

Le criblage génétique extensif a identifié *en trans* de mutations pathogènes causant la mucoviscidose, 9 variants différents ayant des conséquences cliniques variables, dont certains avec une faible pénétrance pour la mucoviscidose, et 3 variants avec une signification inconnue (VOUS). Le séquençage complet de *CFTR* a identifié 13 variants introniques chez 10 patients, possiblement pathogènes du fait d'un impact possible sur l'épissage et/ou d'une fréquence allélique inférieure à 0,01. Aucun n'a été considéré comme non pathogène après étude bio-informatique et de leur fréquence en population générale.

Les 3 VOUS ont été caractérisés comme présentant un défaut de maturation (D537N) défaut d'expression (T582I) ou sans conséquence (M952T).

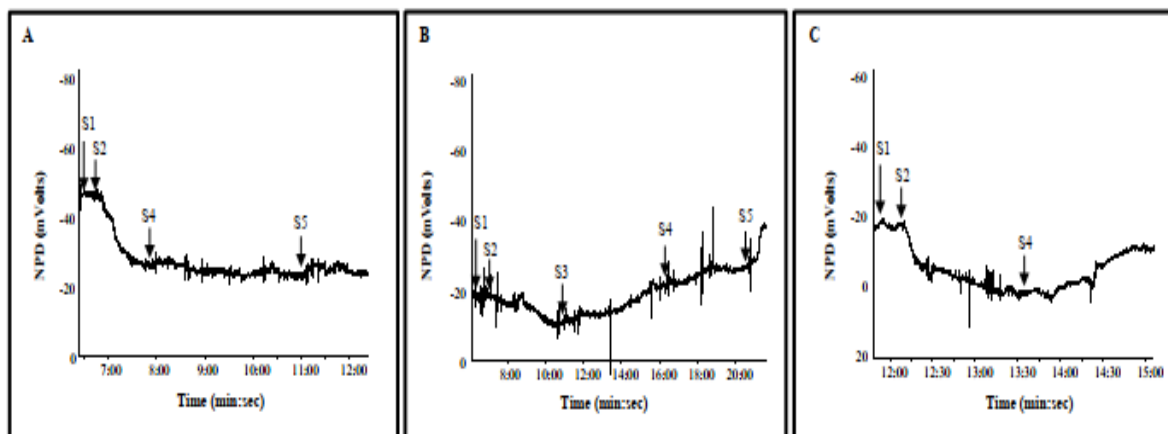
Tous les patients testés avaient un transport normal de chlorure au test ICM.

Exploration fonctionnelle

Le test de NPD a permis de différencier 3 profils fonctionnels différents:

- abolition d'activité de CFTR chez des patients à haut risque d'évolution vers la mucoviscidose, tels que les patients F508del/D1152H;
- réponse normale, donc à risque extrêmement faible de développer un CFTR-RD tel que les patients F508del/TG11T5 ou F508del/R31C
- dysfonction partielle de CFTR avec activité résiduelle supérieure à 20% de la normale, mettant en évidence un risque de développer des pathologies liées au CFTR comme les patients porteur de F508del *en trans* avec F1052V ou D537N.

Tracé représentatifs de NPD : 1: de type mucoviscidose; 2 : normal ; 3: avec dysfonction partielle de CFTR



Cette étude démontre l'utilité d'investigations génétiques et fonctionnelles combinées pour prédire la probabilité d'évolution vers la mucoviscidose ou des pathologies liées à CFTR chez les nouveau-nés asymptomatiques porteurs de variants avec des conséquences cliniques variables ou dont la pathogénicité est inconnue. Ces données sont fondamentales pour le conseil génétique de ces jeunes parents.

[Retour tableau](#)

Faisabilité du diagnostic prénatal de maladies génétiques par séquençage haut débit de l'ADN fœtal circulant dans le sang maternel

STEFFANN Julie - Hôpital Necker enfants malades

[Retour tableau](#)

Résumé

Les nouvelles techniques de séquençage haut débit sont en train de modifier profondément le dépistage prénatal des anomalies chromosomiques. Quelques études récentes semblent montrer que ces techniques pourraient ouvrir la possibilité de réaliser de façon précoce, et non-invasive le diagnostic prénatal (DPN) de maladies monogéniques.

Impliqués depuis de nombreuses années dans le diagnostic prénatal de maladies monogéniques, nous souhaitons réaliser une étude de faisabilité du diagnostic prénatal par séquençage haut-débit de l'ADN circulant dans le sang maternel.

Cette étude consiste à comparer les haplotypes fœtaux reconstitués à partir de l'étude de l'ADN fœtal circulant dans le sang maternel, avec les haplotypes fœtaux reconstitués à partir de l'étude d'un prélèvement fœtal (villosités chorales, amniocytes) au locus CFTR. Pour cela nous prélèverons une cinquantaine de patientes enceintes à risque élevé de transmettre une maladie génétique monogénique, quelle qu'en soit la nature, et souhaitant bénéficier d'un DPN dans notre centre, ainsi que leur conjoint et leur fœtus. L'étude sera centrée sur le locus CFTR et consistera à analyser la ségrégation de 9 SNP, dont 5 intragéniques dans chaque trio. Les résultats issus du prélèvement sanguin maternel et ceux issus du prélèvement fœtal seront comparés pour déterminer les performances diagnostiques de cette approche, le nombre de SNP nécessaires, et la profondeur de lecture minimale requise. Si la fiabilité diagnostique de cette approche s'avérait correcte, l'évaluation de son coût, et de son délai de réalisation permettra de déterminer si cette procédure est compatible avec les contraintes du DPN de routine.

Dans l'affirmative, elle pourrait alors être appliquée au DPN non invasif de la quasi totalité des maladies monogéniques, évitant ainsi aux patientes l'inconfort et le risque d'interruption de grossesse induits par les procédures invasives actuellement en vigueur.

[Retour tableau](#)

Evaluation de la sécurité et de la qualité des pratiques de diagnostic prénatal en cas de suspicion d'un retard de croissance intra-utérin

BENACHI Alexandra - Fédération CPDPN

[Retour tableau](#)

Résumé

Objectifs :

Les objectifs de ce projet sont :

- 1) D'étudier la conformité des pratiques de diagnostic prénatal en cas de suspicion d'un retard de croissance intra-utérin (RCIU) aux recommandations nationales de 2013 sur la prise en charge des grossesses avec RCIU
- 2) D'évaluer la pertinence des gestes prénataux invasifs réalisés selon les anomalies détectées, les issues obstétricales et néonatales
- 3) De mesurer l'apport de la CGH-array au diagnostic d'anomalies chromosomiques par rapport à la technique conventionnelle d'analyse du caryotype fœtal

Méthodes :

Cette étude sera rétrospective observationnelle et portera sur toutes les grossesses uniques ou multiples suspectées avec un RCIU sans malformation associée, orientées dans un des 48 centres pluridisciplinaires de diagnostic prénatal (CPDPN) en France.

Le critère de jugement principal sera la conformité des pratiques de diagnostic prénatal et des critères d'orientation des femmes en CPDPN aux recommandations nationales.

Les critères de jugement secondaires incluront i) les résultats de l'amniocentèse en lien avec les issues obstétricales et néonatales, ii) les complications associées aux gestes prénataux invasifs et iii) l'apport de la CGH-array pour détecter des anomalies chromosomiques par rapport à l'analyse conventionnelle du caryotype.

L'étude débutera en 2017 et sera menée de manière rétrospective sur dossiers médicaux, sur une période de deux ans. Un total d'environ 800 cas est attendu. La population des femmes adressées dans les CPDPN sera décrite puis l'analyse cherchera à comparer les femmes répondant aux critères d'orientation en CPDPN à celles adressées avec des indications non conformes. Parmi les cas de CGH-array réalisés, nous identifierons les cas pour lesquels cet examen avait été informatif par rapport à l'analyse conventionnelle du caryotype et son impact sur les issues des grossesses. Une relecture des résultats des caryotypes obtenus par CGH-array sera réalisée par deux cytogénéticiens pour évaluer l'apport fourni par sa réalisation comparativement à la technique de référence.

Résultats attendus :

Ce projet permettra de fournir des données sur la conformité des critères d'orientation des femmes dans les CPDPN et des pratiques de diagnostic prénatal en cas de suspicion d'un RCIU. Ces données permettront d'informer les professionnels de la périnatalité pour améliorer la prise en charge des femmes en CPDPN. De plus, nos résultats constitueront un premier état des lieux de l'utilisation de la CGH-array en France et de son apport à la détection d'anomalies chromosomiques en cas de suspicion d'un RCIU. Ces données pourront être à l'initiative de travaux de réflexion et de recherche concernant les stratégies de dépistage en cas de RCIU suspecté et en particulier, autour de l'utilisation de la CGH-array par l'étude de ses bénéfices et de son impact sur la prise en charge et le vécu des couples.

Résultats

Monier, Isabelle, Aline Receveur, Véronique Houfflin-Debarge, Valérie Goua, Vanina Castaigne, Jean-Marie Jouannic, Eve Mousty, et al. 2021. « Should Prenatal Chromosomal Microarray Analysis Be Offered for Isolated Fetal Growth Restriction? A French Multicenter Study ». American Journal of Obstetrics and Gynecology, mai. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2021.05.035>.

Poster

Apport de l'Analyse Chromosomique sur Puce à ADN (ACPA) au diagnostic d'anomalies génétiques en cas de retard de croissance intra-utérin isolé

Contexte

L'Analyse Chromosomique sur Puce à ADN (ACPA) permet de détecter des anomalies génétiques non visibles par la technique conventionnelle du caryotype fœtal et est ainsi recommandée dans plusieurs indications prénatales.

Cependant, il existe peu d'études qui ont montré l'utilité clinique de l'ACPA en cas de retard de croissance intra-utérin (RCIU) isolé.

OBJECTIFS

En cas de retard de croissance intra-utérin (RCIU) isolé :

1. Estimer la fréquence du nombre de copies d'ADN (CNV) détecté par ACPA
2. Mesurer l'apport de l'ACPA dans le diagnostic des anomalies génétiques par rapport au caryotype fœtal

Population et méthodes

Type d'étude : étude rétrospective en 2016 dans 13 Centres Pluridisciplinaires de Diagnostic Prénatal (CPDPN) français

Population : toutes les femmes avec une grossesse unique adressées pour RCIU sans malformation associée et qui ont eu un geste prénatal invasif avec recherche d'un caryotype fœtal et ACPA

Définition du RCIU : poids fœtal estimé <10^{ème} percentile identifié dans la base de données échographiques utilisée dans les CPDPN participants

Etude des CNVs :

- Relecture des ACPA par 2 cytogénéticiens
- Classification des CNVs selon les recommandations de l'*American College of Medical Genetics* : pathogène, probablement pathogène, variant de signification inconnue (VOUS), probablement bénin et bénin

Apport diagnostique de l'ACPA par rapport au caryotype défini comme la proportion de fœtus détectés avec un CNV pathogène ou probablement pathogène parmi ceux avec un caryotype normal

Résultats

- Au total, 146 fœtus avec RCIU isolé et geste invasif avec recherche d'un caryotype et ACPA
- Taux de détection par ACPA : 7,5% [IC95% : 3,3-11,8] incluant 10 CNVs classés pathogènes et 1 CNV classé probablement pathogène
- Parmi les 139 fœtus avec caryotype normal, détection de 5 anomalies génétiques par ACPA, soit un **apport diagnostique de 3,6%** [IC95% : 0,5-6,6] de l'ACPA par rapport au caryotype
- Parmi les 7 fœtus avec un caryotype anormal, un cas de trisomie 18 en mosaïque (13%) non détectée par ACPA

Tableau 1. Cas avec caryotype normal et anomalies détectées par ACPA (8 cas)

AG au RCIU	Position du CNV	Type CNV	Etude parentale	Issue de grossesse	Poids de naissance (percentile)
21 ⁻⁶ SA	arr[hg19] 16p12.2(21951379_22645765)x3 dn	Probablement pathogène	de novo	IMG 28 ⁻⁶ SA	840g (<3 ^{ème})
21 ⁻⁵ SA	upd(15)mat.arr[hg19](15q11.2q26.3)x2 h1z	Pathogène	Hérédité maternelle	IMG 32 ⁻⁵ SA	1610g (<3 ^{ème})
18 ⁻³ SA	arr[hg19] 19q12q13.12(30091373_35646245)x1 dn	Pathogène	de novo	IMG 26 ⁻³ SA	670g (<10 ^{ème})
24 ⁻¹ SA	arr[hg19] 2q21.1(131513263_132098109)x3 dn	VOUS	de novo	Naissance vivante 31 ⁻⁴ SA	1070g (<3 ^{ème})
32 ⁻⁵ SA	arr[hg19] 12q13.13(53617806_54463057)x1 dn	Pathogène	de novo	IMG 37 ⁻⁵ SA	2070g (<3 ^{ème})
25 ⁻⁵ SA	arr[hg19] 18p13.2p13.11(13802749_16346160)x1dn	Pathogène	de novo	IMG 27 ⁻¹ SA	730g (<3 ^{ème})
21 ⁻¹ SA	arr[hg19] 7q11.22(69773947_7011501)x1 pat	VOUS	Hérédité paternelle	IMG 35 ⁻⁴ SA	1835g (<3 ^{ème})
18 ⁻⁰ SA	arr[hg19] Xp22.33(907346_1608329)x3	VOUS	Manquant	IMG 26 ⁻⁵ SA	435g (<3 ^{ème})

AG : age gestationnel ; SA : semaines d'aménorrhée ; IMG : interruption médicale de grossesse

Tableau 2. Cas avec caryotype anormal (7 cas)

AG au RCIU	Résultat caryotype	Position du CNV	Type CNV	Issue de grossesse	Poids de naissance (percentile)
24 ⁻⁵ SA	46,XX,rec(4)dup(4q)inv(4)(p14q35)pat. nuc ish(WHSCR1,4qter)x3	arr[hg19] 4p16.3p15.31(71552_19694060)x1,4q35.1q35.2(186154276_191154276)x3	Pathogène	IMG 27 ⁻⁴ SA	610g (<3 ^{ème})
23 ⁻⁰ SA	46,XY,del(8)(p11.23p22)	arr[hg19] 8p22p11.23(14921564_36502963)x1	Pathogène	IMG 33 ⁻¹ SA	1740g (<10 ^{ème})
27 ⁻³ SA	47,XXY nuc ish(DXZ1x2,DYZ3x1,D18Z1x2),(RB1x2,DSCR4x2)[50]	arr[hg19](X)x2,(Y)x1	Pathogène	Naissance vivante 37 ⁻² SA	1810g (<3 ^{ème})
22 ⁻⁵ SA	46,XY,r(15)(p10qter)	arr[hg19] 15q26.3(98664117_102465355)x1	Pathogène	IMG 26 ⁻⁵ SA	640g (<3 ^{ème})
31 ⁻⁰ SA	nuc ish(DXZ1x1,DYZ3x1,D18Z1x3)[4/300]	arr[hg19](1-22)x2,(X,Y)x1	Normal	IMG 36 ⁻⁶ SA	2150g (<3 ^{ème})
25 ⁻⁰ SA	45,X[46]/46,XX[4]	arr(X)x1[0.9]	Pathogène	Naissance vivante 39 ⁻¹ SA	1920g (<3 ^{ème})
18 ⁻⁵ SA	46,XX,del(8)(p11.2).ish del(8)(wcp8+_D8S504-VJ2yRM2053+).nuc ish(D8S504x1.VJ2yRM2053x2)	arr[hg19] 8p23.3p11.21(221611_41559138)x1	Pathogène	IMG 24 ⁻² SA	505g (<10 ^{ème})

AG : age gestationnel ; SA : semaines d'aménorrhée ; IMG : interruption médicale de grossesse

Conclusion

- L'ACPA améliore la détection des anomalies génétiques par rapport au caryotype standard chez les fœtus avec un RCIU isolé
- Ces résultats soutiennent que l'ACPA devrait être proposée, en plus du caryotype, en cas de RCIU isolé

REFERENCES :

1. Wagner RJ, Martin CL, Levy B, et al. Chromosomal microarray versus karyotyping for prenatal diagnosis. N Engl J Med. 2012;367(23):2175-2184.
2. Bonnell A, Grande M, Paula M, Rodriguez-Revela L, Figueras F. Chromosomal Microarray Analysis in Fetuses with Growth Restriction and Normal Karyotype: A Systematic Review and Meta-Analysis. Fetal Diagn Ther. 2018;44(1):1-9.
3. Sagi-Dain L, Maya I, Reches A, et al. Chromosomal Microarray Analysis Results From Pregnancies With Various Ultrasonographic Anomalies. Obstet Gynecol. 2018;132(6):1368-1375.

FINANCEMENT :

Financement de l'Agence de la Biomédecine reçu dans le cadre de l'Appel d'offres Recherche AMP, diagnostic prénatal et diagnostic génétique 2016

RASopathies et morts foetales/périnatales et implications pour le diagnostic prénatal

CAPRI Yline - Hôpital Robert Debré, APHP CPDPN

[Retour tableau](#)

Résumé

Le terme RASopathies regroupe des pathologies cliniquement et biologiquement proches. Elles partagent à des degrés divers des cardiopathies/cardiomyopathies, un retard de croissance, une dysmorphie faciale, une atteinte cutanéophanérienne, des troubles des apprentissages et un risque tumoral. Il s'agit de maladies génétiques dominantes ou sporadiques causées par l'anomalie de protéines ubiquitaires appartenant à la voie de signalisation cellulaire RAS-MAPKinase. Il existe plus de 15 gènes actuellement impliqués dans ce spectre.

Le syndrome de Noonan est la plus fréquente des RASopathies, le diagnostic est le plus souvent porté dans l'enfance mais certains patients présentent une forme sévère et précoce avec des signes anténataux entraînant l'interruption médicale de grossesse ou le décès périnatal. Cette forme se manifeste souvent par des épanchements sous-cutanés ou des séreuses (hygroma colli, chylothorax, anasarque), une cardiopathie/cardiomyopathie ou une leucémie myélomonozytaire juvénile. Ces signes étant inconstants et peu spécifiques, le diagnostic est souvent rétrospectif.

Avant la description des bases moléculaires du syndrome de Noonan, la prévalence du syndrome parmi les fœtus avec clarté de nuque augmentée était estimée entre 1 et 3%. Les rares études récentes de séries prénatales comportant des signes anténataux retrouvent une fréquence des RASopathies de 6,5 à 17,3 %.

Les nouvelles techniques de séquençage haut débit offrant la possibilité d'étudier plusieurs gènes simultanément s'appliquent parfaitement aux RASopathies dont l'hétérogénéité clinique et génétique rendent très longue la confirmation diagnostique par séquençage traditionnel. Cette technologie a été mise en place dans notre laboratoire et nous souhaitons étudier les possibilités de l'appliquer en période anténatale, ce qui n'était pas envisageable jusqu'à présent.

L'objectif principal de la présente étude est de déterminer la proportion de fœtus atteints de RASopathie en analysant une série de 200 fœtus ou enfants nés vivants ayant présenté une pathologie lymphatique périnatale sévère avec décès in utero ou dans les 28 jours suivant la naissance. Les objectifs secondaires seront de mieux caractériser les signes échographiques pertinents pour poser l'indication du séquençage des gènes de RASopathie en cours de grossesse et éventuellement de dégager un profil différent entre les mutations retrouvées dans les formes foetales et/ou létales et celles connues en post-natal dans des formes non létales de RASopathie.

Cette étude permettra par ailleurs d'estimer la faisabilité, le coût, l'intérêt et les indications du séquençage haut débit des gènes de RASopathie en prénatal et pour le conseil génétique.

Nous incluons de façon prospective sur 3 ans, 200 fœtus issus des centres de fœtopathologie de l'AP-HP présentant une pathologie lymphatique périnatale sévère ou létale (augmentation de la clarté de nuque ou hygroma colli, isolé ou associé à une malformation ; un ou plusieurs épanchements des séreuses) et/ou une cardiomyopathie hypertrophique, sans anomalie chromosomique ou autre cause identifiée. Le recueil de données échographiques et autopsiques sera réalisé au travers d'un questionnaire. Le séquençage systématique de l'ensemble des gènes connus de la voie RAS sera effectué.

Le nombre attendu de fœtus avec mutation est de 20 à 30. Ces fœtus avec mutation seront comparés à la population de fœtus sans mutation.

[Retour tableau](#)

METAPhOR : METabolome Amniotique pour la Prédiction de la fonction Rénale postnatale

BUFFIN-MEYER Bénédicte - INSERM U1048, Institut des maladies métaboliques et cardiovasculaires, Equipe 12 fibrose rénale, mécanismes et détection

CHU de Toulouse

[Retour tableau](#)

Résumé

Objectifs : Les malformations des reins et des voies urinaires (CAKUT) affectent 0,5% des grossesses et représentent la première cause d'insuffisance rénale chez les enfants. La prise en charge des fœtus CAKUT est extrêmement difficile du fait de notre incapacité à évaluer en période prénatale la progression des atteintes rénales. Dans ce contexte, notre projet a pour but de développer un outil pronostique, tiré de l'exploration du métabolome amniotique, pour prévoir in utero le devenir fonctionnel des reins après la naissance des fœtus avec CAKUT.

Résultats attendus : Cet outil multimoléculaire, basé sur l'association de plusieurs métabolites, devrait dépasser le potentiel prédictif des techniques échographiques de référence. De plus, ses performances pronostiques devraient être optimisées en combinant ces métabolites avec d'autres niveaux omiques (peptides amniotiques) dans un modèles multidimensionnel. L'obtention de ce nouvel outil permettra ainsi i) d'atténuer l'énorme pression des parents liée à l'incertitude du bien-être de leur enfant ; ii) d'améliorer le conseil prénatal délivré aux familles pour éviter certaines interruptions de grossesse injustifiées ; iii) si la poursuite de la grossesse est décidée dans les cas de mauvais pronostic, de mieux organiser la prise en charge des nouveau-nés avec insuffisance rénale.

Méthodologie : En utilisant l'électrophorèse capillaire couplée à la spectrométrie de masse, nous analyserons l'ensemble des métabolites présents dans le liquide amniotique de fœtus CAKUT. Cette méthode de pointe permet d'obtenir rapidement des profils moléculaires sans que l'identité des molécules n'ait besoin d'être connue. 79 patients seront testés parmi lesquels 26 ont évolué vers une insuffisance rénale sévère avant l'âge de 2 ans tandis que les 53 autres avaient une fonction rénale normale à 2 ans. Grâce au 2/3 de la cohorte, nous sélectionnerons les métabolites prédictifs de la fonctionnalité rénale postnatale. Nous combinerons ces métabolites biomarqueurs dans un modèle multimoléculaire pour obtenir l'outil prédictif. Ce modèle sera validé ainsi des fœtus sains (21), dépourvus d'anomalie rénale. Ses performances seront comparées aux outils échographiques actuellement utilisés en clinique. Nous évaluerons également si la combinaison de ces métabolites avec des biomarqueurs peptidiques du liquide amniotique (déjà identifiés au laboratoire) améliore la classification des fœtus avec CAKUT. Enfin, l'identité des métabolites d'intérêt sera recherchée via deux approches, l'une fondée sur l'interrogation des bases de données existantes et l'autre basée sur la technologie de spectrométrie de masse en tandem.

Conclusion : Ainsi, en donnant la possibilité de prédire à l'avance des enfants CAKUT à naître, ce projet relève un vrai défi de médecine prénatale.

Résultats

Bayjanov, Jumamurat R., Cenna Doornbos, Ozan Ozisik, Woosub Shin, Núria Queralt-Rosinach, Daphne Wijnbergen, Jean-Sébastien Saulnier-Blache, et al. « Integrative Analysis of Multi-Omics Data Reveals Importance of Collagen and the PI3K AKT Signalling Pathway in CAKUT ». Scientific Reports 14, n° 1 (5 septembre 2024): 20731. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-71721-8>.

Buffin-Meyer, Bénédicte, Julie Klein, Jacqueline Aziza, Manon Fernandez, Guylène Feuillet, Mouhamed Seye, Marie Buléon, et al. « Improved prenatal assessment of kidney disease using multiple ultrasound features ». *Nephrology Dialysis Transplantation* 40, n° 2 (1 février 2025): 341-51. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfae145>.

Buffin-Meyer, Bénédicte, Julie Klein, Benjamin Breuil, Françoise Muller, Panagiotis Moulos, Marion Groussolles, Ourdia Bouali, Jean-Loup Bascands, Stéphane Decramer, et Joost P. Schanstra. « Combination of the fetal urinary metabolome and peptidome for the prediction of postnatal renal outcome in fetuses with PUV ». *Journal of Proteomics* 184 (30 juillet 2018): 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2018.06.012>.

Buffin-Meyer, Bénédicte, Marcin Tkaczyk, Małgorzata Stańczyk, Benjamin Breuil, Justyna Siwy, Krzysztof Szaflik, Tomasz Talar, et al. « A Single-Center Study to Evaluate the Efficacy of a Fetal Urine Peptide Signature Predicting Postnatal Renal Outcome in Fetuses with Posterior Urethral Valves ». *Pediatric Nephrology* 35, n° 3 (1 mars 2020): 469-75. <https://doi.org/10.1007/s00467-019-04390-9>.

Fédou, Camille, Benjamin Breuil, Igor Golovko, Stéphane Decramer, Pedro Magalhães, Françoise Muller, Sophie Dreux, et al. « Comparison of the amniotic fluid and fetal urine peptidome for biomarker discovery in renal developmental disease ». *Scientific Reports* 10, n° 1 (10 décembre 2020): 21706. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-78730-3>.

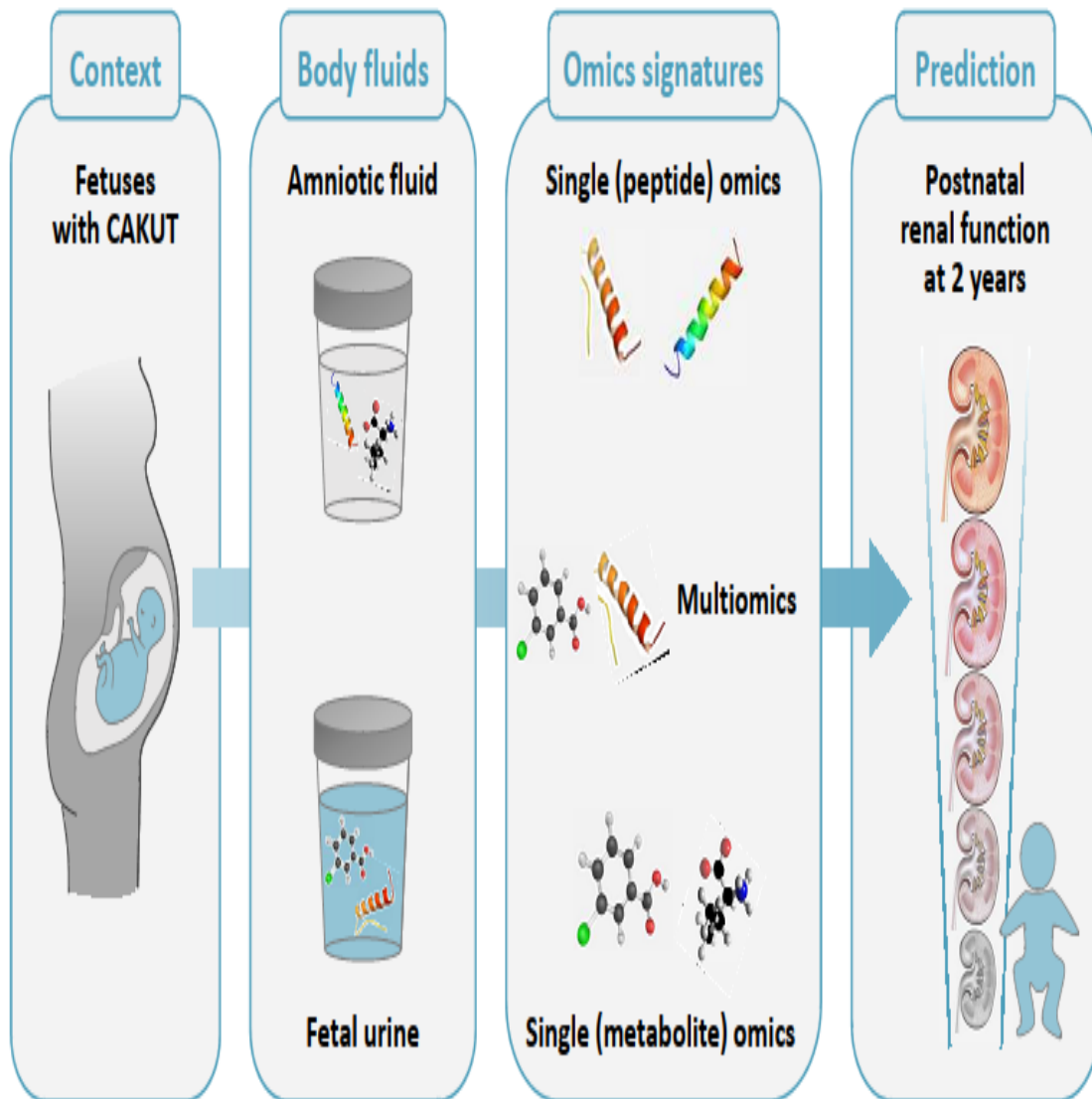
Geraud, Nicolas, Audrey Casemayou, Melinda Alves, Benjamin Breuil, Marcin Tkaczyk, Małgorzata Stańczyk, Krzysztof Szaflik, et al. « Evaluation of Predictive Performance of Fetal Urinary Inflammatory Markers of Postnatal Kidney Function in Fetuses with Posterior Urethral Valves ». *Pediatric Nephrology* 40, n° 4 (1 avril 2025): 1023-32. <https://doi.org/10.1007/s00467-024-06608-x>.

Klein, Julie, Bénédicte Buffin-Meyer, Franck Boizard, Nabila Moussaoui, Ophélie Lescat, Benjamin Breuil, Camille Fédou, et al. « Amniotic fluid peptides predict postnatal kidney survival in developmental kidney disease ». *Kidney International* 99, n° 3 (1 mars 2021): 737-49. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2020.06.043>.

Poster

METAPhOR, pour une meilleure prédiction de la fonction rénale postnatale

Bénédicte Buffin-Meyer – INSERM 1297 – Toulouse France



Buffin-Meyer et al. *Pediatr Nephrol.* 2020 Mar;35(3):469-475

Buffin-Meyer et al. *J Proteomics.* 2018 Jul 30;184:1-9

Fédou et al. *Sci Rep.* 2020 Dec 10;10(1):21706

Klein*, Buffin-Meyer* et al. *Kidney Int.* 2021 Mar;99(3):737-749

Patent Number - WO2020053380-A1, Publ. Date – 19 Mar 2020

[Retour tableau](#)

L'information à la parentèle dans les maladies dominantes neurogénétiques et neuromusculaires. Le DPN/DPI sont-ils un enjeu dans l'information à la parentèle ? (RISQUINFO)

DURR Alexandra - ICM CNRS UMR7225 La pitié - Paris

[Retour tableau](#)

Résumé

Notre expérience de plus de 20 ans en consultation de neurogénétique nous apprend que l'analyse des caractéristiques génétiques n'est pas un banal examen, il touche au patrimoine génétique et implique toute la constellation familiale. Une étude pilote au sein de familles concernées par la maladie de Huntington révélait que seulement 21% des sujets interrogés avaient été informés par leurs parents. Aujourd'hui, la mise en application de la loi de bioéthique de 2011 change la situation car elle pourrait créer l'obligation d'informer la parentèle.

Nous avons 4 objectifs:

- 1) Evaluer les particularités de l'information au sein des familles neurogénétiques et neuromusculaires dominantes;
- 2) Déterminer si l'accès au diagnostic prénatal/préimplantatoire est ou non un facteur fort de l'information de la parentèle;
- 3) Connaître les souhaits des personnes et leurs attentes concernant la diffusion de l'information sur le risque génétique;
- 4) Investiguer les répercussions de la loi sur les pratiques médicales, en particulier si le diagnostic prénatal/préimplantatoire est considéré par les cliniciens comme une « mesure préventive ».

Au total, notre projet associe 4 équipes cliniques et 5 associations de patients. Il prendra en compte le point de vue des malades, des personnes à risque, des porteurs asymptomatiques et des conjoints concernés par une des maladies dominantes suivantes: maladie de Huntington, Creutzfeld-Jacob, sclérose latérale amyotrophique, ataxies cérébelleuses et myotonie de Steinert. En plus des questionnaires et entretiens avec les personnes concernées, nous allons recueillir l'avis de 20 praticiens, sur notre site et dans 3 centres français. Nous évaluerons les différences en fonction de 5 facteurs: atteinte cognitive et/ou motrice, âge de début, pénétrance, intérêt médical d'une surveillance, existence d'un traitement, l'accès au diagnostic prénatal/préimplantatoire. Cette étude permettra de répondre à des questions majeures de santé publique: comment l'information génétique circule-t-elle dans les familles concernées? Quelles modalités les praticiens mettent-ils en place pour les aider à diffuser l'information et si l'offre d'un diagnostic prénatal/préimplantatoire constitue un facteur déterminant de l'information puisque considérés comme une « mesure préventive » par les médecins? Les résultats permettront de comprendre les besoins des familles et adapter les modalités de prise en charge.

Résultats

Pierron, Lucie, Juliette Hennessy, Sophie Tezenas du Montcel, Giulia Coarelli, Anna Heinzmann, Elodie Schaerer, Ariane Herson, Elodie Petit, Marcela Gargiulo, et Alexandra Durr. 2021. « Informing about Genetic Risk in Families with Huntington Disease: Comparison of Attitudes across Two Decades ». *European Journal of Human Genetics* 29 (4): 672-79.

Pierron, Lucie, Sophie Tezenas du Montcel, Anna Heinzmann, Giulia Coarelli, Delphine Héron, Solveig Heide, Ariane Herson, et al. 2023. « Reproductive Choices and Intrafamilial Communication in Neurogenetic Diseases with Different Self-Estimated Severities ». *Journal of Medical Genetics* 60 (4): 346-51. <https://doi.org/10.1136/jmg-2022-108477>.

Poster



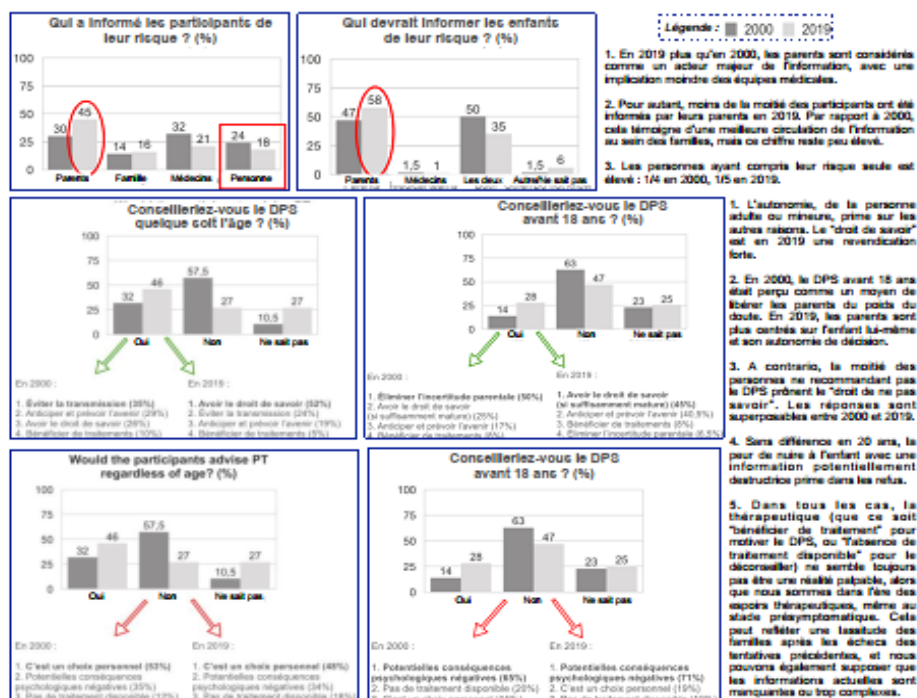
Etude RISQUINFO : Présentation des résultats




 Lucie Pierron, Elodie Petit, Marcela Gargiulo, Alexandra Durr
 Les participants et leurs familles, les associations



Dans les familles concernées par la maladie de Huntington, y a-t-il une différence dans la transmission de l'information génétique au sein des familles, à 20 ans d'écart ?



Conclusions et perspectives :

- Les patients et leurs familles sont plus enclins à recommander le DPS qu'il y a 20 ans
- Les motivations poussant à conseiller le DPS sont plus axées sur l'autonomie de chacun concernant son choix de savoir ou de ne pas savoir
- La peur de l'impact psychologique négatif du DPS reste un frein important
- La circulation de l'information est toujours une question très difficile dans les familles
- Les essais thérapeutiques en cours et les avancées importantes concernant la recherche ne suscitent pas ou peu d'espoir

Des propositions après un échange avec les représentants des associations Huntington Avenir et Huntington France :

- Mise en place d'un atelier d'échanges entre les familles, des psychologues et des médecins : "Comment parler de la maladie en famille ?", afin de partager expériences et conseils
- Explications claires et concises sur les avancées actuelles de la recherche et les traitements en développement (forme à définir)

Tous commentaires, avis, questions ou suggestions sont les bienvenus (contact@risquinfo.fr)

Issues prénatales et maternelles des grossesses gémellaires selon le mode de conception

LE REY Camille - INSERM U 1153 Eq Epidémiologie obstétricale, périnatal et pédiatrie (EPOPé) - La Sorbonne Port-Royal

[Retour tableau](#)

Résumé

Objectif : Le recours à l'AMP (assistance médicale à la procréation) est en augmentation, en particulier le recours à la FIV et au don d'ovocytes. La FIV est associée à une augmentation du risque de complications périnatales et maternelles, mais ce sur-risque est en grande partie lié au risque de la gémellité. On peut donc se demander si, au sein des grossesses gémellaires, le mode de conception est en lui-même un facteur de risque de complications périnatales et maternelles. La littérature actuelle ne permet pas de savoir si, au sein des grossesses gémellaires, le fait d'avoir obtenu la grossesse par AMP et en particulier par FIV avec don d'ovocytes augmente de façon indépendante les risques périnataux et maternels comparativement aux grossesses gémellaires obtenues par d'autres techniques d'AMP ou naturellement. L'objectif de cette étude est de comparer les issues périnatales et maternelles des grossesses gémellaires selon leur mode de conception, en tenant compte de l'âge maternel, facteur de risque connu et important de complications périnatales et maternelles.

Source de données : Nos données sont issues de l'étude JUMODA. Ont été incluses toutes les grossesses gémellaires ≥ 22 SA ayant accouché entre le 10 février 2014 et le 1er mars 2015. Les données sont donc disponibles pour 8823 patientes soit 75% des grossesses gémellaires françaises annuelles et près de 18000 enfants.

Méthodologie : Il s'agit d'une étude exposés / non exposés dans une cohorte prospective nationale incluant uniquement des grossesses gémellaires. Les patientes exposées sont les femmes ayant obtenu une grossesse par AMP, soit 2822 femmes. Le groupe exposé sera catégorisé selon la technique d'AMP utilisée (spontané / stimulation / insémination / FIV / ICSI / don d'ovocytes). Les patientes non exposées sont les femmes ayant une grossesse obtenue spontanément c'est-à-dire sans l'aide de l'AMP, soit 6001 femmes.

Les issues périnatales et maternelles étudiées seront : 1/ les complications maternelles et fœtales lors de la grossesse, 2/ le mode d'accouchement, 3/ l'hémorragie du postpartum, 4/ les complications néonatales, 5/ les complications maternelles du postpartum. Toutes ces données ont été recueillies prospectivement dans l'étude JUMODA ainsi que les caractéristiques des femmes, le déroulement de la grossesse et de l'accouchement.

Résultats attendus : L'étude JUMODA offre une opportunité unique pour étudier l'association entre mode de conception et risques périnataux et maternels spécifiquement chez les grossesses gémellaires. Les résultats de ces analyses constitueront une base scientifique pour optimiser l'organisation et les recommandations de soins au travers de :

- L'amélioration des connaissances scientifiques à la fois pour les spécialistes de la fertilité, pour les obstétriciens et pour les usagers
- La possibilité d'améliorer le conseil pré-conceptionnel aux couples envisageant une AMP
- La modification des pratiques de l'AMP si des risques particuliers étaient identifiés
- L'adaptation de la surveillance obstétricale prénatale et postpartum des femmes

[Retour tableau](#)

Diagnostic prénatal combiné des CNVs et SNV par séquençage haut débit

ROMANA Serge - Labo histo embryo cyto INSERM U1163 - Institut Imagine

[Retour tableau](#)

Résumé

Contexte : Les malformations congénitales sont détectées chez 3% des nouveau-nés. L'amélioration de l'imagerie anténatale permet leur détection en cours de grossesse dans le cadre du suivi échographique de routine. Cependant, les explorations génétiques réalisées lors de la découverte en anténatal d'une malformation se limitent le plus souvent à la recherche d'une anomalie chromosomique par caryotype ou par ACPA (Analyse Chromosomique sur Puce à ADN). En plus des aneuploïdies classiques (trisomie 21, 18 et 13) et des anomalies de structure visibles sur le caryotype, un CNV (Copy Number Variant) cryptique est retrouvé dans environ 6.5% des cas. Actuellement, une analyse de génétique moléculaire est rarement proposée, même lors d'une suspicion d'une pathologie connue, en raison de la lourdeur de la technique de séquençage Sanger. De plus, il existe souvent une hétérogénéité génétique qui ne permet pas d'obtenir un résultat dans les délais impartis de la grossesse car une analyse séquentielle des gènes par séquençage Sanger n'est actuellement pas réalisable en routine. Récemment, l'émergence de nouveaux outils de séquençage haut débit permettant le diagnostic simultané des anomalies chromosomiques et géniques ouvre de nouvelles perspectives.

Cependant, en prénatal, la mise en évidence de variants et/ou CNVs qui ne sont en rapport avec le phénotype du fœtus ou de signification inconnue (VOUS, variant of uncertain significance) pose de réels problèmes de conseil génétique. Concernant l'ACPA, nous avons élaboré une puce avec un "design à façon" afin d'éviter la détection des CNVs fréquents à pénétrance incomplète et/ou expressivité variable et des CNVs incluant des gènes impliqués dans des pathologies cancéreuses (puce PreCytoNEM). Le seuil de détection d'un CNV a été fixé à 1.5 Mb pour diminuer la détection des VOUS. En génétique moléculaire, la stratégie s'oriente vers un séquençage ciblé de gènes connus pour être impliqués dans des pathologies du développement.

Objectif : L'objectif de ce projet est de permettre le diagnostic prénatal des anomalies génomiques de structure et des SNVs (Single Nucleotide Variants) par une approche combinée en une seule expérience et adaptée à la situation du diagnostic prénatal en utilisant la technologie OneSeq proposée par la société AGILENT. Ainsi, un conseil génétique plus précis pourra être donné aux couples lors de la grossesse ce qui l'aidera à prendre une décision d'interruption de grossesse ou non.

Méthodologie : La société AGILENT propose le dispositif OneSeq qui permet la détection des CNVs avec une résolution de 300 kb et la détection de SNVs au niveau de 6500 gènes. En partenariat avec la société Agilent, nous avons adapté ce dispositif au diagnostic anténatal en choisissant des panels de gènes impliqués dans des pathologies du développement et qui sont responsables de malformations congénitales détectables à l'échographie et en utilisant une stratégie similaire à la puce PreCytoNEM pour la détection des CNVs.

Nous souhaitons analyser 90 individus comprenant 50 témoins pour lesquels une anomalie chromosomique ou génique a été mise en évidence.

Résultats attendus : la comparaison des résultats obtenus par l'outil OneSeq et ceux obtenus par l'ACPA et le séquençage ciblé de panels de gènes permettra de déterminer la fiabilité et la reproductibilité de ce nouveau dispositif avant de l'utiliser en prénatal.

Critères d'évaluation : le nombre de résultats concordants entre les techniques de référence (ACPA et panels de gènes ciblés) et OneSeq

[Retour tableau](#)

Impact psychologique du diagnostic anténatal chez les parents d'enfants opérés d'une atrésie

DEBARGE Véronique - Clinique d'obstétrique, pôle femme mère nouveau né - Lille

[Retour tableau](#)

Résumé

L'atrésie de l'œsophage est une malformation congénitale rare dont la prévalence en France est de 1,9 cas pour 10 000 naissances. Elle nécessite une prise en charge chirurgicale rapide amenant à un transfert postnatal vers un centre de chirurgie néonatale quand elle est découverte à la naissance. Le diagnostic anténatal (DAN) de cette malformation est difficile et n'était que de 18,1% dans le registre français du Centre National de Référence CRACMO en 2010. Si nous avons montré que le DAN n'améliore pas le délai de la chirurgie, ni la moratalité et morbidité précoce, il permet cependant la réalisation de bilans complémentaires pendant la grossesse, la préparation des parents et la naissance dans une maternité proche d'un centre de chirurgie (transfert in utéro). L'impact psychologique du DAN dans cette malformation n'est connu.

Objectif

L'objectif de ce travail est d'étudier l'impact psychologique du DAN chez les parents d'un enfant porteur d'une atrésie de l'oesophage.

Méthodologie

Etude transversale observationnelle d'une population issue du registre national des atrésies de l'oesophage avec inclusion de tous les parents d'enfant opéré d'une atrésie de l'oesophage ayant entre 0 et 1 an. Deux groupes seront constitués : les cas ayant bénéficié d'un dépistage anténatal et ceux dont l'atrésie de l'oesophage a été découverte à la naissance. L'anxiété sera mesurée avec l'échelle STAI, la dépression avec l'échelle BDI et le stress post traumatique avec l'échelle de SPT.

Hypothèse testée

La préparation du couple étant meilleure lors d'un diagnostic anténatal, les parents d'enfant ayant bénéficié d'un diagnostic anténatal présenteront moins de symptômes d'anxiété, de dépression et de stress post traumatique que les parents d'enfant dont l'atrésie de l'oesophage a été découverte à la naissance.

[Retour tableau](#)

Identification d'un biomarqueur prédisant l'état placentaire et les conséquences foetales lors d'infections congénitales

MALNOU Cécile - Centre de Physiopathologie de Toulouse Purpan, équipe 7 - Inserm UMR 1043, CNRS UMR 5282 - CHU Purpan

[Retour tableau](#)

Résumé

Objectifs : Notre ambition est d'identifier des biomarqueurs permettant de prédire les atteintes placentaires et neurologiques fœtales chez les femmes enceintes infectées par le hCMV (cytomégalovirus humain) par une méthode non invasive, rapide et fiable, directement à partir du sérum maternel. En effet, au cours de l'infection congénitale par le hCMV, le diagnostic et l'établissement d'un pronostic sont complexes et il n'existe pas de moyens simples permettant de prédire les séquelles neurologiques associées à cette infection pour le fœtus. Nous allons rechercher des biomarqueurs au sein des exosomes placentaires, des nanovésicules sécrétées par le placenta tout le long de la grossesse et qui se retrouvent dans le sérum maternel. En effet, nos résultats préliminaires indiquent que leur composition est modifiée suite à une infection des cellules placentaires par le hCMV.

Méthodologie : Notre projet de recherche s'articule autour de deux axes :

1) Caractériser les exosomes placentaires produits après infection par le hCMV afin d'identifier des biomarqueurs dont l'expression varie suite à l'infection virale. Les exosomes seront purifiés à partir de cellules placentaires infectées ou non par le hCMV et analysés pour déterminer leur composition protéique, lipidique, et en microARN. Nous focaliserons tout particulièrement nos efforts sur les microARN du cluster C19MC, un cluster exprimé spécifiquement dans le placenta des primates et dont certains microARN sont dérégulés dans les pathologies placentaires (pré-éclampsie, retard de croissance intra-utérin...).

2) Vérifier la présence du ou des biomarqueurs précédemment identifiés dans les exosomes issus du sérum des femmes enceintes infectées et corrélér leur présence aux atteintes placentaires et aux éventuelles séquelles neurologiques chez les enfants. Pour cela, nous sommes en train de générer une collection de ressources biologiques à partir de femmes enceintes infectées par le hCMV ou contrôles, et analyserons l'expression des biomarqueurs dans les exosomes issus du sérum de ces femmes. L'expression des biomarqueurs sera corrélée avec l'état du placenta à terme et avec les éventuelles séquelles neurologiques post-natales.

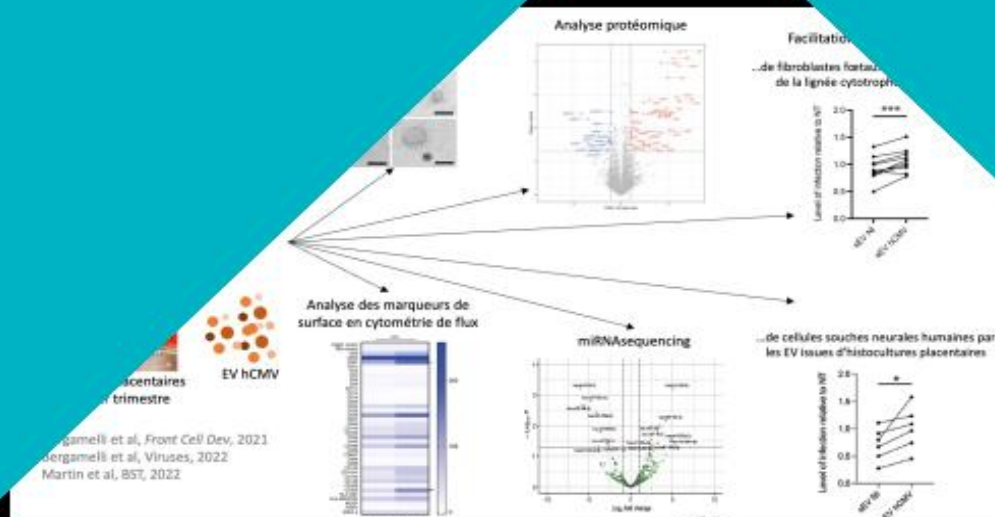
Résultats attendus : L'identification de ces biomarqueurs permettra le développement d'un nouvel outil de pronostic prénatal pour les femmes déclarant une séroconversion pour le hCMV durant leur grossesse. L'obtention de ce nouvel outil permettra d'atténuer l'énorme stress parental lié à l'incertitude qui entoure l'annonce du diagnostic d'une séroconversion, d'améliorer le conseil prénatal auprès des familles et de mieux organiser la prise en charge des nouveau-nés dans les cas de mauvais pronostic. En donnant la possibilité de prédire les éventuelles atteintes placentaires et fœtales liées à l'infection par le hCMV, ce projet relève un vrai défi dans le domaine de la virologie périnatale.

Résultats

Bergamelli, Mathilde, Hélène Martin, Yann Aubert, Jean-Michel Mansuy, Marlène Marcellin, Odile Burlet-Schiltz, Ilse Hurbain, et al. 2022. « Human Cytomegalovirus Modifies Placental Small Extracellular Vesicle Composition to Enhance Infection of Fetal Neural Cells In Vitro ». *Viruses* 14 (9): 2030.

Bergamelli, Mathilde, Hélène Martin, Mélinda Bénard, Jérôme Ausseil, Jean-Michel Mansuy, Ilse Hurbain, Maïlys Mouysset, et al. 2021. « Human Cytomegalovirus Infection Changes the Pattern of Surface Markers of Small Extracellular Vesicles Isolated From First Trimester Placental Long-Term Histocultures ». *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 9 (septembre).

Poster



Résultats

2 Explorer les sEV placentaires comme marqueurs de l'infection congénitale par le hCMV

Pour la première fois, une modification du cargo des EV placentaires a été mise en évidence lors d'une infection par le hCMV, grâce à notre étude. Ces résultats ouvrent la voie à la recherche de biomarqueurs dans le sérum des femmes enceintes, qui va être permise par la constitution de la collection biologique NEUROPLEX.

Quel avenir pour le dépistage prénatal non-invasif en France? Analyse des normes et des pratiques médicales françaises au prisme du modèle belge

NOIVILLE Christine - Centre Normes, Sciences, Techniques, Institut des sciences juridiques et philosophique de la Sorbonne- UMR 8103

[Retour tableau](#)

Résumé

Ce projet de recherche porte sur le dépistage prénatal non invasif (DPNI). Cet examen de dépistage prénatal, qui permet de mettre en évidence une trisomie fœtale par une simple prise de sang maternel, est considéré comme un progrès notable pour les femmes enceintes présentant un risque accru de donner naissance à un enfant atteint de trisomie puisqu'elle leur permet, avec une fiabilité très forte, d'éviter des tests invasifs comme amniocentèse, dont le risque de fausse couche n'est pas nul même s'il est très faible. Avec l'évolution technologique, le DPNI est aujourd'hui susceptible d'apporter des informations sur bien d'autres aneuploïdies fœtales que les trisomies, comme en témoigne le développement de tests d'apportant une quantité de plus en plus vaste d'anomalies. Une telle évolution suscite divers questionnements. En attestent, en France, les récents rapports et avis rendus en vue de la révision de la loi de bioéthique. Entre autonomie et protection, progrès médicaux et eugénisme, ces réflexions indiquent à quel point l'évolution du DPNI cristallise des injonctions contradictoires particulièrement marquées.

En regard du cadre juridique français et des hésitations ou inquiétudes que son évolution suscite, le présent projet de recherche propose d'analyser deux autres modèles dans lesquels un DPNI large, ne se limitant pas à l'analyse du seul ADN des chromosomes 13, 18 et 21, est d'ores et déjà disponible en routine : d'une part, l'hôpital Américain, qui propose, outre le test français, un dépistage étendu avec deux autres tests réalisés aux Etats-Unis ; d'autre part, la Belgique, où, depuis le choix politique de 2017 de rembourser le DPNI pour toute femme enceinte, un grand nombre d'anomalies fœtales est désormais dépisté de manière quasi-systématique.

L'objectif du projet est triple. D'une part, mener l'analyse comparée des normes différentes qui encadrent le DPNI et en étudier l'application dans 4 établissements qui y recourent selon des modalités différentes : deux CPDPN en France et deux établissements de santé en Belgique. D'autre part, le projet vise à permettre de penser plus finement les questions complexes qui sous-tendent le DPNI et, ce faisant, à éclairer les décideurs publics, soignants et citoyens, sur les opportunités et les risques d'en élargir le spectre. Précisons que la question de l'extension du DPNI à l'analyse d'autres aneuploïdies nécessite une réflexion en continu qui ne cessera pas avec la révision de la loi de bioéthique en 2019. Enfin, on mettra en lumière les ressorts éthiques, scientifiques, médicaux, économiques qui sous-tendent les normes relatives au DPNI.

Le projet est porté par 3 juristes bénéficiant de la collaboration d'une sociologue et de 4 équipes médicales (2 en France, 2 en Belgique). Sur le plan méthodologique, il se déroulera sur 24 mois et en deux phases. Une 1ère phase d'état des lieux normatif (12 premiers mois) destinée : à rassembler le corpus de normes ; à recueillir, via un questionnaire à l'intention des CPDPN français et des centres belges de génétique, des données plus spécifiques et opérationnelles ; à faire des entretiens avec des professionnels de santé exerçant dans les 4 établissements de santé précités. Une 2ème phase d'analyse (12 mois suivants) qui étudiera de manière comparative les données recueillies dans la phase précédente, et qui comportera deux volets (décrits dans la méthodologie). 3 séminaires seront organisés avec les chercheurs et praticiens avec lesquels nous collaborerons. Ils seront suivis d'un colloque et d'une publication.

Résultats

Université Sorbonne Paris Nord, IRIS, EHESS, CNRS, UMR 8156, Inserm U997, 74 rue Marcel Cachin, 93 000 Bobigny, France, Carine Vassy, Laurence Brunet, Institut des Sciences Juridiques et Philosophiques de La Sorbonne, Université Paris 1 CNRS, UMR 8103, 1 rue de la glacière, 75013 Paris, France, Christine Noiville, et Institut des Sciences Juridiques et Philosophiques de La Sorbonne, Université Paris 1 CNRS, UMR 8103, 1 rue de la glacière, 75013 Paris, France. 2021. « The Regulation of Non-Invasive Prenatal Testing (NIPT) in France: Continuity and Changes in the Development of Prenatal Testing ». OBM Genetics 6 (1): 1-1. <https://doi.org/10.21926/obm.genet.2201149>.

[Retour tableau](#)

Panels virtuels ciblant les Signes d'Appel Fœtaux Echographiques (SAFE-App) : mise en place d'une base dynamique et collaborative

ATTIE-BITACH Tania - UF Embryofoetopathologie, Service HEC - Fédération de Génétique - Hôpital Necker-Enfants Malades, 149 rue de Sèvres, 75743 Paris Cedex 15

[Retour tableau](#)

Résumé

Contexte : Le diagnostic d'une anomalie structurale du fœtus désormais souvent réalisé en période prénatale (3% des grossesses). La prise en charge se fait alors dans un centre pluridisciplinaire de diagnostic prénatal (CPDPN) dont la mission est de confirmer/infirmier l'anomalie, évaluer son pronostic, sa prise en charge, rechercher des malformations associées et une éventuelle cause génétique le cas échéant. Les analyses génétiques proposées en prénatal comportent la recherche de remaniements chromosomiques mais un diagnostic moléculaire de première intention est très rarement proposé en raison de la lourdeur de la technique Sanger, et il est souvent difficile de relier une ou plusieurs malformations congénitales à l'altération d'un seul gène, et ce particulièrement en prénatal. Un séquençage d'exome est de plus en plus souvent discuté au sein des CPDPN et souhaité par les cliniciens en charge du conseil génétique. Deux études récentes publiées dans le Lancet démontrent la faisabilité et l'apport du séquençage d'exome en prénatal mais soulignent aussi ses défis nécessitant une expertise multidisciplinaire et une plus grande difficulté d'interprétation de variants en prénatal en raison de la méconnaissance des signes prénataux de beaucoup de pathologies, et l'absence de certains signes à cette période. Ainsi, Le nombre de variants prédits délétères mais ne pouvant être classés diagnostiques est élevé, de 10% à 40 % selon l'étude. **Objectifs :** Ce projet propose de mettre en place une base de données comprenant les gènes pouvant conduire à des anomalies fœtales structurales, les mettre en lien avec les signes d'appels visibles à l'imagerie prénatale en perspective de l'analyse de panels virtuels lors de séquençage d'exome ou génome en prénatal. A terme, cette base de données serait mise en ligne, implémentable (dynamique et collaborative) et à disposition des biologistes (ANPGM) et cliniciens en lien avec une activité de prénatal (CPDPN). **Méthodologie :** deux aspects du projet seront menés en parallèle. Au cours de la phase I, seront définies la liste des signes d'appels à cibler et le cahier des charges de la base/application. Au cours de la phase II, pendant la création de l'application par un ingénieur développement recruté pour cette tâche, la liste des gènes sera implémentée en regard de chaque signe d'appel à l'aide de panels malformatifs existants ou généré pour certains signes d'appels échographiques pour lesquels il n'y a pas de panels développés en France. Une fois l'application développée, les données seront importées, et une phase de test sera faite avec les experts participants et un groupe de travail défini avec l'ANPGM. Ils pourront tester l'interface de consultation et de participation à l'ajout de contenu et pourront définir les points à améliorer au niveau fonctionnel et ergonomique.

Poster

SafeApp

Panels virtuels ciblant les Signes d'Appel Fœtaux Echographiques
Mise en place d'une base dynamique et collaborative

Rejoignez une communauté d'experts !



La plus grande difficulté d'interprétation de variants en prénatal est liée à plusieurs facteurs, notamment :

- L'absence de certains signes en prénatal, soit car non accessibles aux techniques d'imagerie (signes fonctionnels), soit parce qu'ils apparaissent plus tardivement, parfois au cours de la grossesse (symptomatologie dynamique au cours des échographies), soit parce qu'ils n'apparaissent qu'en post-natal. Les signes cardinaux d'une pathologie peuvent être absents.
- La méconnaissance des signes prénataux de beaucoup de pathologies, non rapportées ou occasionnellement dans les articles.

➤ L'application Web a été développée pour permettre aux biologistes et cliniciens de partager de manière collaborative, dynamique et sécurisée des gènes en lien avec des signes d'appels échographiques afin de faciliter l'interprétation de variants détectés en contexte de grossesse.

<https://safeapp.institutimagine.org>

CONSULTER

Basé sur les panels actuels existants et les expertises de leurs biologistes référents, plusieurs listes ont déjà été établies en lien avec les signes d'appel échographiques.

Pour les autres signes les panels de gènes seront complétés progressivement de façon collaborative !



EVALUER et IMPLEMENTER

- Classez les gènes d'un signe d'appel dans la catégorie verte (preuves élevées, gène cliniquement exploitable pour ce signe), orange ou rouge (preuves faibles)
- Implémentez la liste !

- Le gène ne présente pas de preuve évidente
- Le gène présente une évidence modérée
- Le gène présente une évidence haute

Fournissez des preuves à l'appui de votre classement, y compris les publications et votre expérience.

PARTAGER DES PANELS VIRTUELS

Créez vos propres panels groupés par physiopathologie / groupe clinique.

Choisissez de les partager de manière collaborative et sécurisée avec la communauté SafeApp.



SAFEAPP ARCHITECTURE LOGICIELLE



Année: 2021

Dépistage PRÉcoce des CARDIopathies sévères chez les FOETus à risque élevé de cardiopathie (PRÉCAFOET)

LACHAUD Matthias - Département de Génétique et Procréation

Hôpital Couple Enfant

CHU GRENOBLE-ALPES

CS 10217

38043 Grenoble Cedex 9

[Retour tableau](#)

Résumé

En 2020, l'amélioration des moyens techniques échographiques de dépistage permet d'envisager de manière fiable un dépistage au premier trimestre des cardiopathies sévères.

L'objectif principal du projet est d'évaluer, dans le système de soins français, la performance d'un dépistage échographique précoce de cardiopathie sévère entre 11 et 14SA en population à haut risque (Clarté nucale augmentées, antécédent familial au 1er degrés d'une cardiopathie, malformation suspectée à l'écho de dépistage du 1er trimestre).

Les objectifs secondaires sont l'évaluation de la capacité à établir un pronostic lorsqu'une cardiopathie est dépistée au premier trimestre et le retentissement d'une stratégie de dépistage précoce des cardiopathies sévères sur l'état d'anxiété de la patiente.

On peut s'attendre à une bonne performance diagnostic (sensibilité, spécificité) pour le dépistage des cardiopathie graves offrant la possibilité aux couples pour lesquels le fœtus est à risque de cardiopathie, d'avoir accès à des réponses précoces sur la présence ou non d'une cardiopathie grave modifiant significativement le pronostic de l'enfant. Le temps d'attente pour le couple serait réduit d'environ 2 mois, offrant la possibilité d'un accès éventuel à une interruption de grossesse dans des conditions moins à risque et moins traumatisantes car plus précoces. Si le couple désire poursuivre la grossesse, un accompagnement psychologique pourrait débuter plus précocement.

On peut également s'attendre à une diminution significative du stress chez les parents pour lesquels l'échographie précoce est normale.

Etant la première étude menée en France sur une stratégie de dépistage précoce des cardiopathies dans une population à haut risque, les résultats pourraient aboutir à une réflexion du Collège Français d'Echographie Foetale

et du Collège National des Gynécologues-Obstétriciens Français sur la stratégie du dépistage des femmes à haut
risque de cardiopathie incluant un
dépistage au 1er trimestre.

Il s'agit d'une étude prospective, multicentrique de performance diagnostique.

Les patientes incluses dans l'étude, bénéficieront d'une échographie morphologique précoce centrée sur le coeur (EchoMorpho-T1) par un échographiste référent entre 11 et 14 SA +/- d'une échographie cardiaque foetale précoce (EchoCoeur-T1) entre 11 et 15 SA par un cardio-pédiatre en cas d'anomalie à l'EchoMorpho-T1.

Les résultats des échographies précoces morphologique et cardiaque seront confrontés à ceux des « gold standards », l'échographie du 2ème trimestre à 18-22SA (« EchoMorpho-T2 ») +/- l'échographie cardiaque foetale entre 18SA et 24SA ou à l'examen anatomopathologique si une interruption médicale de grossesse ou une mort foetale in utero a eu lieu avant l'EchoMorpho-T2.

[Retour tableau](#)

Apport de la détection non-invasive d'anomalies chromosomiques fœtales lors d'une récurrence de fausses-couches

CHATRON Nicolas - Service de Génétique – Pr Sanlaville - Centre de Biologie Pathologie Est – 2ème étage, Groupement Hospitalier Est, 59 boulevard Pinel, 69677 Bron Cedex

[Retour tableau](#)

Résumé

La survenue de fausses-couches récurrentes est une situation douloureuse pour le couple faisant évoquer une prédisposition pathologique. Après la troisième fausse-couche le Collège National des Gynécologues Obstétriciens Français (CNGOF) recommande la réalisation d'un bilan médical exhaustif en vue d'une prise en charge dédiée pour réduire le risque d'une nouvelle récurrence. Cette situation concerne 2% des couples mais ce bilan n'identifiera une prédisposition (anatomique, endocrinologique, génétique, ...) que dans la moitié des cas. La recherche d'anomalies chromosomiques fœtales ne fait pas aujourd'hui partie de ce bilan. Pourtant, la présence d'une anomalie chromosomique déséquilibrée est identifiée dans plus de 40% des fausses-couches (initiale ou récurrente) et peut alors être directement considéré comme causale. Néanmoins, cette recherche est techniquement difficile, soumise selon la technologie utilisée (caryotype ou analyse chromosomique sur puce à ADN) à un fort risque d'échec, au risque de contamination maternelle. Dans tous les cas il est nécessaire d'avoir accès à du matériel fœtal analysable.

Les premières données de la littérature sont en faveur de la faisabilité de cette analyse cytogénétique par étude de l'ADN libre circulant (ADNlc) à la manière de ce qui se fait pour le test ADNlc pour le dépistage prénatal non invasif de la trisomie 21. Nous adaptons actuellement le test pour cette indication au sein de notre laboratoire et souhaitons réaliser une étude d'intérêt médical de ce test dans ce contexte.

Notre hypothèse est que le résultat de ce test est un facteur pronostic majeur de la probabilité d'identifier une prédisposition lors du bilan recommandé par les sociétés savantes. Ainsi la réalisation de ce test pourrait modifier le contenu et la temporalité du bilan actuellement recommandé. Pour cette étude les services de gynécologie-obstétrique des CHU de Lyon et de Strasbourg incluront 80 patientes présentant une troisième fausse-couche pour réalisation d'un test chromosomique non invasif en sus du bilan de fausses couches récurrentes recommandé par le Collège National des Gynéco-Obstétriciens Français. De plus, le test chromosomique cumulé au bilan de fausses couches devrait pouvoir donner à une forte proportion de couples « une explication » possible à cet événement traumatisant. Nous souhaitons mesurer les conséquences psychologiques de ce nouveau test et du fait que les couples ne restent plus sans cause identifiée, qu'il soit possible ou non d'agir dessus en vue d'une prochaine grossesse. Pour cela un suivi à un an sera réalisé.

Au total, il s'agirait de la première étude sur l'utilité clinique du test ADNlc dans le contexte de fausses couches à répétition portant aussi bien sur les aspects médicaux que psychologiques en vue d'une possible utilisation dans le soin.

[Retour tableau](#)

Haplotypage direct à partir de données de séquençage Nanopore : application au diagnostic non invasif des maladies monogéniques

NECTOUX Juliette - Service de Médecine Génomique des Maladies de Système et d'Organe - APHP.Centre Université de Paris - Fédération de Génétique et de Médecine Génomique -Hôpital Cochin - Bâtiment Jean Dausset - 27 rue du faubourg Saint Jacques - 75014 Paris, France

[Retour tableau](#)

Résumé

Contexte. Pour diminuer les risques de perte fœtale liés au prélèvement invasif mis en œuvre lors du diagnostic prénatal des maladies génétiques, des méthodes non invasives de diagnostic prénatal ont été développées, basées sur l'étude de l'ADN fœtal circulant dans le sang maternel. Le diagnostic prénatal non invasif pour les maladies monogéniques (DPNIgene) a été largement adopté par les patientes. Cependant, ses applications sont limitées à l'exclusion des variants pathogènes paternels ou de novo, l'étude de la transmission des variants maternels restant très complexe du fait de la présence prépondérante de l'ADN maternel environnant.

Lors de nos travaux précédents, nous avons développé une méthode non invasive de DPNIgene, applicable quel que soit le mode de transmission ou la nature de l'anomalie génétique. Cette méthode est dérivée de la méthode RHDO (Relative Haplotype Dosage), proposée par Dennis Lo en 2010. Après une étape indispensable de reconstruction et de caractérisation des haplotypes parentaux « à risque » et « non à risque », l'approche RHDO permet d'identifier à partir d'une prise de sang maternel quels haplotypes paternel et maternel ont été transmis au fœtus, et donc de déterminer le statut atteint ou non atteint de celui-ci. Cependant, la limite majeure de cette approche est la nécessité d'avoir accès à l'ADN d'un cas index (1er enfant atteint par exemple) pour permettre le phasage des haplotypes parentaux.

Objectif. Développer une méthode de séquençage de longs fragments d'ADN permettant de distinguer les haplotypes parentaux et de les phaser avec le variant pathogène, afin de définir les 4 haplotypes suivants : haplotype maternel à risque et non à risque, haplotype paternel à risque et non à risque. Cette étape sera suivie de l'analyse RHDO qui, in fine, permettra de déterminer le statut atteint ou non atteint du fœtus à partir d'une simple prise de sang de la femme enceinte. L'intérêt de cette étape préliminaire de séquençage long fragment des ADN parentaux est de surmonter la principale limite de l'approche de DPNIgene déjà développée, à savoir la nécessité d'avoir accès à l'ADN d'un cas index (1er enfant atteint par exemple) pour permettre le phasage des haplotypes parentaux.

Méthodologie. Différentes approches basées sur l'utilisation de la technologie ONT (Oxford Nanopore Technologies) seront mises en œuvre et comparées :

amplification par PCR long range de la région génomique encadrant le gène d'intérêt

enrichissement de la région d'intérêt par digestion CRISPR/cas9

méthode d'adaptive sampling » récemment développée par ONT, permettant la sélection électronique en temps réel des molécules d'intérêt

Résultats attendus. Le séquençage long fragment de la région génomique encadrant le gène d'intérêt chez les parents à risque de transmettre une maladie monogénique à leur enfant permettra d'identifier et de distinguer chaque haplotype parental, tout en le phasant avec le variant pathogène impliqué dans la maladie, sans avoir recours à l'étude de l'ADN d'un cas index. Notre approche de DPNIgene pourra donc être proposée quelle que soit la maladie monogénique, son mode de transmission, la nature de l'anomalie génétique et la structure de la famille

concernée (disponibilité d'un cas index ou non). La mise en œuvre clinique d'un tel test permettra d'améliorer la prise en charge des patients à risque de transmettre des maladies génétiques, ainsi que la qualité de vie des familles touchées par ces pathologies.

Résultats

Verebi, Camille, Victor Gravrand, Claire Guerini, et al. 2025. « The Value of Enhancing Sonographic Phenotyping to Improve the Diagnostic Yield of Noninvasive Prenatal Diagnosis (NIPD) for Achondroplasia ». *Prenatal Diagnosis* 45 (11): 1433-41. <https://doi.org/10.1002/pd.6874>.

[Retour tableau](#)

PRENATOME : Développement d'un DPNI d'exclusion pour 99 maladies monogéniques par séquençage haut débit

CHARBIT-HENRION Fabienne - Service de Médecine Génomique des Maladies Rares - Hôpital Necker Enfants Malades

[Retour tableau](#)

Résumé

Objectifs

Pour les couples à risque de transmission d'une maladie monogénique incurable et d'une particulière gravité, le diagnostic prénatal (DPN) est vécu comme trop tardif, invasif, et anxiogène du fait du risque de perte fœtale (<0.5%). Depuis la mise en évidence d'une fraction faible d'ADN fœtal (cffADN) au sein de l'ADN circulant maternel (5-20%), des techniques de DPN non invasif (DPNI) se développent. Actuellement, le DPNI est essentiellement accessible pour :

- 1) des anomalies chromosomiques,
- 2) un diagnostic de sexe,
- 3) l'exclusion de variants pathogènes non portés par la mère.

Cependant ces DPNI d'exclusion ne sont possibles que pour des variants génétiques fréquents. Si le DPNI d'exclusion est une technique validée, déjà implémentée en pratique courante pour certaines indications en Europe (1), son évaluation a été réalisée sur des échantillons trop faibles pour estimer les risques d'erreurs (faux positifs (FP) et faux négatifs (FN)). L'incertitude sur ces risques d'erreurs entraîne des pratiques hétérogènes. Le Projet PRENATOME propose d'évaluer précisément les risques d'erreur (taux FP/FN) d'un DPNI d'exclusion par séquençage haut débit (SHD), par rapport à la procédure de référence sur prélèvement invasif (biopsie de trophoblaste (BT) ou amniocentèse (LA)), en utilisant un même réactif permettant de tester 99 gènes, représentant la moitié des indications de notre centre de diagnostic prénatal.

Résultats attendus

La faisabilité et la fiabilité du DPNI d'exclusion par SHD seront évaluées en comparant les résultats de séquençage obtenus à partir du cffADN à ceux obtenus à partir de l'ADN fœtal extrait d'un prélèvement invasif. De plus, une évaluation médico-économique comparera le surcoût lié à la mise en place de ce DPNI (recours au SHD) face aux économies réalisées par la diminution du nombre de prélèvements invasifs.

Méthodes

200 patientes enceintes et souhaitant bénéficier d'un DPN dans notre centre seront incluses pendant une période de deux ans, si elles sont à risque de transmettre une maladie monogénique dont le gène est inclus sur le panel. Le cffADN, extrait à partir d'un prélèvement sanguin réalisé dès 10 semaines d'aménorrhée et avant tout prélèvement invasif, sera capturé grâce à un robot automatisé, puis séquençé à haut débit. Les résultats issus du SHD (détection du variant pathogène) seront comparés aux résultats obtenus par DPN conventionnel sur prélèvement invasif.

Conclusion

Le centre de diagnostic prénatal de l'hôpital Necker-Enfants Malades réalise un grand nombre de DPN pour des maladies monogéniques très variées. Notre ambition est d'ouvrir la possibilité d'un DPNI d'exclusion à la majorité des couples, par SHD entièrement automatisé, sans étape préliminaire de mise au point, afin de permettre un diagnostic prénatal plus précoce, et d'éviter le recours à un prélèvement invasif.

[Retour tableau](#)

Apport de la cartographie optique du génome dans le diagnostic prénatal des clartés nucales élevées

GOURMY Carole - Service de Cytogénétique Médicale - CHU ESTAIN

[Retour tableau](#)

Résumé

La cartographie optique du génome (COG) est fondée sur l'extraction de molécules ADN de très haut poids moléculaire, marquées en fluorescence, puis linéarisées afin de pouvoir migrer dans des nanocanaux où sont capturées les images de leur fluorescence. Ces images sont numérisées, et converties en molécules qui sont assemblées pour créer de larges cartes continues, permettant, après comparaison à un génome de référence, d'identifier les remaniements de structure et les variations du nombre de copies, avec une sensibilité supérieure à 99%. La COG est capable de mettre en évidence des anomalies chromosomiques de nombre et de structure, équilibrées ou non, avec une résolution bien supérieure à celle des techniques pangénomiques actuellement utilisées dans les laboratoires de cytogénétique (caryotype et Analyse Chromosomique sur Puce à ADN ou ACPA). Plusieurs études rétrospectives en postnatal et en onco-hématologie, ont montré 100% de concordance entre les résultats de COG et ceux des techniques usuelles de cytogénétique et une meilleure performance diagnostique. En effet, la COG permet la détection d'anomalies additionnelles d'intérêt clinique et la caractérisation plus précise des anomalies. En prénatal, une seule étude rétrospective réalisée à partir de cultures cellulaires fraîches a souligné sa faisabilité et sa performance.

Nos premiers résultats à partir de 37 cultures de villosités choriales (VC) et de liquide amniotique (LA) montrent la faisabilité et les performances de la COG (résultats en cours de publication). Nous avons pu définir les conditions idéales de préparation et de stockage des échantillons.

Nous souhaitons poursuivre nos travaux actuels par une nouvelle étude prospective en prénatal pour évaluer l'apport de la COG en cas de clarté nucale ≥ 4 mm persistante au contrôle échographique de 16 semaines d'aménorrhée, lorsque le caryotype et/ou l'ACPA n'ont pas mis en évidence d'anomalie pathogène. Un séquençage d'exome est aujourd'hui réalisé systématiquement dans cette indication lorsque l'ACPA est normale (laboratoire Cerba).

Pour ce projet, 40 cartographies seront réalisées sur l'instrument Saphir de Bionano® à partir de culots cellulaires congelés (cultures de VC). La partie pré-analytique (sélection, préparation et congélation des échantillons) sera réalisée par le coordinateur de l'étude dans le service de cytogénétique du CHU de Clermont-Ferrand et la partie analytique se fera sur la plateforme de séquençage et génotypage Gentyane de Clermont-Ferrand. L'interprétation des résultats sera faite par le coordinateur à l'aide du logiciel Bionano Access et en collaboration avec des biologistes disposant de l'agrément de génétique moléculaire pour l'interprétation des petites variations de structure (VS) intragéniques. Nous évaluerons le taux de détection d'anomalies de structure chromosomiques, de CNVs et de VS cliniquement significatives mises en évidence par COG ainsi que les éventuelles limites de cette technique (taux d'échecs, taux de faux positifs). La comparaison des résultats de COG à ceux du séquençage d'exome permettra également de définir l'apport respectif de chacune de ces approches et la place de cette nouvelle technologie dans la stratégie de diagnostic prénatal des clartés nucales élevées.

[Retour tableau](#)

Développement de la thérapie cellulaire dans le traitement prénatal des myéloméningocèles

GUILBAUD Lucie - Hôpital Saint-Louis - Unité de Thérapie Cellulaire, UMR 976, Paris

[Retour tableau](#)

Résumé

Objectifs

La chirurgie in-utero des myéloméningocèles (MMC) apporte un bénéfice cérébral et moteur pour les enfants à naître en comparaison à la chirurgie post-natale, mais ce bénéfice reste partiel avec la moitié des enfants qui nécessitent un appareillage pour marcher et des sondages urinaires quotidiens. Afin d'améliorer la réparation de la moelle et le pronostic des enfants, nous développons la thérapie cellulaire comme traitement adjuvant de la chirurgie in utero des MMC depuis 5 ans, chez le modèle ovin de MMC.

Nos objectifs pour les trois années à venir sont les suivants :

- consolider nos travaux expérimentaux chez le modèle ovin de MMC afin de démontrer l'innocuité de l'utilisation des cellules stromales mésenchymateuses de cordons ombilicaux (CSM-CO) comme traitement adjuvant de la chirurgie in utero des MMC à moyen terme,
- développer la fabrication des patchs de CSM-CO selon les bonnes pratiques cliniques
- déposer une demande d'autorisation d'essai clinique utilisant les CSM-CO comme thérapie adjuvante de la chirurgie in utero auprès de l'ANSM.

Par ailleurs, les mécanismes d'action des CSM-CO n'étant pas tout à fait élucidés, l'étude de l'activité paracrine neuroprotectrice et antifibrotique sera évaluée.

Résultats attendus

Nous aimerions renforcer nos données sur le bénéfice et l'innocuité des CSM-CO à long terme en maintenant en vie les agneaux 6 mois, ce qui n'était pas le cas durant les années précédentes d'expérimentations (maintien en vie 24h). De manière parallèle, nous aimerions montrer que la neuroprotection apportée par la greffe des CSM-CO serait corrélée avec la sécrétion in vitro et in vivo de facteurs neuroprotecteurs et que la diminution de la fibrose serait corrélée avec la sécrétion de facteurs antifibrotiques par ces mêmes cellules.

Méthodologie

Notre projet se déroulera sur trois années:

La première année (2022-2023) consistera en la création des patchs de CSM-CO destinés aux expérimentations précliniques chez le modèle ovin et les chirurgies expérimentales avec comparaison de deux groupes (un groupe bénéficiant d'une réparation avec patch de CSM-CO et un groupe bénéficiant d'une réparation avec patch acellulaire). Les chirurgies auront lieu à l'École vétérinaire de Maisons-Alfort.

L'année 2023-2024 permettra l'étude des agneaux traités in-utero à 6 mois de vie afin d'évaluer l'innocuité et le bénéfice de l'utilisation des CSM-CO à moyen terme. Nous élaborerons aussi le protocole de production du patch

à un grade clinique en vue d'une application chez l'humain. Ceci sera permis grâce à l'expertise du Centre MEARY de Thérapie cellulaire de l'Hôpital Saint-Louis.

Enfin, l'année 2024-2025 permettra d'envisager l'application translationnelle chez l'humain avec réalisation d'un essai de phase I/II.

De manière parallèle sur les trois années, des expérimentations in vitro seront entreprises afin d'étudier le sécrétome des CSM-CO et leurs activités neuroprotectrices et antifibrotiques.

[Retour tableau](#)

Année: 2023

Adaptation de la technique de puces SNP au Diagnostic Préimplantatoire en France

LAUER ZILLHARDT Julia - UF 9327 - Unité de Diagnostic Préimplantatoire

CHU de Strasbourg

[Retour tableau](#)

Résumé

Le Diagnostic Préimplantatoire (DPI) est destiné à éviter aux couples à risque, de donner naissance à des enfants atteints d'une maladie héréditaire.

En France, cette activité est réglementée par l'Article L2131-4 et suivants du Code de la Santé publique. Ces textes n'autorisent que la recherche de l'affection transmissible en excluant tout autre diagnostic, c'est pourquoi le DPI est réalisé par des techniques ciblées qui n'analysent pas la totalité du génome:

- par cytogénétique moléculaire, basée sur l'Hybridation in Situ Fluorescence (FISH), pour les anomalies chromosomiques
- par Biologie moléculaire (amplification ciblée par PCR) pour l'étude des maladies géniques.

Souvent, ces techniques nécessitent d'être adaptées spécifiquement pour un couple, ce qui peut être long et coûteux.

Nous proposons d'évaluer la possibilité d'adapter le caryotype moléculaire aux exigences de la loi française. Cette technique, réalisée sur puces de SNPs, sera ensuite utilisable sans adaptation pour une grande partie des indications de DPI (pour indications cytogénétique et moléculaires).

Objectif de l'étude :

Mettre au point une technique de DPI utilisable sans mise au point spécifique pour la plupart des analyses de déséquilibre chromosomique ou de maladie monogénique familiale ;

Contraintes :

- Limiter l'analyse à la pathologie recherchée ;
- Restreindre au(x) chromosome(s) impliqué(s) pour les indications de cytogénétique ;
- Restreindre à la région entourant le gène en cause pour les pathologies géniques ;
- Eviter les diagnostics sans rapport avec l'affection (données incidentes) en excluant au préalable les CNV (Copy Number Variation = variations du nombre de copies) connus.

Méthode :

Prérequis : Tests sur profils d'ACPA jusqu'à obtention d'une analyse ciblée uniquement sur la ou les régions d'intérêt

Analyse de polymorphismes des nucléotides simples (SNP) sur de petites quantités de cellules

Tests sur prélèvements en trios à partir d'ADNs de couples ayant donné leur accord pour la réalisation d'un DPI spécifique à la pathologie

Valider la technique : tests à partir d'embryons (embryons déjà analysés et non transférables, échantillons embryonnaires de DPI amplifiés par MDA...) en comparant avec les techniques accréditées qui ont été utilisées pour le DPI

Moyens :

Bioinformatique

Puces et réactifs QSP 192 tests

Kit MDA QSP 72 réactions

[Retour tableau](#)

Dépistage des anomalies congénitales par l'échographie systématique du troisième trimestre et impact sur les résultats de santé

MONIER Isabelle - EPOPé Inserm - Maternité Port-Royal

[Retour tableau](#)

Résumé

Objectifs

- 1) Estimer la proportion d'anomalies congénitales dépistées en prénatal pour la première fois à l'échographie systématique du troisième trimestre
- 2) Décrire les anomalies congénitales dépistées à l'échographie du troisième trimestre
- 3) Mesurer l'impact du dépistage d'une anomalie congénitale à l'échographie du troisième trimestre sur la prise en charge médicale et les résultats de santé

Méthodologie

La population d'étude inclura tous les fœtus et enfants avec une malformation issus du registre des malformations congénitales de Paris en 2001- 2020 qui, enregistre en population parisienne, tous les cas d'anomalies congénitales et/ou génétiques détectées en prénatal et durant la première semaine de vie parmi les naissances vivantes, les mort-nés (≥ 22 SA), ainsi que les interruptions médicales de grossesse quel que soit l'âge gestationnel. Nous utiliserons les informations collectées sur les résultats des examens prénataux à partir du dossier médical, en particulier sur l'échographie systématique du troisième trimestre. Une classification des anomalies congénitales sera établie selon leur sévérité en se basant sur des classifications précédemment utilisées dans la littérature et à l'aide de deux experts en médecine fœtale. Nous comparerons les issues de grossesse et les résultats de santé des enfants selon le moment de détection de l'anomalie (avant ou à l'échographie du troisième trimestre). A partir des données du registre des malformations congénitales de Paris appariées aux données du Système National des Données de Santé (SNDS), nous estimerons le nombre d'enfants nés vivants non dépistés avec une anomalie congénitale et décrirons leur parcours de soins.

Résultats attendus

Ce projet fournira des informations actuellement peu connues en France sur l'apport de l'échographie du troisième trimestre pour le dépistage prénatal des anomalies congénitales. Nous nous attendons à ce que peu d'anomalies congénitales soient nouvellement détectées par l'échographie du troisième trimestre, et que l'impact du dépistage d'une anomalie congénitale au troisième trimestre soit différent selon le type et la sévérité de l'anomalie. Nous évaluerons également le devenir des enfants non dépistés avec une anomalie congénitale à l'aide des données appariées au SNDS. Les résultats de ce projet pourront être à l'initiative de travaux de réflexion sur la pertinence de l'échographie du troisième trimestre pour le dépistage prénatal des anomalies congénitales. Ils pourront également initier d'autres travaux de recherche sur l'impact de la découverte d'une anomalie congénitale à l'échographie du troisième trimestre sur la prise en charge et aussi sur le vécu des couples.

[Retour tableau](#)

Dépistage Prénatal Non Invasif par analyse de l'ADN libre circulant et cancers maternels

VIVANTI Alexandre - CPDPN- Paris Saclay - Hôpital Antoine Bécère

[Retour tableau](#)

Résumé

L'analyse de l'ADN libre circulant (ADNlc) est proposée dans le cadre du dépistage de la trisomie 21 (T21) en France depuis 2018. Entre 2011, date de l'introduction de la technique Next-Generation Sequencing (NGS) en France, et 2022 il a été progressivement possible de dépister la T21 puis les trisomies 13 et 18 (T13 et T18) puis d'autres anomalies chromosomiques dont les trisomies autosomiques rares et anomalies de structures déséquilibrées supérieures à 7 Mb (dépistage étendu). Depuis 2015, des découvertes de cancers maternels dépistés lors du dépistage réalisé dans le contexte du dépistage des aneuploïdies fœtales ont donné lieu à des cases reports ou des petites séries car ces situations sont très rares. Une suspicion de cancer dans ce contexte est considérée comme une donnée incidente et le résultat du test n'est pas rendu à la patiente (en France) dans l'état actuel des connaissances. Les situations cliniques décrites dans les papiers relatant les expériences belges, hollandaises et américaines sont complexes et génératrices de prise en charge lourdes et d'angoisse.

L'objectif principal de cette étude est d'identifier de potentielles associations "anomalies chromosomiques spécifiques et cancers spécifiques" à partir des résultats du test d'ADNlc étendu utilisé habituellement pour le dépistage des aneuploïdies fœtales, grâce à des analyses cas-témoins dans une population de patientes enceintes et atteintes d'un cancer (patientes cas) comparée à une population de témoins.

Cette étude est rendue possible par l'existence du réseau français national CALG qui permet la prise en charge pluridisciplinaire de patientes enceintes atteintes d'un cancer. La proposition de participation à l'étude sera faite par le médecin responsable de la Réunion de Concertation Pluridisciplinaire hebdomadaire du réseau et l'inclusion se fera grâce à l'envoi d'une note d'information et d'un consentement dématérialisés, à travers la plateforme d'essais décentralisés qui est en train d'être établie par l'AP-HP.

Il s'agit d'une étude cas-témoins de faisabilité, exploratoire, sans bénéfice direct, dont le nombre de sujets à inclure correspondra à la capacité d'inclusion conférée par le réseau CALG (200 patientes par an). La population témoin sera identifiée par appariement (1:4) à partir de la population de femmes enceintes ayant eu un DPNI en première intention et sans cancer connu au moment du prélèvement pour le DPNI.

Le processus analytique est celui du test VeriSeq® utilisé pour le dépistage des aneuploïdies.

Cette étude va permettre d'aider à gérer les situations de résultats difficiles à interpréter que sont les suspicions de pathologie cancéreuse maternelle. Elle permettra de cibler des anomalies chromosomiques spécifiques à tester qui potentiellement pourront faire partie des recommandations et dans un second temps pourrait permettre une harmonisation des pratiques des biologistes réalisant le dépistage des anomalies chromosomiques fœtales par ADNlc.

Année: 2024

Mise au point de l'extraction d'ADN à partir de prélèvements sanguins pour le séquençage du génome à des fins de dépistage néonatal

BEZIEAU Stéphane - Laboratoire de génétique moléculaire

CHU de Nantes

[Retour tableau](#)

Résumé

Le projet de recherche déposé dans le cadre de cet appel d'offre permettra de développer et valider une technique d'extraction d'ADN haut débit pour la mise en place du dépistage néonatal (DNN) par séquençage du génome en première intention. Ce travail est un pré-requis dans une perspective d'augmentation du nombre de maladies génétiques dépistées par une analyse ciblée d'une liste de gènes responsables de maladies rares à début précoce (<5 ans) traitables / actionnables.

Grâce à un partenariat avec l'Institut de Recherche Criminelle de la Gendarmerie Nationale (IRCGN) et la plateforme Genomics Atlantic (GenoA), nous avons prévu de tester deux types de supports pour préserver à température ambiante un échantillon de sang : un écouvillon et un papier buvard. Nous allons également comparer les performances de l'automatisation de la technique d'extraction d'ADN à partir de ces supports par rapport à une extraction manuelle.

Ceci permettra de valider un protocole de prélèvement sanguin et d'analyse que nous diffuserons aux équipes qui participeront à la mise en place nationale du dépistage néonatal génomique.

A cette fin, nous allons prélever un échantillon de sang chez des patients adultes, le déposer sur l'écouvillon et le papier buvard sélectionné et procéder à partir de ces supports à l'extraction d'ADN génomique à partir d'un même kit d'extraction commercial selon deux protocoles, automatisé et manuel, pour en comparer les résultats. Les librairies d'ADN seront ensuite préparées et certaines seront séquencées, puis les données traitées et interprétées grâce au portail collaboratif DIAGHO développé dans la région Grand Ouest.

Ce projet s'inscrit dans l'axe 4 (Développer une recherche intégrée en médecine multi-omique) de la FHU (Fédération Hospitalo-Universitaire) GenOMeds (Génétique Omiques Médecine et Société), labellisée en 2022 et coordonnée par les Pr. Bézieau et Odent.

[Retour tableau](#)

Vésicules extracellulaires placentaires et infection congénitale par le cytomégalo virus : un nouveau biomarqueur ?

MALNOU Cécile - Equipe 7 - INSERM UMR1291 – CNRS UMR5051 - Toulouse

[Retour tableau](#)

Résumé

Objectifs : Notre objectif est de caractériser une collection biologique, déjà constituée, d'échantillons de femmes enceintes ayant contracté une infection à cytomégalo virus (hCMV), ou une réactivation du virus, au cours de leur grossesse. Nous allons isoler et caractériser les petites vésicules extracellulaires (sEV) du liquide amniotique et du plasma, dont une proportion très importante provient du placenta. Nous évaluerons si l'on peut corréliser leur composition en miRNA et leur phénotype fonctionnel aux atteintes fœtales. En effet, nos résultats antérieurs ont montré une dérégulation de la composition et de la fonction des sEV placentaires à partir de différents modèles (cellulaires in vitro et tissulaires ex vivo) après infection par le hCMV. Notre objectif translationnel est désormais d'examiner si ces modifications sont retrouvées in vivo et, à long terme, d'identifier des biomarqueurs pronostiques permettant de prédire les atteintes fœtales liées au hCMV par une méthode non invasive, rapide et fiable, directement à partir du plasma maternel.

Méthodologie : Notre projet de recherche se base sur une collection biologique constituée de couples mère/fœtus avec ou sans infection à hCMV (liquides amniotiques, plasmas maternels et données cliniques associées). Le programme de recherche s'articule autour de deux axes :

- 1) Etudier la composition en miRNA des sEV afin d'identifier des biomarqueurs dont l'expression varie suite à l'infection virale. Les sEV seront purifiées à partir des échantillons de liquide amniotique et de plasma de femmes enceintes infectées ou non par le hCMV, et leur composition en miARN sera déterminée par séquençage. Nous analyserons en particulier les miARN du cluster C19MC, un cluster spécifique du placenta dont certains miARN sont dérégulés dans des pathologies gravidiques.
- 2) Etudier le phénotype fonctionnel des sEV, en particulier leur effet proviral dans des tests d'infection in vitro sur des cellules cibles.

Résultats attendus : Malgré les progrès biologiques et échographiques de suivi des infections congénitales par le hCMV, il n'existe actuellement pas de moyen pronostique permettant de prédire le développement de séquelles infantiles de type neurosensoriel. L'identification d'un biomarqueur dans les sEV permettra d'établir un nouvel outil de pronostic prénatal pour les femmes déclarant une séroconversion pour le hCMV ou une réactivation du virus durant leur grossesse. Ce nouvel outil pronostique permettra d'atténuer le stress parental lié à l'incertitude qui entoure l'annonce du diagnostic d'une séroconversion, d'améliorer le conseil auprès des familles, de mieux organiser la prise en charge des enfants en cas de mauvais pronostic et ainsi de limiter le développement de handicap par un suivi précoce. En donnant la possibilité de prédire les éventuelles atteintes placentaires et fœtales liées à l'infection par le hCMV, ce projet relève un vrai défi dans le domaine de la virologie périnatale.

Résultats

Martin, Charlène, Mathilde Bergamelli, Hélène Martin, Mélinda Bénard, Charlotte Tscherning, et Cécile E. Malnou. 2025. « Human placental models for studying viral infections ». *Current Opinion in Virology* 71 (avril): 101454. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2025.101454>.

Martin, Hélène, Charlène Martin, Loïc Guimbaud, Delphine Duchanois, Paul Guerby, et Cécile E. Malnou. 2025. « Ex Vivo Culture of Human Placental Explants for the Study of Viral Transmission Across the Maternal-Fetal Interface ». Journal of Visualized Experiments (JoVE), n° 226 (décembre): e69525. <https://doi.org/10.3791/69525>.

[Retour tableau](#)

PRESAGE : Etude Pilote sur la faisabilité du séquençage d'ARN pour le diagnostic prénatal de la Sclérose Tubéreuse de Bourneville

BRIS Céline - Institut de Biologie en Santé

Service de Génétique

CHU d'Angers

[Retour tableau](#)

Résumé

Objectif :

La Sclérose Tubéreuse de Bourneville (STB) est une maladie multisystémique rare, caractérisée par une grande variabilité inter- et intrafamiliale dans l'âge d'apparition et la sévérité des symptômes. De transmission autosomique dominante, elle est causée par une variation pathogène du gène TSC1 ou TSC2. Si des critères cliniques permettent d'établir aisément un diagnostic de STB en post-natal, ceux-ci restent insuffisants en anténatal. A cette période, les uniques signes de STB pouvant être retrouvés, mais de manière inconstante, sont les rhabdomyomes cardiaques (RC) dès 24 semaines d'aménorrhée (SA), tubers corticaux, nodules sous-épendymaires (SEN), exceptionnellement un astrocytome géant sous-épendymaire ou des kystes rénaux apparaissant plus tardivement.

La variabilité importante de la maladie, l'absence de critères cliniques spécifiques à la période prénatale ainsi que de marqueurs permettant de préciser le pronostic cognitif, rendent le diagnostic génétique moléculaire important pour accompagner les parents dans leur prise de décision dans la prise en charge de la grossesse, puis de leur donner un conseil génétique adapté. Or, une étude rétrospective, menée dans le cadre de notre activité de laboratoire de référence, montre, sur une série de 240 fœtus présentant des signes anténataux évocateurs de STB, qu'un diagnostic moléculaire n'a pu être établi que chez 50 % des fœtus qui présentaient initialement un RC unique et 80,3 % en cas de RC multiples. Il est par conséquent nécessaire d'améliorer ce rendement diagnostique.

Depuis une dizaine d'année, le séquençage de l'ARN (RNAseq) a montré une amélioration du rendement diagnostique en génétique post-natale, entre 7,5 et 35% en fonction des études, puis plus récemment pour le diagnostic prénatal.

Basé sur cette évidence, nous souhaitons à travers le projet PRESAGE, proposer une étude pilote pour évaluer la faisabilité et l'apport du RNAseq en prénatal pour le diagnostic anténatal des suspicions de STB.

Patientes et méthodes :

Suite à la découverte échographique de signes évocateurs d'une STB, et après avis d'un Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal, une ponction de liquide amniotique (PLA) est proposée en soin courant chez 25 femmes (terme entre 18 et 34 SA).

Le prélèvement de liquide amniotique sera réalisé dans le cadre du soin courant ainsi que les analyses moléculaires (Séquençage haut débit et MLPA) ainsi que la culture de conservation.

Le RNAseq sera réalisé sur les cellules obtenues par centrifugation du reliquat de LA total, sur le surnageant de LA et sur les amniocytes issus de la culture sur une plateforme Illumina® après la réalisation d'une librairie par capture polyA directionnelle. Les données seront analysées à l'aide de la suite bioinformatique publiée, DROP. Seuls les

événements identifiés dans les gènes TSC1, TSC2, PKD1 ou de la voie mTOR seront analysés en 1ère intention. Les variants de classe 4/5 en lien avec l'indication seront rendus aux familles.

Résultats attendus :

L'objectif principal de cette étude sera d'évaluer la faisabilité du diagnostic prénatal par combinaison Panel - RNAseq avec un rendu de résultats dans des délais compatibles avec la grossesse.

Les objectifs secondaires sont :

Validation fonctionnelle de variants de classe 3 et reclassification en variants de classe 4/5

Evaluation de la qualité du RNAseq en fonction du type d'échantillon, terme de la grossesse et du rendement diagnostique par ajout du RNAseq à la stratégie classique.

[Retour tableau](#)

Dydrogesterone et risque de malformations congénitales et d'issues de grossesse défavorables : étude DYDRO-MALFO

CHOUCHANA Laurent - Pharmacologie périnatale pédiatrique et adulte - Cochin - APHP

[Retour tableau](#)

Résumé

Objectifs

La dydrogesterone, dérivé synthétique de la progestérone, est plus en plus utilisée ces dernières années comme alternative à la progestérone intravaginale dans le cadre d'assistance médicale à la procréation (AMP). Bien que les deux essais cliniques randomisés contrôlés Lotus I et Lotus II aient révélé des profils de sécurité similaires entre la dydrogesterone et la progestérone naturelle, des études rétrospectives, y compris réalisées par notre équipe, ont montré des associations avec des malformations congénitales majeures (MCM).

Dans l'étude DYDRO-MALFO, nous visons à évaluer le profil de sécurité fœtale de la dydrogesterone en évaluant le risque potentiel de MCM (objectif primaire) et d'autres issues défavorables de la grossesse (objectifs secondaires) telles que la mortinatalité, la prématurité, le petit poids de naissance et l'admission en soins intensifs néonataux.

Résultats attendus

Sur la base d'une cohorte nationale, nous cherchons à confirmer le signal de sécurité identifié dans notre étude précédente sur la base de données mondiale de sécurité de l'OMS (Henry et al, accepté dans Human Reprod Open), et en accord avec la littérature précédente. La puissance des essais cliniques randomisés utilisés pour établir l'efficacité de la dydrogesterone est limitée pour les événements indésirables rares et empêche une évaluation précise d'un risque différentiel potentiel entre la dydrogesterone et la progestérone. Les résultats de cette étude de cohorte nationale sont essentiels compte tenu du nombre de femmes enceintes exposées en France chaque année, et au niveau mondial, où la dydrogesterone est fréquemment utilisée dans certaines régions en dehors d'un processus d'AMP.

Méthodes

Il s'agit d'une étude observationnelle utilisant le Système National des Données de Santé (SNDS), qui comprend des bases de données de demandes d'assurance maladie et des diagnostics hospitaliers, couvrant environ 99% de la population française. Une cohorte de femmes ayant recours à des techniques d'AMP sera constituée à l'aide de codes préalablement validés (distinguant l'insémination artificielle et le transfert d'embryons frais ou congelés suivant une procédure de fécondation in vitro (FIV)). Ensuite, en utilisant un schéma exposé/non exposé pour les progestatifs utilisés pour soutenir la phase lutéale, nous évaluerons le risque de MCM (suivi des enfants jusqu'à un an, selon EUROCAT), et autres issues défavorables. L'analyse comparera la dydrogesterone à la progestérone intravaginale et à l'hydroxyprogestérone, en utilisant des régressions logistiques multivariées pour tenir compte des facteurs de confusion. Des études antérieures ont été réalisées en utilisant des cohortes de grossesse sur le SNDS par notre équipe, et les codes qui seront utilisés dans cette étude ont été précédemment utilisés dans des articles publiés par notre équipe ou d'autres sur le SNDS.

[Retour tableau](#)

Qualité de l'imagerie échographique prénatale pour la caractérisation phénotypique des dysraphismes spinaux (Quali-SBoD)

DHOMBRES Ferdinand - GRC IMAGES - Trousseau - APHP

Paris

[Retour tableau](#)

Résumé

Objectifs. Le projet Quali-SboD vise à démontrer la robustesse d'une analyse standardisée des images échographiques fœtales de malformations vertébrales et médullaires (dysraphismes spinaux) par les experts de centre de pluridisciplinaires de diagnostic prénatal (CPDPN) suite à la mise à jour des classifications de ces malformations par les centres de références maladies rares (CRM) et les réseaux européens (ERN).

Résultats attendus. Une mise en évidence d'une concordance diagnostique du type de dysraphismes entre les experts et le diagnostic final postnatal est escomptée, ainsi qu'une concordance entre les experts pour l'analyse des signes échographiques (phénotypes) et pour les diagnostics.

Ces résultats permettront de proposer un guide de bonne pratique aligné avec les attendus des nouvelles classifications et de renforcer la qualité de l'information prénatale au couple sur les parcours de soins possibles en cas de dysraphisme fœtal, en particulier les indications de chirurgie in utero.

Méthodologie. Il s'agit d'une étude non interventionnelle, rétrospective et multicentrique des images échographiques de cas de suspicion de dysraphismes spinaux expertisés dans 3 Centres pluridisciplinaires de diagnostic prénatal (CPDPN) sur une période de 5 ans, entre janvier 2020 et décembre 2024. La relecture de l'imagerie échographique prénatale de référence de 60 cas est réalisée par 6 échographistes référents de CPDPN, en aveugle du diagnostic. Deux grilles d'analyse dérivées du travail de révision des classifications Orphanet (2023) sont utilisées, provenant d'un consensus expert de 2 ERN par approche Delphi.

L'évaluation de la concordance entre les diagnostics posés par les experts et le gold standard (comptes rendus chirurgicaux ou de fœtopathologie) est évaluée par la proportion de diagnostic corrects (% de concordance et Kappa pondéré). La reproductibilité de l'indentification des signes par les experts et la reproductibilité des diagnostics entre les experts est également évaluée par les mêmes outils statistiques.

[Retour tableau](#)

Décrypter les anomalies cérébrales du développement fœtal précoce grâce à des approches d'imagerie combinée

DIETERICH Klaus - Service de Génétique, Génomique et Procréation

CHU Grenoble Alpes

[Retour tableau](#)

Résumé

Les anomalies congénitales du développement représentent un problème de santé important en termes de handicap individuel et familial. Les fœtus identifiés avec des anomalies congénitales majeures, en particulier cérébrales, et pouvant faire l'objet d'une interruption médicale de grossesse avant le troisième trimestre bénéficient d'une évaluation phénotypique in utero limitée reposant uniquement sur l'échographie. La confirmation postnatale des anomalies détectées est alors essentielle. Elle guide les investigations ultérieures et précise le risque de récurrence et les causes sous-jacentes.

En pratique courante, l'examen fœtopathologique du cerveau, y compris l'immunohistochimie, est soumis à des contraintes de temps et d'expertise. Les fœtus issus d'interruptions médicale de grossesse (IMG) du deuxième trimestre ne bénéficient donc pas d'une évaluation phénotypique post-mortem approfondie afin de confirmer les anomalies observées et d'identifier les anomalies potentiellement non vues à l'échographie prénatale. Ceci alors même qu'elles représentent jusqu'à 50 % de toutes les IMG.

Par ailleurs, nos connaissances sur le développement physiologique du cerveau ont considérablement augmenté ces dernières années grâce à l'utilisation de nouvelles techniques d'imagerie telle que l'imagerie par contraste de phase (PCDI), la micro-IRM, la microscopie à fluorescence par feuillet de lumière (LSFM) et des atlas sur cellule unique et transcriptomique.

Notre objectif est donc d'évaluer la faisabilité et l'apport de ces nouveaux outils (PCDI, micro-IRM, LSFM) dans le contexte des anomalies du système nerveux central des IMG avant 24 semaines d'aménorrhée (SA). Nous émettons l'hypothèse que ces techniques d'imagerie 3D haute résolution ont un impact significatif et synergique sur l'identification des anomalies cérébrales précoces par rapport aux procédures fœtopathologiques standard. Ils pourront aider à préciser les corrélations phénotype – génotype et identifier de nouveaux biomarqueurs phénotypiques pour les causes précoces d'anomalies cérébrales du développement fœtal.

[Retour tableau](#)

Diagnostic anténatal et devenir postnatal des foetus ayant présenté une HYperéchogénicité COLique (PRECOLHY)

FUCHS Florent - WILLEMS Marjolaine - CHU de Montpellier

[Retour tableau](#)

Résumé

Introduction : L'hyperéchogénicité colique en anténatal oriente le plus souvent vers le diagnostic de lysinurie-cystinurie. Cependant, il peut également un point d'appel pour d'autres pathologies plus rares au pronostic plus sombre. Une étude rétrospective sur 10 ans, effectuée sur 15 Centres Pluridisciplinaires de Diagnostic Prenatal (CPDPN), colligeant 33 cas d'hyperéchogénicité colique retrouve 63% de lysinurie-cystinurie (LC), 8% d'intolérance aux protéines dibasiques (IPD) et 4% d'hypotonie avec cystinurie (HC), les autres cas correspondant à des perdus de vue ou à des diagnostics malformatifs associés, identifiés par l'échographie.

Compte tenu de la sévérité du pronostic de l'IPD et de l'HC, un diagnostic prénatal de la pathologie concernée pourrait être utile pour les couples.

Objectif : Création d'une cohorte nationale prospective des cas de colons hyperéchogènes découverts en anténatal dans les 46 CPDPN de France. Proposition d'une consultation génétique spécialisée, d'un diagnostic prénatal dans le cadre du soin et d'une analyse biochimique dans le cadre de la recherche. Suivi pédiatrique spécialisé de l'enfant (diagnostic et prise en charge).

Résultats attendus : Selon les données de notre enquête rétrospective, le diagnostic anténatal échographique de colon hyperéchogène devrait conduire à proposer systématiquement une consultation de génétique afin d'informer les couples sur les pathologies suspectées, leur prise en charge, leur pronostic, leurs prévalences respectives. Cette consultation pourrait conduire à proposer aux couples qui le souhaitent la réalisation d'un prélèvement invasif pour diagnostic prénatal moléculaire orienté sur les gènes concernés. En cas de diagnostic de pathologie grave et incurable (IPD, HC), une demande d'interruption médicale de grossesse (IMG) par les parents pourrait être acceptée. Dans tous les cas, un suivi pédiatrique systématique de l'enfant devrait être programmé afin de préciser précocement le diagnostic s'il n'a été établi en anténatal, et d'orienter au mieux sa prise en charge multidisciplinaire.

Méthodes :

1/Recrutement des patientes via le réseau des CPDPN, signalement des cas d'hyperéchogénicité colique découverts en diagnostic anténatal.

2/ Organisation d'une consultation de génétique centralisée au CHU de Montpellier en présentiel ou téléconsultation.

3/ Proposition de réalisation d'examens de diagnostic prénatal par prélèvement de liquide amniotique réalisé au niveau du centre d'origine, en coordination avec le CPDPN local, puis adressé au CHU de Montpellier :

à visée diagnostique pour différencier les 3 pathologies : analyse moléculaire par exome diagnostique en trio et en ddPCR des gènes SCL3A1, SLC7A9, SLC7A7, PREPL, PPM1B et C2orf34 avec lecture ciblée sur les gènes concernés uniquement

prélèvement dans le même temps d'une chromatographie des acides aminés sur liquide amniotique à visée recherche

4/ Remise des résultats en cas de réalisation des investigations anténatales en consultation de génétique centralisée au CHU de Montpellier, en présentiel ou téléconsultation.

5/ Organisation de la suite de la prise en charge de la grossesse au niveau du CPDPN d'origine. Organisation de consultation spécialisée locale en fonction du diagnostic identifié ou non.

4/ Suivi pédiatrique de l'enfant organisé dans le centre d'origine par néphrologue et/ou généticien locaux à l'aide d'items de suivis spécifique. Amélioration du diagnostic et de la prise en charge de ces enfants.

[Retour tableau](#)

Année: 2025

Evaluation de la prise d'acide folique en péri-conceptionnel en France pour réduire les anomalies de fermeture du tube neural : étude nationale en population appariée au SNDS

(FolicAcid-ENP2021)

LE RAY Camille - INSERM U1153 équipe EPOPé

Maternité Port-Royal

[Retour tableau](#)

Résumé

Objectifs

Les anomalies de fermeture du tube neural (AFTN) sont des malformations congénitales graves apparaissant dans les premières semaines de grossesse. Elles peuvent entraîner des handicaps sévères ou des issues létales, posant un problème de santé publique majeur. La prise d'acide folique (vitamine B9) en période périconceptionnelle réduit de 50 à 70 % le risque d'AFTN. Pourtant, en France, malgré des recommandations officielles, la couverture reste insuffisante. En 2021, seulement 28,3 % des femmes déclaraient avoir pris de l'acide folique avant leur grossesse. Le projet vise à :

Identifier les déterminants de la prise d'acide folique en périconceptionnel en France, en comparant les données de l'Enquête Nationale Périnatale (ENP) 2010 et 2021.

Valider l'indicateur de prescription d'acide folique à partir des données du Système National des Données de Santé (SNDS) en croisant ces dernières avec les déclarations des femmes dans l'ENP 2021.

Résultats

attendus

Ce projet permettra de mieux comprendre les facteurs limitant l'adhésion à la supplémentation en acide folique et d'affiner les indicateurs de suivi. En validant les données SNDS, il pourrait ouvrir la voie à un suivi plus réactif des politiques de prévention des AFTN et à une meilleure évaluation de l'impact des campagnes de sensibilisation.

Méthodologie

Population

étudiée

:

Les données des ENP 2010 et 2021 seront utilisées. Ces enquêtes incluent toutes les femmes ayant accouché d'un enfant de 22 semaines d'aménorrhée ou plus, sur une semaine donnée, dans toutes les maternités françaises. Pour 2021, les données de l'ENP seront appariées à celles du SNDS pour environ 85 % des femmes consentantes.

Volet

1

:

Analyse

des

déterminants

socio-démographiques

Les caractéristiques des femmes prenant de l'acide folique en périconceptionnel seront analysées : âge, niveau d'étude, précarité, parité, tabagisme, pathologies chroniques, mode de conception, suivi médical, etc. L'évolution entre 2010 et 2021 sera mesurée par des analyses descriptives et multivariées (modèles de régression).

Volet

2

:

Validation

des

données

SNDS

L'appariement des bases ENP 2021 et SNDS permettra de croiser prescriptions d'acide folique (dans les 8 semaines précédant la grossesse) et déclarations des femmes. La concordance entre ces sources sera évaluée, et les facteurs de discordance (prescription non déclarée ou prise non prescrite) seront identifiés via des modèles logistiques.

Le séquençage long-read: Une approche innovante pour élargir l'accès au diagnostic préimplantatoire (DPI)

STEFFANN Julie - Génétique - Necker-Enfants Malades - APHP

[Retour tableau](#)

Résumé

Le diagnostic préimplantatoire des maladies monogéniques (DPI-M) permet à des couples à risque de transmettre une affection particulièrement grave et incurable à leurs enfants, de sélectionner parmi une cohorte d'embryons obtenus par fécondation in vitro, les embryons indemnes de l'affection, afin de ne transférer dans l'utérus de la patiente que les embryons qui ne sont pas atteints de la maladie.

Le DPI-M est soumis à un risque d'erreur induit par la faible quantité de matériel biologique disponible à partir de biopsies embryonnaires, ce qui nécessite de recourir à des approches combinées, incluant une étude directe du ou des variant(s) pathogène(s) et une étude indirecte basée sur des marqueurs polymorphes liés génétiquement au gène d'intérêt. Cette procédure classique de DPI, bien que fiable, est limitée par la nécessité d'échantillons d'ADN des apparentés pour établir les haplotypes parentaux.

En pratique, ces contraintes rendent l'accès au DPI quasi-impossible pour certains couples. Par exemple, les mutations de novo ou les mosaïcismes parentaux compliquent la caractérisation des allèles à risque. De même, l'absence d'apparentés vivants, ou les contraintes de confidentialité (notamment dans les cas de don de sperme ou d'ovocytes) empêchent de collecter les échantillons nécessaires pour effectuer un DPI selon les approches classiques. Ces limitations nous amènent à récuser en DPI certains couples, ou femmes seules lorsque les conditions de mise au point ne sont pas remplies.

Afin de contourner ces limitations, ce projet propose d'explorer l'intégration du séquençage long read (long-read sequencing, SLR) à l'aide de la technologie Nanopore dans le DPI. Cette méthode permet de phaser directement les mutations parentales sans nécessiter de données supplémentaires provenant des apparentés, offrant ainsi une solution innovante aux cas complexes.

Le projet se déroulera en deux étapes :

Séquençage et phasage des mutations parentales à partir d'échantillons d'ADN de haute qualité en utilisant le SLR pour générer des haplotypes précis.

Analyse des embryons par séquençage SLR, avec une comparaison des résultats obtenus par SLR à ceux obtenus par la procédure classique de DPI.

Cette stratégie vise à valider l'efficacité du séquençage à long read pour lever les limitations actuelles du DPI. En cas de succès, elle pourrait non seulement élargir l'accès au DPI à des couples exclus jusqu'alors, mais aussi simplifier et accélérer les processus de mise au point, réduisant ainsi les délais d'accès pour les couples concernés.

[Retour tableau](#)

Impact sur la santé mentale maternelle des faux positifs à l'échographie de dépistage: exemple du petit périmètre crânien

VAYSSIERE Christophe - Hôpital Paule de Viguier

Toulouse

[Retour tableau](#)

Résumé

Avec le développement du dépistage et de la médecine prédictive, il est important d'aborder la question des effets secondaires potentiels. Avec l'amélioration de la qualité des images échographiques, les progrès de la génétique (exome...), la course à la sensibilité diagnostique de l'échographie prénatale est manifeste mais celle-ci se fait irrémédiablement au dépend de la spécificité et donc des faux positifs. Les professionnels de santé du domaine du diagnostic prénatal sont probablement insuffisamment préoccupés par l'impact des faux positifs sur la santé mentale de la mère probablement par insuffisance d'information sur ce sujet. La multiplication des échographies en cours de grossesses (8 en moyenne en France selon l'ENP 2021 alors que 3 sont recommandées en dépistage) va dans ce sens. De même, l'utilisation d'internet en amont de l'échographie de référence est courante et peut avoir un impact négatif. Le terme de microcéphalie est souvent retenu à tort.

La revue de littérature montre une paucité d'étude observant l'anxiété et la dépression des femmes enceintes suite à ces faux positifs.

En 2011, une équipe française a montré que les faux positifs échographiques (petits signes de trisomie 21) augmentaient par 3 à 4 le risque d'anxiété, de dépression et/ou l'impact négatif sur la qualité de l'interaction entre la mère et son bébé à 2 mois du post-partum alors que ces signes avaient été dédouanés avant la fin de grossesse (Viaux-Savelon et al. False Positive Soft Markers May Alter Maternal Representations and Mother-Infant Interaction. Plos One 2017).

L'objectif de l'étude ECHO STRESS est de dupliquer l'étude de Viaux-Savelon et al. à partir des faux positifs en lien avec un adressage pour petit périmètre crânien lors de l'échographie de dépistage du 2ème ou 3ème trimestre. Nous souhaitons comparer les niveaux d'anxiété et de dépression de patientes suite à un faux positif de petit périmètre crânien à l'échographie de dépistage en comparaison à des patientes n'ayant pas d'anomalie aux échographies de dépistage.

L'anxiété sera évaluée par l'échelle State Trait Anxiety Inventory-Form Y (STAI-Y Etat & Trait), la dépression par l'échelle d'Edinburg Postnatal Scale (EPDS) et l'interaction mère-enfant par le facteur 1 de l'échelle Parent-Child Early Relational Assessment (PCERA).

Pour ce faire, nous souhaitons mener une étude de type cohorte prospective observationnelle. Deux groupes de patientes seront comparés, en fonction de leur « exposition » à une suspicion de petit périmètre crânien (PC) de leur fœtus au cours de la grossesse. D'une part, un groupe « exposé » de femmes enceintes qui font leur écho du 2ème ou 3ème trimestre à Paule de Viguier (CHU de Toulouse) ou en libéral, et qui sont adressées à Paule de Viguier pour une échographie de référence et d'autre part, un groupe « contrôle » de femmes enceintes qui font leur écho T2 ou T3 à Paule de Viguier (CHU Toulouse) sans anomalie particulière,

Pour être en mesure de montrer un risque d'anxiété (score d'anxiété supérieur au seuil) multiplié par 3 entre le groupe « Exposé » et le groupe « Contrôle », avec une proportion de patientes anxieuses de 11% dans le groupe « Contrôle » (d'après Viaux-Savelon 2012 PlosOne), une puissance statistique de 80% et un seuil de significativité

statistique de 5%, il serait nécessaire de disposer de 55 patientes par groupe. En ajoutant un taux de perdu de vue de 20%, le nombre de sujets nécessaire est de 69 patientes par groupe, soit 138 patientes au total.

Si les résultats en termes d'augmentation de score d'anxiété, de score de dépression et d'interaction mère-enfant altérée sont retrouvés, il nous faudra avertir la communauté médicale du diagnostic prénatal de l'impact potentiellement très négatif des faux positifs, améliorer le discours en anténatal, proposer une étude à plus grande échelle sur d'autres faux positifs dans le cadre du diagnostic anténatal (petit corps calleux, dépistage du CMV par exemple).

[Retour tableau](#)

Biomarqueurs Retard de Croissance intra-Uterin- Pré-éclampsie-Preuve de concept : BioReCUP

FOURNIER Thierry - FPRM, UMR-S1139

Faculté de Pharmacie de Paris

[Retour tableau](#)

Résumé

PPAR γ est un facteur de transcription ligand-dépendant de la famille des récepteurs nucléaires. Dans divers tissus, il contrôle la différenciation, la prolifération ou la fusion des cellules. Son rôle essentiel dans le développement et le fonctionnement du placenta humain est désormais bien établi.

Notre laboratoire, a plus de 25 années d'expérience en physiopathologie placentaire humaine, et a récemment identifié quatre nouveaux exons de PPAR γ non décrits jusque-là. L'étude de leur expression dans des placentas issus de grossesses physiologiques et de retards de croissances intra-utérins (RCIU) a montré que deux d'entre eux étaient plus fortement exprimés dans les échantillons issus de RCIU. Ces données indiquent que cette expression différentielle pourrait être utilisée comme un biomarqueur de pathologies placentaires, sous réserve que ces séquences soient dosables dans le sang ou les urines par des techniques de qPCR, et que leur concentration reflète celle observée au niveau placentaire. L'objectif de ce projet est d'établir la preuve de concept que ces séquences de PPAR γ peuvent être utilisées pour développer un test diagnostique à partir d'échantillons dont l'obtention est non ou peu invasives. Pour cela, nous étudierons les concentrations des exons sur les prélèvements sanguins, urinaires et placentaires de 40 patientes ayant déclarées une grossesse pathologique (20 RCIU et 20 pré-éclampsies) à partir de leur diagnostic et 40 patientes menant une grossesse physiologique, dès le second trimestre de grossesse. Cette étude sera effectuée grâce aux collaborations que nous avons établies avec plusieurs hôpitaux franciliens de niveau 2 et 3. La confirmation des résultats préliminaires obtenus pourrait permettre le développement d'un outil qui serait un atout majeur pour le diagnostic précoce des grossesses pathologiques et la prise en charge des patientes.

[Retour tableau](#)

GenTonic - Diagnostic moléculaire simultané des causes génétiques d'hypotonie néonatale par séquençage haut débit long read.

GOURONC Aurélie - Laboratoire de Diagnostic Génétique

CHRU de STRASBOURG

[Retour tableau](#)

Résumé

Trois maladies génétiques rares sont à l'origine d'hypotonie néonatale : l'amyotrophie spinale (SMA), la dystrophie myotonique de type 1 (DM1) et le syndrome de Prader-Willi (PWS). La SMA est majoritairement causée par une délétion homozygote du gène SMN1 et le nombre de copie du gène SMN2 est un facteur pronostique et thérapeutique important. La DM1 résulte d'une expansion de triplets dans le gène DMPK, la taille de l'expansion étant globalement corrélée à la précocité et à la sévérité des symptômes. Le PWS est lié à la perte de l'expression de l'allèle paternel de la région 15q11q13, détectée par une hyperméthylation de la région, avec plusieurs mécanismes possibles comme une délétion paternelle, une disomie uniparentale maternelle ou une anomalie du centre de l'empreinte. Ainsi, le diagnostic moléculaire étiologique de première ligne d'une hypotonie repose actuellement sur la réalisation en parallèle de trois examens, parfois réalisés dans des laboratoires différents. Les résultats des techniques de 1ère intention peuvent nécessiter d'avoir recours à des techniques complémentaires indispensables à la prise en charge du patient et au conseil génétique.

Nous proposons d'évaluer la faisabilité de réaliser simultanément le diagnostic de ces trois pathologies par séquençage haut débit long read (LRS pour long-read sequencing) sur PromethION 2 d'Oxford Nanopore Technologies®. Cette technique permet le séquençage de longs fragments d'ADN, assurant la spécificité des séquences dans des régions homologues telles SMN1 et SMN2, l'évaluation du nombre de répétitions dans les maladies à expansion, la détection des CNV et l'évaluation du statut de méthylation de l'ADN. Des pipelines bioinformatiques dédiés sont nécessaires à ces différentes applications. Grâce à la technologie de l'adaptive sampling, nous restreindrons les régions séquencées aux régions d'intérêt sur les chromosomes 5, 15 et 19. Nous nous baserons sur les résultats préliminaires obtenus chez 10 patients de génotype connu pour analyser une cohorte prospective de 70 nouveaux nés hypotoniques recrutés au sein des CHU de Strasbourg et de Bordeaux. Le séquençage et l'interprétation des résultats seront réalisés dans le laboratoire correspondant au CHU d'origine du patient, permettant d'éprouver la technique en situation de vie réelle dans deux laboratoires. Les résultats obtenus par LRS seront comparés à ceux obtenus dans le cadre du soin par les tests diagnostiques classiques.

Nous espérons que cette solution permettra d'accélérer et de faciliter le diagnostic moléculaire des hypotonies néonatales en s'affranchissant des envois multiples et en donnant accès en une seule fois à l'entièreté des informations diagnostiques telles que la détection des variations ponctuelles SMN1 et le nombre de copie de SMN2 pour le diagnostic de SMA, le nombre de répétitions CTG dans DM1 et le mécanisme du PWS (délétion, disomie, mutation dans le centre de l'empreinte) dont dépend le risque de récurrence.

[Retour tableau](#)

Etude de faisabilité du séquençage de génome long read sur Nanopore en prénatal dans les anomalies fœtales

HEIDE Solveig -

Hôpital Pitié Salpêtrière

Département de génétique

[Retour tableau](#)

Résumé

Le diagnostic prénatal des anomalies du développement a été profondément transformé par les technologies de séquençage haut débit, en particulier le séquençage d'exome (SE) et, plus récemment, le séquençage de génome short-read (GSR). Ces approches ont permis d'améliorer significativement le rendement diagnostique et d'affiner le conseil prénatal en cas d'anomalie fœtale. Toutefois, les technologies short-read présentent des limites : difficulté à analyser les régions répétées ou non uniques, faible capacité à détecter certains variants structuraux (SV) complexes et impossibilité d'explorer intégralement la méthylation ou les expansions pathogènes. Le séquençage de génome long-read (GLR) constitue une avancée technologique majeure, capable de générer des lectures de grande longueur, d'atteindre un véritable séquençage télomère-à-télomère, de détecter des SV complexes, des expansions répétées ou des anomalies de méthylation, et de distinguer gènes et pseudogènes dans des régions génomiques difficiles.

Alors que sa pertinence a été bien démontrée en post-natal, aucune étude n'a encore évalué l'application du GLR en contexte prénatal, où les enjeux de délai, de quantité d'ADN et de valeur pronostique des diagnostics sont particulièrement critiques.

Objectif principal : évaluer, pour la première fois en médecine fœtale, la faisabilité du GLR par technologie Nanopore chez des fœtus présentant une ou plusieurs anomalies détectées à l'imagerie prénatale. Le critère principal sera la proportion de cas pour lesquels un résultat interprétable est obtenu en cours de grossesse, dans un délai compatible avec la décision prénatale.

Objectifs secondaires : comparer les délais de rendu et les performances diagnostiques du GLR avec l'approche standard (Analyse chromosomique sur puce à ADN [ACPA] + SE) et documenter les types de variants supplémentaires détectés par GLR.

Méthodologie : étude prospective monocentrique incluant 11 fœtus adressés au CPDPN et ayant une indication d'ACPA + SE. Le GLR sera réalisé en trio à partir d'ADN extrait du liquide amniotique et du sang parental, sans prélèvement invasif supplémentaire. Le protocole reposera sur la plateforme Nanopore PromethION-24, avec analyse bio-informatique intégrée (SNV, SV, CNV, expansions, méthylation). Les variants de classe 4–5, en lien avec le phénotype fœtal, seront seuls rapportés.

Notre équipe possède une expertise reconnue en SE (y compris en prénatal) et GSR, ainsi qu'une maîtrise opérationnelle du GLR (184 échantillons déjà séquencés). L'étude s'appuie sur les plateformes techniques P3S et sur l'UF de génomique du développement, assurant expertise analytique, contrôle qualité et sécurisation des données.

Résultats attendus : démonstration de la faisabilité du GLR en prénatal, et obtention de données préliminaires pour une étude future de performance à large échelle visant à évaluer les délais de rendu et le rendement diagnostique. À terme, cette approche pourrait transformer la pratique clinique en remplaçant l'analyse couplée ACPA+SE par

une stratégie unique, plus rapide et plus exhaustive, au bénéfice du conseil prénatal et de la prise de décision des couples.

[Retour tableau](#)

Évaluation de l'approche génome Long Read en diagnostic prénatal étiologique des malformations cérébrales fœtales (PRELOGEN-BRAIN)

ROLLIER Paul - Service de Génétique Clinique

CLAD-Ouest

CHU de Rennes

[Retour tableau](#)

Résumé

Les malformations cérébrales fœtales représentent un challenge en diagnostic prénatal car leur pronostic clinique peut être très variable. Pouvoir fournir dans les délais compatibles avec la grossesse un diagnostic génétique étiologique peut permettre au couple de prendre une décision dans les meilleures conditions possibles. Actuellement en France, la stratégie de référence repose sur l'association d'une analyse chromosomique par ACPA et d'un séquençage d'exome en trio (ES-SR). Le séquençage de génome Long Read (GS-LR) offre toutefois des performances supérieures en un seul examen.

PRELOGEN-BRAIN est une étude prospective de faisabilité visant à comparer le rendement diagnostique de l'utilisation du GS-LR solo (approche innovante) et d'une approche classique (ACPA fœtale + ES-SR en trio) dans l'exploration de malformations cérébrales fœtales en anténatal.

Elle prévoit d'inclure 20 fœtus présentant une malformation cérébrale. Les analyses ACPA et ES-SR en trio seront réalisées dans le cadre du soin. Le GS-LR sera effectué sur les reliquats d'ADN extraits de liquide amniotique ou à partir de cultures de sauvegarde. Les données GS-LR seront interprétées en aveugle par deux experts indépendants. Les performances diagnostiques du GS-LR seront comparées à celles de la stratégie standard, ainsi que les délais d'analyse, la charge interprétative et les coûts associés. Les données recueillies serviront à ajuster les hypothèses de rendement, de faisabilité et de durée des futures études comparatives.

Le critère principal est la démonstration de la non-infériorité du GS-LR solo pour la détection des diagnostics retrouvés par l'approche ACPA + ES-SR. Les critères secondaires incluent l'identification de diagnostics supplémentaires, l'évaluation des ressources nécessaires et la capacité du GS-LR à réduire le délai total du parcours diagnostique. L'analyse médico-économique doit permettre d'estimer le coût complet du GS-LR et d'évaluer sa pertinence en première intention.

Cette étude constituera la première évaluation française de l'usage du GS-LR en diagnostic prénatal. Elle fournira des données essentielles pour concevoir un essai comparatif de plus grande ampleur, et contribuera à définir la place du GS-LR dans les futures recommandations nationales et la mise en œuvre d'un parcours de diagnostic prénatal plus rapide, plus complet et mieux adapté aux besoins des couples confrontés à une malformation cérébrale fœtale.

[Retour tableau](#)