

RECUEIL ATC&ACLF

19 & 20 SEPTEMBRE 2016

& XXVI^{EME} COLLOQUE **ATC**
ASSOCIATION DES TECHNICIEN(NE)S EN CYTOGÉNÉTIQUE

20 & 21 SEPTEMBRE 2016

XXIII^{EME} COLLOQUE **ACLF**
ASSOCIATION DES CYTOGÉNÉTICIENS DE LANGUE FRANÇAISE

LE CORUM MONTPELLIER

DPC



LA RÉGION OCCITANIE
Pyrénées-Méditerranée



ORGANISATION GÉNÉRALE
www.mcocongres.com





CA01

Onco-hématologie

APPORT DES TECHNIQUES DE FISH SUR COUPES ET MÉTAPHASIQUES DANS LE DIAGNOSTIC DES NÉOPLASIES LYMPHOÏDES ATYPIQUES : L'EXEMPLE D'UN CAS DE MYÉLOME AVEC PRÉSENTATION INHABITUELLE

Florian RENOSI(1), Liana VERESEZAN(2), Sylvie DALIPHARD(3), Catherine BOUTET(3), Jean-Michel PICQUENOT(2), Ophélie CASSUTO(4), Christian BASTARD(1), Dominique PENTHER(1)

(1)Laboratoire de génétique oncologique, Centre Henri Becquerel, Rouen. (2)Laboratoire d'anatomopathologie, Centre Henri Becquerel, Rouen. (3)Laboratoire d'hématologie biologique, CHU de Rouen. (4)Département d'hématologie, Centre Henri Becquerel, Rouen.

Un patient âgé de 75 ans est admis pour altération de l'état général et masse médiastinale suspecte. Une biopsie sternale plaide pour un lymphome B agressif à petites cellules, à index prolifératif élevé (Ki67>90%), éventuellement lymphoplasmocytaire. Cet infiltrat ne présente aucune caractéristique morphologique évocatrice d'un myélome malgré un marquage CD138+ en immunohistochimie. Les cellules tumorales expriment également c-Myc, la cycline D1 et des chaînes légères lambda. Une infiltration lymphoplasmocytaire atypique est également retrouvée au myélogramme et l'immunophénotypage lymphocytaire associé met en évidence 19% de cellules CD19- CD38+ CD138+. Un clone pathologique 46,XY,der(6)t(1 ;6)(q21 ;q24)[4] sur le caryotype médullaire et un clone dérivé complexe et évolutif dans le liquide pleural sont retrouvés. Ce dernier est compatible avec une localisation pleurale d'un lymphome, sans autre précision possible.

Compte tenu des résultats d'immunohistochimie, une hybridation in situ fluorescente (FISH) interphasique est réalisée sur des coupes en paraffine de la biopsie sternale et objective un réarrangement d'IGH et de CCND1. Une FISH métaphasique sur le caryotype médullaire, avec la sonde double fusion IGH/CCND1, confirme une t(11;14)(q13;q32) avec fusion IGH/CCND1 cryptique. De plus les sondes IGH montrent qu'il existe une t(8;14)(q24 ;q32) sans split de MYC, MYC restant en 8q24.

Le diagnostic finalement retenu pour ce patient est celui d'un myélome évolutif avec localisation extramédullaire, compte tenu de la présence d'une protéine monoclonale sérique faite de chaînes légères lambda, d'une insuffisance rénale et d'une ostéolyse avec condensation de l'aile iliaque droite. Les résultats conjoints de cytogénétique moléculaire sur coupes en paraffine et sur métaphases du caryotype médullaire confirment ce diagnostic en mettant en évidence cette t(11 ;14) cryptique. La t(11;14), responsable d'une hyperexpression de la cycline D1, est retrouvée dans 15% des myélomes multiples. Il s'agit d'une anomalie précoce, davantage rencontrée dans les myélomes atypiques. La morphologie associée à cette anomalie génétique est plus volontiers lymphoplasmocytaire. D'autre part, la t(8;14) correspond à une anomalie additionnelle, de transformation plasmablastique, conférant à la cellule tumorale un avantage prolifératif. La localisation extramédullaire du myélome est probablement liée à cette progression de la maladie. Les deux promoteurs d'IGH étant transloqués, il en résulte une perte de la capacité à produire des chaînes lourdes, expliquant le développement d'un myélome à chaînes légères chez ce patient. Les examens réalisés chez ce patient illustrent l'intérêt d'une concertation multidisciplinaire dans la prise en charge des hémopathies, notamment lymphoïdes. Cette démarche a permis dans ce cas de poser un diagnostic de certitude.



CA02

Onco-hématologie

LYMPHOME DOUBLE-HIT CCND2/MYC : À PROPOS D'UN CAS

Mélanie MARTIN, Agathe WAULTIER-RASCALOU, Thierry LAVABRE-BERTRAND, Jean-Baptiste GAILLARD
Laboratoire de Cytologie Clinique et Cytogénétique, CHU CAREMEAU, NIMES, FRANCE

Le lymphome à cellules du manteau (LCM) est une entité de LNH associant des caractéristiques morphologiques, immunophénotypiques et cytogénétiques, à savoir la t(11;14)(q13;q32), présente dans environ 90% des cas, aboutissant à la dérégulation de CCND1, et fréquemment associée à d'autres anomalies. L'analyse de la base Mitelman met en évidence dans environ 10% des cas, une translocation associée impliquant MYC (8q24). D'autre part, il a été montré qu'il existait une sur-expression du gène SOX11 dans les LCM non indolents y compris ceux sans t(11;14) mais avec réarrangement de CCND2 (12p13). Nous rapportons ici, un cas de lymphome double hit MYC+/CCND2+

Cas clinique et Méthodes

Cas clinique

Il s'agit d'une patiente de 65 ans vue pour altération de l'état général, fièvre et sueurs nocturnes. Il est retrouvé une majoration du volume mammaire bilatérale conduisant à une biopsie mettant en évidence un infiltrat massif de cellules lymphoïdes de taille moyenne co-exprimant le CD20, CD79a et CD10 avec un Ki67 proche de 100%, faisant évoquer un lymphome de Burkitt, avec dissémination médullaire et méningée.

Méthodes

Une culture synchronisée a été réalisée pour l'analyse cytogénétique médullaire, complétée par des analyses en FISH avec les sondes XL t(8;14) et XL IGL et des BACS pour CCND2. Une quantification de l'expression de SOX11/CCND1/CCND2, a été faite en PCR quantitative (Taqman®) avec calcul du niveau d'expression par la méthode du 2- $\Delta\Delta$ CT (normalisation sur B2M).

Résultats

Le caryotype obtenu est le suivant :

46,XX,t(X;9)(q21;p13),dup(1)(q21q25),t(8;14)(q24;q32),t(12;22)(p13;q11),-14,+der(14)t(8;14)(q24;q32)[20], montrant une translocation entre les chromosomes 8 et 14 impliquant MYC et IGH avec duplication du chromosome 14 dérivé associée à une translocation entre les chromosomes 12 et 22 impliquant CCND2 et IGL.

Les analyses en biologie moléculaire montrent une sur-expression de SOX11 et de CCND2 (CCND1 normale).

Discussion

Nous rapportons à notre connaissance le premier cas de lymphome double hit MYC+/CCND2+. Il semble exister une dissociation génétique/histologie.

Plusieurs auteurs ont rapporté que les LCM MYC+/CCND1 correspondaient aux variants blastoïdes ou à des aspects de Burkitt. De plus, Aukema et al (Blood, 2011), soutiennent le fait que la classification moléculaire devrait être retenue devant la morphologie. La classification OMS 2016 a ainsi intégré dans la définition des LCM d'une part la sur-expression de SOX11 et d'autre part, les réarrangements de CCND2 dans les cas CCND1-. L'ensemble des résultats ferait donc évoquer en premier lieu un LCM CCND2+ avec réarrangement de MYC, entité importante à identifier en raison de leur caractère agressif et leur pronostic péjoratif.



CA03

Onco-hématologie

L'INSERTION CHROMOSOMIQUE : UN MÉCANISME CYTOGÉNÉTIQUE ALTERNATIF RESPONSABLE DE LA FUSION DE GÈNES CBFB-MYH11

Hend Chaker¹, Wiem Ayed^{1,2}, Manel Bchir^{2,3}, Imen Chemkhi¹, Samia Menif^{2,4}, Héra Ben Abid^{2,3}, Ahlem Amouri^{1,2}

1.Laboratoire d'Histologie et de Cytogénétique, Institut Pasteur de Tunis, Tunisie 2.Faculté de Médecine de Tunis, Université Tunis El Manar, Tunisie 3. Service d'Hématologie Clinique, Hôpital Aziza Othmana, Tunis, Tunisie 4.Laboratoire d'Hématologie, Institut Pasteur de Tunis

La fusion des gènes CBFB-MYH11, résulte de l'inversion péricentrique du chromosome 16 $inv(16)(p13q22)$, ou moins fréquemment de la translocation $t(16;16)(p13;q22)$. Cette anomalie génétique acquise est retrouvée de façon récurrente dans 7 à 10 % des leucémies aiguës myéloïdes. Les leucémies présentant cette fusion sont classées dans le sous-groupe des leucémies avec anomalies génétiques récurrentes dans la classification WHO/OMS 2016 (Blood, prépublication April 11, 2016). Ces leucémies correspondent le plus souvent au variant LAM4 avec Eosinophiles anormaux (LAM4eo) de la classification Franco Américano Britannique (FAB).

Nous rapportons l'observation d'une patiente dont le caryotype, établi sur moelle osseuse dans le cadre de diagnostic d'un syndrome hématologique malin, a présenté une anomalie du chromosome 16 évoquant une délétion du bras court. Nous avons caractérisé cette anomalie chromosomique sur le plan cytogénétique et moléculaire. Nous avons identifié par la technique FISH sur métaphases, utilisant la sonde XL CBFB-MYH11 Dual Fusion Probe (MetaSystems) un motif de signaux au niveau du dérivatif du chromosome 16 correspondant à une insertion de 16p13/MYH11 au niveau de 16q22/CBFB. Par ailleurs, nous avons confirmé par RT-PCR l'expression du transcrite CBFB-MYH11, transcrite de type A. L'insertion chromosomique $ins(16)(q22p13p13)$ a été rapportée antérieurement dans la littérature comme mécanisme générant la fusion CBFB-MYH11.

Ainsi, l'insertion chromosomique du 16p13 au niveau 16q22 est un mécanisme alternatif à l'inversion péricentrique ou à la translocation entre chromosomes 16 homologues pouvant générer la fusion de CBFB-MYH11. L'utilisation des techniques moléculaires (FISH et RT-PCR) est très utile pour la caractérisation de ces remaniements et confirmer la fusion de gènes CBFB-MYH11, qui confère un pronostic favorable aux leucémies aiguës myéloïdes.



CA04

Onco-hématologie

SUIVI MOLÉCULAIRE D'UNE NÉOPLASIE MYÉLOÏDE AVEC TRANSLOCATION T(8;9) IMPLIQUANT LES GÈNES PCM1 ET JAK2 SOUS TRAITEMENT PAR RUXOLITINIB

*Sophie GODET, Baptiste GAILLARD, Eric DUROT et Pascale CORNILLET-LEFEBVRE
laboratoire d'hématologie (CHU Reims) et service d'hématologie clinique (CHU Reims)*

Le rôle oncogénique de JAK2 dans les hémopathies est largement connu depuis la découverte de la mutation V617F de JAK2 dans la polyglobulie de Vaquez. Bien que les translocations impliquant JAK2 sont beaucoup plus rares, les néoplasies myéloïdes/lymphoïdes avec translocation t(8;9) impliquant PCM1-JAK2 ont été récemment intégrées comme entité provisoire à la classification OMS 2016. Cette translocation est décrite dans des hémopathies diverses telles que les néoplasies myéloprolifératives, myélodysplasiques/myéloprolifératives, le lymphome lymphoblastique T ou le lymphome de Hodgkin. En général, l'évolution clinique de ces hémopathies est agressive.

Le ruxolitinib est un inhibiteur des tyrosines kinases JAK1 et 2. Plusieurs publications récentes rapportent son efficacité chez des patients présentant une hémopathie avec réarrangement PCM1-JAK2.

Compte tenu des dernières publications, notre but a été de suivre sur le sang par FISH (Fluorescence in situ hybridation) et par biologie moléculaire, l'anomalie de JAK2 chez une patiente diagnostiquée à Reims traitée par ruxolitinib.

Nous rapportons le cas d'une patiente de 73 ans présentant une néoplasie myélodysplasique/myéloproliférative associée à une hyperéosinophilie diagnostiquée dans un contexte d'altération majeure de l'état général. Le caryotype mettait en évidence une translocation t(8;9). L'étude par FISH a permis de confirmer l'implication de PCM1 et JAK2. Un traitement par ruxolitinib a été initié. La mise en évidence par RT PCR (Reverse transcriptase-Polymerase Chain Reaction) des points de cassure situés à la fin de l'exon 36 pour PCM1 et au début de l'exon 9 pour JAK2, a permis la mise en place d'un suivi moléculaire par PCR quantitative. En parallèle, un suivi par FISH a été réalisé par l'utilisation d'une sonde commerciale de JAK2 avec séparation de signal. Ce suivi de vingt et un mois a permis d'observer une décroissance de l'anomalie de JAK2 dans les noyaux cellulaires, résultats confirmés par le suivi réalisé par PCR quantitative.

L'étude de ce cas rare souligne l'apport diagnostique, pronostique et thérapeutique de la détection des anomalies impliquant le gène JAK2. Notre cas conforte les récentes publications en montrant la très bonne réponse clinique, hématologique, cytogénétique et moléculaire de cette néoplasie myélodysplasique/myéloproliférative au ruxolitinib, « thérapie ciblée » de la translocation t(8;9).



CA05

Onco-hématologie

SYNDROME MYÉLODYSPLASIQUE AVEC UN RÉARRANGEMENT CHROMOSOMIQUE COMPLEXE: À PROPOS D'UNE OBSERVATION ET REVUE DE LA LITTÉRATURE.

H.Merhni^{1,2}, Y.Doubaj^{1,2}, A. Natiq², A.Sbiti², T.Lieher³, A. Sefiani¹,

1- Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Rabat, Maroc 2- Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc 3- Institute of Human Genetics, Jena University Hospital, Friedrich Schiller University, Jena Germany

Les syndromes myélodysplasiques ou SMD correspondent à des affections clonales de la CSH myéloïde, caractérisées par des cytopénies sanguines contrastant avec une MO riche, réalisant ainsi une hématopoïèse inefficace avec un risque non négligeable de progression vers la leucémie aigue myéloïde LAM. Ils ont une incidence annuelle de 4 à 5 pour 100 000 personnes.

Bien que le diagnostic positif repose sur les données de l'hémogramme et du myélogramme, la cytogénétique reste incontournable pour instaurer certaines thérapeutiques ciblées et pour évaluer le pronostic.

Nous rapportons ici l'observation d'une jeune patiente âgée de 26 ans qui nous a été adressée au département de génétique médicale pour la réalisation d'un caryotype médullaire. Elle avait une histoire d'une polyarthrite auto-immune évoluant depuis deux ans et avait développé un syndrome d'insuffisance médullaire deux mois avant sa consultation avec une pancytopenie à l'hémogramme. Devant ce tableau clinique, nous avons réalisé un caryotype médullaire sur ponction sternale qui a mis en évidence, sur 20 mitoses analysées, une anomalie cytogénétique complexe inhabituellement présente dans les syndromes myélodysplasiques selon la formule suivante: 46,XX, trp(1)(q22q42), add(3)(pter q28::?) Nous illustrons, à travers cette observation, le rôle du généticien dans la prise en charge des syndromes myélodysplasiques en faisant appel d'abord à la cytogénétique conventionnelle pour mettre en évidence les anomalies chromosomiques causales, ensuite à sa composante moléculaire notamment la technique de FISH pour une caractérisation plus fine afin de pouvoir stratifier un score pronostique et prodiguer un conseil génétique adéquat au patient.

CA06

Onco-hématologie

PROFIL CYTOGÉNÉTIQUE D'UNE LARGE COHORTE D'ADULTES JEUNES ATTEINTS DE LEUCÉMIE AIGUE MYÉLOBLASTIQUE DE NOVO AU MAROC

1Nisrine Khoubila, 1Mounia Bendari, 2Nezha Hda, 1Mouna Lamchaheb, 1Maryem Qachouh, 1Mohamed Rachid, 1Asmaa Quessar

1Hematology and pediatric oncology, University hospital Ibn Rochd, Casablanca, Morocco

Introduction :

Les anomalies cytogénétiques au cours des leucémies aiguës myéloblastiques (LAM) sont retrouvées dans 50 à 70% des cas. La cytogénétique conventionnelle réalisée au diagnostic est un élément diagnostique mais aussi le meilleur facteur pronostique indépendant primordial pour les décisions thérapeutiques et la survie des patients.

Objectif : analyser les caractéristiques cytogénétiques d'une large population représentative d'adultes jeunes atteints de LAM de novo au Maroc traités uniformément dans un seul centre.

Patients et Méthodes:

Tous les Patients avec LAM de novo âgés entre 20 et 60 ans étaient inclus. L'étude cytogénétique était réalisée au diagnostic par bande RHG. Vingt mitoses étaient analysées, un nombre inférieur de mitoses était accepté en cas d'anomalie détectée. Nous avons procédé au classement* des anomalies en fonction des facteurs pronostiques, 3 groupes ont été individualisés : favorable, intermédiaire et défavorable.

Résultats :

De Janvier 2004 à décembre 2014, 1315 adultes étaient suivis pour LAM, 1055 (80%) étaient âgés entre 20 et 60 ans. Le caryotype était réalisé chez 927 (88%) patients dont 32 (3.4%) étaient en échec. Les anomalies clonales étaient retrouvées dans 520 (58%) cas. 175 (19.5%) étaient classés en groupe favorable, 609 (68%) en groupe intermédiaire et 111 (12.5%) en groupe défavorable. L'anomalie la plus fréquente était la t(8 ;21) chez 112 (12.5%) patients. Trente trois (3.7%) patients avaient une t(15 ;17) et trente (3.3%) avaient une inv 16 , la trisomie 8 était retrouvée dans 47 (5.2%) cas, le réarrangement 11q23 dans 32 (3.6%) cas et 67 (7.4%) avaient un caryotype complexe. Les -5/del(5q) et les -7/del(7q) étaient retrouvées dans respectivement 11(1%) and 27 (3%) des patients. Les monosomies dont la valeur pronostique péjorative est bien connue étaient retrouvées dans 115 (13%) cas dont 70 (8%) correspondaient à la définition des caryotypes monosomaux.

Conclusion:

Il s'agit de la plus grande série réalisée au Maroc, en Afrique et au moyen orient. Les études épidémiologiques réalisées dans différentes régions du monde contribuent à la compréhension du rôle environnemental et à l'implication génétique dans le processus de la leucémogénèse. Notre profile cytogénétique est particulier en comparaison avec les autres études et ne semble pas similaire aux profils occidentaux ou orientaux. Par ailleurs ces résultats nous ont permis d'identifier le profil de nos malades et d'orienter leur traitement.

* Chromosome aberrations, Gene mutations and expression changes, and prognosis in adult acute myeloid leukemia. Hematology 2006



CA07

Onco-hématologie

PROFIL CYTOGÉNÉTIQUE DES LEUCÉMIES AIGUES MYÉLOBLASTIQUES DE L'ENFANT ET DE L'ADOLESCENT : EXPÉRIENCE MONOCENTRIQUE DE CASABLANCA

H. Hadri, N. Khoubila, H. Hda2, S. Cherquaoui, M. Lamchaheb, M. Qachouh, A. Madani, M. Rachid, A. Quessar. Service d'hématologie et d'oncologie pédiatrique, Hôpital 20 Aout 1953, CHU Ibn Rochd, Casablanca. ²Laboratoire de cytogénétique Hda, Casablanca

Introduction : La leucémie aigue myéloblastique représente approximativement 20% des leucémies aigues de l'enfant, le diagnostic biologique essentiellement cytogénétique de ces leucémies a un impact direct sur le pronostic ainsi que la conduite thérapeutique.

Objectif : Nous analysons les caractéristiques épidémiologiques, cliniques et cytogénétiques d'une population d'enfants et d'adolescents pris en charge pour le diagnostic de LAM dans le service d'hématologie et d'oncologie pédiatrique de Casablanca.

Patients et méthodes : entre Janvier 2004 et Mai 2016, une analyse cytogénétique conventionnelle a été réalisée chez des patients suivis pour LAM de novo dont l'âge était compris entre 0 et 20 ans, la classification cytogénétique pronostique de ces patients a été établie selon les critères du Medical Research Council (MRC), permettant de distinguer trois groupes pronostiques.

Résultats: 270 patients ont été sélectionnés, l'âge médian était de 15 ans avec des extrémités allant de 5 mois à 20 ans, le sex-ratio était de 1,02. Selon la classification FAB les types de LAM les plus fréquents étaient la M2 chez 91 patients (33,7%) suivi de la M1 chez 55 patients (20,4%). L'analyse cytogénétique a été réalisée chez 253 patients (93,7%) avec 10 échecs (3,7 %). 168 patients (69%) avaient des anomalies clonales ; la classification cytogénétique pronostique montrait : un groupe favorable fait de 73 patients (30 %) dont 57 (24%) d'entre eux avaient une t(8,21); 8 (3%) une t(15,17) et 8 (3%) une inv16 ; un groupe intermédiaire avec 138 patients (57 %) dont 75 (31%) avec un caryotype normal ; et un groupe défavorable avec 32 patients (13%) dont 11 (4,5%) avaient un caryotype complexe, 5 monosomie 7 (2%) et 4 avec une monosomie 17 (1,6%), d'autre anomalies rares ont été décrites aussi.

Conclusion : Dans notre étude on note un pourcentage important des anomalies cytogénétiques du groupe favorable quoique ça reste plus faible que ce qui a été décrit dans la littérature, à noter aussi que les anomalies défavorables sont rares chez nos patients et que la majorité sont classés dans le groupe intermédiaire d'où l'intérêt de la biologie moléculaire pour une meilleure stratification pronostic.



CA08

Onco-hématologie

PROFIL CYTOGÉNÉTIQUE DES LEUCÉMIES AIGÛES MYÉLOÏDES DES SUJETS ÂGÉS DE PLUS DE 60 ANS : EXPÉRIENCE MAROCAINE

M. Aniba¹, N. Khoubila¹, M. Bendari¹, N. Hda², M. Lamchahab¹, S. Cherkaoui¹, M. Qachouh¹, M. Rachid¹, A. Madani¹, A. Quessar¹.

¹Service d'hématologie et d'oncologie pédiatrique, Hôpital 20 Août 1953, CHU Ibn Rochd, Casablanca, Maroc. ²Laboratoire de cytogénétique Hda, Casablanca, Maroc.

Introduction: La leucémie aigüe myéloïde (LAM) est une pathologie de l'adulte dont l'incidence augmente avec l'âge. Son diagnostic repose sur des critères cytologiques et cytochimiques définis dans la classification FAB et sur l'immunophénotypage dans les cas indifférenciés. Depuis 2001, les données de la cytogénétique ont été intégrées dans la classification OMS des hémopathies, elles constituent un des puissants facteurs pronostiques en termes d'évolution et de réponse thérapeutique.

Objectif de l'étude: Décrire les caractéristiques cytogénétiques des patients âgés de plus de 60 ans, suivis dans notre service pour une LAM de novo.

Patients et méthodes: c'est une étude rétrospective réalisée au service d'hématologie et d'oncologie pédiatrique entre Janvier 2004 et Juin 2016, incluant des patients âgés de plus de 60 ans suivis pour une LAM de novo. Le caryotype a été réalisé au diagnostic. Les patients ont été classés en 3 groupes pronostiques favorable, intermédiaire et défavorable selon les critères du Medical Research Council (MRC).

Résultats: 283 patients ont été colligés. L'âge médian au diagnostic était de 69 ans [61 – 99 ans] avec un sex ratio H/F à 1.12. Le type cytologique M2 était le plus fréquent (54%). Le caryotype a été réalisé chez 157 patients (54,4%) avec 17 échecs (11%). 82 patients (58,5%) avaient des anomalies clonales. La distribution selon les groupes pronostics avait retrouvé: groupe favorable chez 8 patients (6%) avec 6 cas de t(8; 21) et 2 cas d'inv (16), groupe intermédiaire chez 94 patients (67%) dont 58 cas (41,5%) avaient un caryotype normal et groupe défavorable chez 38 patients (27%) [caryotype complexe (15%), -5 ou del 5q (3%), -7 ou del 7q (3,5%), t(9;2) (2%)]. Quelques anomalies rares ont été observées : +3, +7, +16, -21, t(5,16).

Conclusion: Nos résultats concordent avec ceux décrits dans la littérature ; la majorité de nos patients entrent dans le groupe cytogénétique intermédiaire avec prédominance du caryotype normal d'où l'intérêt du diagnostic moléculaire afin d'améliorer la stratification du risque de nos patients dans l'avenir.



CA09

Onco-hématologie

IDENTIFICATION D'UN TRANSCRIT DE FUSION RARE MLL-CASC5 PAR RT-MLPA DANS UNE LAM

Ducourneau B (1), Smol T (2), Duployez N (1), Payet F (2), Boyer T (1), Berthon C (3), Renneville A (1), Ruminy P (4), Preudhomme C (1), Roche-Lestienne C (2)

(1) Institut d'Hématologie-Transfusion, CHRU Lille ; (2) Institut de Génétique médicale, CHRU Lille ; (3) Service des Maladies du Sang, CHRU Lille ; (4) Centre Henri Becquerel, Rouen.

Les remaniements de la région 11q23 impliquant MLL représentent environ 5% des LAM de novo ou secondaires de l'adulte. A ce jour, plus de 60 partenaires de MLL ont été identifiés. Ces translocations, situées dans la région 5' de MLL, entraînent la synthèse de protéines de fusion avec un gain de fonction de MLL. Les LAM à t(11q23;v) sont considérées à risque intermédiaire pour la t(9;11), ou défavorable. Nous rapportons le cas d'une patiente de 60 ans présentant une translocation t(11;15)(q23;q15) avec fusion MLL-CASC5 confirmée par RT-MLPA.

La patiente a été hospitalisée dans un contexte d'aggravation d'une leuconéutropénie avec anémie macrocytaire. Le diagnostic de LAM2 était retenu devant un envahissement médullaire par 40% de blastes myéloïdes (CD34+, CD13+, CD33+, CD117+). Une surexpression d'EVI1 a été mise en évidence en biologie moléculaire. Au caryotype, nous avons pu identifier un clone anormal caractérisé par un remaniement t(11;15)(q23;q15), associé à une délétion del(3q) : 46,XX,del(3)(q12~q21q26),t(11;15)(q23;q15)[6]/46,XX[13]. Le remaniement de MLL était confirmé par FISH interphasique dans 30% des noyaux. Afin d'identifier le partenaire de MLL, nous avons utilisé la technique de RT-MLPA (reverse transcriptase multiplex-ligation dependant probe amplification) réalisée grâce à un design de 220 oligonucléotides localisés sur 68 gènes. Après préparation de l'ADNc, celui-ci est hybridé avec le mélange d'oligonucléotides suivi d'une ligation, puis d'une amplification par PCR et du pyroséquençage. L'analyse de séquence a révélé une fusion entre la région 5' de MLL, avec un point de cassure dans l'exon 9b, et l'exon 12 de CASC5, entraînant la formation d'un transcrite de fusion chimérique MLL-CASC5.

CASC5 est un partenaire extrêmement rare de MLL, suggéré cytogénétiquement dans environ 10 cas de la littérature et confirmé moléculairement dans 3 cas. La protéine CASC5 appartient au complexe MIS12, nécessaire à l'assemblage du kinétochore et à la ségrégation des chromosomes lors de la mitose. Le processus de leucémogénèse de la protéine de fusion MLL-CASC5 est méconnu. Des remaniements 3q dont des duplications de la région 3q26 (EVI1) ont été décrits en association avec la t(11;15), comme dans notre cas.

Il s'agit du 4^e cas de remaniement MLL-CASC5 dans une LAM, confirmée par la technique de RT-MLPA, associée à un remaniement 3q et une surexpression d'EVI1. La combinaison de ces facteurs défavorables a orienté vers une proposition d'allogreffe chez cette patiente qui est actuellement en rémission complète après une première cure de consolidation.



CA10

Onco-hématologie

ASPECTS CYTOGÉNÉTIQUES DE LA LEUCÉMIE MYÉLOÏDE CHRONIQUE : PREMIÈRE SÉRIE DU SERVICE DE GÉNÉTIQUE DU CHU MOHAMMED VI DE MARRAKECH

H. Ait hammou(1), M.Elqabli(1), H.Akallakh(1,2), Z.Lout(1), M.Sennaoui(1), M.Dbilij(1), Fz.Nyoub(1), A.Jamali(1), A.Ibourk(1), S. Eddamer(1), N. Aboussair(1,2)

(1) Service de génétique, CHU Mohammed VI- Marrakech, Maroc (2) Faculté de médecine et de pharmacie de Marrakech, Université Cadi Ayyad, Marrakech, Maroc

Introduction : La leucémie myéloïde chronique (LMC) est une pathologie maligne qui touche principalement les leucocytes (basophiles, éosinophiles, neutrophiles), et fait partie du groupe des syndromes myéloprolifératifs. Elle représente 15% à 20% des leucémies dans le monde et elle est caractérisée par la présence d'une anomalie chromosomique touchant les cellules hématopoïétiques due à une translocation réciproque équilibrée entre le chromosome 9 et le chromosome 22 conduisant à la formation du chromosome Philadelphie (Phi). La protéine chimérique, codée par le transcrit de fusion BCR-ABL issu de ce réarrangement, a une activité tyrosine kinase constitutivement dérégulée et est directement responsable de la transformation leucémique.

Patients et méthodes : Dans le présent travail, nous rapportons le premier bilan de l'étude cytogénétique de la leucémie myéloïde chronique du service de génétique du CHU Mohammed VI de Marrakech (Maroc). Il s'agit d'une étude rétrospective et descriptive de 85 patients qui sont atteints de la LMC

La technique utilisée est le caryotype onco-hématologique à partir des blastes mis en culture in-vitro et bloqués en métaphase. Par ailleurs l'hybridation in situ (FISH) en fluorescence métaphasique ou interphasique a été effectuée chez certains patients.

Résultat : Le chromosome Philadelphie a été retrouvé chez 88% des patients diagnostiqués. De même des anomalies additionnelles ont été décelées au cours du suivi. Dans cette série l'âge au diagnostic était variable avec une prédominance féminine. En outre, le traitement le plus utilisé est l'Imatinib qui a permis une rémission cytogénétique complète dans la majorité des cas.

Conclusion : A travers cette étude, nous illustrons le rôle de la cytogénétique dans le diagnostic de la leucémie myéloïde chronique et la détection de la maladie résiduelle ou d'éventuelles rechutes.



CA11

Onco-hématologie

TRANSLOCATION (1;3) (P36;Q21) ASSOCIÉE À UNE LEUCÉMIE AIGUE MYÉLOÏDE: À PROPOS D'UN CAS

R.Farhane, M.Lamchahab, N.Hda

service d'Hématologie et d'Oncologie Pédiatrique, Hôpital 20 août, Casablanca, Maroc

**Laboratoire HDA de cytogénétique*

Introduction :

La translocation (1 ; 3)(p36 ;q21) est une anomalie chromosomique récurrente rare associée à des néoplasies myéloïdes comprenant la leucémie aigue myéloïde, les syndromes myélodysplasiques, et les syndromes myéloprolifératifs. Il s'agit d'une anomalie de mauvais pronostic, caractérisée par une faible réponse à la chimiothérapie conventionnelle. Nous rapportons un cas de leucémie aigue myéloïde avec t(1 ;3).

Observation :

Patiente de sexe féminin, âgée de 46 ans, qui a présenté 15 jours avant sa première consultation une asthénie d'aggravation progressive avec des céphalées. L'examen initial avait retrouvé une patiente en bon état général, qui présentait un syndrome anémique isolé, sans syndrome hémorragique, sans syndrome tumoral.

L'hémogramme avait montré Hb : 8.7g/dl, PQ : 159000/mm³, GB : 3100, PNN : 200

Le myélogramme avait conclu à une LAM2, avec des signes de dysplasie sur la lignée érythroblastique et la lignée granuleuse. L'immunophénotypage avait confirmé la LAM. Le caryotype avait retrouvé une translocation (1 ;3) (p36 ;q21).

La patiente a été incluse au protocole national de LAM :AML-MA-2011, elle a reçu l'induction. Le myélogramme de statut post induction était en faveur d'une rémission complète. La patiente est décédée au cours de sa deuxième cure par un choc septique.

Discussion et conclusion

Une revue de la littérature a montré que seuls 58 cas de t (1 ; 3) ont été rapportés, une prédominance féminine est observée avec un sex ratio M/F de 0.87 :1, la moyenne d'âge était de 55.1, la moyenne de survie était de 21.3 mois, et la majorité des patients était résistant à la chimiothérapie conventionnelle d'où la nécessité d'un recours à un traitement plus agressif comme la greffe des cellules souches hématopoïétiques afin d'améliorer la survie de ces patients.



CA12

Onco-hématologie

IMPACT PRONOSTIQUE DE NOUVELLES ANOMALIES ADDITIONNELLES AU CHROMOSOME PHILADELPHIE DANS LA LMC.

Helmi Guermani¹, Hend Chaker¹, Wiem Ayed^{1,2}, Manel Bchir^{2,3}, Imen Chemkhi¹, Nabila Abidli¹, Neila Ben Romdhane^{2,4}, Balkiss Meddeb^{2,3}, Amouri Ahlem^{1,2}

1. Laboratoire d'Histologie et de Cytogénétique, Institut Pasteur de Tunis, Tunisie. 2. Faculté de Médecine de Tunis, Université Tunis El Manar, Tunisie 3. Service d'Hématologie Clinique, Hôpital Aziza Othmana, Tunis, Tunisie 4. Service d'Hématologie, Hôpital La Rabta, Tunis, Tunisie

La cytogénétique conventionnelle est le test de référence pour détecter le chromosome Philadelphie (Ph) dans le cadre du diagnostic d'une Leucémie Myéloïde Chronique (LMC) ou du suivi de la réponse au traitement du patient. A l'encontre de la cytogénétique moléculaire et de la Biologie moléculaire, tests de meilleure sensibilité, la cytogénétique conventionnelle a l'avantage de pouvoir détecter des anomalies additionnelles au chromosome Ph témoignant d'une évolution clonale de la maladie. Selon la littérature, les anomalies additionnelles les plus récurrentes sont +Ph, +8, i(17q) et +19. Plusieurs autres anomalies, de nombre ou de structure, plus ou moins récurrentes, sont aussi bien décrites. Souvent la présence de ces anomalies est associée à une transformation de la maladie en phase accélérée ou aigüe. L'impact clinique et biologique de ces différentes anomalies sont plus ou moins bien décrits.

Nous nous sommes intéressées à l'étude rétrospective de 145 patients présentant une LMC et dont l'analyse Cytogénétique conventionnelle, accomplie au laboratoire de Cytogénétique de l'Institut Pasteur de Tunis, a révélé la présence de chromosome Philadelphie. Dix-neuf patients parmi 145 ont présenté une ou plusieurs anomalies additionnelles : +8(6cas), +Ph (3cas), +19 (1cas), -Y(1cas), -21(1cas), -7(1cas). Nous notons aussi la présence d'anomalies déséquilibrées comme la del(7p), der(7)t(7;8), der(9)t(;9), add(19p), der(20)t(20;22). Certains patients ont présenté des translocations équilibrées, non rapportées dans la littérature comme anomalie additionnelle au chromosome Ph, telles que la t(11;12)(p11;p13), la t(7;17)(p15;q22), t(13;17)(q31,q24).

Nous rapporterons ces anomalies additionnelles dans le contexte clinique du patient et nous discuterons leur impact clinique et pronostique.



CA13

Onco-hématologie

« STRATÉGIE FISH » POUR L'EXPLORATION DES DÉLÉTIONS 7Q22 DANS LES HÉMOPATHIES MYÉLOÏDES

Romagne O, Mallard L, Baracou R, Correia F, Eschenbrenner JM, Serres B, Launay E, Luquet I, Struski S
ATC

Les délétions 7q sont des anomalies cytogénétiques récurrentes dans les hémopathies myéloïdes. Isolées, elles sont associées à un pronostic intermédiaire (classification ELN) ou défavorable (classification révisée du MRC) dans les LAM. Dans les SMD, selon le score IPSS-R, elles sont de pronostic intermédiaire si elles sont isolées et de pronostic défavorable quand elles sont associées à une autre anomalie. La taille des délétions est variable et certaines peuvent être difficiles à identifier sur le caryotype. Les régions le plus souvent impliquées sont 7q22, 7q31 et 7q36.

Nous proposons une discussion sur les délétions 7q22 le plus souvent visibles au caryotype mais nécessitant parfois une confirmation par FISH du fait de leur petite taille. Nous avons comparé différentes sondes commerciales localisées en 7q22 mais ciblant différents gènes présents dans ce locus. Nous avons fabriqué une sonde « maison » ciblant les gènes CUX1 et RELN et screené 17 patients. Le gène CUX1 est préférentiellement délété par rapport au gène RELN.

Ce travail souligne la vigilance à apporter au design des sondes ayant un intitulé identique.



CA14

Onco-hématologie

CORRÉLATION ENTRE LES CARYOTYPE STANDARD ET MOLÉCULAIRE DANS UNE SÉRIE DE 7 CAS DE LAL PÉDIATRIQUES HYPERDIPLOÏDES.

*M Jamar, C Herens, C Menten, T Sticca, JH Caberg
Service de Génétique Humaine, CHU Sart Tilman*

Nous avons introduit en routine en juillet 2013 dans notre laboratoire, l'étude du caryotype moléculaire pour tous les nouveaux diagnostics de Leucémie Aiguë Lymphoblastique (LAL). Du 1er juillet 2013 au 30 juin 2016, nous avons reçu 29 nouveaux cas de LAL pédiatriques (âge au diagnostic : 2 à 15 ans).

Pour chaque cas, la mise au point cytogénétique comprenait :

- a) l'étude du caryotype standard en Q- et/ou G-banding après traitement direct et/ou culture de 24 heures (sang et/ou moelle);
- b) une étude par FISH de différents loci : MLL, BCR-ABL et P16 pour les types B et T ; recherche d'un réarrangement ETV6-RUNX1 pour le type B; recherche d'un réarrangement TRAD (et TRB parfois) dans le type T;
- c) l'étude du caryotype moléculaire (profil CGH-array) sur une puce 60K (Agilent Technologies) à partir d'un aliquot d'ADN extrait directement.

Une hyperdiploïdie a été détectée dans 7 des 29 cas (5M, 2F), tous d'immunophénotype B. Le nombre modal variait de 52 à 60 chromosomes. Les gains chromosomiques constants concernent les chromosomes X, 14 et 21. Une trisomie 4 et une trisomie 17 sont observées six fois, une trisomie 10 et une tétrasomie 21 dans cinq cas. Les gains chromosomiques les moins fréquents concernent les chromosomes 5 (cas n° 4 et 5), 9 (cas n° 1), 11 (cas n°4), 12 (cas n°4), et 22 (cas n° 4 et 5).

L'apport de la CGH-array dans cinq des sept cas a été manifeste : pour un des patients, six mitoses seulement ont pu être analysées et elles montraient une formule apparemment normale, 46,XY ; dans trois cas, l'array-CGH a permis de redéfinir correctement les gains chromosomiques ; dans plusieurs cas, des anomalies de structure ont pu être précisées, voire détectées.

En FISH, aucun des 7 cas ne montre d'anomalie de structure péjorative (BCR-ABL ou MLL-r). On retrouve des anomalies de nombre de copies pour différents loci, en rapport avec l'hyperdiploïdie. Dans deux cas, une microdélétion a été détectée et confirmée en CGH-array (loci 9p21.3 et 12p13.1).

En conclusion, les résultats cytogénétiques obtenus dans notre petite série confirment les données de la littérature et montrent la pertinence d'un bilan cytogénétique combiné dans les LAL.



CA15

Onco-hématologie

LEUCÉMIE AIGUE MYÉLOÏDE: PREMIÈRE SÉRIE DU SERVICE DE GÉNÉTIQUE DU CHU MOHAMMED VI DE MARRAKECH

M.Mansouri(1), H. Ait hammou(1), M.Elqabli(1), H.Akallakh(1,2), Z.Lout(1), M.Sennaoui(1), M.Dbilij(1), Fz.Nyoub(1), A.Jamali(1), A.Ibourk(1), S. Eddamer(1), N. Aboussair(1,2)

(1) Service de génétique, CHU Mohammed VI- Marrakech, Maroc (2) Faculté de médecine et de pharmacie de Marrakech, Université Cadi Ayyad, Marrakech, Maroc

Introduction: La leucémie aiguë myéloïde (LAM) est une hémopathie aiguë caractérisée par un blocage de maturation des lignées médullaires myéloïdes normales avec un envahissement progressif de la moelle, du sang, des organes hématopoïétiques et éventuellement des organes non hématopoïétiques par des myéloblastes. La fréquence de cette pathologie est d'autant plus importante que l'âge est plus avancé avec une incidence annuelle de 4 pour 100000 après 60 ans.

Matériels et méthodes: Ce travail consiste en une étude rétrospective portant sur 43 cas de LAM adressés au service de génétique du CHU Mohammed VI de Marrakech pour étude cytogénétique chez qui un caryotype hématologique sur moelle a été réalisé avec une culture de 17h sous colchicine, complété dans certains cas par une FISH (hybridation in situ en fluorescence)

Résultats: Dans notre série l'âge moyen de nos patients est de 45 ans, avec un sexe ratio à 1. Nous avons observé que les LAM1 et LAM2 sont les types les plus fréquents dans notre série. L'étude cytogénétique réalisée pour les patients adressés au service de génétique a pu mettre en évidence une anomalie chromosomique chez 53% des patients avec une fréquence importante de la translocation (8;21).

Conclusion: Nous rapportons à travers ce travail l'expérience du service de génétique du CHU Mohammed VI de Marrakech dans le diagnostic cytogénétique des LMC et l'implication de l'équipe dans la prise en charge multidisciplinaire de cette pathologie.



CA16

Onco-hématologie

L'ANTIGÈNE NG2 : UN MARQUEUR DE PRÉDICTION DES RÉARRANGEMENTS KMT2A UTILE EN PRATIQUE QUOTIDIENNE

Inès Ouahchi¹, Carmen Aanei², Lydia Campos², Sylvie Tondeur²

1-Service de cytogénétique et de biologie de la reproduction, CHU F. Hached, Sousse, Tunisie 2-Laboratoire d'Hématologie, CHU Saint-Etienne, France

Introduction

Les réarrangements chromosomiques impliquant le gène KMT2A (MLL) en 11q23 dans les leucémies aiguës (LA) sont caractérisés par un fort impact pronostique et thérapeutique. L'intérêt de la détection de l'antigène NG2 (Neural Glial Antigen 2) par cytométrie de flux (CMF) comme marqueur prédictif d'un réarrangement de KMT2A est connu [1,2]. Le mécanisme sous-jacent n'est pas encore élucidé. Cette information pouvant avoir un intérêt pratique au laboratoire, nous avons étudié les caryotypes des LA testées en CMF au laboratoire pour l'expression de NG2.

Méthodes

Une cohorte de 77 cas de LA adultes et pédiatriques (41 LALB -21 adultes, 20 enfants- et 36 LAM adultes) a été testée pour NG2 en CMF. L'analyse immunophénotypique a été effectuée sur cytomètre BD FACSCanto™ II (BD Bioscience), standardisés selon les recommandations Franceflow. L'expression de NG2 a été évaluée sur les blastes avec l'Ac NG2-PE (Beckman Coulter). Le caryotype a été établi par bandes R/G et l'analyse FISH avec une sonde locus spécifique (Poseidon MLL (11q23) break probe, Kreatech).

Résultats

Neuf cas sur 77 exprimaient NG2 (12%) : 6 LALB (15%) et 3 LAM (8%). Sur ces 9 cas NG2+, 7 présentaient un réarrangement de KMT2A. Les 2 cas non réarrangés correspondaient à une acutisation de LMC en LALB et à une LAM monoblastique. Dans les 7 cas KMT2A+ on retrouvait une t(4;11)(q21;q23) dans toutes les LALB, t(9;11)(p22;q23) et t(10;11)(p12;q23) dans les 2 cas de LAM. Le réarrangement KMT2A était associé à d'autres anomalies chez 3 patients, dont 2 translocations à 3 partenaires. Les 5 patients LALB présentaient un profil immunophénotypique similaire, CD34+/-, CD10-, CD20-, CD19+, CD22+/-, cCD79a+, TdT+, CD24-, cIgM-, avec expression de marqueurs aberrants myéloïdes CD15 et CD65 pour 3 cas. Parmi les 35 LALB NG2-, aucun réarrangement KMT2A n'était détecté. Parmi les 33 cas de LAM NG2-, 1 cas présentait une t(6;11)(q27;q23).

Conclusion

NG2 est retrouvé dans 9 cas (12%) de notre cohorte, associé à un réarrangement KMT2A dans 7 cas, essentiellement des LALB adultes avec t(4;11) et profil immunophénotypique spécifique. Un seul cas de LAM avec t(6;11) n'était pas prédit en cytométrie. Nos résultats concordent avec les données de la littérature [1,2], et montrent l'intérêt de la détection de NG2 dans les LA adultes. Cette détection permet d'alerter le cytogénétiicien et d'orienter rapidement l'analyse chromosomique. Ainsi, de même que certaines associations morphologie/anomalies chromosomiques, il nous semble important de ne pas méconnaître l'association NG2 et KMT2A dans notre pratique quotidienne au laboratoire.

1. C Bueno, et al. Leukemia (2008) 22, 1475–1478.
2. M Emerenciano, et al. Leukemia Research 35 (2011) 1001– 1007.



CA17

Onco-hématologie

NOUVELLES ANOMALIES CHROMOSOMIQUES ADDITIONNELLES CHEZ UNE PATIENTE MAROCAINE ATTEINTE DE LEUCÉMIE MYÉLOÏDE CHRONIQUE

Jdioui Wafaa (1,2), Sbiti Aziza (1), Doubaj Yassamine (1), Lhoussni Amina (3), Sefiani Abdelaziz (1,2)

1: Département de génétique médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc. 2 : Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V, Rabat, Maroc. 3: Service d'Hématologie clinique, Hôpital Avicenne, Rabat. Maroc

La Leucémie Myéloïde Chronique (LMC) est une hémopathie maligne faisant partie des syndromes myéloprolifératifs chroniques. Il s'agit d'un processus monoclonal affectant une cellule souche hématopoïétique, caractérisé par une prolifération maligne des cellules de la lignée granulocytaire sans blocage de maturation. La LMC est associée à un réarrangement chromosomique récurrent appelé chromosome Philadelphie, présent dans 95% des cas au diagnostic.

La LMC évolue en trois phases : phase chronique, phase d'accélération et progresse constamment en l'absence de traitement vers la forme aiguë, ou phase blastique, fatale. Le chromosome Philadelphie étant présent de manière isolée en phase chronique, des anomalies chromosomiques additionnelles peuvent s'y associer en phase d'accélération à savoir la trisomie 8, la trisomie 19, l'isochromosome 17q et la duplication du chromosome Philadelphie. Plus rarement, on peut retrouver une trisomie 21, une monosomie 7, une monosomie ou une trisomie 17 une perte du chromosome y ou encore une translocation réciproque impliquant les chromosomes 3 et 21.

Nous rapportons l'observation d'une patiente âgée de 54 ans, admise dans un contexte d'anémie, fièvre et altération de l'état général. Une NFS a objectivé une hyperleucocytose à 154 000/ mm³ avec prédominance de polynucléaires neutrophiles, une myélémie et un taux de blastes à 16%.

Le myélogramme a montré un aspect en faveur d'une LMC.

Le caryotype médullaire réalisé chez cette patiente a mis en évidence la présence du chromosome Philadelphie sur toutes les mitoses observées. Par ailleurs, deux sous-clones avec anomalies chromosomiques additionnelles sont présents : l'un présentant en plus du chromosome Philadelphie une trisomie 3, une trisomie 6 et une trisomie 8 et un chromosome Philadelphie additionnel et l'autre sous-clone comportant en plus de ces anomalies une trisomie 10.

Cette patiente est donc atteinte d'une LMC découverte en phase d'acutisation avec présence du marqueur cytogénétique classique de la maladie, associé à des anomalies chromosomiques additionnelles déjà décrites dans la LMC, à savoir la trisomie 8 et la duplication du chromosome Philadelphie, ainsi que des anomalies de nombre non rapportées jusque-là dans la littérature, il s'agit de la trisomie 3, la trisomie 6 et la trisomie 10.

CA18

Onco-hématologie

PROFIL CYTOGÉNÉTIQUE DES LEUCÉMIES AIGUES MYÉLOBLASTIQUES DE L'ADULTE AU MAROC

H.Bencharef¹, M.Lamchahab¹, N.Hda², B.Oukkache³, N.Khoubila¹, S.Cherkaoui¹, M.Qachouh¹, M.Rachid¹, A.Madani¹, A.Quessar¹

¹ Service d'Hématologie et Oncologie pédiatrique, Hôpital 20 Aout, CHU Ibn Rochd, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Casablanca, Maroc ² Laboratoire d'Hématologie, CHU Ibn Rochd, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Casablanca, Maroc

³ Laboratoire de cytogénétique Hda, Casablanca

Introduction : Le profil cytogénétique des leucémies aigues myéloblastiques joue un rôle majeur dans la prise en charge de cette pathologie car il permet de définir des entités distinctes dont le pronostic et la réponse thérapeutique sont mieux définies.

C'est ainsi que, la cytogénétique conventionnelle est considérée comme le facteur pronostic le plus important, par la mise en évidence des anomalies chromosomiques dont la valeur diagnostique ou pronostic guidera le choix thérapeutique le plus convenable.

Peu d'informations sont disponibles sur les différentes caractéristiques cytogénétiques au Maroc et dans les autres pays arabes.

But du travail : Décrire le profil cytogénétique des LAM prises en charge dans le service d'hématologie –oncologie pédiatrique de Casablanca

Patients et Méthodes : Etude descriptive prospective au sein du service d'hématologie et oncologie pédiatrique sur une période allant de Janvier 2011 au Mai 2016, ont été colligés tous les patients âgés de 18ans ou plus, atteints de LAM nouvellement diagnostiquée.

La classification des anomalies chromosomiques a été réalisée selon le système international de la nomenclature de la cytogénétique humaine (ISCN). Les patients ont été classés en 3 groupes pronostiques selon les critères du Medical Research Council (MRC).

Résultats : 730 patients ont été inclus, les LAM représentaient 16% de toutes les hémopathies malignes. L'âge médian au diagnostic était de 44 ans [18 – 84 ans] avec un sex ratio à 1.05. Le caryotype a été réalisé chez 621 patients (85%) avec 588 (94,7%) caryotypes réussis et 33 échecs (5,3%). 329 patients (56%) avaient des anomalies clonales.

La distribution selon les groupes pronostics avait retrouvé: groupe favorable chez 104 patients (17,7%) avec 54 cas de t (8; 21), 24 cas de t(15,17) et 26 cas d'inv (16), groupe intermédiaire chez 388 patients (66%) dont 259 cas (66,8%) avaient un caryotype normal et 27 cas (7%) avaient un trisomie 8 et groupe défavorable chez 96 patients (16,3%) [Caryotype complexe (61,5%), -5 ou del 5q (5,2%), -7 ou del 7q (15,6%), 11q23 (12,5%), t (9;22) (5,2%)].

Conclusion : Le profil cytogénétique des LAM dans notre série se caractérise par le jeune âge, l'âge médian est de 44ans contre 65-70 retrouvé dans des séries occidentales. La t(8,21) reste la plus fréquente des anomalies chromosomiques, le groupe pronostique intermédiaire prédomine. D'où la nécessité de faire la cytogénétique moléculaire pour une meilleure identification des groupes pronostiques ainsi qu'une étude plus large englobant la totalité des centres pour confirmer ce profil.



CA19

Onco-hématologie

GENETIC POLYMORPHISM OF THE HLA-G AND BREAST CANCER

*Ouni N.1, Ben Chaaben A.1,2, Kablouti G.1, Ayari F.1, Abaza H.1, Harzallah L.1, Tamouza R.2, Guemira F.1.
1 Clinical Biology Department, Salah Azaiz Institut, Tunis, Tunisia. 2 Jean Dausset Department and INSERM, U940, Saint Louis Hospital, Paris, France*

The human leukocyte antigen-G (HLA-G), a non classical class Ib molecule belonging to the major histocompatibility complex (MHC), play an important role in the suppression of immune responses and contributes to long-term immune escape or tolerance. HLA-G have a high rate of polymorphism in the 3'untranslated regions (3'UTR) including 14-bp Ins/Del (rs 66554220), HLA-G-3142 C>G (rs1063320) and HLA-G-3187 A>G (rs9380142).

In this study, we evaluate the potential role of three genetic polymorphisms of HLA-G on breast cancer development, a hospital- based case-control study was conducted in Tunisia. Blood samples were collected from 400 unrelated women affected by breast cancer and 400 unrelated-matched blood donors without any personal / family history of cancer.

Genomic DNA was extracted from peripheral blood leukocytes by phenol-chloroform procedure. Detection of HLA-G polymorphisms was performed using real time TaqMan PCR assay. Alleles and genotypes frequencies were determined and compared using a standard chi-square test or Fisher exact test. The difference was considered statistically significant at values less than 0.05 ($p < 0.05$).

No significant differences were found when the proportions of HLA-G variants were compared between the patients and controls ($p < 0.05$).

Moreover, to draw comprehensive and more reliable conclusions, it is necessary to integrate more studies exploring the HLA-G haplotype in correlation with genotypes.



CA20

Onco-hématologie

LA TRANSITION EPITHÉLIO-MÉSENCHYMATEUSE (TEM) D'UNE LIGNÉE D'ADÉNOCARCINOME MAMMAIRE TRIPLE NÉGATIVE DANS LE CONTEXTE DE LA TRISOMIE 21

Gaëlle SALAUN, Stephan KEMENY, Carole GOUMY, Eléonore EYMARD-PIERRE, Céline PEBREL-RICHARD, Philippe VAGO, Laetitia GOUAS

Univ Clermont 1, UFR Médecine, Cytologie Histologie Embryologie Cytogénétique, Clermont-Ferrand, F-63001 ; CHU Estaing, Cytogénétique Médicale, Clermont-Ferrand, F-63003 ; ERTICa, Univ Clermont 1, UFR Médecine, Clermont-Ferrand, F-63001

Introduction : Le cancer du sein triple négatif (TNBC) représente environ 10 à 15% des cancers du sein. De mauvais pronostic, il se caractérise par un fort potentiel invasif et est associé à un haut risque de rechute métastatique précoce. Il n'est accessible actuellement à aucune thérapie ciblée. Lors de l'invasion tumorale, les cellules utilisent le processus de transition épithélio-mésenchymateuse (TEM) pour acquérir leur mobilité et disséminer à distance du site tumoral primaire. Nous étudions la TEM de cellules TNBC dans le contexte de la trisomie 21 (T21) car des études épidémiologiques ont montré que ces patients présentaient une incidence plus faible pour les cancers solides et notamment pour le cancer du sein. De par sa composition et son organisation tridimensionnelle différente d'une matrice extracellulaire (MEC) contrôle, le rôle de la MEC T21 a été avancé parmi les hypothèses de cet effet « protecteur ».

Objectif : Déterminer si une MEC sécrétée par des fibroblastes trisomiques 21 (F-T21) peut réduire, voire inhiber, la TEM de cellules triples négatives.

Matériels et Méthodes : Des cellules d'adénocarcinome mammaires TNBC (MDA-MB468) ont été mises en culture sur une MEC sécrétée par des F-T21 ou des fibroblastes euploïdes (F-Eup), et sur un support plastique (contrôle), « sans » et « avec » stimulation de la TEM par TGF. Nous avons ensuite évalué la TEM par l'étude de l'expression de gènes (qRT-PCR, LightCycler480®) codant des marqueurs épithéliaux (CDH1, OCLN1, CLDN1), des marqueurs mésenchymateux (VIM, FN1 et CDH2) et des facteurs de transcription de la TEM (SNAIL, SLUG, TWIST, ZEB1).

Résultats et conclusion : Nous avons étudié l'expression des marqueurs (CDH1, OCLN1, CLDN1, VIM, FN1) à 48 h (J2) et 72 h (J3) de la stimulation. A J2, « sans » et « avec » stimulation, la surexpression des gènes épithéliaux sur les supports MEC (EUP et T21) suggère une TEM des cellules plus importante sur MEC que sur le support plastique bien que l'expression des gènes mésenchymateux ne soit pas modifiée. A J3, « avec » stimulation, seule une variation de l'expression de CLDN1 et de FN1 suggère qu'il y a moins de cellules ayant fait la TEM sur la MEC-T21 que sur la MEC-Eup. La mise au point de la qRT-PCR des gènes codant les facteurs de transcription doit encore être ajustée pour permettre leur étude.

CA21

Postnatal

LE CONTRÔLE INTER LABORATOIRE EN CYTOGÉNÉTIQUE (BANDING CLASSIQUE, FISH ET ACPA) REVUE DES 10 ANNÉES D'EXPÉRIENCE DE L'ACLF (2005-2016)

Doco-Fenzy martine (1,5,11), Sanlaville Damien (2,11), Terre christine (3,11), Luquet Isabelle (4,11), Combrisson Marie-Christine (5,11), Sarrauste de Menthère Cyril (6,11), Bilhou-Nabera Chrystele (7,11), Missirian Chantal (8,11), A. Blanc Alexis (9j), Dupont jean-Michel (10,11)

(1) CHU, service de génétique, SFR CAP SANTE, EA 3801, Reims ; (2) CHU, centre biologie et pathologie Est, service de cytogénétique, Lyon ; (3) CHU, laboratoire de cytogénétique, Versailles ; (4) IUCT Oncopole, Service d'hématologie génétique des hémopathies, Toulouse ; (5) Laboratoire CYTOGEN, Nantes ; (6) IGH, CNRS UPR1142, Montpellier ; (7) Hopital St Antoine, Laboratoire de Cytogénétique, Paris ; (8) Hopital Timone, département de génétique médicale, Marseille ; (9) Ingénieur qualité ; (10) CHU Cochin, laboratoire de cytogénétique, Paris ; (11) Comité de pilotage ACLF

Dès 2005 le Groupe Français de Cytogénétique Hématologique (GFCH) et l'Association des Cytogénéticiens de Langue Française (ACLF) ont organisé une Evaluation Externe de la Qualité (EEQ) afin de répondre aux normes de certification puis d'accréditation pour les laboratoires de biologie médicale. Un comité de pilotage a été nommé par le Conseil d'Administration de l'ACLF.

Compte tenu du nombre de laboratoires participants, en moyenne 40 en onco-hématologie et 60 en cytogénétique constitutionnelle, un mode d'évaluation prospectif sous forme de dossiers d'images proposés aux laboratoires a été introduit sur support informatique dès 2007. L'ACLF soutenue par l'Agence de Biomédecine s'est dotée d'un site web et d'un 1er logiciel permettant un anonymat et un stockage des données. En 2009 un 2ème logiciel a été développé par la société Médifirst. Les laboratoires peuvent télécharger les dossiers prospectifs et soumettent des images et des comptes-rendus ainsi que leur droit de réponse en ligne (en moyenne 10% des dossiers). Les groupes d'experts consultent les formulaires de réponse et rendent leur expertise en ligne.

Depuis 2012 L'EEQ pour la technique de CGH-array (ACPA) est disponible en postnatal, 30 laboratoires participent. Il s'agit d'un contrôle prospectif sur des échantillons d'ADN. Un contrôle test a été organisé pour le prénatal en 2016.

L'expertise est réalisée par les groupes de cytogénéticiens expérimentés qui forment des experts juniors par compagnonnage. Les dossiers sont évalués sur 20 points, selon des critères non subjectifs (norme 17025) et tous les items dont la réponse est jugée inadaptée ou inexacte sont argumentés par les experts se référant au Guide de Bonnes Pratiques en Cytogénétique, au Guide de Bonnes Pratiques en ACPA et à l'ISCN. Les performances des laboratoires sont suivies via des notes critiques introduites en 2015 et un suivi pluriannuel des notes obtenues.

Afin de poursuivre sa démarche vers l'accréditation du système d'évaluation de la qualité, le COPIL s'est doté d'un système de management de la qualité et sa politique qualité a été communiquée aux laboratoires participants et fournisseurs concernés. Ce système est géré sous forme de « processus » et la documentation est disponible sur le site web de l'ACLF. Enfin, un contrat de participation est désormais signé par les laboratoires souhaitant suivre ces EEQ.

Une demande d'accréditation a été déposée auprès du COFRAC et les membres du COPIL ont été audités. Le dossier sera représenté fin 2016.



CA22

Postnatal

LE DIAGNOSTIC DE LA TRISOMIE 21 : EXPÉRIENCE DU LABORATOIRE DE CYTOGÉNÉTIQUE ET DE BIOLOGIE DE LA REPRODUCTION DU CHU FARHAT HACHED DE SOUSSE DURANT 6 ANS (2010-2015)

Fatma Turki (1), Sarra Dimassi(1), Afef Jalloul(1), Hamza Hadj Abdallah(1), Yosra Halleb(1), Soumaya Mougou-Zerelli (1), Ali Saad(1)

(1)Service de Cytogénétique et de Biologie de la Reproduction, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie

La trisomie 21 (T21) ou syndrome de Down est définie par la présence d'un 3^{ème} exemplaire, en totalité ou en partie du chromosome 21. C'est l'anomalie chromosomique la plus fréquente atteignant une fréquence de 1/650 à la naissance. Son incidence a diminué significativement après la mise en place du dépistage prénatal. Actuellement, la prévalence de la T21 à la naissance est estimée à 1/2000 naissances vivantes en France.

Ce travail consiste en une étude descriptive transversale du taux de diagnostic de T21 par caryotype standard en périodes postnatale et prénatale réalisée au Service de Cytogénétique et de Biologie de la Reproduction du CHU Farhat Hached de Sousse, durant 6 ans allant de 2010 à 2015.

Le nombre de T21 diagnostiqués en période postnatale pendant les 6 ans a été estimé à une moyenne de 89,16 cas/an (7,54%). La moyenne d'âge chez les patients diagnostiqués est aux alentours de 1 an. Le nombre de T21 diagnostiqués en période prénatale pendant la même période a été estimée à une moyenne de 21,71 cas/an (2,76%).

Les résultats de cette étude ont montré un taux relativement constant du nombre de cas de la T21 diagnostiqués dans notre service durant les 6 ans en période postnatale. Un chiffre plus important que le nombre de T21 diagnostiqués en période prénatale malgré les stratégies de dépistages de la T21. L'âge de conception de la femme Tunisienne ne cesse d'augmenter. Les dernières statistiques Tunisiennes indiquent que l'âge moyen de mariage des femmes est de 30 ans. Deuxièmement les tests de dépistage de la T21 sont actuellement disponibles dans les centres de maternités Tunisiens. Aucune étude pour évaluer le taux de couverture de ces tests chez les femmes enceintes n'a été réalisée. Un taux de couverture faible, pourrait expliquer le taux de T21 stable durant les 6 ans d'étude. Enfin, la naissance d'un enfant porteur de T21 n'est pas forcément liée à un échec de dépistage mais peut correspondre à un choix parental de poursuivre la grossesse pour plusieurs enjeux éthiques et/ou religieux. Une évaluation du protocole de dépistage de la T21 en prénatal s'avère indispensable ainsi qu'une mise en place d'un protocole de prise en charge de ces enfants et de leur famille semble imminent surtout devant l'absence des structures adéquates pour leur prise en charge.



CA23

Postnatal

LE CHROMOSOME Y EN ANNEAU AVEC UNE DÉLÉTION DU GÈNE SHOX : À PROPOS D'UN CAS

Yosra Halleb(1), Sarra Dimassi(1), Afef Jalloul(1), Gafsi Wassila(2), Ali Saad(1), Soumaya Mougou-Zerelli(1)

1 : service de cytogénétique et de biologie de la reproduction, hôpital Farhat Hached, Sousse, Tunisie 2 : service de pédiatrie, hôpital régional de Moknine, Monastir, Tunisie

Le chromosome Y est LE chromosome du « développement sexuel masculin ». Il est constitué d'une grande portion d'hétérochromatine sur la majorité de son bras long. Sa région euchromatique porte les gènes SRY et AZF intervenant dans le déterminisme sexuel masculin et la spermatogenèse. Il possède également deux régions pseudoautosomiques PAR1 et PAR2 communes avec le chromosome X. Plusieurs types d'anomalies chromosomiques peuvent toucher le chromosome Y perturbant essentiellement la fertilité masculine avec des répercussions phénotypiques variables.

Nous rapportons dans ce travail le cas d'un patient âgé de 16 ans qui présente une petite taille (1m59), une scoliose, une déformation de Madelung et un rétrécissement aortique à l'échographie cardiaque sans anomalies des organes génitaux externes (OGE).

Le patient a bénéficié d'un caryotype standard sur lymphocytes sanguins en bandes R et d'une technique d'hybridation in-situ par fluorescence (FISH) utilisant les sondes des gènes SRY et SHOX.

Le caryotype standard a montré une mosaïque chromosomique associant une monosomie X et un anneau de l'Y. La FISH a confirmé la présence de l'anneau de l'Y dans 90% des noyaux analysés. Cet anneau contient le gène SRY avec une délétion du gène SHOX. La monosémie X a été estimée à 10%.

La formation d'un anneau chromosomique implique le plus souvent une délétion télométrique double. Leur instabilité au cours des divisions mitotiques explique leur caractère le plus souvent en mosaïque. Le chromosome Y en anneau a été rarement décrit. Selon la nature des gènes présents sur l'anneau de l'Y et le taux de monosomie X, les patients peuvent présenter une dysgénésie gonadique, des anomalies des OGE, une petite taille, des anomalies squelettiques, ... à degrés variables. La présence ou non d'un gène SRY fonctionnel sur l'anneau permet de déterminer le sexe phénotypique de l'individu. Ceci explique le phénotype masculin chez notre patient. Le gène SHOX ou Short stature Homeobox, contrôle la chondrogenèse et intervient essentiellement dans la caractérisation de la taille de l'individu. L'haploinsuffisance de SHOX est responsable de 70% des dyschondrostéose de Léri-Weill, qui associe une petite taille disproportionnée et une déformation de Madelung caractéristique observée chez notre patient. L'haploinsuffisance de SHOX est aussi impliquée dans la petite taille des syndromes de Turner. La région PAR1 est une zone de haute recombinaison méiotique entre les chromosomes X et Y. La présence de SHOX dans PAR1 peut expliquer la perte de ce gène. Cette délétion peut expliquer également l'apparition de l'anneau de l'Y.



CA24

Postnatal

CAT EYE SYNDROME : TROIS NOUVELLES OBSERVATIONS

A. Benzarti, S. Chantot-Bastarud, F. Rajhanson, N. Joyé, C. Hyon, MF. Portnoi, JP. Siffroi
Service de Cytogénétique, Hôpital Armand Trousseau, Paris.

Le syndrome du « Cat-Eye », CES, est une maladie rare dont la prévalence est estimée à 1/74000. Cliniquement, elle est caractérisée par une triade classique de malformations incluant atrésie anale, colobome de l'iris et appendices prétragien, associée à une dysmorphie faciale caractéristique, et dans certains cas à un retard de développement psychomoteur. Elle est liée essentiellement à la présence d'un marqueur chromosomique surnuméraire dérivé du chromosome 22, à type d'inversion duplication de la région 22q11.2, incluant inconstamment le gène TBX1, et habituellement de novo. Les points de cassure sont situés au niveau de LCRs 22 (low copy repeats) qui favorisent la survenue de ce type de remaniement et déterminent trois classes de marqueurs CES.

Nous rapportons 3 nouvelles observations de patients d'âge différent, un fœtus, un nouveau-né et un adulte de 23 ans, qui illustrent la variabilité phénotypique et génétique de ce syndrome. Le marqueur a été diagnostiqué par caryotype et FISH (Hybridation in situ en fluorescence), puis caractérisé par puce à ADN. L'étude familiale n'a pu être effectuée que dans un seul cas.

La première observation correspond à un fœtus, de sexe masculin, qui présentait un phénotype atypique, avec sirénomélie ayant motivé une interruption médicale de grossesse à 14 SA. Des malformations fœtales multiples ont été retrouvées à l'examen fœtopathologique. Le marqueur chromosomique est de type inv dup(22)(q11.2), asymétrique (classe IIa), et en mosaïque.

Le deuxième patient est un nouveau-né, de sexe masculin, avec retard de croissance intra-utérin. Une imperforation anale haute, non identifiée en prénatal, a motivé une intervention chirurgicale en urgence à la naissance. Il existait en plus une cryptorchidie bilatérale, des pertuis pré-auriculaires bilatéraux et un retour veineux pulmonaire anormal. Le marqueur surnuméraire est homogène, de type inv dup(22q), de classe I, et survenu de novo.

Le troisième est un patient chez lequel le diagnostic de CES, porté à l'âge de 1an, devant une dysmorphie faciale, un colobome irien et une imperforation anale, revu à l'âge de 23 ans, nous donne des informations sur son évolution phénotypique à l'âge adulte. Son marqueur surnuméraire est de type inv dup(22)(q11.2), de classe I, et homogène.



CA27

Postnatal

LA CARACTÉRISATION DES REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES APPAREMMENT ÉQUILIBRÉS PAR SÉQUENÇAGE DU GÉNOME ENTIER PERMET L'IDENTIFICATION DE GÈNES IMPLIQUÉS DANS L'ÉPILEPSIE.

Julie Masson (1,2), Flavie Diguët (1,2), Pierre-Antoine Rollat-Farnier (1), Sylvie Mazoyer (2), Gaétan Lesca (1,2), Valérie Kremer (3), Elizabeth Flori (3), Marie-France Portnoï (4), Jean-Pierre Siffroi (4), Stéphanie Valence (5), Marianne Till (1), Patrick Edery (2,6), Damien Sanlaville (1,2), Caroline Schluth-Bolard (1,2)

(1) Service de Génétique, Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, Centre de Biologie et Pathologie Est, Hospices Civils de Lyon, Bron, France (2) Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, INSERM U1028 ; CNRS UMR5292 ; UCBL1 ; équipe GENDEV, Lyon, France (3) Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital de Hautepierre, CHU Strasbourg, France (4) Département de Génétique Médicale, Hôpitaux Universitaires de l'Est Parisien, Hôpital d'Enfants Armand Trousseau, Paris, France (5) Service de Neuropédiatrie, Hôpital d'Enfants Armand Trousseau, Paris, France (6) Service de Génétique, Unité de Génétique Clinique, Hôpital Femme-Mère-Enfant, Hospices Civils de Lyon, Bron, France

(1) Service de Génétique, Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, Centre de Biologie et Pathologie Est, Hospices Civils de Lyon, Bron, France (2) Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, INSERM U1028 ; CNRS UMR5292 ; UCBL1 ; équipe GENDEV, Lyon, France (3) Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital de Hautepierre, CHU Strasbourg, France (4) Département de Génétique Médicale, Hôpitaux Universitaires de l'Est Parisien, Hôpital d'Enfants Armand Trousseau, Paris, France (5) Service de Neuropédiatrie, Hôpital d'Enfants Armand Trousseau, Paris, France (6) Service de Génétique, Unité de Génétique Clinique, Hôpital Femme-Mère-Enfant, Hospices Civils de Lyon, Bron, France

L'épilepsie est une affection neurologique fréquente, touchant environ 1% de la population, pour laquelle l'identification de gènes a subi un retard important du fait de la grande hétérogénéité génétique, de la variabilité phénotypique et de l'existence de phénocopies. L'avènement des nouvelles technologies, comme l'analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA) et le séquençage nouvelle génération (Next Generation Sequencing NGS) a permis ces dernières années d'identifier de nombreuses variations du nombre de copies (CNV) et des mutations dans des gènes. Une approche possible pour identifier de nouveaux gènes impliqués dans l'épilepsie est l'analyse de remaniements chromosomiques apparemment équilibrés (RCAE) chez des patients présentant une épilepsie, en faisant l'hypothèse qu'un ou plusieurs gène(s) sera(en)t interrompu(s) par le RCAE ou qu'un ou plusieurs gènes aurai(en)t une modification de leur expression par un effet de position. Nous rapportons ici l'étude de 3 patientes porteuses respectivement d'une inversion paracentrique $inv(2)(q22;q32.3)$ (P1), d'une inversion péricentrique $inv(2)(p12q22)$ (P2), et d'une translocation réciproque $t(11;15)(p14;q14)$ (P3) associée à une épilepsie et une déficience intellectuelle, ainsi que des malformations pour la patiente P3.

Le séquençage du génome entier, en paired-end, associé à un séquençage Sanger, a permis de caractériser les points de cassure identifiés sur le caryotype des trois patientes, à la base près. Les résultats ont également été vérifiés par hybridation in situ en fluorescence. L'interruption de trois gènes a été mise en évidence : MBD5 (2q23.1) chez P1 et P2, M1AP (2p13.1) chez P1 et MEIS2 (15q14) chez P3. Les études d'expression (RT-qPCR) réalisées chez P1 et P2 montrent une diminution de l'expression de MBD5 pour les deux patientes. Le gène MBD5 est associé à un phénotype comportant une déficience intellectuelle, un trouble du langage sévère, une épilepsie et des troubles du comportement à type de troubles du spectre autistique. L'interruption de ce gène chez nos deux patientes semble donc responsable de leur phénotype. Concernant la patiente 3, l'interruption du gène MEIS2 permet d'expliquer le phénotype malformatif et la déficience intellectuelle mais n'a pas été décrit dans le cadre d'épilepsie. MEIS2 est donc un nouveau candidat pour l'épilepsie, mais un effet de position sur un gène adjacent pourrait également contribuer au phénotype. Des études d'expression sont en cours pour contribuer à valider ces hypothèses.



CA28 (ACLF/ATC)

Postnatal

UNE INSERTION PEUT EN CACHER D'AUTRES : À PROPOS D'UNE INSERTION INS(15;12) CARACTÉRISÉE PAR SÉQUENÇAGE AU DÉBIT

Flavie Diguët, Bertrand Isidor, Cédric Le Caignec, Pierre-Antoine Rollat-Farnier, Damien Sanlaville, Caroline Schluth-Bolard
ATC

Les remaniements chromosomiques apparemment équilibrés (RCAE) associés à un phénotype anormal sont des événements rares qui posent de réelles difficultés diagnostiques. Ils surviennent dans 6% des translocations réciproques de novo et 9% des inversions de novo. Le phénotype anormal –déficience intellectuelle, malformation...- peut être expliqué par un des trois événements suivants: un déséquilibre génomique cryptique, l'interruption d'un gène au point de cassure, un effet de position.

Dans le cadre du projet ANI, nous avons étudié une insertion apparemment équilibrée ins(15;12)(q15 ou q21;q24.1q24.2) découverte chez un patient ayant une déficience intellectuelle modérée, des taches café au lait, une dysmorphie et une macrocéphalie. L'analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA) ne montrait pas de déséquilibre génomique.

Un séquençage génome entier « paired-end » a été réalisé sur le NextSeq 500 (Illumina). Cette méthode implique le séquençage des 2 extrémités (reads) d'un fragment d'ADN d'environ 350 pb qui sont ensuite alignées sur un génome de référence. L'alignement a été réalisé en utilisant BWA (hg19). Les lectures considérées anormales ont été répertoriées par BreakDancer puis visualisées avec IGV.

Alors que 3 points de cassure étaient attendus d'après le caryotype, le NGS a permis d'identifier 6, tous vérifiés par PCR et séquençage Sanger, en 12q23.2 (chr12: 101,739,873-101,739,885), 12q24.21 (chr12: 115,799,077-115,799,085), 15q14 (chr15: 35,043,062-35,043,063), 15q14 (chr15 : 36,618,916-36,618,917), 15q14 (chr15 : 38,605,305-38,605,309) et 15q14 (chr15: 39,186,047- 39,186,049).

Nous avons donc mis en évidence un RCAE beaucoup plus complexe qu'attendu avec 6 points de cassure et composé d'une insertion directe de 14Mb du bras long du chromosome 12 dans le bras long du chromosome 15, visible au caryotype, d'une insertion inversée cryptique de 1,5Mb du bras long du chromosome 15 dans le bras long du chromosome 12 vérifiée en FISH et de deux insertions intra-chromosomiques directes cryptiques de 0,5 Mb et 2 Mb sur le chromosome 15.

L'identification des points de cassure a aussi révélé l'interruption de 2 gènes : UTP20 (12q23.2) et SPRED1 (15q14).

Cette analyse confirme que le NGS est un outil rapide et efficace pour caractériser les RCAE. Il a aussi un intérêt diagnostique majeur en révélant avec une localisation précise l'interruption de gènes. Dans le cas présent, l'interruption de SPRED1 responsable du syndrome de Legius a permis d'expliquer le phénotype du patient.

CA29

Postnatal

CYTOGENOMA : UN OUTIL D'AIDE A L'INTERPRETATION AU DIAGNOSTIC DES CNV POUR LA CGH-ARRAY

Loïc Drévuillon (1), Estelle Hauteville (5), Virginie Benoit (1), Dominique Pineau (1), Irina Giurgea (2,3), Geoffroy Esnault (1), Romain Diot (1), Corinne Métay (6), Sophie Brisset (1,4), Gérard Tachdjian (1,4), Lucie Tosca (1,4) (1). AP-HP, Service d'Histologie, Embryologie et Cytogénétique, Hôpitaux Universitaires Paris-Sud – Hôpital Antoine Béchère, Clamart 92140, France ; (2). AP-HP, U.F. de Génétique moléculaire, Hôpitaux Universitaires Paris-Est - Hôpital Armand Trousseau, Paris 75012, France. (3). INSERM UMR S933, Université Pierre et Marie Curie (Paris 6), Sorbonne Universités, Paris 75012, France. (4). Université Paris-Sud, Le Kremlin Bicêtre 94270, France. (5). Institut Scientifique Polytechnique Galilée, Université Paris 13, France. (6). UF Cardiogénétique et Myogénétique, Centre de Génétique Moléculaire et Chromosomique, GH Pitié Salpêtrière, 75651 Paris.

La variation du nombre de copies (CNV) de certaines régions du génome peut être la cause d'anomalies chromosomiques responsables de pathologies. La technique de CGH-array (comparative genomic hybridization array) permet de mettre en évidence ces CNV. Pour chaque patient, une analyse spécifique de chaque CNV est indispensable pour permettre leur classement dans l'une des catégories : bénin, VOUS (variant of unknown significance) ou pathogène. Pour les plateformes CGH-array de type Agilent, des fichiers « Interval Based Report (IBR) » contenant la liste des CNV d'un patient sont générés et peuvent être envoyés vers le logiciel d'aide à l'interprétation BenchLabCNV pour être analysés via les serveurs Cartagena. Malgré un nombre élevé de CNV détectés par patient et une constante augmentation des activités de diagnostic à la fois anté- et post-natales au sein des laboratoires de cytogénétique, cette interprétation reste actuellement manuelle.

Pour répondre au besoin d'analyse haut débit des CNV, nous avons développé le programme Cytogenoma permettant une aide à l'interprétation automatisée des IBR générés par les plateformes Agilent. Actuellement, cet outil est disponible sous la forme d'un fichier excel comprenant des macros codées en Visual Basic. Cytogenoma récupère les informations des patients contenues dans la base de données patients du service de cytogénétique de l'hôpital Béchère, annote automatiquement les CNV issus des références ainsi qu'un grand nombre de CNV bénins (en conservant les bornes des CNV issues de nos bases de données et celle de DGV), identifie des gènes responsables en fonction des indications (telle que la déficience intellectuelle) et enfin édite un compte rendu aux prescripteurs au format « pdf », signé électroniquement et de manière sécurisée.

Actuellement, cet outil est implémenté avec des listes de gènes responsables de pathologies et de syndromes micro- délétionnels / duplicationnels. Une encapsulation sous forme d'un programme Visual Basic exécutable sous Windows est à l'étude.

Le développement de cet outil bioinformatique d'aide à l'interprétation des CNV nous a permis de traiter de façon plus optimale les dossiers en terme : (1) d'analyse automatisée avec amélioration de leur fiabilité et de leur traçabilité, (2) d'interprétation des variants et (3) de réduction du temps d'analyse (divisé par 20). Ainsi, Cytogenoma a permis une prise en charge efficace des dossiers permettant l'augmentation de l'activité diagnostique et la diminution des délais du rendu de résultats.



CA30

Postnatal

MÉCANISMES DE RÉPARATION DE REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES COMPLEXES : À PROPOS DE DEUX CAS.

N. Chatron 1,2, J. Lauer Zillhardt 1, PA. Rollat Farnier 1, A. Labalme 1, F. Prieur 3, F. Diguët 1, MP Cordier 4, M. Till 1, R. Touraine 3, C. Bardel 5, P. Roy 5, D. Sanlaville 1,2, C. Schluth-Bolard 1,2

1. Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, Hospices Civils de Lyon, Lyon 2 INSERM U1028 CNRS UMR 5292, UCBL, CRNL, GENDEV Team, Lyon 3 Service de génétique médicale, CHU Saint-Etienne, Saint-Etienne, 4 Service de génétique, Hospices Civils de Lyon, Lyon 5 UMR 5558, LBBE, Service de Biostatistique et plateforme de séquençage NGS, CNRS, Lyon

Les remaniements chromosomiques complexes sont caractérisés par la survenue d'au moins 3 cassures chromosomiques avec échange de matériel entre les différents loci. Récemment, des cas de remaniements très complexes focalisés sur un même chromosome, voire un même bras chromosomique ont été observés, en oncologie, puis en pathologie constitutionnelle, chez des patients présentant une déficience intellectuelle et/ou des malformations congénitales. Ils seraient la conséquence d'un évènement unique cataclysmique, une « explosion chromosomique » localisée. Dénommés chromothripsis ou chromoanasythesis selon les mécanismes de réparation envisagés leurs survenues restent rares et les connaissances sur leur mécanisme de survenue et leurs conséquences sont parcellaires.

Nous rapportons ici 2 patients présentant une déficience intellectuelle syndromique et porteurs de remaniements chromosomiques complexes : un anneau dérivé du chromosome 21 (patient 1) et une double inversion du chromosome 3 (patient 2). Ces remaniements ont été caractérisés par ACPA et séquençage génome entier (WGS) en « paired-end » 2x101pb, (NextSeq500, Illumina). La détection de variations de profondeur de séquençage WGS et des anomalies d'alignement des paires de reads ont permis une définition rapide et efficace de l'ensemble des remaniements de structures équilibrées ou déséquilibrées. Chez le patient 1, l'ACPA a identifié 20 variations du nombre de copies (CNVs) et le WGS a permis la mise en évidence de 4 CNVs additionnels de petite taille. Tous ces CNVs ont été confirmés par qPCR ou FISH. L'amplification des fragments de jonction est en cours. Chez le patient 2, aucun déséquilibre n'a été mis en évidence en ACPA. Le WGS a identifié 14 points de cassure. L'amplification et séquençage Sanger des fragments de jonction a permis d'atteindre une résolution à la base près. L'observation conjointe de nombreuses microhomologies de séquence (jusqu'à 6 bases) et la présence de délétions de plusieurs dizaines de bases sur différents points de cassure est en faveur d'un mécanisme de type Alternative (Non Homologous) End-Joining, et permet donc de parler de chromoanasythesis pour ce remaniement. Pour autant, l'adjonction d'une seconde technologie de séquençage long reads pourrait permettre d'élucider certains micro-remaniements locaux très complexes pour lesquels la technologie short reads est prise en défaut.

Au total, nous avons à la fois pu démontrer une complexité plus importante que celle qui avait été envisagée par les autres techniques, valider notre stratégie de séquençage génome entier sur les plans techniques et bioinformatiques et distinguer un cas de chromoanasythesis. Cette approche montre l'intérêt du WGS pour comprendre les mécanismes des remaniements chromosomiques complexes.



CA31 (ACLF/ATC)

Prénatal

DÉPISTAGE PRÉNATAL NON INVASIF DE LA TRISOMIE 21 : BILAN D'UN AN D'ACTIVITÉ AUX HOSPICES CIVILS DE LYON

M. Luino, C. Bonnefille, A. Labalme, M. Till, N. Chatron, C. Schluth-Bolard, D. Sanlaville
ATC ; Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, Hospices Civils de Lyon

En France, la trisomie 21 fait l'objet d'une politique de dépistage depuis les années 1970. Malgré des améliorations continues, la valeur prédictive positive de la stratégie actuelle reste inférieure à 5%. La découverte de la présence d'ADN « fœtal » libre circulant dans le plasma maternel et le développement de technologies de séquençage à haut débit ont permis la diffusion d'un nouveau type de test dit de Dépistage Prénatal Non Invasif (DPNI).

Après une étape de mise au point-validation menée au sein du Consortium H+, le laboratoire de Cytogénétique des Hospices Civils de Lyon a mis à disposition le test selon les recommandations version 1 de l'ACLF en septembre 2015.

Sur le plan technique, après double centrifugation des tubes Streck, l'ADN plasmatique est extrait à partir de 4mL de plasma maternel avec le kit Qiagen Acid Nucleic Circulating. La conversion de l'ADN libre circulant plasmatique en librairies de fragments prêts à être séquencés est semi-automatisée (Library Builder, Life) avant une étape de 10 cycles de PCR. Les librairies sont ensuite multiplexées par 5 pour être chargées sur la puce de séquençage (IonChef). Le séquençage est réalisé grâce à la technologie semi-conducteur du IonProton. Les séquences obtenues sont ensuite filtrées et analysées avec le logiciel WISECONDOR.

Sur 373 demandes reçues, 190 l'étaient pour dépistage combiné du 1er trimestre positif, 100 suite à un dépistage du second semestre, 32 pour antécédent d'aneuploïdie et 33 pour grossesse gémellaire. L'âge moyen des patientes était de 36 ans. Le terme de grossesse au moment du prélèvement était de 17 semaines d'aménorrhée.

Le délai moyen de rendu sur les 3 derniers mois est de 13 jours. Sur 352 résultats rendus, les 6 trisomies 21 identifiées ont toutes été confirmées lors d'un prélèvement invasif.

Nous avons également identifié une trisomie 8, une trisomie 15 et une trisomie 16, illustrant bien l'origine trophoblastique de l'ADN étudié et le rôle du cytogénéticien.

Même si nous ne disposons pas de toutes les issues de grossesse, le test de DPNI présente de très bonnes performances. Sa diffusion révolutionne déjà l'activité des laboratoires de diagnostic prénatal en faisant évoluer les techniques du caryotype vers le séquençage à haut débit. La proximité d'interprétation entre le dépistage DPNI et le diagnostic par examen direct de villosités chorales justifie largement l'implication des laboratoires de cytogénétique.



CA32

Prénatal

L'ADN FŒTAL CIRCULANT EST D'ORIGINE PLACENTAIRE : AVANTAGES ET INCONVÉNIENTS POUR LE DPNI DES ANEUPLOÏDIES APRÈS 1 AN D'EXPÉRIENCE

N. Chatron 1,2, M. Luino 1, C. Abel 3, E. Ollagnon 3, MN Bonnet Dupeyron 4, C. Bardel 5, MP Cordier 6, R. Touraine 7, A. Fichez 3, E. Alix 1, A. Labalme 1, M. Till 1, D. Sanlaville 1,2, C. Schluth-Bolard 1,2

1. Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, Hospices Civils de Lyon, Lyon 2. GENDEV team, CRNL INSERM U1028 CNRS, Lyon 3. Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal, Hôpital de la Croix Rousse, Hospices Civils de Lyon, Lyon 4. Service de génétique, Centre Hospitalier de Valence, Valence 5. Service de biostatistique – bioinformatique, Hospices Civils de Lyon, Lyon 6. Service de génétique médicale, Hospices Civils de Lyon, Lyon 7. Service de génétique médicale, CHU de Saint-Etienne, Saint-Etienne

Dès la découverte de la présence d'ADN « fœtal » libre circulant dans le plasma maternel, la possibilité d'un test de dépistage prénatal non invasif de la trisomie 21 était évoquée. C'est le développement des technologies de séquençage massif en parallèle qui a permis son transfert en diagnostic. Deux stratégies technologiques cohabitent aujourd'hui : la première pangénomique capable en théorie de détecter les aneuploïdies de tous les chromosomes et la seconde, ciblée sur les chromosomes 13, 18 et 21 (+/- gonosomes).

Notre laboratoire réalise le test de DPNI de la trisomie 21 par approche pangénomique depuis septembre 2015 sur un séquenceur Proton à partir du protocole développé en commun au sein du Consortium H+. Fin juin 2016, nous avons réalisé 400 tests. Outre les 6 trisomies 21 identifiées et confirmées lors d'un prélèvement invasif, nous avons également identifié 3 autres aneuploïdies toutes confirmées sur deux prélèvements indépendants.

Un profil évocateur de trisomie 15 a été identifié chez une patiente de 45 ans prélevé à 15SA pour âge maternel. La ponction de liquide amniotique a montré un caryotype normal et a été mis en évidence une hétérodisomie uniparentale maternelle du 15 posant le diagnostic de syndrome de Prader-Willi. L'échographie fœtale était normale.

Un profil évocateur de trisomie 16 a été identifié chez une patiente de 33 ans prélevé à 14SA+4j pour marqueurs sériques hors bornes. Compte tenu de la fréquence des trisomies 16 confinées au placenta, de l'absence d'anomalie échographique, un prélèvement invasif n'a pas été demandé mais le prescripteur et la patiente ont été informés de ce résultat compte tenu des conséquences potentielles sur le fonctionnement placentaire et la croissance fœtale au 3ème trimestre de grossesse.

Un profil évocateur de trisomie 8 a été retrouvé chez une patiente de 42 ans prélevé à 23SA pour dépistage combiné du 1er trimestre positif. Le suivi échographique est sans particularité et la patiente a refusé la réalisation d'un test invasif.

Si notre série est trop petite elle est cependant en accord avec la fréquence attendue de ce type de situation, tous chromosomes confondus, estimé à 0,7% à partir des données de ponctions de villosités chorales. Idéalement, ces résultats devront être confirmés à la naissance sur un prélèvement placentaire mais ces 3 situations illustrent bien l'intérêt d'une approche pangénomique et donc l'importance du rôle du cytogénétiicien confronté à la même situation que lors de la réalisation d'un examen direct de villosités chorales.



CA33

Prénatal

LE DPNI SUR SANG MATERNEL : LES PIÈGES DU CFFDNA.

GATINOIS Vincent(1), GUAGLIARDO Elodie(1), VINTEJOUX Emmanuelle(2), BOULOT Pierre(2), HAQUET Emmanuelle(3), PUECHBERTY Jacques(3), SCHNEIDER Anouck(1), PELLESTOR Franck(1)

(1) Laboratoire de génétique chromosomique, hôpital A. de Villeneuve, CHU de Montpellier (2) Département de gynécologie obstétrique, hôpital A. de Villeneuve, CHU de Montpellier (3) Département de génétique clinique, hôpital A. de Villeneuve, CHU de Montpellier

Le Dépistage Prénatal Non Invasif des anomalies cytogénétiques fœtales sur le sang de maternel représente une révolution dans la prise en charge des femmes enceintes. Avec une sensibilité et une spécificité inégalées pour un dépistage de masse, il permet d'éviter de nombreux gestes invasifs et rend les grossesses à risque plus sereines. Ce test est fondée sur la présence de l'ADN fœtal circulant librement (cell free DNA ou cffDNA) dans le sang maternel dont la demi-vie est très courte, ce qui le rend représentatif de la grossesse en court.

Le cffDNA est issu de l'apoptose des cellules trophoblastiques. Ainsi, au même titre qu'un examen de villosités choriales, les mosaïques confinées au placenta seront retrouvées lors de l'analyse du cffDNA.

Dans le sang de la mère, le cffDNA se trouve mélangé à l'ADN circulant d'origine maternel en très large majorité. La proportion de cffDNA est appelée « fraction fœtale » et dépend notamment du terme de la grossesse et de l'indice de masse corporelle de la mère. Si cette fraction fœtale est trop faible, il existe un risque d'échec de la technique ou d'erreur interprétation.

De plus, l'interprétation peut être faussée par des sources tierces d'ADN libre : la présence d'un second placenta lors de grossesses gémellaires ou de jumeaux évanescents, l'existence d'une tumeur même infra-clinique chez la mère libérant un ADN tumoral libre ou encore une greffe d'organe ou l'administration de thérapies cellulaires. Ces sources apportent un ADN libre qui est différent de celui de la mère et du fœtus à dépister. Ainsi l'analyse du cffDNA peut donner lieu à des faux positifs et des faux négatifs mais également à la découverte d'incidentalomes.

Une revue de la littérature ainsi que les premiers résultats obtenus lors de la mise en place du DPNI de la trisomie 21 au CHU de Montpellier permettront de débattre de la cinétique du cffDNA lors de la grossesse et d'estimer l'influence des paramètres physiopathologiques maternels sur la fraction fœtale. Enfin, nous rapporterons les principaux pièges à éviter pour ce test dans la pratique courante d'un laboratoire de cytogénétique.



CA34

Postnatal

EXPÉRIENCE DU LABORATOIRE DE CYTOGÉNÉTIQUE DU CPMC D'ALGER DANS LE DIAGNOSTIC DES SYNDROMES MICRODÉLÉTIONNELS

Aït Abdelkader Belaid (1,2), Meriem Ghouali (1,2), Chikouche Ammar (1, 2)

(1) Laboratoire d'Hormonologie, Centre Pierre et Marie Curie - Alger. (2) Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaire, Université d'Alger 1.

Les retards mentaux isolés ou syndromiques touchent 2 à 3 % de la population générale. Ils sont dus majoritairement à des aberrations chromosomiques dont la détection se fait par caryotype. Cependant, cette technique est limitée de part son pouvoir résolusif.

Les techniques de cytogénétique moléculaire (FISH et CGH-array) ont révolutionné le diagnostic des RM syndromiques en particulier ceux résultant d'une anomalie de structure chromosomique.

Les syndromes microdélétionnels, qui sont l'objet de notre étude, sont identifiés par une analyse FISH sur préparation chromosomique au sein du Centre Pierre et Marie Curie, Laboratoire de Biochimie, Unité de Cytogénétique. Sur 77 suspicions de microdélétions, seules 24 d'entre elles ont pu être confirmées par FISH. Ceci attire notre attention sur les limites de cette technique malgré un pouvoir résolusif inférieur à 5Mb.

Afin d'optimiser le taux de patients diagnostiqués, il serait intéressant d'avoir recours à la CGH-array qui apporte des éléments de précision. Dans ce sens 10 prélèvements ont bénéficiés de cette examens dans le cadres d'une collaboration avec les laboratoires étrangers.

Cet arsenal d'exploration aura permis le diagnostic d'un grand nombre de retard mentaux, il n'en demeure pas moins qu'une partie de ces RM reste inexplicée.



CA35

Postnatal

LE SYNDROME DE PALLISTER KILLIAN À PROPOS D'UN CAS.

Aït Abdelkader Belaid (1,2), Meriem Ghouali (1,2), Chikouche Ammar (1, 2)

(1) Laboratoire d'Hormonologie, Centre Pierre et Marie Curie - Alger. (2) Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaire, Université d'Alger 1.

Le syndrome de Pallister-Killian (PKS) est un syndrome d'anomalies congénitales/déficit intellectuel dû au mosaïcisme tissulaire d'une tétrasomie du chromosome 12p. L'incidence annuelle est incertaine et estimée à environ 1/25 000.

Ce syndrome associe une dysmorphie faciale caractéristique, des anomalies de la pigmentation cutanée, des malformations viscérales, un retard psychomoteur sévère et une épilepsie rebelle aux traitements.

Le but de ce travail est de présenter une observation d'une patiente chez la quelle le diagnostic du SPK est retenu après étude cytogénétique.

Le diagnostic était évoqué en post natal devant un retard psychomoteur profond, une épilepsie, une dysmorphie faciale associant un faciès allongé, un front proéminent, un hypertélorisme et une grande bouche.

Ce diagnostic est confirmé par une hybridation in situ fluorescente (FISH) réalisée avec une sonde centromérique 12 et une sonde télométrique 12 p ter sur lymphocytes.

L'étude cytogénétique réalisée chez les parents ne retrouve aucune anomalie, le conseil génétique est par conséquent rassurant



CA36

Postnatal

TRANSLOCATION (X;Y) LEADING TO CHONDRO-DYSPLASIA PUNCTATA WITH HEARING LOSS : FAMILY CASE REPORT

Amasdl S 1,2, Smaili W 1,2, Natiq A 2, Hassani L 3, Mansouri M 1,2, Sbiti A 2, Chafai Elalaoui S 2, Sanlaville D 4, Agadr A 3, Sefiani A 1,2

1Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V Souissi, Rabat, Morocco. 2Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Morocco. 3Service de pédiatrie, Hôpital militaire d'Instruction Mohammed V, Hay Riyad, Rabat Morocco 4 Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, CHU de Lyon HCL, GH Est, Lyon, France

The X;Y translocation is a rare structural chromosome aberration, described in approximately 50 cases by now. This condition is associated with a contiguous gene syndrome resulting in co-deletion of numerous neighboring genes leading to heterogeneous phenotype. Common symptoms include: short stature, skeletal abnormalities, ichthyosis and mental retardation. We report here two brothers with a familial X;Y translocation. Clinical manifestations included dysmorphic features, short stature, hearing loss associated with chondrodysplasia punctata. Conventional cytogenetic have found a derivative of chromosome X with an abnormally expanded short arm due to an (X;Y) translocation, while array comparative genomic hybridization disclosed a 2.6 Mb deletion localized in the break point Xp22.33 involving the short stature homeobox gene (SHOX) and arylsulfatase gene (ARSE). Here we report the case of two brothers with familial chondrodysplasia punctata with hearing impairment caused by maternally inherited X;Y translocation.



CA37

Postnatal

CHROMOSOME 4 EN ANNEAU À PROPOS DE 3 OBSERVATIONS REVISITÉES EN ACPA

Céline Poirsier (1,2), Christophe Carreau (1), Pierre François Souchon (3), Anne Sophie Musial (3), Christelle Mangeonjean (1), Emilie Landais (1,4), Martine Doco-Fenzy (1,2)

(1) (1) Service de génétique CHU de Reims (2) SFR CAP Santé, EA3801, (3) Service de Pédiatrie, CHU de Reims, (4) Plateforme PRBI CHU Reims

Les chromosomes en anneau sont des anomalies de structure rares. La formation en anneau est liée

à la circularisation d'un chromosome ayant une cassure des 2 extrémités, entraînant une délétion des segments terminaux. Les anneaux sont instables lors des divisions cellulaires, entraînant fréquemment une mosaïque dynamique, avec mécanismes de délétions-duplications. Ils peuvent concerner l'ensemble des chromosomes. Dans la littérature, une trentaine de patients avec un anneau du chromosome 4 [r(4)] ont été décrits. Les manifestations cliniques les plus fréquentes sont un retard staturo-pondéral, une microcéphalie et un retard psycho-moteur.

Certains avaient une fente labio-palatine, une malformation cardiaque. Lorsque l'anneau est associé à une délétion 4p incluant au moins une partie des gènes LETM1 et WHSC1, les patients ont un phénotype de syndrome de Wolf-Hirschhorn, avec une dysmorphie évocatrice.

Nous rapportons 3 patients porteurs d'un r(4).

- Le patient 1 est une jeune fille de 9 ans avec une cassure de la courbe staturo-pondérale associée à des difficultés d'apprentissage, opérée d'une malposition anale en période néonatale. A 15,5 ans, après un traitement par hormone de croissance, elle mesure 158 cm et pèse 64 kg. Elle présente un anneau du chromosome 4 en mosaïque :

46,XX[18]/47,XX,+r(4)[12].ish r(4)(D4596-,D4S174-,D4S3360-,4qtel-) dn.

- Le patient 2 est un garçon de 3 ans avec un RCIU sans rattrapage post-natal, associé à une cryptorchidie bilatérale et des traits dysmorphiques, et développement correct. Le caryotype a montré une mosaïque complexe, le clone majoritaire comprenant un r(4) et un dérivé d'une translocation t(4;17) : 45,XY,-4,-17,+der(17)t(4;17)(q10;q25)[9] / 46,XY,-4,+r(4),-17,+der(17)t(4;17)(q10;q25) [115] / 47,XY,-4,+r(4) x2, -17,+der(17)t(4;17)(q10;q25) [5]. L'ACPA n'a pas identifié de délétion des extrémités terminales du chromosome 4 mais des remaniements interstitiels complexes.

- Le patient 3 est un garçon référé à 21 mois pour RCIU avec un retard de croissance post-natal à -4DS, une microcéphalie et des traits morphologiques particuliers. Le caryotype montre un r(4) sur toutes les mitoses étudiées : 46,XY,r(4)::p16->q35::)[20]. ish r(4)(D4S3360-,wcp4+)[20] dn. L'ACPA a mis en évidence une délétion 4pter n'emportant pas la région impliquée dans le syndrome de Wolf-Hirschhorn et une délétion 4qter : arr [hg19] 4p16.3 (71,552-449,774)x1, 4q35.1q35.2(186,343,655-190,916,678)x1.

Nous discuterons de l'implication de l'anneau r(4) et des CNV dépistés par ACPA dans le phénotype des patients, en les comparant à ceux décrits dans la littérature.

CA38

Postnatal

DÉLÉTION DU CLUSTER DE SCN EXPLORÉE PAR LES TECHNIQUES DE CYTOGÉNÉTIQUE ET SÉQUENÇAGE MOYEN DÉBIT

E. LANDAIS¹, M. JENNESSON-LYVER^{2,3}, J. MOTTE^{2,3}, A. LANNOY⁴, R. DARD⁴, N. GRUSON⁴, A.S. LEBRE⁴, M. DOCO-FENZY⁴

1. CHU Reims, Plate-forme Régionale de Biologie Innovante, REIMS, F-51092, France 2. CHU Reims, American Memorial Hospital, Pôle de pédiatrie, Service de pédiatrie, REIMS, F-51092, France 3. Centre de référence des épilepsies rares et de la sclérose tubéreuse de Bourneville 4. CHU Reims, Hôpital Maison Blanche, Pôle de biologie, Secteur de génétique, REIMS, F-51092, France 1. CHU Reims, Plate-forme Régionale de Biologie Innovante, REIMS, F-51092, France 2. CHU Reims, American Memorial Hospital, Pôle de pédiatrie, Service de pédiatrie, REIMS, F-51092, France 3. Centre de référence des épilepsies rares et de la sclérose tubéreuse de Bourneville 4. CHU Reims, Hôpital Maison Blanche, Pôle de biologie, Secteur de génétique, REIMS, F-51092, France

Le syndrome de Dravet est une des formes les plus sévères d'épilepsie de l'enfant d'origine génétique. Il se caractérise généralement par une épilepsie sévère pharmaco-résistante qui débute de façon précoce avant l'âge d'un an par des convulsions fébriles et qui entraîne notamment par la suite des retards de développement, des troubles du langage, du comportement et de la coordination. Dans 70 à 80% des cas, le syndrome est le résultat d'une mutation dans le gène SCN1A, codant pour le canal sodique Nav1.1. Cependant, un remaniement chromosomique ou une délétion exonique du gène SCN1A peuvent également être retrouvés chez 2 à 4 % des patients. Plus de 90% des altérations génétiques retrouvées sont survenues de novo.

Notre étude rapporte la mise en évidence d'une délétion 2q24.3q31.1 de 7,9 Mb emportant le cluster des gènes SCN chez une petite fille de 1 an adressée en consultation de génétique pour syndrome de Dravet atypique du fait du retard sévère de développement associé. L'épilepsie a débuté à 12 mois par des crises fébriles convulsives avec un EEG qui retrouvait des ondes lentes occipitales delta dans un contexte d'IRM normale. A l'âge de 36 mois, l'évolution de l'épilepsie est favorable. Néanmoins la patiente présente un retard important des acquisitions (retard sévère de langage) et une grande hypotonie (pas de station assise). La délétion 2q24q31 a été détectée par analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA) et a également été observée par l'analyse « copy number » d'un séquençage NGS d'un panel à façon de gènes impliqués dans l'épilepsie. L'analyse systématique des parents par hybridation in situ a montré chez sa maman la présence d'une insertion de cette région 2q24q31 dans un chromosome 12, ce qui a permis d'informer les apparentés sur les risques accrus de récurrence (cette insertion étant notamment présente chez ses deux autres filles). Ce cas clinique souligne la diversité actuelle et la complémentarité des techniques de détection (et de confirmation) de déséquilibres cytogénétiques ainsi que l'importance de la cytogénétique conventionnelle pour le conseil génétique.



CA39

Postnatal

SYNDROME DE GOLDENHAR ET MICRODUPLICATION 14q23.1

Gaëlle Salaün^{1,3}, Fanny Laffargue², Eléonore Pierre¹, Carole Goumy^{1,3}, Laetitia Gouas^{1,3}, Corinne Suarez-Douarre⁴, Christine Francannet², Philippe Vago^{1,3}, Céline Pebrel-Richard¹

1-CHU Clermont-Ferrand, Cytogénétique Médicale, Clermont-Ferrand, F-63003 ; 2- CHU Clermont-Ferrand, Génétique Médicale, Clermont-Ferrand, F-63003 ; 3- Univ Clermont 1, Fac Médecine, Histologie Embryologie Cytogénétique, Clermont-Ferrand, F-63001 ; 4- CHU-Clermont-Ferrand, Pédiatrie générale, Clermont-Ferrand, F-63003

Le syndrome de Goldenhar ou microsomie hémifaciale ou spectre oculo-auriculo-vertébral (OAVS) correspond à une anomalie du développement embryonnaire des premiers et deuxièmes arcs branchiaux. Il associe des malformations craniofaciales asymétriques, des anomalies de l'oreille externe uni ou bilatérales avec ou sans surdité, de l'œil et parfois des fentes faciales, des anomalies vertébrales, cardiaques, et plus rarement rénales et cérébrales pouvant s'accompagner d'un retard mental (10%). Ce syndrome présente une grande hétérogénéité clinique y compris intrafamiliale. La majorité des cas décrits est sporadique, suggérant l'existence de mutations de novo ou de causes non génétiques (disruption vasculaire, diabète gestationnel, causes toxiques...), envisagées notamment du fait de discordance phénotypique entre jumeaux monozygotes [1]. Néanmoins, il existe aussi des cas familiaux en faveur d'une transmission autosomique dominante avec pénétrance incomplète et expressivité variable [2,3]. A ce jour, l'étiologie génétique n'a pas été clairement établie. Plusieurs régions candidates ont été définies au décours d'études de liaison au sein de familles atteintes d'OAVS, sans qu'aucune n'ait permis d'identifier un ou des gène(s) candidat(s). Récemment, une microduplication 14q23.1 ségrégeant avec le phénotype d'OAVS sur plusieurs générations a été décrite dans deux familles indépendantes [4,5].

Nous rapportons un cas supplémentaire de duplication 14q23.1 chez un patient présentant une microsomie hémifaciale et des fibrochondromes, une fistule pré-auriculaire droite et des antécédents de retard moteur léger. L'audition et le bilan cardiaque sont normaux. Des radiographies du squelette sont en cours de réalisation.

L'analyse chromosomique sur puce à ADN(60K Agilent®) a en effet permis d'identifier une duplication interstitielle de 1,3 Mb en 14q22.3q23.1 (57,198,284-58,471,817 [Hg19]). La région dupliquée compte 23 dont 3 référencés OMIM : EXOC5, AP5M1 et OTX2. Le gène OTX2 code un facteur de transcription ayant un rôle critique dans le développement craniofacial, du cerveau, de l'œil et des oreilles et se positionne donc comme le gène candidat majeur dans ce syndrome.

A ce jour, des délétions et mutations hétérozygotes perte-de-fonction non récurrentes du gène OTX2 ont été associées à des malformations sévères de l'œil souvent combinées à un hypopituitarisme et à des retards du développement [6], mais aussi au syndrome AOC (Complexe Agnathie-otocephalie) [7]. Les différences phénotypiques observées en cas de délétions/mutations et de duplications suggèrent un mécanisme physiopathologique distinct. La description de cas supplémentaires de microduplication 14q23.1 chez des patients atteints d'OAVS et la réalisation d'études fonctionnelles pourraient conforter l'hypothèse d'une implication du gène OTX2 dans le développement embryonnaire des arcs branchiaux et dans la physiopathologie du syndrome de Goldenhar.



CA40

Postnatal

CARACTÉRISATION MOLÉCULAIRE D'UNE TRANSLOCATION (X;13) DE NOVO APPAREMMENT ÉQUILBRÉE CHEZ UNE PATIENTE PRÉSENTANT UN PHÉNOTYPE ANORMAL

M. BAJAL(1), J. LEVY(1), C. SCHLUTH-BOLARD(3), A. BOUGHALEM(1), C. DUPONT(1), L. BOUFFARD(1), Y. CAPRI(2), C. BAUMANN(2), J. MASLIAH(4), S. DRUNAT(4), S. SERERO(6), N. LEDU(6), B. BENZACKEN(1,5) et A.C. TABEL(1).

(1) Hôpital Robert Debré (AP-HP)- Département de Génétique- Unité Fonctionnelle de Cytogénétique- Paris, France (2) Hôpital Robert Debré (AP-HP)- Département de Génétique- Unité Fonctionnelle de Génétique clinique- Paris, France (3) Hospices Civils de Lyon -Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle- Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, INSERM U1028 ; CNRS UMR5292 ; UCBL1 ; équipe GENDEV, Lyon, France (4) Hôpital Robert Debré (AP-HP)- Département de Génétique- Unité Fonctionnelle de Génétique moléculaire- Paris, France (5) Hôpital Jean Verdier (AP-HP)- Service d'Histologie- Embryologie et Cytogénétique, Biologie de la Reproduction-, France ; UFR-SMBH, Paris XIII, France (6) Laboratoire CBCM Evreux, Centre de biologie et de cytogénétique médicales

Les translocations X/autosome sont des événements rares associés à des phénotypes variables selon les chromosomes impliqués. Dans ces situations, l'inactivation du chromosome X est le plus souvent biaisée en faveur du chromosome X transloqué. Dans le cas contraire, les translocations X/autosomes peuvent donner lieu à des phénotypes anormaux.

Nous rapportons le cas d'une patiente présentant un phénotype anormal et porteuse d'une translocation (X;13) réciproque apparemment équilibrée, survenue de novo.

La patiente âgée de 5 ans et 11 mois est la 2^{ème} enfant d'un couple de parents cousins germains. Elle présente une dysmorphie, des anomalies des extrémités ainsi qu'un décalage global des acquisitions psychomotrices. L'échographie cardiaque met en évidence une communication interauriculaire. L'IRM cérébrale révèle une dilatation ventriculaire prédominante à gauche.

Un caryotype sanguin en haute résolution a été réalisé et a montré la présence d'une translocation réciproque apparemment équilibrée entre le bras long du chromosome 13 et le bras court du chromosome X (46,X,t(X;13)(p22.1;q22)) survenue de novo, et confirmée par FISH. L'incorporation de BrdU a mis en évidence la présence d'un biais d'inactivation de l'X montrant dans l'ensemble des cellules analysées une inactivation du chromosome X normal. Toutefois, l'étude moléculaire de recherche de biais d'inactivation sur un autre prélèvement sanguin par analyse de marqueurs microsatellites n'a pas permis d'objectiver un biais supérieur à 80%. Aussi, compte tenu de la difficulté d'interprétation de ces analyses et de leur discordance apparente, d'autres investigations étiologiques ont été demandées. Afin de confirmer l'absence de déséquilibre, une analyse chromosomique par puce à ADN a été réalisée (Human Cyto SNP-12, Illumina, hg18), ne montrant pas de CNV considéré comme délétère. Finalement, le séquençage des points de cassures de la translocation est en cours.

Dans un premier temps, nous discuterons des résultats de recherche de biais d'inactivation de l'X probablement en rapport avec un mosaïcisme tissulaire. Puis, dans l'attente des résultats de séquençage des points de cassure et à la lumière de la littérature, nous discuterons de la corrélation génotype phénotype, évoquant la disomie fonctionnelle de l'Xp et la monosomie fonctionnelle 13q en mosaïque pouvant être impliquées dans le phénotype modéré de cette patiente.

L'étude de ce cas illustre les limites de l'ACPA (détection des remaniements chromosomiques équilibrés, détection d'anomalies chromosomiques présentes en mosaïque dans moins de 10-20% des cellules). L'utilisation des techniques de séquençage haut débit

pourraient permettre de palier à ces limites mettant en évidence les remaniements de structure.



CA41

Postnatal

ISOCHROMOSOME YP (IDICYP) ET INFERTILITÉ MASCULINE: QUELLES CORRÉLATIONS CLINICO-BIOLOGIQUES ? A PROPOS D'UN CAS CLINIQUE ET REVUE DE LA LITTÉRATURE.

V.Koubi(1), MF Portnoï(1), T.Martin-Denavit (2), E.Alabré(1), D.Lalet(1), C.Lamon(1), A.Beaugrand(1), E.Amar (3), D.Cornet(4)

(1) Service de Génétique – Laboratoire Eylau Unilabs- 34 avenue du Roule 92200 Neuilly-sur-Seine (2) Service de Génétique – Laboratoire Alpigène- 8 rue St Jean de Dieu 69007 Lyon (3) Cabinet d'Andrologie / Urologie – 17 avenue Victor Hugo 75116 Paris (4) Service d'AMP – Clinique de la Muette – 46/48 rue Nicolo 75116 Paris

Environ 50% des infertilités de couples observées sont d'origine masculine. Les anomalies des gonosomes sont prépondérantes qu'il s'agisse d'anomalie de nombre ou de structure. Cependant, les anomalies de structure du chromosome Y sont très rares (estimées à moins de 1%) et leurs conséquences sont très variables, pouvant aller d'une simple altération de la spermatogenèse isolée à un phénotype sexuel ambigu avec un retentissement possible sur la taille (petite taille).

Nous présentons le cas d'un patient avec une azoospermie sécrétoire chez lequel les analyses de génétique à la fois par cytogénétique conventionnelle, cytogénétique moléculaire et de séquençage (PCR) réalisées ont mis en évidence une mosaïque 45,X/46,X,idic(Y)(p). Nous exposerons les conséquences pour ce couple dans le cadre de leur prise en charge en AMP et la conduite à tenir.

Une revue de la littérature nous a permis de mettre en évidence la rareté d'un tel remaniement : en effet, très peu de publications décrivent cette anomalie (base de données PubMed) et le conseil génétique est extrêmement complexe. Nous discuterons de l'importance de certains gènes présents sur le chromosome Y dans le phénomène de masculinisation de l'individu et quelles en sont les conséquences aussi bien en post-natal que lors d'une découverte en prénatal.



CA42

Postnatal

RING 9 CHROMOSOME SYNDROM IN BLACK AFRICAN INFANT

ALAO MJ1, AZONBAKIN S2, ADJAGBA M2, DARBOUX RB2, LALEYE A2

1 Clinique Universitaire de Pédiatrie et Génétique Médicale, CNHU-HKM, Cotonou Bénin

Ring chromosomes are rare entities, usually associated with phenotypic abnormalities in correlation with the loss of genetic material. Ring 9 chromosome syndrome is very rare. The majority of reported cases revealed a less distinct clinical picture of shortness of stature, microcephaly and mental retardation. A minority had the clinical pattern of patients with del (9) syndrome. We reported here a black female African with malformation and a mixture of major features in ring 9 and del 9 syndrome characteristics upon ring shape by one of chromosome 9 at cytogenetic evaluation



CA43

Postnatal

DUPLICATION INTRA-GÉNIQUE DE NSD1 ET SYNDROME DE SOTOS : UNE DEUXIÈME OBSERVATION.

Paisley S1, Benezit A2, Essid N2, Quijano-Roy S2, V. Sagnes1, A Lebbar1, Dupont JM1

1: Laboratoire de Cytogénétique, APHP, Hôpitaux universitaires Paris Centre, France. 2 : Service de Pédiatrie, APHP, Hôpitaux Universitaires Paris Ouest, France.

Le syndrome de Sotos est un syndrome bien connu dont la clinique se caractérise chez l'enfant par les signes cardinaux suivants : une grande taille, une macrocéphalie, une dysmorphie caractéristique, retard au développement psychomoteur avec un retard mental de degré variable ainsi que de nombreux autres signes cliniques moins fréquents. Il a été décrit que les anomalies le plus souvent responsable du syndrome de Sotos dans le monde était la mutation avec perte de fonction de NSD1 (80%des cas), de larges délétions emportant NSD1 (14% des cas) et dans 6 % des cas restants d'autres réarrangements intra-géniques de NSD1 (1). Dans ces autres réarrangements de NSD1, très peu de cas de duplications responsables d'un syndrome de Sotos sont rapportées.

Ici nous rapportons le cas d'un enfant de 2 ans et demi adressé pour retard de développement psychomoteur et qui présente à l'examen clinique une macrocéphalie depuis la naissance, une dysmorphie légère compatible avec celle observée au cours du Sotos syndrome mais dont la courbe de croissance staturo-pondérale reste dans les limites de la normale. Il a été réalisé pour cet enfant une analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA), qui a permis de mettre en évidence une duplication de 146 Kb en 5q35.2q35.3 dans le gène NSD1. Ce remaniement chromosomique a été confirmé par PCR quantitative qui a également montrée le caractère de novo de cette duplication.

Notre poster rapport un des rares cas décrit dans la littérature de duplication intra-génique de NSD1 qui résulterait en une perte de fonction et qui serait responsable d'un syndrome de Sotos partiel ou frustré. Ce cas apporterait des arguments supplémentaires à l'hypothèse d'un effet dose de NSD1 au cours du syndrome de Sotos.

(1) Saugier-veber et al

CA44

Postnatal

TRANSLOCATION NON RÉCIPROQUE DU CHROMOSOME 13 EN MOSAÏQUE RÉALISANT UNE TRISOMIE 13 NON LIBRE ET INCLUANT DES SÉQUENCES TÉLOMÉRIQUES INTERSTITIELLES

N. Reynaud (1), A. Putoux (2), M. Till (1), A. Labalme (1), E. Alix (1), C. Bonnefille (1), C. Lavert (1), C. Angéi (1), M. Faucher (1), L. Ravella (1), D. Sanlaville (1,3), C. Schluth-Bolard (1,3)
(1) Service de Génétique, Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, Centre de Biologie et Pathologie Est, Hospices Civils de Lyon, Bron, France (2) Service de Génétique, Unité de Génétique Clinique, Hôpital Femme-Mère-Enfant, Hospices Civils de Lyon, Bron, France (3) Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, INSERM U1028 ; CNRS UMR5292 ; UCBL1 ; équipe GENDEV, Lyon, France

Nous rapportons le cas d'un patient de 14 ans présentant l'association d'une déficience intellectuelle et d'un syndrome polymalformatif avec une CIV de fermeture spontanée, une bicuspédie aortique, un pli transverse unique droit, une hexadactylie post-axiale du pied droit, une cypho-scoliose traitée par corset, une hypermétropie, un strabisme et des antécédents de crises convulsives hyperthermiques.

Une première évaluation de cet enfant à ses 6 ans comprenant un caryotype constitutionnel, une IRM cérébrale, une recherche de délétion 22q11.2 et 22qter n'avait mis en évidence aucune anomalie.

Une analyse chromosomique sur puce à ADN (puces oligonucléotides 180K Agilent) a mis en évidence un gain en mosaïque pour l'ensemble des bras longs du chromosome 13, sans autre CNV pathogène associé. Un nouveau caryotype a montré la présence dans 15% des cellules étudiées d'un dérivé d'une translocation non réciproque entre les bras longs d'un chromosome 13 et l'extrémité des bras courts d'un chromosome 10, réalisant une trisomie 13 en faible mosaïque. L'étude familiale consécutive a retrouvé chez la mère et chez la grand-mère du patient un caryotype équilibré à 45 chromosomes présentant cette même translocation non réciproque t(10 ; 13) homogène.

Une hybridation in situ en fluorescence (FISH) avec la sonde centromérique 13/21, la sonde 10pter et la sonde pantélomérique (All Human Telomeres Kreatech) a permis de caractériser ce dérivé. Il est composé de la partie sous-centromérique du bras long du chromosome 13 et de la totalité du chromosome 10, y compris les séquences 10pter et les séquences télomériques, réalisant ainsi des télomères interstitiels à la jonction entre les chromosomes 10 et 13.

Afin de comprendre le mécanisme de survenue de cette mosaïque, une étude des marqueurs microsatellites a été réalisée afin d'éliminer une chimère. Une puce SNP-array (Agilent) n'a pas montré d'isodisomie. La principale hypothèse permettant d'expliquer cette mosaïque chez le patient est la transmission déséquilibrée au zygote du remaniement maternel suivie d'une correction secondaire liée à l'instabilité des séquences télomériques interstitielles sur le dérivé. Cet événement a ainsi entraîné la perte du fragment acentrique dérivé des bras longs du chromosome 13 et la conservation d'un chromosome 10 intact.



CA45

Postnatal

FURTHER DELINEATION OF CLINICAL CONSEQUENCES OF RBFOX1 INTRAGENIC DELETION: 3 CASE REPORTS

Ariane Lunati¹, Cécile Laroche², Valentine Marquet¹, Sylvie Bourthoumieu¹, Aziza Lebbar³, Jean-Michel Dupont³, Catherine Yardin^{1,4,}*

¹ Service d'Histologie, Cytologie, Biologie Cellulaire et Cytogénétique, Hôpital de la Mère et de l'Enfant (HME), CHU (Centre Hospitalier Universitaire) Dupuytren, Limoges, France

Depuis sa mise en place, l'ACPA (Analyse Chromosomique pangénomique par Puces à ADN), ou CGH array (Comparative Genomic Hybridation), a significativement augmenté la découverte d'anomalie génomique dans le cadre de déficience intellectuelle et/ou de troubles du spectre autistique. Dans ce contexte, plusieurs publications ont rapporté des anomalies concernant le gène RBFOX1 localisé en 16p13.3 et impliqué dans le neurodéveloppement. Nous rapportons 3 enfants (2 filles et 1 garçon) de 3 familles différentes chez lesquels a été retrouvée une délétion intragénique de RBFOX1 en ACPA. Une légère dysmorphie associée à un retard mental est retrouvée chez nos 3 patients, et l'un d'entre eux présente une épilepsie. Chez deux patients, la délétion est héritée d'un des parents alors que pour l'autre, elle est survenue de novo. La mère ayant transmis la délétion à son fils est cliniquement asymptomatique, contrairement au père qui l'a transmise à sa fille et qui avait présenté des difficultés d'apprentissage durant l'enfance. Enfin dans la fratrie du garçon, un syndrome de West a été diagnostiqué chez sa sœur cadette, mais la délétion de RBFOX1 n'a pas été retrouvée chez elle. En comparant nos cas et ceux de la littérature, la variabilité clinique rapportée à la délétion intragénique de RBFOX1 met en exergue le principe d'expressivité variable, allant d'un phénotype normal à la déficience intellectuelle plus ou moins associée à des troubles du registre autistique et à une épilepsie. Ces observations suggèrent que d'autres mécanismes génomiques pourraient expliquer la variabilité clinique associée aux délétions intragéniques du gène RBFOX1.



CA46

Postnatal

DÉCOUVERTE FORTUITE D'UNE DUPLICATION DU GÈNE SOX9 CHEZ UN ENFANT DE SEXE MASCULIN : CONSEIL GÉNÉTIQUE DIFFICILE

Audrey Schalk(1), Sophie Scheidecker(1), Elise Schaefer(2), Mélanie Hild(1), Sylvie Soskin(3), Françoise Girard-Lemaire(1), Yves Morel(4), Eric Guérin(5), Christel Depienne(1), Valérie Kremer(1)

(1) Laboratoire de cytogénétique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg ; (2) Service de génétique médicale, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg ; (3) Service de pédiatrie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg ; (4) Laboratoire de biochimie et biologie moléculaire, Hospices Civils de Lyon ; (5) Laboratoire de biochimie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg

Des variants du gène SOX9 sont associés à des phénotypes différents. L'haploinsuffisance du gène SOX9 peut conduire à une dysplasie campomélique et une anomalie du développement sexuel (DSD) chez un sujet 46,XY. La surexpression du gène SOX9 peut être responsable de DSD chez un individu 46,XX ou d'une brachydactylie-anonychie.

Nous rapportons l'observation d'un enfant de sexe masculin âgé de 2 ans présentant une atrésie des choanes, une camptodactylie, une dysmorphie faciale, des anomalies cardiaques, un retard staturo-pondéral et un décalage des acquisitions.

L'analyse chromosomique sur puce à ADN par CGH array a mis en évidence une duplication 17q24.3 de 68,4 kb, qui débute 14kb en amont du gène SOX9 et inclut la région activatrice très conservée TESCO (testis-specific enhancer of SOX9 core) ainsi que l'intégralité du gène. Cette variation du nombre de copies est sans lien avec le phénotype observé chez le patient. L'étude de ségrégation familiale a démontré que la duplication est transmise par la grand-mère paternelle asymptomatique.

Les duplications de la région de désert génique en 5' du gène SOX9 sont à l'origine de la surexpression de ce gène. Les duplications des éléments régulateurs de la région RevSex (région de déterminisme sexuel de 78kb) située à environ 500kb en amont du gène SOX9 entraînent des DSD. Les duplications de plus grande taille sont quant à elles responsables de brachydactylie-anonychie. Nous rapportons donc la première description d'une duplication incluant uniquement TESCO et le gène SOX9. Dans la famille rapportée, aucun des sujets porteur de cette duplication ne présente ces manifestations cliniques.

La découverte fortuite de la duplication 17q24.3 rend le conseil génétique difficile pour cette famille. L'identification d'autres patients porteurs d'une duplication semblable permettrait de déterminer son implication dans les anomalies osseuses et la dysgénésie gonadique.

CA47

Postnatal

LA DUPLICATION Xp22.31, VOUS OU « VARIANT PATHOGENE » CHEZ LE SUJET FEMININ !

Aline Receveur (1), Lucie Tosca (1,2), Loïc Drévilion (1), François Petit (3), Marie-Emmanuelle Naud (1,2), Vincent Gajdos (3), Philippe Labrune (3), Marie De Salins (4), Sophie Brisset (1,2), Gérard Tachdjian (1,2). (1) AP-HP, Service d'Histologie, Embryologie et Cytogénétique, Hôpitaux Universitaires Paris-Sud - Hôpital Antoine Béchère, Clamart 92140, France (2) AP-HP, Université Paris-Sud, Le Kremlin Bicêtre 94276, France (3) AP-HP, Génétique moléculaire, Service d'Histologie, Embryologie et Cytogénétique, Hôpitaux Universitaires Paris-Sud - Hôpital Antoine Béchère, Clamart 92140, France (4) AP-HP, Service de Pédiatrie générale, Hôpitaux Universitaires Paris-Sud - Hôpital Antoine Béchère, Clamart 92140, France (5) AP-HP, Service de Neurologie pédiatrique, Hôpitaux Universitaires Paris-Sud - Hôpital du Kremlin Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre 94270, France

Les étiologies des déficiences intellectuelles sont plus facilement décelées grâce à la généralisation de l'utilisation de l'analyse chromosomique par puce à ADN (ACPA). Cette méthode a conduit au diagnostic de nombreuses anomalies chromosomiques causales et à l'établissement de nouveaux syndromes génétiques.

Chez les individus de sexe féminin, les anomalies du chromosome X ne sont pas toujours responsables de pathologie en raison de l'inactivation d'un des deux chromosomes X.

Nous rapportons 2 cas de fillettes présentant un retard psychomoteur associé à un retard des acquisitions et du langage, avec pour l'une, une dysmorphie faciale associée.

L'ACPA réalisée à partir de puce Agilent 180K a décelé chez ces deux enfants le gain d'une copie en Xp22.31 de 1,6MB, avec des bornes identiques et impliquant les gènes HDHD1, STS, VCX, PNPLA4 et MIR651. La duplication provenait pour une des patientes de sa mère qui est asymptomatique. D'autre part, il n'y avait pas de biais d'inactivation de l'X chez les deux patientes.

La région Xp22.31 comporte des gènes impliqués dans le développement cérébral. Elle est riche en LCR ce qui est propice à des recombinaisons non alléliques responsables de délétion ou de duplication.

La délétion en Xp22.31 est bien connue, elle est responsable de l'ichtyose liée à l'X, particulièrement chez les individus de sexe masculin qui l'héritent souvent de leur mère, porteuse de remaniement chromosomique à type de del(X)(p22.3) ou de t(X;Y)(p22.3;q21). A ce jour, 59 cas de patients atteints de duplication Xp22.31 ont été rapportés. Ils présentent souvent la même symptomatologie quel que soit le sexe. Ces manifestations sont en lien avec l'augmentation du nombre de copies du gène candidat STS, qui joue un rôle dans le développement neurologique et cognitif.

L'atteinte des individus de sexe féminin même en cas d'inactivation de l'X, conforte l'hypothèse d'échappement de certains gènes à l'inactivation, évoquée par quelques auteurs.

Les sujets atteints ont en général hérité de la duplication d'un parent asymptomatique, ce qui met en exergue l'expressivité variable de cette anomalie.

La microduplication en Xp22.31 est un variant décelé en ACPA qui est souvent difficile à classifier : VOUS ou pathogène, voire bénin dans certains cas, ce qui rend d'autant plus délicat le conseil génétique, en particulier au cours du diagnostic prénatal.



CA48

Postnatal

TRISOMIE 13 OU SYNDROME DE PATAU : A PROPOS D'UNE SÉRIE DE 8 CAS DU SERVICE DE GÉNÉTIQUE MÉDICALE – CHU MOHAMMED VI – MARRAKECH

I.Samri(1), H. Ait Benhammou(1), H.Akallakh(1,2), A.Jamali(1), A.Ibourk(1), M.Mansouri(1), N. Aboussair(1,2)
(1) Service de génétique, CHU Mohammed VI- Marrakech, Maroc (2) Faculté de médecine et de pharmacie de Marrakech, Université Cadi Ayyad, Marrakech, Maroc

Introduction :

La trisomie 13, également appelée le syndrome de Patau est une anomalie chromosomique due à la présence d'un chromosome 13 supplémentaire. Le tableau clinique comporte une dysmorphie cranio-faciale spécifique associée à des malformations le plus souvent sévères. A travers cette série, nous mettons en avant le rôle du généticien dans le diagnostic, le conseil génétique et le diagnostic anténatal de cette pathologie chromosomique.

Matériels et méthodes :

Nous rapportons une série de huit patients suivis, au service de génétique médicale du CHU Mohammed VI de Marrakech, pour un syndrome dysmorphique et polymalformatif variable. Un caryotype constitutionnel métaphasique en bande R à partir de sang veineux périphérique a été réalisé chez tous ces patients.

Résultats :

Après analyse du caryotype, quatre de nos malades étaient porteurs d'une trisomie 13 libre et homogène, deux étaient porteurs d'une trisomie 13 partielle suite à une translocation réciproque t(13;18) portée par l'un des parents, un malade présentait une translocation robertsonienne t(13;13) et un autre portait une translocation robertsonienne t(13;14) dont l'analyse de ses parents est en cours.

Discussion :

La trisomie 13 est une anomalie chromosomique rare qui se caractérise par l'association de malformations cérébrales (holoprosencéphalie), de dysmorphie faciale caractéristique, d'anomalies oculaires, de polydactylie postaxiale, de malformations viscérales et d'un retard psychomoteur très sévère. Nos patients présentaient pour la majorité un tableau clinique typique. La confirmation diagnostique a été réalisée par l'étude cytogénétique. La trisomie 13 libre et homogène observée chez quatre cas est une anomalie accidentelle, par conséquent le conseil génétique est rassurant pour les grossesses ultérieures. Pour les quatre autres cas, il s'agissait d'une anomalie de structure et le caryotype des parents a été réalisé permettant ainsi de prodiguer un conseil génétique adapté à chaque famille.

Conclusion :

A travers ces huit observations, nous mettons en exergue le rôle du généticien, dans le diagnostic de la trisomie 13, ainsi que dans l'élaboration d'un conseil génétique adéquat au cas par cas en fonction du résultat cytogénétique.



CA49

Postnatal

IDENTIFICATION D'UN MARQUEUR CHROMOSOMIQUE SURNUMÉRAIRE EN MOSAÏQUE PAR CGH-ARRAY DANS LES SPERMATOZOÏDES

Zohor AZHER, Nathalie ROUGIER, Jean CHIESA, Thierry LAVABRE-BERTRAND, Franck PELLESTOR
Laboratoire de Cytologie Clinique et Cytogénétique, CHU de Nîmes, France.

Les marqueurs chromosomiques surnuméraires (MCS) sont des petits chromosomes additionnels de structure anormale, dont l'origine et la composition ne peut être déterminée par les techniques de cytogénétique conventionnelle. MCS peuvent être associés ou non à des anomalies du phénotype en fonction de l'origine, la taille, la composition génique et le taux de cellules contenant le MCS et la distribution tissulaire. Cette étude décrit un patient qui présente une stérilité primaire avec une Asthénozoospermie sévère. Les études cytogénétiques conventionnelles à partir de lymphocytes périphériques ont révélé un MCS originaire de chromosome 4 en mosaïque (25%), le CGH-array a montré un gain de 44kb dans la région 4q11.1-q11.3, contenant 26 gènes. Ce Marqueur n'a pas un retentissement clinique chez le proband mais il y a un risque d'obtenir un fœtus avec trisomie partielle de chromosome 4 entraînant une microcéphalie, un retard mental et une dysmorphie. Pour cette raison, des études cytogénétiques moléculaires sont réalisées sur les spermatozoïdes afin de vérifier la présence de ce MCS et de déterminer le taux précis dans les spermatozoïdes et en plus, d'étudier la ségrégation méiotique, nécessaire pour le conseil génétique. CGH array a mis en évidence l'existence de cette anomalie dans les spermatozoïdes en mosaïque. Fluorescence in-situ hybridization (FISH) a montré l'existence de MCS dans 6% des spermatozoïdes indiquant un faible risque d'obtenir des fœtus avec une trisomie partielle de 4q (4%) ou une monosomie partielle de 4q (2%). En comparaison avec un contrôle sain, il n'y a pas une augmentation significative des spermatozoïdes avec une disomie ou une nullisomie de chromosome 4. En analysant les gènes dans cette anomalie, ce Marqueur n'a pas un effet direct sur la fertilité. Un PCR Multiplex a mis en évidence une micro délétion sur le chromosome Y concernant la totalité de la région AZFc. L'Asthénozoospermie de caractère progressive chez notre patient peut être à cause de cette micro délétion, mais également à cause d'un effet mécanique de ce MCS influençant la spermatogénèse.



CA50

Postnatal

INFERTILITÉ MASCULINE D'ORIGINE CHROMOSOMIQUE : PREMIÈRE SÉRIE DU SERVICE DE GÉNÉTIQUE DU CHU MOHAMMED VI DE MARRAKECH

M.Elqabli(1), H. Ait Benhammou(1), I.Samri(1), H.Akallakh(1,2), M.Dbilij(1), M.Sennaoui(1), M.Mansouri(1), N. Aboussair(1,2)

(1) Service de génétique, CHU Mohammed VI- Marrakech, Maroc (2) Faculté de médecine et de pharmacie de Marrakech, Université Cadi Ayyad, Marrakech, Maroc

Introduction: L'infertilité est un problème de santé publique qui touche un couple marocain sur huit. De nombreuses anomalies génétiques des anomalies chromosomiques de nombre ou de structure peuvent être à l'origine d'une infertilité masculine.

Le but de ce travail est de mettre en exergue l'apport de la génétique dans le diagnostic étiologique de l'infertilité masculine

Patients et méthodes : C'est une étude rétrospective concernant les analyses cytogénétiques constitutionnelles post-natales réalisées chez 20 patients adressés au service de génétique du CHU Mohammed VI de Marrakech pour infertilité durant la période allant de Mai 2014 à Avril 2016.

Les techniques utilisées sont le caryotype constitutionnel post-natal en bandes R et l'hybridation in situ en fluorescence.

Résultat: Parmi les 20 cas étudiés, 35% avaient des anomalies chromosomiques dont les anomalies de nombre des gonosomes présentaient le pourcentage le plus élevé . Le syndrome de klinefelter dans sa forme homogène (47,XXY) a été retrouvé chez deux patients, et dans sa forme mosaïque chez deux autres. Par ailleurs, des anomalies de structure des autosomes (des translocations réciproques équilibrées) ont été retrouvées chez 2 des patients. Tandis qu'un seul patient présentait le syndrome de la Chapelle (Male XX avec SRY+)

Les résultats ont été communiqués aux patients, et un conseil génétique a été prodigué à tous les patients ayant une anomalie chromosomique.

Conclusion: la découverte des anomalies chromosomiques chez les patients permettra d'une part de déterminer l'étiologie et d'autre part d'élaborer un conseil génétique et une prise en charge adaptée.



CA51

Postnatal

MICRODUPLICATION 22Q13.3 SECONDAIRE À LA PRÉSENCE D'UN DÉRIVÉ 13 D'UNE TRANSLOCATION 13PTER-22Q13.3 NON RÉCIPROQUE EN MOSAÏQUE CHEZ UNE FILLETTE DE 6 ANS

Valentine Marquet(1), Clothilde Thuillier(2), Sylvie Bourthoumieu(1), Catherine Yardin(1)

(1) Service de cytologie, histologie, cytogénétique et biologie cellulaire, Hôpital de la Mère et de l'Enfant, CHU de Limoges (2) Service de Pédiatrie Médicale, Hôpital de la Mère et de l'Enfant, CHU de Limoges

Le gène SHANK3 code pour une protéine de signalisation impliquée dans la transmission post-synaptique excitatrice. Il a été identifié comme le gène critique du syndrome de microdélétion 22q13.3 ou syndrome de Phelan-McDermid, responsable en particulier d'une déficience intellectuelle et d'une altération sévère du langage. La microduplication de la région 22q13.3 impliquant SHANK3 a plus rarement été rapportée, et le spectre phénotypique associe un retard intellectuel avec microcéphalie et dysmorphie modérée avec chez certains patients des signes neuropsychiatriques à type de troubles du spectre autistique, hyperactivité ou encore schizophrénie parfois associés à une épilepsie. Nous décrivons une enfant de 6 ans porteuse d'une duplication de la région 22q13.3 sur environ 50 % des lymphocytes.

L'analyse cytogénétique a été réalisée chez cette enfant pour explorer un retard de développement modéré associé à des épisodes convulsifs, des traits dysmorphiques associant une microcéphalie et une hypoplasie vermiennes, avec un antécédent de retard de croissance intra-utérin. De manière fortuite lors de la recherche d'une microdélétion 22q11.2 (kit TBX1/SHANK3, Cytocell) a été mise en évidence par FISH une duplication de novo du gène SHANK3 sur environ la moitié des cellules analysées, avec présence de la région dupliquée au niveau de l'extrémité du bras court d'un chromosome 13. Cette duplication en mosaïque n'était pas visible au caryotype et a été confirmée par MLPA (kit SALSA P343 autisme, MRC-Holland) avec un ratio correspondant au taux de mosaïque de 50% estimé en FISH. L'ACPA met en évidence une déviation du log 2 ratio (valeur moyenne : + 0.25) pour les 5 dernières sondes oligo du chromosome 22, correspondant à une région terminale de 135 kb en 22q13.3 impliquant 4 gènes (ACR, ARSA, SHANK3, MAPK8IP2). L'analyse chromosomique avec FISH réalisée chez les parents n'a pas montré d'anomalie.

Le phénotype de cette fillette correspond au tableau décrit chez la plupart des patients porteurs de ce remaniement. Le caractère modéré de son retard de développement peut être expliqué par la présence d'une population cellulaire normale, puisque ce cas est, à ce jour et à notre connaissance, la première description d'un patient porteur d'une microduplication 22q13.3 en mosaïque.



CA52

Postnatal

EVALUATION DES TAUX DE SPERMATOZOÏDES PRÉSENTANT DES MARQUEURS APOPTOTIQUES AVANT ET APRÈS TRI CELLULAIRE À L'AIDE DE MICROBILLES MAGNÉTIQUES CONJUGUÉES À L'ANNEXINE V

Perrin A (1,2), Tous C (2), Douet-Guilbert N (1,2), Beauvillard D (1,2), Basinko A (2), Le Bris MJ (2), De Braekeleer M (1,2), Morel F (1,2)

(1) INSERM U1078, Faculté de médecine et des sciences de la santé, Université de Bretagne Occidentale, Brest. (2) Centre Hospitalier Régional Universitaire, laboratoire de cytogénétique et biologie de la reproduction, Brest.

Introduction

Ces dernières années, de nombreux travaux ont montré une augmentation des altérations apoptotiques dans les spermatozoïdes éjaculés de patients infertiles. Celles-ci sont principalement des altérations membranaires avec externalisation de la phosphatidylsérine (EPS) et une fragmentation de l'ADN.

La signification de l'expression de ces marqueurs et leur impact sur les résultats de l'AMP restent controversés. Néanmoins, il apparaît prudent de ne pas utiliser ces spermatozoïdes pour l'AMP.

Le tri cellulaire à l'aide de microbilles magnétiques conjuguées à l'annexine V (MACS : Microbeads Activated Cell Sorting) permet de séparer le prélèvement en deux populations : une population de spermatozoïdes avec EPS et une population de spermatozoïdes sans EPS.

Le but de notre travail est d'évaluer les taux de spermatozoïdes avec EPS et avec un ADN fragmenté avant et après tri cellulaire.

Matériel et méthodes

Cette étude a été réalisée sur six spermes cryoconservés d'hommes 46,XY infertiles.

La séparation des spermatozoïdes a été effectuée par la technique MACS selon les recommandations du fournisseur (Miltenyi Biotec SAS, Paris, France).

Le taux de spermatozoïdes avec EPS a été évalué grâce à un marquage avec de l'annexine V-FITC. La technique TUNEL a été utilisée pour estimer le taux de fragmentation de l'ADN spermatique.

Ces évaluations ont été réalisées à chaque étape : après décongélation des paillettes de spermatozoïdes, incubation avec les microbilles, passage dans une première colonne, passage dans une deuxième colonne.

Résultats

Le taux de spermatozoïdes avec EPS est identique après décongélation et après incubation avec les microbilles. Il diminue significativement après passage dans la première colonne mais reste inchangé après passage dans la deuxième colonne.

La fréquence de spermatozoïdes avec un ADN fragmenté est significativement plus élevée après incubation avec les microbilles qu'après décongélation. Après passage dans la première colonne elle diminue significativement dans la fraction négative. En revanche, après passage dans la deuxième colonne, elle reste inchangée.

Discussion

Le tri cellulaire à l'aide de microbilles conjuguées à l'annexine V permet d'éliminer une majorité de spermatozoïdes déjà en voie d'apoptose et/ou avec un ADN fragmenté.

Cette méthode pourrait s'avérer être une technique de référence pour l'AMP chez les patients présentant un taux important de spermatozoïdes avec un ADN fragmenté.

De plus, chez les hommes porteurs d'une anomalie chromosomique de structure, ce tri cellulaire permettra vraisemblablement de sélectionner les spermatozoïdes d'après leur équipement chromosomique (financement par ABM, appel d'offres 2015).



CA53

Postnatal

DÉCOUVERTE D'UNE INVERSION PÉRICENTRIQUE CRYPTIQUE D'UN CHROMOSOME 21 PATERNELLE SUITE À L'IDENTIFICATION D'UNE DÉLÉTION 21Q TERMINALE CHEZ DEUX ENFANTS

K.Uguen (1,3), N. Douet-Guilbert (1,3), S.Redon (2,3), M.J. Le Bris (1), F. Morel (1,3), P. Parent (4), S. Audebert-Bellanger(4), C.Ferec (2,3), M. De Braekeleer (1,3), A. Basinko (1)

(1) Centre Hospitalier Régional Universitaire – Laboratoire de Cytogénétique, Biologie de la Reproduction – Brest

L'analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA) est un examen de première intention chez un patient présentant un retard global du développement associé à une dysmorphie : si un déséquilibre est mis en évidence chez ce patient et que celui-ci n'est pas présent chez ses parents, une étude cytogénétique parentale est recommandée à la recherche d'anomalie chromosomique de structure équilibrée. Les inversions péricentriques sont des anomalies de structure équilibrées sans conséquences phénotypiques, induisant un risque de déséquilibre chromosomique dans la descendance. Nous rapportons le cas de deux sœurs porteuses d'une délétion terminale du bras long d'un chromosome 21 héritée du père portant une inversion péricentrique cryptique d'un chromosome 21.

Deux sœurs présentant un retard global du développement et une dysmorphie faciale (fentes palpébrales obliques en bas et en dehors, paupières larges et épaisses, oreilles bas implantées et microtie) sont adressées en consultation de génétique. Une ACPA (Agilent*, Les Ulis, France) est réalisée pour les 2 patientes et leurs parents (sang périphérique). Un caryotype et une hybridation in situ fluorescente (FISH) avec une sonde subtélomérique du bras long du chromosome 21 (21qter) (Abbott*, Rungis, France), une sonde Acro-p spécifique des régions NOR (Amplitech*, Compiègne, France) et une sonde contrôle à façon (RP11-912P13 en 21q22.3) ont été ultérieurement effectuées.

L'ACPA a révélé une délétion terminale du bras long d'un chromosome 21 de 3363 kilobases (en 21q22.3) chez les 2 propositus, non retrouvée chez les parents. Les caryotypes réalisés chez les fillettes et les parents sont normaux. L'étude en FISH avec les sondes 21qter et RP11-912P13 confirme la délétion terminale en 21q22.3 chez les 2 sœurs et met en évidence chez le père une inversion péricentrique d'un chromosome 21. L'utilisation des sondes NOR montre une duplication du bras court chez les propositus et confirme l'inversion péricentrique du chromosome 21 paternelle (cassure dans les NOR).

Les 2 fillettes présentent le même recombinant de chromosome 21, avec duplication partielle du bras court et délétion partielle du bras long. L'ACPA, qui n'explore par les bras courts de chromosomes acrocentriques, ne détecte pas la duplication en 21p. La localisation des points de cassure de cette inversion aux extrémités terminales du chromosome 21 explique sa non détection en cytogénétique conventionnelle.

Ce cas illustre la complémentarité des techniques moléculaires pour la détection d'anomalies cytogénétiques cryptiques. La découverte en ACPA d'un déséquilibre subtélomérique d'un bras long de chromosome acrocentrique doit nous amener à rechercher une grande inversion parentale.



CA54

Postnatal

LE SYNDROME DU CHROMOSOME 15 EN ANNEAU : LA PREMIÈRE OBSERVATION MAROCAINE

I. Samri¹, Z.Lout¹, H.Akallakh^{1, 2}, M.Mansouri¹, H.Aithammou¹, N.Aboussair¹, 2

(1) Service de génétique médicale, CHU Mohammed VI- Marrakech, Maroc

Introduction

Le syndrome du chromosome 15 en anneau est une aberration chromosomique rare dont seulement une cinquantaine de cas ont été décrits dans la littérature jusqu'à l'heure actuelle. Le spectre des anomalies associées est large et variable d'un patient à l'autre. Par ailleurs, le retard mental et la dysmorphie faciale caractéristique sont des signes de suspicion de ce syndrome.

Matériel et Méthodes

Nous rapportons le cas d'une fille âgée de un an et huit mois suivie au service de Génétique du CHU Mohammed VI de Marrakech pour une dysmorphie faciale rappelant un profil d'oiseau associée à un retard staturo-pondéral et un retard des acquisitions psychomotrices. Un caryotype a été indiqué dans un premier temps devant ce tableau clinique.

Résultats et analyses

Le caryotype réalisé chez cette patiente a objectivé la présence d'un chromosome 15 en anneau. Les caryotypes des parents sont normaux. Il s'agit d'une anomalie de novo. La corrélation génotype-phénotype est en faveur du syndrome du chromosome 15 en anneau. Il s'agit de la première observation marocaine de cette entité pathologique.

Discussion

Les anneaux chromosomiques sont une anomalie cytogénétique assez rare et encore plus quand elle concerne le chromosome 15. L'anneau du chromosome 15 définit un syndrome bien précis rapporté chez une cinquantaine de patients. Le retard psychomoteur et le retard staturo-pondéral sont quasi présents chez tous les patients avec des degrés variables. La dysmorphie faciale est faite d'une microcéphalie et un visage triangulaire rappelant le profil d'une tête d'oiseau. Le profil comportemental est non spécifique allant du caractère sociable à l'agressivité. Le caryotype standard permet de poser le diagnostic de certitude.

Conclusion

A travers cette observation, nous rappelons cette entité clinique et cytogénétique assez rare tout en mettant en exergue le rôle de la génétique clinique dans l'orientation diagnostique et aussi la place de la cytogénétique dans la confirmation étiologique.



CA55

Postnatal

VERS LA FIN DU CARYOTYPE ?

Anouck Schneider¹, Jacques Puechberty², Vincent Gatinois¹, Pauline Bouret¹, Patricia Sevaux¹, Jennifer Torrent¹, Elodie Guagliardo¹, Magali Tournaire¹, Magali Poupinel¹, Stéphanie Faure¹, Franck Pellestor¹
1 Unité de Génétique Chromosomique – Hôpital Arnaud De Villeneuve, Montpellier - France 2 Équipe Médicale des Maladies Génétiques de l'Enfant et de l'Adulte – Hôpital Arnaud De Villeneuve, Montpellier - France

Le fondement de la Cytogénétique est l'étude microscopique des chromosomes. Depuis leur découverte, de nombreuses techniques ont été développées afin de réaliser de plus en plus de diagnostics d'anomalies cytogénétiques.

Ainsi, après avoir déterminé le nombre exact de chromosomes constituant le caryotype humain, des techniques cytologiques d'identification des chromosomes ont permis de différencier les chromosomes et leurs sous-régions. Depuis, les cytogénéticiens ont cherché à augmenter le nombre de diagnostics cytogénétiques posés en développant des techniques de plus en plus résolutive, jusqu'à l'avènement de l'Analyse Chromosomique sur Puces à ADN (ACPA). Cette technique est désormais utilisée en première intention devant des signes échographiques en prénatal ou des syndromes malformatifs et/ou des déficiences intellectuelles en postnatal, qui sont les principales indications des prélèvements analysés. Cette évolution de notre pratique de cytogénétique nous amène à nous poser la question du devenir du caryotype dans nos laboratoires.

Dernièrement, l'arrivée du séquençage haut débit, approche permettant de détecter en une seule analyse les remaniements chromosomiques non seulement équilibrés mais aussi déséquilibrés, rend cette question encore plus d'actualité.

Nous rapportons les cas de patients, pour lesquels l'interprétation des résultats de l'ACPA ou du séquençage haut débit a nécessité la réalisation de techniques complémentaires de cytogénétique classique : le caryotype et/ou la FISH.

Aussi, même si l'attrait des nouvelles technologies, permettant des diagnostics de plus en plus précis et/ou de plus en plus complexes, est évident, le caryotype et les techniques de FISH restent essentiels dans notre pratique quotidienne de la Cytogénétique.



CA56

Postnatal

UNE NOUVELLE MICRODÉLÉTION 1P31.3P32.3 CHEZ UN PATIENT PRÉSENTANT UN RETARD PSYCHOMOTEUR AVEC AGÉNÉSIE DU CORPS CALLEUX

Hadj Abdallah Hamza(1) , Tej Amel(2) , Ben khelifa Hela(1) , Boughamoura Lamia(2) , Saad Ali(1) , Mougou-Zerelli Soumaya(1)

1 : Service de cytogénétique et de biologie de la reproduction , CHU Farhat Hached , Sousse , Tunisie . 2: Service de pédiatrie , CHU Farhat Hached , Sousse , Tunisie

Les délétions interstitielles incluant les bandes 1p31 et 1p32 du chromosome 1 sont des réarrangements chromosomiques rarement décrits. Dans les meilleures de nos connaissances , seulement 9 cas ont été rapportés dont 3 incluent la région 1p31.p32 . Le gène NFIA a été décrit comme gène candidat responsable des malformations du système nerveux central associés au syndrome de microdélétion 1p31p32 .

Nous rapportons ici un cas d'un nourrisson de 23 mois présentant un retard psychomoteur associé à une agénésie du corps calleux, une malformation de Chiari et une dysmorphie crânio-faciale incluant une macrocéphalie, des bosses frontales, des fentes palpébrales étroites, une base du nez aplatie et des oreilles bas implantées .

Le caryotype sur lymphocytes sanguins n'a pas montré d'anomalies . L'hybridation in-situ fluorescente (FISH) par la sonde NSD1 en 5q35.2 , pour suspicion initiale de syndrome de Sotos , n'a pas montré la microdélétion caractéristique. L'hybridation génomique comparative (CGH array) a révélé une microdélétion en 1p31.3p32.3(hg19:54,198,562-61,819,078) de 7,9 Mb comportant entre autres les gènes : NFIA, BSND, DHCR24 .

La revue de la littérature montre une grande similitude phénotypique entre le cas présent et les cas rapportés. L'haplo-insuffisance du NFIA , un facteur de transcription impliqué dans la gliogénèse et la neurogénèse , aurait un rôle critique dans le développement du corps calleux , une hypothèse appuyée par les données expérimentales retrouvées dans des modèles murins. Le gène BSND codant pour un canal chlore et dont les mutations sont responsables du syndrome de Bartter , caractérisé par une déficience neurosensorielle associée à une dysfonction rénale , pourrait être responsable de la surdité neurosensorielle retrouvée. Le cas présent se distingue par la présence d'une pachygyrie. Cette malformation est fréquemment associée à la desmostérololose causé par l'haploinsuffisance du gène DHCR24 compris dans la zone délétée. Par ailleurs, certains aspects phénotypiques (anomalies de l'appareil urinaire) n'étaient pas retrouvés chez notre patient, ceci pouvant être attribué à une pénétrance variable.



CA57

Postnatal

QUAND UNE ANOMALIE CHROMOSOMIQUE PEUT EN CACHER UNE AUTRE.

Hannachi Hanène (1), Hatem Elghezal (1), Samir Haddad (2), Ali Saad (1), Mougou Soumaya (1)
(1) Service de Cytogénétique et de Biologie de la Reproduction, Hôpital Universitaire Farhat Hached Sousse, Tunisie; (2) Service de Pédiatrie, Hôpital Universitaire de Monastir, Tunisie.

Les remaniements chromosomiques complexes (RCC) sont des anomalies de structure impliquant au moins trois points de cassure sur deux chromosomes ou plus. Ces remaniements sont rarement rencontrés mais cliniquement sont à l'origine d'un phénotype anormal dans environ un quart des cas. Le caryotype standard est considéré comme la technique de référence pour leur détection bien que cette approche soit limitée par sa faible résolution. L'analyse chromosomique par CGH-array est nettement plus résolutive mais ne permet de détecter que des anomalies génomiques déséquilibrées.

Nous avons combiné ces deux techniques pour étudier un réarrangement chromosomique apparemment équilibré sur un caryotype porteur d'une translocation réciproque entre les chromosomes 4 et 13 de novo ; 46,XY,t(4 ;13) découvert chez un garçon dysmorphique présentant un retard psychomoteur, un retard profond du langage et une épilepsie. La CGH-array n'a décelé qu'une perte sur le bras long du chromosome 7 ; del 7(q22.2-q31.33) et la translocation t(4 ;13) n'a pu être détectée par cette technique.

La délétion interstitielle 7q a emporté le gène FOXP2 dont la production a lieu essentiellement durant l'embryogenèse dans les régions cérébrales responsables du développement de la parole et du langage, raison pour laquelle nous supposons que l'haploinsuffisance de ce gène est fort probablement à l'origine du retard profond du langage chez ce patient. Le reste du tableau clinique serait d'une part en rapport avec l'haploinsuffisance des autres gènes emportés par la région délétère 7(q22.2-q31.33), autres que FOXP2 et d'autre part lié à la perte de certains gènes localisés sur les chromosomes 4 et 13 juste à proximité des points de cassures qui nécessitent alors une exploration encore plus fine.

Dans cette étude la CGH-array, connue pour une technique qui a largement amélioré la résolution du caryotype standard, s'est montrée d'un grand intérêt dans la révélation de la délétion interstitielle 7(q22.2-q31.33) mais était sans apport dans la détection de l'anomalie équilibrée t(4 ;13) identifiée par le caryotype. De nos jours, Le caryotypage classique garde encore une place en tête de liste parmi les techniques de choix pour la détection de ce type de réarrangement et particulièrement pour l'établissement de sa mécanique chromosomique.



CA58

Postnatal

CARACTÉRISATION CYTOGÉNÉTIQUE D'UN ANNEAU DU CHROMOSOME 7 EN MOSAÏQUE ASSOCIÉ À UNE DUPLICATION 7Q TERMINALE : À PROPOS D'UN CAS

Sarra Dimassi(1), Hamza Hadj Abdallah(1), Yosra Halleb(1), Najoua Kahloul(2), Lamia Boughammoura(2), Ali Saad(1), Soumaya Mougou-Zerelli(1)

(1)Service de Cytogénétique et de Biologie de la reproduction, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie (2) Service de pédiatrie, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie

Les anneaux chromosomiques sont des anomalies cytogénétiques rares. Leur fréquence est estimée à 1/25000 conceptions. Plusieurs hypothèses ont été avancées pour expliquer la mécanique chromosomique derrière la formation de ces anneaux. Les anomalies télorémiques impliquant délétions ou fusions de ces régions de stabilité chromosomique ont été le plus incriminées.

Nous rapportons dans ce travail, le cas d'un nouveau-né de sexe féminin, issue de parents non apparentés, âgée de 1 mois et demi présentant un syndrome polymalformatif associant un syndrome dysmorphique sévère et une cardiopathie.

La patiente a bénéficié d'un caryotype sanguin périphérique en bande R et d'une Hybridation in-situ fluorescente (FISH) utilisant la sonde de peinture du chromosome 7 ainsi que les sondes sub-télomériques en 7p (D7S2644) et en 7q (D7S247).

Le caryotype standard a montré la présence d'une mosaïque chromosomique avec un anneau du chromosome 7 dans 28% des mitoses et d'un dérivé du chromosome 7 dans 72% des mitoses. La FISH a permis de confirmer la nature chromosomique homogène de l'anneau du 7 avec une délétion subtélomérique en 7q et la conservation de la région subtélomérique en 7p. Le chromosome dérivé est un chromosome 7 dupliqué en 7q terminal. La duplication englobe la région subtélomérique 7q.

Le chromosome 7 en anneau est une entité chromosomique assez rare. Il est le plus souvent décrit en mosaïque étant donné l'instabilité chromosomique des anneaux pouvant être perdus au cours des mitoses. Au cours des cycles cellulaires, par effet d'échange entre les chromatides sœurs, ces anneaux chromosomiques peuvent subir plusieurs recombinaisons à type des cassures, de duplications,... Ces phénomènes peuvent engendrer la formation de dérivés chromosomiques associés à l'anneau. L'apparition du dérivé chromosomique du 7 dupliqué en 7q et l'anneau du 7 pourraient aussi être secondaire à un mécanisme de recombinaison chromosomique commun plus complexe.

Les phénotypes associés aux chromosomes en anneau varient selon la nature du chromosome impliqué, le taux de mosaïque, les régions dupliquées ou délétées, leurs contenus en gènes et les anomalies chromosomiques associées. La monosomie 7p sur l'anneau et la trisomie 7q sur le dérivé chromosomique expliquent probablement le phénotype observé chez notre patiente. Un phénotype qui est aussi influencé par l'origine parentale de l'anneau et/ou du dérivé du chromosome 7 puisque ce chromosome est soumis à l'empreinte parentale.



CA59

Postnatal

PETITE DÉLÉTION 17Q11.2 EMPORTANT RNF135 ET LE PREMIER EXON DE NF1 RESPONSABLE D'UN PHÉNOTYPE DE NEUROFIBROMATOSE DE TYPE 1 SÉVÈRE AVEC MACROSOMIE

Mathias Schwartz, Ahlem Benzarti, Diana Rodriguez, Pauline Marzin, Flavie Ader, Sandra Whalen, Sandra Chantot-Bastarud, Jean-Pierre Siffroi
Service de Cytogénétique, Hôpital Trousseau, Paris

Nous rapportons le cas d'un enfant âgé de 2 ans de sexe masculin issu de parents non apparentés bien portants (antécédents maternels: cataracte infantile, syndrome de Scott, et quatre fausses couches inexplicées). Un premier enfant né en 2010 est bien portant. La grossesse était marquée par un diabète gestationnel sans insulinothérapie, un hydramnios ayant nécessité deux amnio-drainages, et une macrocéphalie >95e percentile dès 32SA. Un caryotype, une recherche de syndrome de Prader-Willi et un portage parental de Steinert et d'hétérozygotie pour l'amyotrophie spinale étaient négatifs. A la naissance (36SA+2 jours), on retrouvait un poids à 3590g (>95e percentile), une taille à 51cm (95e percentile), un PC à 37.5cm (>97e percentile), des tâches café-au-lait et des lésions étiquetées « hamartomes » (une dizaine en tout), un examen ganglionnaire et ORL normal. A 8 semaines, devant un syndrome d'apnée du sommeil sévère avec détresse respiratoire, hypotonie axiale et hypersalivation, une ventilation non-invasive est mise en place durant le sommeil et a amélioré les symptômes neurologiques. Devant la persistance des signes respiratoires, les examens radiologiques et endoscopiques ont révélés un volumineux neurofibrome plexiforme cervico-thoracique compressif et un neurofibrome juxta-centimétrique de l'angle ponto-cérébelleux droit. Sur le plan étiologique, la puce SNP pangénomique révélait une délétion de novo de 126kb en 17q11.2. Cette délétion est de taille très inférieure à celle des délétions récurrentes médiées par les régions répétées NF1REPa et NF1REPc (Lopez-Correra et al., Hum Mol Genet 2001) pour la délétion de type 1 (1.4Mb comprenant 15 gènes) et par SUZ12 et son pseudogène (Petek et al., J Med Genet 2003) pour la délétion de type 2 (1.2Mb comprenant 14 gènes). Ces délétions récurrentes emportent notamment le gène RNF135, responsable d'un phénotype d'hypercroissance (Douglas et al., Nat Genet 2007). La délétion récurrente de type 3 (1,0Mb comprenant 9 gènes), plus rare, n'emporte pas le gène RNF135 (Pasmant et al., Hum Mutat 2010). La délétion de notre patient n'emportait que le premier exon de NF1 et le gène RNF135. Cette observation étaye la responsabilité de RNF135, déjà suspectée (Pasmant et al., Mol Med 2011), dans la gravité des neurofibromatoses de type 1 dues aux microdélétions récurrentes.



CA60

Postnatal

GRANDE DÉLÉTION 10Q RÉCURRENTÉ HÉRITÉE CHEZ UN NOUVEAU-NÉ SUSPECT DE MYASTHÉNIE CONGÉNITALE

Mathias Schwartz, Ahlem Benzarti, Sandra Whalen, Marie-France Portnoï, Sandra Chantot- Bastaraud, Jean-Pierre Siffroi

Service de Cytogénétique, Hôpital Trousseau, Paris

Nous rapportons le cas d'un enfant de sexe masculin âgé de 9 mois issu d'un couple sans antécédents personnels ou familiaux notables et non-apparentés. Ses quatre demi-frères et demi-sœurs (du côté maternel et du côté paternel) étaient tous en bonne santé. La grossesse a été marquée par la découverte d'une artère ombilicale unique et d'une hydrocèle testiculaire unilatérale. Le patient est né à 36 semaines d'aménorrhée et un jour par césarienne réalisée en urgence devant une anomalie du rythme cardiaque fœtal. Il présentait à la naissance une hypertonie globale et une hyperréactivité, ainsi qu'un retard à l'émission du méconium. Dans les premiers mois de vie, cet enfant a eu plusieurs épisodes d'équivalents de spasmes du sanglot avec désaturation et hypertonie des membres. L'électro-encéphalogramme retrouvait des pointes-ondes temporales gauches. Ces épisodes ont progressivement diminué en fréquence et ne se sont plus reproduits passé le sixième mois. Sur le plan morphologique, les principaux points d'appels étaient des anomalies des extrémités avec une arachnodactylie bilatérale, des camptodactylies des 1er et 2e rayons, des ongles longs et droits, et des pouces adductus. On observait également un micrognathisme, un crâne allongé, une mydriase aréactive bilatérale. A 9 mois, on retrouvait bilatéralement des triceps rétractés (attitude en équin réductible), des pieds creux, des orteils en griffe. Le caryotype montrait une formule chromosomique masculine normale. L'analyse en puce SNP pangénomique a mis en évidence une délétion de 5.5Mb du bras long du chromosome 10, allant des bandes q11.22 à q11.23 (région minimale en coordonnées GRCh37/hg19 : 46.283.686-51.832.220). L'enquête familiale a révélé qu'il s'agissait d'une délétion héritée de la mère bien portante. La région 10q11.21-10q11.23 a été rapportée comme une zone de délétions récurrentes associées à une expression phénotypique variable et une pénétrance incomplète (Stankiewicz et al, Hum Mutat. 2012). La région délétée chez notre patient comprenait 104 gènes. Parmi les 21 gènes décrits dans la base de donnée Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM), 5 étaient associés à un phénotype morbide parmi lesquelles le gène CHAT (Choline Acétyl- Transférase) de transmission autosomique récessive et impliqué dans le syndrome myasthénique congénital de type 6. Devant le tableau clinique compatible avec ce syndrome, nous avons initié une recherche de mutation dans ce gène



CA61

Postnatal

ASPECTS CLINIQUES ET CYTOGÉNÉTIQUES DE LA TRISOMIE 21 À PROPOS DE 157 CAS: PREMIÈRE SÉRIE DU SERVICE DE GÉNÉTIQUE DU CHU MOHAMMED VI DE MARRAKECH

H.Akallakh(1,2), H.AitHammou(1), M.Sennaoui(1), Z.Lout(1), A.Jamali(1), S.Eddamer(1), M.Dbilij(1), A.Ibourk(1), FZ.Nyoub(1), M.ELqabli(1), N.Aboussair(1,2),

(1) Service de génétique, CHU Mohammed VI- Marrakech, Maroc (2) Faculté de médecine et de pharmacie de Marrakech, Université Cadi Ayyad, Marrakech, Maroc

Introduction :

La trisomie 21 (syndrome de Down) est une anomalie chromosomique définie par la présence d'un 3ème exemplaire, en totalité ou en partie du chromosome 21. La trisomie 21 n'est pas une anomalie rare, mais son incidence à la naissance a diminué significativement dans plusieurs pays, après la mise en place du dépistage prénatal. Il est cliniquement caractérisé par quatre groupes de symptômes : une hypotonie, une dysmorphie faciale, un retard mental et des malformations viscérales de façon moins constante. Le diagnostic est établi après réalisation des techniques cytogénétiques notamment un caryotype constitutionnel post-natal métaphasique, ou une hybridation in situ en fluorescence (FISH) métaphasique ou interphasique.

Cette étude porte sur une durée totale de 4 ans. Elle a concerné 157 enfants trisomiques 21, de différents âges (moins de 15 ans), et des deux sexes. Ces patients ont été adressés au service de génétique du CHU Mohammed IV de Marrakech, afin de confirmer le diagnostic. Patients et méthodes :

Il s'agit d'une étude rétrospective et descriptive de 157 cas de trisomie 21 référés de toutes les régions du sud du Maroc au service de génétique du CHU Mohamed VI de Marrakech. Cette étude s'est étalée sur une période de quatre ans. Les patients de notre étude sont adressés par des médecins pédiatres ou généralistes du secteur public ou libéral. Un caryotype constitutionnel postnatal a été réalisé chez tous les patients.

Résultats :

L'âge moyen des patients est de 1 an. La moyenne d'âge maternel est de 33,44 ans. Le diagnostic cytogénétique par la réalisation du caryotype a permis de montrer que la majorité des cas étudiés présentent une trisomie 21 libre et homogène. Le caryotype des parents n'est demandé que dans les cas de trisomie 21 par translocation. Sur les 157 patients trisomiques 21 de notre étude, 128 avaient une trisomie 21 libre et homogène ; 23 patients présentaient une trisomie libre en mosaïque, et 6 avaient une trisomie par translocation Robertsonienne. Dans 2 sur 6 cas de translocation, le chromosome 21 est associé à un chromosome acrocentrique du groupe D (le chromosome 14).

Conclusion :

A travers ce travail, nous illustrons le rôle de la cytogénétique dans la confirmation diagnostique du syndrome de Down et dans la précision des anomalies chromosomiques responsables afin d'établir un conseil génétique adapté et une prise en charge adéquate des patients.

CA62

Postnatal

MICRODÉLÉTION EN 1P34.2 DÉTECTÉE PAR CGH ARRAY CHEZ UN PATIENT AYANT UN TROUBLE DU SPECTRE AUTISTIQUE ET RETARD MENTAL MODÉRÉ

JELLOUL .A1, MRAG.M1, HANNECHI .H1, DIMASSI.S1, ZAATIR .A2, SAAD.A1, MOUGOU ZRELLI.S 1

1: service de cytogénétique et biologie de la reproduction CHU Farhat Hached Sousse Tunisie/ 2: pédopsychiatre de libre pratique

L'autisme est caractérisé par des déficits dans les interactions sociales et la communication associé à un répertoire de comportement restreint, répétitif et stéréotypé.

Les facteurs génétiques sont déterminants dans la genèse de l'autisme ; L'environnement n'étant, contrairement à ce que l'on soutenait auparavant, qu'un facteur modulant le phénotype.

Nous présentons ici le cas d'un garçon de 9 ans issu d'un mariage non consanguin de deux parents sains, aux antécédents de souffrance fœtale aigue. L'enfant montrait des troubles du spectre autistique, un retard important du langage, agnosie auditive le tout associé à un retard mental modéré. A l'examen il présentait un retard statural, une microcéphalie avec une brachycéphalie, une dysmorphie faciale sans spécificité syndromique et un retard psychomoteur. Par ailleurs il montrait depuis l'âge de 1 an 8mois des crises épileptiques bien contrôlées sous traitements antiépileptiques. L'IRM avait objectivé une atrophie cortico sous corticale.

Le caryotype a montré une formule chromosomique à 46, XY sans anomalies.

La CGH array Agilent 44K a détecté une délétion interstitielle de l'ordre de 3,970,918 bp en 1p34.2 confirmée par la FISH.

Dans la littérature, très peu de cas de microdélétion interstitielle 1p34.2 ont été publiés.

Cette région inclut à peu près 50 gènes dont RIMS3 (Regulating Synaptic Membrane Exocytosis 3) et SLC2A1 (GLUT1). RIMS3 est exclusivement exprimé dans le cerveau, régule l'exocytose de la membrane synaptique.

En effet, plusieurs études avaient soutenu l'hypothèse que RIMS3 est un gène candidat de l'autisme et dont le dysfonctionnement est fortement associé à l'autisme et la schizophrénie.

SLC2A1 (GLUT1) exprimé dans les cellules gliales, responsable de l'entrée du glucose dans le cerveau. Le syndrome du déficit en GLUT1 associe une épilepsie, une microcéphalie, une dysmorphie faciale, une spasticité, une ataxie, une dysarthrie et un retard psychomoteur. L'autisme n'a pas été rapporté chez les patients ayant une mutation SLC2A.

Par contre, un autisme associé à une microcéphalie, dysmorphie faciale et un retard psychomoteur a été rapportés chez quelques patients ayant une délétion incluant SLC2A1.

Un traitement spécifique par un régime cétogène permet dans la majorité des cas le contrôle de l'épilepsie et améliore la croissance du périmètre crânien mais le contrôle de l'autisme n'a pas été noté.

Devant l'hétérogénéité génotypique et phénotypique du trouble du spectre autistique, des explorations plus avancées par analyses pangénomiques à la recherche d'anomalies cryptiques et des CNVs pourraient aider à mieux comprendre le mécanisme de ce trouble.



CA63

Postnatal

COMPLÉMENTARITÉ DES TECHNIQUES DE CYTOGÉNÉTIQUE EN STRATÉGIE DIAGNOSTIQUE

M. Serey^{1,2}, E. Boucher¹, M. Valduga³, V. Rozé², P. Kuentz², Christelle Cabrol¹, M.-A. Collonge-Rame², J.-L. Bresson², L. Van Maldergem¹, J. Piard¹

1 Centre de Génétique Humaine, CHRU Besançon, Université de Franche-Comté, France, 2 Service de Génétique Biologique - Histologie, CHRU Besançon, Université de Franche-Comté, France

La recherche de déséquilibre génomique par la méthode des puces à ADN (CGH-array) est recommandée en première intention dans les syndromes malformatifs avec ou sans déficience intellectuelle.

Cependant, cette technique a ses limites, et les analyses de cytogénétique conventionnelle, en particulier le caryotype standard et l'hybridation in situ en fluorescence (FISH), prennent encore le relais de manière salutaire lorsqu'un déséquilibre est identifié.

Nous en apportons la preuve au travers de l'histoire de deux familles au sein desquelles le cas index présente une déficience intellectuelle syndromique. Un remaniement chromosomique a été identifié en CGH-array (Agilent, 180K) dans chacune d'entre elles : duplication en 6p21.31p22.1 (7,3Mb) dans le premier cas et duplication en 17q23.2q24.1 (3,6Mb) associée à une délétion en 2q21.3 de 62kb au site d'insertion du fragment dupliqué dans le deuxième cas. La vérification du ratio parental en PCR quantitative étant normale, ces réarrangements ont été initialement considérés comme survenus de novo.

Or, chez les deux patients, l'utilisation des méthodes conventionnelles de cytogénétique a permis de montrer que la duplication interstitielle était secondaire à la transmission déséquilibrée d'un réarrangement chromosomique équilibré à type d'insertion d'origine maternelle.

L'analyse des arbres généalogiques des deux familles a mis en évidence chez chacune d'elles la présence d'un oncle maternel présentant également une déficience intellectuelle syndromique. Dans la première famille, une translocation équilibrée t(14 ;15)(q10 ;q10) avait été identifiée sur le caryotype lymphocytaire de l'oncle atteint réalisé il y a douze ans. Dans la deuxième famille, l'oncle atteint présente une déficience intellectuelle légère associée à un œdème des membres inférieurs, un cutis marmorata et des traits dysmorphiques mineurs. Les réarrangements chromosomiques identifiés chez les cas index ont été trouvés chez leurs oncles respectifs.

Les petites délétions et duplications ne sont pas visibles au caryotype standard, pas plus que les réarrangements équilibrés ne le sont en CGH-array. Ces deux familles illustrent la complémentarité des techniques de cytogénétique conventionnelle et moléculaire dans l'établissement d'un diagnostic et de son mode de survenue. La compréhension des mécanismes sous-jacents est d'autant plus importante qu'elle permet le conseil génétique des générations précédentes, qui n'ont jamais bénéficié de ce degré de résolution lors des analyses antérieurement réalisées.



CA64

Postnatal

FRÉQUENCE ET NATURE DES ANOMALIES CHROMOSOMIQUES RETROUVÉES CHEZ LES PATIENTS PRIS EN CHARGE DANS LE SERVICE DE MÉDECINE DE LA REPRODUCTION DES HOSPICES CIVILS DE LYON ENTRE 2007 ET 2015.

N. Reynaud 1, N. Chatron 1,2, M. Till 1, H. Lejeune 3, B. Salle 3, A. Rafat 1, C. Schluth-Bolard 1,2, D. Sanlaville 1,2

1. Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, Hospices Civils de Lyon, Lyon 2. Equipe TIGER, CRNL, UCBL1, U1028 INSERM, UMR 5292 CNRS, Lyon 3. Service d'Assistance Médicale à la Procréation, Hospices Civils de Lyon, Lyon

Les anomalies chromosomiques constitutionnelles constituent un ensemble hétérogène de causes d'infertilité. Elles sont couramment recherchées par les centres d'assistance médicale à la procréation (AMP) face à une infertilité inexpliquée ou dans des contextes variés tels que le don de gamète, le bilan avant prise en charge en AMP ou des tableaux cliniques évocateurs (aménorrhée primaire, azoospermie).

Cette étude a pour but d'évaluer la fréquence et la nature des anomalies chromosomiques chez les patients pris en charge dans le service de médecine de la reproduction des Hospices Civils de Lyon entre 2007 et 2015.

L'analyse rétrospective des caryotypes métaphasiques sur sang périphérique de 3995 patients (3256 hommes [81,5%] ; 739 femmes [18,5%]) consultant dans le service d'AMP a été réalisée. Chez les hommes, la présence d'une ou plusieurs anomalies chromosomiques a été retrouvée dans 4,98% des cas (162/3256), dont 50,6% (82/162) de formules XXY homogène ou en mosaïque, 16,7% (27/162) de translocations robertsoniennes, 14,8% (24/162) de translocations réciproques entre autosomes, 9,9% (16/162) d'anomalie de structure du chromosome Y, 4,9% d'inversions péricentriques (8/162), et 3,1% d'anomalies d'autre nature (délétions, marqueurs).

Chez les femmes, une fréquence de 2,4% (18/739) de caryotypes anormaux a été retrouvée. Parmi ces 18 anomalies, 7 sont des monosomies X en mosaïque, 4 sont des inversions péricentriques, 3 sont des translocations robertsoniennes, 3 sont des translocations réciproques entre autosomes et une est une délétion de grande taille.

La fréquence des anomalies trouvées au sein de cette cohorte est légèrement inférieure aux rares données de la littérature (Gekas J et al., 2001), possiblement en raison des différences existantes dans le recrutement des populations d'étude (population ICSI dans l'article de Gekas et al.). En revanche la distribution des types d'anomalies est très concordante avec les données de la littérature existante.

Ces résultats valident les indications de caryotype posées lors du bilan d'assistance médicale à la procréation d'une part et les performances du laboratoire dans l'identification d'anomalie chromosomique visible au caryotype d'autre part. L'étude phénotypique rétrospective de ces patients aura pour but de définir plus précisément les indications des investigations cytogénétiques.



CA65

Postnatal

UN REC(X)INV(X)T(X;Y) RESPONSABLE D'UNE INSUFFISANCE OVARIENNE PRÉMATURÉE DE TRANSMISSION MATERNELLE...!

C Hyon (1,2,3), F Ader (1), P Marzin (1), S Chantot-Bastarud (1), MF Portnoi (1), A Bachelot (4), I Marey (5), JP Siffroi (1,2,3)

1. AP-HP, Groupe Hospitalier Universitaire de l'Est Parisien – Hôpital Armand Trousseau, Département de Génétique Médicale, 75012, Paris. 2. INSERM, UMR_S933, Physiopathologie des maladies génétiques d'expression pédiatrique, Hôpital Armand Trousseau, 75012, Paris. 3. UPMC Université Paris VI, UFR de Médecine Pierre et Marie Curie, Paris. 4. AP-HP, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Service Endocrinologie et Médecine de la Reproduction, CRMERC, 75013, Paris. 5. AP-HP, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Département de Génétique et Cytogénétique - Unité Fonctionnelle de Génétique Médicale, 75013, Paris

Objet : L'insuffisance ovarienne prématurée (IOP), cliniquement définie par la survenue d'une aménorrhée de plus de six mois avant l'âge de 40 ans associée à des gonadotrophines élevées, survient chez 1 à 5% des femmes. Une cause génétique est retrouvée chez environ 20 à 25% des patientes. Les anomalies chromosomiques sont responsables d'environ la moitié des cas d'IOP et la grande majorité de ces anomalies intéresse le chromosome X.

Patients et méthodes : Patiente de 17 ans adressée pour aménorrhée primaire avec un développement pubertaire normal par ailleurs. A l'examen clinique, il existe un retard de croissance (t=154cm). Un caryotype a été réalisé et des explorations complémentaires en hybridation in situ fluorescente (FISH) avec des sondes de peintures et des régions télomériques des chromosomes X et Y ainsi que la sonde spécifique du locus SHOX. Cette étude a été complétée par une Analyse Chromosomique par Puce à ADN (ACPA) oligonucléotidique SNP.

Résultat : Le caryotype et les analyses par FISH ont montré chez la patiente la présence d'un dérivé X d'une translocation t(X;Y)(q22.1;q12). L'hybridation in situ avec la sonde du locus SHOX montre que celui-ci est présent sur le chromosome X et le dérivé X. L'analyse complémentaire par ACPA confirme la délétion terminale du bras long du chromosome X d'environ 53 Mb. Cette grande délétion permet d'expliquer le phénotype d'IOP chez la patiente puisqu'elle implique la région POI1 située en Xq23-q27.

Le caryotype réalisé chez la mère a montré un dérivé X différent. Les études en FISH et par ACPA ont montré que ce dérivé X était constitué de 2 remaniements différents. Il existe d'une part une inversion péricentrique d'un chromosome X entre les bandes p22.33 et q22.1 et d'autre part, une translocation déséquilibrée t(X;Y) entre l'extrémité non inversée du bras court de ce dérivé X et l'hétérochromatine du bras long du chromosome Y. Ce remaniement entraîne une délétion de l'extrémité du bras court d'un chromosome X d'environ 560 kb et donc du locus SHOX et une duplication de la région PAR2.

Au total, la patiente a hérité d'un recombinant d'inversion péricentrique d'un chromosome dérivé de translocation t(X;Y).

Conclusion : Nous rapportons le premier cas de transmission d'un recombinant d'inversion d'un chromosome dérivé de translocation t(X;Y). Ce recombinant présente une délétion de la région POI1 responsable d'IOP. Cette étude montre la nécessité de réaliser l'enquête familiale devant toutes anomalies de structures pour évaluer le caractère hérité ou de novo de ces remaniements.



CA66

Postnatal

TRANSLOCATION RÉCIPROQUE ÉQUILBRÉE HÉRITÉE D'UN PARENT SAIN AVEC DÉSÉQUILIBRE DE NOVO AU POINT DE CASSURE : PROBLÉMATIQUE DE LA DÉMARCHE DIAGNOSTIQUE

*Jérémie Mortreux, Khaoula Khachnaoui, Isabelle Seksik, Gilles Maurel, Tiffany Busa, Chantal Missirian
APHM, CHU Timone Enfants, Laboratoire de Génétique Chromosomique, Marseille, France*

Nous rapportons l'observation d'un patient âgé de 9 ans issu de parents asymptomatiques non-apparentés adressé en consultation pour exploration de difficultés des apprentissages scolaires sans évaluation du QI. Dans ce contexte, un caryotype et une étude du gène FMR1 sont réalisés.

Le caryotype met en évidence une translocation réciproque apparemment équilibrée survenue entre le bras long d'un chromosome 5 et le bras court d'un chromosome 11, dont les points de cassure sont localisés respectivement en 5q23.1 et 11p14. Les analyses complémentaires par FISH ont permis d'éliminer un remaniement chromosomique complexe. Parallèlement à l'enquête familiale et en raison du contexte clinique, une ACPA est réalisée et identifie une délétion pathogène de 6 Mb au niveau d'un des points de cassure en 5q23.1. Ce microremaniement chromosomique, contenant le gène APC, est confirmé par FISH et permet d'expliquer le tableau clinique.

L'enquête familiale montre que le père est porteur de cette translocation réciproque mais sans la microdélétion 5q22.1-q23.1 au point de cassure.

Un déséquilibre génomique est identifié en ACPA dans 30% à 50% des remaniements chromosomiques apparemment équilibrés de novo associés à un phénotype anormal. Lorsqu'ils sont hérités, la fréquence des déséquilibres aux points de cassure est peu documentée. Dans une cohorte de 14 patients avec remaniements chromosomiques équilibrés hérités, Schluth-Bolard et al (1) décrivent 2 observations (14%) avec déséquilibre de novo survenu aux points de cassure.

Cette observation nous a conduits à deux réflexions :

- Lorsqu'une ACPA est réalisée en première intention, il est recommandé de privilégier la FISH pour d'une part confirmer la variation du nombre de copie (CNV) et d'autre part réaliser l'enquête familiale. Il est alors indispensable d'utiliser des sondes localisées de part et d'autre des bornes du CNV afin d'éliminer un remaniement chromosomique équilibré, information essentielle pour le conseil génétique.

- Dans le cadre du diagnostic prénatal, les recommandations issues du guide des bonnes pratiques préconisent une ACPA devant un remaniement chromosomique équilibré de novo, à l'exclusion de ceux hérités sans signe d'appel échographique. Ne serait-il pas justifié de la réaliser devant tout remaniement chromosomique hérité ou non (translocations robertsoniennes exclues) ?



CA67

Postnatal

MICRODÉLÉTION 2Q24 ET CLUSTER SCN : QUEL EST LE PHÉNOTYPE ?

R. DARD¹, B. HERVE¹, D. FAUVERT¹, T. QUIBEL², E. LANDAIS³, M. DOCO-FENZY³, A. AFENJAR⁴, D. DOUMMAR⁵, J. PUECHBERTY⁶, G. VIEVILLE⁷, D. MOLINA-GOMES¹, J. ROUME¹, F. VIALARD¹

1- Service d'Histologie-Embryologie, Cytogénétique, Biologie de la reproduction & Génétique médicale, CHI Poissy, Poissy, France. 2- Service de Gynécologie-Obstétrique, CHI Poissy, Poissy, France. 3- Service de Génétique et biologie de la reproduction, Hôpital Maison-Blanche, CHU de Reims, Reims, France. 4- Service de Génétique et Embryologie médicale, CHU A. Trousseau, Paris, France. 5- Unité de neuropédiatrie et pathologie du développement, CHU A. Trousseau, Paris, France. 6- Département de Génétique médicale, CHRU Montpellier, Montpellier, France. 7- Laboratoire de Génétique Chromosomique, Pôle Couple/Enfants, CHU de Grenoble, Grenoble, France.

Le gène SCN1A est reconnu comme le gène majeur des encéphalopathies épileptiques infantiles précoces. Les mutations de novo de ce gène sont responsables de 80% des cas de syndrome de Dravet, associant une épilepsie sévère et précoce à un retard et une régression psychomotrice importante. D'autres gènes SCN sont responsables d'épilepsies sévères, notamment SCN7A impliqué dans le spectre des épilepsies généralisées avec crises fébriles (GEFS+) dont le phénotype extrême est représenté par le syndrome de Dravet.

La famille de gènes SCN code pour des canaux sodiques voltages dépendants. SCN1A, SCN7A et SCN9A sont organisés en un cluster au locus 2q24.

La microdélétion, interstitielle et non récurrente de ce locus, a été rapportée plusieurs fois dans la littérature et dans les bases de données. Le phénotype associé comprend souvent une épilepsie sévère mais celle-ci n'est pas constante. Les délétions des régions adjacentes au cluster SCN semblent également responsables d'un phénotype neuro-développemental péjoratif. A ce jour, le phénotype lié à la microdélétion 2q24 n'est pas clairement défini.

Nous rapportons 9 nouveaux cas, dont un cas prénatal, diagnostiqués en ACPA et issus de plusieurs centres du réseau de l'ACLF. Notre étude de ces nouveaux cas et une revue de la littérature, cherchent à définir un phénotype plus précis ainsi que des corrélations phénotype-génotype. Nous détaillerons les caractéristiques des épilepsies, des atteintes neuro-développementales, mais également les atteintes possiblement associées.

La connaissance précise du phénotype associé aux microdélétions non récurrentes est un élément clé de l'interprétation des résultats de l'ACPA. Si en postnatal le phénotype du patient est bien défini, en période prénatale les enjeux sont bien plus importants. A l'heure du développement d'outils toujours plus puissants de diagnostic prénatal, il est crucial de diminuer tant que possible les incertitudes quand au pronostic de l'enfant à naître.



CA68

Postnatal

MICRODUPLICATION 11P15.5 IMPLIQUANT L'ENHANCER DU GÈNE IGF2 : VERS UN NOUVEAU MÉCANISME DE SURVENUE DU SYNDROME DE BECKWITH-WIEDMANN

Lévy Jonathan (1), Hays Damien (1), Dupont Céline (1), Verloes Alain (1), Chantot-Bastaraud Sandra (2), Fauret Anne-Laure (1), Thaly Adeline (1), Pipiras Eva (1), Benzacken Brigitte (1), Brioude Frédéric (3), Tabet Anne-Claude (1)

(1) APHP, Hôpital universitaire Robert - Debré, Département de Génétique, Paris, France (2) APHP, Hôpital Armand Trousseau, Service de Génétique et d'Embryologie Médicales Paris, France (3) APHP, Hôpital Armand Trousseau, Service de Biologie Moléculaire endocrinienne, Paris, France

Le syndrome de Beckwith-Wiedemann (SBW) est un syndrome d'hypercroissance lié à des anomalies génétiques, épigénétiques et cytogénétique de la région 11p15.5. Les mécanismes génétiques intéressent deux domaines distincts (ICR1 ou H19/IGF2:IG-DMR et ICR2 ou KCNQ1OT1:TSS-DMR) de la région 11p15 soumise à l'empreinte parentale. Nous rapportons dans ce travail le cas d'un nourrisson de 11 mois avec une très forte suspicion clinique de SBW associant macrosomie, macroglossie, hernie de la ligne blanche et tubercule prétragien du pavillon auriculaire droit. La grossesse avait été marquée par la découverte d'un excès de liquide amniotique et d'une macrosomie à 36 SA.

Les études de méthylation des régions ICR1 et ICR2 et le séquençage du gène CDKN1C ont été réalisés et sont normaux. L'ACPA (OmniExpress-24, Illumina®) met en évidence une microduplication 11p15.5 d'environ 102 kb en amont des gènes H19 et IGF2, incluant l'enhancer de la région ICR1. Cette duplication est survenue de novo. L'origine parentale, déterminée par SNP array et l'étude de microsatellites, n'a pu mettre en évidence qu'un seul marqueur informatif, d'origine maternelle.

Des duplications 11p15.5 de la région ICR1, chevauchantes et de plus grande taille ont été rapportées dans la littérature. Toutes incluent le gène IGF2 et sont d'origine paternelle, permettant d'expliquer la pathogenèse de ces duplications génomiques dans le SBW. Dans le cas présent, la duplication couvre les éléments régulateurs du gène IGF2 et est probablement d'origine maternelle. Nous discuterons l'hypothèse selon laquelle cette duplication pourrait interférer avec la structure des "topologically associating domains" chromatinien (TAD), unité structurale partagée entre les différents types cellulaires et conservée entre les espèces. Ces domaines sont indispensables pour de nombreux processus tels que la régulation de l'expression des gènes et la réplication de l'ADN. La modification structurale du domaine TAD générée par la duplication en 11p15.5 pourrait être à l'origine de la surexpression d'IGF2 (Franke et al. 2016, Formation and content of novel chromatin domains (neo-TADs) determine pathogenesis of genomic duplications, ESHG 2016). Cette observation permet de suggérer un nouveau mécanisme à l'origine du SBW.



CA69

Postnatal

ADAPTATION D'UN PANEL DE FISH POUR LE DIAGNOSTIC ÉTIOLOGIQUE DES PATIENTS PRÉSENTANT UNE ANOMALIE DE LA CROISSANCE STATURALE

A. Boughalem (1), C. Le Long (1), D. Zenaty (2), J. Leger (2), J. Levy (1), C. Dupont (1), C. Leroy (1), K.

Guirand(1), D. Foutrel(1), JC. Carel (2), AC. Tabet (1)

(1) Hôpital Robert Debré (AP-HP)- Département de Génétique- Unité Fonctionnelle de Cytogénétique- Université Paris Diderot, Paris, France (2) Hôpital Robert Debré (AP-HP)- Service d'endocrinologie pédiatrique, Centre de Référence Maladies Endocriniennes Rares de la Croissance, Université Paris Diderot, Paris, France

De nombreux patients consultent en endocrinologie pédiatrique pour une anomalie de la croissance staturale syndromique ou non. Selon les recommandations nationales, le diagnostic étiologique comprend la réalisation d'un caryotype standard à la recherche d'une anomalie de nombre ou de structure des gonosomes. Une analyse complémentaire par FISH peut être nécessaire pour confirmer ou préciser un éventuel mosaïcisme.

Dans ce domaine, l'activité du service de cytogénétique de l'hôpital Robert Debré repose sur le recrutement des patients vus pour anomalie de la croissance staturale au sein du service d'endocrinologie pédiatrique de l'hôpital Robert Debré. Le bilan de cette activité a montré que la majorité des anomalies identifiées étaient liées à une anomalie de nombre ou de structure des chromosomes sexuels, accessibles directement par technique de FISH. Nous avons donc rediscuté la pertinence de la réalisation du caryotype complet. En effet, l'utilisation de panels de FISH adaptés aux indications cliniques, en remplacement du caryotype complet, nous a semblé pouvoir être plus efficiente.

Dans un premier temps, nous présenterons les détails du bilan rétrospectif de cette activité sur une année civile (2014) : nombres d'analyses effectuées, indications et résultats.

Nous évoquerons et justifierons les différents panels de FISH proposés (ciblés sur les gonosomes), adaptés aux indications cliniques et répondant aux recommandations de la Haute Autorité de Santé ainsi qu'aux recommandations de l'Association des Cytogénétiens de Langue Française.

Enfin nous rapporterons les résultats de cette nouvelle stratégie diagnostique après un an d'utilisation montrant l'efficacité de nos panels et l'importance de maintenir le caryotype dans certains cas. De plus, nous discuterons de la place de l'analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA) dans la caractérisation d'une anomalie chromosomique ou en l'absence de diagnostic étiologique d'une anomalie de la croissance staturale syndromique



CA70

Postnatal

RETARD STATURAL SYNDROMIQUE ET MICRODÉLÉTION 15Q26.3 IMPLIQUANT LE GÈNE IGF1R : ÉTUDE DE LA CORRÉLATION GÉNOTYPE-PHÉNOTYPE D'UN CAS ET REVUE DE LA LITTÉRATURE.

Marion IMBERT-BOUTEILLE(1), Marjolaine WILLEMS(2), Jacques PUECHBERTY(2), Stéphanie FAURE(1), Magalie POUPINEL(1), Anouck SCHNEIDER(1), Franck PELLESTOR(1), Vincent GATINOIS(1)

(1) Laboratoire de génétique chromosomique, hôpital A. de Villeneuve, CHU de Montpellier (2) Département de génétique clinique, hôpital A. de Villeneuve, CHU de Montpellier

Introduction - La microdélétion terminale 15q26 est associée à un retard de croissance pré- et post- natal syndromique. La perte d'une copie du gène IGF1R est décrite dans la littérature comme la cause du retard de croissance des patients porteurs d'une telle délétion. Nous rapportons le cas d'une jeune patiente adressée pour bilan étiologique d'un retard de croissance staturale syndromique.

Matériel et méthode - Une Analyse Chromosomique sur Puce à ADN (ACPA) a été réalisée en première intention chez une jeune fille de 8 ans et 7 mois, aînée d'une fratrie de deux enfants, issue d'un couple bien portant et non apparenté, adressée pour un retard de croissance staturale de début anténatal, associés à des troubles des apprentissages, des variations morphologiques mineures (face et extrémités) et une trachéobronchomalacie. Les résultats ont été comparés aux autres cas de la base de données locale et aux cas publiés (Bases DECIPHER et DGV, recherche PubMed par mots-clés "deletion 15q26" et "deletion 15qter").

Résultats - L'ACPA a révélé une microdélétion terminale 15q26.3, hétérozygote de 3,3 Mb, impliquant notamment l'intégralité du gène IGF1R, de transmission non déterminée. Trois autres cas de microdélétion terminale 15q26 recensés dans la base de données locale et quatorze cas issus d'une revue de la littérature ont été analysés. La présence apparemment paradoxale d'un retard de croissance chez des individus porteurs d'une microdélétion terminale 15q26 n'impliquant pas le gène IGF1R, et réciproquement, l'absence de retard de croissance chez des individus porteurs d'une microdélétion terminale 15q26 impliquant le gène IGF1R, ont été relevées.

Conclusion - Cette observation suggère que la relation de causalité entre la perte d'une copie du gène IGF1R au sein d'une microdélétion terminale 15q26 et le retard de croissance staturale pré- et post-natal est incertaine ou pourrait reposer sur d'autres mécanismes de régulation à distance. Un appel à collaboration est lancé par l'intermédiaire du réseau AChroPuce afin de préciser la corrélation génotype-phénotype. Une analyse de l'expression du gène IGF1R par RetroTranscriptase-qPCR chez les individus présentant un retard de croissance est prévue.



CA71

Postnatal

CARACTÉRISATION CYTOGÉNÉTIQUE D'UN ANNEAU DU CHROMOSOME 7 EN MOSAÏQUE ASSOCIÉ À UNE DUPLICATION 7Q TERMINALE : À PROPOS D'UN CAS

Sarra Dimassi(1), Hamza Hadj Abdallah(1), Yosra Halleb(1), Najoua Kahloul(2), Lamia Boughammoura(2), Ali Saad(1), Soumaya Mougou-Zerelli(1)

(1)Service de Cytogénétique et de Biologie de la reproduction, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie (2) Service de pédiatrie, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie

Les anneaux chromosomiques sont des anomalies cytogénétiques rares. Leur fréquence est estimée à 1/25000 conceptions. Plusieurs hypothèses ont été avancées pour expliquer la mécanique chromosomique derrière la formation de ces anneaux. Les anomalies télorémiques impliquant délétions ou fusions de ces régions de stabilité chromosomique ont été le plus incriminées.

Nous rapportons dans ce travail, le cas d'un nouveau-né de sexe féminin, issue de parents non apparentés, âgée de 1 mois et demi présentant un syndrome polymalformatif associant un syndrome dysmorphique sévère et une cardiopathie.

La patiente a bénéficié d'un caryotype sanguin périphérique en bande R et d'une Hybridation in-situ fluorescente (FISH) utilisant la sonde de peinture du chromosome 7 ainsi que les sondes sub-télomériques en 7p (D7S2644) et en 7q (D7S247).

Le caryotype standard a montré la présence d'une mosaïque chromosomique avec un anneau du chromosome 7 dans 28% des mitoses et d'un dérivé du chromosome 7 dans 72% des mitoses. La FISH a permis de confirmer la nature chromosomique homogène de l'anneau du 7 avec une délétion subtélomérique en 7q et la conservation de la région subtélomérique en 7p. Le chromosome dérivé est un chromosome 7 dupliqué en 7q terminal. La duplication englobe la région subtélomérique 7q.

Le chromosome 7 en anneau est une entité chromosomique assez rare. Il est le plus souvent décrit en mosaïque étant donné l'instabilité chromosomique des anneaux pouvant être perdus au cours des mitoses. Au cours des cycles cellulaires, par effet d'échange entre les chromatides sœurs, ces anneaux chromosomiques peuvent subir plusieurs recombinaisons à type des cassures, de duplications,... Ces phénomènes peuvent engendrer la formation de dérivés chromosomiques associés à l'anneau. L'apparition du dérivé chromosomique du 7 dupliqué en 7q et l'anneau du 7 pourraient aussi être secondaire à un mécanisme de recombinaison chromosomique commun plus complexe.

Les phénotypes associés aux chromosomes en anneau varient selon la nature du chromosome impliqué, le taux de mosaïque, les régions dupliquées ou délétées, leurs contenus en gènes et les anomalies chromosomiques associées. La monosomie 7p sur l'anneau et la trisomie 7q sur le dérivé chromosomique expliquent probablement le phénotype observé chez notre patiente. Un phénotype qui est aussi influencé par l'origine parentale de l'anneau et/ou du dérivé du chromosome 7 puisque ce chromosome est soumis à l'empreinte parentale.

CA72

Prénatal

MICRODÉLÉTION 6Q27 TERMINALE : QUAND LE FŒTUS RÉVÈLE UNE PATHOLOGIE FAMILIALE D'EXPRESSIVITÉ VARIABLE

Bérénice HERVE¹, Delphine FAUVERT¹, Rodolphe DARD¹, Thibaud QUIBEL², Khadija FATHALLAH², Denise MOLINA-GOMES¹, Joëlle ROUME¹, François VIALARD¹

1 – Service de Cytogénétique et Génétique Médicale, CHI Poissy Saint Germain en Laye, 78300, France ; 2 – Service de Gynécologie-Obstétrique, CHI Poissy Saint Germain en Laye, 78300, France

Les délétions de l'extrémité du bras long du chromosome 6 sont peu rapportées dans la littérature. De taille variable, elles se présentent généralement dans un contexte neurodéveloppemental altéré avec déficience intellectuelle, hypotonie, épilepsie, malformations cérébro-médullaires et vertébrales mais aussi anomalies cardiaques, auriculaire ou rétinienne et dysmorphie faciale. Les malformations cérébrales classiquement décrites sont une ventriculomégalie prédominant sur les cornes postérieures, des hétérotopies nodulaires périventriculaires, une agénésie du corps calleux. Parmi les cas déjà rapportés (une trentaine), la grande majorité est apparue de novo, seules cinq situations ont montré une transmission parentale.

Nous rapportons ici le cas d'une récurrence de ventriculomégalie isolée en prénatal chez un fœtus de sexe féminin, le précédent fœtus, de sexe masculin, ayant également présenté le même tableau. L'ACPA a révélé une délétion 6q27qter de 1,8Mb chez le fœtus actuel et motivé la réalisation de l'analyse chez le précédent fœtus (non faite car non disponible à ce moment) montrant la présence de cette même délétion. L'étude parentale a mis en évidence la même délétion portée par la mère. Cette dernière ne présente aucune particularité phénotypique mais aurait présenté des troubles du comportement dans l'enfance. La réalisation d'une IRM cérébrale chez elle a montré l'existence d'une dilatation ventriculaire isolée non connue jusqu'alors. L'étude de ses propres parents, sains par ailleurs, est en cours.

Cette observation, au regard de la littérature, illustre la grande variabilité d'expression qui semble associée aux délétions 6q terminales. La présence dans l'intervalle délété de gènes impliqués dans le développement cérébral laisserait supposer un phénotype d'avantage marqué. Notamment, l'haploinsuffisance du gène C6orf70 (ERMARD) est rapporté pour être responsable d'hétérotopies nodulaires périventriculaires, celle des gènes DLL1 et PHF10 contribuerait à l'existence d'anomalies surajoutées de la morphologie cérébrale. La délétion 6q27qter présente dans notre famille est de petite taille comparée aux délétions rapportées dans la littérature. Ceci explique peut-être la présentation clinique discrète rencontrée se limitant à une dilatation ventriculaire isolée. Un appel à collaboration (ACLF) est actuellement en cours afin de colliger d'avantages de cas pour permettre de redéfinir une zone minimale critique responsable de l'apparition d'anomalies cérébrales même mineures. Un bilan de cet appel à collaboration sera réalisé lors du colloque de l'ACLF et ceci afin de permettre de mieux redéfinir ce syndrome d'expressivité variable.



CA73

Prénatal

DISCORDANCE FŒTO-PLACENTAIRE PORTANT SUR UNE ANOMALIE DE STRUCTURE : À PROPOS D'UNE DÉLÉTION 4PTER.

Béatrice Nadaud (1), Marianne Till (1), Audrey Labalme (1), Eudeline Alix (1), Laurence Lion-François (2), Fabienne Prieur (3), Pascal Gaucherand(4), Marie-Pierre Cordier (5), Azim Rafat (1), Damien Sanlaville (1,6), Caroline Schluth-Bolard (1,6)

(1) Service de Génétique, Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, Centre de Biologie et Pathologie Est, Hospices Civils de Lyon, Bron, France (2) Service de Neurologie Pédiatrique, Hôpital Femme-Mère-Enfant, Hospices Civils de Lyon, Bron, France (3) Service de Génétique Clinique, Chromosomique et Moléculaire, Hôpital Nord, CHU de Saint-Etienne, Saint-Etienne, France (4) Service de Gynécologie-Obstétrique, Hôpital Femme-Mère-Enfant, Hospices Civils de Lyon, Bron, France (5) Service de Génétique, Unité de Génétique Clinique, Hôpital Femme-Mère-Enfant, Hospices Civils de Lyon, Bron, France (6) Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, INSERM U1028 ; CNRS UMR5292 ; UCBL1 ; équipe GENDEV, Lyon, France

Les discordances fœto-placentaires sont rapportées dans 1 à 2% des ponctions de villosités choriales et concernent le plus souvent des anomalies de nombre. Nous rapportons ici un cas de discordance portant sur une anomalie de structure : une délétion 4pter, de taille différente entre le placenta et le fœtus.

La grossesse a été marquée par une ponction de villosités choriales (PVC) pour une clarté nucale augmentée (3.2 mm). L'examen direct montrait un caryotype normal 46,XX, alors que la culture a mis en évidence une délétion terminale du bras court du chromosome 4, confirmée par hybridation in situ en fluorescence (FISH, sonde Wolf-Hirschhorn) 46,XX,del(4)(p15.1).ish del(4)(WHSCR-). Une amniocentèse de confirmation a été réalisée et ne retrouvait pas d'anomalie, ni au caryotype, ni en FISH (sonde Wolf-Hirschhorn). La grossesse a été poursuivie et l'accouchement a eu lieu par césarienne à terme (PN :3,4kg, TN :50,5cm, PCN :35,5 cm).

A l'âge de 4 ans, la patiente a été adressée en neuropédiatrie pour des convulsions hyperthermiques, un retard des acquisitions psychomotrices, un retard de langage, une dysmorphie faciale discrète, une croissance staturo-pondérale à +2DS et un PC à +0,5 DS. Une analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA, puce oligonucléotides 180K Agilent) a donc été réalisée. Elle a mis en évidence une délétion terminale 4pter de 1,7 Mb, n'incluant pas la région critique du syndrome Wolff-Hirschhorn. Cette délétion a été vérifiée en FISH (sonde RP11-296G16) et est survenue de novo. Une ACPA a été réalisée secondairement sur des cellules de la culture de PVC et retrouvait une délétion terminale 4pter de 34 Mb incluant la région Wolff-Hirschhorn associée à un gain de 6.5 Mb de la région terminale 9pter. Ces CNVs ont été vérifiés en FISH et correspondaient à un dérivé de translocation déséquilibrée der(4)t(4 ;9)(p15.1 ;p24.2).

En résumé, il s'agit d'une discordance fœto-placentaire impliquant un examen direct a priori normal, une anomalie de structure avec un dérivé de translocation der(4)t(4 ;9) réalisant une délétion 4pter de grande taille sur la culture de PVC et la présence d'une délétion télomérique de petite taille 4pter isolée chez la patiente. Nous discuterons des mécanismes à l'origine de cette discordance.



CA74

Prénatal

REINS HYPERÉCHOGÈNES ET HYPOPLASIE PANCRÉATIQUE DANS UN CONTEXTE D'ANOMALIE HNF1B

Radu HARBUZ 1, Alexia APOSTOLOU 2,3, Pauline LE TANNO 3,4, Gaëlle VIEVILLE 1, Françoise DEVILLARD 1, Florence AMBLARD 1, Hervé SARTELET 2, Pierre-Simon JOUK 3,4, Veronique SATRE 1,3,5, Charles COUTTON 1,3,5

1- CHU de Grenoble, Laboratoire de Génétique Chromosomique, Département de la Génétique et Procréation, Grenoble, France 2- CHU de Grenoble, Département d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, Grenoble, France 3- Université Grenoble Alpes, Grenoble, France 4- CHU de Grenoble, Service de Génétique Clinique, Département de la Génétique et Procréation, Grenoble, France 5- Equipe "Génétique, Epigénétique et Thérapies de l'Infertilité", Institut Albert Bonniot, INSERM 1209, CNRS UMR 5309, La Tronche, France

La découverte de reins hyperéchogènes bilatéraux est une situation stressante pour les parents, car il est difficile en période prénatale de préciser l'étiologie et le pronostic. L'hyperéchogénicité du parenchyme rénal est un signe clinique non spécifique traduisant différentes modifications dans le tissu rénal. En période prénatale une des principales causes de reins hyperéchogènes sont les affections liées à des anomalies du gène HNF1B. Nous rapportons un cas de reins hyperéchogènes de découverte prénatale. Il s'agit d'une première grossesse chez un couple non apparenté. A 13 SA, la nuque était mesurée à 2,8 mm pour une LCC à 56,4 mm, le risque combiné de trisomie 21 au 1er trimestre était à 1/91. Le caryotype réalisé sur un prélèvement de villosités choriales montrait une formule 46,XX. Le contrôle échographique à 22 SA a mis en évidence un RCIU et des reins hyperéchogènes avec une différenciation correcte. L'étude chromosomique est complétée par une ACPA (Agilent 8x60K) qui met en évidence une délétion de novo en 17q12 de 1,3 Mb emportant 12 gènes dont HNF1B. Les parents ont demandé une interruption de grossesse. L'examen foetopathologique met en évidence des microkystes glomérulaires et une hypoplasie du pancréas endocrine et exocrine. Les mutations hétérozygotes HNF1B ou les délétions récurrentes en 17q12 incluant HNF1B sont associées à une atteinte rénale caractérisée par une néphropathie tubulo-interstitielle avec perte progressive de la fonction rénale, une dysplasie kystique bilatérale, des anomalies pyélocalicielles, une hypoplasie rénale, un rein unique et à des manifestations extrarénales (diabète MODY-5, insuffisance ou atrophie pancréatique, anomalies hépatiques et de l'appareil génital).

Notre observation montre l'importance de rechercher les manifestations extra-rénales notamment pancréatique lors du suivi échographique chez un fœtus avec des reins hyperéchogènes. De plus, ce cas souligne l'importance de l'ACPA en prénatal devant des reins hyperéchogènes bilatéraux. Malgré une expressivité variable du phénotype del17q12, le diagnostic étiologique peut aider les parents à prendre une décision.



CA75

Prénatal

RÉARRANGEMENT COMPLEXE ET FACTEURS DE SUSCEPTIBILITÉ EN PRÉNATAL ?

*Delphine FAUVERT, Bérénice HERVE, Rodolphe DARD, Joëlle ROUME, Sophie COUDERC, Denise MOLINA GOMES, François VIALARD
CHI Poissy et UVSQ*

Il est aujourd'hui évident que de nombreux remaniements sont des facteurs de susceptibilité, associés à un risque accru de troubles du développement (retard mental, autisme ou épilepsie) et du comportement (schizophrénie). Des exemples de ce type incluent la délétion 16p13.11 et la duplication 22q11.2. Ces microremaniements peuvent survenir de novo, mais une proportion importante est héritée d'un parent pauci- ou asymptomatique. La pénétrance incomplète et l'expressivité variable de ces remaniements représentent une difficulté majeure lorsqu'ils sont retrouvés en période anténatale et rendent délicat le conseil génétique.

Nous rapportons ici le cas d'un patient hospitalisé en Néonatalogie pour hypotonie et difficultés d'alimentation. C'est le seul enfant d'un couple consanguin originaire de l'île de Madère, obtenu par ICSI. La grossesse a été marquée par un hydramnion tardif avec stagnation de la croissance ayant motivé la réalisation d'une amniocentèse. L'ACPA avait mis en évidence, en 1q21.1, une duplication récurrente distale de 1,1 Mb pouvant être à l'origine de troubles neurodéveloppementaux, associée à une délétion de 300 Kb retrouvée chez des patients atteints du syndrome TAR (thrombocytopénie-aplasie radiale). Notre patient ne présentant (1) aucune caractéristique de ce syndrome, (2) la littérature ne rapportant qu'un seul cas identique de duplication/délétion, (3) la taille étant inférieure au seuil de détection déterminé en DPN, (4) étant dans l'impossibilité d'associer la présence de ces variants aux signes d'appels échographiques, les variants du nombre de copies n'ont pas été rapportés.

A 38SA +1j, le poids de naissance était de 2300 g (-2 DS), la taille 47,5 cm (-1,5 DS) et le PC 33,5 cm (-1 DS). L'examen clinique à 1 mois montrait un retard staturo-pondéral persistant à -2,5 DS, associé à une hypotonie axiale majeure, une cryptorchidie bilatérale et une dysmorphie faciale. L'échographie cardiaque a révélé une petite CIA en voie de fermeture et une hypertrophie ventriculaire gauche.

Suite à l'examen clinique de cet enfant, l'ACPA a été reconsidérée et l'étude parentale a montré que ce remaniement complexe délétion/duplication est apparu de novo.

Ce cas illustre la complexité de l'ACPA en prénatal lorsqu'il faut rendre un résultat nécessitant des examens complémentaires dans un court délai (signes tardifs) et la complexité d'interprétation lorsqu'un variant est situé dans une région sans rapport avec les signes échographiques retrouvés et dont le pronostic de l'enfant à naître ne peut pas être clairement expliqué.



CA76

Prénatal

DUPLICATION TERMINALE INVERSÉE DU BRAS COURT DU CHROMOSOME 2 INCLUANT DES SÉQUENCES TÉLOMÉRIQUES INTERSTIELLES : DÉCOUVERTE PRÉNATALE D'UNE TRISOMIE 2P PARTIELLE DE NOVO.

L. Marlet (1), F. Raskin-Champion (2), J. Attia (2), D. Boggio (2), E. alix (1), M. Till (1), E. Alix, D. Sanlaville (1,3), C. Schluth-Bolard (1,3)

(1) Service de Génétique, Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, Centre de Biologie et Pathologie Est, Hospices Civils de Lyon, Bron, France (2) Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Anténatal et de Médecine Fœtale, Centre Hospitalier Lyon Sud, Hospices Civils de Lyon, Pierre-Bénite, France (3) Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, INSERM U1028 ; CNRS UMR5292 ; UCBL1 ; équipe GENDEV, Lyon, France

La patiente âgée de 28 ans, était adressée à 24 semaines d'aménorrhées (SA) pour unique signe d'appel échographique correspondant à une cardiopathie congénitale : une communication inter-ventriculaire avec sténose valvulaire pulmonaire (probable tétralogie de Fallot).

L'analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA, puce oligonucléotides 60K design Necker, Agilent) effectuée sur ponction de liquide amniotique a révélé un gain d'une copie de 43,75 Mb en 2p21p25.3. Le caryotype a mis en évidence une duplication de l'extrémité terminale des bras courts d'un chromosome 2. L'analyse en hybridation in situ en fluorescence (FISH) (RP11-173C1, 2pter), a permis de confirmer la présence d'une duplication inversée sur les bras courts d'un chromosome 2 impliquant la région 2p21pter. De plus, la sonde all-human telomeres (Kreatech) a mis en évidence la présence de séquences télomériques interstitielles au niveau du point de cassure du remaniement sur le chromosome 2. L'étude cytogénétique parentale a conclu à un remaniement de novo. En raison du mauvais pronostic associé au diagnostic de trisomie 2p, une interruption médicale de grossesse a été demandée.

Le syndrome de trisomie 2p associe une cardiopathie cyanotique à une déficience intellectuelle sévère, un retard de croissance, un retard de développement, une dysmorphie faciale et une hypoplasie des organes génitaux externes.

Deux mécanismes sont principalement responsables d'une trisomie 2p. Le plus fréquent correspond à un dérivé de translocation déséquilibrée, héritée ou de novo, impliquant le bras court du chromosome 2 et un autre chromosome. Dans ce cas, la trisomie 2p partielle est associée à une monosomie partielle pour un autre chromosome. Le deuxième mécanisme plus rarement rapporté est consécutif à un remaniement chromosomique à type de duplication qui s'accompagne généralement d'une perte de la région télomérique et subtélomérique (duplication inversée et délétion). La particularité du cas que nous présentons est la persistance complète de la région télomérique au niveau du point de cassure en 2p21 et en 2pter, induisant des séquences télomériques interstitielles.

Nous étudierons le mécanisme de cette duplication qui a conduit à formation d'une séquence télomérique interstitielle.



CA77

Prénatal

PIEDS BOTS ET DÉLÉTIONS 5Q23 : NOUVEAUX CAS ET REVUE DE LA LITTÉRATURE.

Guillaume GRZYCH(1), Frédérique PAYET(2), Elise BOUDRY-LABIS(2), Boris KEREN(3) et Sonia BOUQUILLON(2)

1: Institut de Biochimie et Biologie moléculaire, Centre de biologie et Pathologie, CHRU Lille, France 2 : Institut de génétique médicale, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU Lille, France 3 : AP-HP, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Département de Génétique, Paris, France.

Nous rapportons le cas de deux fœtus avec pieds bots bilatéraux détectés lors de l'échographie morphologique pour lesquels les analyses cytogénétiques (caryotype et CGH array) ont révélé une délétion en 5q23. Ces deux délétions chevauchantes ont permis de délimiter une région commune délétée (chr5:107,514,482-122,987,044,hg19). Ces données, la consultation des bases de données de patients (DECIPHER) et une revue de la littérature nous ont permis de comparer 9 patients présentant une délétion sur le bras long du chromosome 5 en q23 associée à des pieds bots dont 6 sont chevauchantes. Parallèlement, nous avons comparé cette zone d'intérêt avec la délétion en 5q23 ségrégeant dans une famille avec une polypose adénomateuse familiale (délétion du gène APC) et une déficience intellectuelle légère mais dont aucun membre ne présente de pieds bots pour aboutir à une région de 4.03 Mb associée aux pieds bots (chr5:118,953,363-122,987,044,hg19). Les pieds bots représentent une des affections congénitales les plus fréquentes touchant une naissance sur 1000. Leur étiopathogénie complexe mêle des facteurs environnementaux et génétiques, des formes syndromiques ou isolées. Notre région minimale critique implique 13 gènes dont 10 gènes OMIM : PRR16, FTMT, SRFBP1, LOX, SNCAIP, SNX2, PPIC, PRDM6, CEP120 et CSNK1G3. Aucun n'est jusqu'alors décrit comme responsable de pieds bots mais l'expression musculaire et/ou vasculaire de certains d'entre eux (SNX2, SRFBP1, PRDM6) pourrait en faire de potentiels gènes candidats. En effet, des récentes études ont établi l'implication de certains gènes du développement des membres ou de la contraction musculaire dans le développement des pieds bots. De façon intéressante, le gène PITX1 est un des gènes connus dans le développement des membres et impliqué dans l'étiopathogénie des pieds bots. Ce gène est localisé en 5q31.1. Notre principale hypothèse est la présence dans notre région minimale critique en 5q23.1q23.2 d'un ou de plusieurs gènes responsables des pieds bots. L'autre hypothèse serait une dérégulation de PITX1, ce qui semble moins probable du fait de son éloignement de notre borne distale (12 Mb). D'autres patients présentant des délétions de la région 5q23 associées ou non à des pieds bots et des tests fonctionnels sont nécessaires pour avancer dans la corrélation génotype-phénotype et tester ces hypothèses.



CA78

Prénatal

ACPA ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL : EXPERIENCE DES HOPITAUX UNIVERSITAIRES PARIS-SUD

Lucie Tosca (1,2), Loïc Drévilhon (1), Marie-Emmanuelle Naud (1,2), Corinne Métay (3), Aline Receveur (1), Marie-Victoire Sénat (4), Alexandra Benachi (5), Gérard Tachdjian (1,2), Sophie Brisset (1,2)
(1) AP-HP, Service d'Histologie, Embryologie et Cytogénétique, Hôpitaux Universitaires Paris-Sud - Hôpital Antoine Béchère, Clamart 92140, France (2) AP-HP, Université Paris-Sud, Le Kremlin Bicêtre 94276, France (3) AP-HP, Cardiogénétique et Myogénétique, Centre de Génétique Moléculaire et Chromosomique, GH Pitié Salpêtrière, 75651 Paris, France (4) AP-HP, Service de Gynécologie Obstétrique, Hôpitaux Universitaires Paris-Sud - Hôpital Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre 94276, France (5) AP-HP, Service de Gynécologie-Obstétrique, Hôpitaux Universitaires Paris-Sud - Hôpital Antoine Béchère, Clamart 92140, France

Plusieurs domaines de la cytogénétique sont actuellement développés à l'Hôpital Antoine Béchère. La cytogénétique périnatale regroupe les activités de cytogénétique liées à la gynécologie-obstétrique et à la fœtopathologie. Les techniques de cytogénétique réalisées dans le cadre du diagnostic prénatal sont le caryotype (sur villosités choriales, liquide amniotique et sang fœtal) et l'analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA) (sur liquide amniotique). Nous présentons le bilan de notre expérience ACPA dans le cadre du diagnostic prénatal de décembre 2013 à juin 2016.

Nous collaborons avec les maternités des hôpitaux Antoine Béchère et Bicêtre, du Centre Hospitalier Intercommunal de Créteil, du Centre Hospitalier Sud Francilien de Corbeil-Essonnes, et du Centre Hospitalier de Fontainebleau. Les indications à la réalisation de l'ACPA sont en accord avec le guide des bonnes pratiques. Une notice d'information est remise à la patiente. A la réception du liquide amniotique natif : une partie est réservée à la FISH sur cellules non cultivées (pour exclure les principales aneuploïdies et préciser le sexe chromosomique), une partie est destinée à l'extraction d'ADN (recherche de contamination maternelle, ACPA et vérification qPCR) et une partie est mise en culture pour le caryotype (recherche d'une anomalie de structure ou une mosaïque), une culture de sauvegarde et l'étalement de lames blanches (vérification FISH). Les parents sont systématiquement prélevés.

Parmi les 334 demandes d'ACPA, 321 ont été rendues (13 non réalisées car FISH directe anormale) dont 28 (8,7%) avec anomalie (principalement sur signes d'appel échographiques, SAE). Les puces utilisées sont de type Agilent PreCytoNEM et le filtre d'analyse fixé à 4 oligonucléotides consécutifs. En accord avec les CPDPN, les régions d'expressivité variable et de pénétrance incomplète sont rendues (droit à l'information). Ces annonces ont permis une amélioration de la prise en charge à la naissance. Parmi les ACPA avec anomalie(s), 6 ont mis en évidence au moins 1 CNV de taille <1,5Mb, 17 sont de taille cryptique (5,3%). En terme de classification, nous avons rendu 1 CNV bénin (caractérisation d'un marqueur chromosomique et rendu dans le contexte), 5 VOUS, 3 probablement pathogènes, 16 pathogènes et 3 sans relation avec le phénotype (triple X, double Y, XXY).

L'indication majoritaire est le SAE et il n'y a pas eu de discordance caryotype/ACPA. Nos résultats sont comparables avec ceux des autres centres nationaux et ceux de la littérature. Il est néanmoins nécessaire de maintenir le caryotype afin de préciser la mécanique chromosomique et de s'affranchir des limites de l'ACPA.



CA79

Prénatal

SYNDROME DE PITT-HOPKINS EN SITUATION DE DIAGNOSTIC PRÉNATAL

John Boudjarane¹, Sabine Sigaudy¹, Audrey Mallet¹, Marie Christine Manca-Pellissier¹, Hélène Heckenroth², Julia Torrents³, Nicole Philip¹, Chantal Missirian¹

1 Département de Génétique Médicale, Hôpital de la Timone Enfants, Marseille ; 2 Service de Gynécologie-Obstétrique, Hôpital de la Conception, Marseille ; 3 Service de Médecine Légale, Hôpital de la Timone, Marseille

Nous rapportons l'observation d'une patiente âgée de 29 ans G1P0 adressée au Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal (CPDPN) à 23 SA pour agénésie du corps calleux associée à une longueur fémorale inférieure au 5ème percentile. L'évaluation du risque de trisomie 21 fœtale au 1er trimestre ne plaçait pas cette patiente dans un groupe à risque (1/4924 avec une nuque à 1,5 mm). Un contrôle du caryotype fœtal sur liquide amniotique montre une formule chromosomique sans anomalie décelée : 46,X,der(X;Y)(p22.33;q11.21). Le suivi échographique montre à 26 SA, en association de l'agénésie du corps calleux, des os longs au 5ème percentile, une ventriculomégalie modérée et un excès de liquide amniotique. Ces malformations cérébrales sont confirmées sur l'IRM fœtale réalisée à 27 SA. En raison de ces signes d'appel échographiques, le couple demande une interruption médicale de grossesse réalisée à 28 SA. L'examen foetopathologique retrouve le retard de croissance intra-utérin autour du 10ème percentile, une dysmorphie faciale mineure (repli sous orbitaire, oreilles épaisses et mal ourlées et petit menton pointu) et une agénésie complète du corps calleux. Devant ces signes, une analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA) sur puce Agilent 4x180k est réalisée à partir d'un fragment de tissu fœtal. Celle-ci retrouve une variation à type de délétion interstitielle de la région 18q21.2-q21.31 contenant notamment le gène TCF4 dont l'haploinsuffisance est responsable du syndrome de Pitt-Hopkins.

En post natal, ce syndrome se caractérise par une déficience intellectuelle sévère, des épisodes d'hyperventilation et une dysmorphie faciale (nez aux narines évasées, bouche large, lèvres épaisses, oreilles à hélix épais). D'autres signes cliniques peuvent être rapportés : petite taille, microcéphalie, épilepsie et des anomalies cérébrales comme une hypoplasie du corps calleux.

A notre connaissance, aucun cas de diagnostic de syndrome de Pitt-Hopkins en situation de diagnostic anténatal n'est rapporté dans la littérature. Cette observation est antérieure à l'utilisation de l'ACPA en 1ère intention en situation de diagnostic prénatal. Ceci confirme donc l'intérêt de proposer cette analyse en prénatal en particulier devant une agénésie du corps calleux.



CA80

Prénatal

SYNDROME DE CURRARINO ATYPIQUE AVEC HEXADACTYLIE PRÉ-AXIALE : REMANIEMENT COMPLEXE EN 7Q36.3 EN PRÉNATAL.

A. Liquier^{1,3}, M. Becker¹, L. Raymond¹, A. Bourgain², S. Amat³, B. Broussin³, G. André⁴, F. Escande⁵, M. Nouchy¹, G. Egea¹.

1- Laboratoire Biomnis, Département de Cytogénétique et Génétique, Lyon. 2- Centre hospitalier cote basque, service de Gynécologie-Obstétrique, Bayonne. 3 - Hôpital Bagatelle, CPDPN, Bordeaux. 4 - CHU, unité de fœtopathologie, Bordeaux. 5 - CHU, Laboratoire de Biochimie, Biologie moléculaire, Lille.

Nous rapportons la grossesse d'une patiente primigeste de 27ans, CN : 2.52mm (LCC : 52mm), MSMT1 : 1/10, (PAPP-A : 0.14MoM), marquée par l'observation de malformations échographiques au 2e trimestre : polydactylie pré-axiale bilatérale des deux mains avec pouce triphalangé, dysmorphie faciale, moelle attachée basse, malformations sacrée et ano-rectale.

L'examen du caryotype fœtal sur villosités choriales, sur indication de MSM est sans anomalie : 46,XY. Une exploration secondaire sur liquide amniotique exclut une mutation de SALL1 (Townes-Brocks syndrome #107 480) et la réalisation d'une ACPA met en évidence une anomalie complexe en 7q36.3, associant un gain d'une copie de 201 Kb et une perte d'une copie de 2.37 Mb de novo considérés comme pathogènes :

46,XY.arr[hg19]7q36.3(156,507,281_156,708,467)x3,7q36.3(156,744,127_159,119,486)x1.i sh del (7)(q36.3q36.3)(D7S427-,D7S486-)dn

Un complément d'imagerie (IRM et scanner fœtaux) confirme une moelle attachée basse, sans malformation cérébrale avec agénésie partielle sacrée après S3, sans autre anomalie squelettique visible.

L'examen fœtopathologique après IMG (33SA) retrouve : des fentes vertébrales au niveau cervical et thoracique, des ponctuations tarsiennes, un sacrum rudimentaire (S1,S2) tronqué après S3, une dysmorphie faciale (angle facial plat, hypertélorisme, plis sous orbitaires marqués, oreilles en rotation postérieure), un anus discrètement rétro posé, perméable, sans complexe sphinctérien, une petite tumeur pré-sacrée constituée par l'ectopie de tissu neuroglial, une hexadactylie pré-axiale bilatérale des mains avec duplication du 1er métacarpien.

Au total, ce fœtus est porteur d'un syndrome de Currarino (#1760450) très atypique dans sa présentation, en relation avec une anomalie cytogénétique complexe associant une délétion de 2.37 Mb emportant le gène HLXB9 impliqué dans ce syndrome et une duplication de 201 Kb concernant le gène LMBR1 probablement responsable de la polydactylie pré-axiale avec pouce triphalangé. Le phénotype Binder mild (angle facial plat), pourrait être en lien avec le rôle connu de l'élément de régulation ZRS, sur l'expression du gène SHH, situé dans l'intron 5 du gène LMBR1, avec une forme mineure d'holoprosencéphalie.



CA81

Prénatal

MISE EN PLACE D'UN TEST GÉNÉTIQUE NON INVASIF (TGNI) DE DÉPISTAGE PRÉNATAL DE LA TRISOMIE 21 PAR SÉQUENÇAGE D'AMPLICON.

Laetitia Gouas(a), Eleonore Pierre(a), Gaëlle Salaun(a), Stephan Kemeny(a), Céline Pebrel-Richard(a), Carole Goumy(a), Philippe Vago(a)

(a) Univ Clermont 1, UFR Médecine, Histologie Embryologie Cytogénétique, Clermont-Ferrand, F-63001 ; CHU Estaing, Cytogénétique Médicale, Clermont-Ferrand, F-63003, ERTICa, Univ Clermont 1, UFR Médecine, Clermont-Ferrand, F-63001

Objet : Clarigo® (Multiplicom) est un TGNI de dépistage prénatal de la trisomie (T21) reposant sur le séquençage massif parallèle de séquences spécifiques des chromosomes 13, 18 et 21. Mis en place dans le service de Cytogénétique médicale du CHU de Clermont-Ferrand en fin d'année 2015, nous rapportons les résultats obtenus en prospectif depuis février 2016.

Matériel et méthode : 203 prélèvements sanguins ont été reçus et l'ADN libre circulant plasmatique a été extrait avec le kit Blood DNA circulating (Qiagen). Vingt microlitres ont été utilisés pour la PCR multiplexe. Les produits amplifiés ont ensuite été purifiés pour servir de matrice à la PCR universelle permettant l'ajout des adaptateurs et d'une combinaison spécifique d'index à chaque échantillon. Après purification et contrôle de la qualité des PCR, les échantillons ont été dosés et mélangés de façon équimolaire. Le pool a ensuite été séquencé (V3 MiSeq, Illumina) et les analyses ont été réalisées avec le logiciel Clarigo Reporter® (Multiplicom).

Résultats : 66,5% et 25,6% des prélèvements reçus concernent des femmes enceintes appartenant respectivement à un groupe à risque modéré et élevé de trisomie 21 (dépistage combiné ou séquentiel ou marqueurs sériques seuls entre 1/250 et 1/1000 ou > 1/250). Dix femmes enceintes présentaient un antécédent de trisomie. Dans les échantillons, la fraction fœtale (FF) médiane était de 6,7% [2,3 – 21]. 84,8% des résultats ont pu être interprétés avec 98,5% de résultats négatifs et 1,5% de résultats non concluants. Pour 13,8% des échantillons, la FF était inférieure à 4%, valeur limite du test, mais comprise entre 3 et 4% dans 60% de ces cas pour les singletons. Concernant les grossesses gémellaires (n= 12), une FF comprise entre 6 et 8% a été obtenue dans 33% des grossesses bichoriales et supérieure à 8% pour 50% de ces grossesses.

Conclusion/Discussion : le test Clarigo® est un test simple permettant l'analyse de 10 à 12 échantillons par série et ayant l'avantage de déterminer la fraction fœtale. En tant qu'approche ciblée, il ne nécessite que deux millions de lectures (reads) par échantillon ce qui autorise l'utilisation du séquenceur ayant le plus petit débit de la gamme Illumina. Les performances du test seront réellement évaluées lorsque les issues de grossesse seront connues.



CA82

Prénatal

BILAN DE 5 ANS D'UTILISATION DE LA MLPA SUR PLUS DE 4400 PRÉLÈVEMENTS EN CYTOGÉNÉTIQUE PRÉNATALE AU CHRU DE LILLE

Smol T (1), Boudry E (1), Vaast P (2), Valat AS (3), Bouquillon S (1)

(1) Institut de Génétique médicale, CHRU Lille ; (2) CPDPN, CHRU Lille ; (3) CPDPN, CH Lens.

Le screening des prélèvements est un des challenges des laboratoires de cytogénétique prénatale. Ainsi, de nombreuses techniques ont été développées en amont du caryotype : FISH, qPCR, mais restreintes par le choix des sondes. La MLPA (multiplex ligation-dependent probe amplification) permet une quantification relative des variations des nombres de copies d'ADN sur un nombre large de cibles. Nous présentons les résultats de 5 ans d'utilisation de la MLPA sur liquide amniotique devant toutes indications en prénatal. Entre janvier 2011 et février 2016, 4442 échantillons prénataux obtenus par amniocentèse ont été analysés en première intention par technique MLPA pour une sélection de 12 syndromes microdélétionnels/microduplicationnels et pour la détection des aneuploïdies des chromosomes 13, 18, 21, X et Y (Kit P290 MRC-Holland). Les profils anormaux étaient confirmés au caryotype ou par techniques FISH ou CGH-array. Sur les 4442 échantillons analysés, un résultat a pu être rendu dans 97,2% des cas.

Des profils anormaux ont été identifiés pour 6.9% des échantillons (n = 298) et étaient représentés par des trisomies 13-18-21 dans 75,2%, des anomalies des gonosomes dans 5,7%, des microdélétions ou microduplications dans 15,1%, des triploïdies XXY dans 2%. Des profils atypiques en MLPA, observés dans 2% des cas anormaux, étaient associés à des remaniements structuraux déséquilibrés : délétions 13q, 18q et insertions chromosomiques déséquilibrées. Les indications cliniques retenues correspondaient aux signes d'appel échographiques (64,8%) ou à des anomalies de répartitions des marqueurs sériques (31,5%). Vingt-cinq résultats anormaux concernaient des indications sur marqueurs sériques isolés sans augmentation de clarté nucale. Dans ces cas, nous avons retrouvé vingt trisomies 21, un triple X, deux duplications 22q11.21, une délétion 22q11.21, et une triplication 7q11.23. Les limites de la MLPA étaient marquées par la difficulté d'identification des mosaïques. Trois profils MLPA normaux étaient associés à des anomalies en mosaïque au caryotype : mos 47,XX,+13[4]/46,XX[16] ; mos 46,XX,+21,der(21;21)(q10;q10)[11]/45,XX,-21[9] ; mos 45,X[15]/47,XXX[2].

La MLPA fait aujourd'hui partie de notre activité de routine en diagnostic cytogénétique prénatale. Elle nous permet de détecter rapidement les aneuploïdies en traitant une série de 20 à 25 échantillons, ce qui ne serait pas réalisable en technique de FISH interphasique, plus coûteuse en temps technique. Dans le même temps, elle permet de détecter des remaniements submicroscopiques récurrents et limite la détection de variants de signification inconnue. Dans les situations de grossesses à haut risque (signes d'appel échographiques) elle permet un premier screening avant le recours à la CGH-array.



CA83

Prénatal

SYNDROME DE TURNER DE DÉCOUVERTE ANTÉNATALE: À PROPOS D'UN CAS DE DÉRIVÉ DU CHROMOSOME X DE TYPE IDIC(XP) AVEC MULTIPLICATION DU LOCUS XIST

Tania DERY(1,3), Henri COPIN(1,3), Marlène GALLET(1,3), Ségolène LANTA(2,3), Jean GONDRY(2,3), Guillaume JEDRASZAK(1,3)

1 Médecine et Biologie de la Reproduction, Cytogénétique et CECOS de Picardie, Centre de Biologie Humaine, CHU Amiens & UPJV 2 Service de gynécologie, obstétrique, orthogénie (CGO - Maternité) CHU Amiens & UPJV 3 Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal, CHU Amiens

Le Syndrome de Turner (ST) est une pathologie chromosomique liée à l'absence complète ou partielle du chromosome X. Sa prévalence est estimée à 1/5000 (soit 1/2500 naissances chez la fille). Différentes anomalies chromosomiques sont rapportées comme étant responsable d'un syndrome de Turner : la monosomie X, homogène ou en mosaïque, les anomalies de structure du chromosome X (délétion, isochromosome Xq, chromosome dicentrique). Les isochromosomes Xp sont une cause rare de syndrome de Turner. Dans la littérature, on ne retrouve qu'une dizaine de cas rapportés. Dans la plus grande majorité des cas, l'isochromosome Xp est en mosaïque et est un chromosome dicentrique comportant une partie plus ou moins grande du chromosome Xq, incluant notamment Xist.

Nous rapportons le cas d'une patiente porteuse d'un remaniement complexe du chromosome X en mosaïque, de découverte anténatale. L'amniocentèse a été réalisée dans le cadre d'un retard de croissance intra-utérin, d'une artère ombilicale unique et de marqueurs sériques atypiques. Le caryotype montrait une mosaïque de cellules 45,X et de cellules avec un chromosome X de structure anormale. L'ACPA a montré la présence d'un isodicentrique idic(X)(pter->q12::q12->pter) avec multiplication de la région Xq13 contenant Xist. Ces anomalies ont pu être confirmées par FISH. Le suivi de la grossesse a mis en évidence une anomalie cardiaque de type hypoplasie aortique. Après la naissance, la patiente présentait un retard de croissance et une persistance de l'hypoplasie aortique isthmique sans coarctation de l'aorte, d'évolution favorable. Un nouveau prélèvement sanguin a permis de caractériser l'anomalie chromosomique par différents examens de cytogénétiques moléculaires (FISH, ACPA, PCR semi-quantitative).

En anténatal, le syndrome de Turner peut être découvert de façon fortuite lors d'une amniocentèse réalisée pour une autre cause, ou aussi être découvert suite à des anomalies échographiques (hygroma coli, malformations cardiaques ou rénales). La discussion autour de l'interruption médicale de grossesse dans le syndrome de Turner est toujours difficile. Le développement psychomoteur est en général normal en dehors des cas d'anneaux de l'X avec absence d'inactivation de l'X remanié. La conséquence de la multiplication du locus Xist sur un chromosome X remanié dans le cadre d'un syndrome de Turner en mosaïque n'est pas connue à ce jour, rendant le conseil génétique compliqué dans cette famille.



CA84

Prénatal

A PROPOS DE 2 CAS RARES DE DISCORDANCES FŒTO-PLACENTAIRES : UNE TRIPLOÏDIE ET DES ANOMALIES DE STRUCTURE.

Kévin Uguen (1,6), Audrey Basinko (1), Marie-Josée Le Bris (1), Sylvia Redon (2,6), Pascale Marcorelles (3,6), Philippe Parent (4), Anne-Hélène Saliou (5), Charles Bellot (5), Anne Caroff (4,5), Marc De Braekeleer (1,6), Nathalie Douët-Guilbert (1,6)

(1) Centre Hospitalier Régional Universitaire – Laboratoire de Cytogénétique, Cytologie et Biologie de la Reproduction – Brest

Introduction

Les discordances fœto-placentaires (DFP) représentent environ 2% des ponctions de villosités chorales. Les mécanismes entraînant ces discordances peuvent être mitotiques (post-zygotiques) ou méiotiques (non-disjonction méiotique, avec correction mitotique d'une population cellulaire). La structure atteinte (choriale ou fœtale) dépend du moment de survenue de l'anomalie ou de la réparation. Le découverte d'une mosaïque sur les villosités chorales pose la question de la réalisation d'une amniocentèse afin différencier les anomalies chromosomiques confinées au placenta (ACLP) du mosaïcisme fœtal vrai (MFV) selon les chromosomes impliqués et les données cliniques. Les ACLP représentent la majorité des DFP, et le pronostic est en général meilleur que pour les MFV.

Nous présentons deux cas de discordances fœto-placentaires, l'une avec différentes anomalies de structure du chromosome 13, l'autre avec une triploïdie.

Cas cliniques et résultats

Pour le premier cas, une analyse cytogénétique a été réalisée devant la mise en évidence d'un hygroma kystique à l'échographie du premier trimestre. L'analyse des villosités chorales a montré par technique directe une translocation roberstonienne homogène équilibrée entre un chromosome 13 et un chromosome 22. La CGH-Array ne montrait pas de CNV pathogène. Le résultat avait été rendu rassurant à la patiente. La culture a montré deux populations cellulaires, l'une présentant une trisomie 13 par isochromosome 13q, l'autre une trisomie 3p partielle par translocation (3;13). L'analyse du liquide amniotique a montré une trisomie 13 homogène par isochromosome 13q. Le fœtus a présenté un syndrome polymalformatif et la grossesse a été interrompue.

Le second cas a montré, chez un fœtus mort in utero présentant un retard de croissance intra-utérin sévère, la présence d'une triploïdie homogène après culture des villosités chorales. Le caryotype sur l'examen direct n'avait pas été réalisé. Le caryotype sur culture de liquide amniotique était normal. L'analyse par FISH du liquide amniotique frais et sur placenta fixé a montré une faible proportion de cellules triploïdes (3% et 10% respectivement). L'analyse anatomopathologique du placenta a conclu à une dysplasie mésoenchymateuse du placenta.

Discussion

A travers ces deux expériences, nous montrons i) l'importance de la réalisation d'un examen direct et d'une culture dans les ponctions de villosités chorales, ii) l'intérêt dans ces 2 cas du prélèvement de liquide amniotique pour évaluer l'atteinte du fœtus, et iii) les difficultés d'interprétation du tissu chorial, issu de différentes lignées cellulaires. Cette problématique est d'ailleurs valable pour le dépistage prénatal non invasif des aneuploïdies fœtales, qui étudie le même tissu qu'à l'examen direct (cytotrophoblaste).

CA85

Prénatal

DUPLICATION FAMILIALE 1P31.1P22.2 DE 15MB À PROPOS D'UNE OBSERVATION.

Claire Beneteau(1), Sylvie Bernard(2), Kamran Moradkhani(1), Olivier Teffaud(3), Olivier Pichon(1), M. Joubert(4), M.Docco-Fenzy(2,5)

(1) CHU Nantes, Service de Génétique Médicale, 9 quai Moncoussu, 44093 Nantes CEDEX 1, (2) Laboratoire Cytogen, ST Herblain 44200, (3) Polyclinique de l'Atlantique, St Herblain 44200, (4) Service d'Anatomie Pathologique, CHU Hôtel Dieu, Nantes, (5) EA3801

Les duplications familiales de grande taille sont rares, en particulier les duplications partielles du bras court du chromosome 1. Moins de 20 patients sont décrits dans la littérature avec une duplication pour la région 1p31.1p22.2, dont 2 cas familiaux avec une déficience intellectuelle modérée. Les signes rapportés sont variables : retard de croissance, microcéphalie, palais creux ou fendu, ptosis, brachydactylie, CIV, pertuis coccygien, une déficience intellectuelle.

Nous rapportons l'observation d'une duplication de 15Mb identifiée sur un prélèvement de liquide amniotique réalisé chez une patiente enceinte à 16SA pour hyperclarté nucale à 3,4mm et signes d'appel biologiques à 1/169. A 23SA, l'échographie montrait une ventriculomégalie bilatérale à 13mm, une dysmorphie faciale avec un rétrognathisme sans fente labio-palatine.

Le caryotype foetal montrait 46 chromosomes avec un chromosome 1 dont le bras p était allongé. Les études cytogénétiques, avec la FISH et la CGH-array identifient une duplication partielle 1p : arr[hg19] 1p31.1p22.2(74,201,498-90,060,386)x3 . A l'étude par FISH, cette duplication 1p31.1p22.2 est inversée et insérée dans une région proche de la région 1p35, : ish ins dup(1)(pter->p35 ?::p22.2->p31.1 ::p35 ?->qter)(RP11-44G21++,RP11-235J11++,RP11-739D05+).

Compte-tenu de l'incertitude du pronostic intellectuel, une IMG a été réalisée. L'autopsie a confirmé la ventriculomégalie bilatérale et la dysmorphie faciale. Le bilan familial montre que la sœur et la maman de la patiente sont elles aussi porteuses de la duplication 1p31.1p22.2. La patiente est née avec des mensurations normales (poids et taille à -1DS, PC à +1DS). Sa taille finale est de 1,54m. Elle a été opérée d'une fente de la lèvre et d'un tératome coccygien. Elle présente un ptosis droit, des fentes palpébrales obliques en bas et en dehors, un rétrognathisme, un cou large, des épaules tombantes et une brachydactylie prédominante sur les 5èmes doigts et des orteils courts. Elle a suivi une scolarité normale jusqu'au lycée et exerce un travail. Elle ne présente pas de malformation sur le scanner cérébral. Sa sœur a une fente palatine et mesure 1,49m. La grand-mère présente une taille de 1,52m avec une dysmorphie faciale similaire à sa fille et une diminution de la pro-nupination.

Cette grande duplication partielle 1p31.1p22.2 a été considérée comme VOUS lors de la découverte prénatale mais cette observation permet de la classer comme pathogène. La démarche vers le DPI a pu être proposée. Cette observation illustre la difficulté du conseil génétique devant ces duplications chromosomiques de grandes tailles visibles au caryotype, souvent peu rapportées, depuis l'utilisation des nouvelles techniques de cytogénétique moléculaire.



CA86

Prénatal

CONFINED PLACENTAL MOSAICISM: RE-EVALUATION OF PREGNANCY CHARACTERISTICS AND INFLUENCE ON FETAL GROWTH

Jérôme Toutain^{1,*}, Laurence Taine¹, Damien Goutte-Gattat², Jacques Horovitz^{2,3} and Robert Saura^{1,2}
¹ CHU Bordeaux, Génétique médicale, F-33000 Bordeaux, France ² Univ. Bordeaux, F-33000 Bordeaux, France ³ CHU Bordeaux, Gynécologie-obstétrique et médecine fœtale, F-33000 Bordeaux, France

Objective: An association between increased nuchal translucency (NT) and confined placental mosaicism (CPM) of trisomy 16 has recently been reported. Very low levels of serum pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A) have also been demonstrated for CPM of trisomy 16. Furthermore, the influence of CPM subtypes on fetal growth, whatever the trisomy confined to placenta, still remains controversial. We wanted to re-evaluate the link between NT, PAPP-A levels and CPM, as well as the influence of CPM subtypes (types 2 and 3) on fetal growth and adverse pregnancy outcomes. **Method:** From July 2009 to December 2015, 5512 chorionic villus samplings were performed in our Center. Conventional karyotype after long-term cultured villi (LTC-villi) was systematically established. In case of suspicion of CPM, karyotype after short-term cultured villi was performed to define type 2 CPM (chromosomal abnormality limited to the mesenchymal core), or type 3 CPM (chromosomal abnormality found both in the cytotrophoblast and the mesenchymal core). Amniocentesis was performed to exclude fetal mosaicism, and uniparental disomy testing was carried out, if appropriate. **Results:** were compared to a control population of 93 patients in whom karyotype was strictly normal after LTC-villi. Results Thirty-six CPM were observed (0.65%, 13 type 2, 23 type 3). The mean NT was not increased for types 2 and 3 CPM. For type 3 CPM, the median serum PAPP-A was statistically lower than for the control population. Incidence of intrauterine growth restriction (IUGR), neonatal hypotrophy and stillbirth were comparable between type 2 CPM and the control population. In type 3 CPM, IUGR was noticed in 77.3%, neonatal hypotrophy in 72.2%, and intrauterine fetal death or stillbirth was deplored in 17.4% of cases (Table 1). The percentage of abnormal cells after LTC was negatively associated with birth weight. **Conclusion:** Increased NT did not appear to be associated with type 2 or type 3 CPM. Interestingly, median serum PAPP-A level was decreased in type 3 CPM, both for trisomy 16 and other trisomies. Regarding fetal growth, our study confirmed that when a CPM is suspected, CPM subtypes need to be carefully established. Although type 2 CPM has no effect on fetal development, type 3 CPM is associated with IUGR, intrauterine fetal death, neonatal hypotrophy, and stillbirth. When a type 3 CPM is diagnosed, we recommend therefore a close ultrasonographic monitoring in order to manage the fetal growth restriction.



CA87

Prénatal

DIAGNOSTIC PRÉNATAL PAR CYTOGÉNÉTIQUE MOLECULAIRE : EXPERIENCE DU CENTRE DE DIAGNOSTIC PLURIDISCIPLINAIRE DE L'HOPITAL ROBERT DEBRE (PARIS).

Céline DUPONT(1), Jonathan ROSENBLATT(2), Jonathan LEVY(1), Aïcha BOUGHALEM(1), Aurélie MARC(1), Laurence BOUFFARD(1), Béréthé DIARRA(1), Adeline THALY(1), Sandra BHATTACHARJEE(1), Marielle BAJAL(1), Eva PIPIRAS(3), Brigitte BENZACKEN(3), Jean-François OURY(2) et Anne-Claude TABET(1).
(1) Hôpital Robert Debré (AP-HP)- Département de Génétique- Unité Fonctionnelle de Cytogénétique- Paris, France (2) Hôpital Robert Debré (AP-HP)- Service de Gynécologie Obstétrique- Paris, France (3) Hôpital Jean Verdier (AP-HP)- Service d'Histologie-Embryologie et Cytogénétique, Biologie de la Reproduction-, France ; UFR-SMBH, Paris XIII, France

Les techniques de diagnostic prénatal chromosomique à partir de prélèvements invasifs ont beaucoup évolué ces dernières années. Les techniques de cytogénétique moléculaire comme l'Analyse Chromosomique sur Puce à ADN (ACPA) ou les BACs-on-Beads™ (BoBs™) sont devenues des outils indispensables au diagnostic chromosomique. L'ACPA est notamment désormais utilisée en première intention en diagnostic chromosomique postnatal et tend à l'être également en diagnostic prénatal dans la plupart des centres. Nous rapportons ici notre expérience au sein du GH Nord Parisien et du CPDPN de l'Hôpital Robert Debré depuis 2 ans.

Dans notre centre nous réalisons un diagnostic chromosomique fœtal rapide par Prenatal BoBs™ qui permet de détecter les principales aneuploïdies et 9 syndromes microdeletionnels d'une particulière gravité. Ces deux dernières années, 1621 patientes ont bénéficié de cette technique (311 analyses sur biopsie de villosités chorales et 1310 analyses sur liquide amniotique) et 162 anomalies (10%) ont été diagnostiquées dont 152 aneuploïdies et 10 syndromes microdeletionnels.

En cas de BoBs normaux, après discussion au CPDPN et accord des couples, nous avons pu réaliser une ACPA pour 267 fœtus (63 sur biopsies de villosités chorales et 204 sur liquide amniotique). Nous avons identifié 25 CNVs pathogènes (9.3%).

Ces résultats sont en accord avec la littérature, notamment avec les dernières grandes séries publiées. La proportion de CNVs cryptiques et de VOUS, les mécanismes de ces anomalies et les quelques « surprises » liées à l'utilisation de ces nouvelles technologies en diagnostic prénatal (faux négatif notamment) seront discutés. Il sera également intéressant de discuter de la pertinence de maintenir le caryotype classique aujourd'hui dans le panorama du diagnostic prénatal chromosomique.

Nous discuterons par ailleurs de la place du dépistage des aneuploïdies à l'ère de l'analyse de l'ADN fœtal circulant dans le sang maternel. Nous suggérerons un arbre décisionnel basé sur notre expérience.



CA88

Prénatal

MISE EN PLACE DU TEST GÉNÉTIQUE NON INVASIF DPNI OU ADNICT21 AU LABORATOIRE ALPIGENE À PARTIR DU TRANSFERT DE TECHNOLOGIE VERISEQ ILLUMINA SUR NEXT SEQ 550

Frotté S(1), Schneitter M(1), Ragot G(1)(2), Rafat A(1), Martin-Denavit T(1)(2)

(1) Département Génétique prénatale Laboratoire ALPIGENE, membre du Réseau Synlab 8, Rue Saint Jean De Dieu 69007 Lyon

L'équipe de Lo et coll., a mis en évidence en 1996 la présence de l'ADN foetal circulant dans le sang maternel chez les femmes enceintes. Cette découverte majeure permet aujourd'hui de proposer en routine aux patientes un test génétique non invasif appelé DPNI ou ADNICT21 qui évalue le risque à terme de trisomie 21 foetale et des autres aneuploïdies 13 et 18.

Le laboratoire ALPIGENE a ainsi décidé de réaliser ce test génétique à partir d'une approche globale du génome reposant sur le séquençage à haut débit massif en parallèle sur séquenceur de nouvelle génération. ALPIGENE a fait le choix de la société Illumina leader dans l'approche de séquençage ayant une forte expérience sur l'ADN foetal libre. Le laboratoire a réalisé un transfert de technologie de la méthodologie VeriSeq NIPT Illumina sur son site de Lyon Gerland fin décembre 2015.

Le principe de l'analyse informatique repose sur la lecture d'un nombre élevé de séquences cibles dérivées des chromosomes 13, 18 et 21. Ces séquences sont identifiées sans distinction de l'origine.

Le logiciel d'analyse VeriSeq NIPT Illumina permet la capture bioinformatique sur les chromosomes 13, 18 et 21 en se basant sur une importante capacité de lecture. Les résultats analytiques sont interprétés sous forme d'un résultat normalisé (NCV) par rapport à une référence du génome du foetus étudié qui est sain.

Nous présentons ici les résultats de notre étude d'évaluation en interne du test DPNI ou ADNICT21 réalisé à partir de 83 échantillons de patientes avec une issue de grossesse connue ou un caryotype foetal sur liquide amniotique réalisé. Cette analyse a été réalisée en double aveugle et sur 3 mois entre décembre 2015 et février 2016.

Les résultats obtenus en comparaison sont conformes aux résultats attendus. En effet, trois trisomies 21 étaient confirmées positives ainsi qu'une trisomie 18. Trois patientes enceintes de grossesse gémellaire BC BA ont eu des résultats négatifs confirmés.

Un seul échantillon a été rendu ininterprétable. Ce résultat a pu être expliqué par les antécédents personnels de la patiente car porteuse d'anticoagulants circulants.

CA89

Prénatal

ETUDE COMPARATIVE DES PERFORMANCES INTER TECHNIQUE ENTRE LA PLATEFORME PREMATHIA SUR UN ION PROTON SYSTEM ET LA PLATEFORME ILLUMINA SUR NEXTSEQ 550 À PARTIR DE 30 ÉCHANTILLONS RÉALISÉS EN DOUBLE AVEUGLE.

*Martin-Denavit T (1)(2), Frotté S(1), Schneitter M(1), Ragot G(1)(2), Rafat A(1), Roucaute T (3), Rahil H (3).
(1) Département Génétique prénatale Laboratoire ALPIGENE, membre du Réseau Synlab 8, Rue Saint Jean De Dieu 69007 Lyon (2) Service Qualité Laboratoire ALPIGENE, 8 Rue Saint Jean de Dieu 69007 Lyon (3) Département Génétique Laboratoire LaboSud*

L'équipe de Lo et coll., a mis en évidence en 1997 la présence de l'ADN foetal circulant dans le sang maternel. Cette découverte majeure permet aujourd'hui de proposer en routine aux patientes un test génétique non invasif (DPNI ou ADNICT21) qui évalue le risque de trisomie 21 foetale à terme et des autres aneuploïdies 13 et 18. L'ADN foetal provient en effet essentiellement des cellules trophoblastiques du placenta. Cet ADN est libéré dans la circulation sanguine maternelle sous forme de petits fragments (150-200 paires de bases) et est présent en quantité faible de l'ordre de 10% dans le sang maternel. Il existe cependant des variabilités selon notamment les populations des femmes étudiées.

Les laboratoires ALPIGENE et LABOSUD réalisent ce test génétique à partir d'une approche globale du génome reposant sur le séquençage à haut débit massif en parallèle sur séquenceur de nouvelle génération (NGS). ALPIGENE a fait le choix de la société Illumina avec une plateforme NextSeq 550 selon une méthodologie VeriSeq NIPT Illumina (logiciel auto certifié CE selon la directive européenne en vigueur 98/79/EC). LABOSUD a lui fait le choix de la technologie Premaitha (Iona test) sur une plateforme Ion Proton system de Life Technologies automatisée et marquée CE-IVD.

Le principe de l'analyse informatique repose sur la lecture d'un nombre élevé de séquences cibles dérivées des chromosomes 13, 18 et 21. Ces séquences sont identifiées sans distinction de l'origine. Les logiciels d'analyse VeriSeq NIPT Illumina et Premaitha permettent la capture bioinformatique sur les chromosomes 13, 18 et 21 en se basant sur une importante capacité de lecture à partir d'algorithmes propres. Les résultats analytiques sont interprétés sous forme d'un résultat normalisé (NCV) par rapport à une référence du génome du fœtus étudié qui est sain.

Nous présentons ici les résultats de cette étude comparative du test DPNI ou ADNICT21 réalisé à partir de 30 échantillons de patientes avec issue de grossesse connue ou avec caryotype foetal réalisé. Cette analyse a été réalisée en double aveugle et sur 2 mois entre avril et juin 2016.

Les résultats obtenus sont identiques entre les 2 plateformes. Il existe cependant des discordances notamment concernant deux résultats inexploitable.

Cette étude comparative permet de proposer une prise en charge adaptée des patientes. Bianchi DW, Platt LD, Goldberg JD, Abuhamad AZ, Sehnert AJ, Rava RP. Genome-wide fetal aneuploidy detection by maternal plasma DNA sequencing. *Obstet Gynecol* 2012;119(5):890-901.

Lo YM, Corbetta N, Chamberlain PF, Rai V, Sargent IL, Redman CW, Wainscoat JS. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *Lancet* 1997;350:485-487.



CA90

Prénatal

MISE EN PLACE DU DÉPISTAGE PRÉNATAL NON INVASIF (DPNI) DE LA TRISOMIE 21 AU CENTRE HOSPITALIER UNIVERSITAIRE DE RENNES

Vincent Jauffret (1), Bénédicte Nouyou (1), Gwenaëlle Le Bouar (2), Isabelle Bertorello (2), Dominique D'Hervé (3), Dominique Aussel (3), Valérie Malan (4), Marc Le Lorch (4), Maité Ferrand (1), Marion Beaumont (1), Josette Lucas (1), Michel Vekemans (4), Sylvie Odent (5), Sylvie Jaillard (1), Marc-Antoine Belaud-Rotureau (1)
1- Service de Cytogénétique et Biologie Cellulaire, CHU de Rennes, Hôpital Pontchaillou 2- Service de Diagnostic Anténatal, CHU de Rennes, Hôpital Sud 3- Service de Diagnostic Anténatal, Clinique Mutualiste de la Sagesse 4- Service d'Histologie, Embryologie et Cytogénétique, AP-HP, Hôpital Necker-Enfants Malades 5- Service de Génétique Clinique, CHU de Rennes, Hôpital Sud

Le dépistage prénatal non invasif de la trisomie 21 fœtale sur sang maternel (DPNI) est développé en France depuis la fin de l'année 2013. Cette technique, permettant une diminution importante du nombre de prélèvements invasifs, se met en place progressivement dans les laboratoires de cytogénétique.

Nous rapportons la mise en place du DPNI au sein du Laboratoire de Cytogénétique et Biologie Cellulaire du CHU de Rennes. Ce développement a été réalisé en lien avec le Service d'Histologie, Embryologie et Cytogénétique de l'Hôpital Necker-Enfants Malades et a bénéficié du soutien du CHU de Rennes via l'appel d'offre «Innovations Interne» 2015.

La validation de la technique réalisée sur une plateforme Illumina (HiSeq® 1500) ainsi que du processus bio-informatique s'est déroulée sur 4 mois. 82 plasmas de femmes enceintes ayant bénéficié d'un DPNI dans le cadre du STIC Safe21 ou d'une amniocentèse ont été analysés. L'ensemble des trisomies 21 prouvées (N=13) ont été mises en évidence ainsi qu'une trisomie 13 et deux cas faussement positifs, validant ainsi notre méthode avec une sensibilité de 100 % et une spécificité de 97,1 % concernant la trisomie 21.

Le DPNI de la trisomie 21 fœtale est proposé en routine au CHU de Rennes depuis le 1er mars 2016 à toute femme enceinte selon les indications suivantes :

- Absence de signes d'appel échographiques
- Risque combiné ou séquentiel intégré supérieur ou égal à 1/250
- Dosage des marqueurs sériques non fiable
- Antécédent de grossesse avec trisomie 21 fœtale
- Parent porteur d'une translocation robertsonienne impliquant le chromosome 21
- Patiente de plus de 38 ans n'ayant pu bénéficier du dépistage standard.

250 femmes enceintes ont pu bénéficier du DPNI depuis sa mise en route. Six trisomies 21 confirmées ont été mises en évidence (2,4 %), une trisomie 13 (0,4 %) et deux trisomies 18 (0,8 %). Trois cas faussement positifs ont été rendus avec des z-scores situés dans une zone proche du seuil de positivité. Deux résultats n'ont pu être rendus du fait d'un taux d'ADN fœtal insuffisant.

Le recueil d'un plus grand nombre de plasmas de femmes enceintes d'un fœtus porteur d'une trisomie 13 ou 18 nous permettra de valider le DPNI en routine pour ces anomalies chromosomiques. Enfin, la parution attendue des recommandations de la Haute Autorité de Santé concernant les indications du DPNI permettra d'évaluer le nombre d'examen à réalisés au CHU de Rennes afin de prévoir une automatisation de cette technique.



CA91

Prénatal

QUE FAIRE DES CELLULES TÉTRAPLOÏDES À L'EXAMEN DIRECT D'UNE CVS ? RAPPORT D'OBSERVATION ET PROPOSITION DE CONDUITE À TENIR.

GUERIN Marie-Claude(1), PONSET Marie(1), BOURET Pauline(1), BOULOT Pierre(2), BLANCHET Patricia(3), SCHNEIDER Anouck(1), PELLESTOR Franck(1), TAVIAUX Sylvie(1), GATINOIS Vincent(1)

(1) Laboratoire de génétique chromosomique, hôpital A. de Villeneuve, CHU de Montpellier (2) Département de gynécologie obstétrique, hôpital A. de Villeneuve, CHU de Montpellier (3) Département de génétique clinique, hôpital A. de Villeneuve, CHU de Montpellier

Lors de l'examen direct d'une villosité chorale, il n'est pas rare de trouver une ou plusieurs mitoses tétraploïdes. La présence de cellules tétraploïdes peut être due à un défaut de clivage lors de la division cellulaire. En mosaïque très faible, on considère que ces cellules sont accidentelles et non représentatives du fœtus, dues à un métabolisme cellulaire extrêmement rapide du cytotrophoblaste. Le plus souvent ces cellules ne sont pas comptées ni rapportées. Cependant, il est exceptionnel d'observer une tétraploïdie homogène lors de cet examen.

Mme C, 36 ans, est suivie pour sa troisième grossesse. A l'échographie du premier trimestre à 12 SA + 1j, a été découvert une clarté nucale à 6 mm et un hygroma kystique. Une ponction de villosités chorales lui a donc été proposée pour établir le caryotype fœtal. L'examen direct a montré une hyper tétraploïdie à 94 chromosomes dont deux chromosomes 21 supplémentaires, sur l'ensemble des cellules analysées. La formule pour ce caryotype est 94,XXXX,+21,+21.

Ici, l'interprétation s'avère difficile car on ne sait pas s'il s'agit d'une mosaïque confinée au placenta ou d'une réelle anomalie fœtale. Néanmoins, la présence de six chromosomes 21 sur ces mitoses fait suspecter un zygote initialement trisomique 21. Au vue de ces éléments et des signes échographiques, la demande d'IMG de Mme C a été acceptée. Un liquide amniotique prélevé le jour de l'interruption ainsi que la culture de la villosité chorale permettront de confirmer nos hypothèses et d'ajuster le conseil génétique.

Cette observation remet en question la conduite à tenir face la découverte de mitoses avec anomalies de clivage lors d'un diagnostic prénatal. A l'aide des cas rapportés dans notre laboratoire et en réalisant une revue de la littérature, un arbre décisionnel adapté à la pratique d'un laboratoire de cytogénétique est proposé.



CA92

(N° modifié N° CA25)

Prénatal

APPORT DE L'ANALYSE CHROMOSOMIQUE SUR PUCE À ADN EN FŒTOPATHOLOGIE : L'EXPÉRIENCE DES HÔPITAUX UNIVERSITAIRES PARIS-SUD.

Sophie Brisset (1,2), Jelena Martinovic (3), Loïc Drévilion (1), Aline Receveur (1), Corinne Métay (4), Marie-Emmanuelle Naud (1,2), Dominique Pineau (1), Viginie Benoit (1), Romain Diot (1), Gérard Tachdjian (1,2), Lucie Tosca (1,2).

(1) AP-HP, Service d'Histologie, Embryologie et Cytogénétique, Hôpitaux Universitaires Paris-Sud - Hôpital Antoine Bécclère, Clamart 92140, France ; (2) Université Paris-Sud, Le Kremlin Bicêtre 94270, France ; (3) AP-HP, Unité de Fœtopathologie, Hôpitaux Universitaires Paris-Sud - Hôpital Antoine Bécclère, Clamart 92140, France ; (4) AP-HP, Cardiogénétique et Myogénétique, Centre de Génétique Moléculaire et Chromosomique, GH Pitié Salpêtrière, 75651 Paris, France

Les fœtus porteurs de malformations posent souvent des difficultés diagnostiques tant pour l'obstétricien que pour le médecin fœtopathologiste. Parmi les examens complémentaires à réaliser à la recherche d'une cause à ces malformations et afin d'apporter un conseil génétique précis au couple, il est absolument nécessaire d'avoir une analyse chromosomique du fœtus. Le caryotype peut être réalisé au cours de la grossesse à partir d'un prélèvement de liquide amniotique ou de villosités choriales ou à partir de tissus fœtaux prélevés après l'interruption de la grossesse. Cependant, il existe des situations où le caryotype n'est pas disponible soit parce qu'il n'a pas été réalisé soit parce qu'un échec de culture n'a pas permis sa réalisation.

Le développement de l'analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA) permet de réaliser une analyse globale du génome hautement résolutive et en absence de culture cellulaire. L'ACPA permet ainsi de surseoir au problème des échecs de culture et offre la possibilité de travailler sur des prélèvements congelés au moment de l'examen fœtopathologique. Nous rapportons l'expérience de notre plateforme de puces à oligonucléotides Agilent entre 2011 et 2015.

Parmi les 169 cas analysés par ACPA, 27 fœtus présentaient une ACPA anormale (15,9 %) et 5 résultats n'ont pu être rendus (2,9 %) en raison d'une mauvaise qualité des échantillons d'ADN. Le format des puces utilisées était de type Agilent 180K et le filtre d'analyse a été fixé à 4 oligonucléotides consécutifs. La taille et la classification des différents CNV observés (CNV bénins, CNV pathogènes et VOUS), leur implication en pathologie humaine et la corrélation génotype-phénotype seront discutés.



CA93

(N° modifié N° CA26)

Prénatal

DPI CYTOGÉNÉTIQUE ET SES LIMITES EN FRANCE : QUELQUES CAS D'INDICATIONS CHROMOSOMIQUES RARES

Kamran Moradkhani, Anne-Laure Bauduin, Claire Bénéteau, Aurélien Gauteul, Jenna Lammers, Carole Splingart, Julien Bancquart, Florence Leperlier, Thomas Fréour, Paul Barriere, Cédric Le Caignec.

Service de Génétique Médicale, Laboratoire de Cytogénétique et DPI, CHU de Nantes Centre d'assistance médicale à la procréation (PMA), CHU de Nantes

Le diagnostic préimplantatoire contribue depuis plus d'une quinzaine d'années en France à l'amélioration de la prise en charge des couples à risque d'avoir un enfant avec déficience intellectuelle et/ou syndrome malformatif secondaire à une anomalie chromosomique parentale équilibrée. Les indications principales sont les translocations réciproques et Robertsoniennes. Dans certains cas, l'anomalie chromosomique parentale a très peu de risque de conduire à un déséquilibre mais le couple est pris en charge en DPI pour infertilité, c'est le cas de la translocation Robertsonienne rob(14;22)(q10;q10). Ces indications ne sont pas retenues par tous les centres de DPI en France.

D'autres indications plus rares peuvent être prises en charge en DPI, c'est le cas :

- des inversions qui sont à considérer selon la taille du segment inversé,
- des microremaniements chromosomiques, comme la microdélétion 22q11.2. Pour les autres microremaniements la prise en charge dépend du phénotype habituellement observé, de la taille du segment chromosomique remanié et du mode de survenu «de novo ou hérité».
- des mosaïques germinales avérées. Une prise en charge par DPI peut être proposée aux sujets porteurs d'une aneuploïdie ou d'une anomalie de structure en mosaïque, si l'anomalie est présente dans la lignée germinale.
- des marqueurs chromosomiques surnuméraires, dont l'indication doit être discutée selon la taille du marqueur, son contenu en hétéro- ou euchromatine et également sa présence au niveau des gamètes.

Une étude préalable par SpermFISH peut être très contributive pour rechercher une mosaïque germinale, étudier le taux de gamètes déséquilibrés chez les sujets porteurs d'une inversion chromosomique et d'une anomalie chromosomique à l'état mosaïque. Nous illustrerons ces rares situations à l'aide d'observations basées sur notre expérience.



19 & 20 SEPTEMBRE 2016 LE CORUM MONTPELLIER 20 & 21 SEPTEMBRE 2016

XXVIth COLLOQUE **ATC** XXIIIth COLLOQUE **ACLF**

ASSOCIATION DES TECHNICIENNES EN CYTOGÉNÉTIQUE

ASSOCIATION DES CYTOGÉNÉTICIENS DE LANGUE FRANÇAISE

Posters ATC



CA-ATC01

ADAPTATION D'UN PANEL DE FISH POUR LE DIAGNOSTIC ÉTIOLOGIQUE DES PATIENTS PRÉSENTANT UNE ANOMALIE DE LA CROISSANCE ET/OU DU DÉVELOPPEMENT SEXUEL

C. Le Long (1), A. Boughalem (1), D. Zenaty (2), J. Leger (2), J. Levy (1), C. Dupont (1), C. Leroy (1), K. Guirand(1), D. Foutrel (1), JC. Carel (2), AC. Tabet (1)

(1): Hôpital Robert Debré (AP-HP) - Département de Génétique - Unité Fonctionnelle de Cytogénétique- Université Paris Diderot, Paris, France ; (2): Hôpital Robert Debré (AP-HP) - Service d'endocrinologie pédiatrique, Centre de Référence Maladies Endocriniennes Rares de la Croissance, Université Paris Diderot, Paris, France

De nombreux patients consultent en endocrinologie pédiatrique pour une anomalie de la croissance staturale syndromique ou pour des anomalies du développement sexuel. Selon les recommandations nationales, le diagnostic étiologique comprend la réalisation d'un caryotype standard à la recherche d'une anomalie de nombre ou de structure chromosomique. Une analyse complémentaire par FISH peut être nécessaire pour confirmer ou préciser un éventuel mosaïcisme.

Le bilan de cette activité, au niveau du service de Cytogénétique de l'hôpital Robert Debré, a montré que la majorité des anomalies identifiées étaient liées à une anomalie de nombre ou de structure des chromosomes sexuels, accessibles directement par technique de FISH. Nous avons donc rediscuté la pertinence de la réalisation du caryotype complet. En effet, l'utilisation de panels de FISH adaptés aux indications cliniques, nous a semblé pouvoir être plus efficiente.

Dans un premier temps, nous présenterons les détails du bilan rétrospectif de cette activité sur une année civile (2014) : nombres d'analyses effectuées, indications et résultats.

Nous évoquerons et justifierons les différents panels de FISH proposés (ciblés sur les gonosomes), adaptés aux indications cliniques et répondant aux recommandations de la Haute Autorité de Santé ainsi qu'aux recommandations de l'Association des Cytogénétiens de Langue Française.

Enfin nous rapporterons les résultats après une année d'utilisation de cette nouvelle stratégie diagnostique sur une cohorte de 113 patients, montrant l'efficacité de nos panels et l'importance de maintenir le caryotype dans certains cas. De plus, nous discuterons de la place de l'analyse chromosomique par puce à ADN (ACPA) dans la caractérisation d'une anomalie chromosomique ou en l'absence de diagnostic étiologique.



CA-ATC02

INTÉRÊT DE L'UTILISATION DE L'ANALYSE CHROMOSOMIQUE SUR PUCE À ADN EN PREMIÈRE INTENTION DANS LE DIAGNOSTIC GÉNÉTIQUE ÉTIOLOGIQUE DES TROUBLES DE LA PIGMENTATION.

POUPINEL Magali(1), FAURE Stéphanie(1), GUAGLIARDO Elodie(1), GUERIN Marie-Claude(1), PONSET Marie(1), SEVEAU Patricia(1), TORRENT Jennifer(1), BOURET Pauline(1), MECHIN Déborah(1), TOURNAIRE Magali(1), GUIGNARD Thomas(1), GATINOIS Vincent(1), PELLESTOR Franck(1), SCHNEIDER Anouck(1), TAVIAUX Sylvie(1), HAQUET Emmanuelle(2), WILLEMS Marjolaine(2), PUECHBERTY Jacques(2).

(1) Laboratoire de génétique chromosomique, hôpital A. de Villeneuve, CHU de Montpellier (2) Département de génétique clinique, hôpital A. de Villeneuve, CHU de Montpellier

L'analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA) est aujourd'hui utilisée comme examen cytogénétique de première intention dans certaines indications, notamment les déficiences intellectuelles et les syndromes malformatifs en raison de sa plus grande résolution. Nous rapportons le cas d'une patiente âgée de 16 ans adressée pour bilan étiologique d'anomalies de la pigmentation linéaire et difficultés d'apprentissage spécifiques. Elle est la deuxième enfant, née eutrophe à terme après une grossesse normale de parents non apparentés en bonne santé. Elle présente un développement psychomoteur, une croissance statur pondérale et une puberté normaux. Elle a une lésion linéaire hypo-pigmentée au niveau du membre supérieur gauche, des petites taches hypo-pigmentées dans la région épigastrique et un pli palmaire transverse unique gauche. Elle a présenté des difficultés à partir de la grande section de maternelle à type de dyscalculie, de dyslexie et de dysorthographe. Des caryotypes sur sang et biopsie cutanée en peau lésée faits à l'âge de 2 ans étaient normaux. Une ACPA sur ADN extrait de la biopsie cutanée a mis en évidence 6 CNV : 3 homogènes (duplication 6q27 de 524kb contenant le gène THBS2, délétion 16p13.11p12.3 de 2,62Mb contenant 13 gènes, notamment les gènes OMIM morbides NDE1, MYH11, ABCC6 et XYLT1, duplication 22q11.23 de 227kb contenant le gène LRP5L) et 3 en mosaïque évaluée à 30-35% (trisomie 7, trisomie 9 et trisomie 10). Une ACPA sur ADN extrait du sang retrouve uniquement les 3 CNV homogènes mais pas les trisomies en faible mosaïque. La duplication 22q11.23 est considérée comme un polymorphisme et la duplication 6q27 comme probablement non pathogène. La duplication 16p13.11p12.3 chevauche le syndrome microdélétionnel 16p13.11 récurrent déjà décrit comme un locus de susceptibilité pour des désordres neurocognitifs et neurodéveloppementaux avec une pénétrance incomplète et une expressivité variable, qui pourrait expliquer, au moins en partie, les troubles d'apprentissage de la patiente. Les anomalies en trisomies en mosaïques retrouvées au niveau cutané expliqueraient son phénotype dermatologique. L'utilisation de l'ACPA en première intention dans les troubles de la pigmentation permet une approche globale et non séquentielle pour la détection des anomalies chromosomiques déséquilibrées cytogénétiques et infracytogénétiques, l'approche en cytogénétique classique intervenant en deuxième intention pour préciser les mécanismes des remaniements identifiés. Des analyses sont en cours pour vérifier l'existence de ces remaniements et en déterminer l'origine de novo ou héritée pour pouvoir donner un conseil génétique précis pour la patiente et sa famille.



CA-ATC03

UN POLYMORPHISME COMME MARQUEUR D'ÉVÈNEMENTS CHROMOSOMIQUES EN CASCADE : LE CAS D'UNE TRISOMIE 21 EN MOSAÏQUE.

BOURET Pauline(1), TAVIAUX Sylvie(1), COUBES Christine(2), GUAGLIARDO Elodie(1), SEVEAU Patricia(1), TORRENT Jennifer(1), FAURE Stéphanie(1), SCHNEIDER Anouck(1), PELLESTOR Franck(1), GATINOIS Vincent(1)

(1) Laboratoire de génétique chromosomique, hôpital A. de Villeneuve, CHU de Montpellier (2) Département de génétique clinique, hôpital A. de Villeneuve, CHU de Montpellier

La trisomie 21 est l'anomalie chromosomique la plus fréquente en génétique constitutionnelle. Elle est parfois retrouvée en mosaïque et peut alors expliquer un phénotype modéré.

Après une consultation en génétique médicale, Mlle K, 15 ans, se voit prescrire un caryotype métaphasique et une FISH spécifique du chromosome 21 sur frottis sanguin à la recherche d'une trisomie en mosaïque. La FISH confirme la présence d'une trisomie 21 en mosaïque d'environ 20%. En première lecture, le caryotype retrouve 3 populations cellulaires différentes de formule chromosomique :

47,XX,+mar[40]/47,XX,+21ps+[20]/46,XX[40]

Des investigations pour caractériser le marqueur révèlent qu'il est positif à la coloration NORs. Des examens de FISH prouvent qu'il porte du matériel issu du chromosome 21 et son centromère est hybridé par la sonde Cep 13/21.

Sur le caryotype, les cellules 47,XX,+21ps+ présentent un polymorphisme des satellites d'un des 3 chromosomes 21, noté 21ps+. Nous avons remarqué que les 2 chromosomes 21 normaux des cellules 46,XX et 47,XX,+mar ne sont pas 21ps+. Le marqueur quant à lui présente un polymorphisme des satellites similaire au chromosome 21ps+.

Ces observations de structures des polymorphismes amènent à hypothèse la plus probable suivante : le zygote était initialement trisomique pour le chromosome 21 dont un chromosome était 21ps+. Puis une cassure est survenue sur le chromosome 21ps+ donnant naissance à la population cellulaire 47,XX,+mar. Enfin, ce marqueur issu du chromosome 21 étant de petite taille, il est probable qu'il soit instable et ait été perdu lors de mitoses ultérieures, formant ainsi la population 46,XX.

L'enquête familiale est en cours et déterminera qu'elle est l'origine parentale du chromosome 21ps+. En partant de l'hypothèse que la trisomie 21 était due à une anomalie de la ségrégation lors de la méiose I maternelle, il y a donc 1 chance sur 3 pour les cellules 46,XX et 47,XX,+mar présentent une disomie uniparentale, au moins partielle, du chromosome 21. Heureusement, aucun gène connu n'est soumis à empreinte sur le chromosome 21 et cette disomie uniparentale ne devrait pas participer au phénotype pathologique de Mlle K.

CA-ATC04

RING DU 18 CHEZ UNE PATIENTE ASYMPTOMATIQUE : UN ANNEAU DIFFICILE À PORTER...

SEVEAU Patricia(1), GUAGLIARDO Elodie(1), TORRENT Jennifer(1), BOURET Pauline(1), POUPINEL Magali(1), FAURE Stéphanie(1), RAHIL Haissam(2), SCHNEIDER Anouck(1), PELLESTOR Franck(1), HAQUET Emmanuelle(3), PUECHBERTY Jacques(3), GATINOIS Vincent(1)

(1) Laboratoire de génétique chromosomique, hôpital A. de Villeneuve, CHU de Montpellier (2) Laboratoire LaboSud Oc Biologie, Montpellier (3) Département de génétique clinique, hôpital A. de Villeneuve, CHU de Montpellier

Dans de nombreux cas, l'hypofertilité d'un couple peut s'expliquer par un remaniement chromosomique équilibré.

Mme A présente des fausses couches à répétition ayant motivé la prescription d'un caryotype sanguin. Celui-ci révèle la présence d'un grand anneau du chromosome 18. Une analyse par puce à ADN est réalisée afin de caractériser un éventuel déséquilibre. Une seule délétion terminale du bras court du chromosome 18 est mise en évidence et est confirmée par la FISH subtélomérique. Le fait que la puce n'est pas mise en évidence de délétion du bras long fait suspecter un point de cassure dans la partie (réellement) télomérique du bras long. Pour le prouver, une technique de FISH avec sonde PNA (peptide nucleic acids) est réalisée et confirme la présence de télomères sur l'anneau.

L'anneau du chromosome 18 chez Mme A semble responsable de ses nombreuses fausses-couches. Cependant, le conseil génétique s'avère difficile ! En effet, les anneaux chromosomiques sont réputés instables et peuvent être modifiés en taille et en structure, voire perdus, à travers des différentes divisions cellulaires. Il est donc impossible d'en prédire les conséquences en terme de déséquilibre et donc d'impact sur le phénotype d'un fœtus.

Les solutions à apporter à Mme A sont pauvres... En France, le DPI ne peut pas être mis en œuvre pour elle par manque de certitude de la pathogénicité de cet anneau et à cause de son instabilité lors des divisions post-zygotiques. En cas de DPN, la seule présence de l'anneau d'aspect similaire à celui de la mère ne justifierait pas une demande d'interruption de grossesse sans pour autant garantir un phénotype normal de l'enfant à naître. Au final, une surveillance échographique particulière ou une procédure de don de gamètes et/ou adoption peuvent être proposées à Mme A.



CA-ATC05

GARE AUX POLYMORPHISMES ! MIEUX VAUT ÊTRE « ACCRO » À LA FISH...

FAURE Stéphanie(1), BOURET Pauline(1), SCHNEIDER Anouck(1), CHAZE Anne-Marie (1), HAQUET Emmanuelle(2), PUECHBERTY Jacques(2), PELLESTOR Franck(1), GATINOIS Vincent(1)

(1) Laboratoire de génétique chromosomique, hôpital A. de Villeneuve, CHU de Montpellier (2) Département de génétique clinique, hôpital A. de Villeneuve, CHU de Montpellier

Les variations morphologiques des bras courts des chromosomes acrocentriques sont fréquemment observées au caryotype standard et sont le plus souvent des polymorphismes non pathogènes. Un marquage positif de ces bras courts par une coloration au nitrate d'argent (Ag-NORs) ou en bandes C est considéré comme rassurant, orientant vers la présence de matériel satellitaire ou hétérochromatique respectivement.

Il existe cependant un risque de confondre ces polymorphismes avec un dérivé de translocation impliquant un bras court d'un chromosome acrocentrique et un autre chromosome portant de l'hétérochromatine, et donc de passer à côté d'une anomalie !

Nous rapportons le cas de Mme B, pour qui un caryotype est indiqué en raison d'antécédents familiaux polymalformatifs sans diagnostic génétique connu et de fausses couches précoces à répétition. Au moment du prélèvement, Mme B est enceinte à 10 SA. En première lecture, la formule chromosomique de Mme B est 46,XX,14ps+ avec un marquage NORs- et C+ du bras court du chromosome noté 14ps+. En raison d'une qualité médiocre des bandes C, nous avons voulu confirmer ce signal positif par une FISH des centromères 14/22. Parallèlement, l'examen morphologique du caryotype avait laissé un doute sur les gonosomes et une vérification par FISH des régions subtélomériques est faite (Xpter/Ypter en DXYS130 et Xqter/Yqter en DXYS224).

Contre toute attente le chromosome 14ps+ ne présente pas d'hybridation terminale avec la sonde centromérique 14/22... Mais une hybridation avec la sonde subtélomérique Xqter/Yqter !

Pour poursuivre l'exploration, une FISH de l'hétérochromatine du Y et une peinture du chromosome Y sont réalisées. Elles confirment que le matériel porté sur le 14ps+ est bien de l'hétérochromatine du chromosome Y ce qui est concordant avec la coloration en bandes C. Au total, ces résultats sont en faveur d'un dérivé 14 d'une translocation (Y;14) de formule complète :

46,XX,add(14)(p11.2).ish der(14)t(Y;14)(q12;p11.2)(DXYS224+,DYZ1+,wcpY-)

Le conseil génétique est rassurant pour Mme B puisque la littérature tend à prouver que les translocations de matériel hétérochromatique n'augmentent pas le risque de déséquilibre chez le fœtus.

Mais le cas de Mme B pose la question d'une vérification plus systématique des polymorphismes des bras courts des chromosomes acrocentriques par des techniques de FISH. En ce sens, notre laboratoire propose donc un arbre décisionnel de la « conduite à tenir face aux polymorphismes des acrocentriques ».