



<http://portaildoc.univ-lyon1.fr>

Creative commons : Paternité - Pas d'Utilisation Commerciale -
Pas de Modification 2.0 France (CC BY-NC-ND 2.0)



<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/2.0/fr>



MEMOIRE DE DIPLOME D'ETAT DE SAGE-FEMME

réalisé au sein de

l'Université Claude Bernard– Lyon 1

UFR de médecine et maïeutique Lyon Sud Charles Mérieux

FAISABILITÉ DE L'EXOME EN PRÉNATAL SUR SIGNES D'APPELS ECHOGRAPHIQUES MULTIPLES À L'HÔPITAL FEMME MERE ENFANT

Sarah PONTUS

Née le 26 Avril 1997

Pr. SANLAVILLE Damien, généticien, HCL

Directeur de mémoire

Dr. SCHLUTH-BOLARD Caroline, généticienne, HCL

Co- Directrice de mémoire

SANLAVILLE Aude, sage-femme enseignante, UFR Lyon
Sud – HCL

Enseignante

Remerciements

Au Pr. Damien Sanlaville, pour m'avoir fait découvrir la génétique tout au long de ma formation, ainsi que pour m'avoir donné l'opportunité d'assouvir la curiosité qui en a découlé lors de deux mémoires.

Au Dr. Caroline Schluth-Bolard, pour sa patience, toutes ses explications, sa disponibilité et son soutien tout au long de ce travail.

A Audrey Labalme et toute l'équipe du service de Génétique des Hospices Civils de Lyon, pour leur accueil. Merci de m'avoir ouverte au domaine du séquençage et d'avoir répondu à toutes mes questions.

A Aude Sanlaville, pour son encadrement et ses encouragements constants durant ma formation.

A l'équipe pédagogique de Maïeutique, pour leur implication sans faille afin de nous offrir la meilleure formation possible, pour leur disponibilité et leur accompagnement.

Aux sages-femmes, médecins, internes et infirmiers qui m'ont appris lors de mes stages.

A ma famille, mes parents et ma sœur, pour leur soutien inconditionnel dans ce que j'entreprends et leur bonne humeur.

A mes camarades de promotion, ainsi qu'à ceux qui ont pris d'autres chemins, pour avoir fait de ces études une période agréable et pleine de découvertes et pour avoir toujours répondu présents au moindre moment de doute.

A mes amis et à mon partenaire, pour leur soutien et pour m'avoir permis de sortir suffisamment du monde de la maïeutique pour pouvoir apprécier ce que je faisais sereinement.

Liste des abréviations

ACPA : Analyse Chromosomique par Puce à ADN

ADN : Acide Désoxyribo Nucléique

CGH-Array : Array Comparative Genomic Hybridization

chr : chromosome

CHU : Centre-Hospitalo-Universitaire

CPDPN : Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal

FISH : Hybridation In Situ en Fluorescence

FOEXOMES : FOetal EXOme for Malformations' Etiological Study

HCL : Hospices Civils de Lyon

IMG : Interruption Médicale de Grossesse

IRM : Imagerie par Résonance Magnétique

kb : kilo bases (= 10^3 pb)

LCC : Longueur Crânio Caudale

mm : millimètre

Mb : Méga bases (= 10^6 pb)

N° : Numéro

NGS : Next Generation Sequencing

pb : paires de bases

PC : Périmètre Crânien

PLA : Ponction de Liquide Amniotique

PSF : Ponction de Sang Fœtal

PVC : Ponction de Villosités Choriales

SA : Semaines d'Aménorrhée

SNV : Single Nucleotid Variations

VOUS (*fr*) = VUS (*en*) : Variant Of Unknown Signification

FAISABILITÉ DE L'EXOME EN PRÉNATAL SUR SIGNES D'APPELS ECHOGRAPHIQUES MULTIPLES À L'HÔPITAL FEMME MERE ENFANT

Glossaire

Liste des abréviations.....	
Glossaire.....	
I – Introduction	1
II - Matériel et méthode	4
II.1. Recrutement des patients	4
II.2. Préparation des librairies et séquençage	5
II.3. Analyses bio-informatiques	5
II.4. Interprétation.....	6
III – Résultats	7
III.1. Phénotype des fœtus.....	7
III.2. Critères qualité du séquençage.....	11
III.3. Variants identifiés.....	11
III.4. Présentation de chaque cas.....	13
IV – Discussion	14
IV.1. Intérêt du séquençage de l'exome en diagnostic prénatal	14
IV.2. Faisabilité	16
IV.3. Aspects éthiques	18
V – Conclusion	19
VI - Bibliographie.....	20
Annexes	

I – Introduction

Les anomalies congénitales sont des malformations structurelles ou fonctionnelles qui surviennent durant la vie intra-utérine. Elles représentent 2,7% des naissances vivantes (1) et sont responsables de 20% des morts infantiles (2). La moitié d'entre elles n'ont pas de cause retrouvée. Elles sont cependant liées à des facteurs environnementaux (infectieux, expositions tératogènes) ou des facteurs génétiques (3). En parallèle, les anomalies génétiques sont présentes chez 5,3% des naissances vivantes (1). Le fait de disposer de moyens diagnostiques et de dépistage des anomalies génétiques est donc capital, en particulier dans le cadre de malformations congénitales.

En France, le dépistage des anomalies chromosomiques fœtales est proposé systématiquement entre 11 et 13 Semaines d'Aménorrhée (SA). Il est ensuite complété par la proposition systématique d'une deuxième échographie entre 20 et 25 SA, puis d'une troisième échographie entre 30 et 35 SA (4). C'est un examen extrêmement normé et réglementé dont les éléments explorés sont listés précisément. Une échographie de seconde intention, dite « de diagnostic » est indiquée en cas d'anomalie observée lors d'un examen de dépistage, ou lorsqu'un risque accru de maladie génétique est présent (5). Les patients sont orientés vers un Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal (CPDPN). Ils ont alors accès à une équipe pluridisciplinaire pour un meilleur parcours de prise en charge. Les CPDPN ont un recours possible à des actes de prélèvement, de traitement *in utero*, et aux compléments diagnostiques tels que des analyses génétiques. Ils peuvent aussi examiner les demandes d'Interruption Médicale de Grossesse (IMG) (6).

Les différents examens génétiques disponibles ont beaucoup évolué au cours des dernières décennies (7). Afin de recourir à des examens génétiques, il est nécessaire d'obtenir de l'ADN fœtal. Pour cela, la Ponction de Villosités Chorales (PVC) ou le Prélèvement de Liquide Amniotique (PLA) sont le plus souvent utilisées. La Ponction de Sang Fœtal (PSF) est peu utilisée.

Il existe différents types d'anomalies génétiques. Tout d'abord les anomalies chromosomiques comprennent les anomalies de nombre et de structure des chromosomes. Les chromosomes sont le résultat final de la compaction maximale de l'ADN lors de la mitose. Ils peuvent présenter des anomalies de nombre ou aneuploïdies (présence d'un chromosome en plus ou moins) qui sont les plus fréquentes, ou des anomalies de structure. Les anomalies de structure peuvent être

équilibrées, sans perte ni gain de matériel génétique, comme les translocations (échange de fragment entre chromosomes non homologues) ou déséquilibrées avec perte et/ou gain de matériel génétique comme les délétions et les duplications. En première intention, un caryotype est réalisé. Il permet de visualiser les anomalies chromosomiques de grande taille (>10 Mb) (7).

Cependant, de multiples malformations peuvent être dues à des anomalies submicroscopiques, encore invisibles à la résolution du caryotype. Des techniques de cytogénétique moléculaire peuvent être utilisées. La technique de FISH (Hybridation *In Situ* en Fluorescence) permet une étude ciblée à haute résolution de région chromosomique spécifique. L'Analyse Chromosomique par Puce à ADN (ACPA) ou Array Comparative Genomic Hybridization (CGH-Array) permet d'observer des pertes ou gains d'ADN avec une résolution de l'ordre de 100 kb sur l'ensemble du génome. Aux Hospices Civils de Lyon, son utilisation depuis 2013 a permis 4,2% de diagnostics supplémentaires par rapport au caryotype fœtal seul (8). Cela correspond au taux de 4 à 6% retrouvé dans la littérature pour tous types de populations, avec un taux accru pour les populations les plus à risque (9–11). Bien que l'ACPA permette de détecter les anomalies déséquilibrées, elle ne permet pas de détecter les translocations équilibrées. Elle est donc utilisée en complément du caryotype.

Pour pouvoir observer les anomalies à l'échelle des gènes, des techniques de biologie moléculaire permettent d'accéder à la séquence précise d'ADN génomique. On trouve alors des Single Nucleotide Variations (SNV). Les variants retrouvés peuvent être silencieux lorsqu'ils sont sans effet sur l'acide aminé codé par l'ADN, faux sens lorsqu'ils le remplacent par un autre et non-sens lorsqu'ils créent un codon « stop » qui mettra fin à la synthèse de la protéine. D'autres variants sont retrouvés en dehors de la séquence codante et ont un effet sur l'épissage de l'ADN. La technique de référence est le séquençage Sanger, qui permet d'étudier un gène en particulier. Il n'est proposé en diagnostic prénatal que devant une orientation diagnostique précise. Depuis quelques années, le séquençage haut débit ou Next Generation Sequencing (NGS) permet de séquencer et d'analyser plusieurs milliers de séquences simultanément et son utilisation en diagnostic s'est répandue (7).

Le choix peut être fait de se focaliser sur un panel de gènes lorsqu'un syndrome est suspecté, cependant il est aussi possible de séquencer toutes les parties codantes de l'ADN (exome) si aucune orientation diagnostique précise n'est retenue.

L'exome a donc aujourd'hui une place importante dans la prise en charge postnatale des malformations et déficiences intellectuelles principalement. Son taux diagnostic est situé entre 25 et 30% (12). En 2015, l'étude Deciphering Developmental Disorders (DDD) menée au Royaume Uni a montré un taux diagnostic via le séquençage d'exome de 27% chez les enfants atteints de troubles développementaux, dont la majorité avaient déjà bénéficié d'une analyse génétique sans résultat (13).

Malgré cet intérêt, l'exome n'est pas utilisé en routine en période prénatale (14). Les études sont très peu homogènes et montrent un taux de diagnostic variable entre 8,5 et 80% en raison principalement de la sélection des patients. Cependant, des études récentes plus rigoureuses sur de grands échantillons non sélectionnés ont montré un apport diagnostique de 8,5 à 10,3% dépendant de l'indication du séquençage (15,16). Les anomalies multiples semblent montrer un taux diagnostique plus élevé et sont une indication valide de séquençage (14).

Foexomes (FOetal EXOme for Malformations' Etiological Study) est une étude collaborative impliquant le service de Génétique des Hospices Civils de Lyon (HCL), et le laboratoire de cytogénétique du CHU de Rennes, qui a pour but d'évaluer le taux diagnostic du séquençage d'exome en trio dans le cadre de signes d'appels échographiques multiples, avec un taux diagnostique attendu d'au moins 15%. Le protocole mis en place a été adapté aux échantillons prénataux, pour évaluer la faisabilité technique du transfert de cette technique en diagnostic prénatal. Foexomes contribue également à la description de la présentation fœtale de syndromes génétiques connus, ainsi qu'à l'identification de nouveaux gènes candidats responsables d'anomalies congénitales.

Cette étude préliminaire a été réalisée chez 6 fœtus interrompus pour malformations congénitales multiples, dont le diagnostic n'a pas pu être posé par les techniques de caryotype et ACPA. L'objectif est d'évaluer la faisabilité d'un séquençage d'exome en prénatal et son taux diagnostic, afin, à terme, d'adapter les protocoles utilisés en diagnostic postnatal pour le prénatal.

II - Matériel et méthode

II.1. Recrutement des patients

Foexomes est une étude de cohorte rétrospective sur données existantes réalisée entre 2019 et début 2020. Elle a reçu l'autorisation du comité d'éthique du CHU de Lyon le 10 Juillet 2019, auquel un synopsis a été envoyé accompagné de la notice d'information remise aux patients et du consentement (annexes II - IV). Les familles ont été informées sur le déroulement de l'étude à l'aide d'une fiche d'information (annexe III) et ont signé un consentement (annexe IV) les informant de la possibilité de refus et de celle de se retirer à tout moment.

L'étude est financée par les Hospices Civils de Lyon à hauteur de 9624€ au titre d'un appel d'offre des HCL au pôle Biologie-Anatomie-Pathologie. Ce financement a permis d'inclure 6 patients.

L'anonymat des patients a été conservé par un codage et un traitement informatisé en conformité avec la loi N° 2004-801 du 6 Août 2004 relative à la protection des personnes physiques à l'égard du traitement de données à caractère personnel et modifiant la loi n° 78-17 du 6 Janvier 1978 relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés. Les patients ont un droit d'accès et de rectification prévu par la loi « informatique et libertés » qui peut s'exercer par l'intermédiaire du médecin de leur choix.

Les dossiers ont été sélectionnés au sein des centres pluridisciplinaires de diagnostic prénatal selon les critères d'inclusion suivants :

- Grossesses arrêtées (IMG, mort fœtale in utero, mort en salle de naissance).
- Des échantillons biologiques prénataux sont disponibles pour le fœtus en quantité suffisante.
- Echantillons d'ADN disponibles pour les deux parents.
- Résultats disponibles de caryotype et de ACPA, sans diagnostic.
- Anomalies échographiques multiples, dans 2 systèmes différents ou plus.

Les critères d'exclusion sont l'indisponibilité de l'ADN du fœtus et/ou des parents et un refus de participation à l'étude. Un examen fœto-pathologique pouvait avoir été réalisé en postnatal pour aider à la description phénotypique. Au total, 4 dossiers du CPDPN de Lyon, et 2 dossiers du CPDPN de Rennes ont été étudiés.

II.2. Préparation des bibliothèques et séquençage

L'ADN était issu de ponction de liquide amniotique (PLA) pour 4/5 (80%) fœtus, et de ponction de villosités chorionales pour 1/5 (20%) fœtus. Il a été extrait à l'aide d'un kit QIAmp DNA mini kit Qiagen et Chemagix Prepito® de Perkin Elmer.

Le séquençage NGS nécessite la réalisation d'une bibliothèque à partir de l'ADN extrait. Cette bibliothèque a été faite avec le kit SeqCapEZ MedExome. L'ADN génomique est fragmenté par sonication en petits fragments de 180 à 220 paires de bases. Les extrémités des fragments sont réparées et une base d'adénine est ajoutée (A-tailing). Des adaptateurs sont ajoutés. Ils permettent l'hybridation des séquences au support permettant de les séquencer ainsi que des index pour identifier chaque échantillon, car les séquençages se font par groupe de 12 échantillons. Les fragments de 270 à 350 paires de bases sont sélectionnés et amplifiés avec 7 cycles de Polymerase Chain Reaction (PCR). La bibliothèque obtenue est purifiée grâce à des billes magnétiques. Pour pouvoir travailler spécifiquement sur l'exome, les fragments sont hybridés avec des sondes de capture spécifiques des régions exoniques étudiées. Ils sont ensuite sélectionnés avec des billes de streptavidine attachées aux sondes.

Le séquençage de la bibliothèque se fait avec le support Flowcell HighOutput 300 cycles, sur un séquenceur NextSeq 500 (Illumina). Les fragments sont attachés au support par leurs adaptateurs avec chacun un emplacement spécifique. Une technique de clusterisation permet de les multiplier pour les préparer au séquençage. Des clusters sont obtenus, composés de fragments identiques liés au support et prêts à être séquencés. Une enzyme polymérase ajoute nucléotide par nucléotide la séquence complémentaire à chaque fragment, en produisant à chaque réaction une fluorescence qui sera détectée par le séquenceur et enregistrée. Des centaines de millions de cluster sont séquencés simultanément. Les fragments sont aussi séquencés dans le sens inverse, aussi appelé reverse.

II.3. Analyses bio-informatiques

Des analyses bioinformatiques permettent de traiter les données obtenues. Le « démultiplexage », géré par le logiciel *bcl2fastq*, consiste en la transformation des fichiers bruts générés par le séquenceur en fichiers de lecture au format FASTQ. Ces lectures sont attribuées aux différents patients par ce même logiciel grâce à la séquence de leur index. Elles sont ensuite alignées contre le génome de référence *Human Genome version 19* (hg19) à l'aide du logiciel *BWA-MEM*, produisant un fichier d'alignement pour chaque patient (format BAM).

Le logiciel *GATK* utilise ces fichiers BAM afin d'identifier les potentiels variants, c'est-à-dire les différences entre la séquence des lectures du patient et celle de HG19. Il identifie des variants courts, tels que des *Single Nucleotide Variations* (SNV) ou des petites insertions/délétions de faible longueur. Les variants sont sauvegardés dans un fichier au format VCF.

Les logiciels *snpEff/SnpSift* vont alors les annoter, déterminant dans un premier leur effet sur les différents gènes et transcrits, et les associant ensuite à des informations puisées dans des bases de données publiques telles que *GnomAD* (17) ou *ClinVar* (18) pour aider à l'interprétation. Les fichiers VCF de variants annotés vont enfin être transformés en fichiers tabulés afin d'être lus et interprétés par les biologistes. *Picardtools* et *DeCovA* vont également produire des métriques de qualité telles que le nombre de lectures couvrant un nucléotide donné, le pourcentage de mosaïques, etc. Cela permet de déterminer la qualité globale du séquençage, ainsi que celle d'un variant donné.

Des vérifications régulières de la qualité et de la concentration d'ADN ont été réalisées, notamment avec une étude de la contamination par de l'ADN maternel, ainsi que des dosages réguliers.

II.4. Interprétation

L'interprétation des données a été réalisée en parallèle par Caroline Schluth-Bolard, médecin responsable de l'étude, Audrey Labalme, ingénieure, et Sarah Ponthus, étudiante sage-femme.

Les SNV ont été classés en suivant les recommandations conjointes de l'American College of Medical Genetics (ACMG) et l'Association for Molecular Pathology (AMP) de 2015 (19) :

- **Classe 1** : **Variant bénin** : Le variant n'est responsable d'aucune pathologie.
- **Classe 2** : **Variant probablement bénin** : Le variant n'est très probablement pas responsable d'une pathologie.
- **Classe 3** : **Variant de signification inconnue (VOUS)** : Il n'y a pas assez d'arguments disponibles pour affirmer le caractère bénin ou pathogène du variant.
- **Classe 4** : **Variant probablement pathogène** : Le variant est très probablement responsable d'une pathologie.
- **Classe 5** : **Variant pathogène** : Le variant est responsable d'une pathologie.

Seuls les variants pathogènes, probablement pathogènes et VOUS ont été retenus. Les variants pathogènes et probablement pathogènes dans des gènes déjà rapportés pour une pathologie connue et concordante avec le phénotype fœtal ont été considérés comme des diagnostics positifs. Les variants potentiellement pathogènes dans des gènes non connus en pathologie ou connus comme responsables d'une pathologie différente de celle présentée par le fœtus sont considérés comme candidats et n'ont pas été explorés dans le cadre de cette étude.

Plusieurs bases de données ont été utilisées pour l'interprétation des variants. *Exac* et *GnomAD* sont des bases de données de contrôle des variants retrouvés chez des individus sains représentant la population générale (17). *ClinVar* est une autre base de données recensant les variants retrouvés chez des individus présentant des pathologies (18). *OMIM* est une base de données des gènes humains et de leur implication en pathologie ou physiologie (20). La base de données prédictive de variants dbNSFP a aussi été utilisée (21).

Au vu de la littérature, il était attendu de retrouver 1 à 2 variants pathogènes chez les 6 patients. Le sixième cas a été séquencé en mars 2020 et les résultats ne sont pas encore disponibles.

III – Résultats

III.1. Phénotype des fœtus

Dans cette étude, 5 fœtus ont été séquencés, tous de caryotype 46,XX. Ils étaient issus d'IMG entre 25 SA + 2 jours et 32 SA pour syndrome polymalformatif et ont tous bénéficié d'un examen fœtopathologique. Durant la grossesse, un caryotype et une analyse par ACPA ont été réalisés et n'ont montré aucun diagnostic.

a. Fœtus 1

Le premier cas étudié est un fœtus de sexe féminin, interrompu au terme de 30 SA + 3 jours, issu d'une première grossesse obtenue par fécondation in vitro (FIV) via une intra-cytoplasmic cell injection (ICSI).

Parmi les antécédents maternels, une sœur présentait une agénésie du corps calleux. Chez son conjoint, un cousin était atteint de trisomie 21 et sa mère a présenté à la naissance une malposition bilatérale des pieds, aujourd'hui revenue à la normale. Lui-même a été opéré à la naissance d'une hexadactylie préaxiale unilatérale. La famille présentait également des antécédents de maladie rénale.

Lors d'une échographie morphologique précoce à 18 SA + 2 jours, un rein gauche augmenté de volume et multikystique a été observé. Les explorations échographiques de diagnostic ont confirmé l'anomalie, en addition à une artère ombilicale unique, une malposition bilatérale des pieds et un corps calleux inférieur au 3^{ème} percentile mesuré à l'IRM à 28 SA + 1 jour.

A l'examen fœtal, une dysmorphie faciale importante était notée avec un hypertélorisme, une oreille à l'hélix gauche peu ourlé, un nez pointu, un philtrum court et un arc de cupidon peu marqué. Au niveau cérébral, une arhinencéphalie ainsi qu'une dysgénésie calleuse étaient constatées. La main droite présentait une camptodactylie III-IV peu réductible. Les membres inférieurs étaient aussi atteints avec des pieds bots talus, plantes en dedans. Les phalanges distales étaient hypoplasiques, avec une quasi-aplasie de la majorité des phalanges P2-P3, et une syndactylie en palmure P1-P2 de la majorité des orteils. Des malformations viscérales étaient aussi présentes avec une artère sous clavière droite rétro-œsophagienne, des poumons uni-lobaires et un rein droit dysplasique multikystique.

b. Fœtus 2

Le deuxième cas était un fœtus de sexe féminin issu d'une cinquième grossesse chez une troisième mère interrompue au terme de 25 SA + 2 jours. La famille ne présente aucun antécédent particulier.

Lors de l'échographie morphologique du deuxième trimestre, des anomalies cérébrales ont été retrouvées avec une dilatation ventriculaire et des anomalies du corps calleux, accompagnées d'anomalies cardiaques. L'échographie de diagnostic a confirmé ces anomalies au terme de 23 SA + 1 jour et découvert une hypodysplasie rénale gauche. Elle a détaillé les anomalies cardiaques et cérébrales, avec une fusion des thalami, hypoplasie du corps calleux et une malformation auriculaire.

L'examen fœtal retrouvait une dysmorphie faciale avec un front haut, une racine du nez large, des narines antéversées, un épicanthus, un philtrum bombé, des lèvres fines horizontales et une microtie avec un petit bourgeon auriculaire bilatéral bas implanté à l'orifice borgne. Au niveau cérébral, une dilatation triventriculaire, une fusion partielle des thalamis ainsi que des foyers d'hétérotopie dans le vermis étaient observés. Les reins étaient en fer à cheval et de petit poids, avec une dysplasie kystique sur le rein droit. Le fœtus présentait un isomérisme pulmonaire droit et une dextrocardie.

Dix côtes étaient présentes à droite ainsi que des héli-vertèbres thoraciques. Les organes génitaux externes étaient légèrement masculinisés avec une fourchette vulvaire réduite, un tubercule génital médian et des petites lèvres prolabées partiellement fusionnées. Le placenta présentait une artère ombilicale unique et montrait une hypoxie ischémique chronique.

c. Fœtus 3

Le troisième cas était un fœtus de sexe féminin, interrompu au terme de 27 SA + 2 jours, issu d'une grossesse par insémination artificielle avec sperme du conjoint (IAC). Chez la mère, un cousin éloigné était atteint de trisomie 21, un oncle et son fils présentaient des crises d'épilepsie et une cousine avait subi une IMG pour spina bifida. Le conjoint avait présenté un hypospade sans cryptorchidie opéré à la naissance ainsi qu'une duplication du pouce gauche avec un appendice appendu à P1 opéré. Son frère présentait un pectus carinatum.

Lors de cette grossesse, les marqueurs sériques du premier trimestre montraient un risque à 1/50 avec une clarté nucale augmentée. Au terme de 12 SA et 6 jours, une omphalocèle, une dilatation digestive, une artère ombilicale unique et une petite vessie ont été observés. Les explorations échographiques de diagnostic qui ont suivi ont confirmé ces anomalies et découvert une moelle attachée basse, des reins en fer à cheval, une masse en arrière de la vessie, des bourrelets génitaux fusionnés malgré un génotype 46,XX et une possible imperforation anale. Une ventriculomégalie a été suspectée mais infirmée.

A l'examen fœtal, une légère dysmorphie faciale était observée avec chevauchement des os du crâne et des oreilles asymétriques, l'oreille gauche étant carrée et de grande taille. Le pouce droit était bifide avec duplication de la dernière phalange. La jambe droite était sévèrement atrophiée avec une malposition du pied à l'aspect en coup de vent. Le pied était creux, avec une clinodactylie de l'hallux et un chevauchement entre le II^{ème} et le III^{ème} orteil. Une moelle attachée basse avec une agénésie sacrée et une lésion sous-cutanée hémorragique étaient observées. Des anomalies des organes génitaux internes, externes et des gonades étaient notées. Une fistule recto-utérine était présente, avec imperforation anale. La structure utérine était surdéveloppée avec atrésie de la partie distale du vagin. Une coexistence de trompe et d'épididyme à droite, sans gonade, et un ovaire à gauche étaient observés. Le phénotype était masculin avec un caryotype 46,XX, un bourgeon génital de petite taille, et des bourrelets fusionnés symétriques à l'aspect scrotal sans orifice vaginal ni hypospade.

Les reins étaient fusionnés en fer à cheval, avec un rein gauche annulaire. L'uretère droit était dilaté, entraînant une hypoplasie rénale avec tableau obstructif. Le placenta montrait une artère ombilicale unique gauche et un cordon d'insertion vélamenteuse.

d. Fœtus 4

Le quatrième cas était un fœtus de sexe féminin, interrompu au terme de 32 SA issu d'une troisième grossesse chez une seconde mère. La famille présentait une fille en bonne santé et une fille décédée à 8 mois de vie d'un syndrome *CHARGE* diagnostiqué en post-natal avec une mutation de *CDH7* identifiée.

Lors de cette grossesse, la clarté nucale a été mesurée à 4,6 mm pour 51.4 mm de LCC. L'échographie du premier trimestre montrait un hygroma coli.

A l'examen fœtal, une dysmorphie faciale était retrouvée avec un excès de peau sur la nuque, un visage carré, un œdème préfrontal, un petit nez aux narines antéversées, un philtrum plat, un petit menton pointu, une bouche en chapeau de gendarme et des sillons naso-géniens marqués. Les oreilles étaient légèrement bas implantées sans relief de l'hélix avec des lobes charnus projetés vers l'avant et présentant une incisure. Une large fente palatine postérieure médiane était constatée. Les mains présentaient des doigts fuselés aux petits ongles, une clinodactylie et brachymésophalangie des 5^{èmes} doigts, et une brachydactylie des phalanges distales. Les pieds avaient des petits ongles, et un défaut d'ossification des phalanges P2 et de certaines phalanges P3. Au niveau cérébral, le corps calleux était fin. Il existait une cardiopathie complexe avec une large Communication Inter Ventriculaire conale et une aorte en fer à cheval dont l'arche présentait une interruption de type 1. Le ventricule et l'oreillette gauches étaient hypoplasiques avec une valve mitrale hypoplasique et dysplasique. Le poumon gauche était unilobé et le droit était bilobé. Une rate accessoire, une vésicule biliaire hypoplasique, une tortuosité utérérale gauche, un rein droit hypoplasique et une artère ombilicale unique ont été constatés.

e. Fœtus 5

Le cinquième cas était un fœtus de sexe féminin interrompu au terme de 28 SA + 2 jours issu d'une deuxième grossesse après une mort fœtale in utero à 8 mois du fait de malformations cardiaques. La mère présentait des céphalées chroniques post-méningite traitées par laroxyl.

Lors de l'échographie morphologique du deuxième trimestre, un retard de croissance intra-utérin (RCIU) a été mis en évidence, accompagné d'anomalies des organes génitaux, d'anomalies cérébrales et d'une artère ombilicale unique. Les échographies de diagnostic qui ont suivi ont pu confirmer ces anomalies et les détailler.

A l'examen morphologique, le fœtus présentait des mensurations correspondant à 27 SA et une microcéphalie avec un Périmètre Crânien (PC) inférieur à 22 mm pour une normale de 25,5 mm. Il présentait une dysmorphie faciale avec un crâne en poire, un hypertélorisme, des lèvres fines, une micrognathie, une racine du nez large et des oreilles bas implantées. Au niveau cérébral, on constatait un retard de gyration gauche, une hypoplasie globale du cervelet et un corps calleux non analysable. Le foie était hypotrophique. Au niveau placentaire, un nœud serré du cordon était présent avec une artère ombilicale unique. Le placenta était partiellement marginé, hypotrophique, avec une dysmaturité villositaire et des lésions de malperfusion vasculaire maternelle et une vilite chronique basale localisée de bas grade.

III.2. Critères qualité du séquençage

La qualité du séquençage a été évaluée à l'aide du pourcentage de bases couvertes par au moins 10 reads, qui a atteint un score de 95,3262% à 99,2399% (tableau 1).

Tableau 1 : Scores de qualité d'analyse des exomes

Fœtus	Pourcentage de bases couvertes par ≥ 10 lectures (en %)
1	95,5478
2	95,3262
3	95,6997
4	99,0536
5	99,2399

III.3. Variants identifiés

Des diagnostics ont été retrouvés chez 2 fœtus (2/5 = 40%), avec une mutation faux-sens sur *KMT2D* et la création d'un site donneur d'épissage sur *DYRK1A*. Trois VOUS ont été retrouvés chez 1 fœtus (1/5 = 20%) (tableau 2). Les variants par patient sont décrits à la suite. La nomenclature exacte des variants est détaillée en Annexe V.

Tableau 2 : Résumé des variants retrouvés chez les patients

Patient	Gène	Variant génomique (GRCh37) et hérédité	Classification
1	UBR5	chr8:103269906A>AAC Décalage du cadre de lecture, hétérozygote, de novo	Classe 3 : VOUS
	SMPD1	chr11:6415491A>T Faux sens, homozygote, autosomique récessif	Classe 3 : VOUS
	DNAH2	chr17:7722665A>T chr17:7736538G>T Hétérozygote composite	Classe 3 : VOUS
4	KMT2D	chr12:49435057G>A Non sens, hétérozygote, de novo	Classe 5 : Pathogène → Syndrome Kabuki
5	DYRK1A	chr21:38862475A>G Abolition d'un site donneur d'épissage, hétérozygote, de novo	Classe 5 : Pathogène

III.4. Présentation de chaque cas

Chez le fœtus 1, aucun variant pathogène n'a été identifié. Cependant, plusieurs variants de signification inconnue (VOUS) ont été investigués. Tout d'abord, une duplication de deux bases entraînant un décalage du cadre de lecture a été identifiée sur le gène *UBR5*. Le gène *SMPD1* présentait un variant homozygote faux sens. Enfin, le gène *DNAH2* présentait une mutation hétérozygote composite avec deux variants faux sens et une modification de site d'épissage.

Chez les fœtus 2 et 3, aucun variant pathogène n'a été retenu.

Chez le fœtus 4, un variant pathogène non-sens dans le gène *KMT2D* a été retrouvé. Ce gène est très intolérant à la perte de fonction et est connu pour être responsable du syndrome Kabuki type 1. Il se présente avec une dysmorphie faciale, des anomalies squelettiques, cardiaques, une artère ombilicale unique, une fente palatine, et des anomalies viscérales dont rénales (22–24).

Chez le fœtus 5, un variant pathogène entraînant l'abolition d'un site accepteur d'épissage dans le gène *DYRK1A* a été observé. Ce variant a déjà été rapporté chez des patients. *DYRK1A* est responsable d'un syndrome associant un retard mental, une microcéphalie et un RCIU (25–27). Il peut être associé à une dysmorphie faciale variable comportant le plus souvent une micrognathie et des anomalies des oreilles qui peuvent être bas insérées.

IV – Discussion

IV.1. Intérêt du séquençage de l'exome en diagnostic prénatal

Un variant pathogène a été retrouvé pour 2 fœtus ($2/5 = 40\%$) permettant de poser deux diagnostics, et trois VOUS ont été retrouvés chez 1 fœtus ($1/5 = 20\%$). Les principales études disponibles montraient un rendement diagnostique pour des anomalies multiples entre 15,4% et 19%, taux retrouvé pour des séquençages en trio (15,16). Une revue de la littérature a pu montrer que ce rendement était beaucoup plus variable dans les études aux critères de sélection différents, notamment pour les anomalies isolées qui montrent un taux diagnostique inférieur (tableau 3). Les résultats de Foexomes correspondent donc à ceux de la littérature et montrent que l'implantation de l'exome en prénatal aurait un intérêt considérable chez les fœtus aux signes d'appels échographiques multiples pour lesquels les investigations classiques ne rendent pas de diagnostic.

Pour le fœtus n°4, le variant pathogène dans le gène *KMTD2* a permis de poser le diagnostic de syndrome Kabuki type 1 (24). Ce syndrome est habituellement évoqué en post-natal devant une déficience intellectuelle et une dysmorphie faciale avec un aspect particulier des sourcils et des paupières (22). Ces éléments sont absents du phénotype fœtal. Celui-ci peut être composé d'anomalies cardiaques et rénales, d'une artère ombilicale unique, un petit poids de naissance ainsi qu'un hydramnios. Plus tôt dans la grossesse, un hygroma coli et une clarté nucale augmentée sont parfois observées (23). Les éléments phénotypiques du fœtus n°4 sont totalement concordants avec le syndrome Kabuki, mais correspondent à une forme sévère de ce syndrome.

Pour le fœtus n°5, le variant pathogène a été identifié dans le gène *DYRK1A*. Ce gène est connu pour être responsable de déficience intellectuelle autosomique dominante, associée à une dysmorphie faciale, un retard de croissance intra-utérin et parfois des anomalies cérébrales non spécifiques (25–27). Dans le cas du fœtus 5, le retard de croissance intra-utérin pouvait être au moins en partie expliqué par les altérations du placenta. Bien que le phénotype du fœtus soit cohérent avec le variant retrouvé, peu de descriptions fœtales ont été rapportées et la corrélation entre génotype et phénotype n'était pas évidente.

Ces deux exemples montrent l'intérêt de l'exome, qui permet de décrire des phénotypes pré-nataux encore méconnus de certains syndromes. Il permet d'apporter des éléments pronostiques majeurs pour la poursuite de la grossesse, concernant notamment le pronostic développemental.

Tableau 3 : Revue de la littérature, taux diagnostics de l'exome

Taux diagnostics de l'exome en prénatal en fonction des indications (foetus présentant des anomalies monosystème = *mono*, ou multisystème = *multi*) et modalités de réalisation (séquençage en *mono*, *duo* ou *trio*), après caryotype et ACPA normaux

Référence	N	Taux diagnostic global	Taux diagnostics selon l'anomalie		Taux diagnostics selon le mode d'analyse	Particularités
			<i>Mono</i>	<i>Multi</i>		
Yadava et al. 2019 (28)	5	4/5 (80%)	2/3 (66%)	2/2 (100%)	Trio	
Quinlan-Jones et al. 2019 (29)	27	10/27 (37%)	5/14 (36%)	5/13 (38%)	Trio	Phénotype complet disponible
Petrovski et al. 2019 (15)	234	24/234 (10,3%)	10/160 (6%)	14/74 (19%)	Trio	46/234 (20%) VOUS
Meier et al. 2019 (30)	26	12/19 (32%)	NC	NC	Trio	19 familles, 26 cas 6/19 (32%) VOUS
Lord et al. 2019 (16)	610	52/610 (8,5%)	30/467 (6,4%)	22/143 (15,4%)	NC	24/610 (2,9%) VOUS
Guo et al. 2019 (31)	40	24/40 (60%)	NC	NC	Trio	8/40 (20%) VOUS
Daum et al. 2019 (32)	77	16/77 (21%)	11/44 (25%)	5/33 (15%)	5/33 (15%) trio 11/44 (25%) mono	14/77 consanguinité
Leung et al. 2018 (33)	33	3/33 (9,1%)	0/17 (0%)	3/16 (19%)	NC	6/33 (18,2%) VOUS
Fu et al. 2018 (34)	196	47/196 (24%)	35/157 (22,3%)	12/39 (30,8%)	13/49 (26,5%) trio 34/147 (23,1%) mono	25/196 VOUS 12/196 découvertes fortuites
Vora et al. 2017 (35)	15	7/15 (47%)	4/11 (36%)	2/4 (50%)	Trio	1/15 (6,7%) VOUS
Drury et al. 2015 (36)	24	7/24 (29%)	3/15 (20%)	4/6 (67%)	6/10 (60%) trio 4/14 (29%) mono	4 naissances vivantes 2/24 (8%) découvertes fortuites
Alamillo et al. 2015 (37)	7	4/7 (57%)	1/2 (50%)	3/5 (60%)	Trio	
Carss et al. 2014 (38)	30	8/30 (27%)	NC/3	NC/27	NC	

Concernant le fœtus n°1, un premier variant, ayant comme conséquence probable une absence de protéine, a été identifié dans le gène *UBR5*. Ce gène code pour une protéine E3-ubiquitine ligase, d'expression ubiquitaire et est impliqué dans la dégradation des protéines. Ce gène n'a pas été décrit en pathologie mais présente une forte intolérance à l'haplo-insuffisance ou perte de fonction (score pLI= 0.99). Le partage de données avec d'autres équipes (*Gene Matcher*) (39) a retrouvé de nombreux résultats. Il s'agit de différents types de variants associés à des phénotypes très hétérogènes. La constitution d'une cohorte de patients est en cours au Canada et permettra peut-être de préciser le rôle de ce gène en pathologie.

Le gène *SMPD1* est associé à la maladie de Niemann-Pick, de transmission autosomique récessive (40), qui se manifeste par une hépatosplénomégalie et des troubles neurologiques conduisant au décès pour le type A. Le variant identifié dans ce gène a déjà été rapporté dans des bases de données de sujets contrôles et dans des bases de patients. Sa pathogénicité n'est pas prouvée.

Enfin, le gène *DNAH2* est impliqué dans la formation ciliaire et en particulier de l'axonème. Il a récemment été décrit comme gène candidat dans les azoospermies (41). Il n'a donc pas de rapport avec la pathologie fœtale. L'ensemble de ces VOUS ne sont pas rendu aux parents, car il n'est pas possible de donner un conseil génétique précis et de définir une conduite à tenir pour les prochaines grossesses.

IV.2. Faisabilité

La faisabilité aux HCL de cette technique a été confirmée avec un score de bases couvertes par au moins 10 reads supérieur à 95%, ce qui est suffisant pour une analyse correcte des résultats (tableau 1). L'ADN provenait de liquide amniotique et de villosités choriales en culture. Il est donc possible d'utiliser en routine ces échantillons pour l'intégralité des investigations génétiques, dont l'exome, avec les protocoles déjà utilisés.

Les modalités de réalisation de l'exome ont une répercussion importante sur ses performances. Le séquençage d'exome peut être réalisé chez le patient seul, mais aussi chez le patient simultanément avec un (duo) ou ses deux parents (trio). Les trios ont montré un taux diagnostique supérieur, car ils aident à l'interprétation des variants découverts en aidant à confirmer les variants pathogènes et en excluant plus facilement les variants bénins (42) (tableau 3). Les séquençages ont donc été réalisés en trio, ce qui devrait être le standard utilisé en routine de diagnostic si cette technique était utilisée (14).

Le séquençage en trio d'un fœtus et de ses parents a un coût d'environ 1500€. Ce coût a aujourd'hui tendance à diminuer avec l'évolution technique du NGS. Il reste cependant conséquent. Aux Etats Unis, les assurances ne couvrent actuellement pas le coût d'un exome en prénatal car il est considéré comme inutile, bien qu'ils l'assument en postnatal (43). Dans notre étude, le séquençage d'exome était pris en charge au titre de participation à la recherche. Le Plan France Médecine Génomique de 2025 qui vise à la mise en place de plateformes de séquençage à haut débit en France, inclut comme pré-indication « Syndrome malformatif ou dysmorphique sans déficience intellectuelle » et permettra d'évaluer l'apport du séquençage haut débit dans ces situations (44). La diminution progressive de ce prix, conjointement aux preuves de plus en plus nombreuses et solides de l'efficacité diagnostique de l'exome (15,16) sont en faveur d'une démocratisation de cet examen, dont la balance bénéfice/coût deviendrait potentiellement acceptable pour les organismes payeurs (45).

Dans le contexte prénatal, il est important de pouvoir donner une réponse dans les délais de la grossesse. L'exome pourrait avoir un impact sur le déroulement de la grossesse dans 70% des cas (46). Des équipes travaillant sur la rapidité de rendu des résultats ont pu atteindre 10 et 17 jours de rendu (46,47). L'analyse des exomes aux HCL nécessite 3 à 4 semaines de technique et traitement informatique, et 1 semaine d'interprétation des données. Cependant, elle suppose d'avoir à disposition 12 échantillons, soit 4 trios, prêts à être séquencés simultanément ainsi que la disponibilité de l'équipe et des machines. Il serait possible de combiner des prélèvements pré- et post-nataux, mais l'équilibre des librairies et la profondeur de séquençage pourraient en être altérés. Le rendu actuel est extrêmement variable, de 2 à 6 mois. Son implantation en routine nécessiterait une réorganisation du laboratoire, mais les protocoles techniques sont validés.

L'une des principales limitations de l'exome est la place de la connaissance du phénotype pour l'interprétation des variants retrouvés (42). Le phénotype est composé à la fois des informations données par l'échographie en prénatal, mais aussi de l'autopsie réalisée en postnatal ou post IMG. Elle est à elle seule un examen important dans la prise en charge d'un couple dont la grossesse est affectée par des anomalies génétiques. Nayak et al. ont montré qu'elle est en elle-même une aide au conseil génétique dans 77% des cas (48). Combinée à l'exome, elle peut améliorer significativement son rendement diagnostique. On constate au moins 20% de diagnostics supplémentaires après ré-évaluation des résultats de séquençage en utilisant à la fois le phénotype prénatal et postnatal (49–51).

Dans notre étude, les phénotypes étaient plus complets après examen anatomo-pathologique. Par exemple, dans la famille n°4 la dysmorphie faciale précise a donné d'importants éléments supplémentaires en faveur du diagnostic retrouvé, et les anomalies viscérales n'étaient pour la plupart pas détectées à l'échographie. Les phénotypes complets ont permis de montrer le potentiel d'apport théorique de l'exome en prénatal sur signes d'appels échographiques.

IV.3. Aspects éthiques

De nombreux autres débats éthiques entourent la technique de l'exome en prénatal. Il est important de noter que la quantité d'investigations génétiques disponible aujourd'hui peut avoir un poids considérable sur le vécu des familles et apporter beaucoup d'anxiété (52–55). La complexité des analyses génétiques nécessite de toute manière des consultations de conseil génétique. Tout d'abord pour expliquer les techniques qui vont être utilisées aux parents, et leur faire comprendre ce qu'elles permettent de détecter. Mais aussi pour aborder avec eux le fait que les anomalies génétiques ne sont que l'une des étiologies possibles des anomalies constatées chez leur fœtus, et qu'il est possible de ne pas trouver de diagnostic. En France, il est consensuel de ne pas rendre les VOUS dans un cadre diagnostic, en particulier prénatal, à cause de l'incertitude qu'ils impliquent (56).

Lors d'une étude génétique, il est aussi possible de trouver des diagnostics qui ne sont pas en rapport avec la pathologie constatée. Ce sont des découvertes additionnelles. Dans notre étude, la question s'est posée pour le fœtus n°1 sur le gène *DNAH2*. Il a été reporté comme ayant un effet sur les structures ciliaires. Celui-ci a été classé comme VOUS car aucune anomalie observée ne correspondait à ce variant. *DNAH2* a cependant aussi été rapporté comme ayant un effet sur la fécondité. Le diagnostic prénatal n'a pas pour visée première de détecter ces anomalies qui n'ont pas un impact direct sur le pronostic de la naissance. Les pathologies à révélation tardive comme celle-ci, de même que les prédispositions aux cancers ou le statut de porteur sain d'une maladie récessive comme la mucoviscidose ou la drépanocytose sont tous des exemples de découvertes additionnelles. Une étude du ressenti des parents face au séquençage d'exome a montré que les familles désirent recevoir autant d'informations que possible (57). La question de quels diagnostics doivent être rendus ou non doit donc se poser lors des consultations de conseil génétique, afin que la famille puisse prendre une décision éclairée sur le devenir de ces découvertes additionnelles (52,53,55).

V – Conclusion

Cette étude a répondu aux objectifs fixés et a montré qu'il était possible d'utiliser le séquençage d'exome en prénatal sur des prélèvements existants afin d'obtenir un taux diagnostique supplémentaire par rapport au caryotype et à l'ACPA de 40%. Des VOUS ont été retrouvés dans 20% des cas. Les preuves montrant que l'exome fœtal est un moyen diagnostique performant en complément des techniques classiques sont de plus en plus nombreuses. Sa mise en place en diagnostic prénatal est aujourd'hui non seulement justifiée mais aussi envisageable d'un point de vue pratique, et s'inscrit dans la dynamique nationale de développement du séquençage haut-débit. Cependant, Foexomes est une étude pilote et il est nécessaire de continuer à étudier la mise en place à plus grande échelle pour s'assurer de la reproductibilité des résultats. De plus, des recommandations nationales au sujet de l'interprétation des variants, l'accompagnement des familles et le rendu des variants sont souhaitables avant une mise en place pratique.

VI - Bibliographie

1. Baird PA, Anderson TW, Newcombe HB, Lowry RB. Genetic Disorders in Children and Young Adults: A Population Study. *Am J Hum Genet.* mai 1988;42(5):677-93.
2. Osterman MJK, Kochanek KD, MacDorman MF, Strobino DM, Guyer B. Annual Summary of Vital Statistics: 2012-2013. *Pediatrics.* 1 juin 2015;135(6):1115-25.
3. Organisation Mondiale de la Santé. Principaux repères sur les anomalies congénitales [Internet]. 16 septembre 2016 [cité 27 janv 2020]. Disponible sur: <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/congenital-anomalies>
4. Haute Autorité de Santé. Suivi et orientation des femmes enceintes en fonction des situations à risque identifiées. *Rev Sage-Femme.* déc 2007;6(4):216-8.
5. Conférence Nationale d'Échographie Obstétricale et Foetale. L'échographie de dépistage prénatal [Internet]. Collège Français d'Échographie Fœtale; 2016 juill [cité 13 juin 2019]. Disponible sur: <https://www.cfef.org/>
6. Agence de la biomédecine. Recommandations professionnelles de l'agence de la biomédecine pour le fonctionnement des centres pluridisciplinaires de diagnostic prénatal (CPDPN) [Internet]. Agence de la biomédecine; 2012 déc [cité 21 oct 2019]. Disponible sur: <https://www.agence-biomedecine.fr/>
7. Krstić N, Običan SG. Current landscape of prenatal genetic screening and testing. *Birth Defects Res.* 21 oct 2019;online ahead of printing
8. Pons L, Till M, Alix E, Abel C, Boggio D, Bordes A, et al. Prenatal microarray comparative genomic hybridization: Experience from the two first years of activity at the Lyon university-hospital. *J Gynecol Obstet Hum Reprod.* mars 2017;46(3):275-83.
9. Hillman SC, McMullan DJ, Hall G, Togneri FS, James N, Maher EJ, et al. Use of prenatal chromosomal microarray: prospective cohort study and systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol.* juin 2013;41(6):610-20.
10. Fiorentino F, Napoletano S, Caiazzo F, Sessa M, Bono S, Spizzichino L, et al. Chromosomal microarray analysis as a first-line test in pregnancies with a priori low risk for the detection of submicroscopic chromosomal abnormalities. *Eur J Hum Genet.* juill 2013;21(7):725-30.
11. Shaffer LG, Rosenfeld JA, Dabell MP, Coppinger J, Bandholz AM, Ellison JW, et al. Detection rates of clinically significant genomic alterations by microarray analysis for specific anomalies detected by ultrasound. *Prenat Diagn.* oct 2012;32(10):986-95.
12. Normand EA, Alaimo JT, Van den Veyver IB. Exome and genome sequencing in reproductive medicine. *Fertil Steril.* févr 2018;109(2):213-20.

13. Wright CF, Fitzgerald TW, Jones WD, Clayton S, McRae JF, van Kogelenberg M, et al. Genetic diagnosis of developmental disorders in the DDD study: a scalable analysis of genome-wide research data. *Lancet*. 4 avr 2015;385(9975):1305-14.
14. International Society for Prenatal Diagnosis, Society for Maternal and Fetal Medicine, Perinatal Quality Foundation. Joint Position Statement from the International Society for Prenatal Diagnosis (ISPD), the Society for Maternal Fetal Medicine (SMFM), and the Perinatal Quality Foundation (PQF) on the use of genome-wide sequencing for fetal diagnosis. *Prenat Diagn*. 2018;38(1):6-9.
15. Petrovski S, Aggarwal V, Giordano JL, Stosic M, Wou K, Bier L, et al. Whole-exome sequencing in the evaluation of fetal structural anomalies: a prospective cohort study. *Lancet*. 23 févr 2019;393(10173):758-67.
16. Lord J, McMullan DJ, Eberhardt RY, Rinck G, Hamilton SJ, Quinlan-Jones E, et al. Prenatal exome sequencing analysis in fetal structural anomalies detected by ultrasonography (PAGE): a cohort study. *Lancet*. 23 févr 2019;393(10173):747-57.
18. Karczewski K, Francioli L, Tiao G. Variation across 141,456 human exomes and genomes reveals the spectrum of loss-of-function intolerance across human protein-coding genes. *bioRxiv.org*. 13 août 2019;online ahead of printing
18. Landrum MJ, Lee JM, Benson M, Brown GR, Chao C, Chitipiralla S, et al. ClinVar: improving access to variant interpretations and supporting evidence. *Nucleic Acids Res*. 1 avr 2018;46(D1):62-7.
19. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med*. mai 2015;17(5):405-24.
20. McKusick VA. Mendelian Inheritance in Man and Its Online Version, OMIM. *Am J Hum Genet*. 1 avr 2007;80(4):588-604.
21. Liu Xiaoming, Wu C, Li C. dbNSFP v3.0: A One-Stop Database of Functional Predictions and Annotations for Human Nonsynonymous and Splice-Site SNVs. *Hum Mutat*. mars 2016;37(3):235-41.
22. Micale L, Augello B, Maffeo C, Selicorni A, Zucchetti F, Fusco C, et al. Molecular Analysis, Pathogenic Mechanisms, and Readthrough Therapy on a Large Cohort of Kabuki Syndrome Patients. *Hum Mutat*. 13 mars 2014;35(7):841-50.
23. Rosenberg CE, Daly T, Hung C, Hsueh I, Lindsley AW, Bodamer O. Prenatal and Perinatal History in Kabuki Syndrome. *Am J Hum Genet*. janv 2020;182(1):85-92.
24. Bögershausen N, Gatinois V, Riehmer V, Kayserili H, Becker J, Thoenes M, et al. Mutation Update for Kabuki Syndrome Genes KMT2D and KDM6A and

- Further Delineation of X-Linked Kabuki Syndrome Subtype 2. *Hum Mutat.* 2016;37(9):847-64.
25. O’Roak BJ, Vives L, Fu W, Egertson JD, Stanaway IB, Phelps IG, et al. Multiplex Targeted Sequencing Identifies Recurrently Mutated Genes in Autism Spectrum Disorders. *Science.* 21 déc 2012;338(6114):1619-22.
 26. Bon B van, Hoischen A, Hehir-Kwa J, Brouwer A de, Ruivenkamp C, Gijsbers ACJ, et al. Intragenic deletion in *DYRK1A* leads to mental retardation and primary microcephaly. *Clin Genet.* 7 févr 2011;79(3):296-9.
 27. Møller RS, Kübart S, Hoeltzenbein M, Heye B, Vogel I, Hansen CP, et al. Truncation of the Down Syndrome Candidate Gene *DYRK1A* in Two Unrelated Patients with Microcephaly. *Am J Hum Genet.* 9 mai 2008;82(5):1165-70.
 28. Yadava SM, Ashkinadze E. Whole exome sequencing for prenatal diagnosis in cases with fetal anomalies: Criteria to improve diagnostic yield. *J Genet Couns.* avr 2019;28(2):251-5.
 29. Quinlan-Jones E, Lord J, Williams D, Hamilton S, Marton T, Eberhardt RY, et al. Molecular autopsy by trio exome sequencing (ES) and postmortem examination in fetuses and neonates with prenatally identified structural anomalies. *Genet Med.* mai 2019;21(5):1065-73.
 30. Meier N, Bruder E, Lapaire O, Hoesli I, Kang A, Hench J, et al. Exome sequencing of fetal anomaly syndromes: novel phenotype-genotype discoveries. *Eur J Hum Genet.* mai 2019;27(5):730-7.
 41. Guo W, Lai Y, Yan Z, Wang Y, Nie Y, Guan S, et al. Trio-whole exome sequencing and preimplantation genetic diagnosis for unexplained recurrent fetal malformations. *Hum Mutat.* 3 nov 2019;online ahead of printing
 32. Daum H, Meiner V, Elpeleg O, Harel T. Fetal exome sequencing: yield and limitations in a tertiary referral center. *Ultrasound Obstet Gynecol.* janv 2019;53(1):80-6.
 33. Leung GKC, Mak CCY, Fung JLF, Wong WHS, Tsang MHY, Yu MHC, et al. Identifying the genetic causes for prenatally diagnosed structural congenital anomalies (SCAs) by whole-exome sequencing (WES). *BMC Med Genomics.* 5 oct 2018;11(1):93-104.
 34. Fu F, Li R, Li Y, Nie Z-Q, Lei T, Wang D, et al. Whole exome sequencing as a diagnostic adjunct to clinical testing in fetuses with structural abnormalities. *Ultrasound Obstet Gynecol.* avr 2018;51(4):493-502.
 35. Vora NL, Powell B, Brandt A, Strande N, Hardisty E, Gilmore K, et al. Prenatal exome sequencing in anomalous fetuses: new opportunities and challenges. *Genet Med.* nov 2017;19(11):1207-16.
 36. Drury S, Williams H, Trump N, Boustred C, Lench N, Chitty LS. Exome sequencing for prenatal diagnosis of fetuses with sonographic abnormalities. *Prenat Diagn.* oct 2015;35(10):1010-7.

37. Alamillo CL, Powis Z, Farwell K, Shahmirzadi L, Weltmer EC, Turocy J, et al. Exome sequencing positively identified relevant alterations in more than half of cases with an indication of prenatal ultrasound anomalies. *Prenat Diagn.* nov 2015;35(11):1073-8.
38. Carss KJ, Hillman SC, Parthiban V, McMullan DJ, Maher ER, Kilby MD, et al. Exome sequencing improves genetic diagnosis of structural fetal abnormalities revealed by ultrasound. *Hum Mol Genet.* 15 juin 2014;23(12):3269-77.
39. Sobreira N, Schiettecatte F, Valle D, Hamosh A. GeneMatcher: a matching tool for connecting investigators with an interest in the same gene. *Hum Mutat.* oct 2015;36(10):928-30.
40. Rodríguez-Pascau L, Gort L, Schuchman EH, Vilageliu L, Grinberg D, Chabás A. Identification and characterization of SMPD1 mutations causing Niemann-Pick types A and B in Spanish patients. *Hum Mutat.* 2009;30(7):1117-22.
41. Li Y, Sha Y, Wang X, Ding L, Liu W, Ji Z, et al. DNAH2 is a novel candidate gene associated with multiple morphological abnormalities of the sperm flagella. *Clin Genet.* mai 2019;95(5):590-600.
42. Ferretti L, Mellis R, Chitty LS. Update on the use of exome sequencing in the diagnosis of fetal abnormalities. *Eur J Med Genet.* août 2019;62(8):103663.
43. Trosman JR, Weldon CB, Slavotinek A, Norton ME, Douglas MP, Phillips KA. Perspectives of US private payers on insurance coverage for pediatric and prenatal exome sequencing: Results of a study from the Program in Prenatal and Pediatric Genomic Sequencing (P3EGS). *Genet Med.* 10 sept 2019;22(2):283-91.
30. AVIESAN (Alliance nationale pour les sciences de la vie et de la santé). Rapport France Médecine Génomique 2025 [Internet]. Ministère des Solidarités et de la Santé. 22 juin 2016 [cité 26 janv 2020]. Disponible sur: <https://solidarites-sante.gouv.fr/systeme-de-sante-et-medico-social/recherche-et-innovation/france-genomique>
45. Sparks TN, Caughey AB. How should costs and cost-effectiveness be considered in prenatal genetic testing? *Semin Perinatol.* août 2018;42(5):275-82.
46. de Koning MA, Haak MC, Adama van Scheltema PN, Peeters-Scholte CMPCD, Koopmann TT, Nibbeling EAR, et al. From diagnostic yield to clinical impact: a pilot study on the implementation of prenatal exome sequencing in routine care. *Genet Med.* oct 2019;21(10):2303-10.
47. Felice V, Abhyankar A, Jobanputra V. Prenatal Diagnosis by Whole Exome Sequencing in Fetuses with Ultrasound Abnormalities. *Methods Mol Biol.* 2019;1885(1):267-85.
48. Nayak SS, Shukla A, Lewis L, Kadavigere R, Mathew M, Adiga PK, et al. Clinical utility of fetal autopsy and its impact on genetic counseling: Clinical utility of fetal autopsy and its impact. *Prenat Diagn.* juill 2015;35(7):685-91.

49. Aarabi M, Sniezek O, Jiang H, Saller DN, Bellissimo D, Yatsenko SA, et al. Importance of complete phenotyping in prenatal whole exome sequencing. *Hum Genet.* févr 2018;137(2):175-81.
50. Filges I, Friedman JM. Exome sequencing for gene discovery in lethal fetal disorders - harnessing the value of extreme phenotypes. *Prenat Diagn.* oct 2015;35(10):1005-9.
51. Aggarwal S, Vineeth VS, Das Bhowmik A, Tandon A, Kulkarni A, Narayanan DL, et al. Exome sequencing for perinatal phenotypes: the significance of deep phenotyping. *Prenat Diagn.* 19 nov 2019;40(2):260-73.
52. Werner-Lin A, Mccoyd JLM, Bernhardt BA. Actions and Uncertainty: How Prenatally Diagnosed Variants of Uncertain Significance Become Actionable. *Hastings Cent Rep.* mai 2019;49(S1):61-71.
53. Richardson A, Ormond KE. Ethical considerations in prenatal testing: Genomic testing and medical uncertainty. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2018;23(1):1-6.
54. Harris S, Gilmore K, Hardisty E, Lyerly AD, Vora NL. Ethical and counseling challenges in prenatal exome sequencing. *Prenat Diagn.* 2018;38(12):897-903.
55. Horn R, Parker M. Opening Pandora's box?: ethical issues in prenatal whole genome and exome sequencing. *Prenat Diagn.* 2018;38(1):20-5.
56. Wou K, Chung WK, Wapner RJ. Laboratory considerations for prenatal genetic testing. *Semin Perinatol.* 2018;42(5):307-13.
57. Quinlan-Jones E, Hillman SC, Kilby MD, Greenfield SM. Parental experiences of prenatal whole exome sequencing (WES) in cases of ultrasound diagnosed fetal structural anomaly. *Prenat Diagn.* 2017;37(12):1225-31.

Annexes

Annexe I : Synopsis de l'étude

Annexe II : Synopsis pour le Comité d'Ethique du CHU

Annexe III : Notice d'information aux patients

Annexe IV : Formulaire de consentement aux patients

Annexe V : Nomenclature des variants retrouvés

Annexe I : Synopsis de l'étude

Etudiant : Sarah Ponthus
Directeur de recherche : Pr. Damien Sanlaville, Dr. Caroline Schluth-Bolard
Titre : Faisabilité de l'exome en prénatal sur signes d'appels échographiques multiples à l'Hôpital Femme Mère Enfant.
Justification / Contexte : Les anomalies congénitales sont responsables de 20% des morts infantiles. Leurs étiologies génétiques peuvent être investiguée avec de nombreuses techniques, jusqu'au séquençage Sanger qui peut maintenant être fait à haut débit avec la technologie de NGS et l'ACPA. Il n'est pas encore implanté en prénatal en dehors du domaine de la recherche. Séquencer l'exome semble pouvoir apporter un taux diagnostique de 8,5 à 10,3% lorsque le caryotype et l'ACPA ne rendent pas de réponse, mais les données disponibles sont encore hétérogènes.
Problématique : Mise en pratique de la technique d'exome en prénatal sur signes d'appels échographiques multiples.
Objectifs : Evaluer la faisabilité d'un séquençage d'exome en prénatal et son taux diagnostique, à terme adapter les protocoles utilisés en diagnostic pour le prénatal Objectifs secondaires : Contribuer à la description de la présentation fœtale de syndromes génétiques, ainsi qu'à l'identification de nouveaux gènes candidats
Méthodologie / Type de recherche : Etude de cohorte rétrospective sur données existantes.
Critères de jugement : Taux diagnostique, qualité du séquençage.
Population cible : Fœtus arrêtés des CPDPN.
Critères d'inclusion : Grossesse arrêtée, échantillons biologiques prénataux disponibles pour le fœtus, résultats disponibles de caryotype et ACPA sans diagnostic retenu, anomalies échographiques multiples (dans 2 ou plus systèmes différents).
Critères de non inclusion : Indisponibilité de l'un des deux parents, autopsie réalisée en postnatal indisponible.
Lieu de la recherche : Lyon, France
Aspects éthiques et réglementaires : Nécessité d'un prélèvement sanguin pour les deux parents, prélèvements fœtaux disponibles. Autorisation du Comité d'Ethique des Hospices Civils de Lyon en date du 10/07/2019. Notice d'information et consentement. Financement de 9624€ (appel d'offres HCL).
Mots clés : Exome, prénatal, fœtus, anomalies échographiques multiples.

Annexe II : Synopsis pour le Comité d'Ethique du CHU

Titre du projet : FOEXOMES - FOetal EXOme for Malformations' Etiological Study

Porteur du projet : Dr Nicolas Chatron/Dr Caroline Schluth-Bolard

Service de Génétique, Hospices Civils de Lyon

Lors d'une grossesse, les échographies prénatales permettent de détecter les malformations congénitales. Lorsque c'est le cas, des analyses génétiques sont menées avec une étude des chromosomes par caryotype et par analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA). Le séquençage de gènes n'est réalisé que dans certains cas, devant la suspicion de syndromes spécifiques. Cependant, plus de la moitié des cas restent inexpliqués après ces explorations qui observent le génome à des niveaux de précision limités. Le séquençage de l'exome, qui correspond à l'étude de l'ensemble des séquences codantes du génome, a pu montrer un taux de diagnostic de 30% en post-natal dans le contexte de la déficience intellectuelle et malformations congénitales. Le bénéfice de son application en prénatal doit encore être précisé, car les études sont peu nombreuses et hétérogènes. Cette étude vise à évaluer le taux diagnostique du séquençage d'exome lorsque des malformations échographiques sont détectées. C'est une première étape pour pouvoir évaluer la faisabilité de cette stratégie diagnostique en routine lors de la prise en charge prénatale des fœtus présentant des anomalies échographiques multiples après échec des stratégies de première ligne. Les objectifs secondaires de l'étude sont d'identifier de nouveaux gènes candidats responsables de malformations congénitales, de préciser la description fœtale de syndromes génétiques connus et d'améliorer les protocoles techniques et bio-informatiques de l'analyse d'exome en prénatal.

L'étude sera réalisée dans le service de Génétique des Hospices Civils de Lyon. Trente fœtus interrompus pour malformations congénitales multiples (au moins deux anomalies touchant deux systèmes différents) après explorations par caryotype et ACPA sans diagnostic posé seront inclus. Un séquençage de l'exome en trio (le fœtus ainsi que ses deux parents) sera effectué par la technique de séquençage à haut débit sur la plateforme des HCL. Les échantillons d'ADN seront déjà disponibles grâce aux précédentes recherches effectuées sur le génome, et aucun prélèvement supplémentaire ne sera nécessaire. L'analyse bio-informatique des résultats sera faite par la cellule bio-informatique des HCL.

L'interprétation sera réalisée par les biologistes du service de Génétique des HCL et ne prendra pas en compte les données secondaires.

Les parents seront informés de cette étude et leur consentement sera demandé pour l'utilisation des échantillons. Un taux diagnostique d'au moins 15 % est attendu. Les parents seront informés des diagnostics qui seront réalisés grâce à cette étude, afin de pouvoir bénéficier d'un conseil génétique adapté pour une grossesse ultérieure.

FICHE D'INFORMATION

Etude Foexomes

Intérêt du séquençage d'exome pour le diagnostic étiologique chez 30 fœtus porteurs de malformations multiples

Madame, Monsieur,

Une participation à un programme de recherche vous a été proposée. Celle-ci doit être entièrement volontaire. Avant de décider si vous souhaitez participer ou non à cette étude, il est très important que vous compreniez le but de ce travail et ce que cela impliquera pour vous. Prenez le temps de lire soigneusement ce document. N'hésitez pas à prendre tout le temps nécessaire et à en parler avec votre équipe médicale et vos proches si vous le souhaitez.

Pourquoi vous propose-t-on cette étude ?

Lors de votre précédente grossesse, des malformations congénitales multiples ont été découvertes et ont mené à l'arrêt de la grossesse. Les causes de ces malformations sont variées et peuvent inclure des anomalies génétiques.

Les recherches génétiques conventionnelles qui ont été réalisées (caryotype et analyse chromosomique sur puce à ADN) n'ont pas permis de déterminer un diagnostic.

Quel est l'objectif de l'étude ?

Leur niveau de précision était cependant limité. Cette étude a pour but d'étudier la séquence exacte de l'ensemble des gènes qui composent notre programme génétique. Il s'agit du séquençage d'exome.

En regardant plus attentivement les gènes, l'objectif est d'identifier des anomalies qui permettraient de poser un diagnostic, et permettant ainsi un conseil génétique pour les grossesses futures et une meilleure compréhension de ce qui s'est produit.

Pour cela, il est nécessaire d'analyser l'échantillon d'ADN prélevé lors de la grossesse ainsi que vos échantillons d'ADN. Ceci est nécessaire afin de pouvoir interpréter les résultats et de déterminer quelles sont les variations responsables des malformations.

L'intérêt de proposer ce protocole pour toutes les grossesses présentant des malformations sera lui aussi évalué.

30 échantillons seront analysés lors de cette étude.

Qu'arrivera-t-il si vous participez à l'étude ?

Vos échantillons d'ADN ainsi que les échantillons prélevés lors de la grossesse sont déjà conservés au laboratoire. Concrètement, si vous donnez votre accord, aucun prélèvement n'aura besoin d'être réalisé.

Où et quelles analyses seront réalisées dans le cadre de cette étude ?

Les analyses réalisées seront un séquençage à haut-débit des 3 échantillons d'ADN. Elles seront réalisées sur la plateforme de séquençage à haut-débit des Hospices Civils de Lyon et interprétés par les biologistes du service de Génétique des Hospices Civils de Lyon.

Qu'arrivera-t-il en cas de résultats sans rapport avec la pathologie ?

Il peut parfois arriver que des découvertes génétiques n'aient pas de rapport avec la pathologie qui a mené à l'arrêt de la précédente grossesse. Ceux-ci ne seront pas analysés et communiqués.

Quel est l'intérêt de participer à cet essai clinique ?

Dans le cas où un diagnostic est fait grâce à l'étude, l'intérêt pour votre couple directement est que vous en serez informés et pourrez bénéficier d'un conseil génétique adapté.

De manière générale, l'intérêt de l'étude est de déterminer si cette stratégie diagnostique pourrait être applicable en routine lors de la prise en charge prénatale.

Êtes-vous obligés de participer ?

Non, la participation à l'étude est entièrement volontaire. Si vous acceptez de participer, vous demeurerez libre de revenir sur votre accord à tout moment sans avoir à le justifier. Cette décision serait alors sans conséquences sur les relations que vous avez avec votre médecin et avec l'équipe soignante ou sur la qualité des soins que vous êtes en droit d'attendre.

Votre médecin a également le droit de vous retirer de l'étude à tout moment, s'il estime que cela vaut mieux pour vous.

Votre participation à l'étude restera-t-elle confidentielle ?

Tous les renseignements recueillis sur vous au cours de cette étude seront strictement protégés par le secret médical et par la loi relative à l'informatique et aux libertés.

Dans le cadre de cette étude à laquelle nous vous proposons de participer, un traitement informatisé de vos données personnelles sera mis en œuvre pour permettre d'analyser les résultats au regard des objectifs présentés ci-dessus. Ce traitement de données à caractère personnel, sera effectué conformément à la loi « Informatique et Libertés » (loi 78-17 du 6 janvier 1978 relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés), modifiée par la loi n°2018-493 du 20 Juin 2018 (relative à la protection des données personnelles).

Conformément aux dispositions législatives en vigueur, vous disposez d'un droit d'opposition à la transmission des données et d'un droit d'accès et de rectification des données vous concernant. Ce droit peut s'exercer directement ou par l'intermédiaire du médecin de votre choix auprès du Médecin coordinateur de l'étude :

Dr Caroline Schluth-Bolard
Service de Génétique – Laboratoire de Cytogénétique
Constitutionnelle
Centre de Biologie et de Pathologie Est
59 Boulevard Pinel
69677 Bron CEDEX

Cette étude sera conduite en accord avec la déclaration d'Helsinki, les Bonnes Pratiques Cliniques, et conformément au Code de la Santé Publique (Loi 2004-806 du 9 août 2004 relative aux recherches biomédicales) et à la Loi Informatique et Liberté du 6 janvier 1978 modifiée.

Par ailleurs, le Comité d'éthique des Hospices Civils de Lyon a donné un avis favorable à la mise en route de cette étude le 10/07/2019.

Si vous le souhaitez, vous serez informé(e) par le médecin qui vous a proposé ce projet des résultats globaux de l'étude, une fois celle-ci terminée, par courrier à votre adresse.

FORMULAIRE DE CONSENTEMENT

Etude Foexomes

**Intérêt du séquençage d'exome pour le diagnostic
étiologique chez 30 fœtus porteurs de malformations
multiples**

Equipe médicale : Dr Caroline Schluth-Bolard et le Service de Génétique, UM de Cytogénétique et UM de Génétique Moléculaire du développement, Hospices Civils de Lyon – Centre de Biologie et Pathologie Est – 59, Boulevard Pinel 69677 Cedex BRON.

Ce formulaire doit être signé en **triple exemplaire** par les parents :

Un exemplaire sera conservé dans le dossier médical, un double est remis aux parents, le troisième exemplaire sera remis au laboratoire.

Vous pourrez renvoyer 2 exemplaires grâce à l'enveloppe pré-affranchie fournie.

Nous soussignés :

Madame (*mère*) (*Nom, Prénom*)

Adresse :

.....

Monsieur (*père*) (*Nom, Prénom*)

Adresse :

.....

déclarons avoir pris connaissance de la notice d'information et avoir bien compris les bénéfices, risques et déroulement de l'étude concernant l'étude ci-dessus mentionnée et à laquelle nous acceptons de participer.

Nous acceptons que les échantillons prélevés pendant la grossesse (villosité chorale, liquide amniotique, sang du cordon) soient utilisés dans le cadre de cette étude.

Nous consentons librement et volontairement par la présente et conformément aux titres 2 et 3 du Code de la Santé Publique à notre participation à la recherche, c'est-à-dire à l'analyse par séquençage d'exome de prélèvements existants donnant lieu par la suite à une caractérisation génétique (Code Civil).

Nous avons compris que nous sommes libres de choisir de participer ou non à ce protocole et que nous pourrions, à tout moment, si nous le désirons, interrompre notre participation en le signalant au médecin chargé de cette étude, sans avoir à nous justifier, sans encourir la moindre responsabilité et sans aucun préjudice pour la qualité des soins qui nous seront prodigués.

Notre consentement ne décharge pas les responsables de la recherche de leurs responsabilités. Nous conservons tous les droits garantis par la loi de Santé Publique du 9 Août 2004. Pour tout complément d'information ou pour signaler la survenue d'un éventuel événement indésirable, nous pouvons contacter le Docteur Caroline SCHLUTH-BOLARD en charge de l'étude, en téléphonant au 04.27.85.53.14.

Cette étude a reçu un avis favorable du comité d'éthique des Hospices Civils de Lyon en date du 10/07/2019.

Nous acceptons que les données collectées au cours de cette étude fassent l'objet d'un traitement informatisé en conformité avec la loi N° 2004-801 du 6 Août 2004 relative à la protection des personnes physiques à l'égard du traitement de données à caractère personnel et modifiant la loi n° 78-17 du 6 Janvier 1978 relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés. J'ai bien noté que mon droit d'accès (article 39) et de rectification prévu par la loi « informatique et libertés » (article 40) peut s'exercer par l'intermédiaire du médecin de mon choix ou directement auprès d'un investigateur de l'étude.

Nous avons disposé d'un temps suffisant de réflexion entre l'information et la signature de ce consentement.

Nous affirmons avoir reçu une copie de ce document ainsi que de la notice d'information.

Signature de la mère

Fait à

Le | | | | |

Signature du père

Fait à

Le | | | | |

Annexe V : Nomenclature des variants retrouvés

Patient	Gène ¹	Génome ²	cDNA	Protéine	Hérédité	Classification
1	<i>UBR5</i> NM_015902.5	chr8:103269906A>AAC	c.8139_8140dupGT	p.Phe2714fs	Hétérozygote De novo	Classe 3 : VOUS
	<i>SMPD1</i> NM_000543.4	chr11:6415491A>T	c.1550A>T	p.Glu517Val	Homozygote	Classe 3 : VOUS
	<i>DNAH2</i> NM_020877.3	chr17:7722665A>T chr17:7736538G>T	c.10954A>T c.13128G>T	p.Ser3652Cys p.Lys4376Asn	Hétérozygote composite	Classe 3 : VOUS
4	<i>KMT2D</i> NM_003482.3	chr12:49435057G>A	c.6496C>T	p.Gln2166*	Hétérozygote De novo	Classe 5 : Pathogène
5	<i>DYRK1A</i> NM_001396.4	chr21:38862475A>G	c.665-2A>G	<i>épissage</i>	Hétérozygote De novo	Classe 5 : Pathogène

1. Avec référence National Center for Biotechnology Information (NCBI)

2. Par rapport au Genome Reference Consortium Human Build 37 (GRCh37) / Human Genome 19 (hg19)

Auteur : Sarah Ponthus	Diplôme d'Etat de sage-femme
Titre : Faisabilité de l'exome en prénatal sur signes d'appels échographiques multiples à l'Hôpital Femme Mère Enfant	
<p>Résumé :</p> <p><i>Introduction</i> – Les anomalies congénitales sont responsables de 20% des morts infantiles. Leurs étiologies génétiques peuvent être investiguée avec de nombreuses techniques, jusqu'au séquençage Sanger qui peut maintenant être fait à haut débit avec la technologie de NGS et l'ACPA. Il n'est pas encore implanté en prénatal en dehors du domaine de la recherche. Séquençer l'exome semble pouvoir apporter un taux diagnostique de 8,5 à 10,3% lorsque le caryotype et l'ACPA ne rendent pas de réponse, mais les données disponibles sont encore hétérogènes.</p> <p><i>Objectif</i> – L'objectif de cette étude est d'évaluer la faisabilité d'un séquençage d'exome en prénatal et son taux diagnostique dans ce contexte avec des anomalies multiples, afin à terme d'adapter les protocoles utilisés en diagnostic postnatal pour le prénatal.</p> <p><i>Méthode</i> – Cette étude de cohorte rétrospective a été réalisée entre 2019 et 2020 en séquençant 6 fœtus interrompus pour malformations congénitales multiples, dont le diagnostic n'a pas pu être posé par les techniques de caryotype et ACPA.</p> <p><i>Résultats</i> – Un variant pathogène a été retrouvé chez deux fœtus (2/5 = 40%) permettant de poser un diagnostic sur les gènes <i>KMT2D</i> et <i>DYRK1A</i>, et trois VOUS ont été retrouvés chez un fœtus (1/5 = 20%) sur les gènes <i>UBR5</i>, <i>SMPD1</i> et <i>DNAH2</i>.</p> <p><i>Conclusion</i> – Il est donc possible d'utiliser le séquençage d'exome en prénatal sur des prélèvements existants afin d'obtenir un taux diagnostique supplémentaire par rapport au caryotype et à l'ACPA de 40%. Sa mise en place en routine est aujourd'hui envisageable, et s'inscrit dans la dynamique nationale de développement du séquençage génétique. Cependant, il est nécessaire de continuer à l'étudier à plus grande échelle et des recommandations nationales sont souhaitables.</p>	
Mots clés : Exome, prénatal, fœtus, anomalies échographiques multiples	

Title : Feasibility report of prenatal exome sequencing on multiple sonographic features at the Femme Mère Enfant Hospital	
<p>Abstract :</p> <p><i>Introduction</i> – Birth defects are responsible for 20% of infant death. Their genetic etiologies can be investigated with numerous technologies, the most precise being Sanger sequencing which can now be high throughput with NGS and CGH-Array. It is not set up in the prenatal context yet outside of the research field. Exome sequencing seems to bring a diagnostic yield from 8,5 to 10,3% when the karyotype and CGH-Array fail to bring any answer, but the available data are still heterogeneous.</p> <p><i>Objective</i> – The purpose of this study is to evaluate the feasibility of prenatal exome sequencing and its diagnostic yield with multiple sonographic features, in order to adapt the protocols used postnatally for the prenatal context.</p> <p><i>Methods</i> – This retrospective cohort study has been realized between 2019 and 2020 by sequencing 6 interrupted fetuses with multiple sonographic features, whose diagnosis could not be achieved through karyotype and CGH-Array.</p> <p><i>Results</i> – A pathogenic variant has been found in two fetuses (2/5 = 40%), allowing to get a diagnosis on <i>KMT2D</i> and <i>DYRK1A</i> genes – three VUS have been found in one fetus (1/5 = 20%) on <i>UBR5</i>, <i>SMPD1</i> and <i>DNAH2</i> genes.</p> <p><i>Conclusion</i> – To conclude, it is possible to use prenatal exome sequencing on existing samples in order to obtain a diagnostic yield of 40% compared to karyotype and CGH-Array. Its routine implementation is now an option and is integrated to the national dynamic of genetic sequencing development. Although it is necessary to keep studying it on a bigger scale, and national guidelines would be needed.</p>	
Key words : Exome, prenatal, fetus, multiple sonographic features	