



ACPA ET CARYOTYPE: CONCURRENTS OU COMPLEMENTAIRES?

Dr Marc Nouchy
Département de *Génétique*
EUROFINS BIOMNIS

Déclaration de conflit d'intérêt

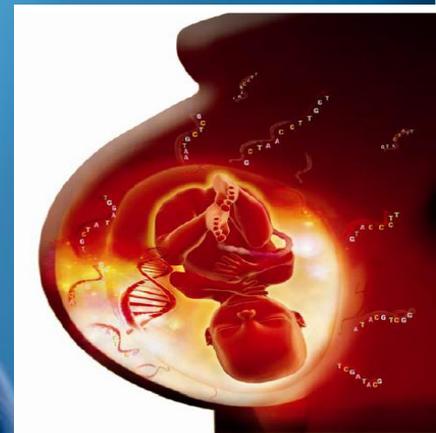
- Je déclare n'avoir aucun conflit d'intérêt avec les fournisseurs de dispositifs in vitro présentés dans cette présentation
- Je suis salarié d'Eurofins Biomnis



Biomnis



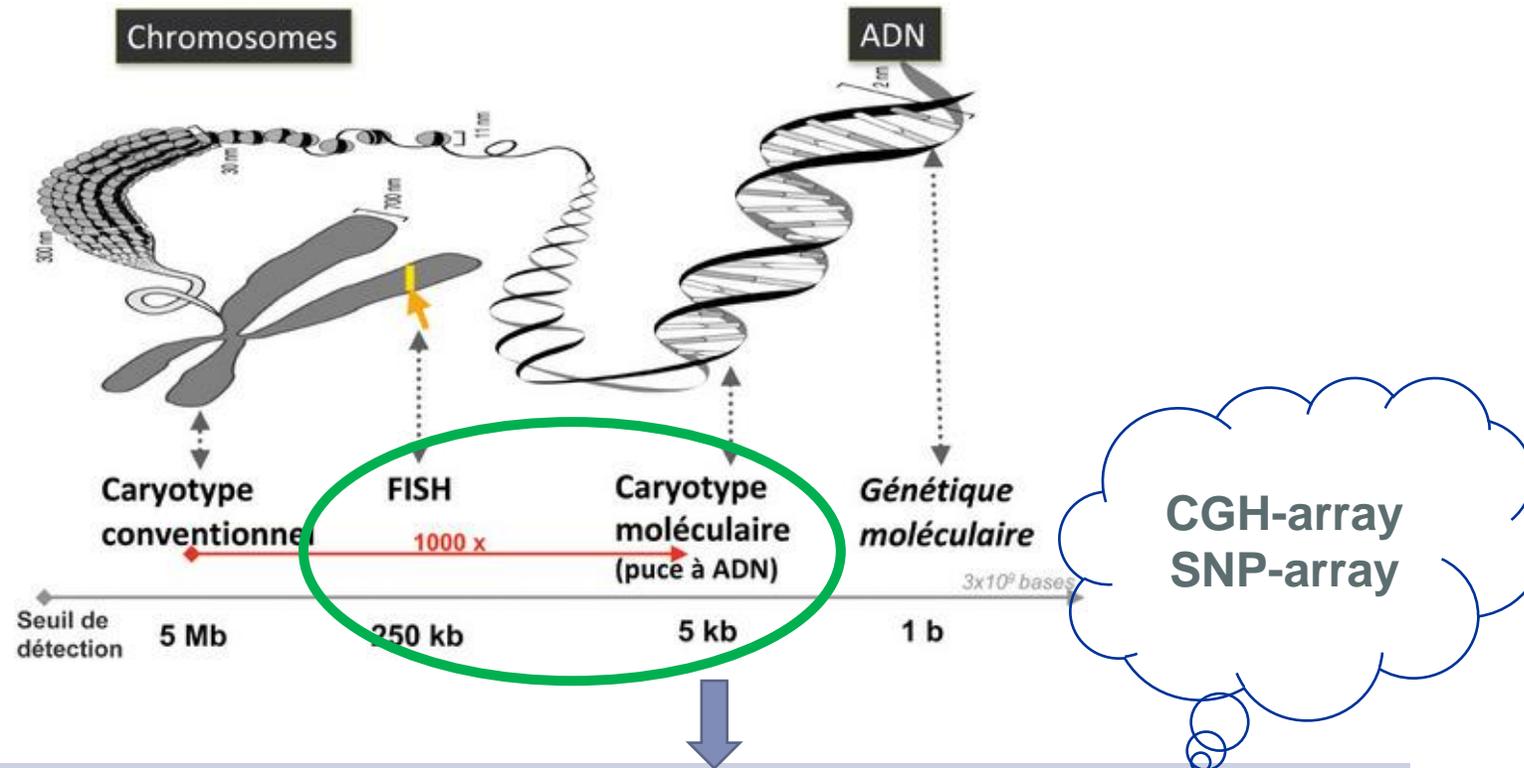
ANALYSE CYTOGENETIQUE



DEFINITIONS (GBPC V4, 2020)

- ❧ **La Cytogénétique conventionnelle** met en œuvre des techniques de culture cellulaire et microscopiques (techniques de bandes) qui permettent l'établissement du caryotype.
- ❧ **La Cytogénétique moléculaire** est un domaine de la cytogénétique développant des techniques basées sur les homologues de séquence ADN, permettant l'identification spécifique de tout ou partie d'un ou de plusieurs chromosomes (FISH, ACPA, QMPSF...)
- ❧ **La Cytogénomique** regroupe les technologies d'étude pangénomique utilisant l'ADN (ACPA, séquençage haut débit...)

Cytogénétique moléculaire

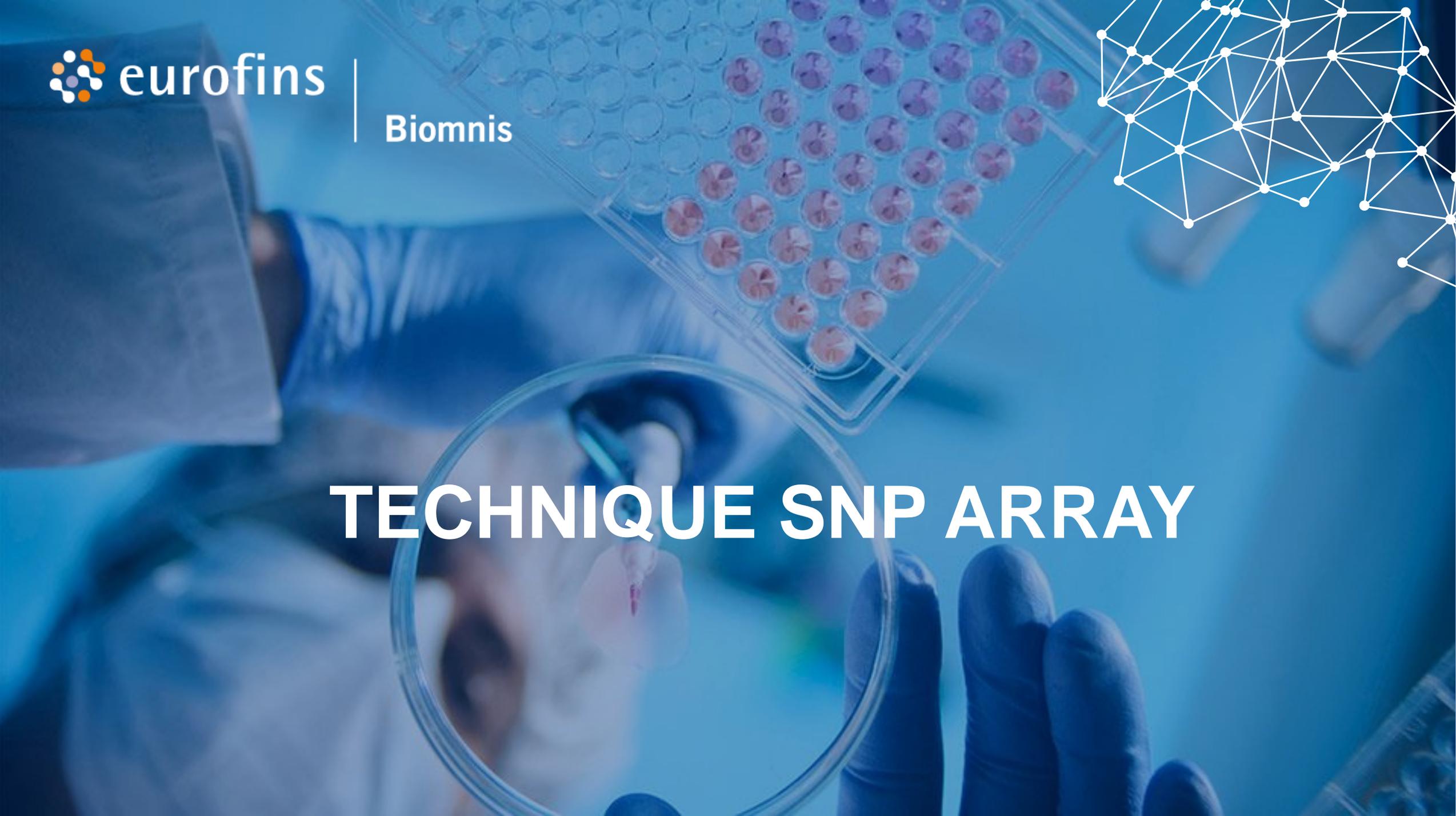


ACPA (Analyse Chromosomique par Puce à ADN)

- **analyse globale** du génome en une seule expérience
- **sans a priori**
- **hautement résolutive**
- détection de **déséquilibres** du génome (gains, pertes)

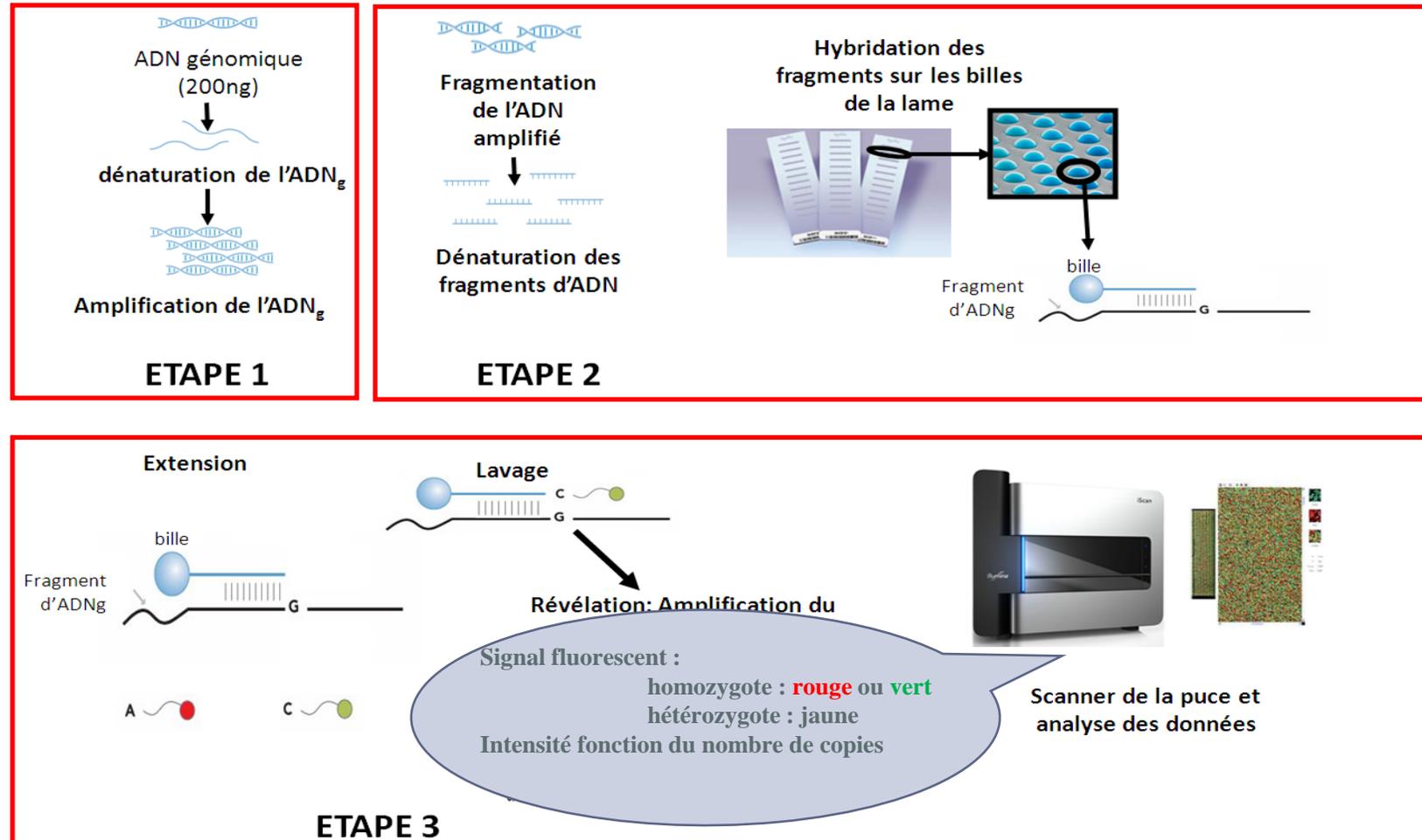
Caryotype standard





TECHNIQUE SNP ARRAY

Principe de la SNP-array (technologie Illumina)





Biomnis



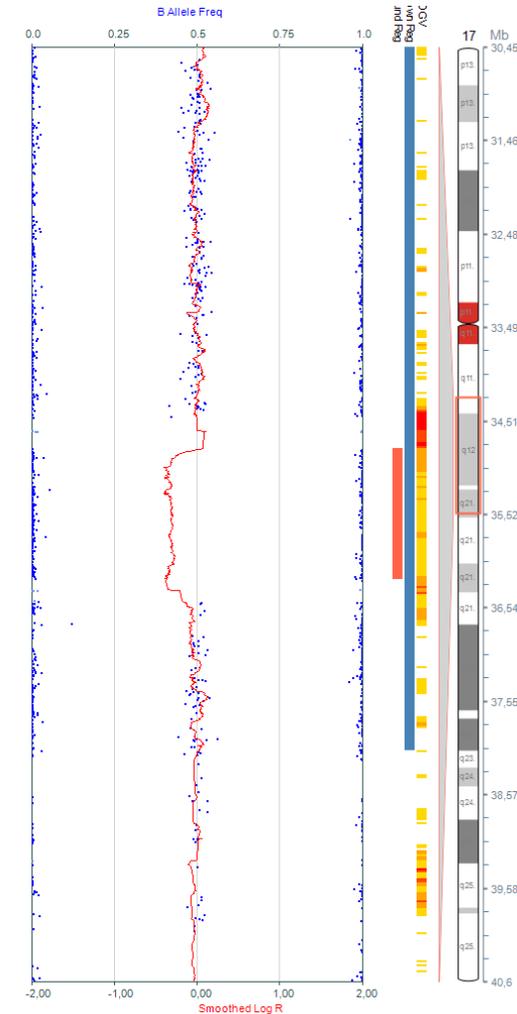
ANALYSE ET INTERPRETATION

Analyse des données de SNP-array

Délétion hétérozygote 17q:

= PERTE D'UNE COPIE DE LA REGION

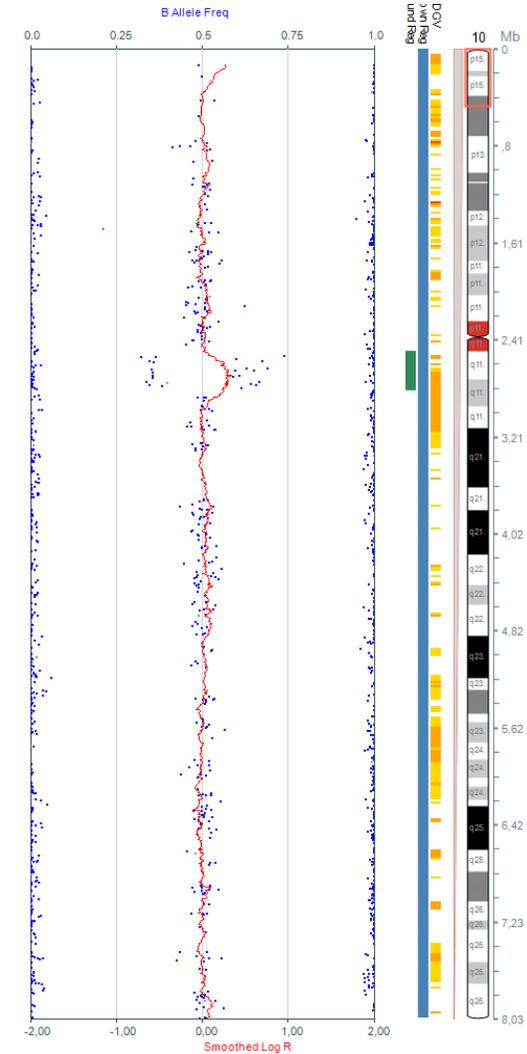
= VARIANT DU NOMBRE DE COPIES CNV



Analyse des données de SNP-array

Duplication 10q11 :

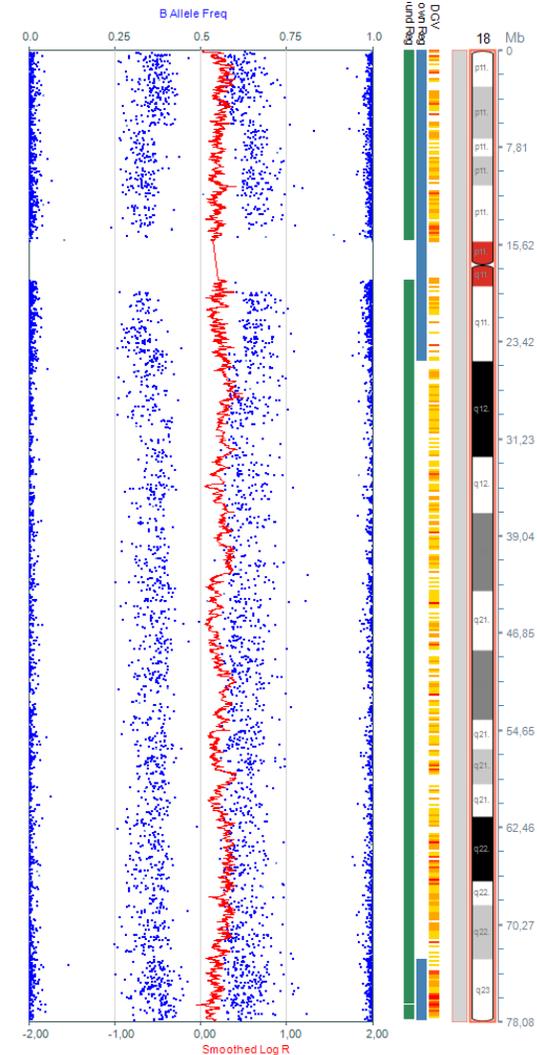
= GAIN D'UNE COPIE DE LA REGION



Analyse des données de SNP-array

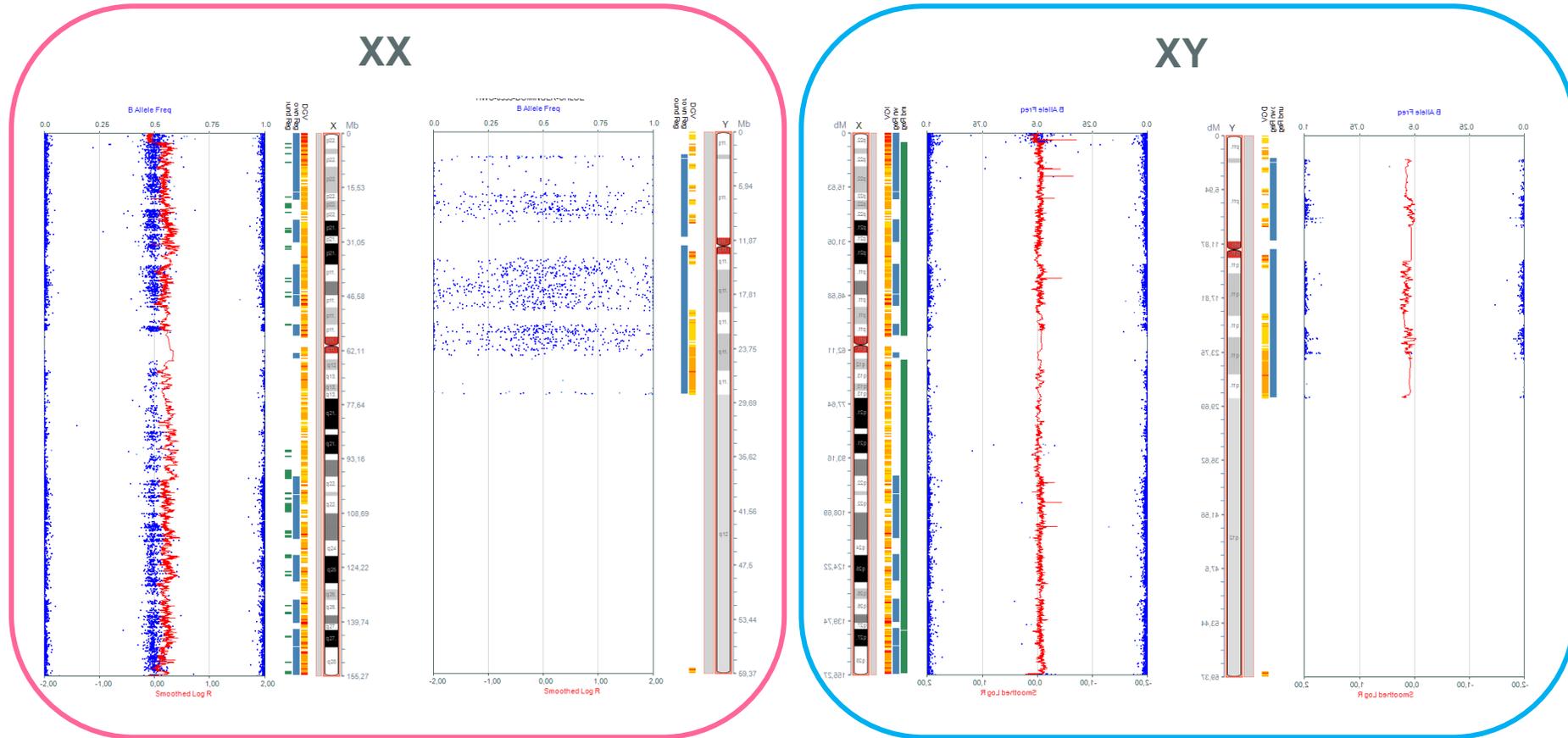
Duplication (Trisomie 18):

GAIN D'UNE COPIE DE TOUT LE CHROMOSOME



Analyse des données de SNP-array

Les gonosomes



Syndromes spécifiques liés à l'empreinte parentale

- Prader Willi / Angelman (chromosome 15)
- Silver Russel (chromosome 7)
- Wiedeman Beckwith (chromosome 11)
- Diabète néonatal transitoire (chromosome 6)
- DUP14 maternelle
- DUP 14 paternelle

Interprétation biologique

🔗 Interprétation des CNV observés en regard des informations dans les bases de données:

1: **CNV polymorphe ou non** : ex: base DGV

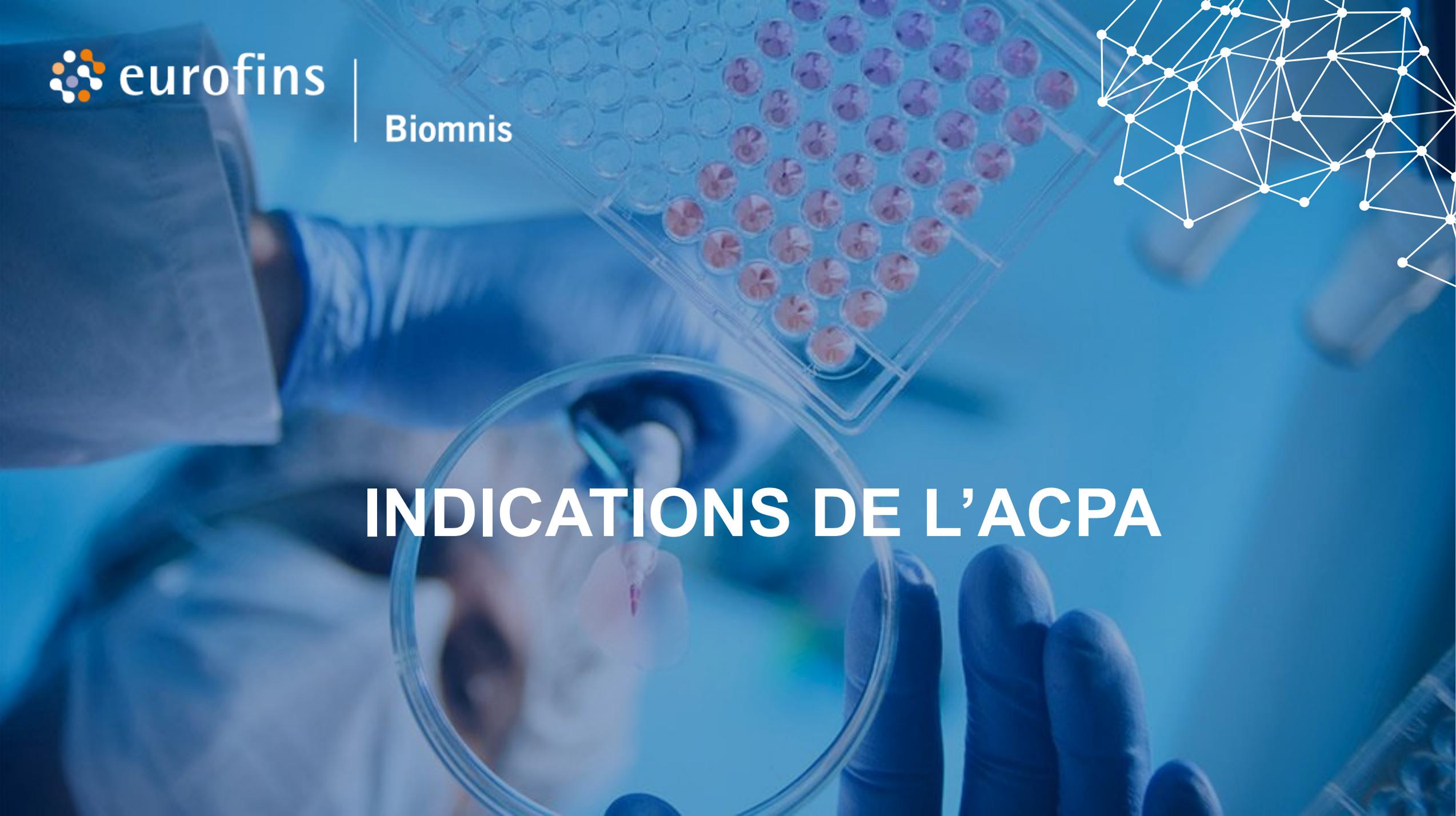
2: **contenu en gènes**: ex: base OMIM

3: **CNV déjà décrit et phénotypes observés** ex: bases Achropuce, Clingen,decipher

4: **recherche bibliographique** ex: Pubmed

5: **suivi des recommandations sociétés savantes** (Achropuce, ACMG...)

Classification du CNV: Bénin	Probablement pathogène
Probablement bénin	Pathogène
Variant de signification inconnue	(+ PIEV)

A blue-tinted background image of a laboratory setting. A person in a white lab coat and blue gloves is using a pipette to transfer liquid into a multi-well plate. A petri dish is held in the foreground, showing a small pinkish object. The overall scene is dimly lit, focusing on the laboratory equipment and the person's hands.

INDICATIONS DE L'ACPA

Place de l'ACPA en post-natal (ACLF)

La technique d'ACPA pan-génomique est une **technique complémentaire du caryotype**, et doit être utilisée comme telle, sauf indications particulières.

Elle pourra être **utilisée en première intention** devant certaines indications comme **le retard mental associé ou non à un syndrome malformatif**. Les résultats devront être contrôlés par une technique complémentaire de référence et dont le laboratoire a l'expérience.

NB: L'ACPA remplace aujourd'hui le caryotype haute résolution et les techniques ciblant les déséquilibres sub-télomériques (ex MLPA) qui ne doivent plus être utilisées dans le cadre de l'exploration des déficiences intellectuelles.

Place de l'ACPA en prénatal

- Signes d'appel échographiques
- Caractérisation de déséquilibres décelés au caryotype (marqueurs chromosomiques surnuméraires, ...)
- Translocation en apparence équilibrée
- +/- en première intention dans les autres indications (ex: MSM)

COMPARAISON DES PERFORMANCES ACPA/ CARYOTYPE SELON INDICATION DU DPN

🔗 Étude Xiang et coll (Frontiers in Genetics, 2020)

5000 dossiers prénataux dont 4022 ACPA+ caryotype (78 ACPA seule):

- 617 anomalies (12,3%) dont 207 ANEUPLOIDIES, 21 LOH, 389 anomalies type CNV
 - Parmi 418 CNV observés: 145 P ou LP, 157 VUS, 116 B ou LB

CNV « cliniquement significatifs »:

- 4,5% si SAE
- 1,6% si âge maternel avancé
- 2,5% si marqueurs sériques à risque
- 2,9% si DPNI positif (tout génome, >10 Mb)
- 3% si autres indications.

COMPARAISON DES PERFORMANCES ACPA SELON INDICATION DU DPN (Xiang)

TABLE 7 | The results of karyotype and SNP-array Analysis in 4022 samples.

Classification	Detected by Karyotyping (no.)	Consistent with SNP-array results (no.)
Normal	3665	3379 ^a
Trisomy 21	75	75
Trisomy 18	29	29
Trisomy 13	9	9
48,XXY, +18	1	1
45,X	5	5
47,XXY	25	25
47,XYY	3	3
47,XXX	4	4
69,XXX	2	2
Mosaic	19	13 ^b
Structural rearrangement	185	27 ^c
Total	4022	3572

^aSNP-array analysis revealed additional 286 abnormal results including 2 cases of mosaic 45, X, 19 cases of LOH and 265 cases of microduplication/microdeletion.

^b3 cases of low-level mosaic aneuploidy (47,XY, + 20[6]/46,XY[44]; 47,XX, + 18[2]/46,XX[68]; 47,XX, + 2[4]/46,XX[55]) and 3 cases of mosaic balanced structural rearrangement (46,XY,t(5;16)(q15;p10)[3]/46,XY [47]; 46,XX,t(1;3)(p10;q10)[4]/46,XX[46]; 46,X,inv(Y)(p11.2q11.23)[34]/46,X,inv(Y)(p11.2q11.23),t(1;16)(q21;q13.1)[16]) were not detected by SNP-array, while SNP-array additionally detected 1 case of LOH and 1 case of microduplication (**Supplementary Figure 1**).

^c147 cases of structural rearrangement including balanced structural rearrangement, chromosomal heteromorphisms and marker chromosomes were not detected by SNP-array, while SNP-array additionally detected 1 case of mosaic trisomy 22 and 10 cases of microduplication/microdeletion.

COMPARAISON ACPA/CARYO (Xiang 2020)

- 📌 Sur 4022 patientes avec caryo + ACPA:
 - 151 aneuploïdies+ 2 triploïdies (visibles sur les 2 analyses)
 - 286 / 389 anomalies ACPA avec caryotype normal:
 - 265 microdélétions/microduplications de 99 kb à 6,3 Mb
 - 19 LOH
 - 1 monosomie X en mosaïque (non décelée au caryotype)

185 remaniements de structure équilibrés vus au caryotype et non en ACPA

L' ACPA augmente de 1,7% le taux d'anomalies détectées.

→ faire caryo + ACPA

Recommandations ACOG/SMFM (2018)

- Dans le cadre du prénatal, il était recommandé de faire une ACPA dans les cas de signes d'appel échographique uniquement (ACOG 2013, SMFM 2016)

Etude réalisée sur 3234 patientes (HAY et al . 2018):

4,7 % des patientes avec SAE ont une anomalie non visible au caryotype

2,5% des patientes sans SAE ont une anomalie non visible au caryotype

Le risque de remaniement équilibré visible au caryotype et non en ACPA (aide au Conseil génétique) serait de 0,09%

→ Proposer ACPA quelle que soit l'indication du DPN



Biomnis



CAS CLINIQUES

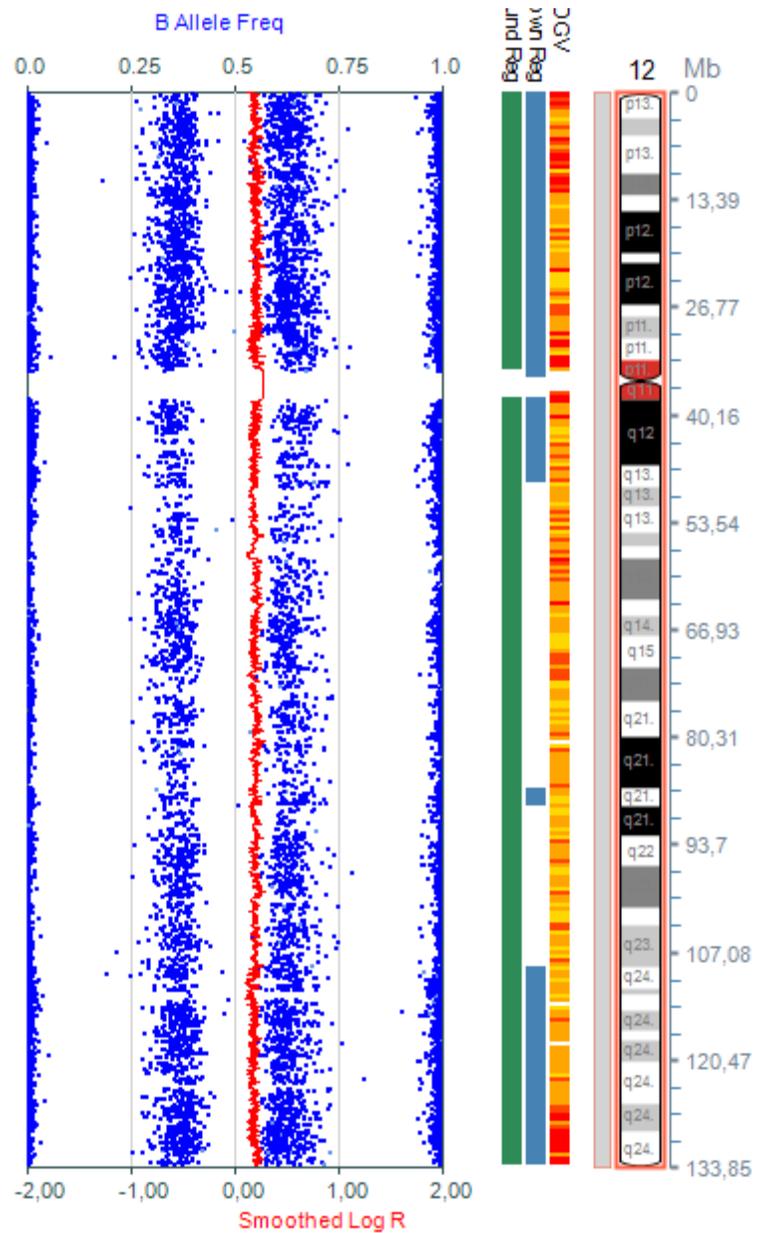
CAS 1

Patiente de 42 ans

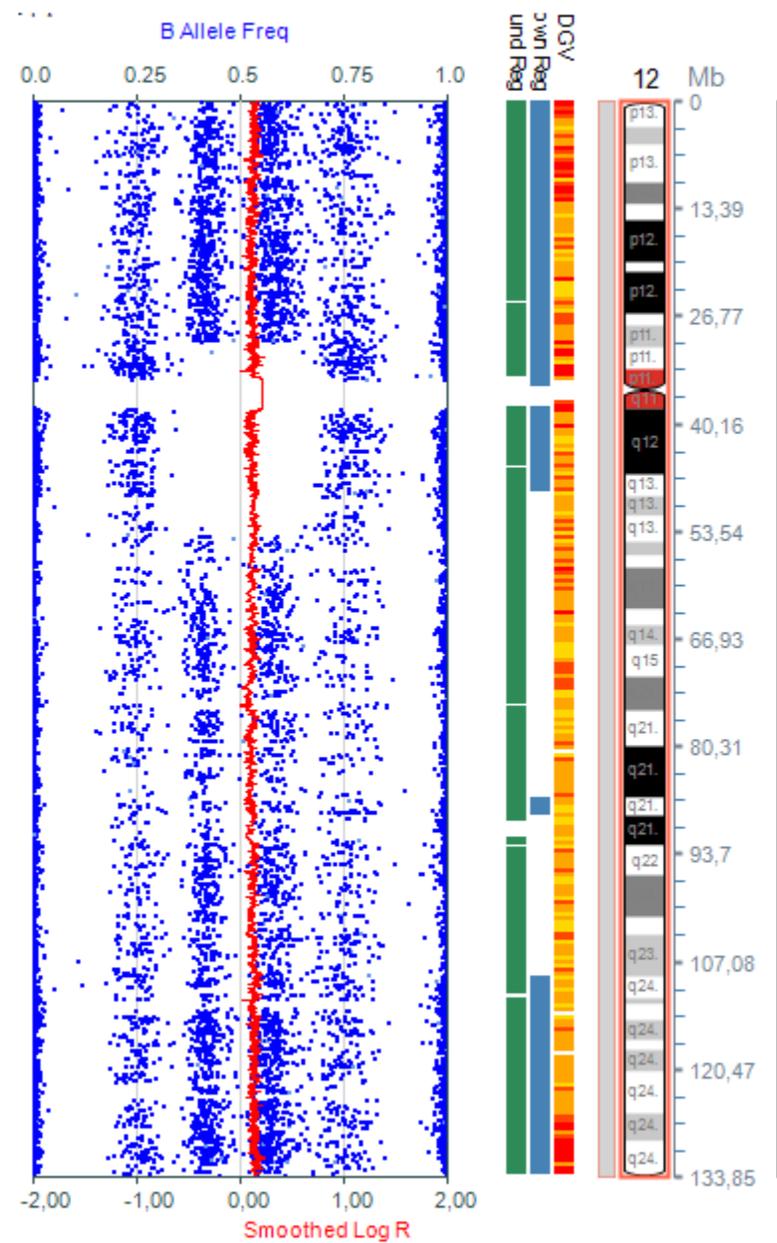
- ❧ Grossesse gémellaire BCBA post FIV, discordance de croissance
 - ❧ **PVC** jumeau « petit »
 - ❧ QF PCR normale
 - ❧ ACPA : Trisomie 12 complète et homogène
 - ❧ CARYOTYPE : Trisomie 12 complète et homogène
 - ❧ **PLA**: ACPA T12 35%; CARYO: T12 2/25
-
- ❧ Mort fœtale in utero du fœtus avec trisomie 12

-> *caryotype = ACPA*

Trisomie 12 homogène

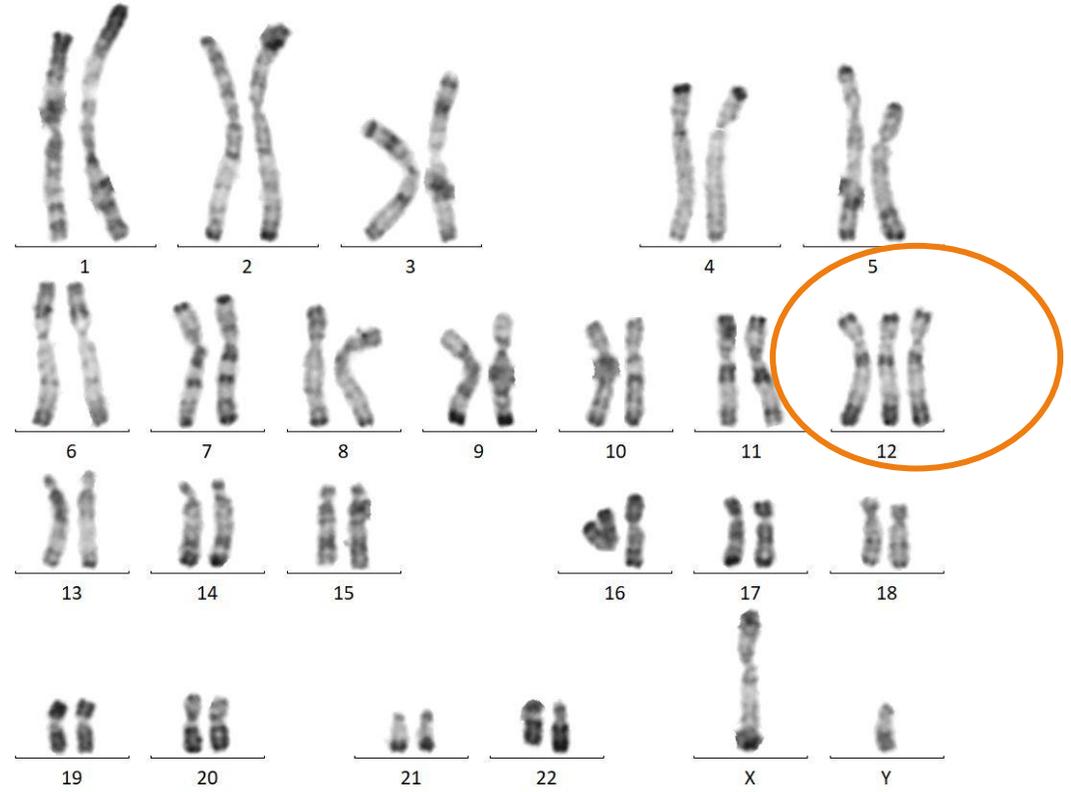


Trisomie 12 en mosaïque





VC



LA

CAS 2

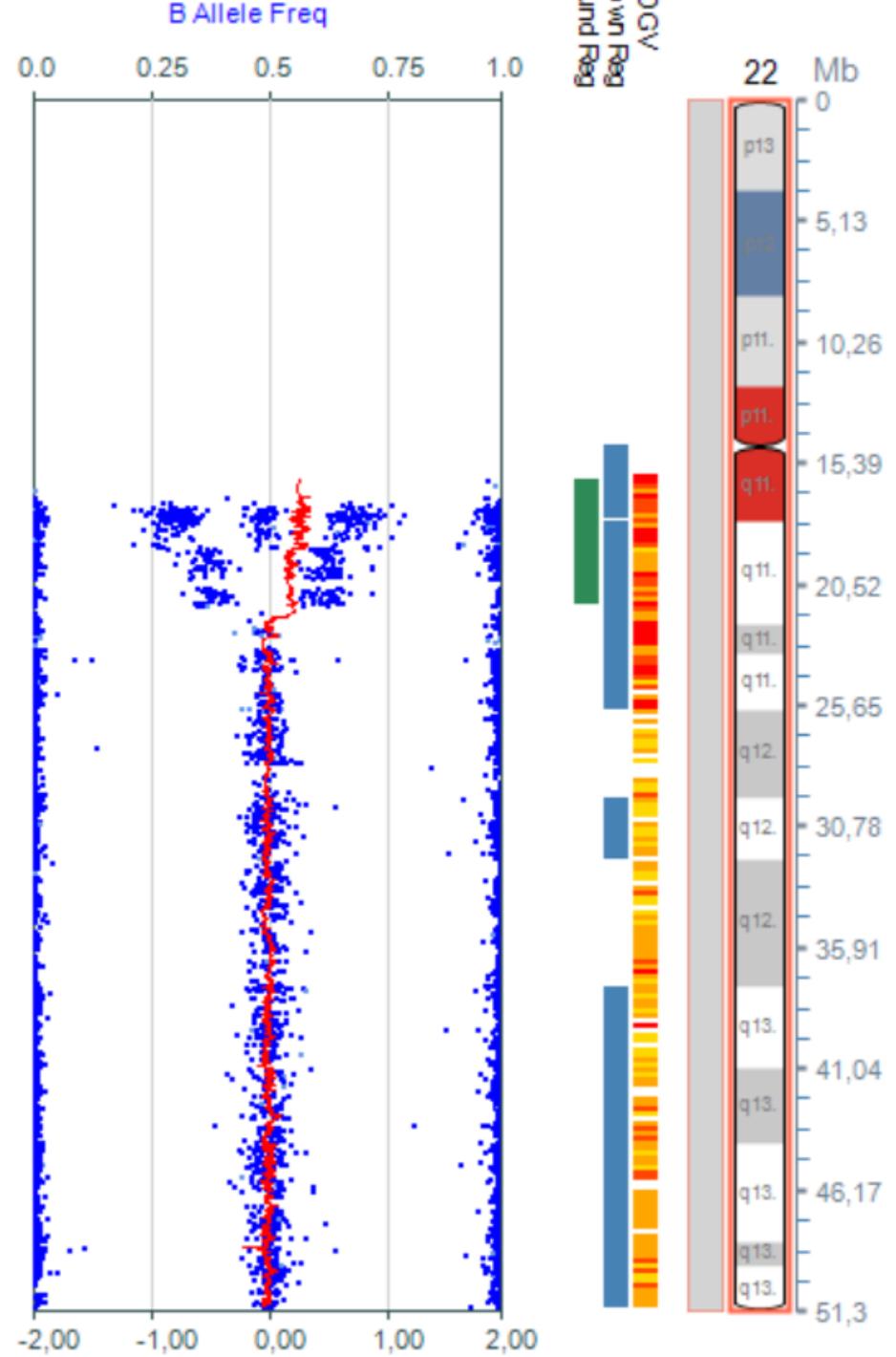
Patiente de 32 ans

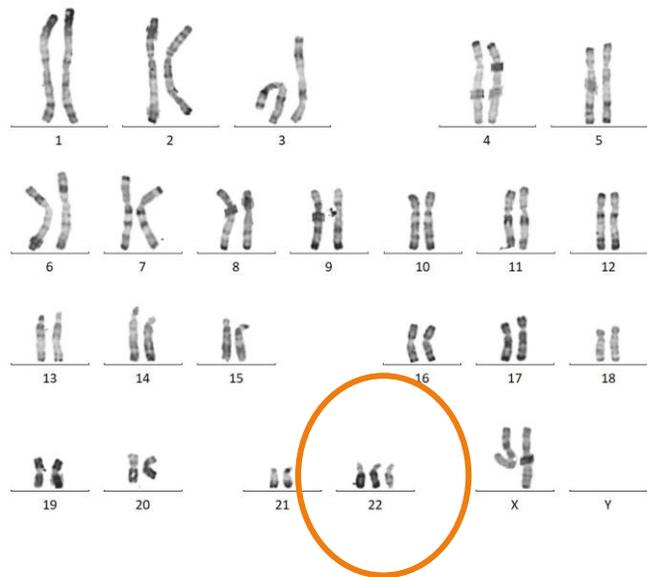
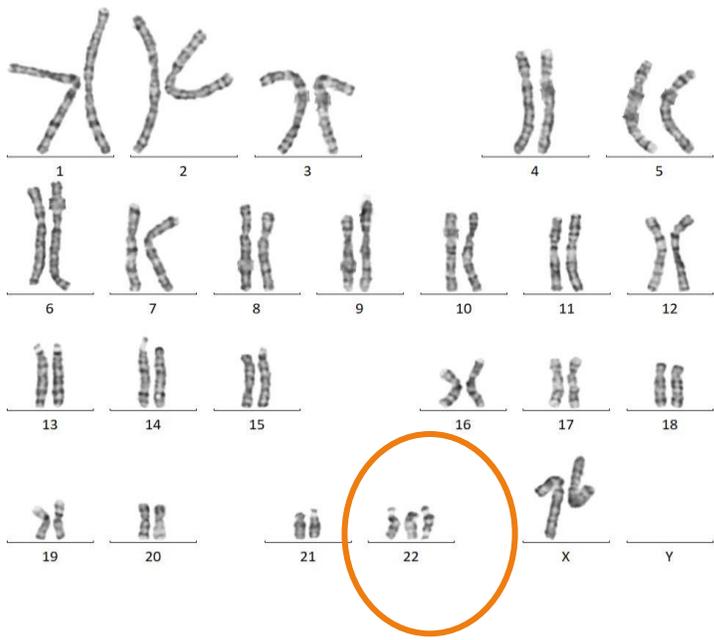
- Echo T2: micrognathie, VCS gauche persistante, oreilles mal ourlées avec nodules prétragien. Corps calleux court
- PLA
- ACPA: triplication 2,9 Mb+ duplication 2,4 Mb comprenant TBX1
- CARYO : tétrasomie 22q11 (CAT EYE)

IMG. Foetopathologie compatible avec le diagnostic de Cat Eye

-> *le caryotype précise les données de l'ACPA; l'ACPA précise l'étude FISH à réaliser*

Duplication/
Triplication 22q.11.2

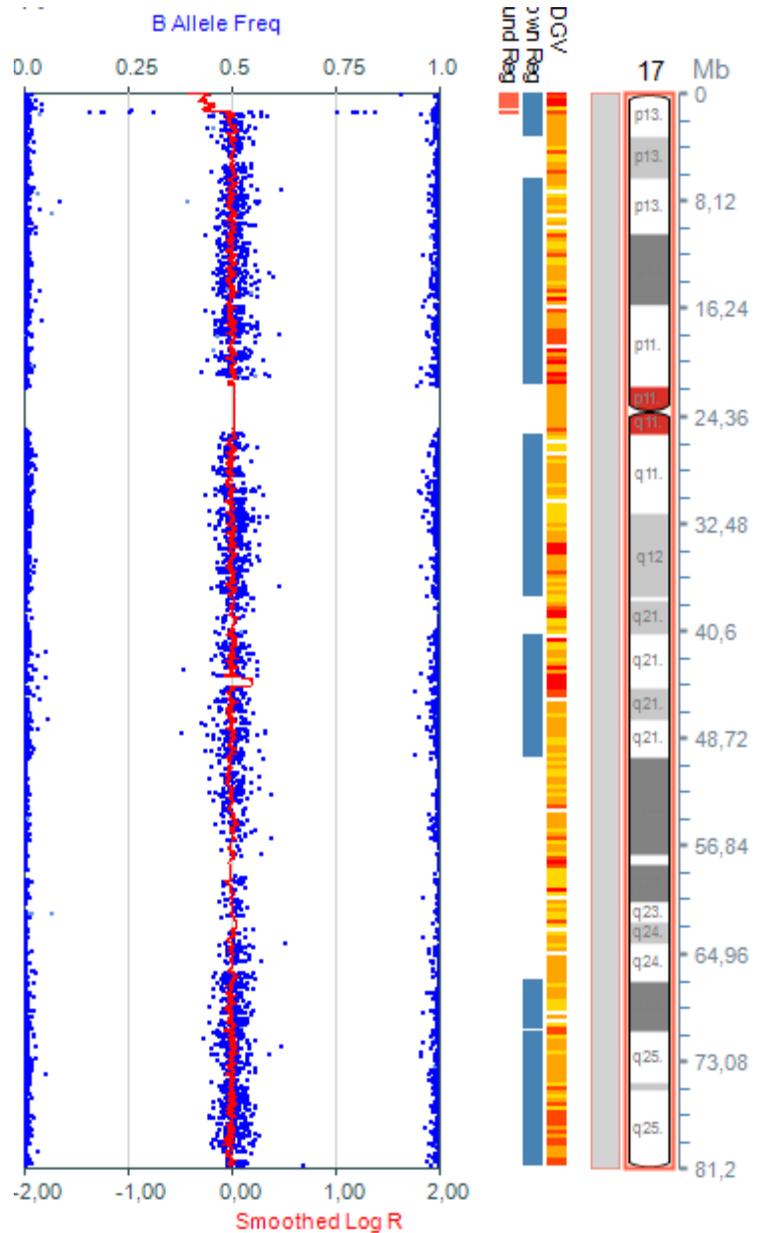


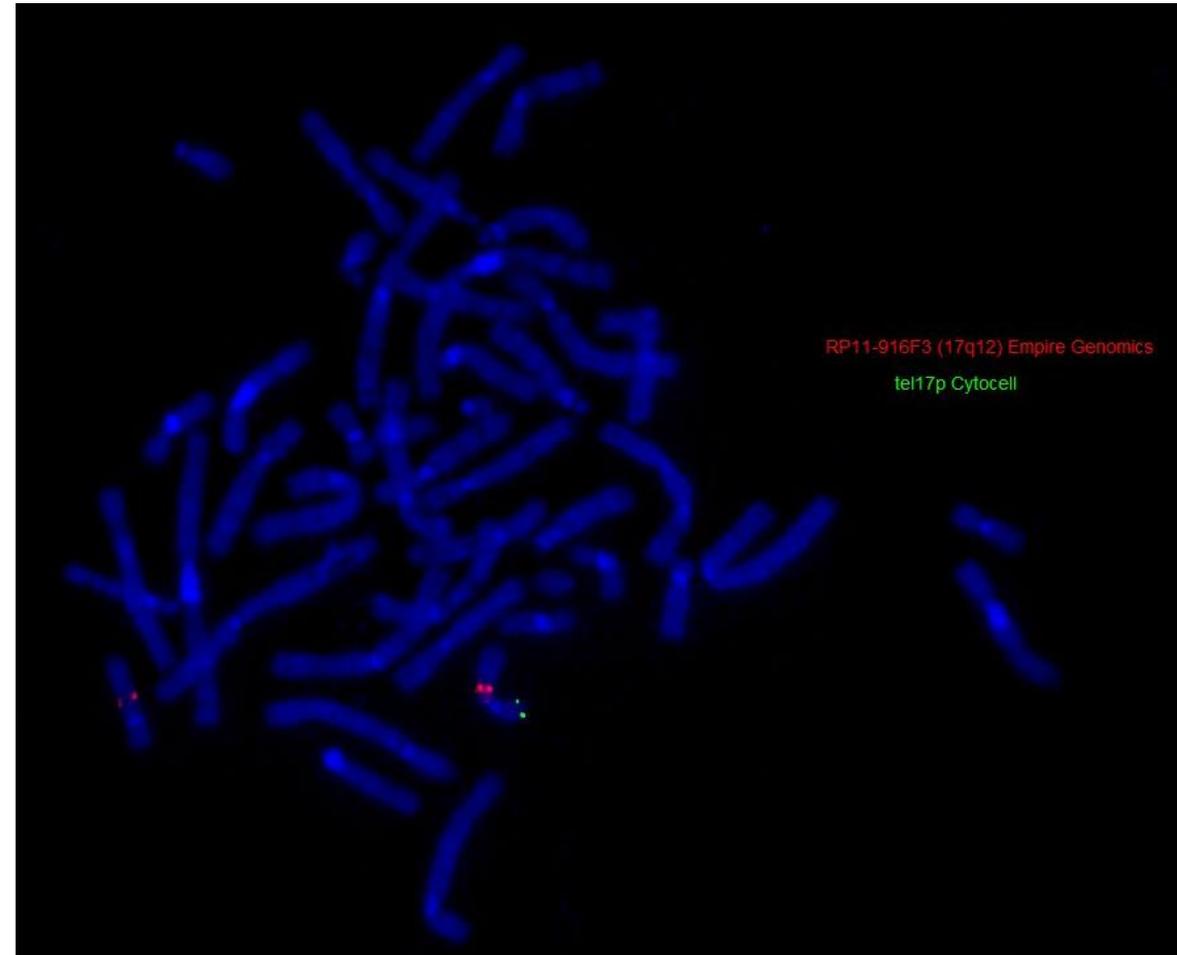
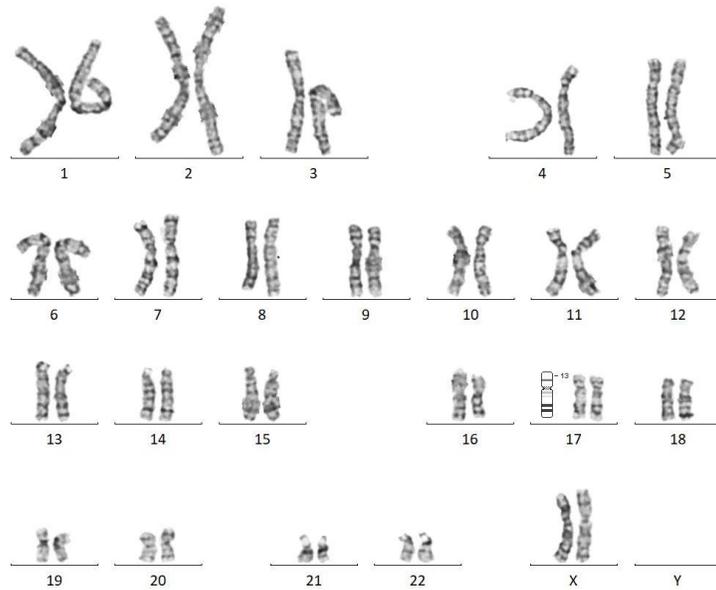
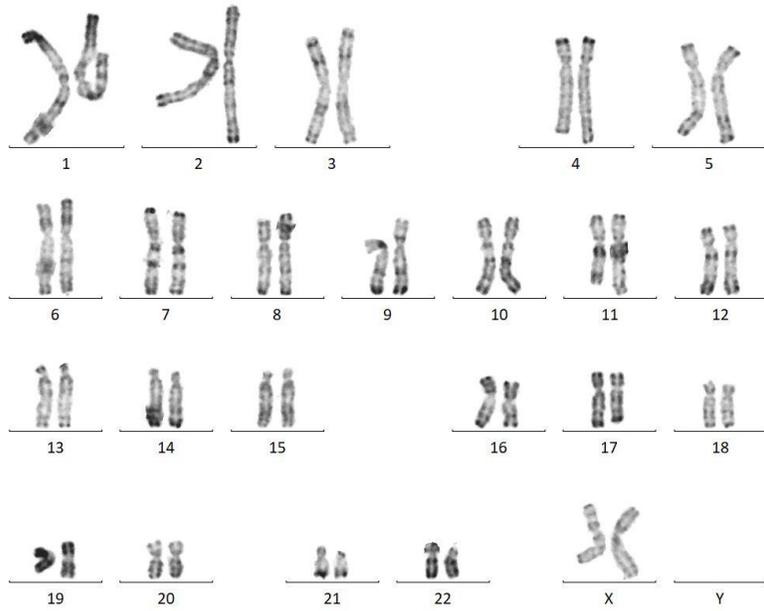


CAS 3

- ❖ Patiente 39 ans
 - ❖ MSM 1er trimestre 1/23 avec clarté nucale 2,9 mm
 - ❖ PLA
 - ❖ ACPA : délétion 17p13.3 de 1,4 Mb (distincte de LIS1, mais CNV pathogène)
 - ❖ Caryotype normal . FISH : del 17p13.3
 - ❖ IMG car CNV pathogène
- ➔ *détection par ACPA; non vu si caryo en 1^{ère} intention*

Délétion 17p13.3





CAS 4

Garçon de 5 ans.

- Troubles du spectre autistique. Déficience intellectuelle.

- ACPA

duplication interstitielle 1q21.1q21.2 de 2,6 Mb classée PIEV

duplication interstitielle 8p23.1 de 577 kb classée VUS

- Caryotype + FISH chez l'enfant:

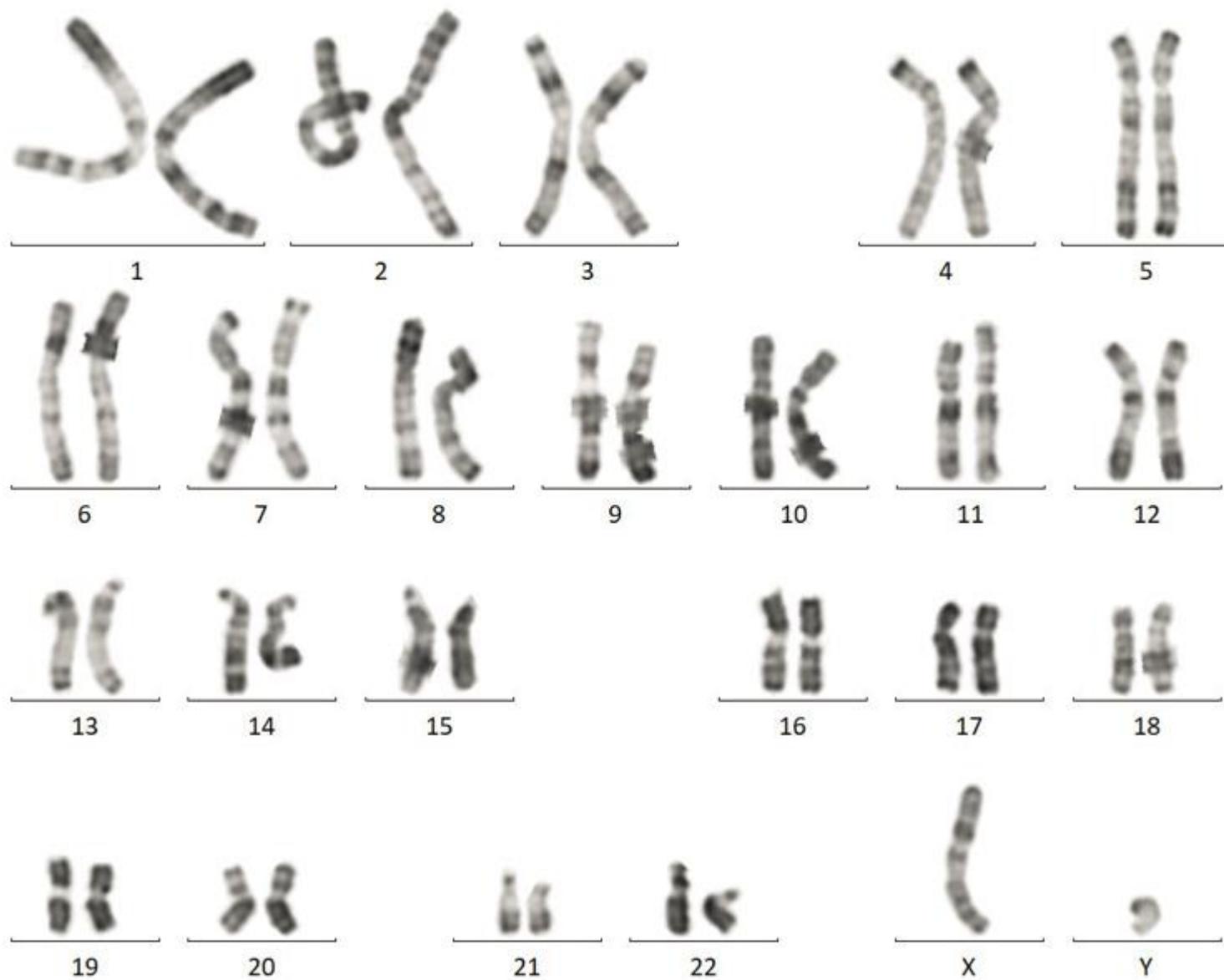
confirmation des 2 duplications

- Caryotype +FISH chez les parents:

duplication 1 retrouvée chez le père

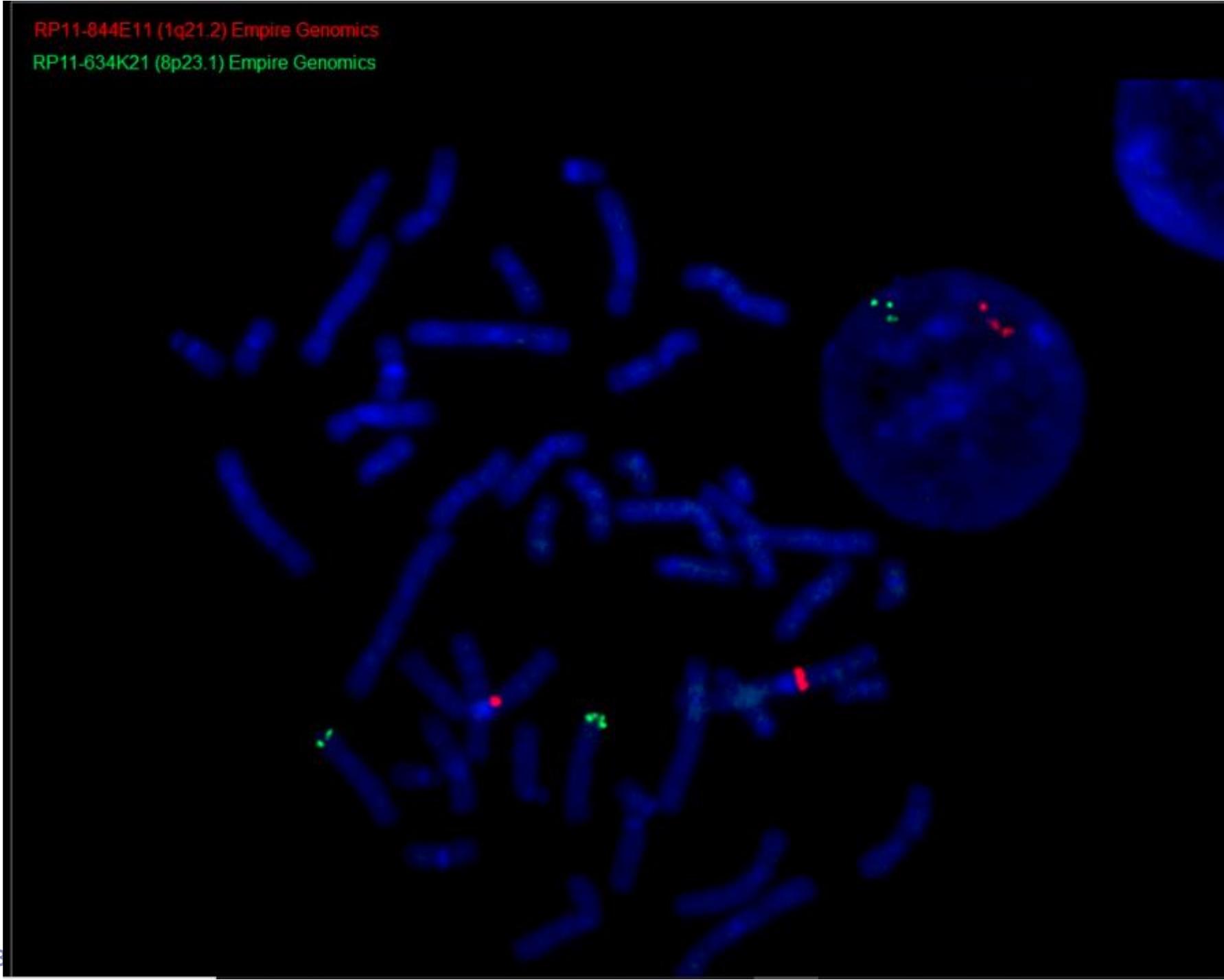
duplication 8 retrouvée chez la mère

Duplications non détectées au caryotype mais lien phénotype /génotype difficile



RP11-844E11 (1q21.2) Empire Genomics

RP11-634K21 (8p23.1) Empire Genomics



CAS 5

- ❖ Patiente de 42 ans
- ❖ Cardiopathie conotruncale curable, fente palatine, reins hypertrophiés, chevauchement des orteils, corps calleux épaissi, hydramnios

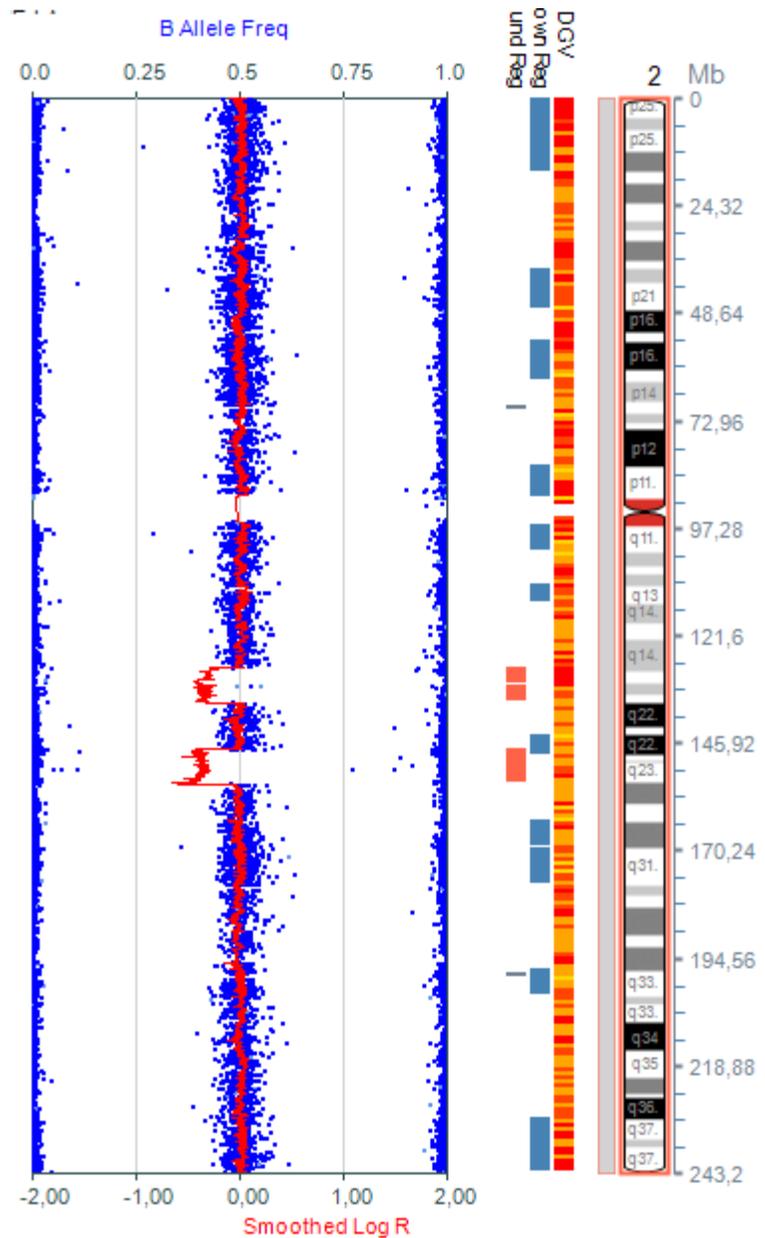
- ❖ PLA à 30 SA:
QF PCR normale

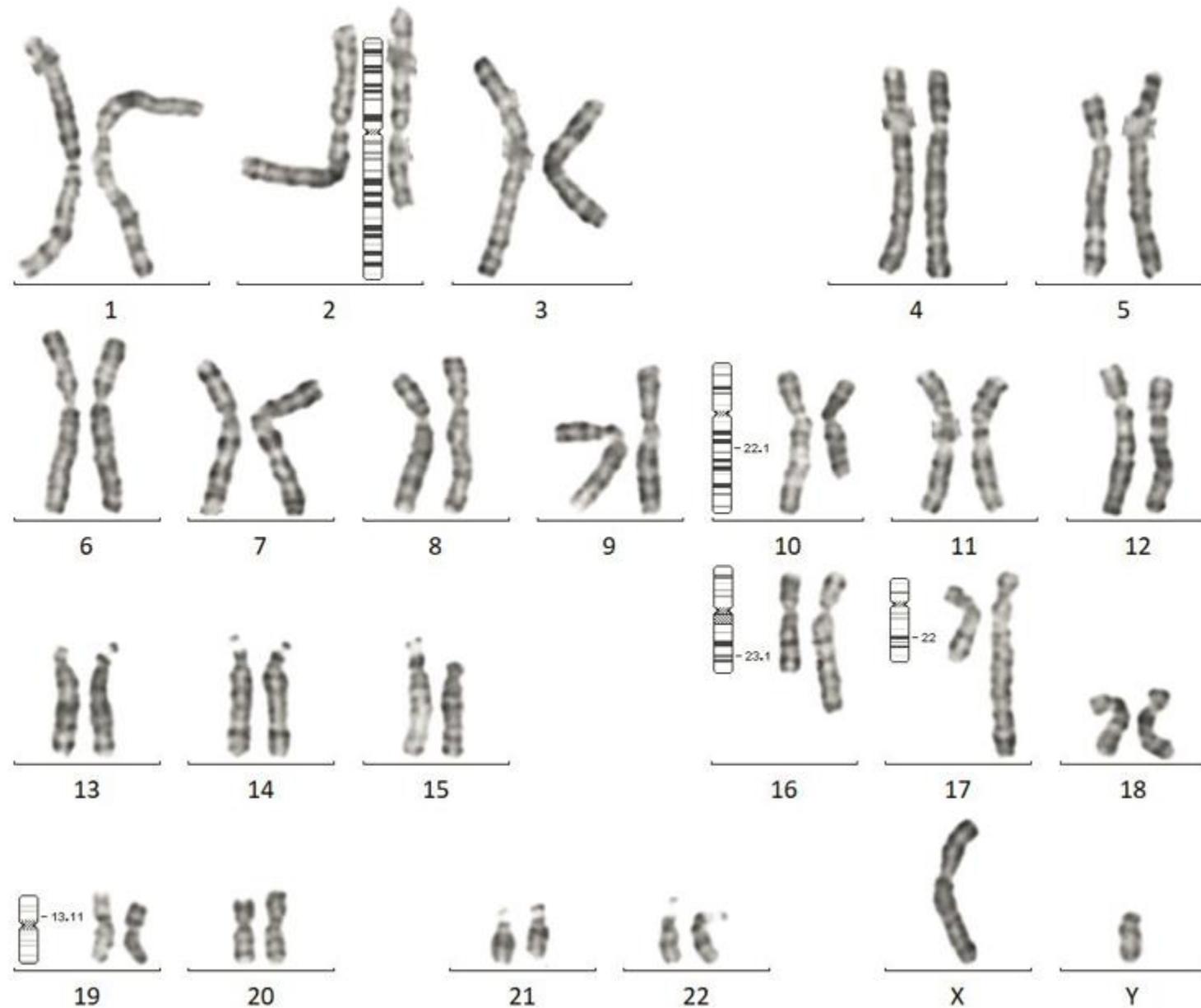
- ❖ ACPA: 2 délétions interstitielles distinctes sur 2q (7,6 Mb et 7,8 Mb).
- ❖ CNV pathogènes
- ❖ Caryotype: anomalies complexes 2p, 2q, 3p, 3q, 10q, 16q,17q,19p

Grossesse menée à terme mais décès néonatal précoce.

→ *Anomalies déséquilibrées en ACPA + autres anomalies sur caryotype (équilibrées mais...)*

Délétion 2q



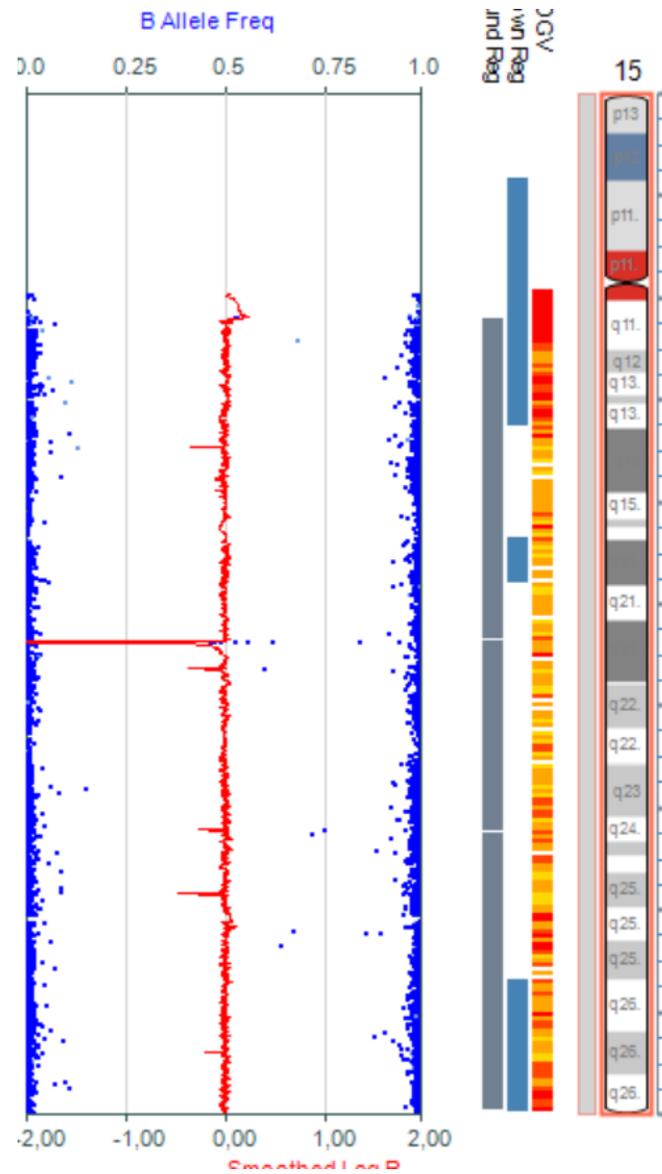


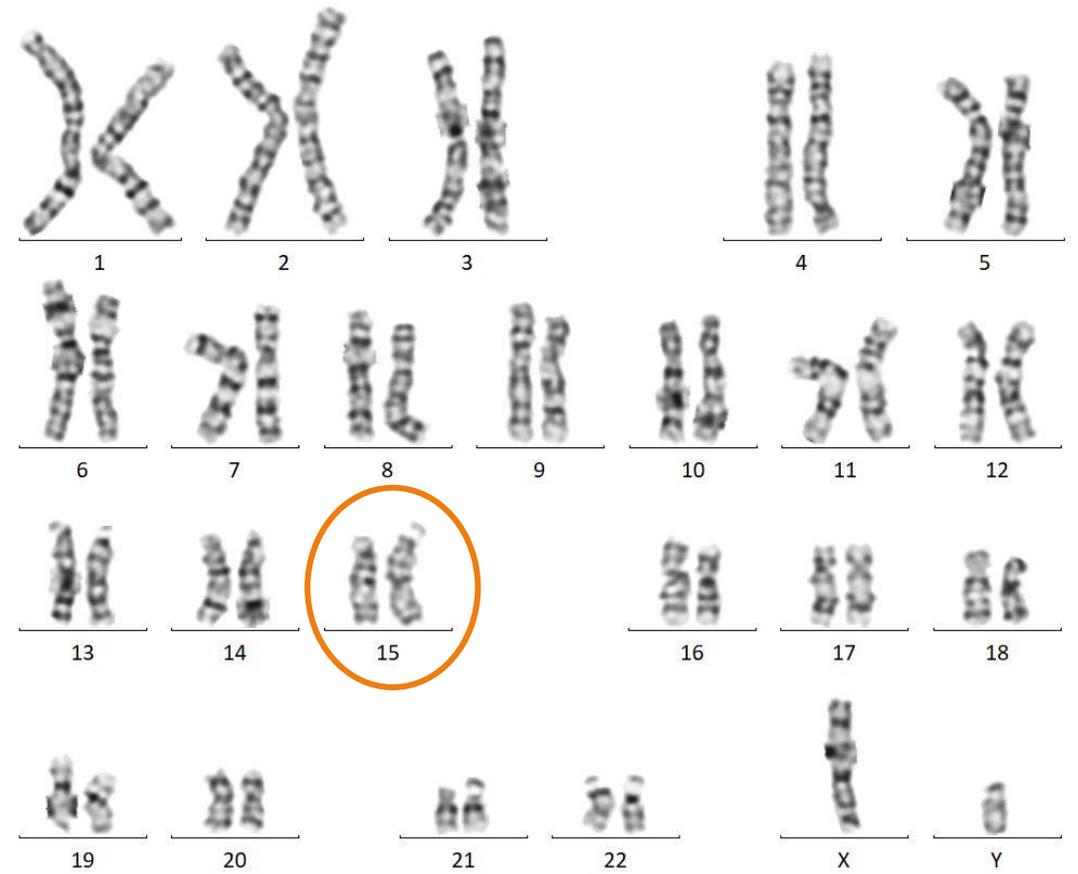
CAS 6

Nourrisson de 2 mois

- ❧ Troubles succion/déglutition, cryptorchidie, blépharophimosis, dysplasie pavillon des oreilles .
- ❧ Suspicion de syndrome d'OHDO ou SBBYS (hypothyroïdie, dysmorphie, polydactylie, déficience intellectuelle, cryptorchidie chez le garçon). Dû à un variant hétérozygote du gène KAT6B en 10q22
- ❧ Exome trio demandé en 1^{ère} intention: AUCUN VARIANT PATHOGENE IDENTIFIE
- ❧ ACPA simultanée (SNP array): Isodisomie Uniparentale complète du 15
- ❧ Microsatellites: confirme l'isodisomie uniparentale du 15
- ❧ Etude de Méthylation: allèle maternel seul
- ➔ **DIAGNOSTIC = SYNDROME DE PRADER WILLI**
- ❧ Pas de caryotype car mécanisme déjà mis en évidence et absence de délétion en ACPA

LOH sur la totalité
du chr. 15







Biomnis



CONCLUSION

- ❖ Evolution continue des technologies et des connaissances.
- ❖ Nécessité d'un accès aux différentes technologies pour éviter ou au moins raccourcir l'«errance diagnostique»: laboratoires proposant plusieurs technologies ou réseaux inter-laboratoires, prise en charge financière des examens, personnels formés
- ❖ Intérêt persistant de la cytogénétique conventionnelle en 1^{ère} intention (bilans d'infertilité) mais aussi en complément des technologies plus récentes
- ❖ Collaboration indispensable clinico-biologique pour le choix des analyses, leur interprétation et l'information des patients.



Biomnis



**MERCI POUR VOTRE
ATTENTION
questions?**



Biomnis