



RAPPORT FINAL des EEQ constitutionnel de la session octobre-novembre 2015

Comité de pilotage : JM Dupont, M Doco-Fenzy, C Missirian, MC Combrisson, D Sanlaville

Experts : N.Joye, A.Moncla, S.Brisset, A Coussement, C.Leroy, M.L.Maurin, M Till, G Nadeau, MC Combrisson, H Dessuant, N.Douet, G Lefort, B Simon Bouy, H Karmous, V Petit, MC de Blois, A Schneider, M Jimenez, C Missirian

Planning

La session s'est déroulée du 20 septembre 2015 au 30 mai 2016

- *Inscription : 30 09 – 30 10 2015*
- *Soumission : 01 10 – 31 10 2015*
- *Expertise du : 01 11 2015 – 27 01 2016*
- *Synthèse avec réunion des experts le 15 janvier 2016 :*
- *Libération des rapports individuels : 28 01 2016*
- *Droits de réponse du 30 janvier au 21 février*
- *Réponse aux droits de réponse après avis pris auprès des experts et du comité de pilotage du 05 mars au 31 mai 2016*
- *Fermeture prématurée des droits de réponse en avril 2016*
- *Rédaction du rapport final le 2 juin 2016*

Pour chaque tissu 2 dossiers étaient proposés : 1 dossier prospectif et 1 rétrospectif

Dossiers rétrospectifs

Dossier PVC rétrospectif : dossier normal

Dossier LA rétrospectif : dysgonosomie

Dossier sang rétrospectif : anomalie de structure

Nous détaillerons les dossiers prospectifs :

1. EEQ Prospectif sur PVC

Cas clinique proposé

Dossier clinique

Prélèvement de villosités choriales réalisé chez Mme D.A. DN 24/03/1974 le 28/09/2015 sur signe d'appel biologique du 1er trimestre à 1/87.

Le prélèvement a été réalisé à 14 SA chez cette patiente sans antécédents particuliers ni son conjoint. Il est de bonne qualité.

Il s'agit de sa troisième grossesse. L'attestation du médecin prescripteur (Dr EEQ) et le consentement de la patiente ont bien été reçus par le laboratoire avec le prélèvement le 29/09/2015.

Un examen direct a été réalisé ainsi qu'une mise en culture.

Notation PVC prospectif
Nombre total de métaphases que vous avez analysées y compris les métaphases classées : >11
Combien de caryotypes avez-vous classés parmi les mitoses analysées? : >2
Mitose RHGd6 : 300
Mitose GTG3 : 400
Mitose RHG7 : 300
Mitose RHG2 : 400 et 550
résolution globale : 400
La résolution du dossier est-elle compatible avec l'indication clinique? : oui
Demandez vous une FISH? Si oui précisez la(es)quelle(s) et expliquez pourquoi, si non expliquez pourquoi : 1 pt si claire
La(es) FISH choisie est-elle ou sont-elles adaptée ? 1pt si adaptée
Evaluation de la formule ISCN : trisomie 18 en mosaïque ou formule normale
La formule ISCN de la FISH si réalisée est-elle rédigée? : '-1 si FISH faite mais pas de formule
Les caryotypes sont-ils correctement interprétés? (Le remaniement si il existe est-il correctement identifié?) (note critique) : discordance foeto-placentaire de trisomie 18
Les conséquences éventuelles du remaniement pour le patient sont-elles mentionnées dans le compte rendu ou dans un courrier associé ? : • conséquence • proposition de LA
La formule chromosomique est-elle décrite en clair, expliquée et interprétée (intelligible pour le clinicien)
Le commentaire mentionne-t-il la nécessité d'un conseil génétique et d'une enquête familiale si besoin ?
La rédaction du compte rendu suit-elle les recommandations du GBPC
cf recommandation arbre décisionnel : caryotype sur villosités choriales
sur 19pt

Exemple de réponse pour les PVC

Centre, Lab....., DrAdresse
 Patient : Mme D. A
 Prescripteur : service/Dr.....adresse
 Né le : 24.03.1974 Âge : 41 ans
 Sexe : F
 Date de prélèvement : 28/09/2015
 Date de réception : 29/09/2015
 Nature du prélèvement : villosités choriales
 Aspect du prélèvement : bonne qualité
 Terme : 14SA
 Dossier n° :

COMPTE-RENDU D'EXAMEN CYTOGENETIQUE

INDICATION : Signe d'appel biologique du 1^{er} trimestre 1/87

CARYOTYPE SUR VILLOSITES CHORIALES

- EXAMEN DIRECT

Nombre de mitoses analysées : 10
 Nombre de mitoses caryotypées : 3
 Marquage : RHG
 Résolution globale : 300 bandes

FORMULE CHROMOSOMIQUE :

47,XY,+18[8]/46,XY[2].nuc ish(DXZ1x1,DYZ3x1,D18Z1x3)[95/100]

CONCLUSION SUR EXAMEN DIRECT :

Formule chromosomique masculine à 47 chromosomes. Présence de trois chromosomes 18 sur 8 des 10 cellules examinées. Compte-tenu du faible nombre de mitoses analysées, une mosaïque ne peut être exclue. Ce résultat a été confirmé en FISH sur examen direct (cf résultats FISH) et doit être confirmé sur cultures cellulaires. Une consultation de conseil génétique doit être réalisée.

- EXAMEN APRES CULTURE :

Nombre de mitoses analysées : 20
 Nombre de mitoses caryotypées : 4
 Marquage : RHG, GTG
 Résolution globale : 400 bandes

FORMULE CHROMOSOMIQUE :

46,XY.ish Xp11.1q11.1(DXZ1x1),Yp11.1q11.1(DYZ3x1),18p11.1q11.1(D18Z1x2)

Ou

la région centromérique pouvant être également désignée par le préfixe "cen",
 46,XY.ish Xcen(DXZ1x1),Yp11.1q11.1(DYZ3x1),18cen(D18Z1x2)

CONCLUSION SUR CULTURE :

Caryotype masculin sans anomalie décelée sur les cellules examinées avec la technique utilisée.

Cette technique ne détecte pas en routine les remaniements chromosomiques de très petite taille. ATTENTION : L'examen des chromosomes après culture ne retrouve pas la trisomie 18 observée sur l'examen direct. Cette DISCORDANCE ENTRE L'EXAMEN DIRECT ET LA CULTURE peut correspondre :

- Soit à une mosaïque confinée au placenta
- Soit à une mosaïque fœtale non dépistée sur les cellules en culture.

Ces résultats doivent être confrontés aux données cliniques du fœtus (échographie de référence) et un nouveau prélèvement fœtal par ponction de liquide amniotique doit être discuté dans le cadre du CPDPN.

Une consultation de conseil génétique doit être réalisée.

Le.....

Dr....., signature

2. EEQ de cytogénétique Prospectif sur Liquide amniotique

Cas clinique

LA Prospectif

Renseignements cliniques :

Amniocentèse de Mme G, prénom L, née le 01/12/1983
 Motif de la demande : signes d'appel échographiques :
 Fémur 16eme percentile, suspicion d'une petite CIV sous valvulaire ou CAV incomplet
 ATCD familiaux : pas d'ATCD
 3^{ème} geste, 3^{ème} pare
 Consentement et attestation de consultation reçus par le laboratoire
Renseignements sur le prélèvement :
 Examen demandé et prélevé le 23/12/14 par le Dr EEQ, à 25 SA
 Date de réception au laboratoire : 24/12/14
 Liquide citrin, mitoses obtenues in situ, sur 4 supports de culture.

notation LA prospectif
anomalie du 21
Combien de caryotypes avez-vous classés parmi les mitoses analysées? : >2
Indiquez le nombre total de métaphases analysées: >11
Mitose R 536: 400 OU 550
Mitose R 342: 400
Mitose G3: 400 ou 550
Mitose G 6: 300 OU 400
résolution globale: 400 ou 550
La résolution du dossier est-elle compatible avec l'indication clinique?: oui
Demandez vous une FISH? Si oui précisez la(es)quelle(s) et expliquez pourquoi, si non expliquez pourquoi: oui, pour caractériser l'anomalie
La(es) FISH choisie est-elle ou sont-elles adaptées ? : 1pt pour peinture du 21 ET télomères, 0,5 si une seule sonde
Evaluation de la formule ISCN : notion de dicentrique, ou isodicentrique ou de "der "
La formule ISCN de la FISH est-elle rédigée?: oui
Les caryotypes sont-ils correctement interprétés ? (Le remaniement (ou l'absence) est-il correctement identifié?) (note critique) :
3 pts pour anomalie du chromosome 21 et présence de 3 bras q de 21
La formule chromosomique est-elle décrite en clair, expliquée et interprétée (intelligible pour le clinicien) :
présence de 2 centromères, chromosome 21 symétrique, correspond à une trisomie 21
Le compte rendu est-il conforme au guide des bonnes pratiques : cf formulaire
Le commentaire précise-t-il le lien éventuel (ou l'absence de lien) avec le phénotype ? : phénotype de trisomie 21 ou syndrome de down
Le commentaire précise-t-il la nécessité d'un conseil génétique ET d'une enquête familiale si besoin? : oui
sur 20 points

Exemple de réponse pour le LA

Centre, Laboratoire de Cytogénétique.....Dr.....
 Patient : G , L
 N° de dossier
 Par : Dr EEQ
 Né(e) le : 01/12/1983 Age :31 ans
 Adresse

Sexe : F
 Date de prélèvement : 23/12/2014
 Date de réception : 24/12/2014
 Nature du prélèvement : Liquide amniotique, Volume.....
 Aspect du prélèvement : Citrin
 Terme : 25SA

COMPTE-RENDU D'EXAMEN CYTOGENETIQUE

INDICATION

Signes d'appel échographiques (suspicion de cardiopathie, fémur au 16^{ème} percentile)

- CARYOTYPE SUR LIQUIDE AMNIOTIQUE

Nombre de mitoses analysées : 21
 Nombre de mitoses caryotypées : 21
 Marquage : RHG GTG
 Technique
 - In Situ :
 Nombre de lames in situ : 4
 Nombre de clones (1 cellule/clone) : 21
 - Trypsine :
 Nombre de flacons analysés : 0
 Nombre de cellules analysées : 0
 Degré de résolution globale : 550 bandes

FORMULE CHROMOSOMIQUE :

46,XX,idic(21)(q22.3).ish idic(21)(q22.3)(D13Z1/D21Z1++,wcp21+,21qtel-)

CONCLUSION :

Caryotype foetal féminin à 46 chromosomes comportant sur les cellules analysées en cytogénétique conventionnelle un chromosome 21 normal et une anomalie de structure déséquilibrée d'un chromosome 21, observée dans l'ensemble des cellules analysées.

Ce chromosome remanié est un isodicentrique du chromosome 21 généré par une cassure suivie d'une réunion des extrémités terminales des bras longs de 2 chromosomes 21. Cette anomalie est à l'origine d'une trisomie 21 concernant la quasi-totalité du bras long et d'une monosomie de la région subtélomérique de ce bras long. Ce remaniement a été confirmé par la technique de FISH (cf CR FISH).

Ce résultat permet d'expliquer les signes d'appel échographiques retrouvés (cardiopathie et fémur court). Un conseil génétique est nécessaire. Un caryotype parental pourra être proposé. Une prise en charge pluridisciplinaire dans le cadre d'un CPDPN doit être également proposée.

Remarque : à noter la présence d'une métaphase comportant 3 chromosomes 21 distincts, probablement secondaire à une cassure de l'isodicentrique.

- CYTOGENETIQUE MOLECULAIRE (FISH)

SONDES fluorescentes utilisées: (FISH) sur cellules amniotiques cultivées :

Sonde(s) utilisé(e)s :

wcp21 : Fournisseur : Vysis

D13Z1/D21Z1 (alpha satellite 13/21): Oncor

21qtel (Région subtélomérique 21q, TelVysion 21q): Vysis

RESULTATS FISH (ISCN 2013): ish idic(21)(q22.3)(D13Z1/D21Z1++,wcp21+,21qtel-)

ou

46,XX,idic(21)(pter→q22.3::q22.3→pter).ish idic(21)(wcp21+,D13Z1/D21Z1++,VIJyRM2029-)

CONCLUSION FISH :

Une étude complémentaire par FISH a montré que la sonde spécifique de la région centromérique des chromosomes 13 et 21 génère 1 signal d'hybridation aux 2 extrémités du chromosome 21 remanié. La sonde spécifique de la région subtélomérique du bras long du chromosome 21 ne génère pas de signal d'hybridation sur le chromosome remanié. La sonde de peinture du chromosome 21 peint le chromosome remanié dans sa totalité.

Ce résultat est en faveur d'un isodicentrique ou dicentrique du chromosome 21 (avec présence de 2 régions centromériques et perte des régions subtélomériques), deux bras longs réunis au niveau de la région q22.3, et confirme le résultat du caryotype (cf CR caryotype). Absence d'autre chromosome impliqué dans ce remaniement avec la sonde de peinture utilisée.

Interprétation ;

Il résulte de ce remaniement déséquilibré une trisomie 21q partielle qui corrèle avec les éléments échographiques (fémur raccourci, canalatrio-ventriculaire).

Il s'agit le plus probablement d'une anomalie de survenue accidentelle, mais de principe, les caryotypes parentaux sont à vérifier.

Une consultation de conseil génétique est recommandée.

Ce résultat ne permet pas d'éliminer un autre microremaniement chromosomique.

Date de compte-rendu.....

Validation biologique: Dr

signature

3. EEQ de cytogénétique Prospectif sur sang constitutionnel

Histoire clinique :

Mme M., née le 03/07/1991 (24 ans), est adressée pour caryotype en raison d'une déficience intellectuelle avec dysmorphie faciale. Cette consultation a été motivée par la soeur de Mme M. qui est enceinte et qui s'inquiète pour sa grossesse.

Mme M. a présenté un retard des acquisitions psychomotrices portant notamment sur la marche et un retard de langage ayant conduit à une scolarité présentée comme difficile.

Elle présente un phénotype marfanoïde (1m80 pour 54kg) avec scoliose mais sans hyperlaxité. L'échographie cardiaque est normale de même que l'IRM cérébrale.

On note un rétrognathisme, un palais ogival, une mal-implantation dentaire et une amblyopie de l'oeil gauche (sans autre manifestation ophtalmique).

Un prélèvement sanguin conforme à vos besoins réalisé la veille à 10h30 vous parvient au laboratoire

notation sang prospectif
Anomalie de nombre de l'X
Indiquez le nombre total de métaphases analysées: >15
Combien de caryotypes avez-vous classés parmi les mitoses analysées?:>2
Résolution G 6: 500 OU >550
Résolution G9: 400 OU 550
Résolution R5 : 550
Résolution R10 : 550 OU >550
résolution globale : >550 ou 550
Demandez vous une FISH? Si oui précisez la(es)quelle(s) et expliquez pourquoi, si non expliquez pourquoi : pas obligatoire mais possible 1 point si explication claire
Evaluation de la formule ISCN : 48,XXXX
La formule ISCN de la FISH est-elle rédigée? : '-1 si FISH faite et pas de formule
Le remaniement est-il correctement identifié ? (question critique) : 2 chromosomes X supplémentaires OU tétrasomie X ; pas d'identification partielle dans ce cas
La rédaction du compte rendu suit-elle les recommandations du GBPC en vigueur : cf formulaire
Le remaniement chromosomique est-il décrit, expliqué et interprété dans le texte (intelligible pour le clinicien) ? : 4 chromosomes X dont 2 chromosomes X supplémentaires
Les conséquences éventuelles du remaniement pour le patient sont-elles mentionnées dans le compte rendu ou dans un courrier associé ? : oui
Le commentaire mentionne-t-il la nécessité d'un conseil génétique et d'une enquête familiale si besoin ? : oui
comprend : déficience intellectuelle ET compatibilité avec indication clinique
sur 18 points

EXEMPLE de réponse pour le sang

Copies envoyées à : M. le Docteur EEQ Lieu, le

CARYOTYPE sur Sang

Date de ponction : 01/10/2015

Date de réception : 02/10/2015

Nom : M. Prénom :

Dossier : N°

Date de naissance : 03/07/1991

Médecin traitant : Dr EEQ

Indication : Déficience intellectuelle

TECHNIQUES :

Types de marquages : Bandes R, Bandes G
 Nombre de mitoses caryotypées : 16
 Nombre de mitoses examinées : 21
 FISH interphasique et métaphasique réalisée le..... à l'aide des sondes (EEQ Probe) : CEPX
 Xp11.1-q11.1 (DXZ1)
 Nombre de mitoses examinées : 20
 Nombre de noyaux analysés : 100

FORMULE CHROMOSOMIQUE: 48,XXXX.ish Xp11.1-q11.1(DXZ1x4).nuc ish(DXZ1x4)[99/100]

Remarques :

Présence d'une tétrasomie X homogène confirmée par FISH métaphasique et interphasique à l'aide d'une sonde centromérique du chromosome X. Cette anomalie chromosomique est compatible avec le tableau clinique de la patiente. Une consultation de conseil génétique est indispensable.

Résultat rendu avec les limites de résolution des techniques utilisées (> 550 bandes) et ne permettant pas la détection des microremaniements.

Dr Praticien(s) cytogénéticien(s) nommément autorisé(s)

2eme exemple

Mme M, DN 03/07/91
 Caryotype sanguin
 Date de prélèvement :
 Date de réception au laboratoire :.....
 Médecin prescripteur : Dr
 Indication du caryotype sanguin : Déficience mentale, retard de langage, retard des acquisitions psychomotrices, dysmorphie faciale (rétrognathisme, palais ogival, mal implantation dentaire), phénotype marfanoïde (1.80m/54Kg), scoliose

Date du résultat :

CARYOTYPE SANGUIN POST NATAL

FORMULE CHROMOSOMIQUE: 48,XXXX[20].ish Xcen(DXZ1x4).nuc ish(DXZ1x4)[99/100]

TECHNIQUES de marquage : bandes R et bandes G
 degré de résolution environ 550 bandes.
 Nombre de mitoses analysées : 20
 Nombre de mitoses caryotypées : 5

FISH : Sonde centromérique du chromosome X(EEQ Probe)
 Nombre de mitoses analysées : 20
 Nombre de noyaux examinés : 100

INTERPRETATION

Formule chromosomique anormale présentant dans toutes les cellules examinées une tétrasomie X, confirmée par l'étude en FISH avec la sonde centromérique du chromosome X. Anomalie retrouvée de façon homogène. La tétrasomie X est une anomalie accidentelle.

Résultat compatible avec les signes cliniques présentés par cette patiente.

Patiente à adresser en consultation génétique.

Bilan endocrinien et avis endocrinologue à programmer.

En cas de grossesse, la patiente doit être réadressée en consultation de conseil génétique et un diagnostic prénatal doit être discuté en cas de grossesse évolutive.

Résultat dans les limites de la technique utilisée ne permettant pas d'exclure un microremaniement ou une anomalie de nombre en mosaïque faible.

Dr Praticien(s) cytogénéticien(s) autorisé(s)

4. Etude des notes par groupe 2015

LA	prospectif	groupe 1	groupe 2
	Moyenne groupe	16,59	16,99
	Moyenne nationale	16,79	
	minimum	15,50	12,25
	maximum	20	20

	rétrospectif	groupe 1	groupe 2
	Moyenne groupe	16,27	16,75
	Moyenne nationale	16,2	
	minimum	9,80	11,6
	maximum	19,60	20

PVC	prospectif	groupe 1	groupe 0
	Moyenne groupe	17,32	17,36
	Moyenne nationale	17,34	
	minimum	13,16	9,47
	maximum	20	20

	rétrospectif	groupe 1	groupe 0
	Moyenne groupe	18,36	18,42
	Moyenne nationale	18,39	
	minimum	13,80	12,80
	maximum	20	20

sang	prospectif	groupe 1	groupe 2
	Moyenne groupe	18,41	18,11
	Moyenne nationale	18,26	
	minimum	14,44	15,56
	maximum	20	20

	rétrospectif	groupe 1	groupe 2
	Moyenne groupe	18,04	18,39
	Moyenne nationale	18,22	
	minimum	11,60	13,20
	maximum	20	20

Dates :

Délais du comité de pilotage pour la réponse : 1^{er} mars 2016 au 1^{er} juin 2016

Rapports type : validation le 10 juin 2016

Bilan final : délivré le 3 aout 2016

5. Droits de réponse

Droits de Réponse : au 20 février 2016

DDR : 31

LIQUIDES AMNIOTIQUES : 13 / 105 dossiers

Pro 7 / 53 dossiers note moyenne (NM) nat 16,79

Groupe 1 : **1 / 26** (pro) NM 16,59 (ND, AM, MJ)

Groupe 2 : **6 / 27** (pro) NM 16,99 (CM, HK, AS)

Retro 6 / 52 dossiers NM nat 16,2

Groupe 1 : **1 / 26** en rétro, NM 16,27

Groupe 2 : **5 / 26** NM 16,75

PONCTIONS VILLOSITES CHORIALES : 6 / 96 dossiers

Pro /49 dossiers NM nat 17,34

Groupe 1 : **3 / 25** NM 17,32 (HD, NJ)

Groupe 0 : **0 / 24** NM 17,36 (SB, AC)

Rétro 3 / 47 NM nat 18,39

Groupe 1 : **3 / 24** NM 18,36

Groupe 0 : **0 / 23** NM 18,42

SANG : 12 / 116 dossiers

Pro 7 / 59 dossiers NM nat 18,26

Groupe 1 : **2 / 29** (pro) NM 18,41 (CL, MM)

Groupe 2 : **5 / 30** (pro) NM 18,11 (MT, GN, VM)

Rétro 5 / 57 dossiers NM nat 18,22

Groupe 1 : **3 / 28** NM 18,04

Groupe 2 : **2 / 29** NM 18,39

Modification des notes :

PVC : pro : 2 Dossiers, rétro : 1 Dossier
LA : pro ; 1 Dossier, rétro : 3 Dossiers
Sang : pro : 5 Dossiers, rétro : 4 Dossiers

Les experts décident que les notes inférieures à 10/20 sont des mauvaises performances
Les laboratoires peuvent constater ces notes sur leur rapport individuel.

Mauvaise performance :

PVC : 1 laboratoire : dossier PVC Prospectif
LA : 1 laboratoire : dossier LA rétrospectif
Sang : pas de mauvaise performance

Enquête de satisfaction (juin-juillet 2016):

- pas de remarque sur l'expertise.
- Remarques sur l'aspect chronophage de la participation.