



UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Projet de Fin d'Etudes

Licence Sciences & Techniques
Sciences Biologiques Appliquées et Santé
(LST - SBAS)

SYNDROME DE WEST

Présenté par : ZNITI AMINA

Encadré par : Pr GUISSI SANAE (FST Fès)

: Dr EL MOUHI HIND (Lab. Central CHUF)

Soutenu le :

Devant le jury composé de :

- **Pr GUISSI SANAE**
- **Pr EL MOUHI HIND**
- **Pr TLEMCANI RACHIDA**

Stage effectué au Laboratoire Central d'analyses Médicales

CHU FES

Année universitaire 2021-2022



DEDICACE :

A MA GRAND-MERE :

Les mots ne pourront jamais exprimer la profondeur de mon amour et de mon affection. A toi ma grand-mère, l'être le plus cher sur terre, à toi qui a sacrifié sa vie pour mon bonheur et mon bien être. A tes encouragements et tes prières qui m'ont toujours soutenu et guidé. En ce jour, j'espère réaliser l'un de tes rêves. J'espère que tu trouveras chère grand-mère dans ce travail, le fruit de ton dévouement ainsi que l'expression de ma gratitude et de mon profond amour.

A MON ADORABLE PERE :

Je te dédie ce travail comme modeste témoignage de mon profond amour et de mon respect illimité, et j'espère réaliser, aujourd'hui un de tes rêves et être digne de porter ton nom.

A MES CHERS ET ADORABLES SŒURS ET FRERES :

Avec tous mes vœux de réussite et de bonheur, avec tout mon attachement et ma tendresse.

A TOUTE LA FAMILLE ZNITI.

A MES AMIES :

En souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble. Veuillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et de mon affection la plus sincère.

REMERCIEMENTS

Avant toute chose, je remercie **Dieu**, le tout puissant, pour m'avoir donnée la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Ensuite, je tiens tout particulièrement à adresser mes plus sincères remerciements accompagnés de mon profond respect à **Madame GUISSI SANAE**, Professeur à la Faculté des Sciences et Techniques de Fès pour l'aide et les conseils qu'elle m'a apporté lors de la réalisation de ce rapport. Je la remercie vivement pour son suivi, son orientation, ses remarques, sa patience, et sa disponibilité durant la préparation de ce projet.

J'adresse mes remerciements à **Madame EL MOUHI HIND**, mon encadrante au sein du Laboratoire Central d'Analyses Médicales, Unité de Génétique Médicale et d'Oncogénétique, pour m'avoir dirigé et encouragé tout au long de ce travail.

Mes remerciements s'adressent également à l'honorable Jury d'avoir accepté d'examiner mon mémoire. Merci à **Madame TLEMCANI RACHIDA**, Professeur à la Faculté des Sciences et Techniques de Fès.

Je remercie aussi **Monsieur HALOTI SAID**, responsable de la licence Sciences Biologiques Appliquées et Santé (SBAS) pour son aide et ses encouragements.

Table des matières :

Liste des figures

Liste des tableaux

Présentation du lieu de stage

Introduction :

Chapitre 1 : étude bibliographique	1
I. Historique :.....	1
II. Généralités :	2
1. Définition :.....	2
a. Crises généralisées :.....	3
b. Crises d'épilepsie focales :.....	4
III. Syndrome de West :	4
1. Définition :.....	4
2. Examen clinique :.....	5
3. Examen génétique :.....	6
a. Cytogénétique :.....	8
b. Biologie moléculaire :	8
4. Traitement :.....	9
Chapitre 2 : matériel et méthodes	10
I. MATERIEL :.....	10
II. METHODE :.....	10
I. Caryotype :.....	10
1_1 Principe :.....	11
1_2 Protocole :.....	11
II. Biologie moléculaire :.....	13
2_1 Prélèvement sanguin :.....	13
2_2 Extraction d'ADN à partir du sang :.....	13
a. Principe :.....	13
b. Protocole :.....	13
2_3 PCR :.....	14
a. Principe :.....	14

b. Protocole :.....	15
2_4Electrophorèse des produits de PCR :.....	16
2_5 Séquençage d'ADN :.....	16
a. Principe :.....	17
b. Protocole :.....	18
Chapitre 3 : résultats et discussion :.....	19
I. Résultats :.....	19
1. Données épidémiologiques :.....	19
a. Répartition des patients selon l'âge :.....	19
b. Répartition des patients selon le sexe :	19
2. Données cliniques :.....	19
a. IRM :.....	20
b. EEG :.....	20
3. Résultats de caryotype :.....	20
4. Résultats de biologie moléculaire :.....	21
a) Analyse des produits PCR par électrophorèse :.....	21
b) Résultat du séquençage de l'exon 4 :.....	22
II DISCUSSION :.....	23
Conclusion :.....	25
Références bibliographiques :.....	26

• LISTE DES matières :

Figure	Nom
Figure 1	Présentation d'anomalie du caryotype d'une personne malade présentant le Syndrome du chromosome 20 en anneau
Figure 2	Electroencéphalogramme montrant un tracé hypsarythmique : des pointes multifocales, asymétriques avec des zones de haut voltage et de bas voltage
Figure 3	Schéma présentant la position du gène <i>CDKL5</i> dans le chromosome X.
Figure 4	Principe de PCR
Figure 5	Principe de séquençage de Sanger
Figure 6	Exemple de résultats du séquençage.
Figure 7	Fréquence de la maladie selon les tranches d'âges
Figure 8	Fréquence de la maladie selon le sexe.
Figure 9	caryotype féminin (46, XX) normal.
Figure 10	caryotype masculin (46, XY) normal.
Figure 11	Profil électrophorétique des produits d'amplification de l'exon 4 du gène <i>CDKL5</i> sur gel d'agarose 2 % des 9 patients (P) étudiés avec un témoin négatif (T).
Figure 12	l'alignement de la séquence du <i>CDKL5</i> .
Figure 13	Chromatogramme de la séquence F d'une personne normale.
Figure 14	Chromatogramme de la séquence F d'une personne atteinte de Syndrome de West.

- **Liste des tableaux :**

Tableau	Nom
Tableau 1	Les différents gènes responsables du syndrome de West
Tableau 2	caractéristiques du gène <i>CDKL5</i> .
Tableau 3	séquence d'amorces utilisées en PCR l'exon 4 du gène <i>CDKL5</i> .

Présentation du lieu de stage :

L'unité de génétique médicale et d'oncogénétique est située au deuxième étage du laboratoire central d'analyses médicales. Elle représente une première expérience dans un CHU au Maroc. Elle est activement mise en place depuis sa création en Mars 2009 et subdivisée en 3 disciplines (Clinique, cytogénétique et moléculaire)

Génétique clinique (centre diagnostic):

- Consultation de génétique,
- Conseil génétique,
- Consultation d'oncogénétique,
- Avis du médecin généticien dans les services cliniques,
- Hôpital de jour en coordination avec les services cliniques.

Génétique chromosomique classique et moléculaire

Génétique moléculaire.

Le laboratoire est composé d'un plateau technique spécialisé, comportant 5 salles climatisées :

- Une salle de culture dédiée à la cytogénétique,
- Une salle de préparation des Mix pour PCR avec une hotte PCR,
- Une salle de PCR : complètement automatisée,
- Une salle de migration et d'analyse des produits de PCR,
- Une salle de lecture dotée de deux microscopes couplés à des systèmes de capture et de traitement d'images.

L'unité de génétique médicale et d'oncogénétique offre des prestations de service dans le domaine de la génétique médicale. Ces prestations concernent des analyses de cytogénétique classique et moléculaire, des analyses de l'ADN et une consultation de conseil génétique et de dysmorphologie

Introduction :

Le syndrome de West, parfois simplement appelé spasmes infantiles, est une forme rare d'épilepsie qui touche un enfant sur 22 000 à 34 000 [1].

Il se définit par l'association d'une forme particulière de crises épileptiques, un arrêt ou une régression du développement psychomoteur et un tracé électroencéphalographique (EEG) décrit sous le nom d'hypsarythmie.

On estime que la majorité des cas débutent chez le bébé de moins d'un an (souvent autour de 5 mois), mais des cas survenus dès la naissance ou jusqu'à l'âge de 5 ans ont été exceptionnellement rapportés [2]. Le syndrome de West serait en outre plus fréquent chez les garçons que chez les filles, sans que l'on ne sache très bien pourquoi.

Notre projet réalisé entre le service de neuropédiatrie et le laboratoire de génétique médicale et d'oncogénétique du centre hospitalier Universitaire HASSAN II FES, a pour objectif de rechercher la mutation **c.119C>T** du gène **CDKL5** chez les patients atteints de syndrome de West par la technique de caryotype et de séquençage de Sanger. Notre étude, a été réalisée sur 9 patients enfants marocains adressés au service de neuropédiatrie, pour rechercher la mutation **c.119C>T** de l'exon 4 du gène **CDKL5**

Chapitre I : Etude bibliographique

I. HISTORIQUE

En **1841**, le Dr W.J West lors de la maladie de son fils, lance un appel à l'aide dans la revue LANCET et détaille une forme nouvelle d'épilepsie : les spasmes infantiles.

Gibbs et al, un siècle plus tard, en 1952 décrivent un nouveau pattern EEG : Hypsarythmie. C'est ainsi que le Syndrome de West fut décrit.

Dans les années suivantes, l'étude du Syndrome de West a progressé avec de nombreuses publications sur la sémiologie clinique et électroencéphalographique. Enfin, de nouvelles découvertes ont été faites sur le plan étiologique et thérapeutique, grâce à l'avènement de moyens diagnostiques de plus en plus performants.

Les grandes dates à retenir sont:

1958 : Sorel et Pusaucy-Bauloye ont rapporté l'efficacité spectaculaire de l'ACTH (hormone adrénocorticotrope), une hormone fabriquée dans l'hypophyse (petite glande située à la base du cerveau), dont le rôle est de stimuler les glandes surrénales qui sont des glandes situées sur chaque rein pour sécréter du cortisol. L'ACTH dans les spasmes infantiles, entraîne un arrêt des crises, une normalisation du tracé EEG ainsi qu'une amélioration du comportement.

1964 : Gastaut et al., ont analysé de façon détaillée la sémiologie des spasmes Infantiles (les différents types de spasmes d'une part mais aussi les signes associés à ceux-ci d'autre part).

1970 : l'avènement du scanner cérébral a élargi considérablement le champ de la recherche étiologique.

1978 : Frost et al., ont fait des enregistrements polygraphiques et vidéo des spasmes infantiles: il s'agissait des premières tentatives d'orientation topographique à partir de la sémiologie électro-clinique.

1986-1987 :Aicardi. J et al., d'une part, Dulac. O et al., d'autre part, ont défini la notion de spasmes infantiles bénins ou West idiopathique.

1990 : découverte de l'efficacité du vigabatrin (VGB) sur les spasmes infantiles rebelles à l'association antiépileptiques-hydrocortisone.

Dans les mêmes années, la neuroradiologie a progressé encore avec l'IRM puis avec les techniques d'imagerie fonctionnelle (PET et SPECT).

La biologie moléculaire, quant à elle, a élargi encore les possibilités de recherche étiologique (étude caryotypique, génétique, recherche de maladies métaboliques telles que la phénylcétonurie ou les cytopathies mitochondriales).

1998 : O. Dulac et al., ont proposé de nouveaux schémas thérapeutiques au terme d'une étude prospective multicentrique: vigabatrin en monothérapie.

2000-2009 : De nouveaux schémas thérapeutiques ont été proposés avec l'avènement des nouveaux antiépileptiques (Topiramate, Felbamate, Lamotrigine, Zonizamide...) comme traitements de première ligne, et surtout l'option de la neurochirurgie pour les cas pharmaco résistants.

Il est important au terme de cette brève revue historique de comprendre que l'analyse et l'étude des spasmes infantiles se sont affinées et étoffées au cours du temps, permettant de mieux adapter la prise en charge thérapeutique et de mieux définir le pronostic de la maladie.

II. GENERALITE

a) DEFINITION

L'épilepsie est un trouble neurologique qui provoque des convulsions et des comportements inhabituels. Il existe deux grandes variantes de la pathologie. **L'une définie par son caractère général et l'autre par son caractère focal.**

a. Crises généralisées :

Généralement elle touche la totalité du cerveau, Il existe donc des différents types d'épilepsie généralisée :

- Crise généralisée tonico-clonique : caractérisée par une perte soudaine de connaissance. Elle provoque d'abord une raideur générale du corps (phase tonique) et ensuite des mouvements rythmiques (phase clonique). Lors de ces crises, des effets associés peuvent se produire, comme se mordre la langue, uriner ou se blesser en tombant au sol. Il s'agit de la variante la plus évidente et la plus grave de la maladie
- Crise généralisée « absence » : caractérisée par une perte de connaissance avec une immobilisation et un regard fixe pendant quelques secondes. Elle est facilement tolérée, mais peut se répéter plusieurs fois par jour
- Myoclonique : caractérisée par un spasme soudain dans tout le corps ou une partie (surtout dans les membres supérieurs) qui entraîne la chute de la personne
- Atonique : perte du tonus musculaire, chute et absence de conscience momentanée

A l'exception de la variante tonico-clonique, le reste des crises généralisées sont instantanées, avec des répercussions rapides. Une grande partie du danger réside dans l'activité que la personne réalise au moment de la crise.

✚ Syndrome du chromosome 20 en anneau :

Il s'agit d'une anomalie chromosomique rare apparaissant dans l'enfance (Figure1), caractérisée par une épilepsie résistante aux médicaments, un tracé d'EEG typique, une déficience intellectuelle légère à sévère et des problèmes de comportement. Le développement psychomoteur initial n'est généralement pas affecté. L'âge d'apparition des crises varie entre 1 et 24 ans (souvent entre 4 et 10 ans). Il s'agit typiquement de crises motrices focales récurrentes pendant le sommeil ou en état d'éveil, avec altération de la conscience, regard fixe, automatismes, crises visuelles ictales, un état affectif et périodes de peur intense. Les crises peuvent évoluer vers des crises toniques ou tonico-cloniques généralisées.

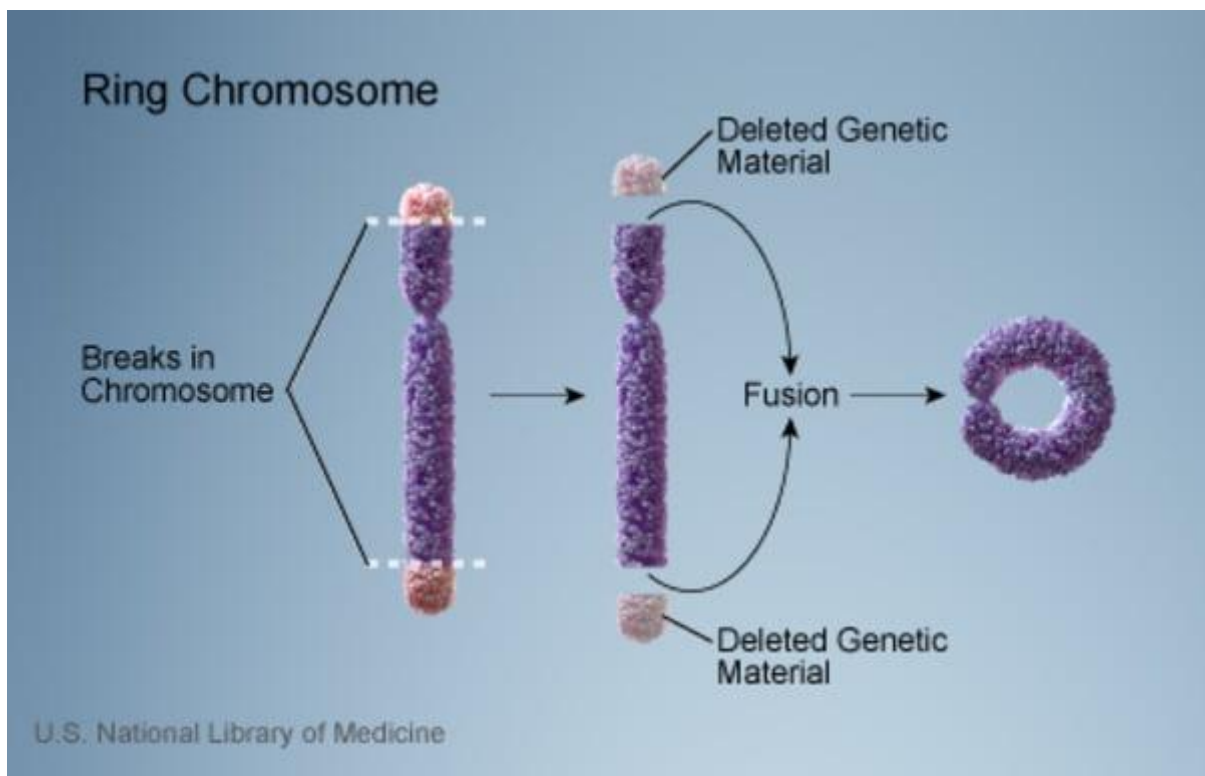


Figure1:Présentation d'anomalie du caryotype d'une personne malade présentant leSyndrome du chromosome 20 en anneau.[2]

b. Crises d'épilepsie focales :

Ces types d'épilepsie dépendent de la région du cerveau où se produit le déséquilibre électrique neuronal. Il en existe différents types selon leurs manifestations :

- ✓ Sans altération de la conscience (crises partielles simples) : elles se caractérisent par des secousses rythmiques d'une partie du corps pendant plusieurs secondes ou minutes. Des fourmillements intenses peuvent également se manifester.
- ✓ Avec altération de la conscience (crises partielles complexes) : elles sont similaires aux précédentes, mais dans ce cas, il y a une perte de conscience. La différence avec les crises généralisées est que la personne ne tombe pas au sol, puisqu'il n'y a pas de perte du tonus musculaire, mais une intense dissociation de la réalité.
- ✓ Crise convulsive bilatérale : lorsqu'un événement épileptique focalisé s'étend du foyer à toute la surface du cerveau.

III. SYNDROME DE WEST

1 Définition :

Le syndrome de West est une forme rare et sévère d'épilepsie qui apparaît chez un nourrisson. Il combine des épisodes de spasmes épileptiques qui se produisent dans un cluster, un schéma anormal d'électroencéphalogramme intercritique appelé hypsarythmie et retard neuropsychomoteur. Le syndrome résulte principalement d'un dysfonctionnement cérébral dans la période prénatale, périnatale ou postnatale. Des lésions focales précoces peuvent affecter secondairement d'autres sites du cerveau présentant un certain degré de retard de développement et de retard mental. Les manifestations buccales varient dans une large mesure et se présentent sous la forme d'une usure dentaire généralisée, d'une hypertrophie gingivale, de multiples lésions de points blancs et d'un palais voûté. Un pourcentage allant jusqu'à 60% sont dues à des causes génétiques. Ce rapport de cas souligne l'importance d'un diagnostic précoce, de diverses caractéristiques cliniques et de la prise en charge chez un patient pédiatrique atteint du syndrome de West [3].

NB:Le syndrome de West donc est une épilepsie de type généralisé

2 Examen clinique :

+ Description clinique :

50 % à 77% des cas débutent entre 3 et 7 mois. Un début dès la naissance et jusqu'à l'âge de 5 ans a été exceptionnellement rapporté. Les spasmes sont des mouvements axiaux brefs, plus souvent en flexion qu'en extension, qui peuvent être associés à une révulsion oculaire. Ces contractions sont mieux visibles aux membres supérieurs et sont fréquemment suivies d'un pleur. A minima, il peut s'agir d'une élévation isolée des yeux. La présence d'une asymétrie doit faire rechercher une malformation cérébrale. Les spasmes se répètent toutes les 5 à 30 secondes en salves et peuvent durer jusqu'à plusieurs dizaines de minutes. A l'intérieur d'une salve, les contractions sont d'intensité croissante. L'EEG concomitant au spasme montre une onde lente diphasique de grande amplitude. L'EEG intercritique est décrit comme hypersrythmique, c'est-à-dire qu'il associe des ondes lentes et des pointes multifocales asynchrones et de grande amplitude. Il existe des variantes rapides et lentes selon l'étiologie [4].

+ L'électroencéphalogramme (EEG), comme un examen de référence :

Il consiste à mesurer et à enregistrer l'activité électrique du cerveau, c'est le principal examen permettant de poser le diagnostic de syndrome de West.

L'EEG d'un enfant sans syndrome de West montre un tracé régulier et des ondes cérébrales synchronisées. L'EEG d'un bébé atteint du syndrome est fortement perturbé, comme désorganisé (figure2) et ce, même en dehors d'une crise : on parle d'**hypersrythmie**. Le cerveau fonctionne mal en permanence, ce qui nuit au bon développement psychomoteur de l'enfant [5].

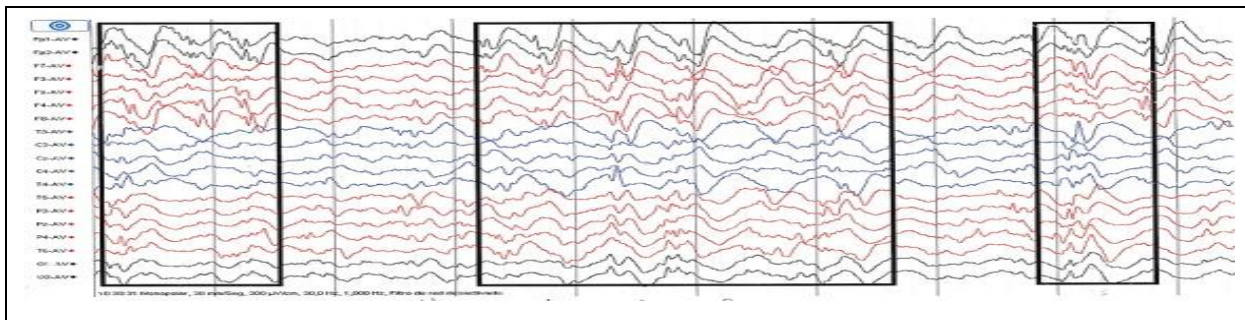


Figure2 :Electroencéphalogramme montrant un tracé hypersrythmique : des pointes multifocales, asymétriques avec des zones de haut voltage et de bas voltage[6]

3 Examen génétique :

Le syndrome de West associe déficience intellectuelle et épilepsie précoce. Plusieurs gènes responsables étaient déjà connus comme une cause de syndrome de West (Tableau 1).

Tableau 1 : Les différents gènes responsables du syndrome de West

Symbole de gène	Le nom de gène responsable de syndrome de West	LOCALISATION DE GENE
<i>ARX</i>	aristalessrelatedhomeobox	Xp21.3
<i>CNPY3</i>	canopy FGF signalingregulator 3	6p21.1
<i>CDKL5</i>	cyclindependent kinase like 5	Xp22.13
<i>GRIN2B</i>	glutamate ionotropicreceptor NMDA type subunit 2B	12p13.1
<i>GUF1</i>	GTP binding elongation factor GUF1	4p12
<i>NTRK2</i>	neurotrophicroceptor tyrosine kinase 2	9q21.33
<i>PHACTR1</i>	phosphatase and actinregulator 1	6p24.1
<i>PIGA</i>	phosphatidylinositol glycan anchor biosynthesis class A	Xp22.2
<i>PLCB1</i>	phospholipase C beta 1	20p12.3
<i>SIK1</i>	salt inducible kinase 1	21q22.3
<i>SCN2A</i>	sodium voltage-gated channel alpha subunit 2	2q24.3
<i>SPTAN1</i>	spectrin alpha, non-erythrocytic 1	9q34.11
<i>ST3GAL3</i>	ST3 beta-galactoside alpha-2,3-sialyltransferase 3	1p34.1
<i>WDR45</i>	WD repeatdomain 45	Xp11.23

NB : *CDKL5* est le gène plus connu responsable du syndrome de West, ce gène est porté sur le chromosome **Xp22.13**, ce dernier est exposé à certaines mutations dans différents exons. Dans ce travail, une mutation récurrente du gène *CDKL5* porté sur l'exon 4 sera étudiée (Tableau 2).

Tableau2 : caractéristiques du gène *CDKL5*.

Gene	Taille du gène	NM identifiant	Exon	Mutation	Protéine
<i>CDKL5</i>	235025	NM_001323289.2	4	c.119C>T	p.Ala40Val

- ***CDKL5*** : Il s'agit d'un gène lié à l'X cycline-dépendante kinase-like 5 (*CDKL5*) qui code pour une sérine/thréonine kinase abondamment exprimée dans le cerveau. Ce gène est localisé dans la région du bras court du chromosome X appelé Xp22.13(Figure3). Des mutations dans *CDKL5* ont été associées à des troubles neurodéveloppementaux caractérisés par une encéphalopathie épileptique précoce et une déficience intellectuelle sévère, ce qui suggère que *CDKL5* joue un rôle important dans le développement et le fonctionnement du cerveau [6].

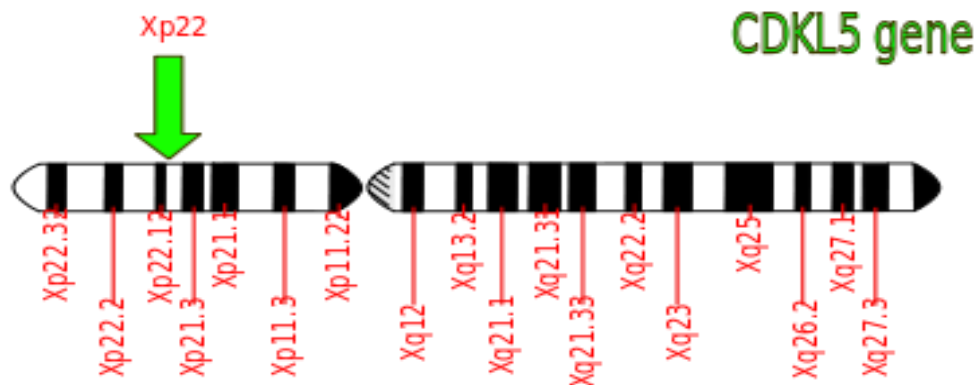


Figure 3 : schéma présentant la position du gène *CDKL5* dans le chromosome X [7].

- Autres :

Une **anomalie génétique** (trisomie 21, syndrome de délétion 1p36, mutation du gène STK9...) peut également être la cause d'un syndrome de West, tout comme une **maladie métabolique d'origine génétique** (maladie mitochondriale, phénylcétonurie...).

D'un autre côté, il y a la fenêtre microbiologique due à des lésions d'origine infectieuse :

- Bactériennes : abcès cérébral du nouveau-né,
- Virales : fœtopathie à cytomégalovirus, encéphalite herpétique,
- Parasitoses : toxoplasmose fœtale.

Tout cela est considéré **symptomatique**, toutefois, on estime que 10% des syndromes de West n'ont pas de cause connue : on parle alors de syndrome de West **idiopathique**. 10 à 20% des cas restants sont dits **cryptogéniques**, c'est-à-dire probablement dus à une anomalie encore indéterminée.

a) **CYTOGENETIQUE :**

La cytogénétique consiste à étudier les chromosomes d'un individu (fœtus, enfant ou adulte) à partir d'un prélèvement effectué soit en post-natal (sang veineux, biopsie cutanée), soit en prénatal (liquide amniotique, sang fœtal, villosités choriales). Une étape de culture des cellules est nécessaire (2 à 3 jours) de manière à ce que les chromosomes puissent être observés au microscope au moment où ils se divisent. La métaphase est le seul moment où ils sont bien visibles. On pourra ainsi les classer par paire, en vérifier le nombre, la forme, la structure et analyser les modifications chromosomiques comme leur nombre. Un grand nombre d'anomalies supplémentaires appelées « délétions », « duplications », « translocations » et « réarrangements génétiques » sont détectées par l'analyse des bandes des chromosomes. Chaque bande représentant une partie de l'ADN constitue nos chromosomes.

b) **BIOLOGIE MOLECULAIRE :**

Extraction d'ADN à partir du sang :

C'est une technique qui permet de récupérer l'ADN à partir d'une cellule en quantité et en qualité suffisante pour permettre son analyse ; soit en réalisant une PCR ou d'autre technique nécessitant l'ADN comme matrice.

PCR :

Polymerase Chain Reaction ou réaction de polymérisation en chaîne, est une technique d'amplification enzymatique permettant d'obtenir un grand nombre de copies identiques d'un fragment d'ADN

Electrophorèse :

En utilisant un gel d'agarose ; l'électrophorèse permet de visualiser les bandes d'ADN afin d'assurer de la qualité des produits PCR.

Séquençage:

Permet de déterminer la succession de nucléotides d'un gène afin de déterminer les mutations en question : délétion, addition, substitution

4. Traitement :

Le traitement est médicamenteux. Les deux molécules les plus efficaces sont le vigabatrin, souvent utilisé en première intention, et les corticoïdes, en cas d'échec du vigabatrin. Le traitement doit être mis en place rapidement pour limiter la dégradation cognitive liée à l'épilepsie. Le traitement chirurgical ne s'envisage qu'en cas de lésion cérébrale localisée.

Le pronostic est lié à l'étiologie et à la rapidité de mise en route du traitement. Après une première réponse, 30% des enfants rechutent dans les 6 mois. Les spasmes tendent à disparaître avant l'âge de 5 ans mais des rechutes sont possibles. 75% des nourrissons présentent des séquelles motrices, sensorielles ou mentales à 5 ans et 50-60% une épilepsie pharmaco résistante[4].

Chapitre 2 : Matériel et méthodes.

I. MATERIEL

Il s'agit d'une étude prospective portant sur 9 patients enfants atteints de syndrome de West suivis entre le service de neuropédiatrie et le laboratoire de génétique médicale et d'oncogénétique, CHU HASSAN II Fès, sur une période de 2 mois du 25/04/2022 au 20/06/2022.

II. METHODE

1. CARYOTYPE :

a) PRINCIPE :

Le caryotype est une technique qui permet l'étude des chromosomes d'un individu. Cette technique permet d'obtenir une image en microscope optique des chromosomes d'une cellule au cours de la métaphase ou de la pro métaphase de la mitose.

b) PROTOCOLE :

- **Prélèvement de sang :**

Les globules blancs (lymphocytes, macrophages...etc.) représentent la source majeure d'ADN en génétique. Le prélèvement du sang est reçu dans des tubes à bouchon mauve (Hépariné). 10 à 30 ml de sang sont prélevés en présence d'un anticoagulant.

- **Préparation du milieu de Culture cellulaire**

Le milieu de culture PB-MAX doit être aliquoté dans des tubes de 14 ml à raison de 8 ml de PB-MAX par tube. Ce milieu se présente sous forme de liquide congelé, il faut le décongeler dans une température modérée (étuve de 37 °C) avant de faire l'étape d'aliquotage. Les aliquotes qui ne vont pas être utilisés seront stockés à -20 °C, et ne doivent être décongelés qu'une seule fois pour les cultures ultérieures. Les aliquotes congelés sont décongelés doucement dans une étuve à 37 °C.

- **La culture cellulaire**

500 µl du sang sont pris d'un tube hépariné (tube vert) et mis dans un tube de 14 ml contenant le milieu de culture PB-MAX. Le tube est ensuite placé dans une position inclinée dans une étuve à 37 °C pour une culture de 72 heures.

- **ACCUMULATION DES CELLULES EN METAPHASE:(le 3ème jour après le début de la culture)**

Une heure avant le choc hypotonique, une solution de KCL 0.065M (1.4g de KCL qsq 300ml) est préparée et mise dans un bain marie à 37°C. Après 72h, 100µl de colchicine sont ajoutés dans chaque tube (10mg/ml). Les tubes sont ensuite remis en suspension et placés en position inclinée à l'étuve pendant 50 min.

- **CHOC HYPOTONIQUE :**

Les tubes contenant le milieu de culture sont mélangés doucement, ensuite centrifugés à 1500tr/mn à 25°C pendant 5 min et le surnageant est enfin aspiré. Dans chaque tube, quelques gouttes de la solution hypotonique (KCL 0.065 M préalablement préparé et porté à 37°C) sont ajoutés, le culot est dissout puis suspendu à l'aide d'une pipette Pasteur. La solution est complétée à 12 ml avec la solution hypotonique de KCL. Les tubes sont homogénéisés et remis à l'étuve pendant 20min.

- **FIXATION :**

Le fixateur (1volume d'acide acétique + 3 volume de méthanol) est mis dans un flacon propre et sec en verre puis stocké dans la glace ou +4°C. 30ml par tube sont nécessaires pour 3 fixations

Préfixation :

1ml de fixateur frais est ajouté dans chaque tube qui est ensuite centrifugé à 1500 tr/min durant 5min.

1^{ère} fixation :

Le culot est remis en suspension dans quelques gouttes de Carnoy I préparé extemporanément, puis complété à 10ml. Après homogénéisation, la fixation se poursuit pendant 20min à température ambiante.

2^{ème} fixation :

Identique à la première, après centrifugation à 1500 t/min pendant 5min, le surnageant est retiré jusqu'à environ 0.5ml du niveau du culot et remis délicatement en suspension dans quelques gouttes de Carnoy. Le tube est complété à 8ml puis homogénéisé. La fixation est réalisée pendant 45min minimum à température ambiante.

- **ETALEMENT**

L'étalement est réalisé sur des lames à bords rodés dans une pièce à température de 22°C (+/- 2°C), et à 45% (+/-5°C) d'humidité minimum, Le surnageant est retiré puis remis en suspension dans Carnoy I selon le culot. L'aspiration se fait dans l'effilure de la pipette en tenant cette dernière horizontalement pour mettre 2 gouttes par lame à côté de l'humidificateur. Les lames sont ensuite séchées. L'observation de la richesse en mitose des lames se fait au microscope inverse.

➔ N.B : La qualité de la lame est appréciée sous microscope inverse selon le nombre de mitoses ; la qualité de l'éclatement cellulaire ; la forme des chromosomes.

- **Vieillessement des lames**

Les lames sont laissées vieillir dans une étuve à 37 °C pendant au moins 3 jours.

- **Préparation de la solution saline de la dénaturation thermique**

La solution (earle'sbalancedsalt solution 10×) est diluée au 1/10 dans l'eau distillée.

10 ml de la solution (earle'sbalancedsalt solution 10×) sont ajoutés dans 90 ml d'eau distillée, dans un bac de céramique. Le pH de la solution est ajusté entre 5,7 et 5,8 avec des solutions HCL et NaOH, puis la solution de dénaturation est transférée dans un bac en céramique.

- **Dénaturation thermique**

Le bac contenant la solution (earle'sbalancedsalt solution 10×) diluée au 1/10, est mis dans un bain marie à 87 °C et il est laissé atteindre cette température. Les lames sont retirées de l'étuve et mises dans le bac à l'intérieur du bain marie. Le temps de dénaturation dépend de la durée du vieillissement des lames.

Exp : 3 jours de vieillissement ➔ 50 minutes de dénaturation.

4 jours de vieillissement ➔ 45 minutes.

5 jours de vieillissement ➔ 40 minutes.

6 jours de vieillissement ➔ 35 minutes.

Vieillessement > 6 jours ➔ 45 minutes.

Après la dénaturation, les lames sont retirées du bac et refroidies sous l'eau du robinet.

- **Coloration chromosomique**

Après le retrait et le refroidissement des lames, la solution de décoloration est préparée en diluant dans une éprouvette le GIEMSA à 1/20.

5 ml de GIEMSA sont ajoutés à 95 ml d'eau distillée.

La solution de décoloration est transférée dans un bac en céramique. Ensuite les lames sont placées dans le bac contenant le GIEMSA dilué, pendant 6 minutes. Après l'écoulement de 6 minutes, les lames sont retirées du bac et mises sous l'eau du robinet pour bien les laver.

L'observation des lames est réalisée dans un microscope.

2. BIOLOGIE MOLECULAIRE :

2.1 Prélèvement sanguin :

Le prélèvement sanguin est réalisé dans un tube en présence d'un anticoagulant EDTA dans le but de l'utiliser dans l'extraction d'ADN et la réalisation des techniques de biologie moléculaire.

2.2 Extraction ADN à partir du sang :

L'extraction de l'ADN génomique est le processus de libération de l'ADN chromosomique de la matrice cellulaire dans laquelle il est contenu. L'extraction d'ADN génomique nécessite une méthode de rupture robuste pour éclater les noyaux et les parois cellulaires, cela implique généralement l'ajout d'un détergent compatible ainsi qu'un cisaillement mécanique. Après l'extraction de l'ADN génomique, il y a l'isolement, dans lequel les protéines, les membranes cellulaires et d'autres matériaux cellulaires sont éliminés, ce qui donne un échantillon d'ADN génomique purifié. Dans laboratoire de génétique médicale et d'oncogénétique, l'extraction d'ADN se fait en utilisant un KIT commercialisé (**invitrogen**).

a) Principe :

Le kit est un moyen rapide et facile pour isoler l'ADN génomique (ADNg) de poids moléculaire élevé et de haute qualité à partir d'un large éventail de types de cellules et de tissus. Il est conçu pour isoler les acides nucléiques viraux de haute qualité d'une variété de virus à ARN et à ADN en 45 minutes maximum à l'aide de faibles volumes d'élution qui permettent des analyses sensibles en aval.

b) Protocole expérimental :

➤ Lyse des cellules avec la protéine kinase K et le tampon de lyse :

Dans un tube eppendorf de 1,5 ml, 200 µl de sang sont mélangés avec 20 µl de protéinase K et 20 µl de RNase. Le tube est vortexé pendant 15 secondes puis incubé 2 minutes à T° ambiante. 200 µl de pure link™ Genomic Lysis Binding Buffer sont ensuite ajoutés. Le tube est

à nouveau vortexé pendant 15 secondes et incubé 10 minutes dans le bain marie à 55°C. 200 µl d'éthanol absolu sont finalement ajoutés et le tube est vortexé pendant 5 secondes.

➤ **Adsorption de l'ADN :**

Le mélange est placé dans la colonne Pure Link™ et centrifugé 1 minute à 8000 rpm. La colonne est ensuite mise dans un tube collecteur de 2 ml (fournit par le kit) et le tube contenant le filtrat est jeté.

➤ **Elimination des contaminants résiduels :**

400µl de tampon Wash Buffer 1 est ajoutés et le tube est centrifugé 1 minute à 8000 rpm. La colonne est ensuite mise dans un tube collecteur de 2 ml (fournit par le kit) et le tube contenant le filtrat est jeté. 400µl de tampon Wash Buffer 2 sont ajoutés et le tube est centrifugé 3 minutes à 14000 rpm. La colonne est placée dans un tube eppendorf de 1,5ml et 70µl de tampon pure Link™ Genomic Elution Buffer sont ajoutés. Une incubation de 1 à 5 minutes à T° ambiante est ensuite réalisée, suivie d'une centrifugation pendant 1 minute à 8000 rpm. L'ADN extrait peut être conservé à +4°C ou -20°C.

2.3 PCR :

La «Polymerase Chain Reaction» ou **PCR** (Amplification en Chaîne par Polymérase), est une technique de répliation ciblée in vitro. Le kit utilisé durant cette technique est « DreamTaq green PCR Master Mix » qui contient est une solution prête à l'emploi contenant l'ADN polymérase DreamTaq™, un tampon DreamTaq Green optimisé, du MgCl₂ et des dNTP. Le Master Mix permet de gagner du temps dans les applications de PCR et d'obtenir une sensibilité plus élevée pour les produits plus longs et des rendements supérieurs par rapport à l'ADN polymérase Taq classique.

a) **Principe :**

Il s'agit de réaliser une succession de réactions de répliation d'une matrice double brin d'ADN. Chaque réaction met en œuvre deux amorces oligonucléotidiques dont les extrémités 3-prime pointent l'une vers l'autre. Les amorces définissent alors, en la bornant, la séquence à amplifier.

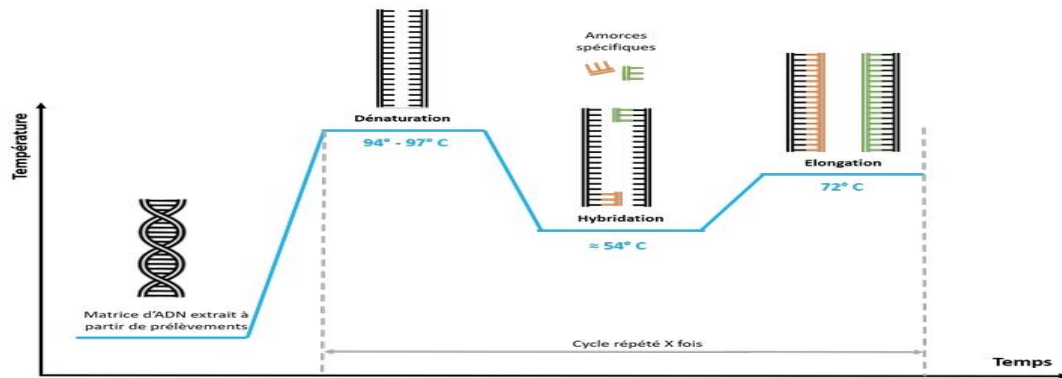


Figure4 :principe de PCR [8]

La PCR est une suite de cycles, qui se répètent en boucle, comportant chacun trois paliers de température. Chacun de ces paliers est caractérisé par une réaction chimique distincte. En moyenne, une PCR comporte entre 20 et 40 cycles. Chaque cycle est représenté par trois étapes. Les 3 étapes, constituant un cycle de PCR, sont effectuées à des températures différentes permettant de contrôler l'activité enzymatique.

Pour effectuer ces transitions de températures, les microtubes contenant le mélange réactionnel sont placés dans un appareil programmable thermocycleur. Cet appareil présente un bloc chauffant qui permet d'exposer les tubes qui contiennent le mélange réactionnel à des températures choisies et pour des durées déterminées par l'expérimentateur. La réaction PCR est extrêmement rapide et ne dure que quelques heures (2 à 3 heures pour une PCR de 30 cycles)

b) Protocole expérimental :

Dans chaque tube PCR, 10µl de la Solution GreenTaq, 12µl d'eau (water nuclease free) ; 1µl amorce F ; 1µl amorce R et 1µl d'ADN sont ajoutés. Les tubes sont ensuite placés dans le thermocycleur qui va assurer les trois cycles de PCR pour l'amplification, selon un programme bien déterminé.

Les deux amorces

Plusieurs variables doivent être prises en considération lors de la conception des amorces pour la PCR. Les plus importantes sont la longueur de l'amorce, la température de fusion (T_m), et la spécificité,

Tableau 3 : séquence d'amorces utilisées en PCR l'exon 4 du gène CDKL5.

Amorce	Séquence	Nbre de bases	Tm	GC%	Taille d'amplicant
Sens	5'AACTGGAATCCCCAGTCGGA3'	20	60.03	50.00	80pb
Anti sens	3'TCATGTGTTTCCTGCAAGGG 5'	20	59.97	55.00	

2_4 Electrophorèse des produits de PCR :

L'électrophorèse est une technique permettant de déplacer des ions (molécules ayant perdu leur neutralité électrique) sous l'effet d'un champ électrique. Ceux-ci migrent vers leurs électrodes respectives : les anions migrent vers l'anode (potentiel positif) et les cations migrent vers la cathode (potentiel négatif). L'ADN est une molécule chargée négativement donc, sous tension, elle va migrer vers l'anode. Elle est aussi utilisée pour vérifier que l'amplification a été réalisée dans les conditions appropriées sans aucune contamination (témoin), ainsi que pour contrôler la taille des fragments amplifiés par PCR.

Dans notre étude, l'électrophorèse est assurée dans une cuve horizontale sur un gel d'agarose à 2% (TBE à 1X) auquel ont été incorporés 10µl de BET (un agent intercalant se fixant entre les bases nucléiques, rendant l'ADN fluorescent sous UV pour visualiser les bandes résultantes). Dans chaque puits du gel et du côté cathode (-), un mélange de 5µl du produit d'amplification et 2µl de tampon de charge (alourdisseur) ont été déposés. Ensuite, le système est soumis à une migration sous un courant de 100 volts pendant 20min. Après migration, la visualisation des produits amplifiés est réalisée sous UV.

2_5 Séquençage d'ADN :

➤ Méthode de Sanger :

Le séquençage de l'ADN est la détermination de la succession des nucléotides qui le compose.

GAAACACATGAAATTGTGG **C** GATCAAGAAATTCAAGGACAGTGAAG

a) Principe :

Le principe se base sur l'ADN polymérase et les di-déoxyribonucléotides (ddNTP). Les échantillons d'ADN à séquencer sont mélangés avec des amorces spécifiques, de l'ADN polymérase, des désoxyribonucléotides (dATP, dCTP, dGTP et dTTP) et des

didésoxyribonucléotides (sans groupement hydroxyle en position 3') (ddATP, ddCTP, ddGTP et ddTTP). L'incorporation de ces ddNTP empêche la formation de la liaison phospho-diester, et donc la poursuite de l'élongation du brin d'ADN. Des fragments d'ADN de tailles variables se terminant par un ddNTP sont ainsi obtenus. Dans la première version de cette méthode, les amorces étaient marquées radioactivement et les bouts d'ADN migraient sur un gel dénaturant permettant l'obtention d'un profil de migration. Actuellement, une amplification par PCR est réalisée en amont, et la méthode employée utilise l'électrophorèse capillaire et la fluorescence. L'électrophorèse permet de classer les fragments selon leur taille et ainsi obtenir la séquence nucléotidique. De plus, chaque ddNTP est marqué par un fluorochrome différent. Un rayonnement laser excite la molécule fluorescente qui réémet une longueur d'onde spécifique. Cette dernière est détectée par une caméra. A la fin du séquençage, un électrophorégramme sera obtenu.

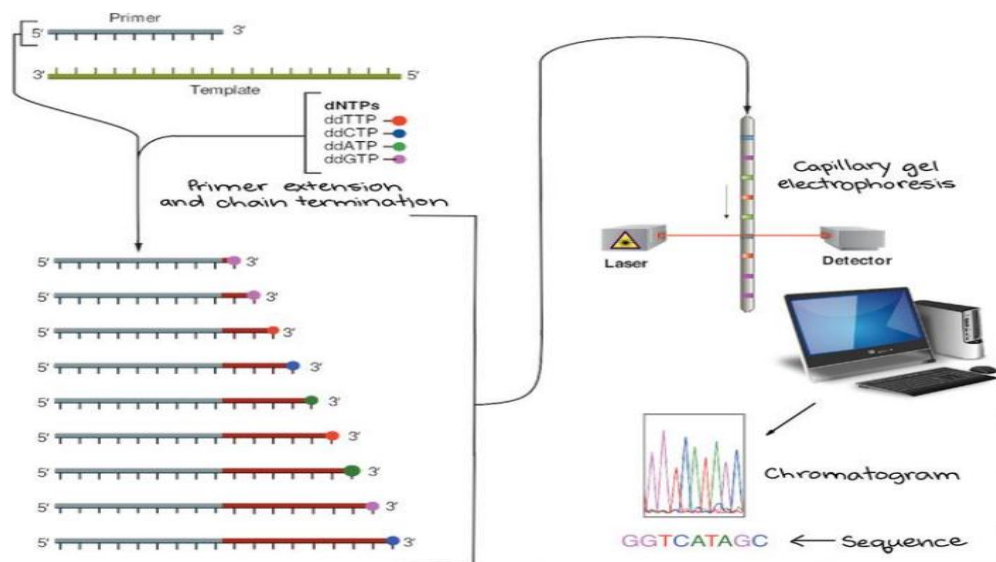


figure 5: principe de séquençage de Sanger[9]

b) Protocole :

Tout d'abord, une amplification par PCR de séquençage est réalisée. L'incorporation des ddNTP marqués par les fluorochromes va permettre l'obtention de nombreux fragments de différentes tailles de l'ADN à séquencer. L'extrémité 3'OH des dNTP est remplacée par un 3'H d'un ddNTP, empêchant la formation de la liaison phosphodiester entre ce dernier et le nucléotide suivant. Le rapport ddNTP/ dNTP, ainsi que l'affinité de la Taq polymérase pour chaque nucléotide sont optimisés pour que statistiquement, un ddNTP soit incorporé à chaque position possible. La technologie BigDye™ est généralement utilisée. Le BigDye™ contient les dNTPs, ddNTPs, de l'ADN polymérase et du MgCl₂.

Les tubes à PCR sont donc incubés dans un thermocycleur, un temps d'activation et d'extension finale ne sont pas nécessaires. Les échantillons sont par la suite purifiés. Pour cela, du sodium d'acétate (pH= 4,6) est d'abord utilisé avec de l'éthanol à 100% pour précipiter l'ADN au fond des puits de la plaque (avec incubation à RT et centrifugation). L'ADN est ensuite lavé avec de l'éthanol à 70% qui solubilise les impuretés (+ centrifugation). Les échantillons sont finalement resuspendus dans du Hi-Di(Formamide hautement désionisée) permettant de re-suspendre les échantillons pour l'électrophorèse capillaire. L'ADN est alors dénaturé 1 min à 95°C dans un thermocycleur (pour obtenir de l'ADN simple brin), puis la plaque est prête pour le séquençage selon Sanger. Avant de lancer le séquençage, il faut programmer le séquenceur en précisant les puits utilisés. Le séquenceur donne les résultats sous forme de séquence nucléotidique. Afin de mieux présenter et interpréter les résultats du séquençage, l'utilisation du logiciel Chroma (ou logiciel similaire) est nécessaire.

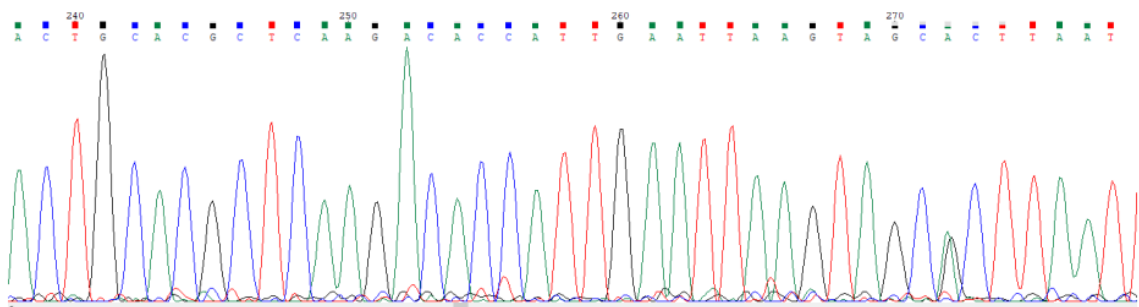


Figure6: Exemple de résultat du séquençage.[10]

Chapitre 3 : résultats et discussion

I. Résultats :

1. Données épidémiologiques :

Il s'agit d'une étude prospective réalisée sur 9 patients enfants, atteints de syndrome de West et suivis entre le service de neuropédiatrie et le laboratoire de génétique médicale et d'oncogénétique CHU- Fès.

a) Répartition des patients selon l'âge :

Dans notre étude, l'âge des patients varie entre 1 et 5 ans, avec un âge moyen de 2,7 ans. L'âge compris entre 1 et 4 ans prédomine chez 8 cas (88,88%), alors que l'âge supérieur à 5 ans est représenté par 1 seul cas (11,11%).

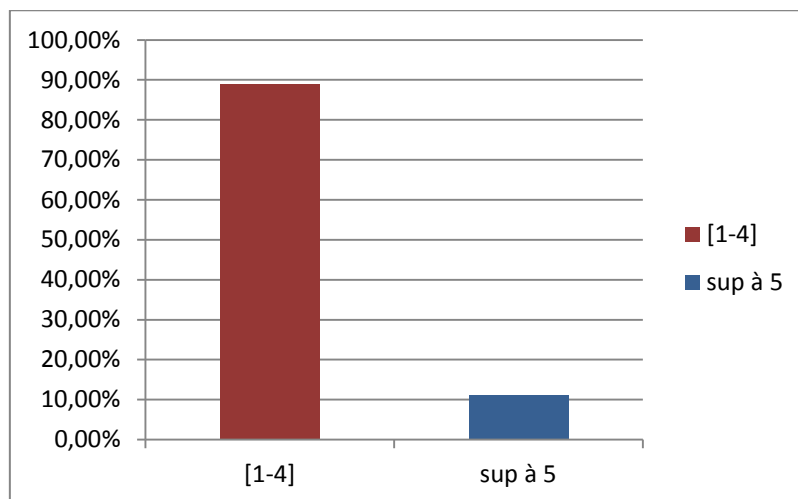


Figure 7:Fréquence de la maladie selon les tranches d'âges

b) Répartition des patients selon le sexe :

Les patients sont répartis en 6 garçons (66,6%), et 3 filles (33,3%). Il s'agit d'une prédominance de sexe masculin avec un sexe ratio H/F de 2.

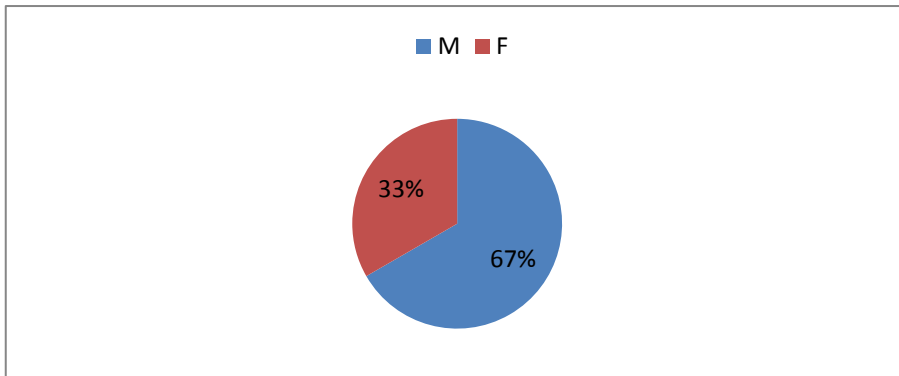


Figure 8 :Fréquence de la maladie selon le sexe.

2. Données cliniques :

a) IRM :

L'IRM ou l'imagerie par résonance magnétique est une technique qui utilise un champ magnétique et des ondes radio de très haute fréquence pour produire des images de haute résolution.

Dans notre échantillon, les IRM des 9 patients sont normales.

b) EEG :

L'EEG ou électroencéphalogramme est un examen qui permet de mesurer et d'enregistrer l'activité électrique du cerveau. Cet examen a révélé 2 cas avec pseudo hypsarythmie (22,2%), 3 cas avec hypsarythmie (33,3%), et 4 cas normaux (44,4%).

3. Résultats de caryotype :

Les 9 patients ont montré un caryotype normal.

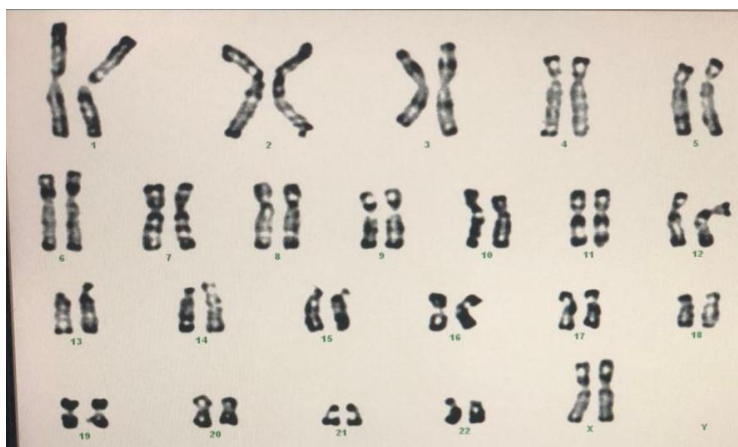


Figure 9 :caryotype féminin (46, XX) normal.



Figure 10 : caryotype masculin (46, XY) normal.

4. Résultats de biologie moléculaire :

a) Analyse des produits PCR par électrophorèse :

Dans ce volet de notre travail, le but était de chercher la mutation du gène *CDKL5* à travers l'amplification de l'exon 4 par la technique « PCR-séquençage », après l'extraction d'ADN par le KIT commercialisé « DreamTaq Green PCR Master Mix ». Ensuite, la confirmation de contamination ou non des produits PCR se fait par migration des bandes sur gel d'agarose en présence d'un témoin négatif. Par la suite, la migration des fragments d'ADN est visualisée après exposition à la lumière ultra-violette.

La technique de PCR classique a été réalisée pour les 9 patients et l'électrophorèse des produits PCR est montrée dans la figure 11.

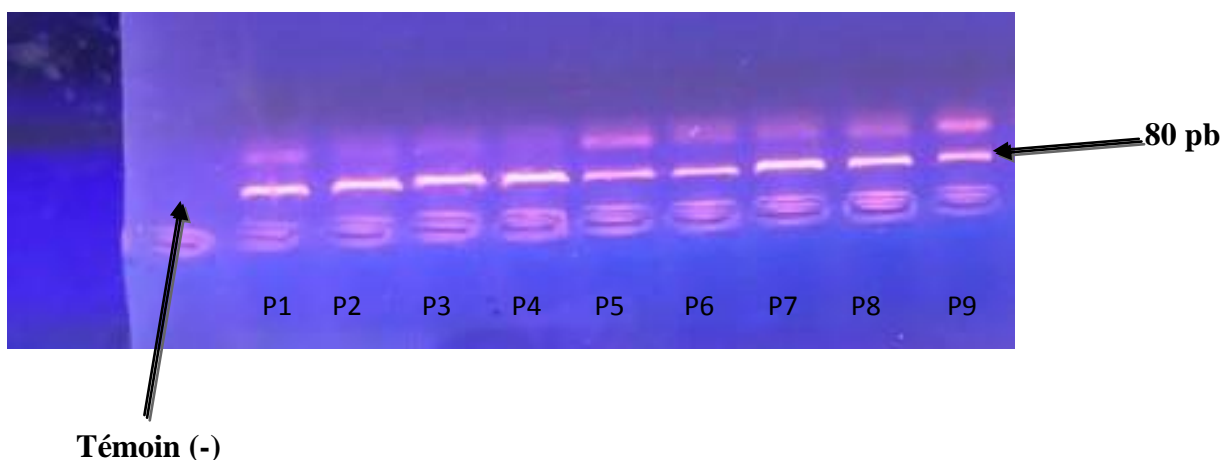


Figure 11 : Profil électrophorétique des produits d'amplification de l'exon 4 du gène *CDKL5* sur gel d'agarose 2 % des 9 patients (P) étudiés avec un témoin négatif (T).

Le résultat illustré dans le profil électrophorétique de l'exon 4 du gène *CDKL5* montre que les produits PCR amplifiés, dans le but d'être séquencés, ne contiennent pas de contaminants, car la bande du témoin est absente (Fig.11). L'obtention d'un produit PCR de bonne qualité nous a permis d'entamer la réaction de séquençage.

b) Résultat du séquençage de l'exon 4 :

Le séquençage de l'exon 4 du gène *CDKL5* a été réalisé chez 9 cas, pour détecter la présence ou l'absence de la mutation touchant l'exon 4 du gène *CDKL5*.

Parmi les 9 patients, on a obtenu qu'un seul cas qui représente la mutation c.119C>T du gène *CDKL5* (11,1%). Cette mutation est relevé par la comparaison de la séquence requête (brin étudié) et la séquence de l'alignement sur le site NCBI BLAST (figure 12)

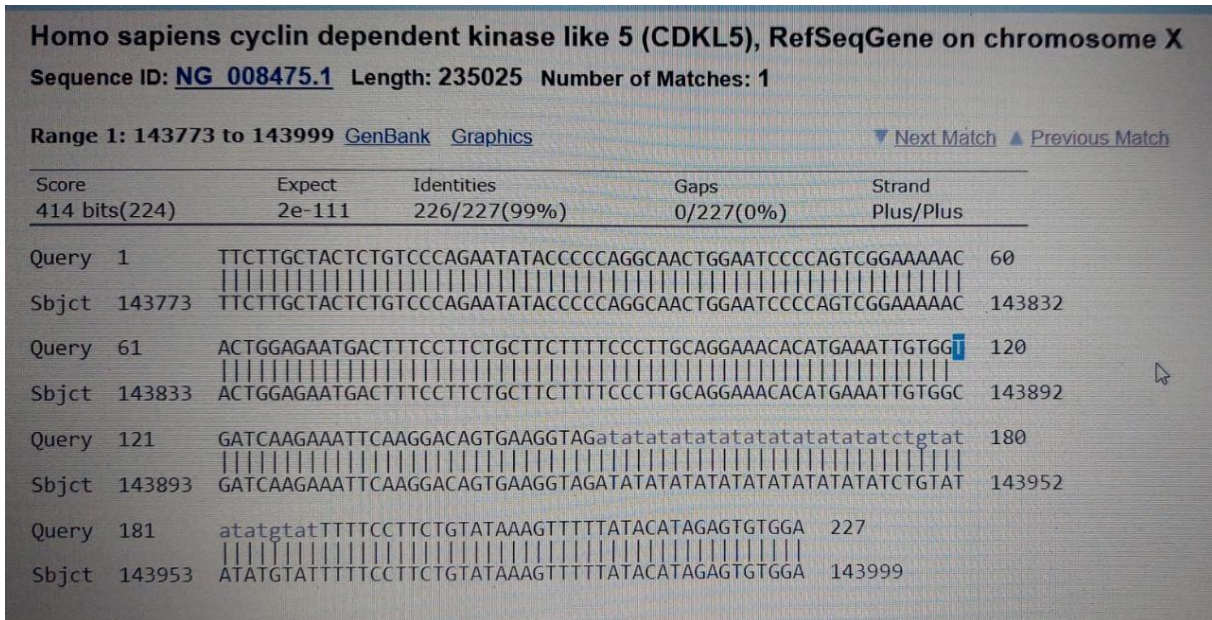


FIGURE 12 : l'alignement de la séquence du *CDKL5*.

Séquence normale :

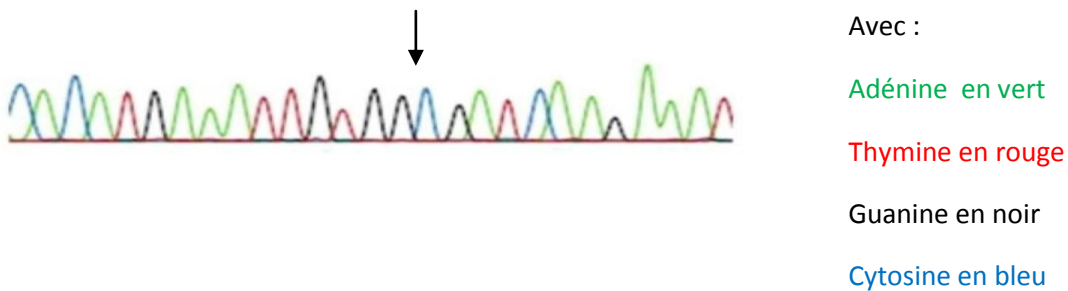


FIGURE 13 : Chromatogramme de la séquence F d'une personne normale.

Séquence mutée :

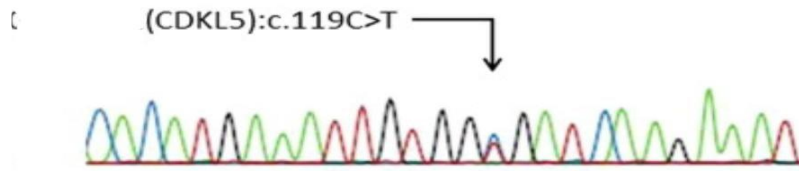


FIGURE 14: Chromatogramme de la séquence F d'une personne atteinte de Syndrome de West

II.DISCUSION :

L'objectif de notre travail était de rechercher la mutation c.119C>T du gène CDKL5 chez les patients atteints de syndrome de West par la technique de caryotype, et la confirmation de ces résultats par séquençage de Sanger. Pour cela, une étude a été entreprise sur 9 patients marocaines, visant à détecter la mutation c.119C>T de l'exon 4 du gène CDKL5.

Dans notre étude, la maladie a été observée chez les petits enfants. En effet, l'âge prédominant est compris entre 1 et 4 ans avec un pourcentage de 88,88%. Cette maladie est donc déclarée depuis la naissance. Le **Pr STEPHANE AUVIN [11]** a indiqué dans une étude que le syndrome de West est une épilepsie du nourrisson qui débute le plus souvent entre 3 et 18 ans, le plus souvent autour de l'âge de 6 mois .

La répartition des patients de notre série d'étude selon le sexe, a montré que le syndrome de West a une prédominance masculine (2 / 3 des garçons sont atteints) avec un sexe ratio de 2. Ce résultat est confirmé par **une étude faite en 2010 à la FMPM** (Faculté de Médecine et de Pharmacie Marrakech) **sur le syndrome de West** à propos de 32 patients [12] et quia montré aussi une prédominance du sexe masculin avec un sexe ratio de 1,6. Ce résultat est normal car étant donné que les hommes sont hétérogamétiques (XY) et que c'est le chromosome X qui porte le gène non fonctionnel responsable de la maladie, il suffit que le mâle hérite du chromosome X muté de l'un des parents pour développer la maladie. C'est pour cette raison que la maladie se manifeste principalement chez les hommes.

Les femmes qui sont homogamétiques (XX) et qui ont le gène non fonctionnel présent sur l'un des 2 chromosomes X, sont porteuses de ce syndrome mais ne sont pas malades. Les femelles porteuses ne présentent généralement pas de symptômes.

Dans notre étude, les résultats d'IRM des patients étudiés étaient tous normaux. **Une étude faite en 2010 à la FMPM** (Faculté de Médecine et de Pharmacie Marrakech) **sur le syndrome de West à propos de 32 patients** [12], a montré 54% des cas qui ont une atrophie cortico-souscorticale (une diminution de la taille des structures situées **sous** le cortex cérébral). Cette discordance de résultat peut être expliquée par la taille petite de notre échantillon.

Notre série a montré une hypsarythmie chez 33% des cas. L'hypsarythmie est une anomalie de l'électroencéphalogramme constituée d'une activité continue d'ondes cérébrales lentes, de

pointes et d'ondes aigües et irrégulières, changeant à chaque instant de durée et de topographie sans jamais prendre un aspect répétitif rythmique. Ce résultat a été vérifié par

Une **étude réalisée en 2010 à la FMPM** (Faculté de Médecine et de Pharmacie Marrakech) sur le syndrome de West à propos de 32 patients [12] et qui a révélé une hypsarythmie chez 55% des cas. Les deux études montrant que l'hypsarythmie est le cas le plus fréquent.

Le caryotype n'a jamais été réalisé avant pour l'étude du syndrome de West. Pour notre étude, le caryotype a été établi pour vérifier la présence ou l'absence d'une anomalie chromosomique correspondante à ce syndrome. Chez les 9 cas étudiés, le caryotype a montré une structure normale de tous les chromosomes et ceci, quel que soit le sexe.

Les résultats du séquençage ont révélé une seule mutation sur 9. Les 8 patients qui n'ont pas la mutation c.119 C>T ont le syndrome de West. Cette observation est en faveur de l'implication d'autres gènes qui peuvent être à l'origine de cette maladie. **ROSAS VARGAS et al .**, en 2008 [13], ont identifié une transition c.119C>T dans l'exon 4 du gène CDKL5, entraînant une substitution ala-40-val (A40V) chez deux filles.

CONCLUSION :

Le syndrome de West est une encéphalopathie épileptique sévère du nourrisson. Ce syndrome peut être causé par plusieurs gènes situés dans différents chromosomes.

Notre étude a pour but de révéler la mutation la plus connue du gène CDKL5 situé au niveau de chromosome X. La mutation trouvée est une mutation de substitution qui touche l'exon 4 du gène CDKL5 (C devient T), cette mutation a pour conséquence un changement de la séquence d'acide aminé (alanine devient valine).

Le syndrome de West est une anomalie de transmission sexuelle récessive pour le gène CDKL5, qui touche principalement le sexe masculin à cause de la présence d'un seul chromosome X.

Le diagnostic de ce syndrome se base au début sur l'EEG pour la détection des fluctuations des activités électriques du cerveau. Les ondes anormales détectées entraînent par la suite la recherche de l'origine de la maladie : génétique, microbienne,

L'introduction d'une stratégie nationale de diagnostic clinique et moléculaire de syndrome permettra un diagnostic précoce de la maladie qui va permettre d'adapter le traitement et d'éviter les complications les plus redoutables de cette pathologie.

Références bibliographiques

- [1]. Syndrome de West chez le bébé : symptômes, diagnostic, traitement | PARENTS.fr [Internet]. [cité 22 juin 2022]. Disponible sur: <https://www.parents.fr/bebe/sante/bebe-est-malade/epilepsie/syndrome-de-west-chez-bebe-tout-sur-ces-spasmes-infantiles-901711>
- [2]. Syndrome du chromosome 14 en anneau [Internet]. [cité 27 juin 2022]. Disponible sur: http://stringfixer.com/fr/Ring_chromosome_14_syndrome
- [3]. Goswami M, Sharma S. « West Syndrome-Infantile Spasms »: A Pediatric Case Report. *Int J Clin Pediatr Dent.* (2021);14(2):323- 6.
- [4]. RESERVES IUTD. Orphanet: Syndrome des spasmes infantiles [Internet]. [cité 24 mai 2022]. Disponible sur: https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?lng=fr&Expert=3451
- [5]. Syndrome de West chez le bébé : symptômes, diagnostic, traitement | PARENTS.fr [Internet]. [cité 27 juin 2022]. Disponible sur: <https://www.parents.fr/bebe/sante/bebe-est-malade/epilepsie/syndrome-de-west-chez-bebe-tout-sur-ces-spasmes-infantiles-901711>
- [6]. Zhu YC, Xiong ZQ. Molecular and Synaptic Bases of CDKL5 Disorder. *Dev Neurobiol.* (2019);79(1):8- 19.
- [7]. Historique de la maladie – Mutation du gène CDKL5 – CDKL5 Alliance Francophone [Internet]. [cité 27 juin 2022]. Disponible sur: <https://cdkl5.fr/historique-maladie/>
- [8]. PCR et électrophorèse en lycée - Espace pédagogique [Internet]. [cité 27 juin 2022]. Disponible sur: <https://pedagogie.ac-rennes.fr/spip.php?article2119>
- [9]. Différence entre le séquençage de Maxam Gilbert et Sanger / Biologie moléculaire | La différence entre des objets et des termes similaires. [Internet]. [cité 27 juin 2022]. Disponible sur: <https://fr.sawakinome.com/articles/molecular-biology/difference-between-maxam-gilbert-and-sanger-sequencing.html>
- [10]. Séquençage de l'ADN. In: Wikipédia [Internet]. 2022 [cité 27 juin 2022]. Disponible sur: https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=S%C3%A9quen%C3%A7age_de_l%27ADN&oldid=193217104

- [11]. Syndrome de West : définition, signes, pronostic [Internet]. [cité 27 juin 2022]. Disponible sur: <https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-sante-du-quotidien/2808541-syndrome-de-west-definition-signes-pronostic/>
- [12]. these05-10.pdf [Internet]. [cité 22 juin 2022]. Disponible sur: <http://wd.fmpm.uca.ma/biblio/theses/annee-htm/FT/2010/these05-10.pdf>
- [13]. Key clinical features to identify girls with CDKL5 mutations | Brain | Oxford Academic [Internet]. [cité 27 juin 2022]. Disponible sur: <https://academic.oup.com/brain/article/131/10/2647/1746432?login=true>