



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)

Caryotype et FISH postnatale

Présenté par : AMRANI Khadija

Encadré par : Pr. SQALLI Hakima

Pr. BOUGUENOUGH Laila

Soutenu le : 12 juin 2019

Devant le jury composé de :

- **Pr. Sqalli Hakima**
- **Pr. Guissi Sanae**
- **Pr. Bouguenouch Laila**

Stage effectué au Laboratoire Centrale du Centre Hospitalier
Universitaire Hassan II, Fès.

Année universitaire 2018-2019

REMERCIEMENT

En premier lieu j'adresse mes remerciements au professeur OULDIM Karim qui m'a donné la chance de passer mon stage au Laboratoire Centrale du Centre Hospitalier Universitaire Hassan II, Fès, et qui m'a bien accueilli.

Je tiens à adresser toute ma gratitude à mon encadrante interne Mme. SQALLI Hakima, pour sa disponibilité, la qualité de son encadrement, qui m'ont aidé lors de la rédaction de ce rapport.

J'aimerais aussi gratifier les efforts du professeur BOUGUENOUGH Laila pour son accueil en tant que maitre du stage, elle m'a beaucoup appris et à partager ses connaissances dans le domaine.

Je tiens à exprimer toute ma gratitude au professeur Guissi Sanae membre de jury, qui a eu la gentillesse d'accepter d'étudier avec attention mon travail de mémoire, et de l'évaluer.

Je remercie également Mr HALOTI Said pour ses efforts en tant que chef de département de la filière SBAS.

Je tiens à remercier vivement toute l'équipe pour leur accueil, leur travail sérieux, leur aide à chaque opportunité et surtout pour leur esprit d'équipe et en particulier Mr ismail Mouhrach et Dr Said Trhanint qui m'ont beaucoup aidé à comprendre le principe des différentes techniques, sans oublier les médecins résidents docteur Ahakoud Mohamed et docteur KETTANI Oussama pour leur temps et les précieuses informations que j'ai retenues grâce à eux.

Enfin je tiens à témoigner toute ma gratitude à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin au succès de mon stage et qui m'ont aidé lors de la rédaction de ce rapport.

DEDICACE

Je dédie ce travail

A ma très chère mère Rajae

Pour tous ses sacrifices, son amour affable, honorable, la source de tendresse et symbole de bonté par excellence, l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ses prières, sa bénédiction, son soutien moral et sa patience m'ont été un grand secours au long de ma vie.

Quoique je puisse dire et écrire, je ne pourrais jamais exprimer ma grande affection et ma profonde reconnaissance. Puisse Dieu tout-puissant te protéger du mal, te procurer une longue vie, santé et bonheur, afin que je puisse te rendre un minimum de ce que je te dois.

A ma famille

Mes frères Abdessamad et Simohammed, qui ont été toujours là pour moi, pour le bon et le mauvais. Abdessamad qui était et sera toujours ma vedette dans la vie peu importe ce qu'il arrive. Chaque jour, chaque seconde je serai reconnaissante de ta présence à mes côtés, tes conseils que je n'oublierai jamais. Tu es plus que des mots que je peux écrire ou dire, j'espère pour toi une longue vie pleine de joie et de succès.

Je tiens aussi à remercier ma tante Fouzia pour ses prières, son aide et son sourire qui m'a toujours donné la force. Et à ma cousine et ma sœur Nour El Houda qui a été toujours présente pour moi, et qui m'a toujours encouragé.

A mon amie

Malak, qui m'a toujours remontée le moral et ne m'a pas privée de ses conseils Pour sa présence, son soutien et ses encouragements dans les moments difficiles.



Sommaire



	Page
INTRODUCTION GENERALE	1
GENERALITES	
I. CYTOGENETIQUE CLASSIQUE	2
1. CARYOTYPE HUMAIN NORMAL DEFINITION ET BUT	2
1.1. Types de Prélèvement	3
1.2. Classification et nomenclature des chromosomes	3
1.3. Indications en pathologie constitutionnelle	3
1.4. En pathologie chromosomique acquise	4
2. ANOMALIES CHROMOSOMIQUES	5
2.1. Types d'anomalies chromosomiques	5
2.2. Risques d'anomalies chromosomiques	6
3. CONSULTATION DE GENETIQUE MEDICALE	7
II. CYTOGENETIQUE MOLECULAIRE	7
1. HYBRIDATION GENOMIQUE COMPARATIVE "CGH"	7
2. HYBRIDATION IN SITU EN FLUORESCENCE "FISH"	7
2.1. But	8
2.2. Substrats de la technique FISH	8
2.3. Sondes utilisées en technique FISH	8
2.4. Indications de la FISH	9
2.5. Limites de la méthode	10
MATERIEL ET METHODES	
I. REALISATION DU CARYOTYPE	11
1. PRINCIPE DE LA TECHNIQUE	11
2. MODE OPERATOIRE	11
3. PROTOCOLE DE LA TECHNIQUE "CARYOTYPE"	11
3.1. Culture cellulaire	11
3.2. Accumulation des cellules en métaphases	12
3.3. Choc hypotonique	12
3.4. Fixation	12
3.5. Etalement	13
II. REALISATION DE LA TECHNIQUE FISH (FLUORESCENCE IN SITU HYBRIDIZATION)	14
1. SUBSTRATS DE LA TECHNIQUE FISH	14
2. PRINCIPE DE LA TECHNIQUE	14
3. MODE D'OPERATOIRE	15
3.1. Préparation des lames pour la FISH	15
3.2. Prétraitement	15
3.3. Traitement à la pepsine	16
3.4. Hybridation des échantillons	16
3.5. Lavage post-hybridation	16
3.6. Contre coloration des noyaux au DAPI	17
3.7. Lecture	17

III. ANALYSE DES DONNEES	17
RESULTATS ET DISCUTION	
I. ANOMALIES CHROMOSOMIQUES DEPISTEEES	18
1. POURCENTAGE D'ANOMALIES CHROMOSOMIQUE	18
2. TYPES DES ANOMALIES CHROMOSOMIQUES RETROUVEES	19
III. FREQUENCE DES ANOMALIES CHROMOSOMIQUES	20
III. ANOMALIES CHROMOSOMIQUES DETECTEES PAR LE CARYOTYPE	21
1. ANOMALIES AUTOSOMIQUES	21
1.1. Trisomie 21	22
1.2. Trisomie 18 (Syndrome d'Edwards)	22
1.3. Trisomie 13 (Syndrome de Patau)	23
2. ANOMALIES GONOSOMIQUES : TURNER	23
3. L'ANEMIE DE FANCONI	23
IV. ANOMALIE CHROMOSOMIQUE DETECTEE PAR LA FISH : SYNDROME DE WILLIAMS	23
CONCLUSIONI GENERALE	25
REFERENCES	26

PRESENTATION DE L'UNITE DE GENETIQUE MEDICALE ET D'ONCOGENETIQUE

UNITE DE GENETIQUE MEDICALE ET D'ONCOGENETIQUE LABORATOIRE

CENTRAL D'ANALYSES MEDICALES CHU HASSAN II FES

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 est dirigée par Pr OULDIM Karim, Professeur de l'enseignement supérieur, Le personnel comporte également ;

- ❖ Un professeur assistant ;

- ❖ Trois administrateurs ;
- ❖ Une technicienne ;
- ❖ 5 résidents en formation.

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. Le tableau ci-dessous indique la liste des examens réalisés par notre laboratoire.

LISTE DES FIGURES

	Page
Figure 1 : Différentes anomalies de structure	6
Figure 2 : Exemple d'image en FISH (Trisomie21)	8
Figure 3 : Différents types de sondes	9
Figure 4 : Incubation des tubes dans l'Etuve	12
Figure 5 : Centrifugeuse	12
Figure 6 : Microscope inverse	13
Figure7 : Principe de la FISH	14
Figure8 : Mode opératoire de la technique FISH	15
Figure 9 : ThermoBrite	16
Figure 10 : Pourcentage du caryotype normal et anormal	18
Figure 11 : Taux des différents types d'anomalies diagnostiquées durant la période du stage	19
Figure 12 : Fréquence des différentes anomalies chromosomique	20
Figure 13 : Fréquence des différentes anomalies chromosomiques de nombre	21
Figure 14 : Cartographie des régions d'appariements des sondes LSI ELN Spectrum orange et / D7S486 d7S522 Spectrum green	24
Figure 15 : Image de Fish de la région 7q11.23 l'absence du spot centromérique sur l'un des chromosomes 7 confirme la microdélétions spécifique du syndrome de Williams-beuren	24

LISTE D'ABREVIATIONS

BAC :	Chromosome artificiel de bactéries
EDTA :	Ethylène Diamine Tétra-Acétate
FISH :	Fluorescence In Situ Hybridization
IQ :	Quotient intellectuel
ROB :	Translocations robertsoniennes
ROB :	Acide Désoxyribonucléique
ST :	Syndrome de Turner
SVAS :	Supravalvulaire



Introduction Générale



Les anomalies chromosomiques sont définies comme toute anomalie de nombre ou de structure des chromosomes. Près de 200 d'entre elles sont maintenant décrites et répertoriées par plusieurs chercheurs surtout, Peter Nowell, David Hungerford, Janet Rowley, Dr Alfred G. Knudson ([Grouchy, J., 1982](#)). L'apparition des techniques de haute résolution et le développement de la microcytogénétique ont permis, de détecter des anomalies chromosomiques de plus en plus fines.

La cytogénétique moléculaire d'apparition relativement récente est une discipline frontière entre la cytogénétique et la génétique moléculaire qui a révolutionné l'approche traditionnelle de la cytogénétique. Actuellement, ses outils principaux sont l'hybridation in situ en fluorescence (FISH) sur préparation chromosomique et l'hybridation génomique comparative sur puces d'ADN (CGH-array).

Le pouvoir de résolution de la FISH (dans certaines conditions moins de 1Kb) permet une analyse fine de la structure des chromosomes. Les applications en sont multiples tant en recherche (cartographie physique, hybridation croisée inter-espèce...) qu'en diagnostic (caractérisation ou détection d'un remaniement chromosomique de petite taille...) ([Véronique Marck, 2010](#)).

La précision qu'apporte cette technique, l'accessibilité des sondes commercialisées et sa rapidité (24h- 48h) l'ont fait une technique très précise et qui prend de l'ampleur de jour en jour. Les laboratoires de cytogénétique utilisent actuellement de manière courante cette nouvelle méthode devenue indispensable en complément de la cytogénétique classique représenté par le caryotype constitutionnel (pré et postnatal) ([Arch. Fr., 1983](#)).

La présente étude s'intéresse surtout aux techniques de cytogénétique effectuées au Laboratoire Centrale du Centre Hospitalier Universitaire Hassan II, Fès, en analysant un nombre précis de dossiers de patients durant l'année 2019, afin de :

- Déterminer Le taux des anomalies chromosomique par rapport au nombre total des patients analysés.
- Déterminer le type des anomalies chromosomiques retrouvées.
- Préciser les techniques les plus utilisées au sein du laboratoire selon le diagnostic postnatal prescrit, et qui sont basés surtout sur le phénotype de l'individu.
- Comparer nos résultats à ceux de la littérature.



Généralités



Le diagnostic génétique postnatal s'effectue après la naissance, et permet de dépister des anomalies chromosomiques causant un certain nombre de pathologies.

La plupart de ces anomalies ne possèdent pas de traitement jusqu'aujourd'hui ; mais grâce à ce type de diagnostic, on peut prodiguer un conseil génétique adéquat pour éviter la naissance d'autres enfants atteints dans la fratrie.

Ces anomalies sont la source de nombreuses pathologies dont :

- L'infertilité et les fausses couches répétées surtout au premier trimestre de la grossesse (soit 1 grossesse sur 151) ;
- Environ 1 nouveau-né sur 200 présente une anomalie chromosomique responsable de malformations multiples. Un bon nombre de ces anomalies peut être détecté avant la naissance, à un moment où une interruption médicale de grossesse peut être envisagée (si les parents le souhaitent). La majorité des enfants porteurs d'anomalies chromosomiques naissent de parents normaux porteurs d'anomalie chromosomique équilibrée. Elle leur confère un risque accru d'avoir un enfant malformé et peut être responsable de fausses couches répétées ;
- Les cellules cancéreuses présentent souvent des anomalies chromosomiques complexes non présentes dans les cellules normales. Ces anomalies permettent dans certains cas de confirmer le diagnostic. Elles ont aussi souvent une valeur pronostique.

I.CYTOGENETIQUE CLASSIQUE

La cytogénétique classique est une discipline médicale chargée de l'étude des chromosomes et de leurs anomalies chez l'homme responsables de malformations congénitales, du retard mental, des anomalies de la reproduction et des principaux cancers (Huret, 1997).

Elle est basée sur l'analyse de la constitution chromosomique de l'individu représentée essentiellement par le caryotype.

1. CARYOTYPE HUMAIN NORMAL DEFINITION ET BUT

Le caryotype est la représentation obtenue par microphotographie de l'aspect morphologique de l'ensemble des chromosomes d'une cellule en métaphase. C'est aussi le seul examen d'analyse globale du génome permettant la détection des anomalies de nombre et de structure des chromosomes.

Le caryotype humain normal comprend 46 chromosomes. Il est dit euploïde avec 44 autosomes et deux gonosomes.

Dans un caryotype, le cytogénéticien compte le nombre de chromosomes, identifie chacun d'eux et vérifie leur structure. Pour faciliter l'analyse, les chromosomes sont découpés et réarrangés par paires pour former un caryogramme.

L'analyse morphologique des chromosomes a pour objectif, soit de dépister des anomalies constitutionnelles présentes sur toutes les cellules (caryotype constitutionnel), soit de reconnaître des anomalies en mosaïque acquises limitées à un clone cellulaire.

1.1. Types de Prélèvement

Pour effectuer un examen chromosomique on utilise une grande diversité de tissus dont (Andrew et al.,2007) :

- Lymphocytes circulants : Le sang est le prélèvement utilisé le plus communément. Un échantillon de 0.5 à 1 ml est prélevé.
- Biopsie cutanée : La culture des fibroblastes de la peau est utilisée pour rechercher des anomalies chromosomiques non détectables dans le sang (dans le cadre d'anomalies en mosaïque).
- Biopsie testiculaire : Cet examen est le seul qui permet d'étudier la méiose.

1.2. Classification et nomenclature des chromosomes

Un chromosome est formé d'un bras court et d'un bras long désignés respectivement par les lettres "p" et "q" et reliés par un centromère désigné par la lettre c.

La classification des chromosomes métaphasiques se fait selon leur longueur relative et l'indice centromérique :

- La longueur relative désigne la longueur d'une paire de chromosomes donnée, rapportée à la longueur des autres paires. Elle permet une classification globale des chromosomes en sept groupes allant de A à G.
- L'indice centromérique est le rapport de la longueur du bras court (p) par rapport à la longueur totale du chromosome ($\frac{p}{p+q}$). Il permet une classification des chromosomes en métacentriques ($p=q$), distaux ($p < q$) et acrocentriques où le bras court est pratiquement inexistant et réduit à de l'hétérochromatine.

La nomenclature internationale permet de définir chaque chromosome par un numéro d'ordre, allant de 1 à 22 pour les autosomes, les gonosomes étant définis par les lettres X et Y.

Chaque bras est divisé en régions numérotées à partir du centromère en chiffres arabes. Les régions sont identifiables grâce aux « bandes » que l'on révèle par les méthodes de marquage. Elles sont numérotées selon les tables de référence (RAZAVI-ENCHA et al.,1988).

1.3. Indications en pathologie constitutionnelle

En prénatal :

- Grossesse antérieure avec anomalie chromosomique ;
- Présence d'un remaniement parental équilibré ou non ;
- Age maternel avancé ;

- Anomalie fœtale décelée à l'échographie ;
- Dépistage sérique maternel anormal ;
- Possibilité d'un syndrome d'instabilité chromosomique ;
- Diagnostic de sexe.

Chez le nouveau-né, l'enfant et l'adolescent :

- Retard psychomoteur. ;
- Syndrome dysmorphique (surtout avec retard mental) ;
- Syndrome polymalformatif.
- Ambiguïté sexuelle ;
- Retard de croissance chez une fille ;
- Impubérisme ;
- Maladies cassantes ;
- Expression inhabituelle d'une maladie liée à l'X chez une fille.

Chez l'adulte :

- Parents et familles d'enfants porteurs d'une anomalie chromosomique Aménorrhée/ Ménopause précoce ;
- Antécédents personnels et familiaux de morts fœtales ou de malformations récurrents ;
- Anomalie du spermogramme (azoospermie ou oligospermie sévère).
- Hypogonadisme d'origine basse ;
- Maladie abortive ;
- Bilan d'une procréation médicalement assistée ;
- Expression inhabituelle d'une maladie liée à l'X chez une femme.

1.4. En pathologie chromosomique acquise

Leucémies et tumeurs solides (diagnostic, suivi de l'évolution, rémission, rechute, acutisation).

L'indication d'un caryotype nécessite un examen clinique précis qui permet souvent de suspecter l'anomalie, car la duplication ou la déficience d'un segment chromosomique donné correspond à un syndrome souvent stéréotypé avec une dysmorphie faciale.

En général, les anomalies des autosomes ont des conséquences graves et diffuses et associent une dysmorphie crâniofaciale, des troubles de tonus, un retard mental, des anomalies des dermatoglyphes et des malformations viscérales non spécifiques.

Toutefois les indications du caryotype sont relativement restreintes : les maladies géniques ne sont pas explorées par un caryotype et une malformation isolée s'accompagne rarement d'une anomalie chromosomique.

2. ANOMALIES CHROMOSOMIQUES

2.1. Types d'anomalies chromosomiques

Les aberrations des chromosomes peuvent porter soit sur le nombre, soit sur la structure. La première cellule mère d'un ovule fécondé possède un nombre diploïde (46) de chromosomes provenant pour moitié du père et pour moitié de la mère. Cette cellule se divise aussitôt, puis les deux cellules filles et le phénomène (mitose) répété plusieurs fois aboutit à la formation de toutes les cellules somatiques de l'organisme. Celles-ci contiennent chacune le même nombre de chromosomes que la cellule mère, grâce au mécanisme de duplication chromosomique qui se produit à chaque division cellulaire. Cependant, la méiose aboutit à la formation des gamètes qui ne contiennent qu'un lot haploïde de chromosomes (Jhaet al.,2000 ; RAZAVI-ENCHA et al.,1988).

Les erreurs mitotiques et méiotiques peuvent donner des anomalies chromosomiques portant sur le nombre ou la structure des chromosomes.

Si l'erreur se produit au cours de l'une des deux divisions de la méiose, toutes les cellules sont porteuses de l'anomalie qui est dite homogène. Si celle-ci se produit lors des premiers stades du développement embryonnaire, le sujet aura deux populations différentes, l'une normale, l'autre porteuse de l'anomalie qui est dite en mosaïque.

Il existe deux types d'anomalie chromosomique. Celles affectant le nombre des chromosomes dont les plus fréquentes sont :

- Les aneuploïdies : c'est la perte ou le gain d'un ou de plusieurs chromosomes ;
- Les polyplœidies : désignant un nombre anormal de lots haploïdes entiers.

Quant aux anomalies de structure, elles sont la conséquence de cassures et de réarrangements chromosomiques anormaux. Elles peuvent être :

- Equilibrée : s'il n'y a ni perte ni gain de matériel génétique ;
- Déséquilibrée : s'il en résulte une délétion et/ou une duplication d'un fragment (Anderson et al.,1994).

Plusieurs éventualités sont à envisager et sont schématisées dans la Figure 1 :

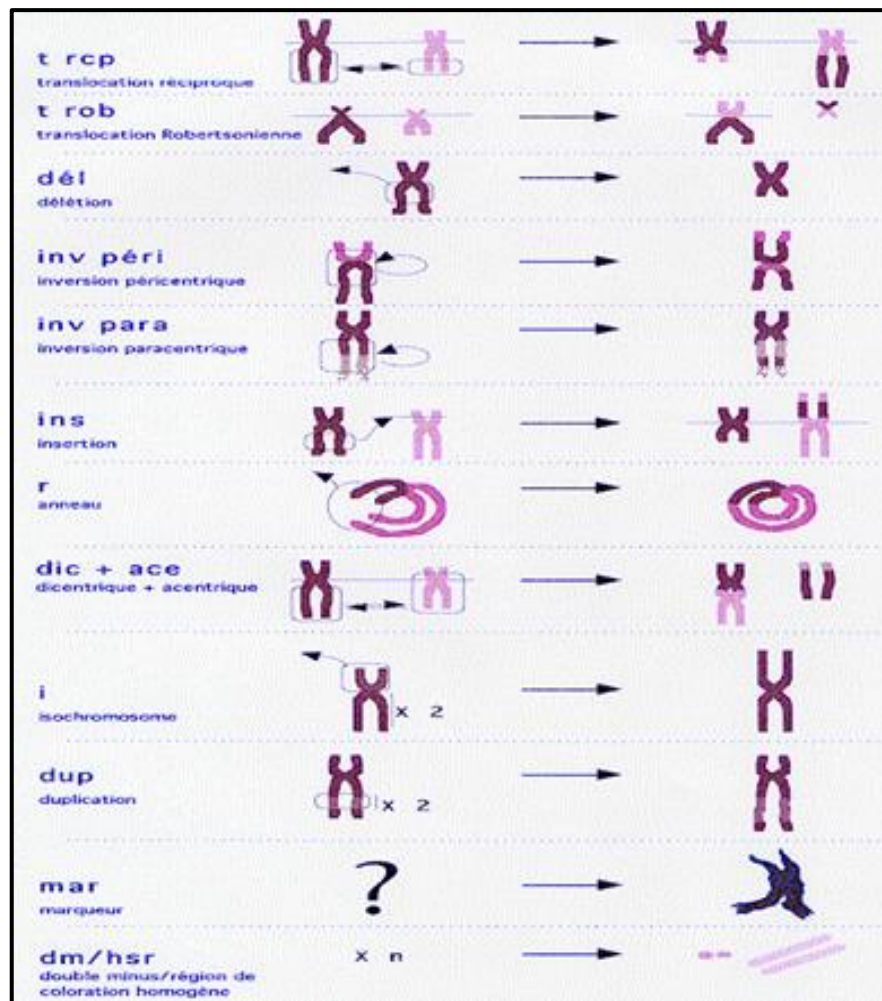


Figure 1 : Différentes anomalies de structure (Jean et al.,2000).

2.2. Risques d'anomalies chromosomiques

Plusieurs facteurs augmentent le risque qu'un enfant soit porteur d'une anomalie chromosomique :

- **L'âge avancé de la mère** : dans le cas de la trisomie 21, le risque augmente de façon exponentielle avec l'âge de la mère après 35 ans.
- **Les antécédents familiaux** : la prédisposition familiale à la trisomie 21 (y compris parmi les enfants du couple) augmente le risque.
- **Une malformation congénitale chez un précédent bébé** : Avoir donné naissance à un enfant vivant porteur d'une anomalie congénitale ou à un bébé mort-né, même sans savoir que le bébé était porteur d'une anomalie chromosomique ou pas, augmente le risque d'avoir un enfant porteur.
- **Fausse couches précédentes** : les antécédents d'avortements spontanés à répétition augmentent le risque de donner naissance à un enfant porteur d'aberrations chromosomiques.
- **Une anomalie chromosomique chez l'un des futurs parents** : La présence d'une anomalie chromosomique chez l'un des parents ou les deux, majore le risque, même si le parent n'est que porteur sain et ne présente aucun caractère

physique pathologique. Le médecin suspecte une telle anomalie lorsque le couple a subi plusieurs fausses couches, a eu des problèmes d'infertilité ou a donné naissance à un bébé atteint de malformations congénitales.

3. CONSULTATION DE GENETIQUE MEDICALE

La consultation de génétique est une consultation médicale assurée par un médecin généticien. Elle passe par l'examen du patient et la réalisation d'un arbre généalogique de sa famille.

À la suite de la consultation, le médecin pourra prescrire (au malade et/ou à d'autres membres de la famille) un examen génétique et/ou d'autres examens complémentaires (IRM, échographie, examen ophtalmologique, examen ORL, radiographie, bilan biologique ...).

Les résultats des examens seront communiqués au patient par le médecin généticien pendant une consultation (Laboratoire National de Référence,2017).

II.CYTOGENETIQUE MOLECULAIRE

Depuis la fin des années 80, les cytogénéticiens ont à leur disposition de nouvelles techniques alliant l'établissement du caryotype et la biologie moléculaire dont le niveau de résolution se situe à une échelle intermédiaire : la cytogénétique moléculaire.

Les techniques de la cytogénétique moléculaire reposent sur le principe de l'hybridation de la molécule d'ADN avec une séquence complémentaire variable en fonction de la technique utilisée et de la pathologie étudiée.

Les principales méthodes de cette discipline sont l'Hybridation Génomique Comparative "CGH" et l'Hybridation in situ Fluorescente "FISH" (Delobel ;2011).

1. HYBRIDATION GENOMIQUE COMPARATIVE "CGH"

C'est une technique globale d'étude du génome permettant à partir de l'ADN d'un patient de détecter un déséquilibre génomique avec un pouvoir de résolution de l'ordre de 5-10 Mb. La CGH est à présent peu employée dans les laboratoires de routine de cytogénétique constitutionnelle à cause des exigences techniques qu'elle impose (Froenicke, 2005).

2. HYBRIDATION IN SITU EN FLUORESCENCE "FISH"

C'est une technique de la cytogénétique moléculaire basée sur le principe d'hybridation et permettant, d'une part la détection de remaniements chromosomiques d'une taille inférieure à 3 Mb, et d'autre part, l'étude des anomalies chromosomiques sur les noyaux en interphase.

L'hybridation est un processus moléculaire qui joint deux molécules d'ADN simple brin complémentaires pour former une molécule d'ADN double brin. La FISH utilise ce processus pour localiser des sondes sur des chromosomes cibles. Elles s'hybrident sur ces derniers sous forme simple brin lorsque leurs séquences sont complémentaires. La fluorescence est ensuite capturée sur une image (Figure 2) permettant de localiser les sondes sur les chromosomes cibles.

Cette technique est particulièrement utile pour le diagnostic rapide des anomalies du nombre des chromosomes et l'étude des microdélétions mais aussi c'est un complément du caryotype (Liehr et al.,2009).

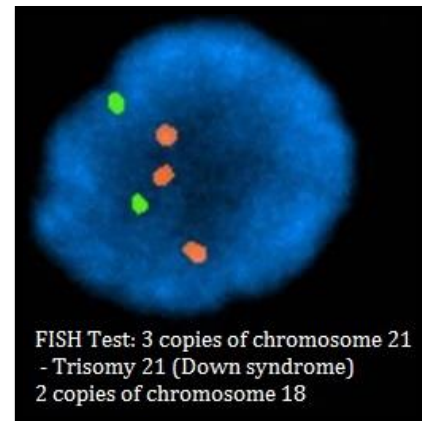


Figure2 : Exemple d'image en FISH : Trisomie 21(en orange)
(www.Slideshare2018).

2.1. But

La FISH décèle des anomalies inframicroscopiques (qui sont trop petites pour pouvoir être observé au microscope optique) échappant au caryotype traditionnel.

Permet de connaître l'origine d'un petit chromosome surnuméraire, de préciser les portions de chromosomes impliquées dans les remaniements et de dire si elles sont ou non déséquilibrées.

2.2. Substrats de la technique FISH

La technique FISH peut être appliquée sur différents substrats tels :

- Une préparation chromosomique de métaphase obtenue par caryotype classique (culture, blocage, choc, fixation, étalement) ;
- Des noyaux interphasiques de préparations cellulaires totales (étalement de sang, de moelle osseuse) ou des sections minces de tissu paraffiné.

2.3. Sondes utilisées en technique FISH

Il existe quatre types de sondes actuellement utilisées pour la technique FISH (Figure 3) :

- Sondes télomériques : spécifiques des extrémités terminales des bras courts et longs des chromosomes. Elles permettent de mettre en évidence des anomalies chromosomiques impliquant les régions télomériques des chromosomes.
- Sondes centromériques : Elles s'hybrident au niveau des centromères des chromosomes. Les séquences dont elles sont complémentaires sont naturellement présentes en un grand nombre d'exemplaires au niveau des centromères. Le signal obtenu est donc en général intense car la sonde s'hybride sur chacune des séquences complémentaires présentes.

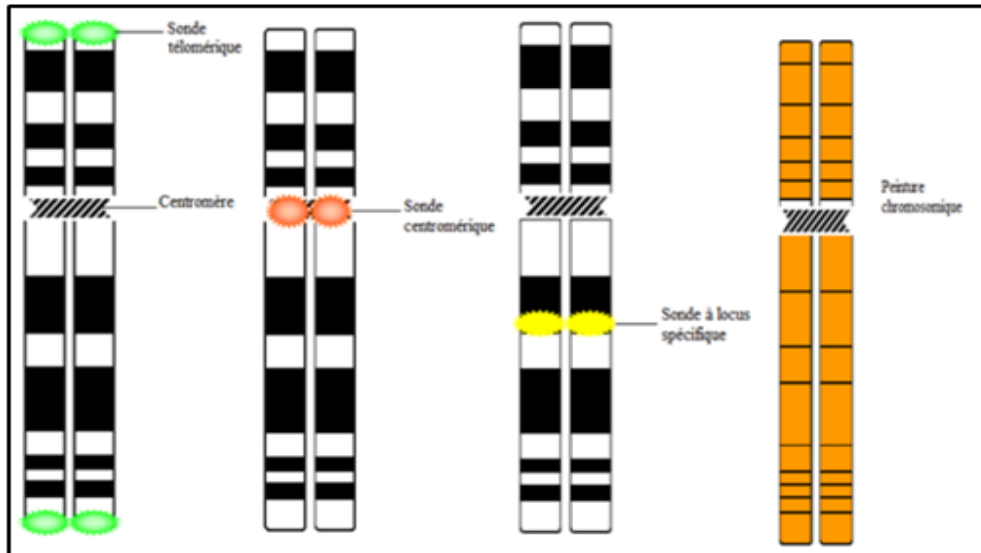


Figure 3 : Différents types de sondes.

- Sondes à locus spécifique : Ces sondes de petite taille permettent d'identifier une région très précise du génome. Elles sont obtenues par marquage de l'ADN cloné dans différents vecteurs (plasmides, cosmides, YACS, BACs...). Leur intérêt principal réside dans la mise en évidence rapide de remaniements impliquant une région chromosomique précise (amplifications, microdélétions, translocations, inversions ...). Ces sondes peuvent être employées seules ou être combinées entre elles pour obtenir un marquage multi-couleur permettant une interprétation plus aisée de certains remaniements.
- Sondes de peinture chromosomique : Elles sont constituées d'un ensemble de sondes de petite taille couvrant l'ensemble du chromosome. Ces sondes sont obtenues après isolement et marquage de l'ADN d'un chromosome. Leur réalisation ne nécessite pas de connaître la séquence de cet ADN. Après hybridation, on observe un marquage de tout le chromosome. Il existe également des peintures spécifiques d'un bras ou même de quelques bandes chromosomiques. Ces sondes sont très utiles pour interpréter certaines translocations complexes, mettre en évidence des échanges de petite taille, ou identifier précisément l'origine d'un fragment non identifié (M. Christine ,1996).

2.4. Indications de la FISH

La FISH est une technique indiquée pendant différents stades de maturité humaine en prénatale ou en postnatale par différentes manières.

En postnatale, les indications sont :

- Caractérisation d'un remaniement de novo et/ou complexe faisant intervenir plusieurs chromosomes ;
- Précision des points de cassure d'une anomalie de structure révélée par caryotype standard ;

- Diagnostic des microremaniements (microdélétions, microduplications....) ;
- Détermination de l'origine des marqueurs chromosomiques ;
- Etude des translocations cryptiques et semi-cryptiques ;
- Recherche des remaniements subtélomériques (en cas de retard mental) ;
- Evaluation et exploration d'un mosaïsme ;
- Explorations d'anomalies de nombre ou de structure des gonosomes) (Froenicke, 2005).

2.5. Limites de la méthode

Ne peut détecter que les anomalies numériques ou structurales connues ou présumées se rapportant à la sonde ADN utilisée en complément de l'analyse des chromosomes.



Matériel et Méthodes



Il s'agit d'une étude rétrospective portant sur 124 patients adressés au service de génétique du CHU Hassan II Fès depuis janvier 2019 à mai de la même année.

Les données cliniques ainsi que les résultats sont recueillies à partir du registre de caryotype postnatal constitutionnel. Pour chaque patient, un prélèvement de sang veineux (de 3 à 5 ml) a été effectué et immédiatement traité.

I. REALISATION DU CARYOTYPE

Le caryotype est la représentation obtenue par microphotographie de l'aspect morphologique de l'ensemble des chromosomes d'une cellule en métaphase ou en pro métaphase.

1. PRINCIPE DE LA TECHNIQUE

Après culture, les cellules sont bloquées au stade de métaphase grâce à la colchicine, puis soumises à un choc hypotonique. Elles sont ensuite étalées et fixées.

Une dénaturation thermique suivie d'une coloration spécifique de la chromatine permet de visualiser au sein des chromosomes des bandes de coloration alternativement claires et foncées et contribue à l'identification, à l'intérieur des bras, des régions et des sous-régions.

Les chromosomes sont classés par paire, grâce à un système d'analyse semi-automatique, selon leur taille, la position du centromère et le banding chromosomique.

2. MODE OPERATOIRE

Les réactifs utilisés pour la réalisation du caryotype sont :

- Milieu de culture cellulaire Pbmax ;
- Colchicine 10mg/ml ;
- KCL. (0.065M) ;
- Fixateur (carnoy I) : est obtenu par mélange de 3 volumes de méthanol pour 1 volume d'acide acétique.
- Eau distillée.

3. PROTOCOLE DE LA TECHNIQUE "CARYOTYPE"

3.1. Culture cellulaire

Pour cela, il est nécessaire d'avoir des cellules en phase de multiplication active. La durée de la culture cellulaire est de 72 heures pour les lymphocytes sanguins. Sous hotte à flux laminaire on ajoute 500 µl de sang total à 8ul du milieu Pbmax. Des règles d'asepsie rigoureuse doivent être respectées pour éviter toute contamination.

Les tubes sont ensuite mis dans l'étuve à 37 en position inclinée pour augmenter la surface d'échange avec l'oxygène.

3.2. Accumulation des cellules en métaphases

Après 72h de culture, on ajoute dans chaque tube 100µl de colchicine (10mg/ml), puis on met en suspension les tubes et on les remet en position inclinée à l'étuve (Figure 4) pendant 50 min.



Figure 4 : Incubation des tubes dans l'Étude.

3.3. Choc hypotonique

Une heure avant le choc hypotonique, la solution de KCL 0.065M (1.4g de KCL qsq 300ml) est préparée, et mise à une température de 37°C dans l'étuve, les tubes sont sortis de l'étuve et mélangés doucement, Centrifuger par la suite (Figure 5) à 1500tr/mn à 25°C pendant 5 min puis le surnageant est aspiré, quelques gouttes de la solution hypotonique (KCL 0.065 M préalablement préparée et portée à 37°C) sont ajoutées dans chaque tube, le culot est bien dissous et suspendu l'aide d'une pipette Pasteur, 12 ml par tube est complété par la solution hypotonique de KCL, et finalement les tubes sont homogénéisés et remis à l'étuve pendant 20min.



Figure 5 : Centrifugeuse.

3.4. Fixation

Le fixateur est mis dans un flacon propre et sec en verre, stocké dans la glace ou +4°C, Prévoir 30ml par tube pour 3 fixations.

a. Préfixation :

1ml de fixateur frais est ajouté dans chaque tube puis Centrifuger à 1500 tr/min durant 5min.

1^{ère} fixation :

Le culot est Remi en suspension dans quelques gouttes de Carnoy I préparé extemporanément, puis compléter à 10 ml, les tubes sont Homogénéiser et fixer pendant 20 min à température ambiante.

2^{ème} fixation (identique à la première)

Les tubes sont Centrifuger à 1500 t/min pendant 5 min, le surnageant retirer jusqu'environ 0.5 ml du niveau du culot, la suspension est remise délicatement dans quelques gouttes de Carnoy I et compléter à 8 ml, puis Homogénéiser et laisser fixer pendant 45 min minimum à température ambiante.

3.5. Etalement

Etalement 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 retirer et Remi en suspension dans du carnoy I, selon le culot, aspirer dans l'effilure de la pipette qui doit être retenu horizontalement ;

2 gouttes sont mises par lame à côté de l'humidificateur puis laisser sécher finalement la richesse en mitose des lames est observer au microscope inverse (Figure6).

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.



Figure 6 : Microscope inverse.

II.REALISATION DE LA TECHNIQUE FISH (FLUORESCENCE IN SITU HYBRIDIZATION)

Dans cette partie on s'intéresse à la technique FISH observée plusieurs fois au cours de la période du stage. Deux jours est la période nécessaire pour la réalisation et l'obtention de résultats interprétables.

1. SUBSTRATS DE LA TECHNIQUE FISH

La technique FISH peut être appliquée sur différents substrats tels :

- Une préparation chromosomique de métaphase ou d'interphase obtenue par caryotype classique (culture, blocage, choc, fixation, étalement) ;

- Des noyaux interphasiques de préparations cellulaires totales (étalement de sang, de moelle osseuse) ou des sections minces de tissu paraffiné.

2. PRINCIPE DE LA TECHNIQUE

Le caryotypage classique se limite à la détection de réarrangements impliquant plus de 5 Mb d'ADN. La méthode FISH permet de détecter des séquences de 100kb à 1 Mb. (Figure 7).

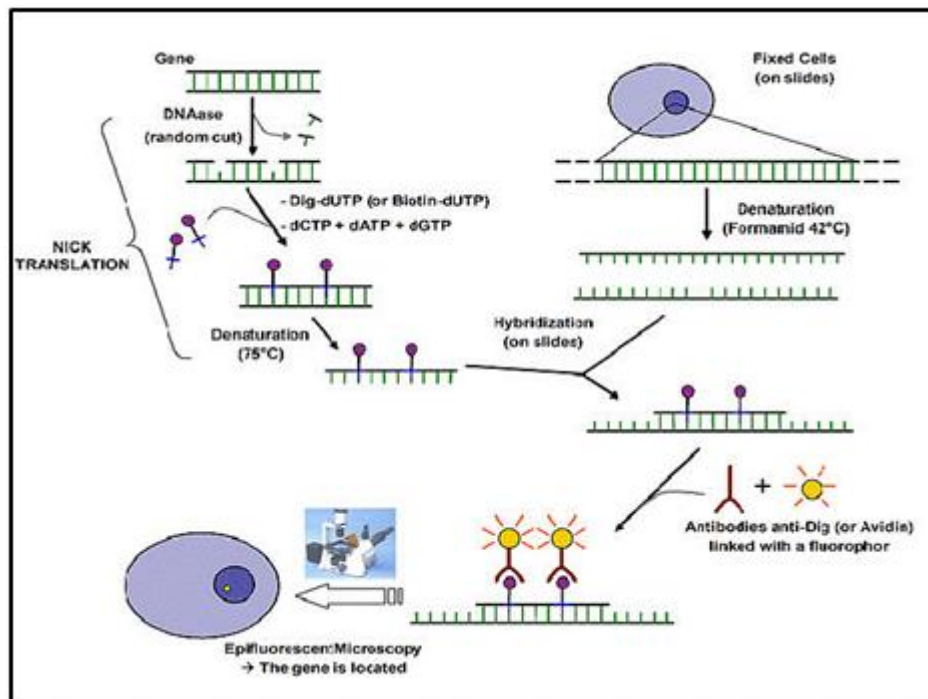


Figure 7 : Principe de la FISH.

Cette technique implique l'hybridation de sondes de séquences d'ADN spécifiques couplées à un marqueur fluorescent avec l'ADN du patient, puis la détection ultérieure au microscope de la présence, l'absence d'un nombre anormal d'exemplaires ou d'emplacements pathologiques d'un signal de fluorescence donné.

3. MODE D'OPERATOIRE

3.1. Préparation des lames pour la FISH

Avant de démarrer toute technique, il faut penser à mettre au bain-marie les solutions utilisées à chaud. Il ne faut pas démarrer les étapes tant que les solutions n'ont pas atteint la température requise.

3.2. Prétraitement

Les lames doivent être immergées dans la solution 2XSSC, 70% Formamide à 37°C pendant 30 min, ensuite dans du PBS une fois pendant 1 minute (Figure 8a).

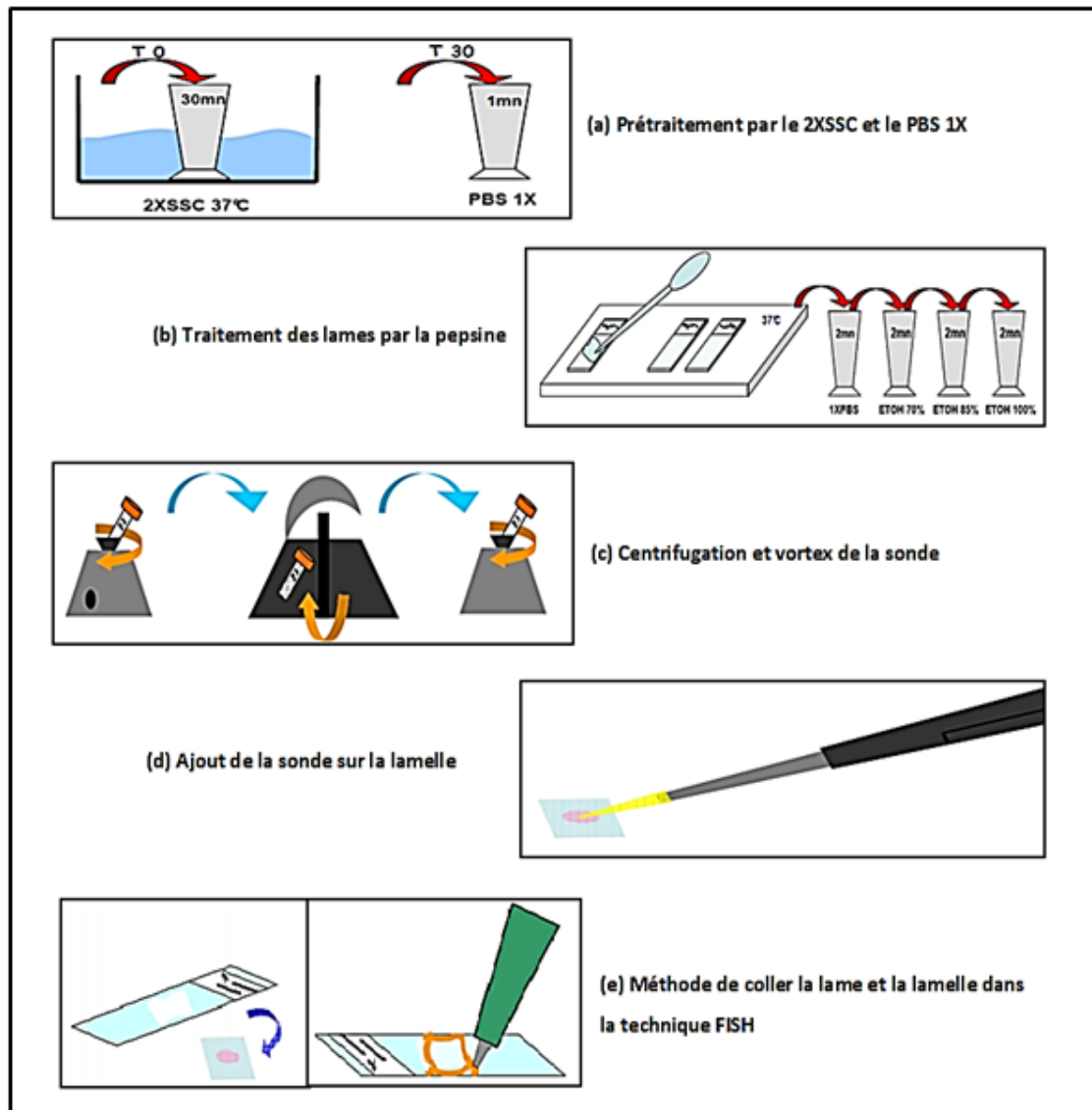


Figure 8 : Mode opératoire de la technique FISH.

3.3. Traitement à la pepsine

Les lames sont placées sur le ThermoBrite (Figure 9) (Abbott 7J9120) à 37°C et la section recouverte avec la pepsine diluée.

L'incubation dure entre 10 et 20 min, et les lames sont ensuite immergées dans du PBS une seule fois pendant 2 minutes.

Les lames sont déshydratées par la suite dans un gradient d'ETOH 70, 85, 100% pendant 2 minutes chacun et ensuite séchées avant de procéder à l'étape d'Hybridation (Figure 8b).



Figure 9 : ThermoBrite.

3.4. Hybridation des échantillons

La sonde et le tampon d'hybridation sont portés du congélateur à une température ambiante. La sonde et le tampon sont centrifugés, ensuite vortexés et à nouveau centrifugés (Figure 8c).

On dépose 10µL de la sonde sur une lamelle (Figure 8d). Les sondes sont généralement disponibles dans le laboratoire sous forme commercialisée.

La lame échantillon est retournée immédiatement sur la lamelle, et scellée à l'aide de rubber cement (Figure 8e).

La lame est ensuite placée dans le ThermoBrite (Figure 9) et laissée incuber à 37°C pendant environ 5 minutes avant de lancer le programme de dénaturation/hybridation.

La température de dénaturation : 73°C / Temps de dénaturation : 1 minute et la température d'hybridation : 37°C / temps d'hybridation 20 h.

3.5. Lavage post-hybridation

À partir de cette étape, il est impératif de travailler en lumière réduite de manière à préserver les fluorochromes des sondes présentes sur les lames. À la fin de l'hybridation, il faut faire sortir les lames du ThermoBrite.

Le rubber cement est retiré, sans retirer la lamelle. La lame est placée dans la solution de lavage 2XSSC/0,1% NP40 à température ambiante pour faciliter le décollement de la lamelle (quelques secondes). Pour plus de facilité, les lames peuvent être placées dos à dos.

Les lamelles sont retirées par la suite délicatement et transférées dans la solution 0,4XSSC/0,3% NP40 à 73°C. Une agitation rapide est effectuée pendant 2 min. Les lames sont retirées de la solution à 73°C et rincées à température ambiante pendant 30s à 1minute. Finalement les lames sont mises à sécher à l'obscurité.

3.6. Contre coloration des noyaux au DAPI

10µl de DAPI sont déposés sur une lamelle couvre-objet. La lame échantillon est retournée sur la lamelle (même technique que celle de la sonde d'hybridation) .

3.7. Lecture

Avant de passer à la lecture des résultats, il faut placer les lames pendant au moins 5 minutes à 4°C. La lecture des résultats s'effectue à l'obscurité sur le microscope lié au cytoscan qui permet la capture des résultats.

III.ANALYSE DES DONNEES

Les résultats rassemblés sont analysés en faisant appel à des études statistiques pour déterminer la fréquence et le type des anomalies chromosomiques détectées par le caryotype d'une part, et celles détectées par la FISH d'une autre part.



Résultats et Discussion



I. ANOMALIES CHROMOSOMIQUES DEPISTÉES

1. POURCENTAGE D'ANOMALIES CHROMOSOMIQUES

Les données dont on dispose pour apprécier la fréquence des anomalies chromosomiques par rapport au nombre total des analyses effectuées au laboratoire centrale du centre hospitalier universitaire Hassan II, Fès, sont rassemblées à partir du registre du caryotype postnatal constitutionnel sur un total de 124 dossiers enregistrés en 2019 (Figure 10).

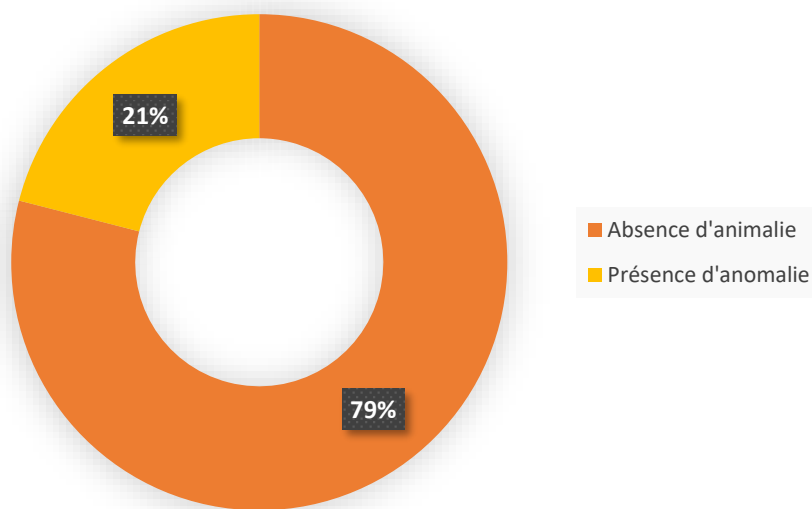


Figure 10 : Pourcentage du caryotype normal et anormal.

Sur les 124 patients qui ont bénéficié d'un diagnostic postnatal, 26 cas (soit 21%) ont eu un caryotype et ou FISH anormal, les 98 (soit 79%) ont eu des résultats normaux.

L'analyse a été prescrite après une orientation clinique, biologique et radiologique chez les patients. Les principaux motifs de consultation sont le syndrome malformatif, le retard staturo pondéral, les fausses couches à répétition, et le bilan d'infertilité.

Une étude réalisée par Catherine Turleau et Marguerite Prieur en 2000 (Service de cytogénétique Necker Enfants malades à Paris), annonce que 0,6% à 0,9% des enfants vivants sont porteurs d'une anomalie chromosomique, et cela confirme le taux faible de ces anomalies. Ces statistiques sont réalisées sur un total des naissances.

Une autre étude réalisée dans le service de Génétique du CHU Mohammed VI de Marrakech (2015), sur 122 patients qui présentent un syndrome dysmorphique et ou malformatif, a montré que 68 patients (soit 55,74 %) présentaient des anomalies chromosomiques et 54 patients (soit 44,26%) avaient un caryotype normal, pouvant confirmer ainsi que la cause principale des malformations et la dysmorphie est la présence d'anomalies chromosomiques, avec des différents degrés de gravité.

2. TYPES DES ANOMALIES CHROMOSOMIQUES RETROUVEES

Les anomalies autosomiques sont les plus fréquentes, 18 cas parmi les 26 cas présentant des résultats positifs (soit 69,23%). On trouve parmi ces 18 cas, la trisomie 21, trisomie 18 et la trisomie 13. L'étude du service de Génétique de CHU Mohammed VI de Marrakech ([Amedimele, 2015](#)), montre que les anomalies autosomiques sont les plus fréquentes avec un pourcentage de 90,75%. Il peut s'agir d'anomalies de nombre ou de structure intéressant les autosomes et survenant soit au cours de la méiose ou lors des premières divisions du zygote.

En ce qui concerne les anomalies gonosomiques on a diagnostiqué trois cas (soit 11,53%), tous en faveur du syndrome de Turner (Figure 11).

L'anémie de Fanconi a été révélée chez quatre individus (soit 15,38%).

Finalement Le plus petit pourcentage revient aux syndromes microdélétionnels retrouvé chez seulement un seul cas (Syndrome de Williams) (soit 3.84%).

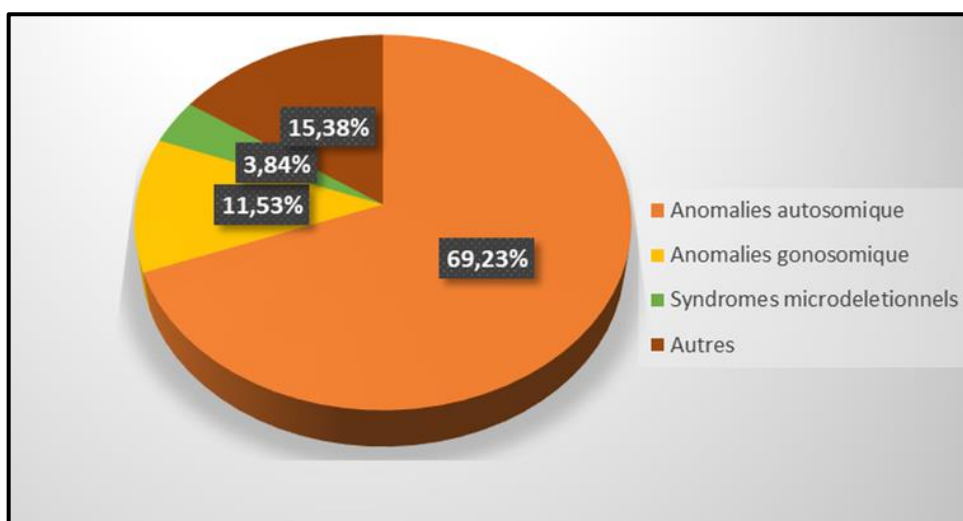


Figure 11 : Taux des différents types d'anomalies diagnostiquées durant la période du stage.

II.FREQUENCE DES ANOMALIES CHROMOSOMIQUES

En général on a trouvé une grande diversité des anomalies chromosomiques, la fréquence de chacune d'entre elles diffère. On trouve un pourcentage très important surtout pour la trisomie 21 (soit 61,53%) (Figure13). Suivi par le syndrome de Turner ou on a observé 3 cas (soit 11,53%). Ensuite 4 cas d'anémie de Fanconi (soit 15,38%), Finalement on a diagnostiqué qu'un seul cas respectivement pour la trisomie 13, trisomie 18 et le syndrome de Williams (soit 3,84%).

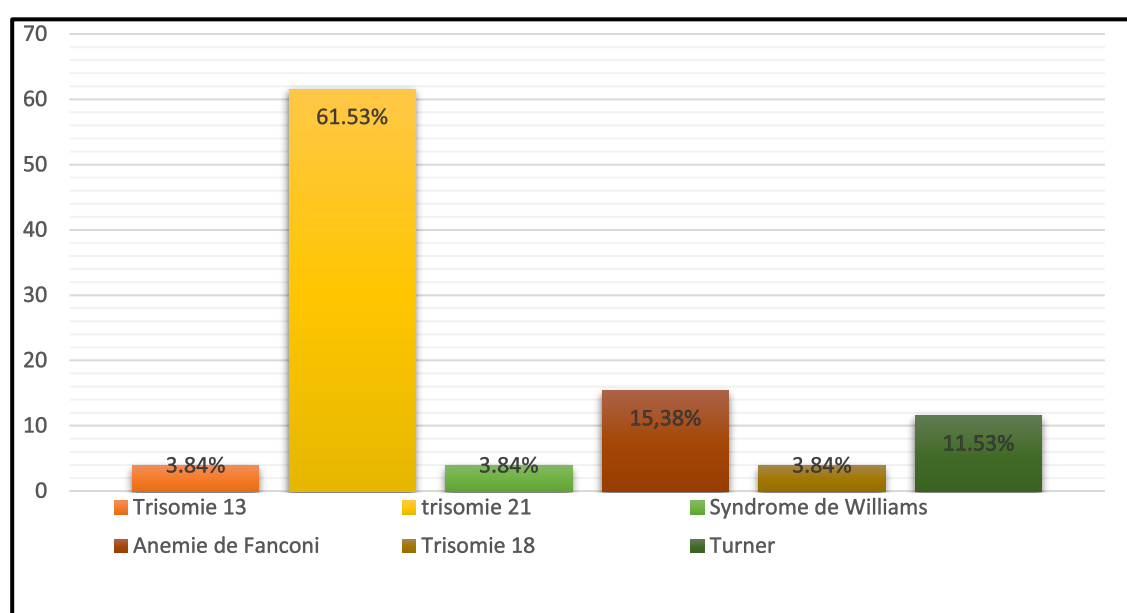


Figure 12 : Fréquence des différentes anomalies chromosomique.

III.ANOMALIES CHROMOSOMIQUES DETECTEES PAR LE CARYOTYPE

Les anomalies autosomiques sont des anomalies qui touche le nombre ou la structure des chromosomes non sexuels (Autosomes) qui sont de nombre de 22, surtout au cours de la méiose. Chaque type d'anomalies peut être viable comme la trisomie 21 et le syndrome de Turner, ou non viable comme le cas de la trisomie 13 et 18, ça dépend de la gravité des malformations et des pathologies accompagnées.

1. ANOMALIES AUTOSOMIQUES

Parmi les 26 cas présentant une analyse positive, 21 ont une anomalie de nombre (soit 80,76%), (Tableau 1) les anomalies de nombre retrouvées sont soit autosomiques tels la trisomie 21,18,13 ou gonosomiques tel le syndrome de Turner (soit 14,28%). La plus fréquentes des anomalies autosomiques de nombre c'est la trisomie 21 ou on trouve 16 patients (soit 76,19%), par la suite on observe un pourcentage égal pour la trisomie 18 et la trisomie 13 (soit 4,76%) équivalent à un seul cas. Et ce sont des anomalies détectées par le caryotype.

Le reste (soit 19,24%) est représenté par le syndrome de williams et l'anémie de Fanconi, sans d'oublier de mentionner que cette anémie est autosomique récessive et rarement liée au chromosome X diagnostiquée dans notre laboratoire par le caryotype.

Anomalies de nombre	types	Nombre de cas	pourcentage
Autosomiques	<u>Trisomie 21</u> 47,XX,+21	16	76,19%
	<u>Trisomie 13(translocation robertsonienne)</u> 47,XY,+13	1	4,76%
	<u>Trisomie 18</u> 47,XX,+18	1	4,76%
Gonosomiques	<u>Syndrome de Turner</u> <u>(45,X)</u>	3	14,28%
Total		21	100%

Tableau 1 : Fréquence des différentes anomalies du nombre (étude de 2019).

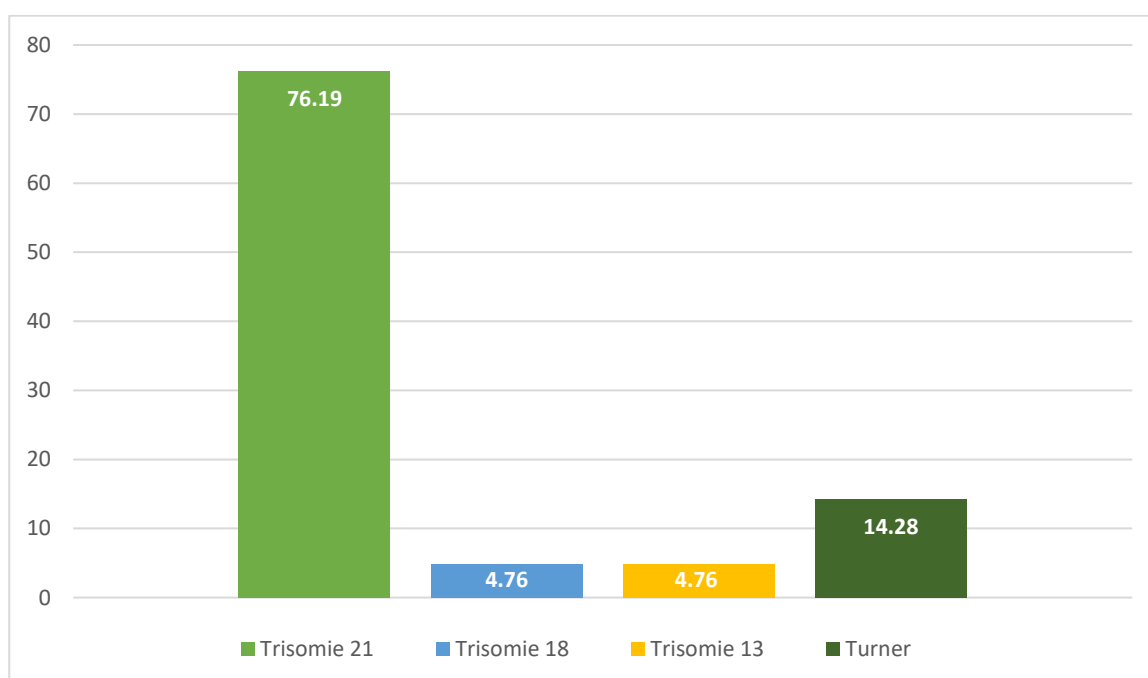


Figure 13 : Fréquence des différentes anomalies chromosomiques de nombre.

1.1. Trisomie 21

Dans notre étude parmi les 21 cas qui souffrent d'anomalies de nombre, 16 (soit 76,19%) (Figure 13) sont des trisomies 21, ou encore nommé syndrome de Down. Ce grand chiffre est dû au fait que c'est une des anomalies viables les plus fréquentes. En effet D'après l'étude réalisée par Hopkins en 1998, on constate environ un patient atteint par la trisomie 21 parmi 750 nouvelles naissances.

Elle atteint les deux sexes de façon égale avec une survie qui peut aller jusqu'à 60 ans, et est caractérisée par la présence d'un chromosome surnuméraire pour la 21ème paire.

Le retard psychomoteur ou retard mental est constant chez les enfants trisomiques 21 ; cependant, la prise en charge précoce permet d'améliorer le pronostic. Le taux de mortalité est généralement élevé dans les premiers mois de la vie et résulte des malformations associées (Marc et al., 2004).

1.2. Trisomie 18 (Syndrome d'Edwards)

Un seul cas de trisomie 18 est trouvé dans notre étude (soit 4,76%) (Figure 13) : (47, XY) +18. La trisomie 18 a été décrite en 1960, il s'agit d'anomalie extrêmement sévère. Son incidence est d'un sur 8.000 naissances.

Lorsqu'exceptionnellement il existe une survie prolongée, un retard mental sévère est associé. Les malformations cardiaques sont présentes dans 90% des cas (Marc et al., 2004).

1.3. Trisomie 13 (Syndrome de Patau)

Un seul cas est observé (soit 4,76%) (Figure 13) ou le caryotype est positive. La trisomie chez ce patient est causée par une translocation robertsonienne entre les chromosomes 13 et 14. Dans une autre étude, on déclare un cas sur 10.000 naissances (Marc et al., 2004).

Les enfants atteints dépassent rarement un an de vie (Powell Hamilton et al., 2016). Cela explique la présence d'un nombre de patients si faible par rapport aux autres types d'anomalies viables.

2. ANOMALIES GONOSOMIQUES : TURNER

On a détecté trois cas (soit 14,28%) (Figure 13) dans notre étude. Le syndrome de Turner est une des anomalies chromosomiques féminines (45, X) les plus fréquentes, causé par la perte totale ou partielle d'un gonosome X chez un fœtus féminin. Il est moins fréquent que les anomalies autosomiques. Ce type d'anomalie affecte une sur 2500 petites filles à la naissance (Bondy CA, 2007).

3. L'ANEMIE DE FANCONI

C'est une anomalie autosomique récessive très rare (soit 15,38%) (Figure 12), pouvant évoluer vers une aplasie médullaire. Les analyses génétiques sont demandées pour confirmer un diagnostic suspecté cliniquement. Le caryotype permet de mettre en évidence la présence de cassures chromosomiques en présence d'un agent alkylant l'ADN (mytomycine C).

IV. ANOMALIE CHROMOSOMIQUE DETECTEE PAR LA FISH : SYNDROME DE WILLIAMS

Les syndromes microdélétionnels sont définis par la présence d'une anomalie chromosomique de taille mineure (inférieure à 5 mégabases) ou aneusomie segmentaire, décelable par cytogénétique moléculaire (FISH : Fluorescent in Situ Hybridization).

Les syndromes microdélétionnels représentent des syndromes cliniques avec des phénotypes suffisamment caractéristiques pour être reconnus cliniquement.

Plusieurs syndromes microdélétionnels peuvent être confirmés aisément, les plus recherchés sont Le syndrome de Williams (microdélétion en 7q11.23) (Ouldim et al., 2012).

Dans notre étude on a trouvé un seul cas (3.84%) (Figure 12), Une étude confirme qu'un sur 20 000 naissances souffrent de ce syndrome (Bedeschi et al., 2011). Et cette grande différence pourrait être expliquée par la faible taille de notre échantillon.

Le syndrome de Williams est une trouble complexe du développement décrit il y a 35 ans. Ce syndrome est causé par un accident génétique chromosomique lié à la perte d'un petit fragment du chromosome 7 (Figure 15). Où sont situés de nombreux gènes dupliqués, ce qui explique la grande hétérogénéité clinique. La FISH est seule capable de les détecter.

Pour confirmer une microdélétions lors d'une suspicion, des sondes spécifiques qui s'hybrident au chromosome en question sont utilisées.

Deux types de sondes sont utilisées : une sonde de contrôle et l'autre pour le test.

Pour les suspicions de syndrome de williams : La sonde de contrôle utilisée est LSI D7S486, D7S522 qui s'hybride au milieu du bras q du chromosome 7 (7q31) en le marquant d'une tache fluorescente verte. La sonde test utilisée est LSI ELN qui s'hybride à l'extrémité proximale (7q11.23) en le marquant d'une tache fluorescente orange.

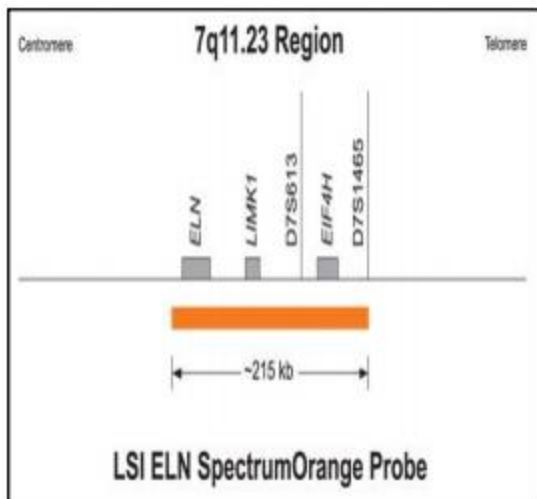


Figure 14 : Cartographie des régions d'appariements des sondes LSI ELN Spectrum orange et / D7S486 d7S522 Spectrum green

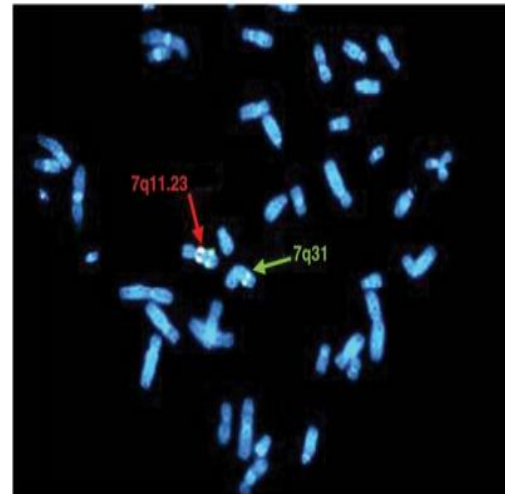


Figure 15 : image de Fish de la région 7q11.23 l'absence du spot centromérique sur l'un des chromosomes 7 confirme la microdélétions spécifique du syndrome de Williams-beuren



Conclusion Générale



Le diagnostic postnatal génétique concerne en majorité des maladies rares. Il s'agit de maladies touchant le matériel génétique pouvant être soit accidentelles lors de la formation de l'embryon ou alors héritées des parents. Parmi ces maladies, certaines sont chromosomiques, d'autres géniques.

La cytogénétique moléculaire ainsi que la cytogénétique classique permettent la réalisation de ce diagnostic postnatal chromosomique et peuvent être effectuées à différentes étapes de la vie et sur différents types de prélèvements.

Nous avons analysé par cette étude les différents résultats de Fish et Caryotype réalisées en 2019 au Laboratoire Centrale du Centre Hospitalier Universitaire Hassan II, Fès.

Le pourcentage des anomalies détectées est de 21%. Ce taux reste relativement faible et ceci est dû à la faible résolution de ces deux techniques.

Les anomalies les plus fréquentes dans notre série sont la trisomie 21 (soit 61,53%), le syndrome de Turner avec un taux de (11,53%). Suivi par l'anémie de Fanconi (7,69%). La trisomie 13 représente 3,84% des anomalies. Les anomalies autosomiques sont beaucoup plus fréquentes que ceux des anomalies des gonosomes. Un syndrome microdélétionnel a été retenu chez 5 cas.

Le diagnostic génétique passe par un examen clinique syndromique, des examens radiologiques et électro physiologiques et un bilan métabolique. L'exploration cytogénétique ne vient qu'à la fin de cet arsenal diagnostique. Actuellement grâce à de nouvelles techniques comme la CGH array et les techniques de séquençage ciblé et séquençage à haut débit (NGS) un diagnostic génétique précis pourrait être établi chez les patients dont l'étude cytogénétique s'est révélée sans anomalies.



References



- **Anderson S, Sadinski W, Shugart L, Brussard P, Depledge M, Ford T, Hose J, Stegeman J, Suk W, Wirgin I and Wogan G. (1994).** Genetic and molecular ecotoxicology
- **Andrew.R, Dian.D (2006)** Gilbert-Dussardier B. Les syndrome de Williams-beuren.encyclopedieOrphanet .
- **Bedeschi MF, Bianchi V, Colli AM, Natacci F, Cereda A, Milani D, Maitz S, Lalatta F, Selicorni A. (2011).** Clinical follow-up of young adults affected by Williams Syndrome: experience of 45 Italian patients.Am J Med Genet 155A(2):353-9. Williams JCP, Barrett-Boyes BG, Lowe JB. Supravalvular aortic stenosis. Circulation 1961; 24: 1311-8.
- **Bondy CA. (2007)** Care of girls and women with Turner syndrome: a guideline of the Turner syndrome study group. J Clin Endocrinol Metab; 92:10-25.
- **Caquet,R. (2010)** Caryotype. 250 Examens de Laboratoire, 80–82. doi :10.1016/b978-2-294-71033-9.50050-9
- **Claire Lemaitre (2008)** Principes de génétique humaine, Biofutur, Volume 1998, Issue 183, November 1998, Page 53
- **Cooper GM, Coe BP, Girirajan S, Rosenfeld JA, Vu TH, Baker C, Williams C, Stalker H, Hamid R, Hannig V, Abdel-Hamid H, Bader P, McCracken E, Niyazov D, Leppig K, Thiese H, Hummel M, Alexander N, Gorski J, Kussmann J, Shashi V, Johnson K, Rehder C, Ballif BC, Shaffer LG, Eichler EE (2011):** A copy number variation morbidity map of developmental delay. Nat Genet; 43:838-46.
- **Delobel B. (2011)** Cytogénétique Moléculaire.
- **Dictionnaire de Médecine Flammarion. (1991)** Médecine- Sciences Flammarion 4e édition.
- **Dr Cédric Le Caignec (2010-2011)** ; Caryotype humain : Technique - Indications.
- **Génétique médicale (2015)** : De la biologie à la pratique clinique Poche – 16 février
- **Goriely A, McVean GA, van Pelt AM. (2005)** Gain-of-function amino acid substitutions drive positive selection of FGFR2 mutations in human spermatogonia. Proc Natl Acad Sci USA ; 102 : 6051-6.
- **Guide des Techniques de Cytogénétique (2000)**, pages, 26, 27, Revue ATC.
- **Hsu,L.Y. (1998)**, Genetic Disorders and the Fetus (ed.Milunsky, A.) 179–248 (Johns Hopkins Univ. Press,Baltimore,).
- http://campus.cerimes.fr/genetiquemedicale/enseignement/genetique_19/site/html/cours.pdf
- https://fr.wikipedia.org/wiki/Anomalie_chromosomique#Anomalie_de_structure
- **Huret J.L, Louis Dallaire.L.** Centre de Recherche, Hôpital Ste-Justine, Montréal, H3T 1C5, Canada (LD)
- **J.L. Huret, (1997).** Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology
- **Jeffrey S. Dungan.MD 2017.** Présentation des maladies génétiques Par, Associate Professor, Clinical Genetics, Department of Obstetrics and Gynecology, Northwestern University, Feinberg School of Medicine
- **Jha A, Savva.D and Depledge.M (2000).** Optimized RAPD analysis generates high-quality genomic DNA.

- **Journal de gynécologie obstétrique et de biologie de la reproduction (2001)** ; 30: 75-79© Masson, Paris
- **Laboratoire National de Référence (2017)**
- **Lamoril.J, Ameziane,N, Deybach J.-C, Bouizegarène.P, Bogard.M (2008)**, Notions de génétique moléculaire pour comprendre l'hérédité, Immuno-analyse & Biologie Spécialisée, Volume 23, Issue 6, Pages 331-352
- **Liehr, Thomas (2009)**. Fluorescence in situ hybridization (FISH): application guide. Springer. ISBN 9783540705802
- **Marc J.P., P. Jonveaux, D. Lacombe, N. Leporrier, S. Lyonnet, C. Morraine (2004)**. Génétique médicale : Formelle, Chromosomique, Moléculaire, Clinique. Collège National Des Enseignants Et Praticiens Et Génétique Médicale. Edition Masson. Paris : 71-132.
- **Medical Dictionary, (2009)**,9th edition. © Elsevier
- **Mikkelsen M, Poulsen H, Nielsen KG (1990)**. Incidence, survival and mortality in Down's syndrome in Denmark. Am J Med Genet Suppl; 7:75-78.
- **Muller RF, Young ID (2001)**. Chromosomes disorders. In: Muller RF, Young ID, editors. Emery's elements of medical genetics. Edinburgh: Churchill Livingstone, 2001, p.249-266.
- **Nina N.Powell-Hamilton (2016)** Article sur msd manuals, MD, Clinical Assistant Professor of Pediatrics, Sidney Kimmel Medical College at Thomas Jefferson University; Medical Geneticist, Nemours/Alfred I. du Pont Hospital for Children
- **Ouldim Karim, Laila Bouguenouch, Imane Samri, Ihsan El Otmani, Hasna Hamdaoui, Sanae Bennis, Mounia Idrissi Lakhdar, Sana Chaouki, Samir Atmani, Moustapha Hida (2012)**. Article sous le titre de : Syndromes microdélétionnels (syndrome de Williams et syndrome de la délétion 22q11) au CHU Hassan II de Fès : à propos de 3 observations,The Pan African Medical Journal 2012.
- **Perrier- Wail M.C. (1996)** Hybridation in situ.
- **Protocol technique INH**, Département de génétique médicale, Rabat.
- **Razavi-Encha. F, O. Raoul, M.-C (1988)** LES CS Journal de PEDIATRIE et de PUERICULTURE n ~ 2-
- **Razavi-encha.f ,O. Raoul ,.Lescs .M.-C (1988)**. Journal de Pédiatrie et de Puériculture Volume 1, Issue 2, March 1988, Pages 81-87
- **Samari.I (2006)** Thèse Présentée devant l'Université Claude Bernard - Lyon 1 pour l'obtention du Diplôme de Doctorat (arrêté du 7 août) et soutenue publiquement le 6 novembre 2008 par Claire Lemaitre
- **Tijo JH, Levan A. (1956)**. The chromosome number of man. Hereditas; 42: 1-6.
- **Véronique Marck, Chapitre 1 - Bases biologiques, anatomiques et Physiologiques, Manuel de techniques d'anatomo-cytopathologie, 2010, Pages 1-19**

Résumé

Le caryotype et l'hybridation in situ en fluorescence sont des techniques d'une importance majeure en ce qui concerne le diagnostic génétique postnatal, en analysant de façon précise le nombre et la structure des chromosomes.

Le but de la présente étude rétrospective effectuée sur 124 cas analysés en 2019 est surtout d'estimer la fréquence, l'aspect clinique, et les différents types d'anomalies chromosomiques diagnostiqués au Laboratoire Centrale du Centre Hospitalier Universitaire Hassan II, Fès.

Dans notre série, nous avons pu diagnostiquer 26 patients soit un taux d'anomalies chromosomiques de 21% sur un total de 124 cas. Des fréquences similaires ont été signalées auparavant dans d'autres études, bien que d'autres taux inférieurs au notre ont été rapportés. Cette large variation de fréquence des aberrations chromosomiques pourrait refléter des variations dans les critères d'inclusion et les indications du caryotype postnatal constitutionnel et des méthodes de cytogénétique utilisées.