



Tutorat Lyon Est

Année Universitaire 2021 – 2022

Spé Odontologie

Épreuve terminale

Correction détaillée

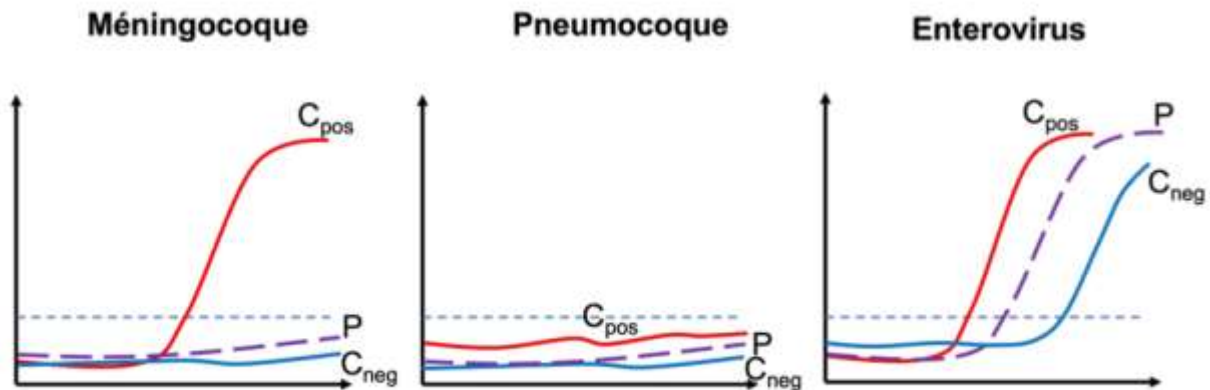
Lucie FAGOT
Fany BATAILLON

Correction rapide

<u>Questions</u>	<u>Réponses</u>
1	DE
2	BDE
3	BD
4	CDE
5	ABCE
6	CE

Question 1: 2 points DE

Un jeune patient se présente aux urgences avec une raideur de la nuque, des céphalées intenses et des vomissements. Devant ce tableau de syndrome méningé vous réalisez une ponction lombaire que vous envoyez au laboratoire pour recherche d'une étiologie infectieuse. Une PCR multiplexe est réalisée dont voici les résultats :



P: patient ; C_{pos} : contrôle positif ; C_{neg} : blanc réactionnel

Parmi les interprétations suivantes, laquelle(lesquelles) est (sont) exacte(s)?

- A. Le patient est infecté par un méningocoque.
- B. Le patient est infecté par un pneumocoque.
- C. Le patient est infecté par un entérovirus.
- D. Le résultat de la PCR pneumocoque est ininterprétable
- E. Le résultat de la PCR entérovirus est ininterprétable.

La PCR (*polymerase chain reaction*) est composée de trois étapes : la dénaturation de l'ADN double brin, puis l'hybridation des amorces de manière spécifique sur l'ADN complémentaire, et enfin, l'élongation. Le produit de la PCR obtenu est appelé amplicon. Au premier cycle, il y a deux copies du gène et après n cycles, il y aura 2^n amplicons.

Dans le cas d'une PCR en temps réel, on ajoute un agent intercalant de l'ADN, qui permettra de mesurer la fluorescence en temps réel pour suivre l'évolution de la PCR. La fluorescence sera corrélée au nombre de copies d'ADN double brins présentes. Le détecteur de fluorescence a un seuil de détection pour détecter les bruits de fond, ensuite on a le **Ct** (c'est ce qui nous intéresse) qui correspond au nombre de cycles nécessaires pour détecter le signal. La concentration et le Ct ont une relation linéaire inversement proportionnelle, on peut donc déterminer la concentration d'un échantillon à partir du Ct.

Pour analyser les graphiques il faut comprendre qu'on a la présence de deux contrôles. Le Cpos qui correspond au contrôle positif et qui permet de vérifier que notre réaction a marché. Et le Cneg qui correspond au contrôle négatif qui montre qu'on n'a pas de contamination. Pour que le test soit positif et validé il faut qu'on ait la présence des deux contrôles et que le Ct patient soit supérieur à la valeur seuil.

A FAUX Les contrôles sont bons mais la valeur patient est inférieure à la valeur seuil.

B FAUX Le contrôle positif est absent donc on ne peut pas conclure.

C FAUX Le contrôle négatif est trop élevé, indiquant une contamination, on ne peut pas conclure.

D VRAI Ininterprétable car absence du contrôle positif qui prouve que la réaction a bien marché.

E VRAI Le contrôle négatif est trop élevé, il est ainsi témoin d'une contamination. On ne peut donc pas conclure.

Question 2 : BDE

Au sujet de l'analyse chromosomique sur puce à ADN, quelle (s) est (sont) la (les) proposition(s) exacte(s) ?

- A. Elle est utilisée pour détecter les remaniements équilibrés.
- B. Elle nécessite une étape de marquage fluorescent de l'ADN.
- C. Elle a une résolution d'environ 5 mégabases.
- D. C'est une technique d'étude pangénomique.
- E. Elle ne permet pas d'étudier la mécanique d'un remaniement chromosomique

Rappel : L'analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA) ou CGH-array est une méthode basée sur la variation du nombre de copies de l'ADN. L'ADN témoin (marqué en vert) et l'ADN du patient (marqué en rouge) sont déposés sur une puce composée de nombreux spots avec plusieurs sondes d'oligonucléotides de la séquence de référence. On met les 2 groupes d'ADN à quantité égale. On regarde ensuite les fluorescences pour voir si la situation est normale (jaune), s'il y a une délétion (vert) ou une duplication (rouge). C'est un examen quantitatif.

A FAUX On peut seulement étudier le gain ou la perte de matériel génétique. Mais pas détecter si 2 séquences ont été échangées. Par exemple, si on a une translocation équilibrée dans l'ADN du patient, on n'a ni perte ni gain, les 2 ADN vont être détectés en même quantité, la couleur sera jaune.

B VRAI L'ADN du patient et l'ADN du témoin sont marqués de fluorescence.

C FAUX La résolution de cette méthode est de 200 kb.

D VRAI C'est une étude globale du génome. Elle permet d'étudier l'ensemble des gènes.

E VRAI L'ACPA ignore la mécanique chromosomique.

Question 3 : BD

Une pathologie sous mandibulaire est expliquée dans 95% des cas par la mise en évidence d'une mutation pathogène dans l'un des 15 gènes décrits comme étant impliqués dans la maladie (à proportion équivalente pour chaque gène). L'un de vos patients est atteint d'une telle pathologie et vous prescrivez une analyse génétique en vue d'un diagnostic moléculaire. quelle(s) est (sont) la (les) proposition(s) exacte(s) ?

- A. Les gènes sont analysés un par un par technique Sanger.
- B. La technique vraisemblablement utilisée permet la mise en évidence des variations en nombre de copie.
- C. L'analyse est classiquement réalisée après extraction de l'ADN dentaire.

- D. L'analyse ciblée sur les 15 gènes pourrait utiliser une technique de capture par hybridation.
- E. Un seul variant sera mis en évidence.

A FAUX Le séquençage de Sanger permet la recherche de mutations très ciblées ; d'une altération à un endroit précis. Or dans cet exercice, on recherche une mutation sur un panel de 15 gènes donc on utilisera une méthode avec un plus large angle en réalisant un NGS.

B VRAI La technique utilisée est le NGS. Le NGS permet bien de détecter des CNV ainsi que les SNV et BCA.

C FAUX Il est trop compliqué de trouver l'ADN sur une dent.

D VRAI On peut utiliser la capture par hybridation en NGS afin de réaliser une étude ciblée. Des sondes désignées et complémentaires des fragments d'intérêt vont s'hybrider aux fragments. On va capturer ces sondes hybridées, ce qui permet de sélectionner uniquement nos brins où il y a eu l'hybridation et d'éliminer le reste. Ensuite, on séquence nos fragments.

E FAUX Dans l'énoncé, on nous dit que la mutation est retrouvée dans 15 gènes différents, on aura donc on aura donc plusieurs variants différents. De plus, il existe une très grande variabilité entre les génomes, qu'ils soient pathogènes ou non : il y a environ 3 millions de variations entre deux génomes et environ 35 000 à 40 000 mutations entre deux exomes.

Question 4 : CDE

La mucoviscidose est une maladie à transmission autosomique récessive. Un couple a déjà eu un enfant atteint causé par les mutations p.F508del/p.Arg553*. Un diagnostic prénatal a été fait. L'étude de l'ADN extrait des villosités choriales montre que le fœtus est hétérozygote pour la mutation p.Arg553* portée par sa mère.

Une étude de microsatellites situés dans des introns du gène CFTR donne comme résultats (en paire de bases):

	Microsatellite I	Microsatellite II	Microsatellite III
Mère	180/184	220/226	168/172
Père	180/190	210/216	164/174
Enfant atteint	180	210/220	164/168
Fœtus	180/178	218/220	168/172

- A. Il existe une contamination maternelle.
- B. Les villosités choriales ont été prélevées à 20SA.
- C. Les microsatellites sont des motifs répétés de 2 à 8 nucléotides.
- D. Il est possible que le père ne soit pas le père déclaré.
- E. La mutation p.Arg553* est portée par l'haplotype avec les microsatellites I-II-II 180-220- 168 pb.

A FAUX L'étude des microsatellites permet de rechercher la contamination maternelle.

B FAUX Les villosités choriales sont prélevés entre la 11^{ème} et la 14^{ème} SA.

C VRAI C'est bien la définition, les microsatellites sont des séquences d'ADN constituées de motifs répétés de 2 à 8 nucléotides.

D VRAI En effet, si l'on compare les microsatellites du fœtus avec celui du père, on remarque qu'ils sont complètement différents à part pour le microsatellite I mais qui a probablement été transmis par la mère). La transmission des microsatellites étant la plupart du temps génétique (sauf variations), il est possible que le père ne soit pas le père déclaré.

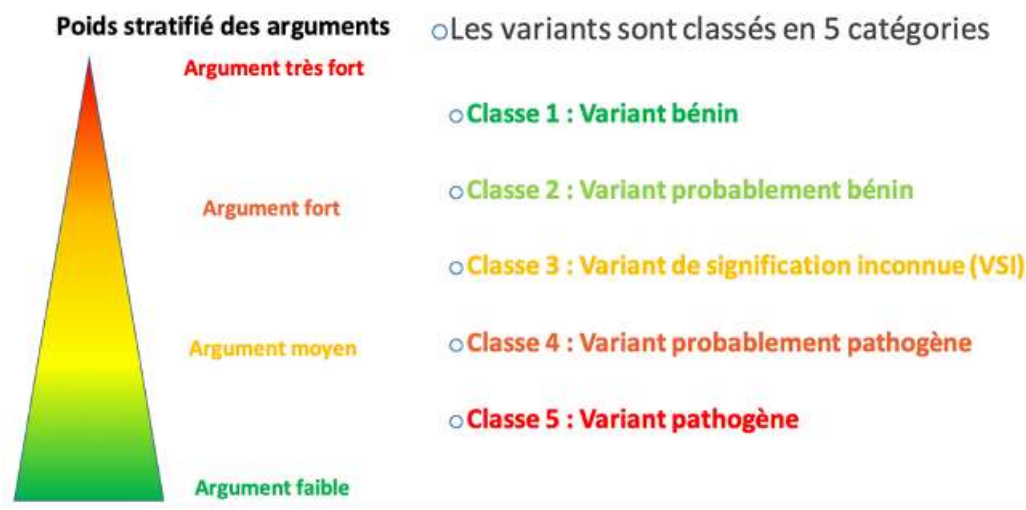
E VRAI Le fœtus est hétérozygote pour la mutation p.Arg553* portée par sa mère. On compare les microsatellites afin de retrouver l'haplotype présent chez la mère et chez le fœtus. On peut déduire que cette mutation suit l'haplotype suivant : 180 – 220 – 168.

Question 5 : ABCE

A propos des critères d'interprétation des variants génétiques, quelle(s) est (sont) la(es) réponse(s) juste(s) ?

- A. Après interprétation, les variations sont classées en 5 classes notées de 1 à 5
- B. Les recommandations internationales proposent des critères regroupés en 7 classes d'arguments de pathogénicité
- C. La conservation protéique à travers les différentes espèces est une donnée importante
- D. La base de données GnomAD répertorie des données d'exomes uniquement et ne regroupe donc que des variants de la séquence codante
- E. L'utilisation de bases de données permet d'approcher la fréquence du variant dans la population générale

A VRAI Les variants sont classés en cinq classes, à connaître, en fonction de leur pathogénicité. Ci-dessous le schéma qui vous résume les cinq classes et le poids de chacun des arguments.



B VRAI C'est tout l'objet du cours sur les critères de classification des variants du Pr. JANIN. Pour rappel, les 7 classes sont les suivantes :

- Structurales
- Bibliographiques
- De présence de variations associées

- Clinique
- De ségrégation
- Fonctionnelles
- Épidémiologiques

C VRAI La conservation protéique à travers les différentes espèces constitue un des critères des données structurales. Plus un AA est conservé au cours de l'évolution, plus la probabilité que celui-ci soit important pour l'espèce est grande. C'est le principe de la sélection naturelle, on conserve les caractères qui nous permettent de survivre.

D FAUX La base de données GnomAD est une base de données de population contrôlée regroupant 125 000 exomes et plus de 15 000 génomes complets.

E VRAI Plus la base de données est importante, plus la fréquence approximée à partir de celle-ci sera représentative.

Question 6 – Intitulé de la question : CE

A propos des techniques de validations fonctionnelles, quelle(s) est (sont) la(es) réponse(s) juste(s) ?

- A. L'utilisation de cellules souches induites pluripotentes est devenue le modèle de choix le plus répandu .
- B. Encore aujourd'hui, les modèles animaux se limitent au modèle murin.
- C. La transfection transitoire de cellules humaines est une technique peu coûteuse.
- D. L'absence d'effet du variant sur la physiologie du modèle cellulaire utilisé permet à elle seule de classer ce variant comme bénin
- E. La mise en évidence d'un effet pathogène n'est pas suffisante pour classer un variant comme pathogène .

A FAUX Ces méthodes sont une avancée majeure et sont très prometteuses mais elles sont encore en développement et coûtent encore extrêmement cher.

B FAUX On utilise notamment le ver *Caenorhabditis elegans* ou encore la mouche drosophile pour tester des variants car ils ont des génomes proches de celui de l'humain et facilement manipulables.

C VRAI La transfection transitoire coûte environ 500 à 700€ pour tester un variant unique. Pour comparaison, juste pour différencier des iPSc il faut compter environ 4 000 à 5 000€ et il faut rajouter environ la même somme pour les redifférencier.

D FAUX Il est vraiment très important de comprendre que les modèles cellulaires ne sont qu'un argument parmi tant d'autres dans la classification d'un variant. De manière générale, on peut rarement classer un variant en se basant sur un seul argument. Il est très important de considérer l'ensemble des informations et arguments pour éviter de tirer des conclusions hâtives et fausses.

E VRAI cf question D