



Tutorat Lyon Est

Année Universitaire 2020 - 2021

Unité d'Enseignement Spé MEAG

Contrôle Terminal PASS de Spé odontologie

Avril 2021

Correction détaillée

Hélène JOMAIN
Marie NEGRIN

Correction rapide

<u>Questions</u>	<u>Réponses</u>
1	ABCDE
2	ACE
3	BCDE
4	BD
5	CE
6	AC

Question 1 : ABCDE

Vous souhaitez quantifier par PCR la présence de Legionella dans le circuit d'eau d'une piscine publique. Pour cela vous devez :

- A. Définir en amont le cycle-seuil (Ct) de positivité du test
- B. Établir une gamme d'étalonnage en diluant de l'ADN de Legionella
- C. Utiliser un blanc réactionnel pour vérifier l'absence de contamination des réactifs
- D. Comparer le Ct de votre échantillon à un contrôle positif
- E. Vérifier au préalable la spécificité de vos amorces

A VRAI Le seuil de positivité du test doit être fixé avant de commencer les tests.

B VRAI Il est nécessaire d'établir une gamme d'étalonnage pour pouvoir comparer et définir les seuils.

C VRAI C'est le contrôle négatif qui permet de vérifier qu'on a pas de contamination.

D VRAI Le contrôle positif permet de vérifier que notre réaction a bien marché. Il faut donc regarder si le Ct de notre échantillon est bien supérieur au Ct du contrôle positif, sinon cela peut signifier qu'il y a eu un problème lors de la réaction.

E VRAI Si les amorces ne sont pas assez spécifiques, cela peut fausser les résultats. Les amorces doivent être spécifiques du gène que l'on recherche afin d'amplifier uniquement celui-ci lors de la PCR.

Question 2 : ACE

Alors que vous réalisez une étude en CGH-array (analyse chromosomique sur puce à ADN), quelle(s) est(sont) la(les) proposition(s) exacte(s) ?

- A. Elle ne nécessite pas de culture cellulaire
- B. Elle permet la mise en évidence des variations nucléotidiques (SNV)
- C. Elle peut révéler des variations d'une taille inférieure à 400 kb
- D. Elle permet la mise en évidence des inversions péricentriques
- E. Elle nécessite l'emploi d'un ADN témoin

A VRAI Il s'agit d'une analyse chromosomique sur puce à ADN pour déterminer le caryotype moléculaire de la cellule, basée sur la **variation du nombre de copies de l'ADN**. Pour cette technique, il n'est **nécessaire ni de réaliser une culture, ni d'avoir des chromosomes** visibles et bien différenciés, en effet ça n'a aucun intérêt on s'intéresse uniquement à l'ADN.

B FAUX La résolution de la CGH array ne permet pas de mettre en évidence les variations d'un seul nucléotide dans le cas de SNV. En effet, celle-ci détecte des variations de plus de 1kb.

C VRAI Elle détecte des CNV de plus de 1kb donc inférieurs à 400 kb.

D FAUX Elle ne permet pas la mise en évidence des inversions péricentriques car ceux sont des variants de structures équilibrés sans variation de la quantité d'ADN, or la CGH array ne détecte que la variants non équilibrés.

E VRAI On va partir du principe que le professeur s'est trompé et qu'il voulait dire : "Elle nécessite l'emploi d'un ADN témoin ". Dans ce cas là, lors d'une analyse sur puce à ADN il est essentiel de comparer l'ADN du patient potentiellement malade avec un ADN témoin afin d'identifier les variations génomiques qui peuvent être pathologiques. L'item est vrai.

Question 3 : BCDE

Dans le cadre d'une maladie rare où plus de 200 gènes sont impliqués vous réalisez une étude d'exome chez les membres de la famille dont plusieurs membres sont atteints. Ils ont donné leur consentement pour étudier leur ADN. Concernant cette analyse, quelle(s) est(sont) la(les) proposition(s) exacte(s) ?

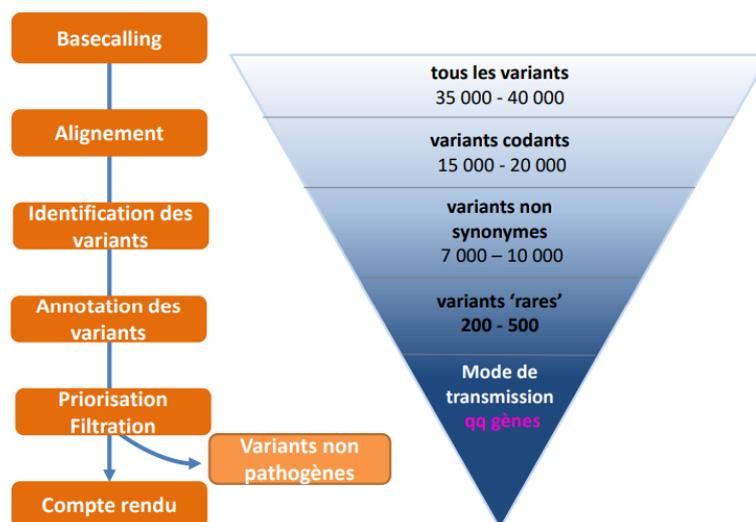
- A. Vous séquencez l'ensemble de l'ADN d'un individu atteint de la famille
- B. Vous ciblez les régions à séquencer, par exemple, par une technique de capture par hybridation
- C. Les fragments sont amplifiés sur un support solide
- D. Environ 50 000 variants sont identifiés par individus
- E. Les variants identifiés sont classés en 5 classes selon leur pathogénicité

A FAUX On ne séquence que l'exome

B VRAI On ne séquence que certains gènes qu'on soupçonne être à l'origine de la pathogénicité. Pour cela on les sélectionne par différentes techniques comme celle de capture par hybridation.

C VRAI Avant de séquencer on vient amplifier les fragments sur un support solide. Ces amplifications nous permettent d'avoir un signal suffisamment important quand on va faire du séquençage.

D VRAI Ici on s'intéresse aux variations dans l'exome. Il en existe environ 35 000 à 40 000. On cherche à **identifier les variations quand on fait du séquençage**. Il y a environ 3 millions de variations entre deux génomes et environ 35 000 à 40 000 mutations entre deux exomes. Et l'on veut trouver les mutations ou les gènes qui sont pathogènes. Il faut ainsi **faire un tri** dans les données qu'on a obtenues.



E VRAI On va ensuite **annoter les variants** c'est-à-dire qu'on va regarder dans nos bases de données : si un variant est retrouvé dans une certaine population, si le gène est décrit dans des maladies mendéliennes, si la mutation affecte la protéine, mutation faux-sens, mutation non-sens... Ceci permet

de **prioriser les mutations pathogènes ou probablement pathogènes** et de **filtrer les variants non pathogènes** si c'est un polymorphisme. On les range en 5 classes selon ces critères.

Question 4 : BD

Un couple, ayant eu un enfant décédé de mucoviscidose (maladie à transmission autosomique récessive), vient consulter pour un conseil génétique car la femme est enceinte de quelques semaines. Le couple ne sait pas si une étude génétique a été faite chez l'enfant décédé. Que demandez-vous et proposez-vous au couple ?

- A. Un diagnostic prénatal même si le couple ne désire pas d'interruption de grossesse
- B. Une recherche en urgence des mutations du gène CFTR chez les deux parents si le génotype de l'enfant décédé n'a pas été réalisé
- C. Une recherche en urgence du sexe fœtal sur le sang maternel
- D. Une interrogation des centres de référence de la mucoviscidose pour savoir si l'enfant décédé a été génotypé
- E. Une biopsie de villosités chorales à la 12ème semaine d'aménorrhée sans aucune recherche préalable

A FAUX Si le couple ne désire pas d'interruption de grossesse, un diagnostic prénatal n'est pas utile puisqu'il ne changera pas le traitement.

B VRAI Si nous n'avons pas le génotype de l'enfant décédé, cela permettra de savoir les mutations que portent les parents au niveau des gènes impliqués dans la mucoviscidose.

C FAUX Le sexe du fœtus n'a pas d'incidence sur le fait d'être atteint ou non de mucoviscidose car ce n'est pas une maladie à transmission liée à un chromosome sexuel.

D VRAI Savoir si l'enfant décédé a été génotypé permettrait d'avoir plus d'informations sur le génotype qui cause la maladie.

E FAUX La biopsie de villosités chorales est un geste invasif qui peut être réalisé à partir de la 11ème semaine d'aménorrhée donc on ne le réalise pas sans recherche préalable. De plus, il faut toujours une méthode d'étude indirecte avec la recherche d'haplotypes pour compléter le diagnostic d'une méthode directe.

Question 5 : CE

Comme le père est hétérozygote pour la mutation p.N1303K et la mère pour la mutation p.F508del, un diagnostic prénatal a été fait à partir de l'ADN extrait des villosités chorales. Le fœtus est hétérozygote pour la mutation p.F508del du gène CFTR. Pour confirmer ce diagnostic, l'étude de trois microsatellites situés dans les introns du gène CFTR a été faite et les résultats sont reportés ci-dessous.

Mère	178/184	218/226	168/172
Père	168/190	232/210	164/178
Foetus	178/184	218/226	168/172

Devant ces résultats, quelle(s) est(sont) la(les) proposition(s) exacte(s) ?

- A. Le fœtus n'est pas atteint de mucoviscidose
- B. Il existe une recombinaison paternelle des gènes CFTR
- C. Le fœtus est au moins hétérozygote pour la mutation p.F508del
- D. Une importante contamination par l'ADN maternel est probable
- E. Une amniocentèse doit être programmée pour vérifier ce résultat

A FAUX Le fœtus est hétérozygote pour une des mutations, mais on ne sait pas pour la mutation p.N1303K, il faut confirmer ces résultats par une amniocentèse.

B FAUX

C VRAI On voit dans le tableau que le fœtus a exactement les mêmes microsatellites que la mère, il a donc hérité des gènes CFTR de la mère qui est hétérozygote pour la mutation p.F508del.

D FAUX Nous avons envoyé un mail par rapport à cet item à la professeure Roucher mais en l'absence d'une réponse, nous n'avons pas d'explication pour cet item, nous mettrons ce document à jour si nous avons une réponse !

E VRAI L'amniocentèse est un examen invasif au cours duquel les chromosomes du fœtus sont examinés, cela permettra de confirmer le résultat

Question 6 : AC

Afin d'appréhender au mieux la pathogénicité d'un variant que vous avez identifié pendant votre activité de diagnostic moléculaire, vous avez besoin de données fonctionnelles supplémentaires. Quelles pistes s'offrent-elles à vous ?

- A. la méthode la moins coûteuse reste l'utilisation d'un modèle cellulaire de transfection transitoire
- B. l'utilisation de modèles animaux n'est pas adaptée à un laboratoire de diagnostic moléculaire et reste réservée aux laboratoires de recherche
- C. le critère utilisé pour apprécier le caractère pathogène du variant est directement lié à la fonction cellulaire de la protéine impactée
- D. l'utilisation de cellules souches induites pluripotentes est peu coûteuse et donc très répandue
- E. les études fonctionnelles permettent toujours de conclure quant au rôle pathogène du variant étudié

A VRAI

B FAUX Les modèles animaux peuvent s'avérer très utiles pour appréhender la pathogénicité de variant. Ils sont donc utilisés dans les laboratoires de diagnostic moléculaire pour conclure sur un variant probablement à l'origine de maladie chez l'homme.

C VRAI La fonction cellulaire de la protéine impactée est très importante pour apprécier le caractère pathogène du variant car selon si la protéine est plus ou moins importante au fonctionnement de la

cellule le caractère délétère du variant sera différent. Notamment la protéine est impactée dans le fonctionnement des canaux de transports ou autres ...

D FAUX Leur utilisation est au contraire très coûteuse.

E FAUX Un item avec le mot "toujours" est pratiquement automatiquement faux. En outre parfois les études fonctionnelles ne nous permettent pas de conclure.