



# RENCONTRES en & IMMUNOLOGIE & IMMUNOTHERAPIE PRATIQUES

Jeudi 5 et Vendredi 6  
octobre 2023

UIC-P - Espaces Congrès  
16, rue Jean Rey - 75015 Paris

IMAGE FREEMK

Sous l'égide de :



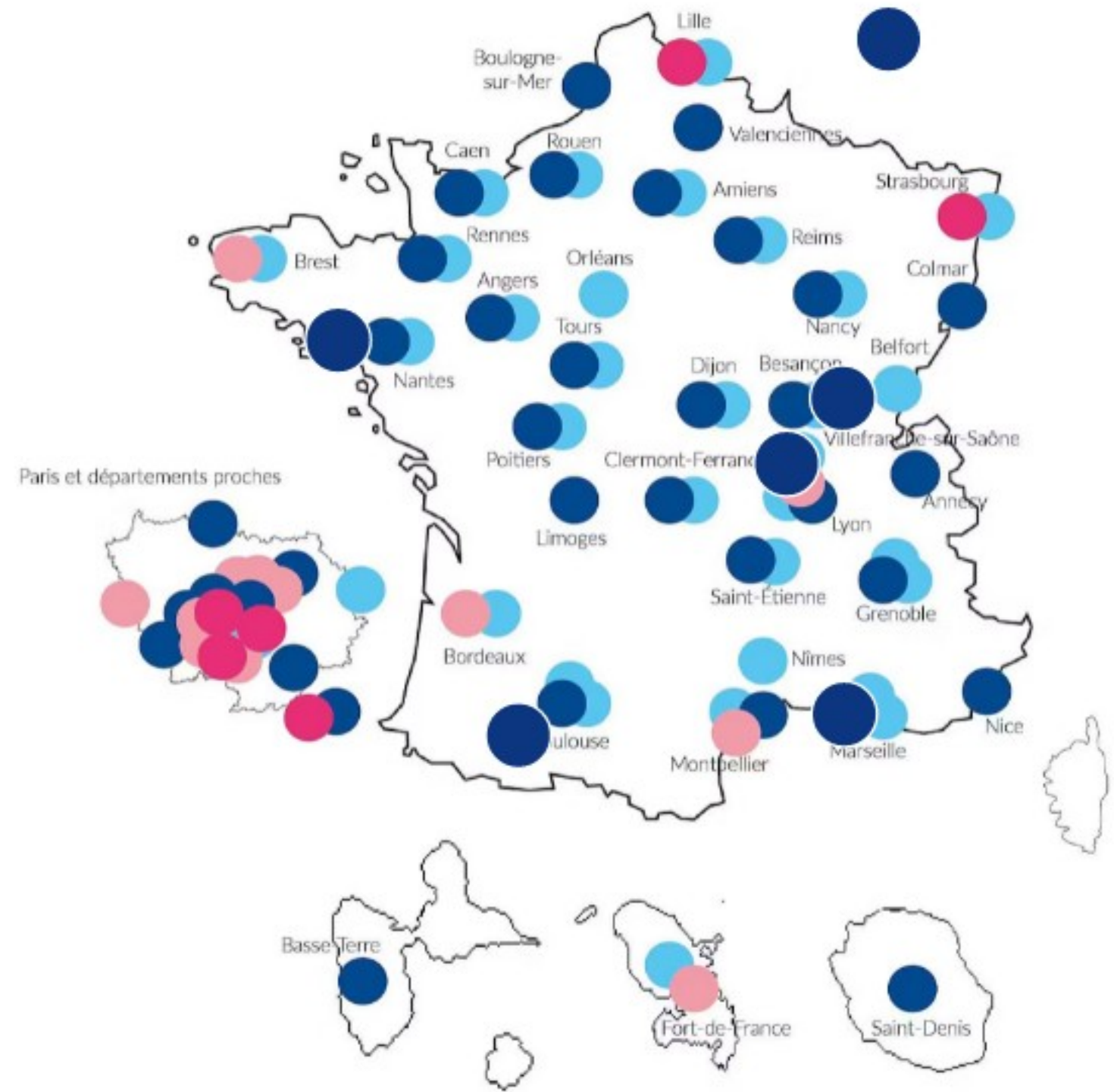
# Instructions

Comment allez vous ?

10 responses

tres bien    yes    good  
super    ok    vie    good  
bien    no

# D'où venez vous ?



# Maladies auto inflammatoires

## Comment et quand demander une étude génomique ?

*Alexandre BELOT  
Hôpital Femme Mère Enfant,  
Hospices Civils de Lyon  
alexandre.belot@chu-lyon.fr*

*Isabelle KONE\_PAUT  
Hôpital BICETRE, APHP  
Université Paris SACLAY  
isabelle.kone-paut@aphp.fr*

# Liens d'intérêt

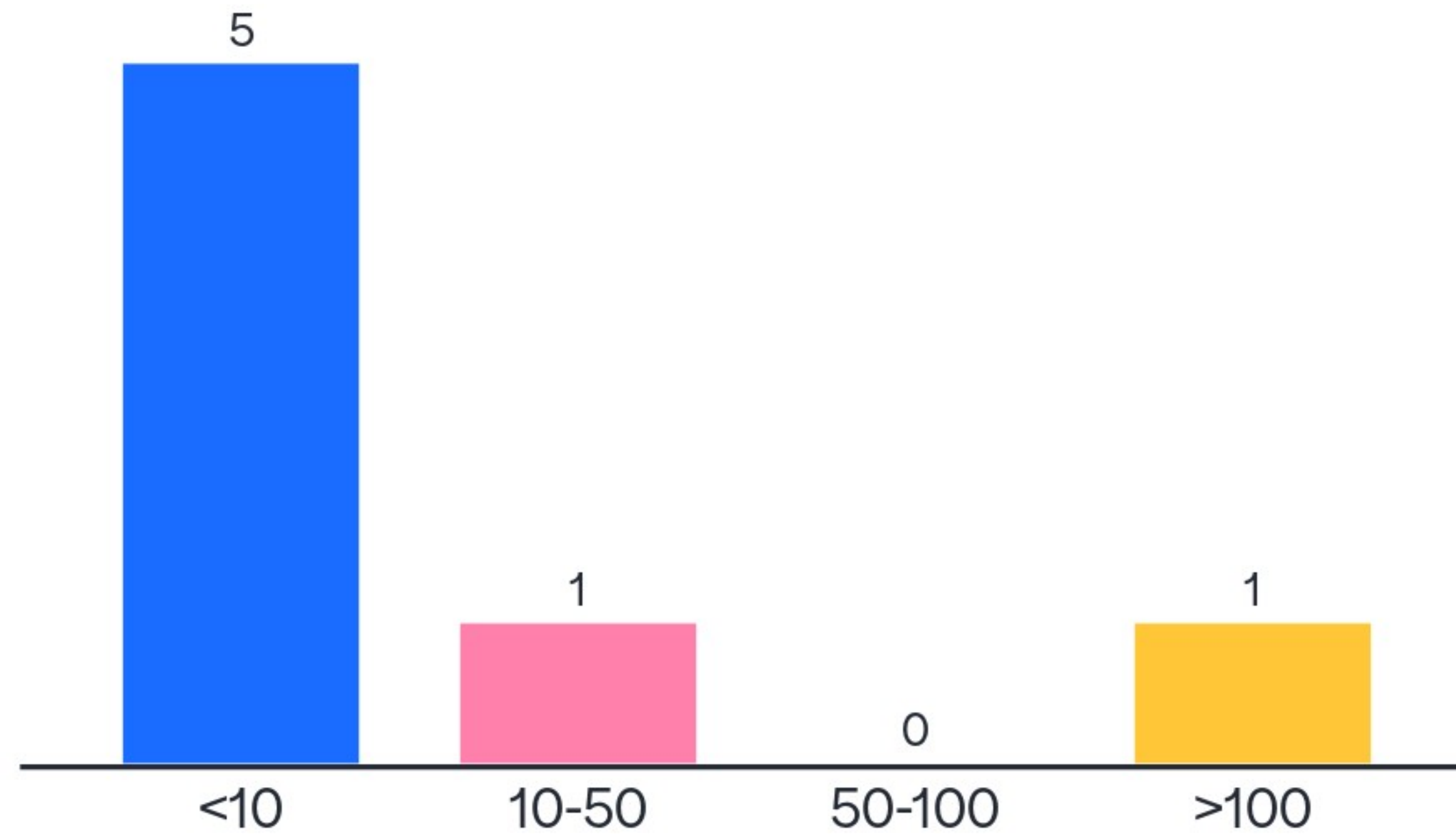
- ALEXANDRE BELOT

- Honoraires de consultante pour
  - Novartis, SOBI, CHUGAI, ABBVIE, GSK
- Financement projet de recherche
  - Boehringer Ingelheim, Merck Serono, Novartis

- I KONE-PAUT

- Honoraires de consultante pour
  - Novartis, SOBI, CHUGAI, PFIZER, ABBVIE, LFB, NOVIMMUNE, BMS, ZYDUS, AMGEN
- Financement pour participation à des congrès
  - Novartis, SOBI, PFIZER

# Combien de patients MAI avez vous pris en charge?



# Naissance du concept auto-inflammatoire



# Le point de départ des MAI

## La découverte du gène MEFV

nature genetics

Explore content Journal information Publish with us Subscribe

nature > nature genetics > articles > article

Published: 01 September 1997

### A candidate gene for familial Mediterranean fever

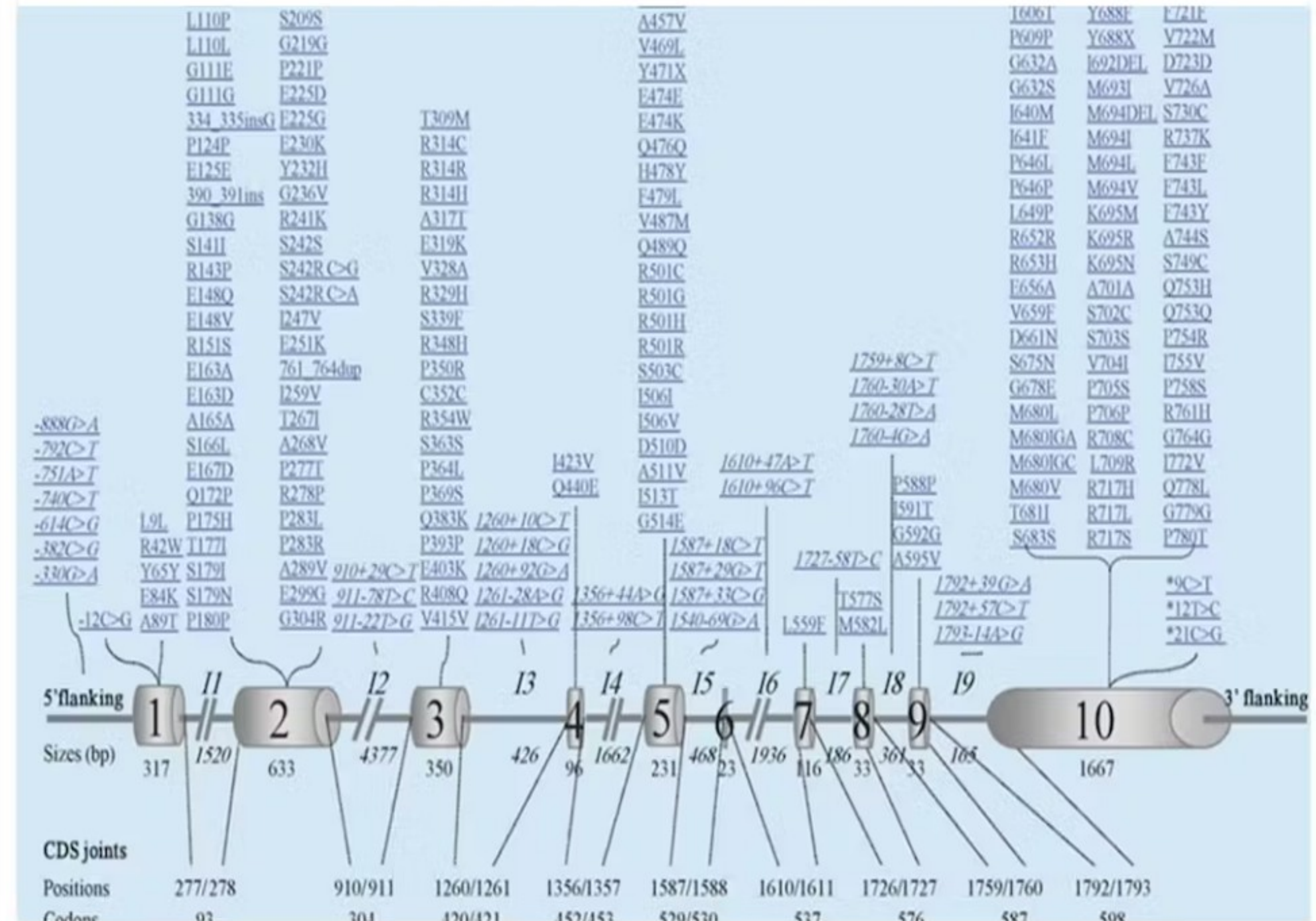
The French FMF Consortium, Alain Bernot, Christian Clepet, Corinne Dasilva, Catherine Devaud, Jean-Louis Petit, Christophe Caloustian, Corinne Cruaud, Delphine Samson, Françoise Pulcini, Jean Weissenbach, Roland Heilig, Cécile Notanicola, Cécile Domingo, Michael Rozenbaum, Eldad Benchetrit, Rezzan Topaloglu, Marie Dewalle, Christiane Dross, Philippe Hadjari, Madeleine Dupont, Jacques Demaille, Isabelle Touitou, Nizar Smaoui, Brigitte Nedelec, Jean-Philippe Méry, Habiba Chaabouni, Marc Delpech & Gilles Grateau -Show fewer authors

Nature Genetics 17, 25–31 (1997) | Cite this article

655 Accesses | 958 Citations | 9 Altmetric | Metrics

### Abstract

Familial Mediterranean fever (FMF) is an autosomal recessive disorder characterized by attacks of fever and serositis. In this paper, we define a minimal co-segregating region of 60



# Maladies auto-inflammatoires monogéniques

- Maladies rares, mendéliennes, affectant des protéines de l'immunité innée
- Monocytes/macrophages+++
- Altérations de protéines : récepteurs, régulation des cytokines, cytosquelette/endosome
- Conséquences : inflammation excessive et dérégulée pure ou  $\pm$  auto-immunité  $\pm$  déficit immunitaire
- Début dans l'enfance (parfois néonatal)
- Inflammation systémique à très forte composante cutanée (vignettes)

**Interleukine-1 pour les maladies prototypes**

# Première tentative de nomenclature : une désignation des MAI

Cell

Volume 97, Issue 1, 2 April 1999, Pages 133-144



Article

## Germline Mutations in the Extracellular Domains of the 55 kDa TNF Receptor, TNFR1, Define a Family of Dominantly Inherited **Autoinflammatory** Syndromes

Michael F McDermott<sup>1, 1, 2</sup>, Ivona Aksentijevich<sup>2, 1</sup>, Jérôme Galon<sup>3, 1</sup>, Elizabeth M McDermott<sup>5</sup>, B. William Ogunkolade<sup>1</sup>, Michael Centola<sup>2</sup>, Elizabeth Mansfield<sup>2</sup>, Massimo Gadina<sup>3</sup>, Leena Karenko<sup>6</sup>, Tom Pettersson<sup>6</sup>, John McCarthy<sup>7</sup>, David M Frucht<sup>3</sup>, Martin Aringer<sup>3</sup>, Yelizaveta Torosyan<sup>2</sup>, Anna-Maija Teppo<sup>6</sup>, Meredith Wilson<sup>8</sup>, H.Mehmet Karaarslan<sup>9</sup>, Ying Wan<sup>1</sup> ... Daniel L Kastner<sup>2, 2</sup> ✉

# Discriminer auto-inflammation / auto-immunité

**Table 2.** Immunological Aspects of Pure Autoinflammation versus Pure Autoimmunity

Variable	Autoinflammatory	Autoimmune
Factors determining disease manifestations	Local tissue factors at disease-prone sites, including tissue trauma, necrosis, mechanical factors, and bacteria or their constituent molecules Innate immune activation	Clinical disease expression determined by events taking place in primary and secondary lymphoid tissues, including bone marrow, thymus, lymph nodes, and spleen Adaptive immune activation
Key theory relating to disease expression	The danger signal theory of Matzinger, with tissue-specific factors determining disease localisation	The major factor determining disease is aberrant SNS discrimination, with breakdown of immunological tolerance
Immunological basis	Genetically related to perturbations of innate immune function, including pro-inflammatory cytokine signalling abnormalities/ bacterial sensing/local tissue abnormalities	Acquired immune perturbation key-to-disease expression
Cellular basis	Expression determined by cells of innate immune system, including neutrophils and macrophages or nonimmune cells Genetic mutations in HPFs, including TRAPS and FMF, affect these cells	Expression mainly determined by factors affecting B and T cell activity Genetic mutations in rare autoimmune diseases affect these cells or their selection in thymus

DOI: 10.1371/journal.pmed.0030297.t002

This table represents some of the key features that allow differentiation of a "pure autoinflammatory disease" from a "pure autoimmune disease." The rare monogenic HPFs are the prototypic autoinflammatory diseases, whereas the prototypes for autoimmune diseases include the polygenic MHC and autoantibody-related diseases, as well as some rare monogenic diseases. SNS, self/nonself.

# Cas Clinique 1 (1)

- Homme, 33 ans
- Français caucasien

## (Carnet de santé)

- Période néonatale, petite enfance : rien de particulier
- 28/10/1986 (8 ans) : douleurs du talon, légère conjonctivite
- 06/06/1991 : visite médicale à l'école : baisse de l'audition (D : > 50db, G : 35db)
- 09/02/1993 : visite à l'école : pâleur, maux de tête, fatigue, prière de consulter le médecin traitant...

# Cas Clinique 1 (2)

- À l'école : difficultés d'apprentissage à cause de la fatigue
- Niveau maximum atteint : secondaire
- Il n'a jamais pris aucun médicament
- Il n'a jamais vu de médecin sauf pour un problème de fertilité

# Au sujet de sa fatigue...

“Ma réputation à l'école était d'être un paresseux, personne ne me croyait, particulièrement mes professeurs, j'étais régulièrement exclu des activités collectives et je n'avais pas d'ami”

“Cette maladie m'a gêné depuis mon plus jeune âge. J'étais incapable de suivre les cours en fin de journée, personne ne comprenait ma fatigue, on m'avait donné le surnom de grand-père”

# Cas Clinique 1 (3) - Interrogatoire

- Marié, stérilité primaire : azoospermie
- Ouvrier spécialisé (frigoriste)
- Pas de suivi médical
- Fièvre 3 jours/semaine, surtout le lundi et le soir, frissons ++, myalgies et œdèmes distaux
- Douleurs des genoux et des chevilles
- Céphalées : EVA 5/10 (paracétamol)
- Éruption cutanée maculeuse : apparue à 15 ans
- Les signes apparaissent avec la fatigue et le stress



Quelle question avez vous envie de me poser ?

6 responses

antécédents

consanguinité

crp

histoire familiale

arbre généalogique

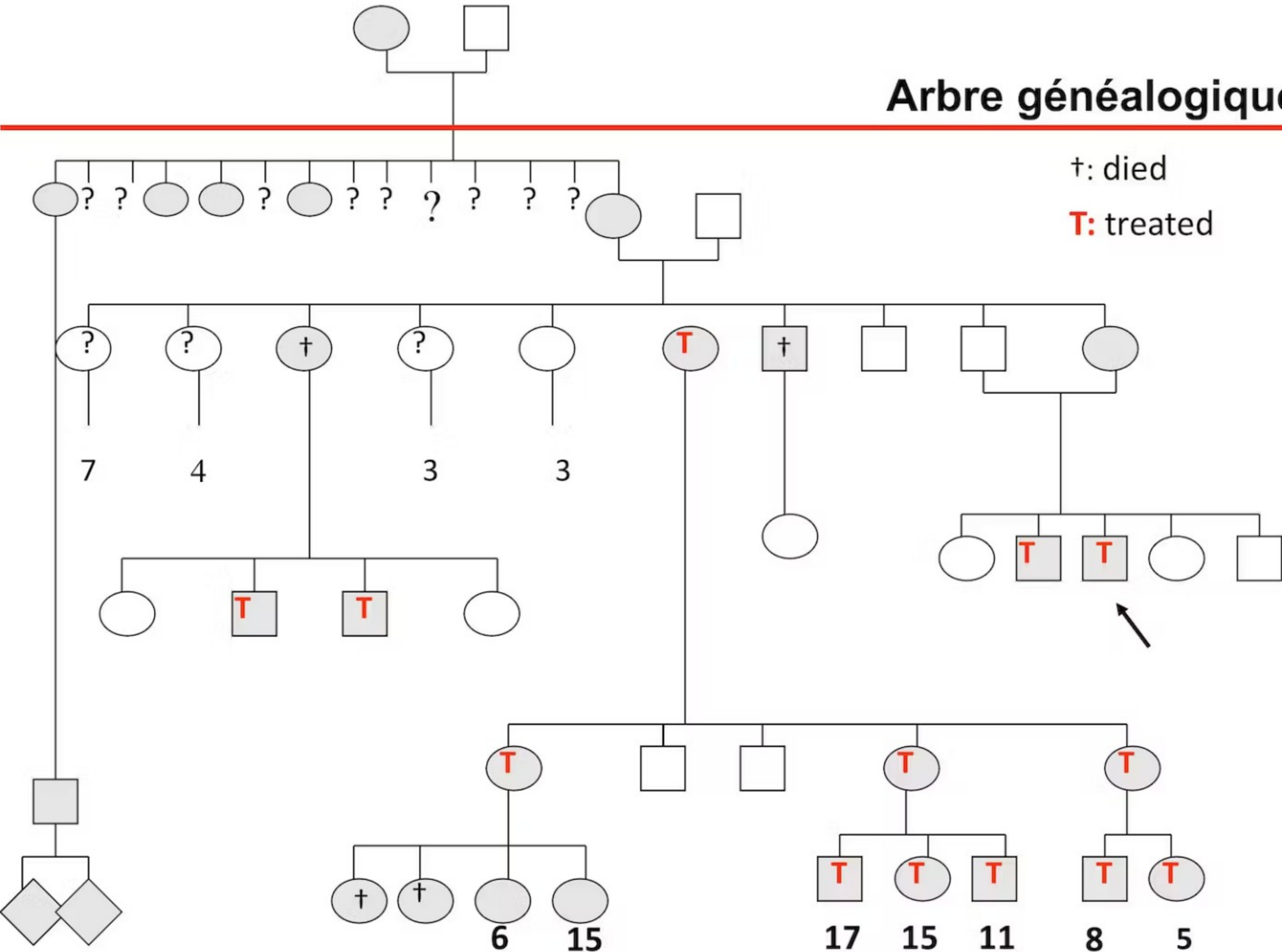
puce



6



# Arbre généalogique



# Quelle(s) démarche(s) diagnostique(s) entreprenez vous ?



Une analyse moléculaire ciblée

0

Un test métabolique

0

Un séquençage de l'exome



Une étude de tout le génome



Une analyse moléculaire par puce (multigènes de MAI)

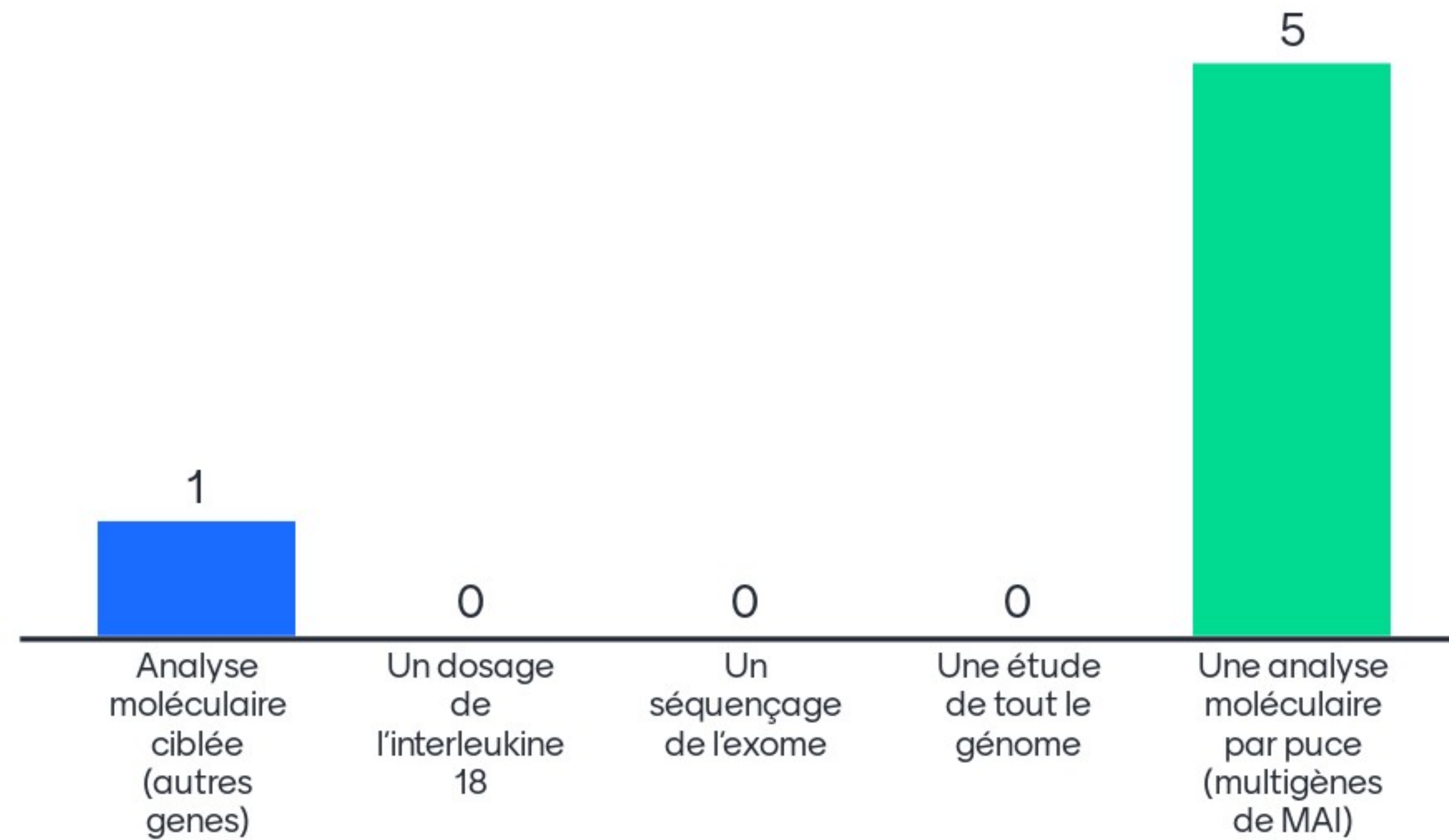
# Quelle (s) démarche (s) diagnostique (s) entreprenez-vous?

1. Une analyse moléculaire ciblée (*si la mutation est déjà connue dans la famille*)
2. Une analyse moléculaire par puce NGS (*haute probabilité de tomber sur un gène connu*)



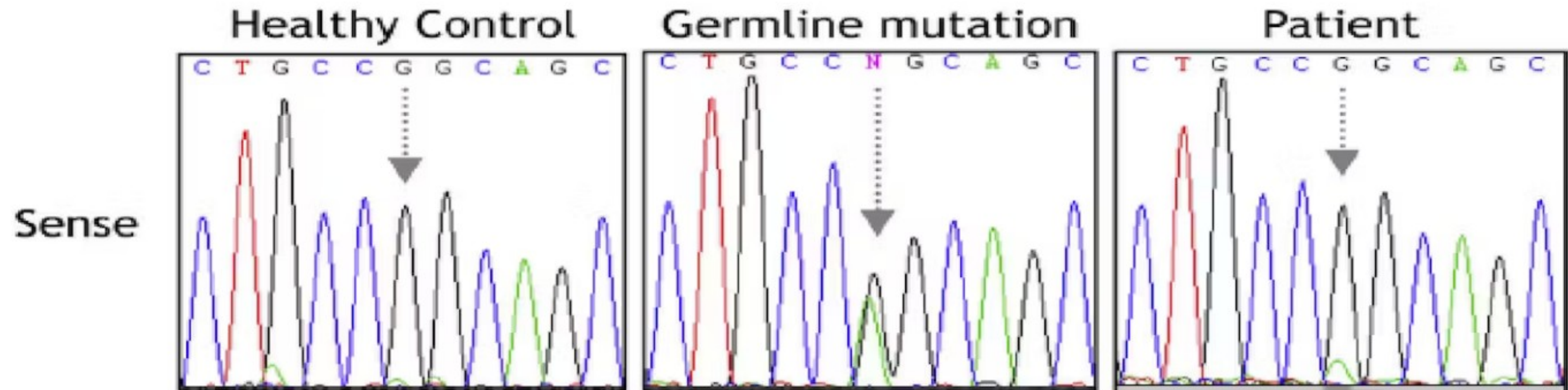
**Mutation hétérozygote A439V dans le gène NLRP3**

# Quelle (s) demarche (s) diagnostique (s) entreprenez-vous?



# Cas n°2

## *NLRP3*



- Réalisation d'un panel devant début précoce en 2014. Identification d'un variant R260P dans le gène *NLRP3* avec la lecture suivante: Nous avons trouvé un variant hétérozygote dans *NLRP3* / *CIAS1* (c.779G>C / p. R260P, avec un read-depth de **58 / 570**. Le même variant avait été décrit déjà comme pathologique\*\*.  
=> CAPS Somatique

# Mosaïcisme

- Coexistence, chez un même individu, de deux ou plusieurs populations cellulaires de génotypes différents
- cellules saines et des cellules présentant une anomalie génétique
- Au premiers stades des divisions cellulaires<sup>1</sup> ou par mutations acquises<sup>2</sup>(myélodysplasies)

1. CAPS (0.5% to 19%), TRAPS, NLRC4

2. VEXAS

# Vous voulez confirmer le diagnostic, que faites / demandez-vous ?



Une analyse de l'exon 10 du gène MEFV en Sanger

0

Un test NGS (puce auto-inflammatoire)

0

Un séquençage de l'exome



Un test avec un traitement par colchicine

0

Vous faites de toute façon un test génétique également chez les parents



## R3. Pour confirmer le diagnostic, demander

1. Une analyse de l'exon 10 du gène *MEFV* en Sanger
2. Un test NGS (puce auto-inflammatoire)
3. Un séquençage de l'exome
4. Un test avec un traitement par colchicine
5. Vous faites de toute façon un test génétique également chez les parents

# Cas n°4

- Patient de 11 ans
- Fièvres récurrentes depuis l'âge de 4-5 ans, très régulières sur l'année 2019
- Durée 3-5 jours, fièvre jusqu'à 40°C, frissons, malaises, odynophagie avec pharyngite exsudative
- Pas de ganglions. Aphtes buccaux 1-2 fois/mois

# Vous voulez confirmer le diagnostic, que faites / demandez-vous ?

0

Une analyse de l'exon 10 du gène MEFV en Sanger

4

Un test NGS (puce auto-inflammatoire)

0

Un séquençage de l'exome

3

Vous ne faites pas de tests génétiques

0

Vous faites de toute façon un test génétique également chez les parents



7

# Cas n°4

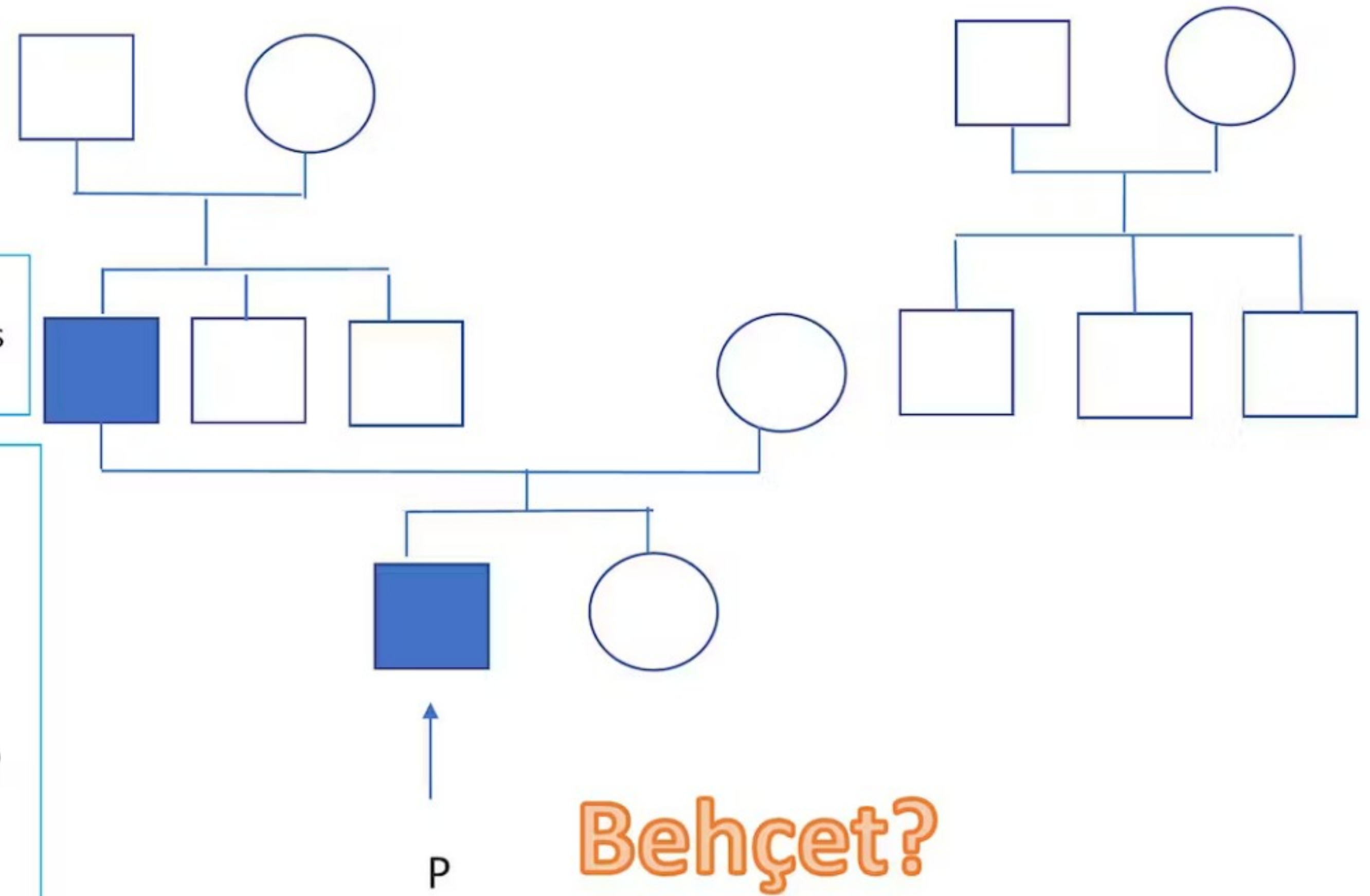
1. Une analyse de l'exon 10 du gène *MEFV* en Sanger
2. Un test NGS (puce auto-inflammatoire)
3. Un séquençage de l'exome
4. Vous ne faites pas de test génétique
5. Vous faites de toute façon un test génétique également chez les parents



# Cas n°4: arbre généalogique

18 ans:  
Angines, aphtes et fièvres  
<7J, sudation

34 ans:  
FUO prolongée, ADP  
cervicales, pharyngite,  
aphtes  
CRP 100-150mg/L  
PETTDM: artérite iliaque  
externe, anévrisme de l'Ao  
sous rénale  
Thrombus partiel de la  
veine iliaque externe G  
HLAB27 et B51 négatifs



# Vous voulez confirmer le diagnostic, que faites / demandez-vous ?

0

Une analyse de l'exon 10 du gène MEFV en Sanger

4

Un test NGS (puce auto-inflammatoire)

1

Un séquençage de l'exome

0

Vous ne faites pas de tests génétiques

0

Vous faites de toute façon un test génétique également chez les parents



5

# Cas n°4

1. Une analyse du gène *TNFAIP3* en Sanger
2. Un test NGS (puce auto-inflammatoire)
3. Un séquençage de l'exome
4. Vous ne faites pas de test génétique
5. Vous faites de toute façon un test génétique également chez les parents



# HA20: haploinsufficiency of A20



HLB51 (- or+)  
CRP (+)  
Auto-immunity++



Weak



< 10 years

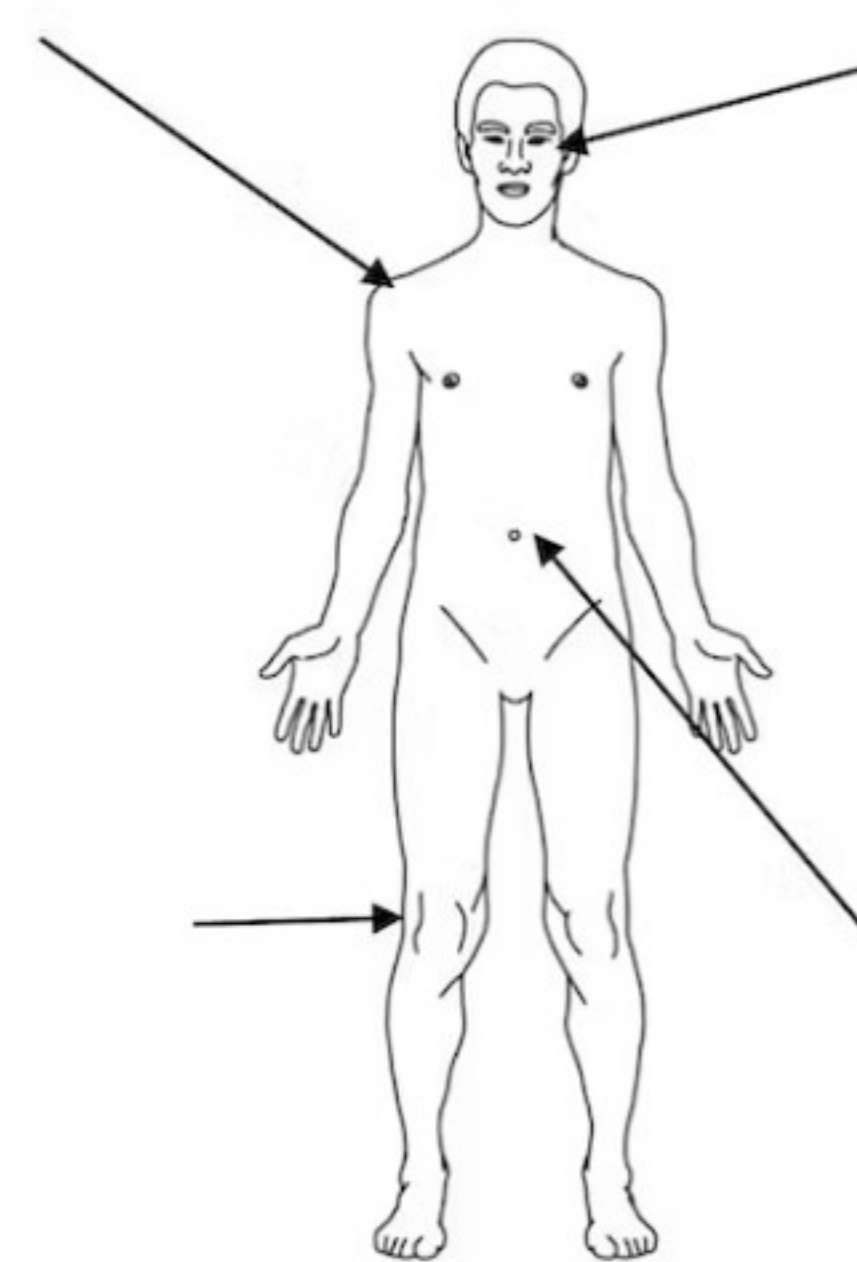
(1 month-10 years)

Recurrent mouth ulcers (87%)  
Genital canker sores (67%)  
Axillary dermal abscesses

Skin

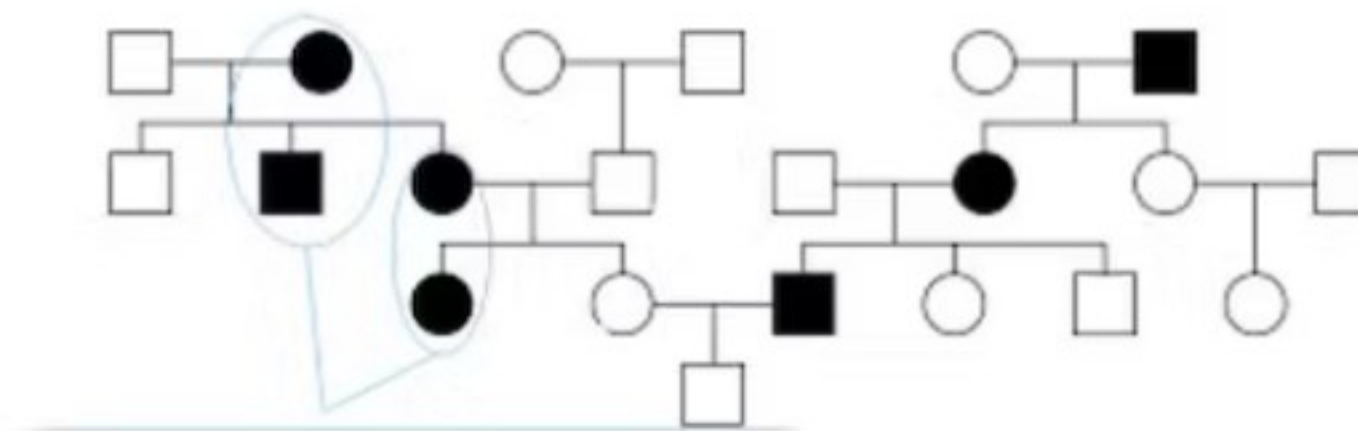


Joints  
(42%)



>>Anterior uveitis  
Very severe retinopathies  
Choroidal scars

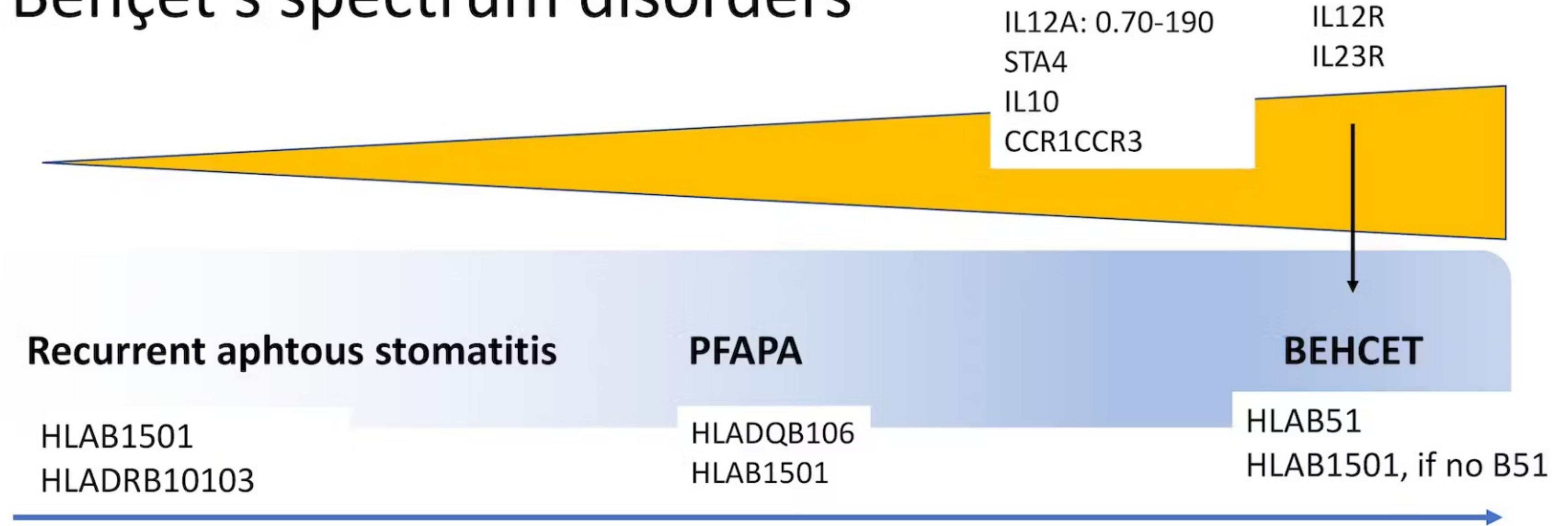
Digestive symptoms (60%)  
Ulcers  
Diarrhea



Autosomal dominant - Ubiquitous  
*TNFAIP3* gene (TNF $\alpha$  Induced Protein 3)  
A20 protein deficiency  
Deregulation of the NFK-B pathway

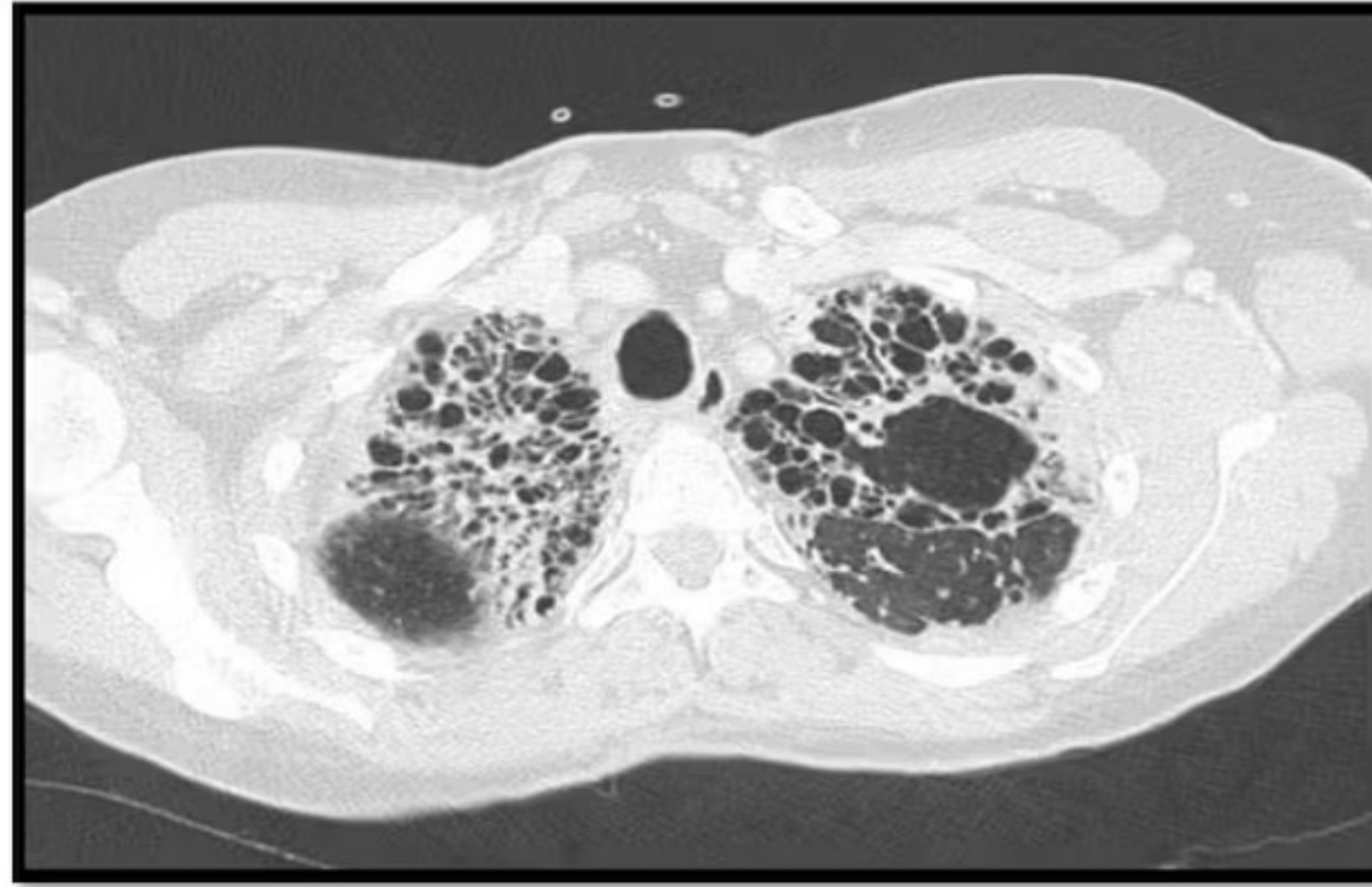
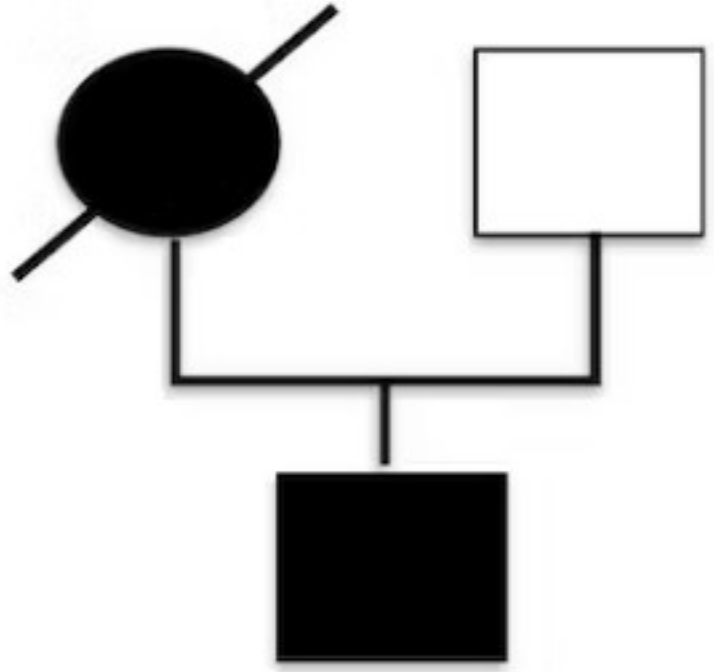


# Behçet's spectrum disorders



Increased disease severity higher HLA associations

# Cas n°5



- Mère: fibrose pulmonaire +/- dysimmunité (myosite)
  - Décès 9 mois après transplantation

# Vous voulez confirmer le diagnostic, que faites / demandez-vous ?



Analyse en panel des gènes de fibroses pulmonaires

0

Un test NGS (puce auto-inflammatoire)

0

Un séquençage de l'exome

0

Vous ne faites pas de tests génétiques

0

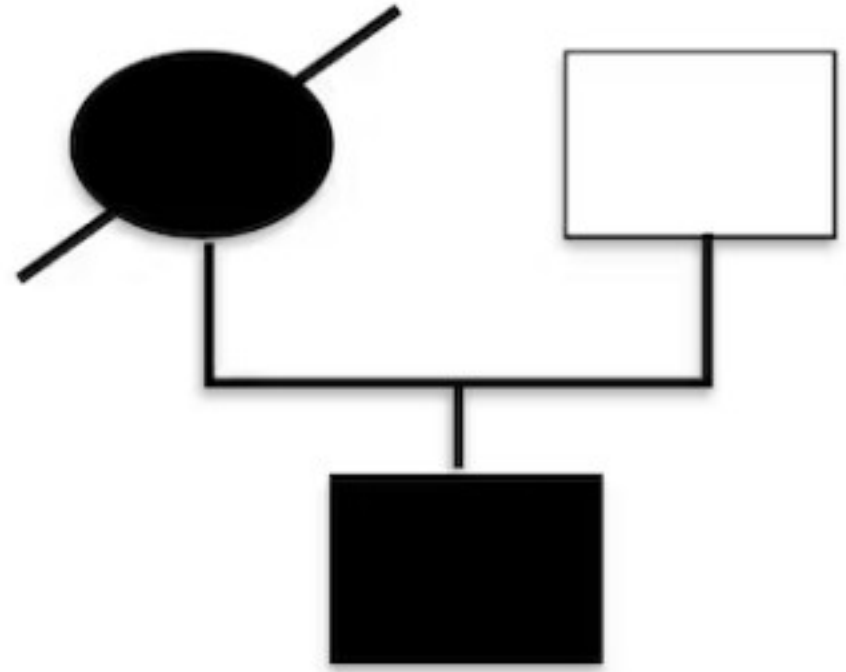
Vous faites de toute façon un test génétique également chez les parents



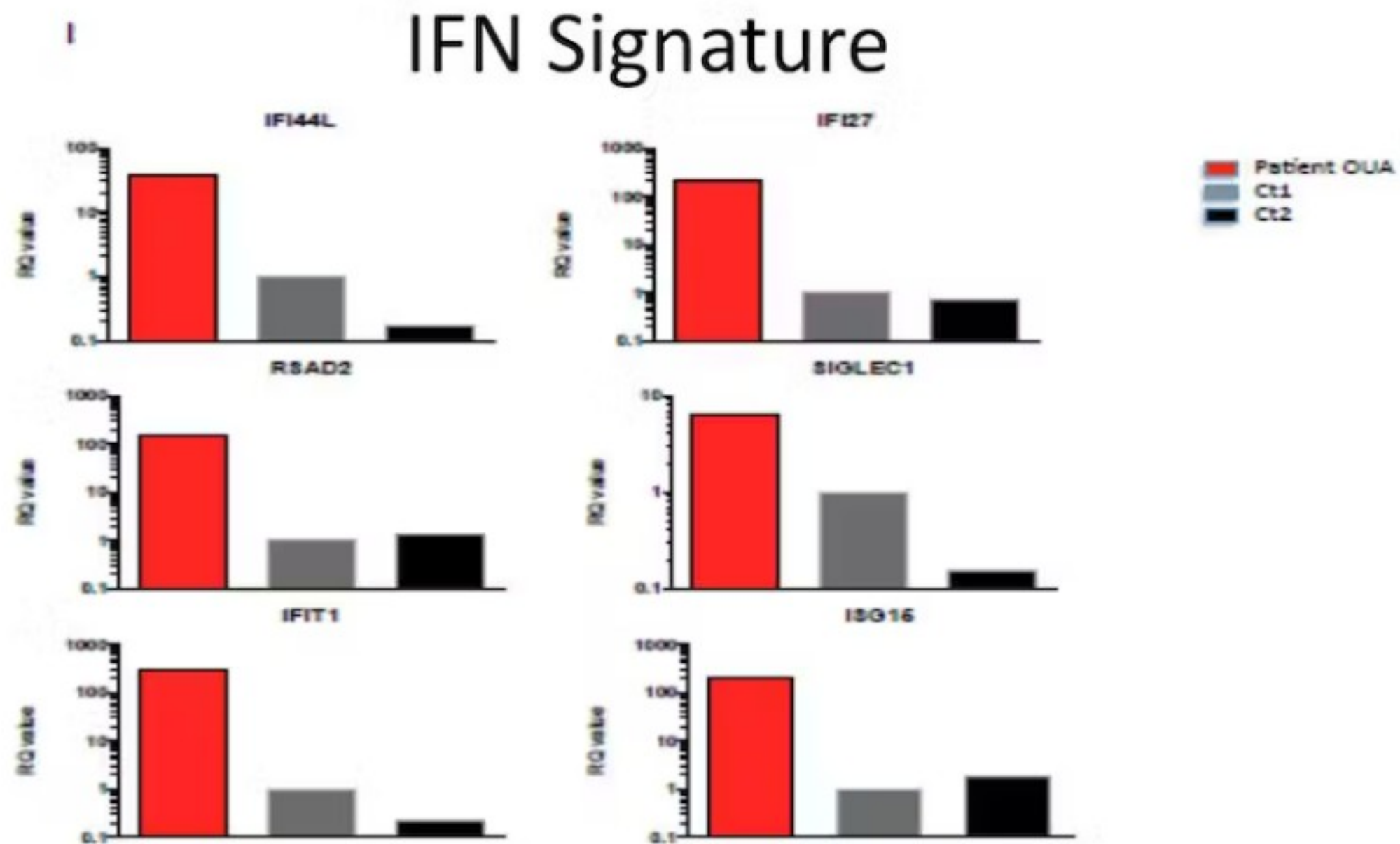
2



# Cas n°5



- *Whole exome sequencing* “lung fibrosis”
- Rien !
- 2d look par F Rieux Laucat... qui avait un cas...
- Val 155 Met Mutation in ***TMEM173*** encoding **STING**



# Interferonopathies

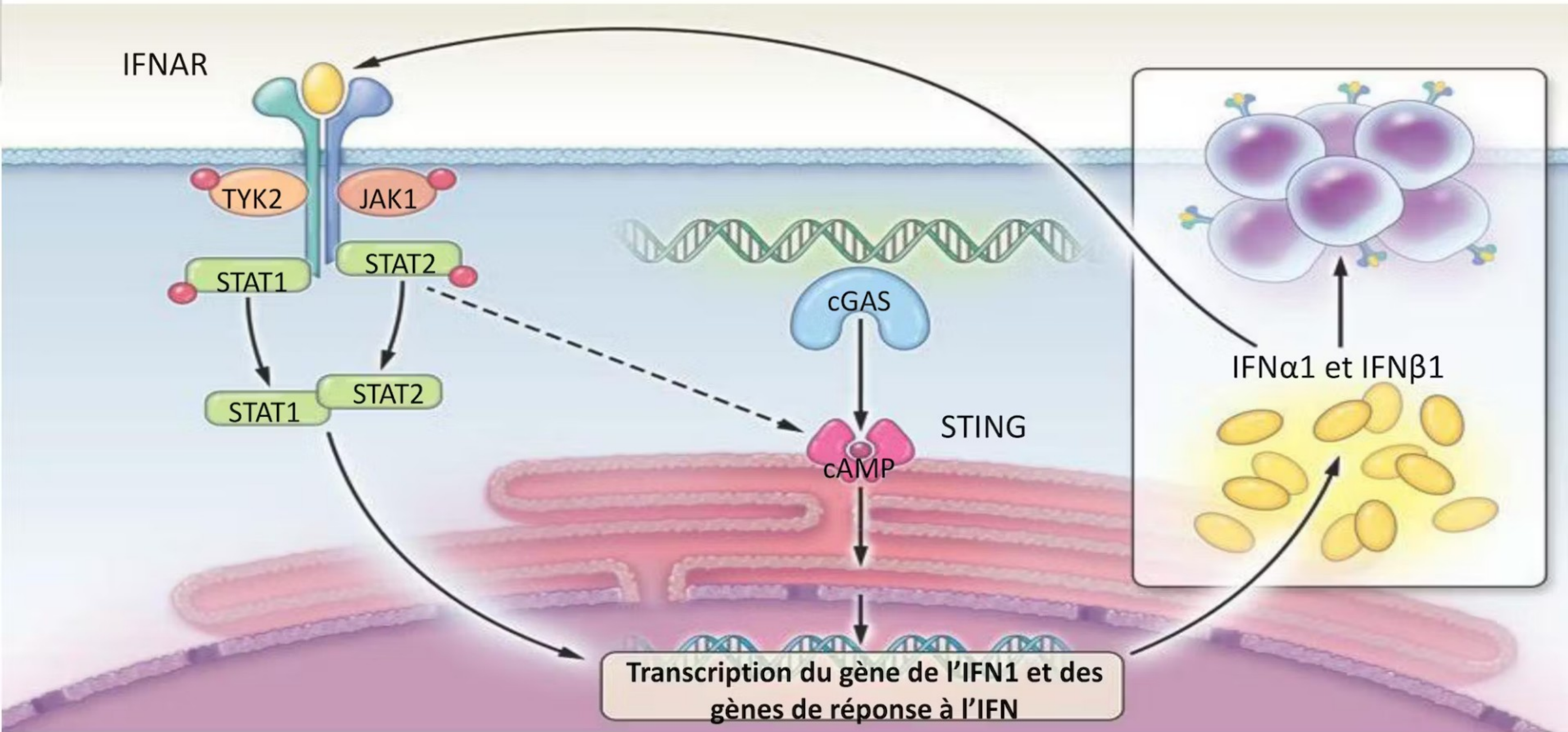
## Nucleic acid metabolism defect - HERV

(Loss of function – Autosomal recessive)

## Innate sensor activation

(Gain of function – Autosomal dominant)

<p><i>TREX1</i> TREX1 3p21 AD/AR</p> <p>SLE <b>Chilblain</b>, brain calcification AGS</p>	<p><i>ADAR1</i> AR 1q21.3</p> <p><b>Chilblain</b> lupus ANA,</p>	<p><i>RNASEH 2A, 2B 2C</i> AR 19p13, 13q14, 11q13 AR</p> <p>Brain calcification, mental retardation, <b>Chilblain lupus</b>, AGS</p>	<p><i>SAMHD1</i> 20q11 AR</p> <p><b>Chilblain</b>, brain calcification, mental retardation <b>Moya Moya</b></p>	<p><i>DNASE2</i> DNASE2 19p13 AR</p> <p><b>Neonatal anemia</b>, HSM, purpura, liver fibrosis, memb. GN, skin vasculitis dsDNA</p>	<p><i>IFIH1 MDA5</i> 2q24.2 AD</p> <p>Mental retardation, ITP, HSM, Glaucoma Lupus / IgA deficiency</p>	<p><i>TMEM173</i> STING 5q31.2 AD</p> <p><b>Lung involvement</b>, Skin vasculitis, <b>chilblain</b></p>	<p><i>DDX58</i> RIG-I 9p12 AD</p> <p><b>Singleton-Merten</b>: Glaucoma aortic calcification, dental and osseous anomalies</p>
---	--	--	---	---	---	---	---



Transcription du gène de l'IFN1 et des gènes de réponse à l'IFN

# Quelle est la meilleure technologie pour faire le diagnostic de maladie génétique ?

Waiting for responses ...



# Quelle différence entre Sanger, Panel, WES, WGS?

SHD (séquençage haut débit) / NGS (séquençage nouvelle génération)

Analyse ciblée

Analyse non ciblée

	Sanger	Panel de gènes	Whole Exome Sequencing (WES)	Whole Genome Sequencing (WGS)
<b>Taille de l'analyse</b>	1 gène	7-300 gènes	Tous les gènes connus Exons uniquement	Tous les gènes connus Gènes entiers
<b>Type d'analyse</b>	analyse isolée (exons)	analyse simultanée	analyse simultanée	analyse simultanée
<b>Variants détectés</b>	SNV	SNV CNV	SNV CNV [selon la technique]	SNV CNV SV
	technique non quantitative	technique quantitative	technique quantitative	technique quantitative
		<b>Variants en mosaïques</b>	Mosaïques [selon la technique]	<b>Variants introniques</b>

CC N°1, 3

Ré-analyse possible

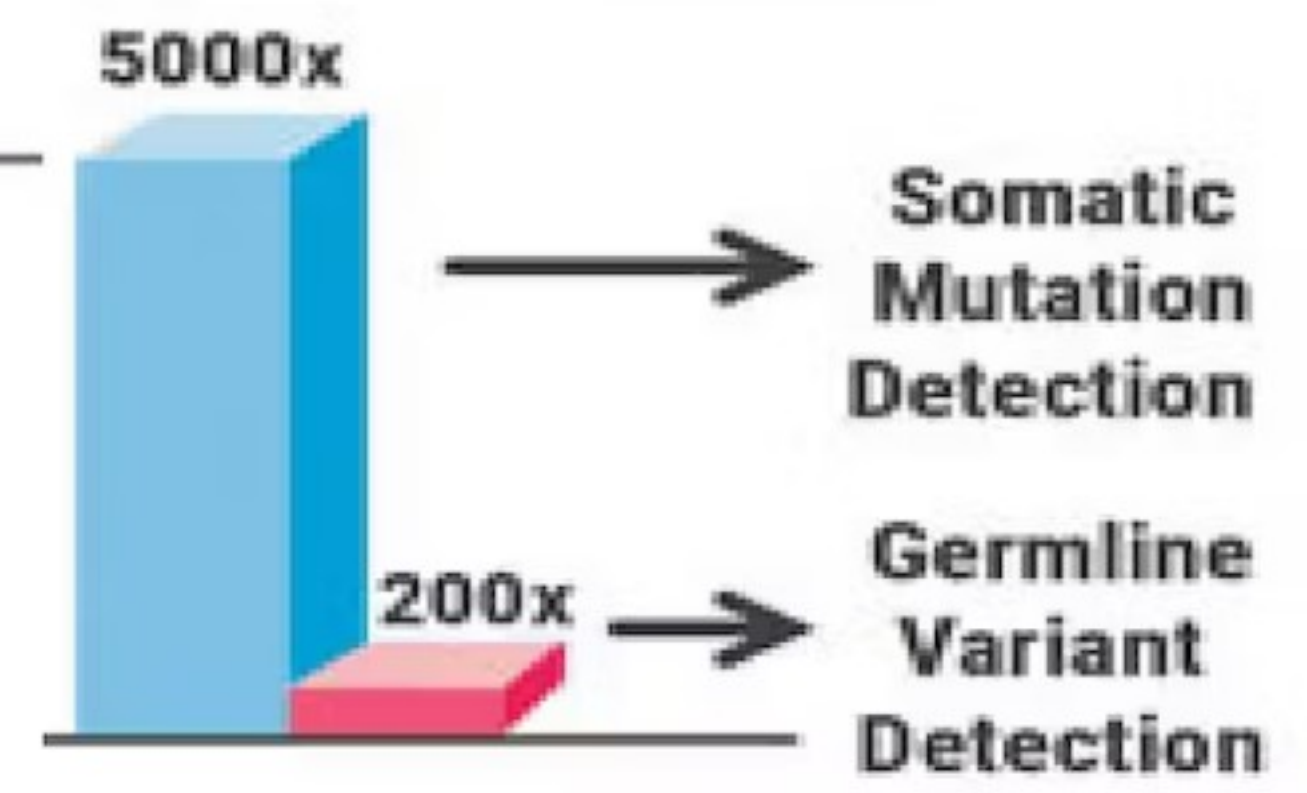
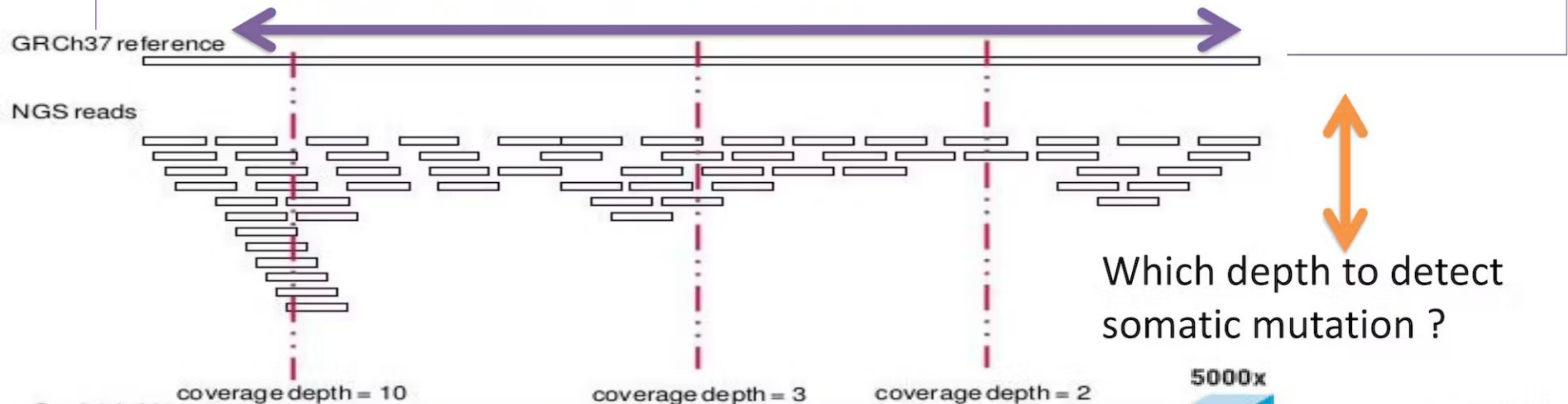
CC N°5

**Diagnostic** (gènes publiés uniquement avec envoi d'un CR de résultats)  
**Recherche** (gènes publiés et non publiés)



# Séquençage Haut Débit (SHD/NGS)

- Couverture / Profondeur**

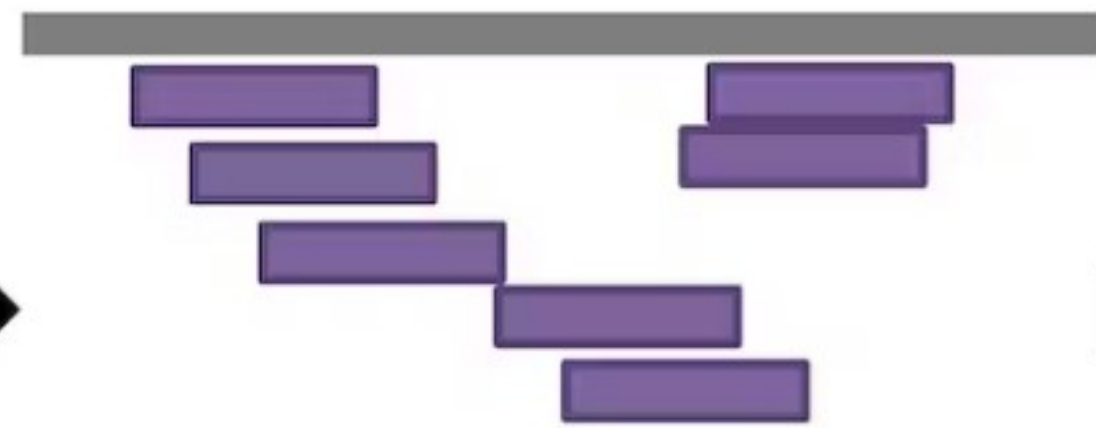
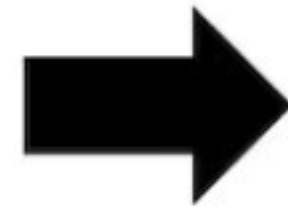
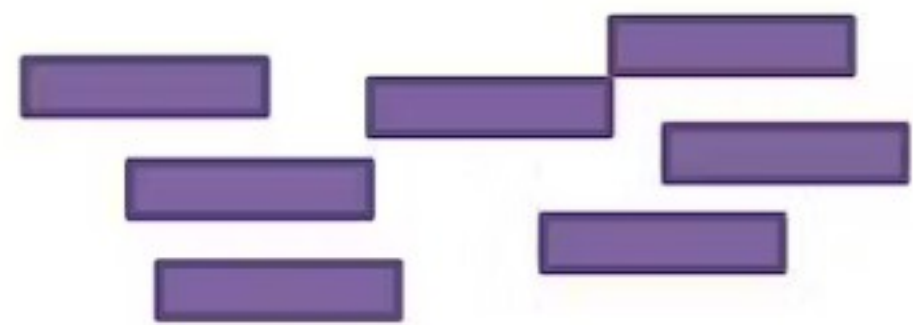


# Séquençage Haut Débit (SHD/NGS)

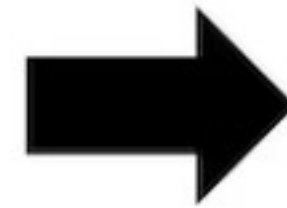
## Analyses bioinformatiques



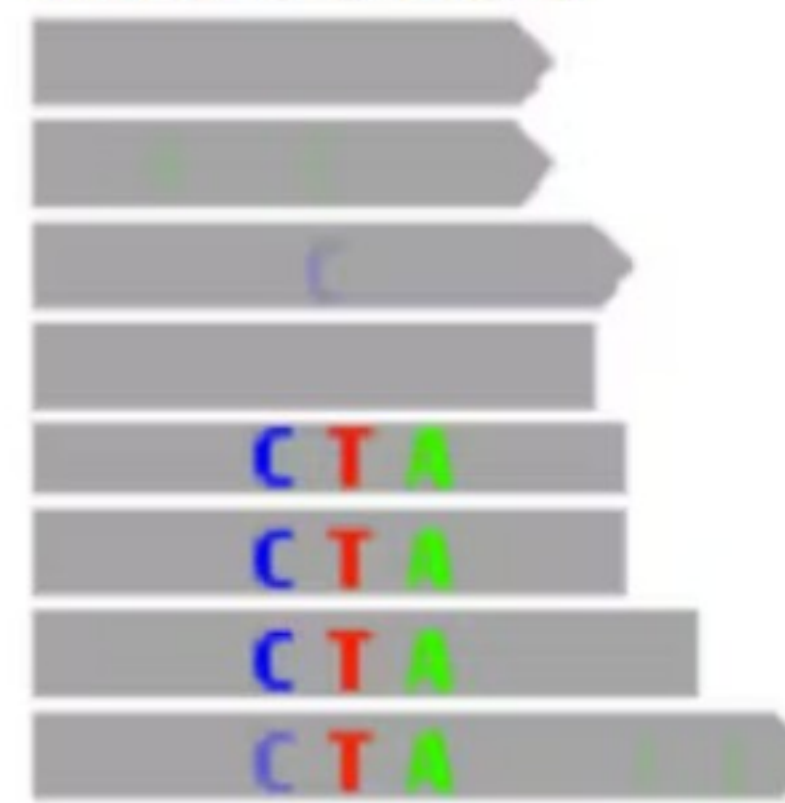
Fichier informatique  
de sortie =  
Plusieurs séquences  
d'ADN provenant de  
- plusieurs gènes  
- plusieurs patients



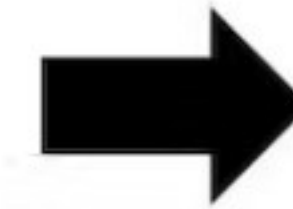
**Alignement** sur une  
séquence de référence



AAGCGTCG



**Lecture des variants** par  
rapport à la séquence  
de référence



c.115A>T  
c.115A>T  
c.104-1delG  
c.200insTC  
c.190\_193delGAC

**Annotation des variants**  
- Présence / bases de données  
- Fréquence / bases de données  
- Outils de prédictions de l'effet sur la protéine  
Etc.

# Quel nombre de variants à analyser dans un WES ?



# Donnée de votre Whole Exome

Q2	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V	W	
	Chr	St	End	Gene	Transcript	Consequen	Genotype	Ref	HGVS_cDN	HGVS_prot	HGVS_gene	Lablims	AA1	AA2	Codon1	Codon2		Strand	QUAL	Depth	Allele1_Co	Allele2_Co	Allele1_MC	A
1	X	2700157	2700157	ENSG00000	ENST00000	missense	G/A	G	c.112G>A	p.(Asp38As	chrX:g.2700157	XG c.112G>D	D	N	Gac	Aac	rs5939319	1	46078,72	238	142	107	59,12	
2	X	2724760	2724760	ENSG00000	ENST00000	missense	C/C	T	c.392T>C	p.(Leu131P	chrX:g.2724760	XG c.392T>L	L	P	cTc	cCc	rs3749988	1	66136,98	133	133	133	59,11	
3	X	2761050	2761050	ENSG00000	ENST00000	missense	C/T	C	c.19C>T	p.(His7Tyr)	chrX:g.2761050	GYG2 c.19C>H	H	Y	Cac	Tac	rs1179703	1	913,41	11	5	6	58,98	
4	X	2777985	2777985	ENSG00000	ENST00000	missense	C/T	C	c.264C>T	p.(Ala89Val	chrX:g.2777985	GYG2 c.264A	A	V	gCg	gTg	rs2306734	1	110023,7	239	125	120	58,04	
5	X	2779570	2779570	ENSG00000	ENST00000	missense	A/G	A	c.393A>G	p.(His132A	chrX:g.2779570	GYG2 c.393H	H	R	cAc	cGc	rs2306735	1	28485,71	123	89	40	59,01	
6	X	2836037	2836037	ENSG00000	ENST00000	missense	C/C	G	c.671C>G	p.(Ser224C	chrX:g.2836037	ARSD c.671S	S	C	tCt	tGt	rs211653	-1	94404,02	249	249	249	58,56	
7	X	3019114	3019114	ENSG00000	ENST00000	splice_regi	A/A	G	c.968-14G>	-	chrX:g.3019114	ARSF c.968-	-	-	-	-	rs1179899	1	13983,09	143	143	143	59,23	
8	X	3021798	3021798	ENSG00000	ENST00000	splice_regi	T/C	T	c.1103-5T>	-	chrX:g.3021798	ARSF c.110-	-	-	-	-	rs1869561	1	1472,74	13	1	12	59,49	
9	X	3235724	3235724	ENSG00000	ENST00000	missense	T/T	C	c.5998G>A	p.(Gly2000	chrX:g.3235724	MXRA5 c.5998G>P	P	S	Ggc	Agc	rs1635242	-1	114194,5	248	248	248	58,89	
10	X	3238733	3238733	ENSG00000	ENST00000	missense	A/A	G	c.4993C>T	p.(Pro1665	chrX:g.3238733	MXRA5 c.4993C>P	P	S	Cca	Tca	rs1974522	-1	164487,7	250	250	250	59,05	
11	X	3239545	3239545	ENSG00000	ENST00000	missense	T/T	C	c.4181G>A	p.(Gly1394	chrX:g.3239545	MXRA5 c.4181G>G	G	D	gGc	gAc	rs1726199	-1	128415,5	248	248	248	59,1	
12	X	3240343	3240343	ENSG00000	ENST00000	missense	A/A	G	c.3383C>T	p.(Ala1128	chrX:g.3240343	MXRA5 c.3383C>A	A	V	gCa	gTa	rs1635246	-1	132208,7	248	248	248	59,07	
13	X	3631167	3631167	ENSG00000	ENST00000	missense	A/G	A	c.128T>C	p.(Val43Ala	chrX:g.3631167	PRKX c.128V	V	A	gTg	gCg	rs3752362	-1	20353,9	128	79	55	58,84	
14	X	3736489	3736489	ENSG00000	ENST00000	missense	C/T	C	c.224G>A	p.(Arg75His	chrX:g.3736489	c.224G>A	A	R	cGc	cAc	rs1133336	-1	49622,83	136	76	67	59,16	
15	X	6975752	6975752	ENSG00000	ENST00000	missense	T/T	G	c.623C>A	p.(Thr208A	chrX:g.6975752	HDHD1 c.623C>T	T	N	aCc	aAc	rs5978220	-1	28394,68	192	192	192	58,93	
16	X	6975782	6975782	ENSG00000	ENST00000	missense	G/G	C	c.593G>C	p.(Cys198S	chrX:g.6975782	HDHD1 c.593G>C	C	S	tGt	tCt	rs868756	-1	77843,83	249	249	249	58,99	
17	X	8504833	8504833	ENSG00000	ENST00000	missense	T/T	C	c.1600G>A	p.(Val534Ile	chrX:g.8504833	KAL1 c.1600G>V	V	I	Gtt	Att	rs808119	-1	20623,01	43	43	43	59,15	
18	X	9659766	9659766	ENSG00000	ENST00000	splice_regi	G/A	G	c.749+15G>	-	chrX:g.9659766	TBL1X c.749+15G>	-	-	-	-	rs2301675	1	11363,06	57	32	27	59,55	
19	X	9728744	9728744	ENSG00000	ENST00000	splice_regi	G/C	G	c.108+13C>	-	chrX:g.9728744	GPR143 c.108+13C>	-	-	-	-	rs11095520	-1	991,62	17	6	11	59,58	
20	X	9733901	9733901	ENSG00000	ENST00000	missense	C/A	C	c.17G>T	p.(Arg6Leu	chrX:g.9733901	GPR143 c.17G>R	R	L	cGg	cTg	-	-1	2692,48	102	56	50	58,77	
21	X	9914947	9914947	ENSG00000	ENST00000	missense	C/C	G	c.1326G>C	p.(Leu442P	chrX:g.9914947	SHROOM2 L	L	F	ttG	ttC	rs2073942	1	34573,15	178	178	178	59,2	
22	X	10062163	10062163	ENSG00000	ENST00000	splice_regi	C/C	G	c.508-9G>C	-	chrX:g.10062163	WWC3 c.508-9G>C	-	-	-	-	rs5934747	-1	63641,89	250	250	250	59,15	
23	X	11157535	11157535	ENSG00000	ENST00000	missense	G/C	G	c.2373C>G	p.(Asp791C	chrX:g.11157535	ARHGAP6 c.2373C>D	D	E	gaC	gaG	rs1009758	-1	20702,74	198	98	100	58,95	
24	X	11780303	11780303	ENSG00000	ENST00000	missense	A/G	A	c.263A>G	p.(Ile89Val	chrX:g.11780303	MSL3 c.263A>I	I	V	Ata	Gta	rs1051591	1	4195,23	238	144	106	59,17	
25	X	12722616	12722616	ENSG00000	ENST00000	splice_regi	G/G	C	c.1197+12C>	-	chrX:g.12722616	FRMPD4 c.1197+12C>	-	-	-	-	rs4469660	1	74180,98	136	136	136	59,24	
26	X	12838934	12838934	ENSG00000	ENST00000	splice_regi	A/G	A	c.360+12A>	-	chrX:g.12838934	PRPS2 c.360+12A>	-	-	-	-	rs917580	1	27016,58	97	56	46	58,96	
27	X	12924826	12924826	ENSG00000	ENST00000	initiator_cc	A/G	A	c.1A>G	p.(Met1?)	chrX:g.12924826	TLR8 c.1A>M	M	V	Atg	Gtg	rs3764880	1	25315,83	231	142	101	59,06	
28	X	15610348	15610348	ENSG00000	ENST00000	splice_regi	C/T	C	c.439+4G>	-	chrX:g.15610348	ACE2 c.439+4G>	-	-	-	-	rs2285666	-1	22997,14	219	132	98	58,98	
29	X	16876980	16876980	ENSG00000	ENST00000	splice_regi	G/A	G	c.-86-8C>T	-	chrX:g.16876980	RBBP7 c.-86-8C>T	-	-	-	-	rs4828536	-1	8847,61	35	20	16	59,07	
30	X	16887655	16887655	ENSG00000	ENST00000	missense	C/T	C	c.110G>A	p.(Arg37His	chrX:g.16887655	RBBP7 c.110G>R	R	H	cGc	cAc	rs67984110	-1	59634,17	238	158	92	58,8	
31	X	17819377	17819377	ENSG00000	ENST00000	missense	C/C	T	c.604A>G	p.(Met202V	chrX:g.17819377	RAI2 c.604A>M	M	V	Atg	Gtg	rs6527818	-1	88656,98	178	178	178	59,07	
32	X	19364644	19364644	ENSG00000	ENST00000	missense	C/T	C	c.74C>T	p.(Thr25Met	chrX:g.19364644	PDHA1 c.74C>T	T	M	aCg	aTg	rs7883320	1	1928,04	31	15	17	58,58	
33	X	19373789	19373789	ENSG00000	ENST00000	splice_regi	C/A	C	n.188-15C>	-	chrX:g.19373789	PDHA1 n.188-15C>	-	-	-	-	rs7058209	1	9162,34	214	128	97	58,85	
34	X	19482476	19482476	ENSG00000	ENST00000	missense	C/T	C	c.70G>A	p.(Ala24Thr	chrX:g.19482476	MAP3K15 c.70G>A	A	T	Gct	Act	rs5909299	-1	127407,9	238	142	107	59,07	
35	X	20071046	20071046	ENSG00000	ENST00000	missense	C/C	T	c.413A>G	p.(Asn138S	chrX:g.20071046	MAP7D2 c.413A>N	N	S	aAt	aGt	rs34519770	-1	43010,79	250	250	250	59,12	
36	X	21886653	21886653	ENSG00000	ENST00000	missense	T/G	T	c.739T>G	p.(Leu247V	chrX:g.21886653	MBTPS2 c.739T>L	L	V	Ttg	Gtg	rs1841098	1	6207,2	227	131	107	59,23	
37	X	23689636	23689636	ENSG00000	ENST00000	splice_regi	A/T	A	c.242-10A>	-	chrX:g.23689636	PRDX4 c.242-10A>	-	-	-	-	rs513572	1	40740,25	171	68	111	59,04	
38	X	23689637	23689637	ENSG00000	ENST00000	splice_regi	T/C	T	c.242-9T>C	-	chrX:g.23689637	PRDX4 c.242-9T>C	-	-	-	-	rs513573	1	41995,25	172	70	111	59,03	
39	X	23928489	23928489	ENSG00000	ENST00000	missense	C/T	C	c.70C>T	p.(Arg24Cys	chrX:g.23928489	CXorf58 c.70C>R	R	C	Cgc	Tgc	rs2707164	1	32781,79	103	63	45	59,2	
40	X	24741397	24741397	ENSG00000	ENST00000	splice_regi	G/A	G	c.1182+13C>	-	chrX:g.24741397	POLA1 c.1182+13C>	-	-	-	-	rs11573339	1	6445,2	236	112	135	59,04	
41	X	26157220	26157220	ENSG00000	ENST00000	missense	C/T	C	c.118C>T	p.(Pro40Ser	chrX:g.26157220	MAGEB18 c.118C>P	P	S	Cct	Tct	rs5944317	1	83229,22	238	115	135	59	
42	X	27766045	27766045	ENSG00000	ENST00000	missense	A/G	A	c.1033A>G	p.(Thr345A	chrX:g.27766045	DCAF12 c.1033A>T	T	A	Acc	Gcc	rs5926895	1	61798,57	238	139	110	58,7	

# Donnée de votre *Whole Exome*

- In a single individual:
  - 15 000 exonic variant
  - 300-400 exonic variant unknown in genetic database
  - 100 predicted *in silico* as pathogenic (*SIFT, Polyphen...*)

We all are mutants



# Analyse de génome complet...

- Le plan France Medecine Génomique
- FAI2R = 1 des 11 filières sélectionnées en première vague
- Cf présentation sur le site [www.FAI2R.org](http://www.FAI2R.org)



## RCP formulaire de demande d'avis

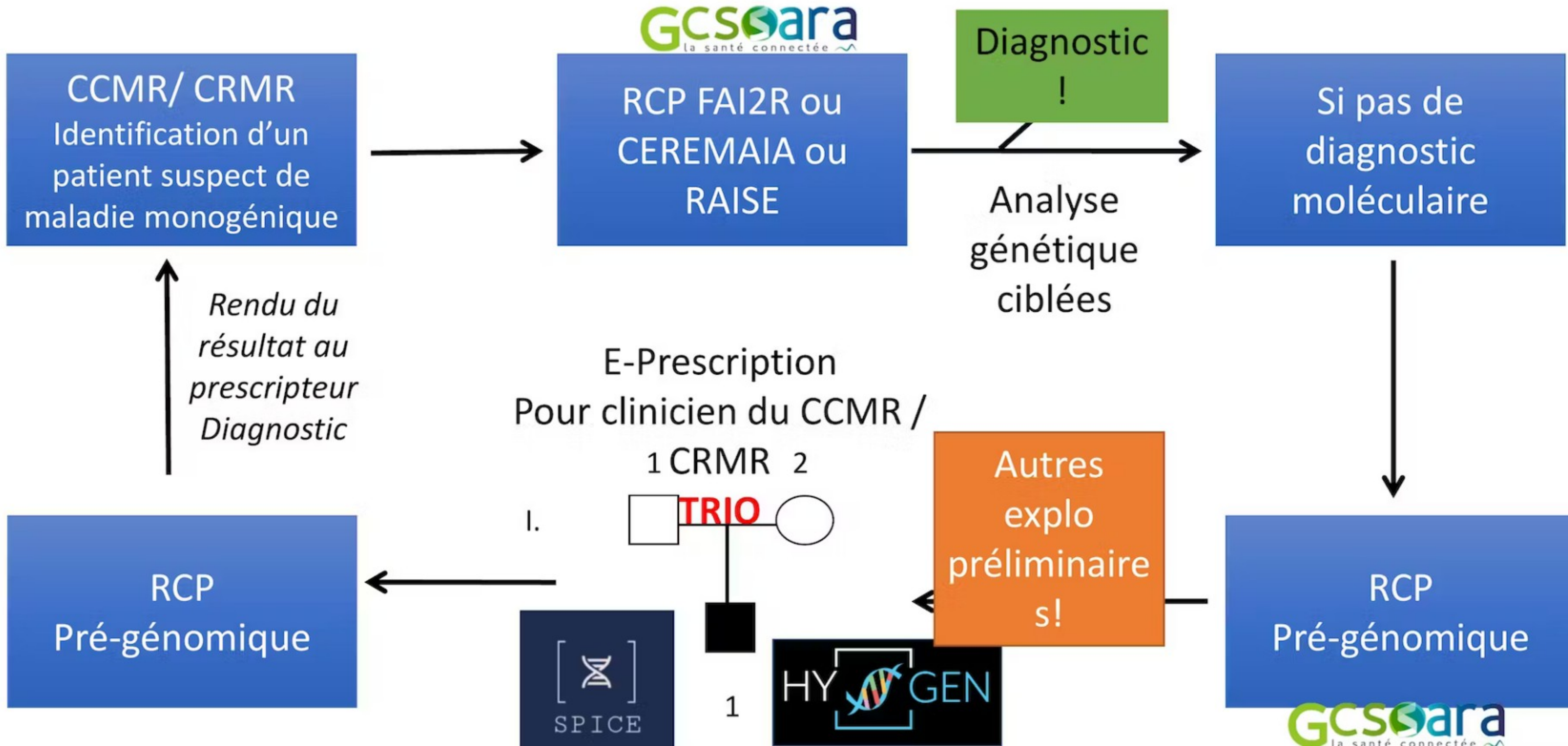
Je déclare avoir recueilli le consentement de mon patient pour le passage de son dossier en Réunion de Concertation Pluridisciplinaire et l'avoir informé que ses données de santé sont gérées via un site sécurisé et sont partagées avec d'autres professionnels de santé à des fins de prise en charge diagnostique et thérapeutique.

MEDECIN PRESCRIPTEUR	
Médecin prescripteur de la RCP (nom, prénom)	Cliquez ici pour taper du texte.
Médecin responsable du suivi du patient (Nom, prénom)	Cliquez ici pour taper du texte.
Adresse postale pour envoi du Compte-rendu de RCP *	Cliquez ici pour taper du texte.
Téléphone portable du médecin qui présentera le dossier *	Cliquez ici pour taper du texte.
Date de la demande	Cliquez ici pour taper du texte.

\* tous les champs marqués par \* sont obligatoires. Si l'une de ces informations est manquante, le patient ne pourra être inscrit.

PATIENT					
Nom *	Cliquez ici pour taper du texte.		Date de naissance *	Cliquez ici pour taper du texte.	
			Lieu de Naissance *	Cliquez ici pour taper du texte.	
Prénom *	Cliquez ici pour taper du texte.		Sexe *	F <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/>	
Consanguinité *	Oui <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/>				
Le patient a déjà été présenté en RCP locale	Oui <input type="checkbox"/> Si oui, joindre le compte-rendu		Non <input type="checkbox"/>		
Motif de la prise en charge	Cliquez ici pour taper du texte.				
Antécédents personnels	Cliquez ici pour taper du texte.				
FAMILLE					
Antécédents familiaux	Cliquez ici pour taper du texte.				
Nom de la mère	Cliquez ici pour taper du texte.	Prénom de la mère	Cliquez ici pour taper du texte.	Date de naissance de la mère	Cliquez ici pour taper du texte.
Nom du père	Cliquez ici pour taper du texte.	Prénom du père	Cliquez ici pour taper du texte.	Date de naissance du père	Cliquez ici pour taper du texte.

# Le circuit de la prescription WGS



# Comment faire ?

- Présenter le patient à une RCP France génomique de la filière (tous les 2 Mois), toutes les dates sur le site !
- 2 astuces:
  - 1: lieu de naissance du cas index
  - 2: Nom, prénom, DDN des 2 parents

« Je déclare avoir recueilli le consentement de mon patient pour le passage de son dossier en Réunion de Concertation Pluridisciplinaire et l'avoir informé que ses données de santé sont gérées via un site sécurisé et sont partagées avec d'autres professionnels de santé à des fins de prise en charge diagnostique et thérapeutique »

MEDECIN PRESCRIPTEUR	
Médecin prescripteur de la RCP (nom, prénom)	Cliquez ici pour taper du texte.
Médecin responsable du suivi du patient (Nom, prénom)	Cliquez ici pour taper du texte.
Adresse postale pour envoi du Compte-rendu de RCP *	Cliquez ici pour taper du texte.
Téléphone portable du médecin qui présentera le dossier *	Cliquez ici pour taper du texte.
Date de la demande	Cliquez ici pour taper du texte.

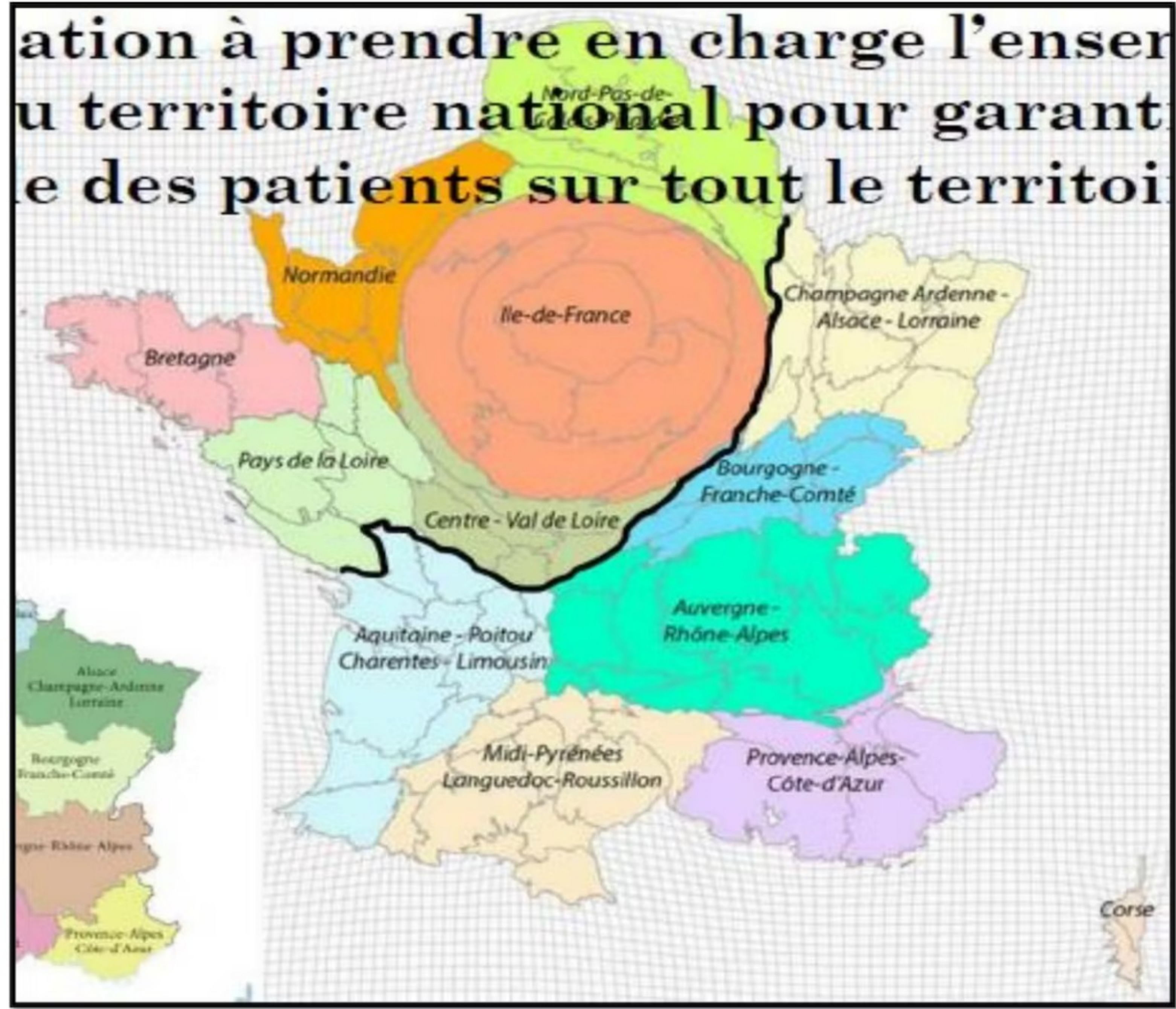
\*tous les champs marqués par \* sont obligatoires. Si l'une de ces informations est manquante, le patient ne pourra être inscrit.

PATIENT					
Nom *	Cliquez ici pour taper du texte.	Date de naissance *	Cliquez ici pour taper du texte.		
		Lieu de Naissance *	Cliquez ici pour taper du texte.		
Prénom *	Cliquez ici pour taper du texte.	Sexe *	F <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/>		
Consanguinité *	Oui <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/>				
Le patient a déjà été présenté en RCP locale	Oui <input type="checkbox"/> Si oui, joindre le compte-rendu		Non <input type="checkbox"/>		
Motif de la prise en charge	Cliquez ici pour taper du texte.				
Antécédents personnels	Cliquez ici pour taper du texte.				
FAMILLE					
Antécédents familiaux	Cliquez ici pour taper du texte.				
Nom de la mère	Cliquez ici pour taper du texte.	Prénom de la mère	Cliquez ici pour taper du texte.	Date de naissance de la mère	Cliquez ici pour taper du texte.
Nom du père	Cliquez ici pour taper du texte.	Prénom du père	Cliquez ici pour taper du texte.	Date de naissance du père	Cliquez ici pour taper du texte.



ation à prendre en charge l'ense  
u territoire national pour garant  
e des patients sur tout le territoi

Nord=Sequoia



Sud=Auragen

## Procédure de e-prescription pour une analyse en WGS via la plateforme SeqOIA

La RCP génomique FAI<sup>2</sup>R a validé l'indication au WGS pour le patient que vous avez présenté. Vous allez pouvoir réaliser une e-prescription sur la plateforme de séquençage SeqOIA, pour cela vous allez devoir passer par l'outil de prescription et d'orchestration SPICE.

- Certains pré-requis informatiques sont indispensables, vous pouvez consulter la marche à suivre ici : [Pré-requis informatiques](#)

**Contact téléphonique :** Alban LERMINE, Directeur SI et Bioinformatique de SeqOIA, 06 16 45 34 45

- Des tutoriels sont disponibles :
  - [pour réaliser une nouvelle prescription sur SPICE](#)
  - [Pour récupérer les consentements, bon de prescription et déclaration des prescripteurs secondaires](#)

Il existe également :

- [Une procédure de demande d'examen](#)
- [Une procédure d'acheminement des échantillons](#)
- [Une procédure de création de compte Biologicistic](#)



# Procédure de e-prescription pour une analyse en WGS via la plateforme AURAGEN

La RCP génomique FAI<sup>2</sup>R a validé l'indication au WGS pour le patient que vous avez présenté. Vous allez pouvoir réaliser une e-prescription sur la plateforme de séquençage AURAGEN, pour cela vous allez devoir passer par l'outil de prescription et d'orchestration Hybrid Génétique (HYGEN).

**Vous pourrez retrouver toutes les informations nécessaires ainsi que des tutoriels sur le site :**

<https://hygentuto.auragen.fr/>

Ce site inclut des manuels et des vidéos. Le mot de passe pour lire les documents protégés est « hygenmanuel ».

- Le contact DSII pour cet outil est : [supportHYGEN@chu-lyon.fr](mailto:supportHYGEN@chu-lyon.fr) (04 27 85 65 13)

Si les délais de réponse s'avèrent trop longs, d'autres solutions vous sont proposées :

- Support par le secrétariat AURAGEN : [secretariat@auragen.fr](mailto:secretariat@auragen.fr) / 04 72 11 25 40 / 04 72 11 25 50
- Formation des responsables de filière



# Anticiper !

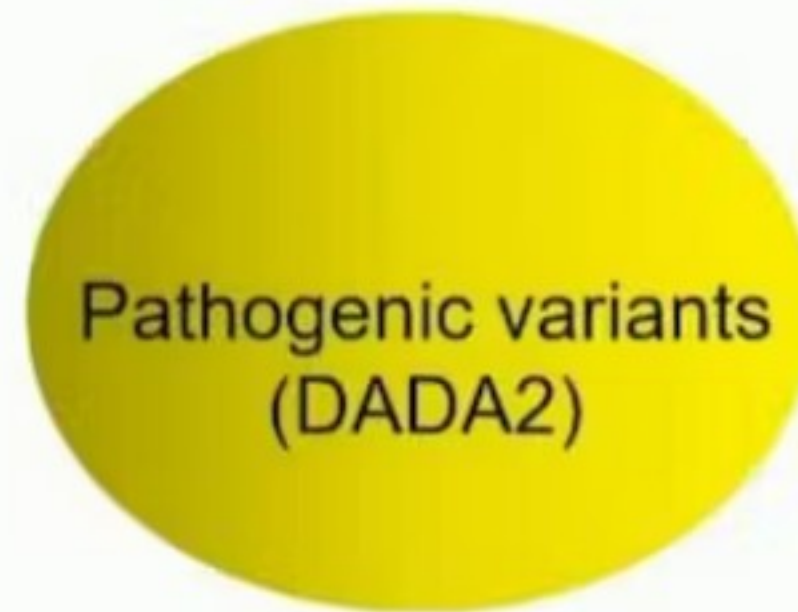
## FAI2R peut vous accompagner

**Muriel Herasse**

Chargée de missions

Muriel.herasse@chu-lyon.fr

# Interpréter les variants : la vision du clinicien



# Interpréter les variants : la vision du Généticien

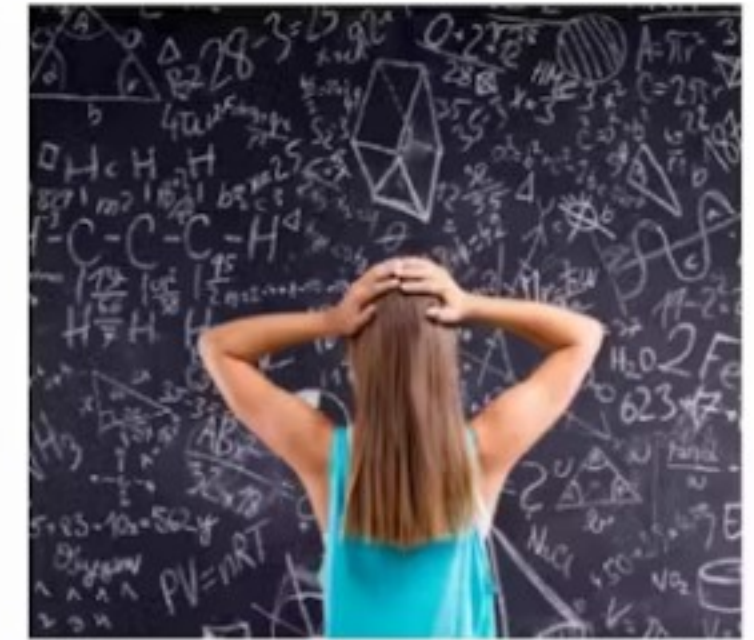
Richards et al., Genet Med 2015

## ACMG STANDARDS AND GUIDELINES

	Benign		Pathogenic			
	Strong	Supporting	Supporting	Moderate	Strong	Very strong
<b>Population data</b>	MAF is too high for disorder BA1/BS1 OR observation in controls inconsistent with disease penetrance BS2			Absent in population databases PM2	Prevalence in affecteds statistically increased over controls PS4	
<b>Computational and predictive data</b>		Multiple lines of computational evidence suggest no impact on gene /gene product BP4 Missense in gene where only truncating cause disease BP1 Silent variant with non predicted splice impact BP7 In-frame indels in repeat w/out known function BP3	Multiple lines of computational evidence support a deleterious effect on the gene /gene product PP3	Novel missense change at an amino acid residue where a different pathogenic missense change has been seen before PMS Protein length changing variant PM4	Same amino acid change as an established pathogenic variant PS1	Predicted null variant in a gene where LOF is a known mechanism of disease PVS1
<b>Functional data</b>	Well-established functional studies show no deleterious effect BS3		Missense in gene with low rate of benign missense variants and path. missenses common PP2	Mutational hot spot or well-studied functional domain without benign variation PM1	Well-established functional studies show a deleterious effect PS3	
<b>Segregation data</b>	Nonsegregation with disease BS4		Cosegregation with disease in multiple affected family members PP1	Increased segregation data →		
<b>De novo data</b>				De novo (without paternity & maternity confirmed) PM6	De novo (paternity and maternity confirmed) PS2	
<b>Allelic data</b>		Observed in trans with a dominant variant BP2 Observed in cis with a pathogenic variant BP2		For recessive disorders, detected in trans with a pathogenic variant PM3		
<b>Other database</b>		Reputable source w/out shared data = benign BP6	Reputable source = pathogenic PPS			
<b>Other data</b>		Found in case with an alternate cause BPS	Patient's phenotype or FH highly specific for gene PP4			

Table 5 Rules for combining criteria to classify sequence variants

<b>Pathogenic</b>	(i) 1 Very strong (PVS1) AND (a) ≥1 Strong (PS1-PS4) OR (b) ≥2 Moderate (PM1-PM6) OR (c) 1 Moderate (PM1-PM6) and 1 supporting (PP1-PP5) OR (d) ≥2 Supporting (PP1-PP5) (ii) ≥2 Strong (PS1-PS4) OR (iii) 1 Strong (PS1-PS4) AND (a) ≥3 Moderate (PM1-PM6) OR (b) 2 Moderate (PM1-PM6) AND ≥2 Supporting (PP1-PP5) OR (c) 1 Moderate (PM1-PM6) AND ≥4 supporting (PP1-PP5)
<b>Likely pathogenic</b>	(i) 1 Very strong (PVS1) AND 1 moderate (PM1-PM6) OR (ii) 1 Strong (PS1-PS4) AND 1-2 moderate (PM1-PM6) OR (iii) 1 Strong (PS1-PS4) AND ≥2 supporting (PP1-PP5) OR (iv) ≥3 Moderate (PM1-PM6) OR (v) 2 Moderate (PM1-PM6) AND ≥2 supporting (PP1-PP5) OR (vi) 1 Moderate (PM1-PM6) AND ≥4 supporting (PP1-PP5)
<b>Benign</b>	(i) 1 Stand-alone (BA1) OR (ii) ≥2 Strong (BS1-BS4)
<b>Likely benign</b>	(i) 1 Strong (BS1-BS4) and 1 supporting (BP1-BP7) OR (ii) ≥2 Supporting (BP1-BP7)
<b>Uncertain significance</b>	(i) Other criteria shown above are not met OR (ii) the criteria for benign and pathogenic are contradictory



Classe 5

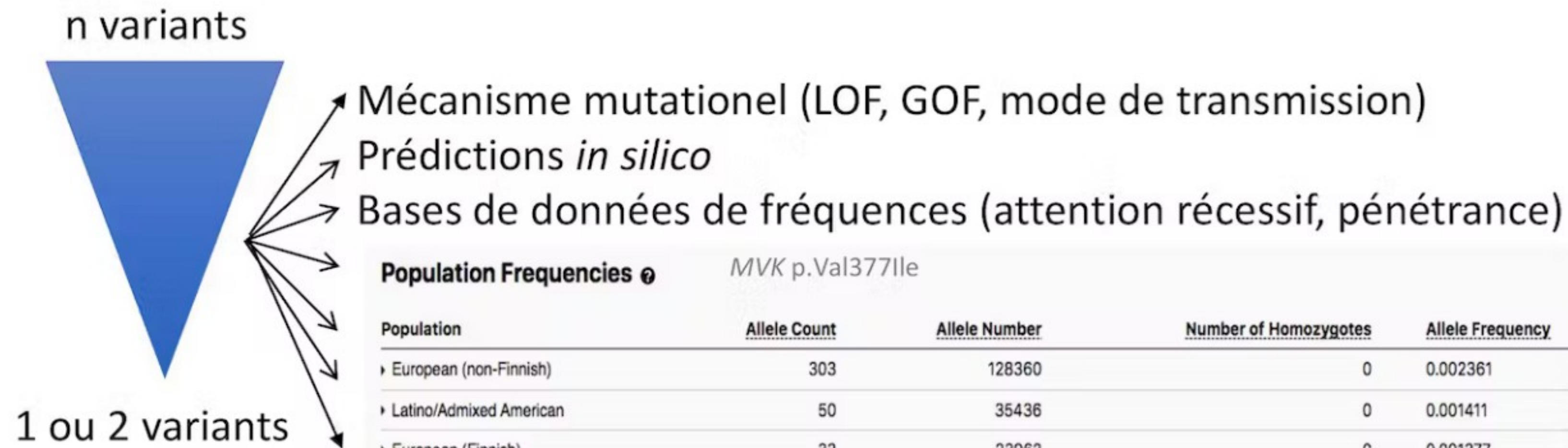
Classe 4


Classe 1

Classe 2

Classe 3

# Interpréter les variants : quels sont les variants pathogènes ?



Population Frequencies  MVK p.Val377Ile

Population	Allele Count	Allele Number	Number of Homozygotes	Allele Frequency
European (non-Finnish)	303	128360	0	0.002361
Latino/Admixed American	50	35436	0	0.001411
European (Finnish)	33	23962	0	0.001377
Other	9	7198	0	0.001250
South Asian	28	30616	0	0.0009146
Ashkenazi Jewish	8	10360	0	
African/African American	10	24932	0	
East Asian	2	19926	0	
XX	204	128286	0	
XY	239	152504	0	
<b>Total</b>	<b>443</b>	<b>280790</b>	<b>0</b>	<b>0.001578</b>

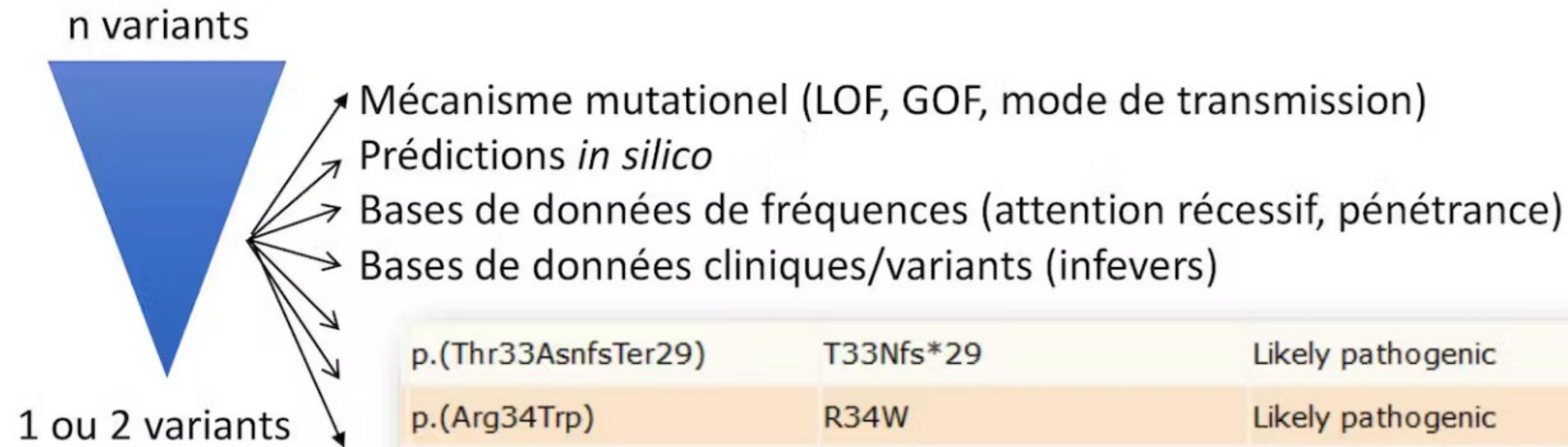
## Variant aggregation at Broad

Exome Aggregation Consortium (ExAC) – v1	Genome Aggregation Database (gnomAD) – v2	Genome Aggregation Database (gnomAD) – v3
60,076 exomes Genome Build 37 released October 2014	125,748 exomes + 15,708 genomes Genome Build 37 released October 2016	76,156 genomes Genome Build 38 released October 2019

## Who's in gnomAD?

- Short read Illumina sequence data primarily from case-control studies of complex adult-onset diseases (e.g. type 2 diabetes, heart attack, migraine)
- Depleted as much as possible of people **known** to have severe pediatric disease, and their first-degree relatives

# Interpréter les variants : quels sont les variants pathogènes ?

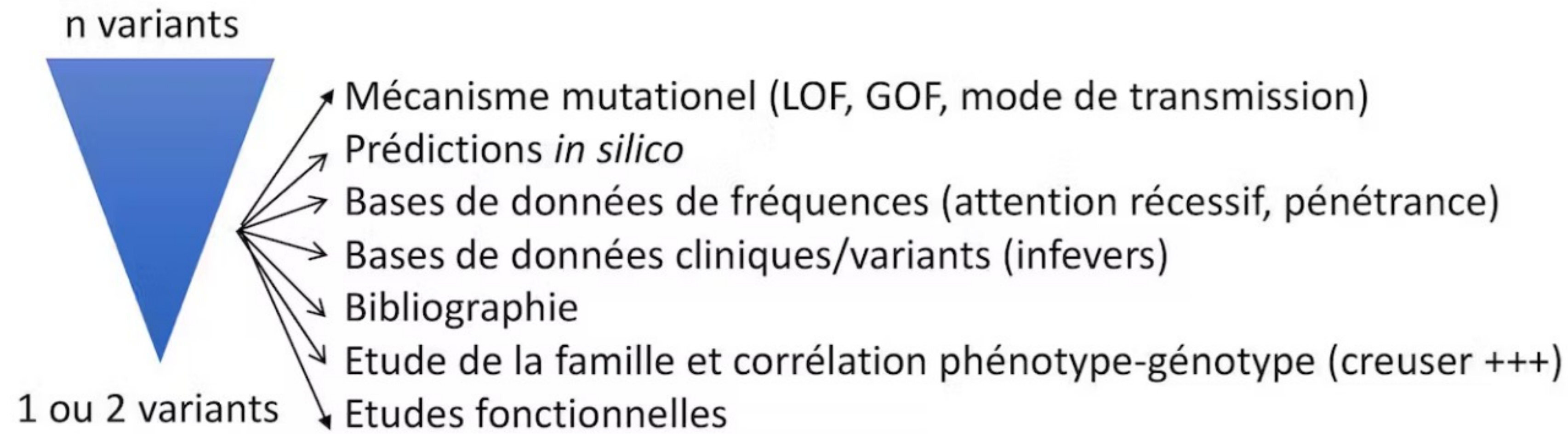


p.(Thr33AsnfsTer29)	T33Nfs*29	Likely pathogenic	To be validated
p.(Arg34Trp)	R34W	Likely pathogenic	To be validated
p.(Arg45Trp)	R45W	Uncertain significance (VUS)	To be validated
p.(Leu46=)	c.138G>C	Benign	VALIDATED
p.(Gly47Arg)	G47R	Pathogenic	VALIDATED
p.(Gly47Arg)	G47R GC	Pathogenic	To be validated





# Interpréter les variants : quels sont les variants pathogènes ?



# Nomenclature et classification des variants

## cDNA

c.2080A>G  
c.2080A>T  
c.778C>T

## Protéine

p.(Met694Val)  
p.(Met694Leu)  
p.(Arg260Trp)

## Ancienne nomenclature

M694V  
M694L  
R260W

### Classification des variants :

Classe 1 : bénin

Classe 2 : probablement bénin

Classe 3 : variant de signification inconnue (VOUS/VUS/VSI)

Classe 4 : probablement pathogène

Classe 5 : pathogène

NON RENDU

NON RENDU

RENDU SELON LES CAS

RENDU

RENDU

Importance des arbres généalogiques avec clinique pour aider au classement

### Attention certains variants ne sont plus rendus :

#### **MEFV**

p.(Leu110Pro)  
p.(Glu148Gln)  
p.(Pro369Ser)  
p.(Arg408Gln)  
p.(Ile591Thr)

E148Q →

#### **NLRP3**

p.(Val198Met)  
p.(Arg488Lys)  
p.(Gln703Lys)

#### **TNFRSF1A**

p.(Pro75Leu)  
p.(Thr90Ile)  
p.(Arg121Gln)

← P46L

← R92Q

*Shinar et al Clin Chem. 2020 ISSAID/EMQN Best Practice Guidelines for the Genetic Diagnosis of Monogenic Autoinflammatory Diseases in the Next-Generation Sequencing Era*

**Nouveau : MEFV p.Lys695Arg (R695R) déclassé de classe 4 à classe 3 en février 2023**

# Ex : VUS fréquent et évolution des connaissances

Patient de 10 ans avec tableau pouvant évoquer une FMF et variants pathogènes dans la famille.

**M694V/E148Q**

1997

Diagnostic confirmé



2015

On ne peut pas conclure



2020

Le variant E148Q n'est plus rendu

Population	Allele Count	Allele Number	Number of Homozygotes	Allele Frequency
▶ East Asian	5580	19142	814	0.2915
▶ South Asian	8603	30266	1262	0.2842
▶ Ashkenazi Jewish	552	9938	18	0.05554
▶ Other	291	6920	27	0.04205
▶ African/African American	328	22856	3	0.01435
▶ European (non-Finnish)	1619	119630	15	0.01353
▶ Latino/Admixed American	453	34580	1	0.01310
▶ European (Finnish)	38	22246	0	0.001708
XX	6477	118802	760	0.05452
XY	10987	146776	1380	0.07486
<b>Total</b>	<b>17464</b>	<b>265578</b>	<b>2140</b>	<b>0.06576</b>

# Conclusions

- Collaboration Cliniciens / Généticiens
- Le génotype ne règle pas toujours le pb.
- Attention à l'interprétation des variants, les connaissances évoluent.
- Se requestionner – Discuter avec le généticien.
- Savoir poser la bonne question...pour la bonne analyse