



**HAL**  
open science

# Le Dépistage Préconceptionnel Génétique (DPCG) : état des lieux clinique et biologique en vue de la mise en place d'une étude pilote sur l'Ile de La Réunion

Caroline Deiller

## ► To cite this version:

Caroline Deiller. Le Dépistage Préconceptionnel Génétique (DPCG) : état des lieux clinique et biologique en vue de la mise en place d'une étude pilote sur l'Ile de La Réunion. Sciences du Vivant [q-bio]. 2020. dumas-02952414

**HAL Id: dumas-02952414**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02952414v1>**

Submitted on 29 Sep 2020

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

**UNIVERSITÉ DE LA RÉUNION**

**UFR SANTÉ**

Année : 2020

N° : 2020LARE033M

**THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT  
DE DOCTEUR EN MÉDECINE**

**Le Dépistage Préconceptionnel Génétique (DPCG) : Etat des lieux  
clinique et biologique en vue de la mise en place d'une étude pilote  
sur l'Île de La Réunion**

Présentée et soutenue publiquement le 31 août 2020 à 17h  
à La Réunion

**Par Caroline Deiller**

**JURY**

**Président :**

**Monsieur le Professeur Peter VON THEOBALD**

**Assesseurs :**

**Madame le Professeure Sylvia IACOBELLI**

**Monsieur le Professeur Didier LACOMBE**

**Monsieur le Docteur Sébastien LERUSTE**

**Monsieur le Docteur Paul GUEGUEN**

**Directeur de Thèse :**

**Madame le Professeure Bérénice DORAY**

## TABLE DES MATIERES

ABREVIATIONS.....	7
GLOSSAIRE .....	8
INTRODUCTION.....	9
ETAT DE L'ART .....	9
I. Définitions.....	9
I.1. Notions de génétique fondamentale .....	9
I.2. La situation particulière de La Réunion .....	11
I.3. Le DPCG en population générale .....	12
II. Le DPCG en pratique en 2020.....	13
II.1. Aux Etats-Unis.....	13
II.2. En Israël .....	14
II.3. En Europe.....	14
II.3.1. En Sardaigne et à Chypre .....	15
II.3.2. En Espagne .....	15
II.3.3. En France .....	15
MATERIEL ET METHODES.....	17
I. Axe I : Sondage d'opinion vis-à-vis du DPC auprès d'un échantillon de la population réunionnaise .....	17
I.1. La population cible .....	17
I.2. Réalisation, diffusion et analyse du questionnaire .....	17
II. Axe 2 : Choix des pathologies, mises au point techniques de criblage des mutations d'intérêt.....	18
II.1. Les pathologies d'intérêt et mutations testées .....	18
II.2. La population étudiée : la collection DIVERSITE .....	19
II.3. Extraction de l'ADN et amplification génomique .....	20
II.4. Méthodes de génotypage.....	20
II.4.1. La PCR spécifique d'allèle à détection fluorescente .....	21
II.4.1.1. L'identification de l'haplotype associé au syndrome RAVINE.....	21
II.4.1.2. Le criblage de la mucoviscidose, du syndrome Salt & Pepper et de l'alpha-mannosidose .....	22
II.4.2. La technologie TaqMan®: kit Custom TaqMan® Genotyping (ThermoFisher Scientific).....	22
II.4.3. La PCR semi-quantitative : la QFM-PCR (Quantitative Fluorescent Multiplex-PCR) .....	23
III. Analyses statistiques et calculs appliqués à nos données.....	23
III.1. Analyses statistiques du questionnaire.....	23

III.2.	Calcul de la fréquence observée des hétérozygotes et comparaison aux données de la littérature .....	24
RESULTATS .....		25
I.	Axe 1 : Résultats du sondage d'opinion .....	25
I.1.	La population répondante (Tableau 3).....	25
I.2.	Réponses au questionnaire : Analyse globale .....	26
I.2.1.	Perception du DPCG .....	26
I.2.2.	Intérêt du DPCG en population réunionnaise et perception individuelle .....	28
I.2.2.1.	Les répondants intéressés par le DPCG à titre personnel.....	29
I.2.2.2.	Les répondants non intéressés par le DPCG .....	31
I.3.	Réponses au questionnaire : analyse par sous-groupes .....	32
I.3.1.	Composition et comparabilité des sous-groupes.....	33
I.3.2.	Résultats par sous-groupes (Annexe 3) .....	36
II.	Axe 2 : Mises au point des techniques de génétique moléculaire .....	37
II.1.	Quantification après expansion génomique .....	37
II.2.	Criblage de l'haplotype du syndrome RAVINE.....	38
II.3.	Criblage des variants ponctuels impliqués dans la mucoviscidose, le syndrome Salt & Pepper et l'alpha-mannosidose .....	39
II.4.	Détection de la délétion récurrente de l'exon 7 de <i>SMN1</i> .....	39
III.	Résultats chiffrés et estimation de la fréquence des hétérozygotes dans la collection DIVERSITE .....	40
DISCUSSION .....		44
I.	Axe 1 : Résultats du questionnaire : la demande pour le DPCG .....	44
I.1.	Un plébiscite incontestable .....	44
I.1.1.	Le DPCG pour anticiper un projet familial.....	44
I.1.2.	Le DPCG pour s'autonomiser dans sa démarche procréative .....	44
I.1.3.	Un dépistage génétique « normalisé » de maladies fréquentes et graves ...	44
I.2.	Demande d'un dépistage génétique élargi .....	45
I.2.1.	Les spécificités du criblage pangénomique limitant le recours au DPCG.....	45
I.2.2.	Le coût des analyses pangénomiques.....	46
I.2.3.	Le cadre légal de recours au DPN/DPI.....	47
I.3.	Autres éléments à prendre en considération.....	49
I.4.	Les limites de notre étude .....	49
II.	Axe 2 : Discussion des résultats du criblage de la collection DIVERSITE .....	50
II.1.	Une fréquence élevée des hétérozygotes .....	50
II.1.1.	La mucoviscidose (CFTR).....	50
II.1.2.	Le syndrome Salt & Pepper (ST3GAL5).....	51
II.1.3.	Le syndrome RAVINE (SLC7A2) .....	51

II.1.4.	Le syndrome Larsen de La Réunion (B4GALT7) .....	52
II.1.5.	L'amyotrophie spinale infantile (SMN1) .....	52
II.2.	Les limites rencontrées .....	52
II.2.1.	Liées aux caractéristiques de la collection DIVERSITE .....	52
II.2.2.	Liées à la variabilité du nombre d'échantillons contributifs.....	53
II.2.3.	Liées aux techniques employées .....	53
II.2.3.1.	La PCR spécifique d'allèle pour l'haplotype lié au syndrome RAVINE.....	53
II.2.3.2.	La QFM PCR .....	53
II.2.4.	Liées à l'absence de détection d'hétérozygotes .....	54
CONCLUSION .....		54
ANNEXES .....		55
Annexe 1 : Exemples de panels pour le DPCG proposés aux couples par les institutions et laboratoires privés .....		55
Annexe 2 : Questionnaire.....		58
Annexe 3 : Profil de l'ensemble des personnes ayant répondu au questionnaire .....		68
Annexe 4 : Résultats du questionnaire : analyses en sous-groupes .....		69
REFERENCES.....		74

## SOMMAIRE DES FIGURES ET TABLEAUX

Figure 1 : Mode de transmission autosomique récessif (adapté de Jewish Genetic Disease Consortium).....	11
Figure 2 : L'effet fondateur à La Réunion .....	12
Tableau 1 : Pathologies et tests moléculaires en vue de l'instauration d'un DPCG au sein du laboratoire de Génétique Moléculaire du CHU Nord Réunion .....	19
Tableau 2 : Répartition des groupes ethniques dans la collection DIVERSITE .....	20
Tableau 3 : Profil des répondants au questionnaire en ligne .....	26
Tableau 4 : Caractéristiques générales du DPCG : Réponses des 137 participants.....	27
Tableau 5 : Choix des maladies à proposer en DPCG : Réponses des 137 participants.....	28
Tableau 6 : Distribution des effectifs des répondants selon leur antécédent de maladies génétiques dans l'entourage.....	29
Figure 4 : Réponses des individus demandeurs d'un DPCG sur leur motivation et les pathologies à tester.....	30
Tableau 7 : Distribution des effectifs des sous-groupes selon l'âge.....	33
Tableau 8 : Distribution des effectifs des sous-groupes selon le sexe .....	34
Tableau 9 : Distribution des effectifs des sous-groupes selon le niveau scolaire .....	34
Tableau 10 : Distribution des effectifs des sous-groupes selon le statut marital.....	35
Tableau 11 : Distribution des effectifs des sous-groupes selon la composition familiale.....	35

Tableau 12 : Distribution des effectifs des sous-groupes constitués selon la présence ou l'absence d'antécédent de maladie génétique dans l'entourage. ....	36
Figure 6 : Profil de détection fluorescente pour le locus du syndrome RAVINE .....	38
Figure 7 : Exemple de profil de détection d'un échantillon témoin hétérozygote pour la mutation p.Phe508del dans <i>CFTR</i> . ....	39
Figure 8 : Profil de détection et estimation du QD pour le criblage de l'exon 7 de <i>SMN1</i> .....	40
Tableau 13 : Résultats du génotypage de la collection DIVERSITE .....	41
Tableau 14 : Estimation de la fréquence des hétérozygotes dans la collection DIVERSITE. ....	42
Tableau 15 : Estimation de la fréquence observée des hétérozygotes à partir de nos données de criblage .....	43
Tableau 16 : Comparaison des fréquences attendue et observée des hétérozygotes pour la mucoviscidose et le syndrome Larsen de La Réunion dans le groupe Créole Blanc .....	43

## ABREVIATIONS

ACMGG : American College of Medical Genetics and Genomics

ACOG : American College of Obstetricians and Gynecologists

ASI : Amyotrophie Spinale Infantile

ADN : Acide DésoxyriboNucléique

*B4GALT7* : Beta-1,4-GalactosylTransferase 7

CCNE : Comité Consultatif National d’Ethique

CFTR : Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator

CRB : Centre de Ressources Biologiques

DPCG : Dépistage Préconceptionnel Génétique

DPI : Diagnostic PréImplantatoire

DPN : Diagnostic PréNatal

ESHG : European Society of Human Genetics

F : Forward

*MAN2B1* : Mannosidase, Alpha, Class 2B, Member 1

*MARS* : Methionyl-tRNA Synthetase

PMA : Procréation Médicalement Assistée

PCR : Polymerase Chain Reaction

qPCR : quantitative Polymerase Chain Reaction

NGS : Next Generation Sequencing

R : Reverse

*SLC7A2* : Solute Carrier Family 7, Member 2

*SMN1* : Survival of Motor Neuron 1

SNP : Single Nucleotide Polymorphism

*ST3GAL5* : ST3 Beta-Galactoside Alpha-2,3-Sialyl Transferase 5

WT : Wild -Type

## GLOSSAIRE

Allèle morbide : Allèle porteur d'une mutation à l'origine d'un phénotype pathologique.

Amplicon : Produit résultant d'une réaction de PCR.

Cycle seuil (C<sub>T</sub>) : Correspond au nombre de cycles de PCR à partir duquel la détection des produits de PCR amplifiés est possible.

Exon : Les gènes sont pour la plupart composés d'exons et d'introns. Les exons sont les parties transcrites d'un gène à l'origine de la production d'un ARN.

Haplotype : Combinaison d'allèles contigus sur un même chromosome généralement transmis ensemble.

Loi d'Hardy-Weinberg : Loi statistique de génétique des populations qui permet dans une population avec une fréquence allélique stable de déterminer les fréquences alléliques et génotypiques.

Par exemple, pour une pathologie autosomique récessive génétique donnée, elle relie les fréquences des allèles normal  $p$  et morbide  $q$  dans une population cible par la formule suivante :

$$p^2 + 2pq + q^2 = 1 \qquad \text{avec } p + q = 1$$

Où  $p^2$  est la fréquence des individus homozygotes pour l'allèle normal (individus indemnes)

$2pq$  est la fréquence des individus hétérozygotes, porteurs d'un allèle normal et d'un allèle morbide

$q^2$  est la fréquence des individus homozygotes pour l'allèle morbide (individus malades)

Mutation *de novo* ou néomutation : Variation pathogène apparue chez le cas index, non retrouvée chez ses parents

Ségrégation de deux variants en *cis* : Les deux variants d'intérêt sont sur le même chromosome et transmis ensemble à la descendance.



## **INTRODUCTION**

L'essor des nouvelles technologies de génétique moléculaire a contribué au développement des pratiques de dépistage et diagnostic des anomalies génétiques en pratique quotidienne, notamment en prénatal. Le Dépistage PréConceptionnel Génétique (DPCG) est une procédure destinée à déterminer, à l'occasion d'un projet parental d'un couple en âge de procréer, le statut génotypique de chacun des membres, afin d'estimer leur risque de transmission de certaines pathologies génétiques à leur descendance.

Non autorisé en France, ce type de démarche est pratiquée dans d'autres pays ; une évolution de la législation pourrait autoriser le DPCG en France selon certaines modalités spécifiques et notamment pour des maladies génétiques de transmission autosomique récessive d'une particulière gravité.

Des études pilotes préalables sont nécessaires afin d'argumenter le déploiement d'un tel dépistage sur le territoire. C'est le sens de ce travail, qui s'inscrit dans une double approche : clinique avec l'étude de la perception du DPCG au sein de la population Réunionnaise *via* la conception, la diffusion et l'analyse d'un sondage d'opinion, et biologique avec la mise au point d'un test ciblé pour les mutations récurrentes Réunionnaises après confirmation de leur fréquence significative dans la population d'intérêt.

## **ETAT DE L'ART**

### **I. Définitions**

#### **I.1. Notions de génétique fondamentale**

- Génotype/phénotype

Les cellules nucléées de l'organisme contiennent l'ensemble du patrimoine génétique d'un individu porté par 46 chromosomes. Les chromosomes sont constitués de la molécule d'ADN, support des gènes. Chaque gène est présent sous deux versions, les allèles, l'un hérité du père, l'autre de la mère. Un individu présentant deux allèles identiques est homozygote ; si les deux allèles sont différents, le sujet est hétérozygote.

Le phénotype rend compte de l'expression clinique de ce patrimoine génétique ; il correspond aux caractéristiques observables, tant physiologiques que pathologiques.

- Mutation/variant/variation

Les gènes sont constitués d'une succession de nucléotides qui associent à une chaîne pentose phosphate une des quatre bases azotées suivantes : Adénine (A), Guanine (G), Cytosine (C) ou Thymine (T). L'enchaînement de ces bases forme la séquence nucléotidique. La séquence varie d'un individu à l'autre, en moyenne toutes les mille bases, par changement d'un ou plusieurs nucléotides. La plupart de ces variations sont sans conséquence phénotypique et sont qualifiées de polymorphisme. Les plus fréquents, les Single Nucleotide Polymorphism (SNP) consistent en la modification d'un seul nucléotide. D'autres variations peuvent être à l'origine de maladie : il s'agit alors de mutations ou variants/variations pathogènes. Une mutation récurrente est une variation fréquente qui concerne le même nucléotide et qui est à l'origine d'un phénotype pathologique.

- Maladie monogénique et mode de transmission

Une maladie monogénique est liée à l'altération d'un seul gène responsable de l'ensemble du tableau phénotypique.

Une maladie monogénique peut être autosomique si le gène responsable est localisé sur un chromosome non sexuel, ou liée au chromosome X si le gène causal se situe sur le chromosome X.

Une maladie monogénique peut être causée par la mutation d'un seul allèle dans le cas d'une maladie dominante ou des deux allèles en cas de maladie autosomique récessive.

Dans le cas des maladies autosomiques récessives, si les deux allèles portent la même mutation, l'individu malade est homozygote ; si chaque allèle porte une mutation différente, l'individu malade est hétérozygote composite. Les parents d'un individu atteint sont habituellement hétérozygotes pour la ou les mutation(s) retrouvée(s) dans leur descendance : ils sont porteurs sains ou porteurs hétérozygotes. Lors de la transmission de l'information génétique à leur descendance, chaque parent hétérozygote transmet la moitié de son patrimoine génétique, c'est-à-dire soit l'allèle

sain, soit l'allèle muté. La probabilité pour un couple dont les deux membres sont hétérozygotes d'avoir un enfant atteint est de 25% pour chaque grossesse.

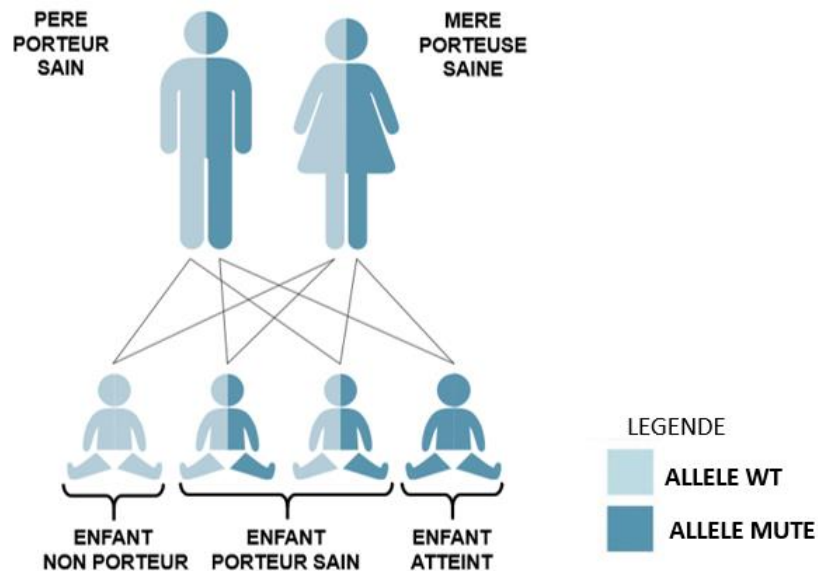


Figure 1 : Mode de transmission autosomique récessif (adapté de Jewish Genetic Disease Consortium)

### **I.2. La situation particulière de La Réunion**

Le peuplement de l'île de La Réunion débute par l'arrivée en nombre limité des premiers colons originaires de France continentale. La Réunion étant un isolat géographique, le brassage génétique a été limité initialement, à l'origine d'un effet fondateur. L'effet fondateur, phénomène décrit en génétique des populations, suit le processus chronologique suivant (Figure 2) : une fraction d'individus issue d'une population source, dans laquelle ségrège un variant pathogène hétérozygote, migre vers un nouveau site géographique. Ces individus se reproduisent entre eux et au fil des générations, le variant morbide se fixe dans la population : plusieurs sujets de la population finale sont porteurs hétérozygotes du variant pathogène (dérive génétique). La prévalence de la maladie autosomique récessive dans la population augmente alors avec le nombre de porteurs sains.

A la Réunion, le mode de vie en îlets, en limitant le brassage des individus, a conduit à augmenter la fréquence des sujets hétérozygotes au sein de secteurs géographiques restreints, et ainsi à augmenter l'incidence de certaines maladies autosomiques récessives. Avec les différentes vagues ultérieures d'immigration, la mixité génétique s'est accrue, «diluant» l'effet fondateur et diminuant la fréquence des hétérozygotes dans l'ensemble de la population Réunionnaise.

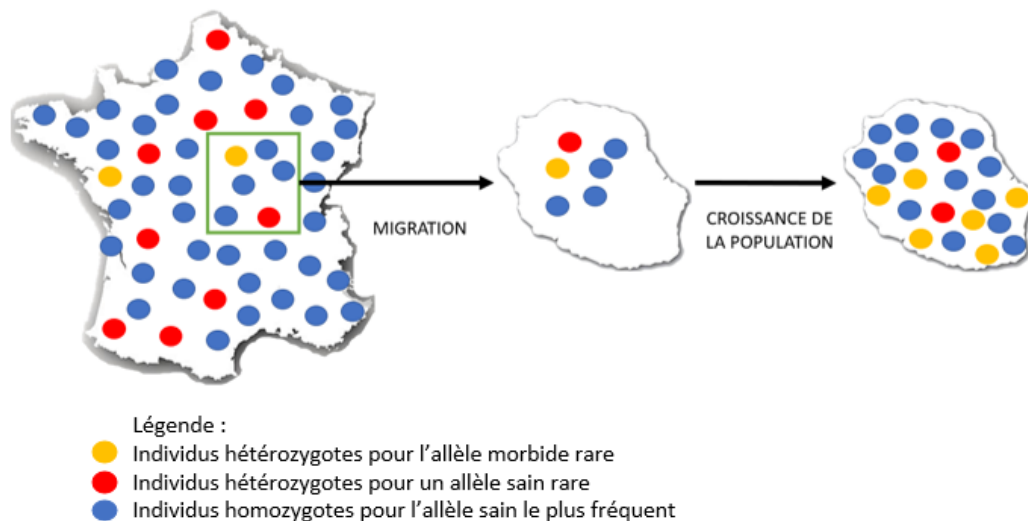


Figure 2 : L'effet fondateur à La Réunion

Légende : Les points représentent le génotype de chaque individu constituant les populations considérées : les points bleus correspondent aux individus porteurs de l'allèle le plus fréquent, les points rouges aux individus porteurs d'un allèle moins fréquent mais non pathogène et les points jaunes les sujets porteurs d'un allèle rare pathogène à l'état hétérozygote (porteurs sains). Le cadre vert englobe la population initiale arrivée sur l'île Bourbon (dénomination historique de La Réunion). Cette population va s'accroître au fil du temps : *via* un phénomène de dérive génétique, l'allèle pathologique se fixe dans la population finale et le nombre d'individus hétérozygotes augmente.

### **I.3. Le DPCG en population générale**

Le DPCG est une analyse moléculaire qui recherche, chez les membres d'un couple sains et demandeurs, avant une grossesse voire au début de celle-ci, la présence de variants connus, récurrents et pathogènes. Avec l'essor des techniques de génétique moléculaire et la diminution de leur coût, des laboratoires internationaux privés et publics sont de plus en plus nombreux à proposer des tests préconceptionnels basés sur l'analyse de panels de 41 à 1700 gènes (Annexe 1). Les maladies testées sur les panels disponibles actuellement sont majoritairement autosomiques récessives, beaucoup plus rarement autosomiques dominantes ou liées au chromosome X (1) (Annexe 1). Pour certaines maladies autosomiques récessives récurrentes, ce test est déployé dans la population d'une région géographique précise dans laquelle la

prévalence de la pathologie ou des porteurs sains de variants pathogènes est significative.

Si le DPCG est de plus en plus proposé en routine au niveau international, il n'en reste pas moins une analyse ciblée : un résultat favorable diminue fortement la probabilité de survenue dans la descendance. Néanmoins, un tel résultat ne permet pas d'exclure complètement la possibilité de survenue de la maladie, si celle-ci résulte de l'effet d'autres mutations que celle(s) recherchée(s) par le DPGC. De surcroît, nombre de maladies dominantes résultent de la survenue d'une mutation *de novo*, non accessible par le test.

## **II. Le DPCG en pratique en 2020**

Le DPCG a été proposé, dans un premier temps, dans les groupes populationnels à risque accru de transmettre une maladie génétique d'une particulière gravité. Historiquement, deux maladies autosomiques récessives ont fait l'objet d'un test préconceptionnel : la maladie de Tay-Sachs (MIM #272800) liée à un déficit en hexosaminidase A responsable d'une encéphalopathie létale dans les premières années de vie, et la  $\beta$ -thalassémie (MIM #613985) à l'origine, dans sa forme homozygote, d'une anémie majeure avec splénomégalie nécessitant des transfusions itératives responsables de complications sévères.

Les progrès techniques et la meilleure accessibilité des nouvelles techniques de séquençage ont permis d'élargir l'offre de dépistage à de nombreuses autres pathologies ; à ce jour, plusieurs pays inscrivent le DPCG dans leur parcours de soin en population générale.

### **II.1. Aux Etats-Unis**

Le DPCG est disponible depuis le début des années 1990. Concernant initialement la population Juive Ashkénaze avec le dépistage des hétérozygotes pour la maladie de Tay-Sachs, le test s'est élargi dans les années 2000 à la mucoviscidose avec l'analyse du gène *CFTR* chez les individus d'origine caucasienne dans les années 2000 (1). En 2013, avec l'augmentation exponentielle de l'offre de panels de Dépistage PréConceptionnel proposés par les laboratoires privés, l'American College of Genetics and Genomics (ACMG) émet des recommandations afin de privilégier 1 - les analyses

ciblées dans certains groupes populationnels, 2 - l'étude de variants pour lesquels une corrélation génotype-phénotype robuste est établie et 3 - le criblage de variants connus impliqués dans des pathologies sévères et précoces(2). En 2017, l'American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) publie des recommandations pour proposer à l'ensemble des femmes en âge de procréer et aux donneurs de gamètes, un DPCG ciblé sur l'analyse de mutations récurrentes impliquées dans l'amyotrophie spinale infantile, la mucoviscidose, le syndrome X-fragile, certaines hémoglobinopathies, et complété, dans la population Juive Ashkénaze, par la maladie de Tay-Sachs. Le DPCG doit être proposé systématiquement aux femmes enceintes ou en âge de procréer. La découverte d'un variant pathogène chez elle conduit à proposer le dépistage de son partenaire.

## **II.2. En Israël**

Le dépistage des hétérozygotes pour la  $\beta$ -thalassémie et la maladie de Tay-Sachs a débuté au début des années 1990, soutenu par une campagne de prévention de santé publique (3). Le dépistage s'est enrichi au cours des années 2000 avec le criblage des gènes *CFTR*, *SMN1* et *FMR1*. Le reste du panel regroupe des pathologies dont le dépistage est recommandé en fonction de l'origine géographique et ethnique des individus demandeurs de l'analyse. En 2013, l'Association of Israeli Medical Geneticists publie des recommandations indiquant le criblage de l'ensemble des pathologies dont la prévalence est de moins de 1/15 000 et/ou la fréquence des porteurs hétérozygotes est de 1/60 ou plus(4). En parallèle des sociétés savantes, plusieurs associations et autres structures proposent grâce à un partenariat avec des laboratoires privés le recours à la carte au DPCG pour les couples juifs (Annexe1).

## **II.3. En Europe**

En 2016, la Société Européenne de Génétique Humaine (ESHG) publie des recommandations concernant les modalités de mise en place du DPCG : le criblage préconceptionnel de pathologies génétiques doit idéalement concerner des maladies sévères de début pédiatrique en vue de la programmation autonome et éclairée de la grossesse d'un couple porteur. Les variants recherchés doivent avoir une physiopathologie connue et robuste. Le DPCG doit être une démarche volontaire de la part des membres d'un couple en âge de procréer. L'implémentation optimale du DPCG passe par la bonne formation des professionnels de santé proposant le test et l'information de la population générale vis-à-vis des pathologies ciblées(5).

Plusieurs États européens ont déjà débuté une démarche de dépistage préconceptionnel.

### ***II.3.1. En Sardaigne et à Chypre***

Le DPCG a débuté à Chypre en 1979 devant une incidence majeure de la  $\beta$ -thalassémie estimée à une naissance sur six, avec une prévalence des hétérozygotes alors de 16%(6). Le déploiement du DPC a permis la diminution effective de l'incidence de la maladie *via* la diminution du nombre des mariages entre porteurs sains et le recours à un DPN ciblé(3).

De manière similaire, le dépistage des hétérozygotes dans la population en Sardaigne au début des années 1980 a permis de faire chuter l'incidence de la  $\beta$ -thalassémie(7).

### ***II.3.2. En Espagne***

Le DPCG est proposé de manière systématique à tous les couples qui entament une démarche de PMA. Une stratégie portant sur l'analyse de plusieurs centaines de gènes est réalisée chez le donneur de gamètes puis l'un des membres du couple en cas de mutations identifiées. Les pathologies ciblées sont pour la plupart autosomiques récessives, mais des pathologies liées à l'X et autosomiques dominantes sont également testées(8).

### ***II.3.3. En France***

Actuellement, en France, le DPCG n'est proposé qu'en cas d'antécédents familiaux de maladie génétique ou de consanguinité identifiée entre les membres du couple. Néanmoins, une proportion importante de maladies autosomiques récessives survient dans des familles sans antécédent ni consanguinité connue : le diagnostic de la maladie chez un enfant constitue le premier événement dans la famille, conduisant à l'établissement du statut de porteur hétérozygote chez les parents, qui se verront alors proposer, dans un second temps et pour une prochaine grossesse, un éventuel diagnostic prénatal (DPN) ou préimplantatoire (DPI).

En septembre 2019, le Comité Consultatif National d'Éthique (CCNE) a rendu un avis favorable à l'ouverture du DPCG aux couples demandeurs sans antécédent ni lien de parenté ayant un projet de grossesse. Les indications proposées recourent celles du DPN ou du DPI, à savoir des pathologies graves sans traitement curatif au moment du diagnostic. Préalablement, au déploiement du DPCG en population générale, le CCNE propose la conduite d'études afin de déterminer la prévalence des porteurs

hétérozygotes pour des maladies autosomiques récessives d'intérêt dans la population française.

Notre travail s'inscrit dans cette démarche et s'articule en deux parties. Un premier axe d'étude recueille l'avis d'un échantillon de 137 individus sur l'intérêt de la mise en place du DPCG sur l'île de La Réunion. Le deuxième axe repose sur l'instauration, au sein du service de Génétique du CHU, d'un criblage génétique de plusieurs mutations ponctuelles impliquées dans des maladies autosomiques récessives fréquentes dans la population réunionnaise voire spécifiques de celle-ci. Ces analyses ont été réalisées sur une collection d'ADN issu d'individus réunionnais afin d'estimer la fréquence des individus hétérozygotes.



## **MATERIEL ET METHODES**

### **I. Axe I : Sondage d'opinion vis-à-vis du DPC auprès d'un échantillon de la population réunionnaise**

#### **I.1. La population cible**

Le questionnaire en libre accès sur internet s'adresse à l'ensemble de la population réunionnaise. Les sujets répondants sont majeurs et volontaires.

#### **I.2. Réalisation, diffusion et analyse du questionnaire**

Ce questionnaire, visant à caractériser le profil des répondants et recueillir leur opinion sur le DPCG, a été élaboré à la suite d'une revue de la littérature des questionnaires produits par plusieurs équipes réalisant le DPCG(9),

Ce questionnaire comporte 22 questions réparties en (Annexe 2):

- 7 questions concernant les caractéristiques personnelles (âge, sexe, origine géographique, niveau scolaire, activité professionnelle, statut marital, avec/sans enfant)
- 10 questions générales sur l'intérêt du DPCG
- 5 questions ciblées étudiant la position personnelle du répondant si un DPCG ciblé devenait accessible à La Réunion

Le questionnaire a été diffusé par l'intermédiaire d'un réseau social (Facebook) via l'application GoogleForm et distribué sous format papier aux patients et leurs apparentés qui ont consulté au sein du service de Génétique Médicale du CHU Nord de La Réunion entre janvier et avril 2020. Les réponses sous format papier ont été saisies manuellement sur le formulaire en ligne.

L'analyse des données a été conduite sur l'ensemble des questionnaires remplis en totalité. Après un premier temps d'analyse globale des données, les sondés ont été répartis en plusieurs sous-groupes constitués selon l'âge (inférieur ou égal à 40 ans contre supérieur ou égal à 41 ans), le sexe, le niveau scolaire (niveau BAC et inférieur contre formation universitaire), le statut marital (en couple ou non) et la composition familiale (avec ou sans enfant). Ont été exclus de l'analyse les Français métropolitains et les sujets mineurs.

## **II. Axe 2 : Choix des pathologies, mises au point techniques de criblage des mutations d'intérêt**

### **II.1. Les pathologies d'intérêt et mutations testées**

Onze pathologies ont été retenues : il s'agit de maladies spécifiques de La Réunion et/ou causées par des mutations récurrentes dans la population française et/ou réunionnaise : le syndrome RAVINE, la protéinose alvéolaire pulmonaire, le syndrome Larsen de La Réunion, le syndrome Salt & Pepper, la mucoviscidose, l'alpha-mannosidose, la leucodystrophie métachromatique, le syndrome de Cockayne, l'amyotrophie spinale infantile, le syndrome de Fryns et l'hyperplasie congénitale des surrénales. Les 10 premières sont des pathologies graves de survenue pédiatrique déterminées par des mutations récurrentes accessibles aux DPN ou DPI. (Tableau 1)

L'hyperplasie congénitale des surrénales est une pathologie liée un bloc enzymatique responsable d'une insuffisance surrénalienne et d'une déviation de la voie métabolique responsable d'une production anormalement élevée d'androgènes surrénaliens à l'origine d'une virilisation des organes génitaux externes des fœtus de constitution chromosomique XX : celle-ci peut être prévenue par l'instauration d'une corticothérapie maternelle dès le premier trimestre de grossesse, ce qui, en pratique, ne peut être anticipé et mis en place qu'en cas d'antécédent d'un premier enfant atteint.

**Tableau 1 : Pathologies et tests moléculaires en vue de l'instauration d'un DPCG au sein du laboratoire de Génétique Moléculaire du CHU Nord Réunion**

Pathologie	Gène (Transcrit)	Mutations récurrentes	Technique de génotypage	Support d'analyse
Syndrome Larsen de La Réunion	<i>B4GALT7</i> (NM_007255.2)	c.808C>T	Génotypage TaqMan	QuantStudio3 ThermoFisher
Protéinose alvéolaire Pulmonaire	<i>MARS</i> (NM_004990.3)	c.1177G>A c.1700C>T	Génotypage TaqMan	QuantStudio3 ThermoFisher
Syndrome RAVINE	<i>SLC7A2</i> (NM_001008539.3)	c.23+3307A>G	PCR fluorescente spécifique d'allèle	ABI Prism 3130 XL ThermoFisher
Mucoviscidose	<i>CFTR</i> (NM_000492.3)	p.Phe508del c.366T>A c.2988+1G>A c.1624G>T del17a-18	PCR fluorescente spécifique d'allèle	ABI Prism 3130 XL ThermoFisher
Syndrome Salt and Pepper	<i>ST3GAL5</i> (NM_003896.3)	c.740G>A	PCR fluorescente spécifique d'allèle	ABI Prism 3130 XL ThermoFisher
Alpha-mannosidose	<i>MAN2B1</i> (NM_000528.3)	c.2165+1G>A	PCR fluorescente spécifique d'allèle	ABI Prism 3130 XL ThermoFisher
Amyotrophie Spinale Infantile	<i>SMN1</i> (NM_000344.3)	Délétion de l'exon 7	QFM-PCR	ABI Prism 3130 XL ThermoFisher

## II.2. La population étudiée : la collection DIVERSITE

Nous avons utilisé une collection préexistante d'échantillons d'ADN conservée au CRB du CHU de La Réunion. Ces échantillons, collectés entre 2005 et 2008 par écouvillonnage jugal auprès de 587 volontaires masculins sains, sont répartis en 7 groupes ethniques (Tableau 2). Ces groupes ont été constitués à l'aide de formulaires standardisés remplis par les volontaires au moment de l'inclusion : ils font état de leur origine géographique sur trois générations et leur ressenti personnel vis-à-vis de leur appartenance ethnique. Tous les volontaires ont signé un consentement éclairé pour les analyses génétiques, en accord avec la loi de bioéthique.

Tableau 2 : Répartition des groupes ethniques dans la collection DIVERSITE

Groupes ethniques	Nombre d'échantillons	Proportion (%)
Créoles Blancs	80	13,6
Créoles Métisses	92	15,7
Cafres	86	14,6
Indiens tamouls	63	10,7
Indiens musulmans	28	4,8
Chinois	41	7
Réunionnais	197	33,6

Légende : Les Réunionnais sont les individus d'ascendants créoles et n'ayant pas rapporté d'attachement particulier à une ethnie.

Cette collection réunit l'ensemble des groupes ethniques ayant migré et peuplé l'île de La Réunion et apparaît donc représentative de sa population. Les résultats de génotypage pour chaque individu ont été confrontés à son appartenance ethnique lors de l'interprétation des analyses afin de mettre en évidence un possible effet fondateur.

### **II.3. Extraction de l'ADN et amplification génomique**

L'ADN des échantillons a été extrait à partir des cellules nucléées endobuccales grâce au kit QIAamp DNA Mini (Valencia, CA, Etats-Unis). La rentabilité de l'extraction d'ADN génomique à partir des cellules buccales est aléatoire. Aussi avons-nous réalisé une amplification génomique grâce au kit Illustra™ Ready-To-Go™ GenomiPhi™ V3 DNA Amplification (GE Healthcare) afin d'optimiser la concentration initiale de nos échantillons. Ces concentrations ont été estimées par PCR quantitative en temps réel (QuantStudio, ThermoFisher Scientific) avec une amorce spécifique de *VPS37A* et un fluorochrome SYBR Green. A l'aide d'une gamme étalon d'ADN témoin (100ng/μl, 10ng/μl, 1ng/μl et 0.1ng/μl), nous avons estimé une courbe standard en tenant compte de l'efficacité de la PCR et du cycle seuil  $C_T$ . Devant l'efficacité médiocre de la PCR lors de nos premiers essais et de profils d'amplification compatibles avec la présence d'inhibiteurs de PCR dans le milieu réactif, nos échantillons ont été dilués à 1/100 pour réaliser l'ensemble de notre criblage.

### **II.4. Méthodes de génotypage**

Les variants impliqués dans le syndrome RAVINE, la mucoviscidose, le syndrome Salt & Pepper et l'alpha-mannosidose ont été analysés grâce à une PCR spécifique d'allèle

à détection fluorescente. Le profil de fluorescence des amplicons obtenus a été analysé sur le ABI PRISM 3130XL Genetic Analyzer (Applied Biosystems). Les résultats ont été visualisés et interprétés sur le logiciel GeneMapper (Applied Biosystems).

Les variants pathogènes du syndrome de Larsen de La Réunion et de la protéinose alvéolaire pulmonaire ont été identifiés grâce à la technologie TaqMan.

#### ***II.4.1. La PCR spécifique d'allèle à détection fluorescente***

Elle est basée sur une technique de PCR multiplex (QIAGEN Multiplex PCR Kit) : plusieurs trios d'amorces sont poolés ensemble. Chaque trio est composé de 2 amorces F (une spécifique de la séquence WT, l'autre de la séquence avec le variant recherché) et d'une amorce R. Pour optimiser la spécificité d'hybridation de la PCR, un mésappariement a été inséré quatre bases en amont de l'extrémité 3' de chaque amorce F. Le génotype est alors déterminé par analyse de fragments : chaque trio d'amorces produit deux amplicons de tailles différentes. La différence de longueur entre les amplicons issus de l'allèle WT et l'allèle muté permet leur discrimination : l'amorce spécifique de la séquence mutée contient 4 bases supplémentaires que son homologue WT. L'amplicon contenant la variation recherchée sera donc plus long de 4 bases. Les amplicons ont été marqués par des fluorochromes (FAM, HEX, NED) couplés à des amorces universelles (InvitroGen) décrits précédemment dans la littérature (10) et la détection de fluorescence a été réalisée par analyse de fragments.

##### ***II.4.1.1. L'identification de l'haplotype associé au syndrome RAVINE***

L'analyse du locus du syndrome RAVINE a été possible grâce à la détection de la mutation connue dans le gène *SLC7A2* (c.-23+3307A>G ou SNP174) et celle d'un autre SNP connu pour ségréger avec le locus morbide (rs13256875 du gène *VPS37*, plus loin noté *VPS37A*) associée à l'analyse de microsatellites. Trois sets d'amorces ont été utilisés pour cette multiplex : trois couples spécifiques de trois microsatellites détectés en fluorescence bleue (FAM), trois couples de trois autres microsatellites visualisés en fluorescence verte (HEX) et deux couples spécifiques de variants ponctuels SNP174 et *VPS37A* en fluorescence noire (NED). Un statut hétérozygote pour l'haplotype est défini par la présence d'au moins deux microsatellites interprétables dans chaque fluorescence et un SNP hétérozygote. Les échantillons

sont considérés comme négatifs si trois microsatellites sont interprétables ou plus dont au moins un est en dehors de la région d'intérêt.

#### **II.4.1.2. Le criblage de la mucoviscidose, du syndrome Salt & Pepper et de l'alpha-mannosidose**

Cinq variants pathogènes récurrents dans *CFTR* ( $\Delta F508$ , (aussi connue sous l'annotation p.Phe508del), c.366T>A, c.2988+1G>A, c.1624G>T, del17a-18)), un variant dans *ST3GAL5* (c.740G>A) et un dans *MAN2B1* (c.2165+1G>A) ont été étudiés. La technique de PCR et la détection fluorescente sont les mêmes que celles utilisées pour le criblage de l'haplotype du syndrome RAVINE. Les échantillons sont interprétés comme hétérozygotes lors de la détection de deux pics fluorescents séparés de 4 bases.

#### **II.4.2. La technologie TaqMan®: kit Custom TaqMan® Genotyping (ThermoFisher Scientific)**

Les variants impliqués dans la protéinose alvéolaire pulmonaire ont été criblés grâce à la technologie TaqMan avec des amorces spécifiques du gène *MARS*(11).

Cette technologie repose sur une technique de PCR. Deux sondes permettent le génotypage : la première contient la variation d'intérêt couplée à un fluorochrome VIC, la seconde comprend le nucléotide WT et est couplée à un fluorochrome FAM. L'activité exonucléasique de la Taq polymérase, moteur de la réaction de PCR, permet la lyse de la sonde hybridée sur notre séquence d'intérêt. La lyse de la sonde permet de libérer le fluorochrome de son quencher (inhibiteur) et entraîne ainsi l'émission d'une fluorescence. Chaque analyse est normalisée grâce à des contrôles : homozygote WT, hétérozygote, homozygote muté. La fluorescence est mesurée avant chaque nouveau cycle de PCR (pré-PCR), à la fin du cycle (temps réel) et à la fin de l'ensemble des cycles (post-PCR). L'analyse en point final est visualisée sur le logiciel du Quant Studio Software (ThermoFisher Scientific) et modélisée comme un nuage de points avec 3 groupes de fluorescence : WT (bleu), homozygote muté (rouge), hétérozygote (vert).

Dans la littérature, il est rapporté que deux variants ségrégant en *cis* sont à l'origine de la maladie(12). Par conséquent, nous avons choisi d'analyser le variant le plus facilement amplifiable (c.1177G>A) dans notre stratégie de criblage.

La même technique a été utilisée pour le criblage du variant c.808C>T dans *B4GALT7* impliqué dans le syndrome Larsen de La Réunion.

#### **II.4.3. La PCR semi-quantitative : la QFM-PCR (Quantitative Fluorescent Multiplex-PCR)**

Nous avons tenté de mettre au point une méthode semi-quantitative afin d'estimer le nombre de copies de l'exon 7 dans le gène *SMN1*, responsable de l'amyotrophie spinale infantile(13). Cette technique repose sur le criblage de plusieurs amplicons chez le sujet à tester et un sujet contrôle. Un premier amplicon se trouve dans la région critique où est présente la délétion pathogène, deux autres amplicons servent de contrôle et se situent sur deux régions conservées et différentes du génome. Les amplicons que nous avons utilisés sont spécifiques de l'exon 7 du gène *SMN1*, de l'exon 11 du gène *ERCC6* (autosomique) et du gène *AMELX* (chromosome X). Les amplicons sont marqués par un même fluorochrome (FAM) et la détection de la fluorescence est réalisé par analyse de fragments (GeneMapper, ABI PRISM 3130XL Genetic Analyzer).

La hauteur du pic de l'amplicon d'intérêt est rapportée à celle de l'amplicon contrôle chez le sujet à tester. Ce ratio est normalisé par la même démarche sur l'ADN d'un sujet contrôle pour obtenir une valeur appelée QD (Quotient Dosage). Par exemple, pour nos manipulations, nous avons calculer notre QD comme suit :

$$QD = \frac{\left( \frac{\text{Hauteur du pic de l'exon 7 de SMN1}}{\text{Hauteur du pic de l'exon 11 d'ERCC6}} \right)_{ADN \text{ sujet à tester}}}{\left( \frac{\text{Hauteur du pic de l'exon 7 de SMN1}}{\text{Hauteur du pic de l'exon 11 d'ERCC6}} \right)_{ADN \text{ contrôle}}}$$

Chez un individu homozygote non muté, le QD est égal à 1 (2 copies du gène d'intérêt). Un individu hétérozygote pour la délétion a un QD à 0,5 (1 copie du gène d'intérêt) et un patient homozygote muté a un QD nul (0 copie du gène d'intérêt).

### **III. Analyses statistiques et calculs appliqués à nos données**

#### **III.1. Analyses statistiques du questionnaire**

Concernant les réponses au questionnaire, nous avons utilisé une analyse bivariée afin d'identifier des différences significatives entre les sous-groupes, ceci pour déterminer leur possible comparabilité.

Les variables qualitatives sont exprimées en termes de fréquence, de pourcentages et d'intervalle de confiance à 95%. Les variables quantitatives ont été exprimées en termes de moyenne et d'écart type à la moyenne. Les comparaisons bivariées de données quantitatives ont été effectuées à l'aide du test de Mann et Whitney ou test t de Student, après vérification des conditions d'application. Les comparaisons bivariées de pourcentages ont été effectuées par les tests du Chi2 de Pearson et du test exact de Fisher selon les conditions d'applications. Les Odds Ratios et leurs intervalles de confiance à 95% ont été estimés. Toutes les hypothèses ont été testées au risque alpha de 0.05. L'analyse des données a été effectuée à l'aide du logiciel SAS 9.4 (SAS Institute Inc, Cary NC

### **III.2. Calcul de la fréquence observée des hétérozygotes et comparaison aux données de la littérature**

Pour chaque pathologie étudiée, nous avons calculé la fréquence des hétérozygotes observée à partir de nos données. Parallèlement, nous avons estimé ces mêmes fréquences à partir des chiffres publiés dans la littérature (« fréquences attendues des hétérozygotes »).

Pour ce faire, nous nous sommes basés sur les chiffres d'incidence, de prévalence ou de fréquence allélique précédemment décrites. En appliquant la loi d'Hardy-Weinberg, la fréquence des hétérozygotes est estimée par la formule suivante :

$$f = 2pq$$

Où  $f$  est la fréquence des hétérozygotes,  $p$  la fréquence de l'allèle WT et  $q$  la fréquence de l'allèle morbide.

Un test de conformité a été réalisé pour comparer fréquences attendues et fréquences observées.



## **RESULTATS**

### **I. Axe 1 : Résultats du sondage d'opinion**

#### **I.1. La population répondante (Tableau 3)**

164 individus ont répondu au questionnaire en ligne : 27 personnes d'origine métropolitaine ont été exclues de l'analyse. L'âge moyen des 137 individus réunionnais est de 35,2 ans : 101/137 ont 40 ans ou moins (74%). 99/137 répondants sont des femmes (72%), 98/137 ont un niveau licence ou plus (71%), 92/137 individus sont en couple (62%) et 63/137 ont eu des enfants (46%).

**Tableau 3 : Profil des répondants au questionnaire en ligne**

Caractéristiques		Nombre de répondants (n)	Pourcentage par rapport à l'ensemble de l'échantillon (%)
Âge	Moyen	35,2	
	Inférieur ou égal à 40 ans	101	74
	Supérieur à 40 ans	36	26
	Extrêmes	18	
		73	
Sexe	Femme	99	72
	Homme	38	28
Niveau de scolarité	Secondaire	3	2
	BAC	29	21
	CAP/BEP	7	5
	Licence	41	30
	Master et +	57	42
Profession	Agriculteur	1	1
	Autre	28	20
	Cadre	19	14
	Chef d'entreprise	4	3
	Employé artisan/commerçant	16	12
	Etudiant	33	24
	Professionnel de Santé	26	19
	Sans activité professionnelle	10	7
Statut marital	En couple	92	67
	Sans partenaire	45	33
Ayant eu des enfants	Oui	63	46
	Non	74	54

## **I.2. Réponses au questionnaire : Analyse globale**

### ***I.2.1. Perception du DPCG***

Le Tableau 4 reprend les items de chaque question et fournit l'effectif de répondants par possibilité de réponse.

129 des 137 répondants se déclarent favorables à la proposition d'un DPCG pour les couples ayant un projet de grossesse (94%). Si ce DPCG est réalisé, 107 sur 137 sont favorables à un criblage large de toutes les maladies génétiques (78%). La majorité des sondés estiment que le DPCG ne doit pas être limité aux maladies génétiques fréquentes (n = 81/137 ; 59%) ou aux seules maladies génétiques sévères (n = 92/137 ; 67%) ou celles de survenue pédiatrique (n = 106/137 ; 77%). 70/137 individus considèrent « irresponsable pour les futurs parents de ne pas réaliser de DPC » (51%). 93/137 participants ne perçoivent pas le DPCG comme un moyen de dépistage intrusif dans la vie des couples (67%).

**Tableau 4 : Caractéristiques générales du DPCG : Réponses des 137 participants**

Intitulé	Pas d'accord		Ni d'accord ni pas d'accord		D'accord	
	n	%	n	%	n	%
Tous les couples ayant un projet de grossesse doivent réaliser un DPC.	31	22,6	39	28,5	67	48,9
Un couple ayant un projet de grossesse doit pouvoir réaliser un DPC, s'il le souhaite.	5	3,6	3	2,2	129	94,2
Si possible, le DPC doit pouvoir rechercher toutes les maladies génétiques.	9	6,6	21	15,3	107	78,1
Le DPC doit être réservé seulement aux maladies géniques fréquentes.	81	59,1	20	14,6	36	26,3
Le DPC doit être réservé seulement aux maladies géniques graves.	92	67,1	22	16,1	23	16,8
Le DPC doit être réservé seulement aux maladies géniques survenant chez l'enfant.	106	77,4	16	11,7	15	10,9
Il est irresponsable pour les futurs parents de ne pas réaliser de DPC.	70	51,1	36	26,3	31	22,6
Le DPC entraîne une plus grande anxiété pendant la grossesse chez les couples qui en ont bénéficié.	36	26,3	65	47,4	36	26,3
Le DPC est une intrusion dans la vie des couples et reflète une surmédicalisation du monde d'aujourd'hui.	93	67,9	31	22,6	13	9,5

Nous avons ensuite interrogé les participants sur le type de pathologies qu'ils trouveraient nécessaires de dépister si un dépistage global était possible (Tableau 5). Plus de 70% des répondants considèrent que le DPCG doit être ouvert à la déficience intellectuelle (n = 103/137 ; 75%), la cécité (n = 103/137 ; 75%), le nanisme (n = 96/137 ; 70%), la surdité (n = 98/137 ; 71%), la drépanocytose (n = 118/137 ; 86%) et la démence de type maladie de Huntington (n = 118/137 ; 86%). L'obésité génétique et la prédisposition au cancer du sein sont moins plébiscitées avec respectivement 56% (n = 77/137) et 67% (n = 92/137) des répondants favorables à l'application du DPCG.

**Tableau 5 : Choix des maladies à proposer en DPCG : Réponses des 137 participants**

Si les progrès technologiques le permettaient, pensez-vous qu'un DPC devrait être mis en place dans les groupes de maladies suivantes d'origine génétique ?	Oui		Non		Ne se prononce pas	
	n	%	n	%	n	%
La déficience intellectuelle	103	75,2	11	8,0	23	16,8
La cécité (malvoyance)	103	75,2	15	10,9	19	13,9
Le nanisme	96	70,1	14	10,2	27	19,7
La surdité	98	71,5	19	13,9	20	14,6
La drépanocytose	118	86,1	10	7,3	9	6,6
L'obésité génétique	77	56,2	39	28,5	21	15,3
La prédisposition génétique au cancer du sein	92	67,1	29	21,2	16	11,7
La maladie de Huntington	118	86,1	9	6,6	10	7,3

### **I.2.2. Intérêt du DPCG en population réunionnaise et perception individuelle**

27 des 137 individus (19,7%) de notre cohorte rapportent avoir dans leur entourage une personne atteinte d'une des 11 pathologies réunionnaises ciblée par le DPCG.

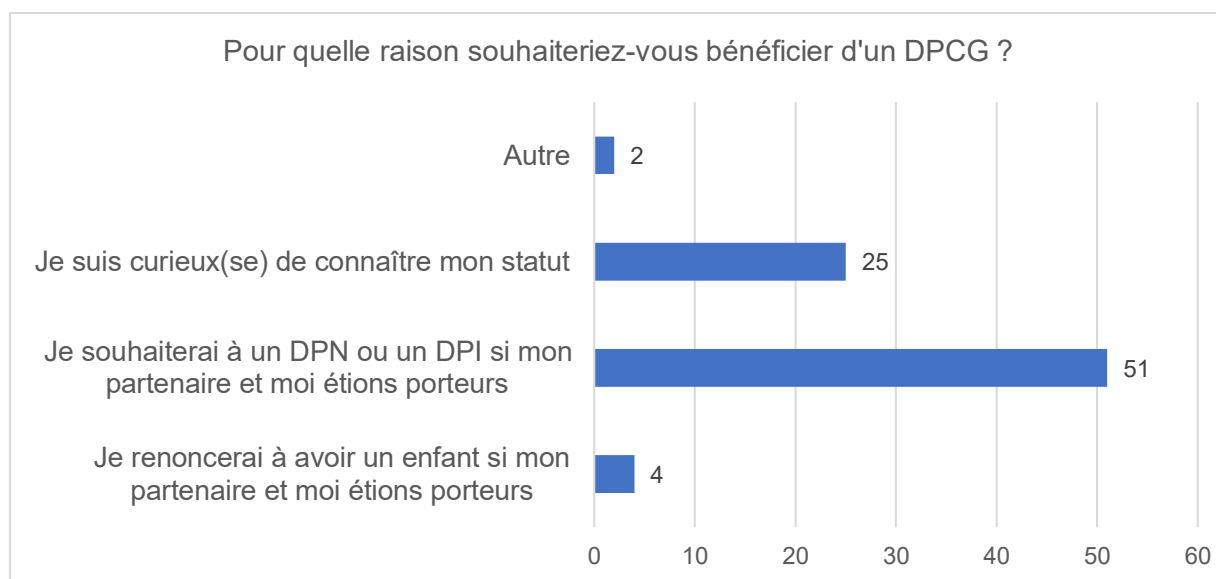
Tableau 6 : Distribution des effectifs des répondants selon leur antécédent de maladies génétiques dans l'entourage.

	Oui		Non	
	n	%	n	%
Connaissez-vous dans votre entourage quelqu'un souffrant d'une des maladies citées ci-dessus ?	27	19,7	110	80,3

### ***1.2.2.1. Les répondants intéressés par le DPCG à titre personnel***

82 participants sur 137 (60%) déclarent vouloir réaliser à titre personnel le test proposé pour les 11 pathologies d'intérêt : 4/82 personnes (4,89%) renonceraient à avoir un enfant si les deux membres de leur couple étaient porteurs hétérozygotes ; 51/82 (62,2%) souhaiteraient le DPCG afin de programmer un DPN ou un DPI pour une grossesse ultérieure ; 25/82 (30,5%) individus se déclarent curieux de connaître leur statut génotypique.

Environ 90% des répondants sont favorables à l'instauration d'un DPCG pour l'ensemble des 11 pathologies présentées. 1 sujet s'oppose au criblage de la mucoviscidose et de l'amyotrophie spinale (1%). Les 2 derniers répondants souhaitent recourir au DPCG pour les motifs suivants (classé dans la catégorie Autre (Figure 4)) : « J'aviserais en fonction de la pathologie présente chez mon enfant et de sa gravité » et « Je souhaite pouvoir être préparer mentalement à une éventualité de maladie ».



Pour quelle pathologie souhaiteriez-vous bénéficier d'une DPCG ?	Oui		Non		Ne se prononce pas	
	n	%	n	%	n	%
Le syndrome RAVINE	76	92,7	0		6	7,3
Le syndrome de Larsen Réunionnais	77	93,9	0		5	6,1
La mucoviscidose	78	95,1	1	1,2	3	3,7
La protéinose alvéolaire pulmonaire	77	93,9	0		5	6,1
Le syndrome Salt & Pepper	75	91,5	0		7	8,5
Le syndrome de Fryns	75	91,5	0		7	8,5
Le syndrome de Cockayne	73	89	0		9	11
L'amyotrophie spinale infantile	76	92,7	1	1,2	5	6,1
La leucodystrophie métachromatique	76	92,7	0		6	7,3
L'alpha-mannosidose	74	90,2	0		8	9,8
L'hyperplasie congénitale des surrénales	76	92,7	0		6	7,3

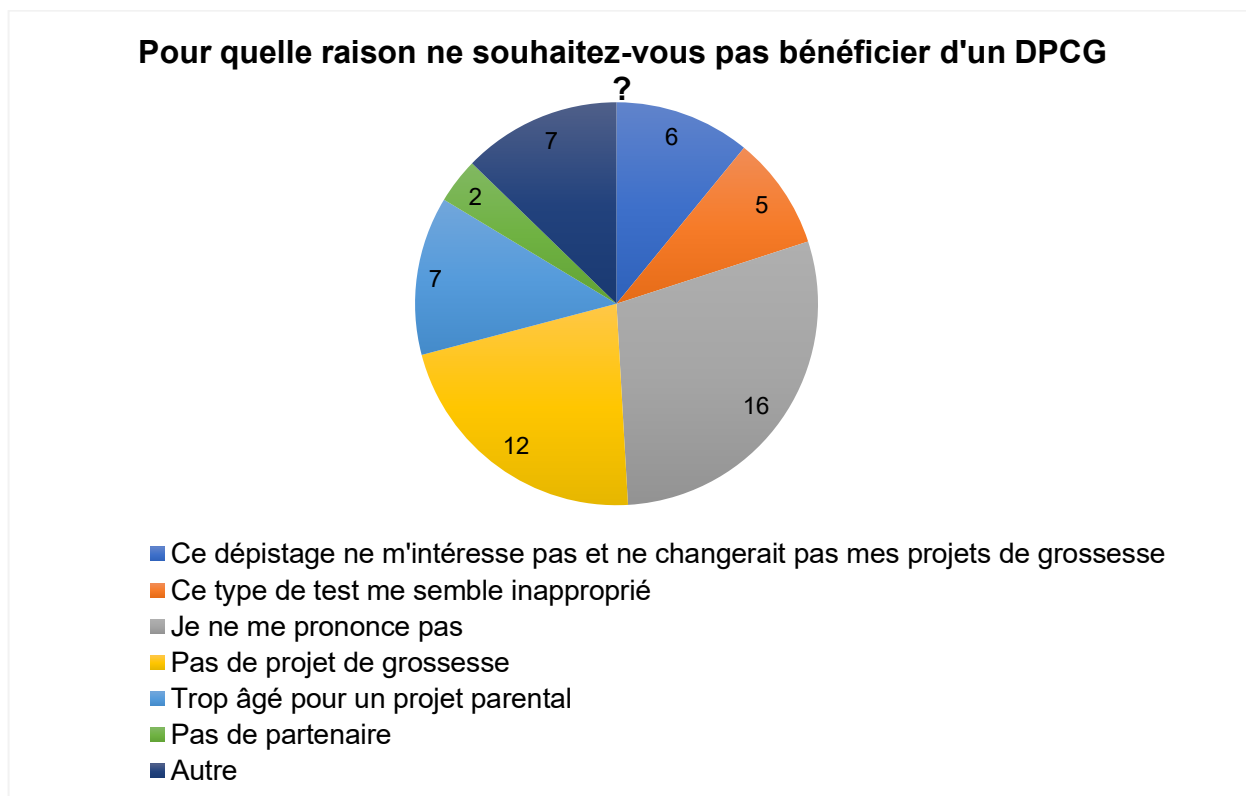
**Figure 4 : Réponses des individus demandeurs d'un DPCG sur leur motivation et les pathologies à tester.**

Le profil des répondants est détaillé dans le Tableau 1 de l'Annexe 3.

Les individus ayant manifesté un intérêt personnel pour le DPCG correspondent à la population ciblée par les démarches préconceptionnelles : ils sont pour la grande majorité en âge de procréer (âge moyen : 30 ans) et plus de la moitié des effectifs sont en couple (n = 32/51 soit 62,7%). Ce profil est sensiblement similaire si l'on s'intéresse aux effectifs des répondants demandeurs d'un DPCG pour programmer un projet de grossesse ultérieure et ceux qui sont simplement curieux de connaître leur statut génotypique. Parmi les 25 individus « curieux de connaître leur statut », 11 (44%) sont des hommes. On peut postuler que les hommes ont tendance à moins se projeter dans un projet de grossesse(14) et que celui-ci ne soit donc pas leur premier motif de recours annoncé.

### ***1.2.2.2. Les répondants non intéressés par le DPCG***

Sur 137 sujets, 55 individus ne souhaitent pas avoir recours au DPCG. La Figure 5 illustre la répartition de ces individus selon le motif évoqué. 6/55 sujets (11%) ne sont pas intéressés par un DPCG car le résultat du test « ne changerait pas leur projet de grossesse». 5/55 individus (9%) considèrent le DPCG comme un « test inapproprié », 16/55 ne se prononcent pas (29%).12/55 des interrogés (22%) n'ont « pas/plus de projet de grossesse », 7/55 (13%) se disent « trop âgés » et 2/55 (4%) n'envisagent pas le DPCG car ne sont « pas en couple ».



**Figure 5 : Répondants ne souhaitant pas bénéficier d'un DPCG**

Le profil des répondants sont détaillées dans le Tableau 2 de l'Annexe 3.

Les sujets sondés qui ne souhaitent pas réaliser de DPCG sont dans une proportion plus modeste, 40% de l'effectif total. Leur âge moyen est de 42 ans et 38 de ces 55 personnes ont déjà des enfants (69,0%) : le moindre intérêt pour le DPCG pourrait s'expliquer par le fait que ces individus ont déjà, pour la plupart, réaliser leur projet parental.

Si l'on s'intéresse aux individus qui considèrent ce type de test comme inapproprié (n = 5/55, soit 9%), le DPCG peut être considéré comme anxiogène pour la grossesse et/ou une intrusion dans la vie des couples. Une personne estime que le DPCG ne doit pas être systématique ou proposé à des couples avec un projet parental. Si un DPCG devait être réalisé, il ne devrait dépister que les maladies génétiques fréquentes, graves et survenant chez l'enfant. Les 4 autres répondants sont plutôt favorables au principe du DPCG surtout s'il s'agit d'un choix du couple. Ces 5 sujets ont tous des enfants, aucun n'a d'antécédent de maladie génétique dans son entourage et ils sont 4 sur 5 à être âgés de plus de 55 ans.

Au total, un seul individu sur les 137 interrogés (0,7%) se positionne fermement contre le DPCG.

Concernant les individus ne se prononçant pas sur leur refus de recours au DPCG, 10/18 (55,6%) sont âgés de 40 ans ou moins, la moitié de l'effectif a des enfants et 13/18 (72,2%) sont en couple. L'ensemble de ces répondants sont favorables à la réalisation d'un DPCG si le couple est demandeur. On peut donc postuler que le DPCG n'est pas une option personnelle mais que ces individus ne sont pas opposés à la proposition d'un DPCG en population générale.

En reprenant l'ensemble des possibilités de réponses, 3 individus (1 s'estime « trop âgé », 1 « n'a pas de partenaire » et 1 « n'a plus de projet de grossesse ») ont formulé dans leur saisie (champ libre) qu'ils auraient voulu bénéficier d'un DPGC en cas de grossesse débutante.

### **I.3. Réponses au questionnaire : analyse par sous-groupes**

Nous avons ensuite réévalué l'ensemble de ces données en répartissant la cohorte selon différentes caractéristiques des participants : sexe, âge, niveau scolaire, statut marital (en couple/ non en couple), composition familiale (avec ou sans enfant) et la présence d'antécédent de proche affecté par une des 11 maladies précédemment



citées. Nous avons dans un premier temps déterminé si nos différents sous-groupes étaient comparables entre eux puis avons repris les réponses au questionnaire (Annexe 4).

### ***1.3.1. Composition et comparabilité des sous-groupes***

- Normalisation sur l'âge

**Tableau 7 : Distribution des effectifs des sous-groupes selon l'âge**

Caractéristiques		Total (n = 137)	40 ans et moins (n=101)	Plus de 40 ans (n=36)	p-value
Avec antécédents		27 (19.7%)	16 (15.8%)	11 (30.6%)	0.06
En couple		92 (67.2%)	64 (63.4%)	28 (77.8%)	0.11
Avec Enfants		63 (46.0%)	29 (28.7%)	34 (94.4%)	< 0.0001
Niveau d'étude	BAC	29 (21.2%)	15 (14.9%)	14 (38.9%)	0.0002
	CAP/BEP	7 (5.1%)	5 (5.0%)	2 (5.6%)	
	Licence	41 (29.9%)	31 (30.7%)	10 (27.8%)	
	Master et +	57 (41.6%)	50 (49.5%)	7 (19.4%)	
	Secondaire	3 (2.2%)	0 (0.0%)	3 (8.3%)	
Sexe	Homme	38 (27.7%)	28 (27.7%)	10 (27.8%)	0.99
	Femme	99 (72.3%)	73 (72.3%)	26 (72.2%)	

Les différences principales portent sur la composition familiale et le niveau scolaire : pour les plus de 40 ans, 34/36 (94,4%) ont des enfants ( $p < 0,0001$ ) et 19/36 (52,8%) ont un niveau Bac ou inférieur ( $p = 0,0002$ ). Nous estimons que nos deux groupes sont comparables entre eux.

- Normalisation sur le sexe

**Tableau 8 : Distribution des effectifs des sous-groupes selon le sexe**

Caractéristiques	Total (n = 137)	Femmes (n = 99)	Hommes (n = 38)	p-value
Age Moyen (écart-type)	35.2 (12.3)	35.2 (12.8)	35.3 (11.0)	0.98
Avec antécédents	27 (19.7%)	19 (19.2%)	8 (21.1%)	0.81
En couple	92 (67.2%)	68 (68.7%)	24 (63.2%)	0.54
Avec Enfants	63 (46.0%)	47 (47.5%)	16 (42.1%)	0.57
Niveau d'étude	BAC	29 (21.2%)	18 (18.2%)	0.19
	CAP/BEP	7 (5.1%)	4 (4.0%)	
	Licence	41 (29.9%)	31 (31.3%)	
	Master et +	57 (41.6%)	45 (45.5%)	
	Secondaire	3 (2.2%)	1 (1.0%)	

Après normalisation sur le sexe, il n'y a pas de différence statistique entre les femmes et les hommes dans notre échantillon.

- Normalisation sur le niveau scolaire

**Tableau 9 : Distribution des effectifs des sous-groupes selon le niveau scolaire**

Caractéristiques	Total (n = 137)	Niveau Bac et moins (n = 39)	Formation universitaire (n = 98)	p-value
Age Moyen (écart-type)	35.2 (12.3)	41.9 (13.5)	32.6 (10.8)	< 0.0001
Avec antécédents	27 (19.7%)	12 (30.8%)	15 (15.3%)	0.04
En couple	92 (67.2%)	37 (94.9%)	55 (56.1%)	< 0.0001
Avec Enfants	63 (46.0%)	28 (71.8%)	35 (35.7%)	0.0001
Sexe	Homme	38 (27.7%)	16 (41.0%)	0.03
	Femme	99 (72.3%)	23 (59.0%)	

Les caractéristiques étudiées sont différentes après normalisation sur le niveau scolaire.

- Normalisation sur le statut marital

**Tableau 10 : Distribution des effectifs des sous-groupes selon le statut marital**

Caractéristiques		Total (n = 137)	Non en couple (n = 45)	En couple (n = 92)	p-value
Age Moyen (écart-type)		35.2 (12.3)	32.7 (11.2)	36.5 (12.7)	0.10
Avec antécédents		27 (19.7%)	5 (11.1%)	22 (23.9%)	0.08
Avec Enfants		63 (46.0%)	11 (24.4%)	52 (56.5%)	0.0004
Niveau d'étude	BAC	29 (21.2%)	2 (4.4%)	27 (29.3%)	< 0.0001
	CAP/BEP	7 (5.1%)	0 (0.0%)	7 (7.6%)	
	Licence	41 (29.9%)	13 (28.9%)	28 (30.4%)	
	Master et +	57 (41.6%)	30 (66.7%)	27 (29.3%)	
	Secondaire	3 (2.2%)	0 (0.0%)	3 (3.3%)	
Sexe	Homme	38 (27.7%)	14 (31.1%)	24 (26.1%)	0.54
	Femme	99 (72.3%)	31 (68.9%)	68 (73.9%)	

De la même manière que la normalisation sur l'âge, les seules différences qui nous retrouvons entre les deux groupes touchent le niveau scolaire et la composition familiale : dans le groupe des sujets n'étant pas en couple, 43/45 (95,6%) ont une formation universitaire ( $p < 0,0001$ ) et 11/45 (24,4%) ont des enfants ( $p = 0,0004$ ).

- Normalisation sur la composition familiale

**Tableau 11 : Distribution des effectifs des sous-groupes selon la composition familiale**

Caractéristiques		Total (n = 137)	Avec enfant (n = 63)	Sans enfant (n = 74)	p-value
Age Moyen (écart-type)		35.2 (12.3)	44.3 (10.8)	27.5 (7.2)	< 0.0001
Avec antécédents		27 (19.7%)	17 (27.0%)	10 (13.5%)	0.05
En couple		92 (67.2%)	52 (82.5%)	40 (54.1%)	0.0004
Niveau d'étude	BAC	29 (21.2%)	19 (30.2%)	10 (13.5%)	0.0010
	CAP/BEP	7 (5.1%)	6 (9.5%)	1 (1.4%)	
	Licence	41 (29.9%)	18 (28.6%)	23 (31.1%)	
	Master et +	57 (41.6%)	17 (27.0%)	40 (54.1%)	
	Secondaire	3 (2.2%)	3 (4.8%)	0 (0.0%)	
Sexe	Homme	38 (27.7%)	16 (25.4%)	22 (29.7%)	0.57
	Femme	99 (72.3%)	47 (74.6%)	52 (70.3%)	

L'ensemble des caractéristiques étudiées est différent quand on sépare notre échantillon selon la composition familiale.

- Normalisation sur les antécédents de maladie génétique dans l'entourage

Tableau 12 : Distribution des effectifs des sous-groupes constitués selon la présence ou l'absence d'antécédent de maladie génétique dans l'entourage.

Caractéristiques		Total (n = 137)	Avec antécédent (n = 27)	Sans antécédent (n = 110)	p-value
Age Moyen (écart-type)		35.2 (12.3)	38.9 (11.4)	34.3 (12.4)	0.08
En couple		92 (67.2%)	22 (81.5%)	70 (63.6%)	0.08
Avec Enfants		63 (46.0%)	17 (63.0%)	46 (41.8%)	0.05
Niveau d'étude	BAC	29 (21.2%)	10 (37.0%)	19 (17.3%)	0.11
	CAP/BEP	7 (5.1%)	1 (3.7%)	6 (5.5%)	
	Licence	41 (29.9%)	9 (33.3%)	32 (29.1%)	
	Master et +	57 (41.6%)	6 (22.2%)	51 (46.4%)	
	Secondaire	3 (2.2%)	1 (3.7%)	2 (1.8%)	
Sexe	Homme	38 (27.7%)	8 (29.6%)	30 (27.3%)	0.81
	Femme	99 (72.3%)	19 (70.4%)	80 (72.7%)	

Les deux groupes partagent la même distribution des effectifs pour l'âge moyen, le sexe, le statut marital et le niveau scolaire. La seule différence significative retrouvée concerne la composition familiale : 17/27 (63%) sujets avec un antécédent proche ont des enfants ( $p = 0,005$ ).

A la lumière de ces résultats, nous avons décidé de poursuivre l'interprétation des réponses aux questionnaires pour les groupes globalement les plus comparables entre eux à savoir, ceux formés en séparant les effectifs selon leur âge, leur sexe, leur statut marital et leur antécédent de maladie génétique dans l'entourage.

### ***1.3.2. Résultats par sous-groupes (Annexe 3)***

- Normalisation sur l'âge

L'élément remarquable de cette analyse de sous-groupes concerne le souhait des répondants à réaliser un DPCG à titre personnel : 75/101 des participants (74,3%) de moins de 40 ans souhaitent avoir recours à un DPCG et seuls 7/36 des participants

(19,4%) de 41 ans et plus. Les motifs de recours sont similaires pour chaque groupe. Les opinions divergent entre les deux groupes en ce qui concerne le dépistage des hétérozygotes pour la mucoviscidose et l'amyotrophie spinale infantile.

Les motifs pour ne pas recourir à un DPCG sont également différents : pour les sondés de moins de 40 ans, 6/26 (23,1%) ne souhaitent faire de DPCG car cela n'impacterait pas leur projet de grossesse, 10/26 (38,5%) ne se prononcent pas et 4/26 (15,4%) n'ont pas/plus de projet de grossesse. Pour les répondants de 41 ans et plus, 8/29 (27,6%) n'ont pas de projet de grossesse, 7/29 (24,1%) se considèrent trop âgés pour un projet parental, 6/29 (20,7%) ne se prononcent pas ( $p = 0,026$ ).

- Normalisation sur le sexe

Nous ne mettons pas en évidence de différence significative en séparant notre cohorte selon le genre des répondants.

- Normalisation sur le statut marital

Nous n'avons pas mis en évidence de différence dans les réponses des sujets avec couple ou non en couple.

- Normalisation sur les antécédents dans l'entourage

Il n'y a pas de différence significative selon l'existence ou non d'antécédents de maladies génétiques dans l'entourage.

## **II. Axe 2 : Mises au point des techniques de génétique moléculaire**

### **II.1. Quantification après expansion génomique**

Nous avons estimé la concentration de chaque échantillon grâce à une technique de qPCR en temps réel, les concentrations dans les tubes mères de nos échantillons étant inconnue.

La concentration d'un échantillon est déterminée grâce aux paramètres d'une courbe étalon. Celle-ci est construite à partir des valeurs de cycle seuil ( $C_T$ ) d'échantillons d'ADN témoins de concentration connue (0,1ng/ $\mu$ L, 1 ng/ $\mu$ L, 10 ng/ $\mu$ L et 100 ng/ $\mu$ L). Ces valeurs dépendent notamment de l'efficacité de la PCR. La formule reliant  $\ln(C_T)$  et la concentration d'un échantillon est :

$$y = - (\text{valeur de la pente})x + \text{point d'interception de l'axe } y$$

Soient  $x \ln(\text{concentration de l'échantillon})$  et  $y \ln(C_T)$ .

L'estimation de la concentration de chaque échantillon de la même plaque suit cette équation. Les concentrations post-expansion génomique sont très variables d'un échantillon à l'autre allant d'une concentration indétectable à 500ng/μL (résultats non exposés). Les résultats de chaque génotypage ont été confrontés à ces concentrations lors de l'interprétation des analyses.

## II.2. Criblage de l'haplotype du syndrome RAVINE

Nous avons commencé par démontrer la spécificité des amorces en PCR simple et dans des conditions standards. Après multiplexage, nous avons appliqué un protocole de PCR TouchDown afin d'augmenter l'intensité de nos pics de détection(15).

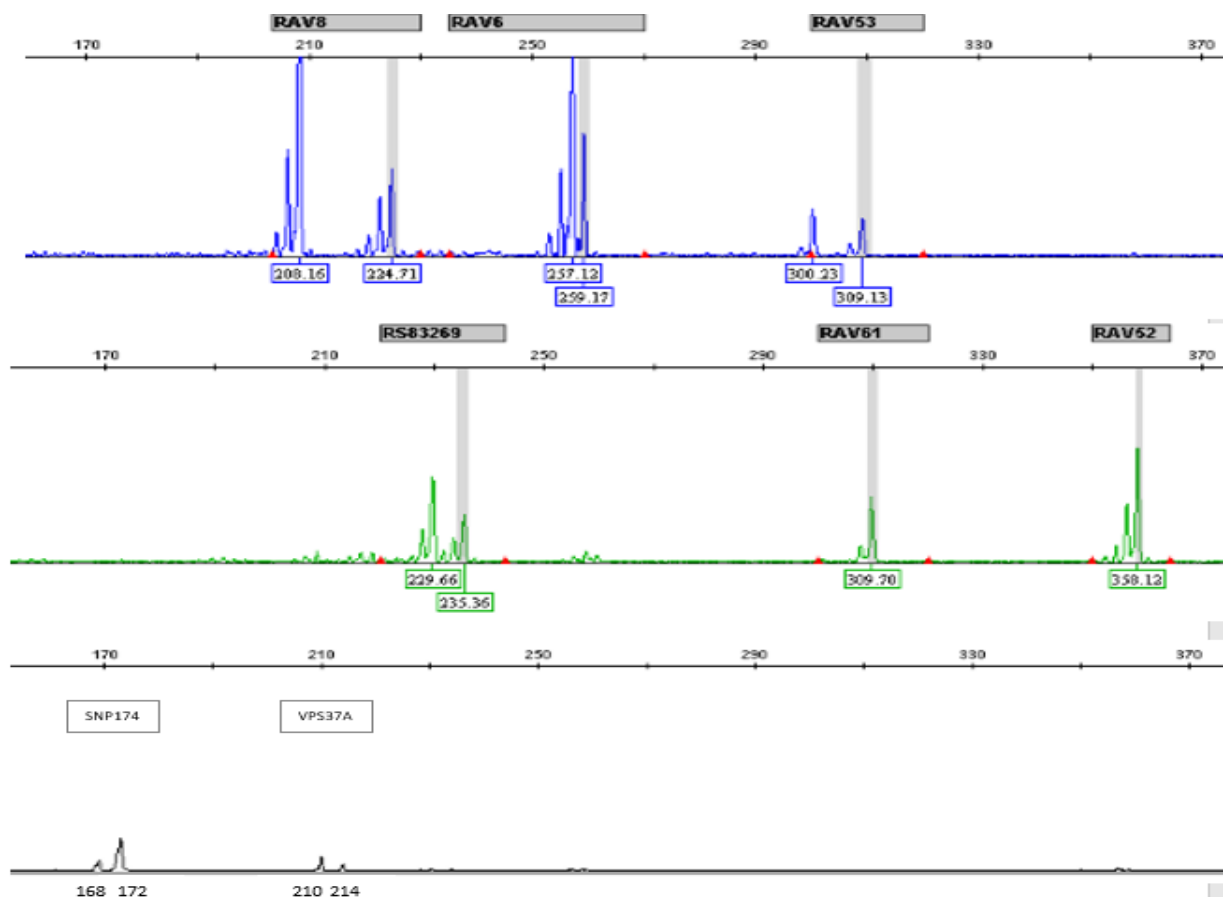


Figure 6 : Profil de détection fluorescente pour le locus du syndrome RAVINE

Légende : Profils d'un témoin hétérozygote. Tracé bleu : signaux des microsatellites marqués au fluorochrome FAM. Tracé vert : signaux des microsatellites marqués au fluorochrome HEX. Tracé noir : signaux des SNP marqués au fluorochrome NED. Les

zones grisées correspondent à des bin sets : elles délimitent la zone dans laquelle les microsatellites associés au syndrome RAVINE ségrégent.

### II.3. Criblage des variants ponctuels impliqués dans la mucoviscidose, le syndrome Salt & Pepper et l'alpha-mannosidose

Après s'être assuré de la spécificité des amorces utilisées, nous avons repris une méthode de multiplexage similaire à la technique décrite pour l'analyse du locus du syndrome RAVINE, en nous basant cette fois-ci sur un protocole de PCR standard. (Figure 7)

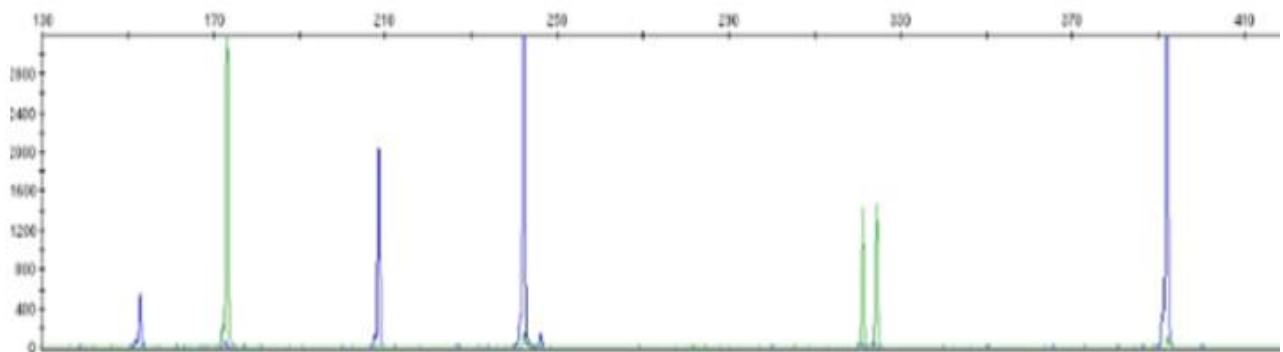


Figure 7 : Exemple de profil de détection d'un échantillon témoin hétérozygote pour la mutation p.Phe508del dans *CFTR*.

Légende : Les 4 pics bleus correspondent aux amplicons porteurs d'un variant spécifique et récurrent dans *CFTR*. Le premier pic vert (à gauche) correspond au variant ponctuel recherché dans notre design dans le gène *ST3GAL5*. Le double pic vert (à droite) correspond à l'amplicon ciblant la mutation p.Phe508del. La présence de deux pics séparés de 3 bases signe un statut hétérozygote pour l'échantillon analysé.

### II.4. Détection de la délétion récurrente de l'exon 7 de *SMN1*

Les premières étapes de mises au point sont similaires à la PCR spécifique d'allèle. Nous nous sommes assurés de la spécificité de nos amorces puis des paramètres optimaux de PCR. Les tests ont été lancés sur 3 types d'échantillons : l'ADN d'une patiente atteinte d'Amyotrophie Spinale Infantile (ASI) homozygote pour la délétion de l'exon 7, celui d'un apparenté hétérozygote et un témoin féminin négatif non porteur de la délétion. La Figure 5 reprend les profils de fluorescence de notre sujet hétérozygote et du témoin négatif. Nous avons estimé les QD de chaque amplicon et mis en évidence une diminution des QD pour *AMELX* et l'exon 7 de *SMN1* démontrant leur présence en une seule copie dans le génome du sujet testé.

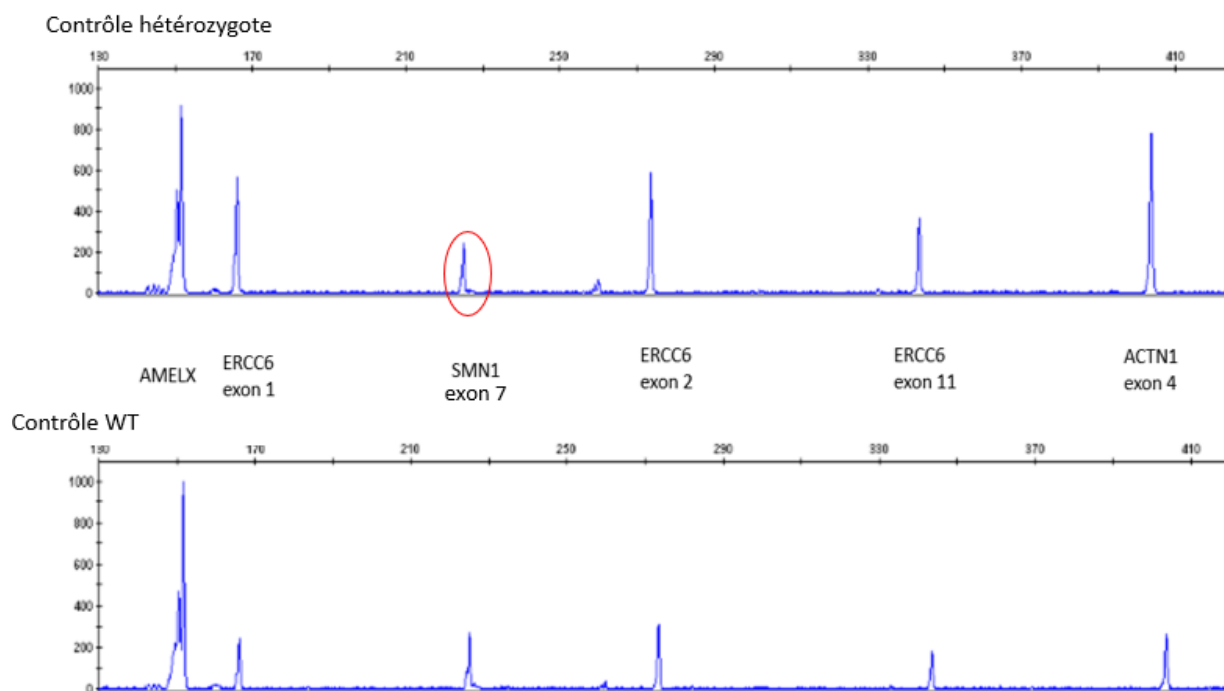


Figure 8 : Profil de détection et estimation du QD pour le criblage de l'exon 7 de *SMN1*

### III. Résultats chiffrés et estimation de la fréquence des hétérozygotes dans la collection DIVERSITE

Sur l'ensemble de la collection, 44 échantillons sont hétérozygotes pour un des variants étudiés. En tenant compte l'effectif total moyen des échantillons interprétables ( $n = 552$ ) pour l'intégralité de nos analyses, ceci correspond à 8% de l'ensemble des prélèvements. Nous avons constaté un nombre important d'échantillons pour lesquels l'interprétation des résultats est difficile, et répartis en 1 - échantillons douteux, pour lesquels le résultat de la technique n'était pas interprétable ; 2 - échantillons partiellement informatifs, pour lesquels l'amplicon d'intérêt n'a pas été amplifié lors du multiplexage ; 3 - échantillons non contributifs, pour lesquels il n'y a eu aucune amplification (Tableau 12).



Tableau 13 : Résultats du génotypage de la collection DIVERSITE

	Variant	Nombre d'échantillons hétérozygotes	Nombre d'échantillons WT	Nombre d'échantillons douteux	Nombre d'échantillons partiellement informatifs	Nombre d'échantillons non contributifs
Mucoviscidose	p.Phe508del	7	417	0	146	17
	c.366T>A	2	550	3	15	
	c.2988+1G>A	2	554	0	14	
	c.1624G>T	0	561	0	9	
	Del17a18	0	263	0	307	
Syndrome Salt & Pepper	c.740G>A	1	562	4	3	
Syndrome RAVINE	Haplotype	3	249	12	0	323
Protéinose alvéolaire pulmonaire	c.1177G>A	6	547	1	0	33
Syndrome Larsen de La Réunion	c.808C>T	6	542	3	0	36
Alpha-mannosidose	c.2165+1G>A	0	487	1	0	99
Amyotrophie spinale infantile	Délétion exon 7	17	364	67	0	139

L'ensemble des 7 groupes ethniques de la collection sont pris en considération dans ces résultats. Les échantillons sont classés en fonction de leur génotype (hétérozygote, WT) et de leur interprétabilité.

La fréquence des hétérozygotes pour nos pathologies d'intérêt est estimée à partir des données de la littérature (Tableau 13) : la fréquence des individus homozygotes mutés ou les données de fréquence allélique pour chaque pathologie nous a permis de déterminer la valeur  $q$  de la formule précédente. Nous la qualifions dans notre exposé de fréquence attendue des hétérozygotes.

A l'issue de notre criblage, nous avons compté le nombre d'hétérozygotes mis en évidence pour chaque pathologie et à partir de ces données, estimé la fréquence de l'allèle morbide dans notre population et calculé la fréquence observée des hétérozygotes.

Tableau 14 : Estimation de la fréquence des hétérozygotes dans la collection DIVERSITE

Pathologie ciblée	Fréquence attendue des hétérozygotes d'après les données de la littérature	Fréquence observée des hétérozygotes dans notre étude	p-value
Mucoviscidose	6,12% <sup>1</sup>	2,10%	0,0005
Syndrome Salt & Pepper	Pas de données	0,20%	NC
Syndrome RAVINE	1,98%	1,19%	0,3683
Protéïnose alvéolaire pulmonaire	2,17%	0,99%	0,0799
Syndrome Larsen de La Réunion	3,92% <sup>1</sup>	1,19%	0,0007
Alpha-mannosidose	1,98%	0,00%	0,0017
Amyotrophie Spinale Infantile	2,60%	4,46%	0,0224

Légende : Les fréquences attendues marquées par un <sup>1</sup> ont été calculée grâce à des chiffres de publications concernant le sous-groupe des Créoles blancs(16),(17).

Nous avons finalement déterminé la fréquence des hétérozygotes dans chaque groupe ethnique afin de mettre en lumière un effet fondateur (Tableau 14) (18),(12),(17).

Tableau 15 : Estimation de la fréquence observée des hétérozygotes à partir de nos données de criblage

	Créoles Blancs		Indiens Tamouls		Cafres		Créoles Métisses		Réunionnais		Chinois	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Mucoviscidose (tous variants)	4	7,55	1	1,58	2	2,5	1	1,19	3	2,05		
Syndrome Salt & Pepper	1	1,39										
Syndrome RAVINE	3	4,87										
Protéinose alvéolaire pulmonaire	1	1,39					2	2,37	3	1,65		
Syndrome Larsen de La Réunion	4	5,26							2	1,11		
Amyotrophie spinale infantile	2	3,17	4	10,8	2	3,28			7	7,37	2	5,41

Légende : La fréquence observée des hétérozygotes a été calculée à partir de l'effectif des échantillons avec des résultats interprétables pour chaque sous-groupe ethnique.

A partir de ces observations, nous avons repris les fréquences attendues pour la mucoviscidose et le syndrome Larsen de La Réunion. (Tableau 15)

Tableau 16 : Comparaison des fréquences attendue et observée des hétérozygotes pour la mucoviscidose et le syndrome Larsen de La Réunion dans le groupe Créole Blanc

	Fréquence attendue des hétérozygotes d'après les données de la littérature (%)	Fréquence observée des hétérozygotes dans notre étude (%)	p-value
Mucoviscidose	6,12	7,55	0,78
Syndrome Larsen de La Réunion	3,92	5,26	0,62

4/53 (7,55%) échantillons contributifs dans le sous-groupe Créole Blanc et 4/76 (5,26%) échantillons contributifs. Il n'est pas identifié de différence significative entre les fréquences observées et attendues pour ces deux pathologies ( $p = 0,78$  et  $p = 0,62$ ).

## DISCUSSION

### I. Axe 1 : Résultats du questionnaire : la demande pour le DPCG

#### I.1. Un plébiscite incontestable

##### *I.1.1. Le DPCG pour anticiper un projet familial*

La grande majorité des personnes interrogées lors de notre étude se positionnent en faveur de la réalisation d'un DPCG en population générale. Environ la moitié des répondants (48%) sembleraient en faveur du caractère systématique et obligatoire de ce dépistage (« Tous les couples [...] **doivent** réaliser un DPCG. ») alors que 94% des sondés revendiquent le DPCG s'il correspond à un choix du couple.

Plus de la moitié des personnes interrogées souhaite réaliser le DPCG à titre personnel ce qui illustre le réel intérêt de la population générale réunionnaise pour ce test. Si la motivation de certains reste la curiosité individuelle, ce test est préférentiellement envisagé dans le cadre d'un projet de grossesse, avec en cas de risque génétique identifié pour la descendance, une très large majorité envisageant une démarche de DPN ou DPI, et très peu renonçant à leur projet parental.

##### *I.1.2. Le DPCG pour s'autonomiser dans sa démarche procréative*

Les personnes interrogées sont partagées vis-à-vis de la place de ce test : si 51% estiment que ne pas recourir au test ne doit pas engager pas la responsabilité des membres du couple, 23% considèrent néanmoins qu'il serait « irresponsable » pour de futurs parents de ne pas réaliser de DPC : ce résultat questionne sur une possible pression sociétale vis-à-vis d'une conformité génétique et de la quête d'un enfant idéal et sans défaut. On ne peut se dispenser de s'interroger globalement sur l'évolution de la place de tout test de dépistage, lequel, à l'instar de la trisomie 21, une fois rendu disponible voire remboursable, franchit volontiers les étapes successives de proposable puis automatique voire systématique si ce n'est obligatoire.

##### *I.1.3. Un dépistage génétique « normalisé » de maladies fréquentes et graves*

Le nouveau DPCG n'est pas considéré comme intrusif dans la vie des couples ni comme une surmédicalisation de la procréation (66%). Il n'est ressenti comme « angoissant » que par un quart de la population, pourtant encore très peu informée à ce sujet, en dehors de la brève description fournie avec le sondage. Peut-être peut-on y lire un certain degré

d'habitude de la population face à la multiplication d'exams médicaux, devenus banalisés, notamment dans ce domaine de la procréation.

Déployé en France à partir du début des années 1970, le dépistage néonatal vise à dépister chez l'ensemble des nouveau-nés nés en France 5, bientôt 6, pathologies graves de l'enfant pour lesquels un traitement efficace est disponible(19). Par cet intermédiaire, les tests se sont répandus dans la population générale française dans le but d'anticiper la survenue chez les enfants de handicaps sévères en instaurant précocement les thérapeutiques et suivis adaptés. Le DPCG tel que nous le proposons, s'inscrit dans cette démarche préventive et il est ressenti comme tel, lors des consultations réalisées dans le service de génétique.

Ces résultats traduisent néanmoins la nécessité d'une consultation de génétique préconceptionnelle afin de préciser le caractère libre et optionnel du DPCG, en accord avec les recommandations du CCNE et de l'ESHG, mais également afin de tempérer les demandes non justifiées et de délivrer les informations adéquates concernant les alternatives à une grossesse spontanée si les futurs parents sont tous les deux porteurs hétérozygotes (DPN, DPI).

Les Réunionnais répondants à notre enquête semblent vouloir s'approprier le DPCG et participer aux décisions inhérentes à leur reproduction. Ces résultats sont concordants avec ceux publiés par Plantinga *et al* en 2016(20) après le recueil d'opinion d'une cohorte de 504 Néerlandais concernant l'instauration d'un test de 50 gènes en préconceptionnel.

## **I.2. Demande d'un dépistage génétique élargi**

78% des répondants sont en faveur d'un criblage de toutes les pathologies génétiques connues par une technique pangénomique. Ce résultat montre bien la nécessité d'une consultation de génétique préalable au DPCG afin de clarifier plusieurs points liés aux analyses pangénomiques.

### ***I.2.1. Les spécificités du criblage pangénomique limitant le recours au DPCG***

La totalité des maladies génétiques n'est pas dépistable en préconceptionnel et cette information doit être expliquée en consultation individuelle : les pathologies de survenue *de novo* constituent le principal écueil à un test global et la trisomie 21 est souvent pris comme exemple pour différencier auprès du grand public les concepts de génétique et d'héréditaire. Si l'on prend l'exemple de la trisomie 21 : 97% des individus atteints ont une trisomie libre de survenue *de novo*. Un facteur favorisant (translocation parentale équilibrée) n'est présent

que dans 2 à 3% des cas. La normalité du caryotype parental constitue donc en aucun cas un facteur prédictif ou rassurant de l'apparition de la maladie dans la descendance (21).

Le deuxième élément à prendre en compte dans les analyses pangénomiques est la diversité des expressions phénotypiques des maladies génétiques. Par exemple, la sclérose tubéreuse de Bourneville est associée, dans la majorité des cas, à des mutations dans les gènes *TSC1* et *TSC2* : cette phacomatose prédispose au développement de tumeurs bénignes au niveau cutané, rénal et cérébral. Ces dernières grèvent le pronostic neurocognitif. Le développement de ces tubers cérébraux est extrêmement variable chez les individus porteurs d'une même mutation, même parmi les membres d'une même famille allant de l'apparition prénatale de multiples tubers à l'absence ou la présence de quelques rares tumeurs(22). Une telle variabilité ne permet donc en aucun cas de présager de la sévérité du phénotype et ne convient donc pas à une démarche de dépistage systématique généralisé.

Le criblage pangénomique expose également à la découverte de variants de signification inconnue pour lesquels le conseil génétique est complexe du fait de l'impossibilité de prédire la pathogénicité.

Les données secondaires sont également indissociables d'un criblage pangénomique. Ces données secondaires rendent compte de la découverte de variants pathogènes non en lien avec l'objectif initial de l'analyse, telle l'identification classiquement citée d'une mutation dans un gène de prédisposition familiale aux cancers lors d'un diagnostic moléculaire de syndrome polymalformatif. Ces données font l'objet d'une information spécifique et nécessite le consentement du sujet avant l'analyse. Au cours de notre sondage, les sujets se disent favorable au dépistage de prédisposition génétique au cancer du sein. Cependant, une telle découverte n'implique pas uniquement une possibilité de choix reproductif. même si les prédispositions génétiques au cancer peuvent faire l'objet d'un DPN/DPI, la plupart des équipes françaises ne les autorisent qu'en cas de syndromes de prédisposition au cancer de survenue pédiatrique, sans traitement efficace et de pénétrance élevée comme le syndrome de Li-Fraumeni ou la polypose adénomateuse familiale(23), mais va engager le patient dans un parcours médical complexe de surveillance, ceci sans préparation ni anticipation.

### ***1.2.2. Le coût des analyses pangénomiques***

Les personnes interrogées au sein de notre enquête déclarent ne pas vouloir limiter le DPCG aux seules maladies fréquentes (59%). Outre la sélection des maladies étudiées se

pose la question médico-économique de ce type de dépistage onéreux (24) et ses conditions de prise en charge, éventuelle, totale ou partielle par l'Assurance-Maladie. Cette question financière du DPCG *via* une analyse pangénomique a été étudiée (25) : l'une des principales motivations pour réaliser une analyse pangénomique est l'absence de frais aux dépens des couples requérants. La charge que les couples sont prêts à payer dépend de plusieurs caractéristiques dont le revenu des femmes et du couple, le souhait pour le conjoint de payer le test également, la possibilité d'antécédents génétiques méconnus chez les apparentés.

### ***1.2.3. Le cadre légal de recours au DPN/DPI***

Les répondants à notre questionnaire estiment que le DPCG ne doit pas se restreindre à dépister les hétérozygotes pour les seules maladies graves (67%) ou de survenue pédiatrique (77%). Ce point de vue rejoint l'offre des laboratoires privés qui tendent à proposer des panels de pathologies larges de sévérité variables (Annexe 1). Un couple souhaitant réaliser un DPCG à partir de tels panels doit avoir une information adéquate sur les possibilités de résultats et leur finalité, notamment dans le cadre d'un éventuel DPN ou DPI vis-à-vis duquel, selon la législation Française, la notion de « maladie d'une particulière gravité, incurable au moment du diagnostic » sera requise.

En France, la question du dépistage des hétérozygotes pour des maladies sensorielles (cécité et surdité) isolées d'origine génétique à des fins de projets de grossesse reste très discutée. Il a été montré que le handicap consécutif une atteinte sensorielle peut être perçu de manière plus inquiétante par les personnes indemnes qui *a priori* demanderaient un DPN/DPI pour prévenir la survenue du handicap dans leur descendance. Un sondage d'opinion mené en Angleterre dans une cohorte de patients sourds ou de parents d'enfant sourd par Withrow *et al*(26) met en lumière le fait que le diagnostic moléculaire causal chez les personnes atteintes de surdités génétiques n'a pas d'impact sur le déroulement de leur vie, et notamment leur choix vis-à-vis du projet d'enfants. Cette opinion peut néanmoins différer selon les cultures : ainsi, les populations indienne et chinoise plébiscitent le dépistage génétique des hétérozygotes à des fins de choix reproductifs(27),(28). Dans notre expérience réunionnaise, aucun DPN pour des surdités isolées d'origine génétique n'a été demandé depuis 2008 ce qui contraste avec la volonté très forte exprimée dans le sondage de réaliser un DPCG. De nouveau, on soulignera l'importance de la consultation avant tout DPCG afin d'expliquer la finalité de ce test, ses finalités, l'explication précise du phénotype, l'existence d'un dépistage postnatal et les prises en charge proposée en cas de surdité.

Le dépistage des formes génétiques de nanisme est également fortement souhaité par les répondants à notre sondage, contrastant de nouveau avec les attitudes en prénatal. Nous nous sommes intéressés aux demandes de DPN pour la forme la plus commune de nanisme génétique, l'achondroplasie. Cette question reste théorique pour l'achondroplasie puisque 85% des cas sont de survenue de novo (29). Néanmoins, il nous semblait intéressant d'évaluer la perception de la population vis-à-vis d'une pathologie facilement reconnaissable, ayant un impact esthétique marqué, sans conséquence mentale. La littérature rapporte les résultats de sondage d'opinion recueillis chez les individus atteints d'achondroplasie et leur apparentés au premier degré : le recours au DPN est plus largement souhaité pour les couples à haut risque d'avoir un fœtus présentant une forme grave (homozygote) d'achondroplasie (30), (31) tandis qu'il ne ressort pas de ces études de demande personnelle affirmée de diagnostic anténatal vis-à-vis de l'achondroplasie classique hétérozygote avec des avis très partagés (respectivement un tiers des répondants atteints et un tiers des répondants non atteints seraient favorables au déploiement d'un DPN en population générale en vue d'une demande d'IMG).

Le dépistage des hétérozygotes pour des gènes impliqués dans l'obésité est également demandé par les répondants de notre étude. Plusieurs gènes impliqués dans les obésités sévères, précoces et monogéniques de transmission dominante ou récessive ont été mis en évidence durant les quinze dernières années(32). Il n'y a pas d'atteintes impliquant le pronostic vital ou impactant de manière immédiate la qualité de vie ; l'obésité est une affection commune avec une proportion importante des personnes obèses (15% de la population adulte) ou en surpoids (35% de la population adulte) dans la population réunionnaise (ORS, 2013). A notre connaissance, à La Réunion et après revue de la littérature internationale, aucun couple n'a, à ce jour, demandé la réalisation d'un DPN en vue de dépister une obésité monogénique.

Un dépistage des hétérozygotes pour ces grands groupes pathologiques n'est donc pas indiqué chez les membres d'un couple ayant un projet parental. Il convient de replacer la dans son contexte le motif de recours au DPCG : la recherche de variations pathogènes chez les membres d'un couple vise à leur permettre de faire le choix le plus autonome et éclairé vis-à-vis de leur projet reproductif (DPN/DPI).

Les pathologies dépistées par le DPCG correspondront aux critères des recommandations internationales et françaises avec le criblage ciblé de pathologies significativement fréquentes, de pronostic sévère et de début pédiatrique (2),(5).



### **I.3. Autres éléments à prendre en considération**

Un des individus intéressés par la réalisation du DPCG à titre personnel s'est dit opposé au dépistage d'hétérozygotie pour la mucoviscidose et l'amyotrophie spinale infantile. En France, la mucoviscidose fait l'objet d'un dépistage néonatal et le suivi des patients mutés dans *CFTR* et *SMN1* est la plupart du temps assuré dans un centre de référence : les pratiques quotidiennes sont standardisées et permettent une prise en charge multidisciplinaire optimale. Des traitements étiologiques sont disponibles pour certains génotypes. Dans la mucoviscidose, certains patients ont accès à un traitement médicamenteux spécifique comme les molécules chaperonnes et les potentiateurs de *CFTR* (33). Pour l'amyotrophie spinale, une thérapie génique est accessible depuis quelques années pour les individus atteints d'une ASI de type 2 ou 3(34). Ces thérapeutiques bien qu'onéreuses ont fait la preuve de leur efficacité sur la qualité de vie des patients traités.

Le criblage du syndrome de Cockayne est sensiblement moins demandé alors qu'il s'agit d'une des pathologies les plus sévères que nous proposons dans notre test(35). Cette observation peut s'expliquer par l'incidence basse de la maladie (1/250 000 naissances(36)) et par conséquent la méconnaissance de cette maladie gravissime et rare de la population générale. La consultation de génétique dans le parcours préconceptionnel prend toute son importance pour l'explication de la pathologie et le conseil génétique découlant d'un résultat défavorable.

Un sujet interrogé évoque son orientation sexuelle comme frein à la réalisation d'un DPCG. Actuellement en France, la PMA pour les couples d'hommes et la gestation pour autrui ne sont pas autorisées. La probable évolution de la loi de Bioéthique cette année vers l'ouverture de la PMA aux couples de femmes et aux femmes célibataires pourrait soulever la question de l'accès à un DPCG pour les couples lesbiens demandeurs, en testant dans un premier temps la partenaire qui apporte le matériel génétique à l'embryon.

### **I.4. Les limites de notre étude**

Nous constatons que notre cohorte réunit des profils de répondants concordants avec notre population cible à savoir une population jeune, en couple, et en âge de procréer.

La représentabilité de notre échantillon vis-à-vis de la population cible réunionnaise peut néanmoins être limitée par plusieurs facteurs :

En premier lieu, la plupart de nos répondants sont des femmes (72%). Cette disparité peut s'expliquer par le thème de notre étude, les questions de santé en général et concernant la sexualité et la reproduction en particulier sont l'affaire des femmes classiquement plus sollicitées sur le sujet (37).

Le niveau d'éducation des sujets ayant répondu au questionnaire peut également être une source de biais : 72% des sondés ont une formation universitaire. Or les données de l'Institut National de la Statistique et des Etudes Economiques (INSEE) pour l'année 2016, montrent que seulement 18,7% des Réunionnais de plus de 15 ans non scolarisés ont un niveau supérieur au Bac.

La représentativité de notre cohorte n'est donc pas optimale mais il est difficile d'en mesurer l'impact quant à la généralisation des résultats. Une meilleure visibilité de notre démarche est nécessaire auprès des Réunionnais afin de les impliquer dans cette approche. Si notre Région était retenue comme territoire pilote pour le DPCG, des campagnes d'informations seraient mises en place *via* les différents médias.

## **II. Axe 2 : Discussion des résultats du criblage de la collection DIVERSITE**

### **II.1. Une fréquence élevée des hétérozygotes**

Il s'agit de la première étude de prévalence des porteurs hétérozygotes pour 11 variants récurrents pour 7 pathologies d'intérêt sur une collection d'ADN issus d'individus Réunionnais.

La fréquence cumulée de l'ensemble des variants testés est importante, laissant supposer une forte incidence des hétérozygotes dans la population générale réunionnaise, en accord avec l'insularité de notre territoire et d'un brassage finalement limité malgré le métissage.

Notre étude met en lumière une fréquence majorée de porteurs hétérozygotes dans le sous-groupe Créole Blanc. Pour la mucoviscidose, le taux des hétérozygotes dans notre étude est de 13% soit bien supérieur aux chiffres métropolitains avec une fréquence attendue de 1/25, soit 4% de la population générale métropolitaine.

#### **II.1.1. La mucoviscidose (CFTR)**

Notre étude révèle une différence significative entre les fréquences des hétérozygotes observée et attendue. Cette disparité peut s'expliquer par l'estimation que nous avons faite à partir des données de la littérature : les seules données de prévalence disponibles pour la mucoviscidose sont estimées pour la population Créole Blanche. Nos chiffres considèrent

l'ensemble des 7 sous-groupes populationnels présents à La Réunion et reflètent donc une estimation plus probable de la fréquence des hétérozygotes pour l'ensemble de la population réunionnaise.

Si l'on s'intéresse à la fréquence des 3 variants retrouvés lors du criblage dans chaque sous-groupe, nos résultats sont concordants avec les données de la littérature. La variation p.Phe508del, la plus fréquente et la plus répandue dans le monde, est majoritaire dans notre population et présente dans l'ensemble des sous-groupes. La deuxième mutation la plus fréquente et classiquement décrite dans la population Créole Blanche est la c.366T>A(38). Dans notre étude, 2 variants c.366T>A ont été mis en évidence dans notre collection : un dans le groupe des Créoles Blancs, l'autre dans le groupe Créole Métisse. Cette dernière observation peut s'expliquer en partie par la constitution du groupe Créole Métisse : les personnes se sentant issues d'un métissage de deux ou plusieurs sous-groupes ethniques ont été incluses dans le groupe Créole Métisse. On s'attend donc à observer, dans ce groupe comme dans le sous-groupe Réunionnais, l'ensemble des différents variants que nous avons étudiés. C'est le cas pour le variant d'épissage que nous avons retrouvé une fois dans le groupe Réunionnais et une fois dans le groupe Cafre. Cette mutation d'épissage fait l'objet d'un effet fondateur dans les populations originaires d'Afrique(39),(38) : il est donc compréhensible de retrouver ce variant dans notre sous-groupe Cafre.

La comparaison des fréquences quand elle est appliquée au sous-groupe Créole Blanc montre la concordance entre nos résultats et ceux de la littérature.

### ***II.1.2. Le syndrome Salt & Pepper (ST3GAL5)***

Ce syndrome résulte de la perte de fonction de *ST3GAL5*(40) ; à ce jour 49 patients ont été décrits mais aucune estimation de l'incidence de la maladie ou des porteurs hétérozygotes n'a été proposée. Un hétérozygote a été identifié dans notre collection : ceci pourrait faire suspecter une fréquence non négligeable de porteurs dans la population réunionnaise, hypothèse à confirmer par une étude menée sur une série plus importante.

### ***II.1.3. Le syndrome RAVINE (SLC7A2)***

Le syndrome RAVINE est spécifique de La Réunion et les premiers cas ont été rapportés dans la population Créole Blanche de la Ravine des Cabris. Nos observations concordent avec les données publiées (18) malgré les difficultés techniques rencontrées. Les 3 échantillons hétérozygotes de notre collection appartiennent tous au sous-groupe Créole Blanc. Du fait du fort taux d'échec de notre technique, il est possible que nous sous-estimions la fréquence des hétérozygotes en sous-estimant l'effectif des hétérozygotes

notamment chez les Créoles Métisses et les Réunionnais. Ce premier résultat tend néanmoins à appuyer la possibilité d'un effet fondateur de la mutation considérée dans le groupe Créoles Blancs, dont les individus au début du peuplement de l'île de La Réunion s'organisaient en îlets limitant le brassage génétique dans cette communauté (18).

#### ***II.1.4. Le syndrome Larsen de La Réunion (B4GALT7)***

Comme pour la mucoviscidose, les seules données publiées sur le syndrome Larsen de La Réunion concerne la sous-population Créole Blanche. La fréquence des hétérozygotes dans notre groupe Créole Blanc est similaire à la fréquence attendue. Les 2 échantillons hétérozygotes dans le sous-groupe Réunionnais reflètent le brassage plus important dans cette population. Ces résultats concourent à l'hypothèse d'un effet fondateur dans la population Créole Blanche pour le variant c.808C>T (17).

#### ***II.1.5. L'amyotrophie spinale infantile (SMN1)***

A partir de nos données, nous avons estimé une fréquence des hétérozygotes pour la délétion de l'exon 7 de *SMN1* dans la collection DIVERSITE significativement plus importante que celle observée en métropole. L'incidence de l'amyotrophie spinale infantile est similaire entre La Réunion et la métropole. Après revue de la littérature, les porteurs hétérozygotes de la délétion récurrente de l'exon 7 sont distribués à travers le monde avec une fréquence significative(42),(43),(44) comme le montre la répartition des hétérozygotes dans l'ensemble de nos sous-groupes populationnels.

## **II.2. Les limites rencontrées**

### ***II.2.1. Liées aux caractéristiques de la collection DIVERSITE***

A notre connaissance, aucune étude sur la répartition des ethnies dans la population Réunionnaise n'a été publiée à ce jour. Il est donc difficile d'affirmer que la répartition des effectifs de nos sous-groupes ethniques est véritablement représentative de la population générale. Néanmoins, notre collection regroupe l'ensemble des groupes populationnels que l'on trouve aujourd'hui à La Réunion(45).

L'ensemble de la collection est composé de 587 échantillons. Ce nombre modeste peut être un écueil à la représentativité statistique. Les échantillons sont anciens (avant 2008) et nous n'avons pas de détails sur leur mode de conservation jusqu'au début de nos analyses en janvier 2019. Les premières manipulations réalisées ont fait suspecter une dégradation des ADN des tubes mères s'ajoutant aux autres éléments listés ci-après.

### ***II.2.2. Liées à la variabilité du nombre d'échantillons contributifs***

Cette variabilité peut s'expliquer par la grande différence de concentration d'ADN amplifiés pour chaque échantillon. Les échantillons pour lesquels la concentration après amplification génomique était inférieure à 10 ng/µl (n = 66, données non exposées) étaient souvent non contributifs pour plusieurs techniques de criblage, peut-être du fait d'un matériel initial insuffisant.

Nous avons également mis en évidence la présence d'inhibiteurs de PCR présents dans nos échantillons. Pour le criblage de la mucoviscidose et du syndrome RAVINE, les manipulations ont été effectuées sur les tubes amplifiés et plusieurs amplicons et notamment les amplicons de grandes tailles (> 300 bp) sont restés difficiles à mettre en évidence (délétion des exons 17 et 18 de CFTR, microsatellites de l'haplotype RAVINE). La dilution des aliquots amplifiés pour le reste des techniques nous a permis d'améliorer l'efficacité de nos PCR et augmenter la qualité de détection de la fluorescence.

### ***II.2.3. Liées aux techniques employées***

#### ***II.2.3.1. La PCR spécifique d'allèle pour l'haplotype lié au syndrome RAVINE***

Pour le syndrome RAVINE, une mutation ponctuelle a été rapportée dans la littérature(19). Le locus RAVINE est une région du génome riche en bases GC conférant à l'ADN une plus grande stabilité. Nous avons donc choisi, afin de nous assurer de la spécificité de notre technique, de considérer non seulement la mutation connue mais également l'ensemble de l'haplotype (microsatellites informatifs) associé à l'apparition de la maladie.

#### ***II.2.3.2. La QFM PCR***

Plusieurs difficultés techniques ont pu influencer les résultats et notamment expliquer la reproductibilité imparfaite de la QFM-PCR. Les profils de détection étaient globalement reproductibles d'une PCR à la suivante mais l'intensité des pics étaient très variables : par exemple le témoin WT passé avec le groupe Créole Blanc a un profil moins intense que le même témoin dans les mêmes conditions lors du criblage des Créoles Métisses. Cette difficulté entrave la bonne estimation du nombre de copies de l'amplicon ciblé. Cependant, la fréquence estimée à partir de nos données n'est pas radicalement différente de celle attendue. De nouvelles mises au point seront nécessaires avant de pouvoir déployer cette méthode pour le dépistage de routine.

#### ***II.2.4. Liées à l'absence de détection d'hétérozygotes***

Notre analyse n'a pas mis en évidence d'hétérozygote pour la mutation c.2165+1G>A impliquée dans l'alpha-mannosidose. Notre technique est ciblée sur cette seule variation dans *MAN2B1*. Bien que retrouvée chez des patients réunionnais suivis au CHU de La Réunion, il est possible que cette mutation ne soit pas aussi fréquente que prédite dans la population de La Réunion. Par ailleurs, il conviendrait d'investiguer plus avant le profil notamment généalogique des patients pour s'assurer de leur origine réunionnaise. L'alpha-mannosidose reste une maladie rare et nous avons basé le calcul de la fréquence attendue des hétérozygotes sur des chiffres de prévalences européennes faute de données françaises ou locales. Ces prévalences peuvent être imparfaitement assimilables à la population insulaire avec un risque de surestimation de la fréquence attendue.

## **CONCLUSION**

L'ensemble de cette étude conforte notre hypothèse princeps de proposer l'île de La Réunion comme territoire pilote pour le Dépistage PréConceptionnel Génétique.

Les résultats du sondage démontrent un intérêt remarquable de la population vis-à-vis de ce type de dépistage génétique, d'autant plus marqué chez les sujets jeunes et sans enfant qui correspondent à la population cible. Le DPCG n'est pas perçu comme une démarche angoissante mais plutôt comme la possibilité de prendre en main son projet parental.

La consultation de génétique reste une étape nécessaire et incontournable du DPCG afin d'assurer la bonne compréhension du test et de ses résultats, sa finalité et de rappeler le cadre légal des examens génétiques.

Nos données moléculaires confortent la nécessité de l'instauration d'un DPCG en pratique quotidienne du fait de la proportion importante de porteurs hétérozygotes dans notre collection constitué d'ADN issus de sujets Réunionnais.

D'autres études de plus grande ampleur sont nécessaires afin de corroborer nos résultats moléculaires, d'affiner notre stratégie de criblage et de mieux évaluer les attentes et le profil des Réunionnais demandeurs d'un DPCG.

## ANNEXES

### Annexe 1 : Exemples de panels pour le DPCG proposés aux couples par les institutions et laboratoires privés

Panel proposé pour les couples d'origine Juive par le Jewish Genetic Diseases Consortium.

#### Diseases Common to all Jewish Groups

Cystic Fibrosis  
Familial Mediterranean Fever  
Fragile X Syndrome  
Glycogen Storage Disease Type II  
Phenylalanine Hydroxylase Deficiency  
Retinitis Pigmentosa 28  
Smith-Lemli-Opitz Syndrome  
Spinal Muscular Atrophy  
Tay-Sachs Disease  
Wilson Disease

#### Ashkenazi Jewish Diseases

3-Phosphoglycerate Dehydrogenase Deficiency  
Abetalipoproteinemia  
Alport Syndrome  
Arthrogryposis, Mental Retardation and Seizures  
Bardet-Biedl Syndrome  
Bloom Syndrome  
Canavan Disease  
Carnitine Palmitoyltransferase II Deficiency  
Choreoacanthocytosis  
Congenital Amegakaryocytic Thrombocytopenia  
Congenital Disorder of Glycosylation Ia  
Cystic Fibrosis  
Deafness-Autosomal Recessive 77  
Dyskeratosis Congenita, Autosomal Recessive  
Ehlers-Danlos VIII  
Enhanced S-Cone Syndrome  
Factor XI Deficiency  
Familial Dysautonomia  
Familial Hypercholesterolemia  
Familial Hyperinsulinism  
Familial Mediterranean Fever  
Fanconi Anemia-Group C  
Fragile X Syndrome  
Galactosemia  
Gaucher Disease  
Glycogen Storage Disease 1A  
Glycogen Storage Disease Type II  
Glycogen Storage Disease Type IV / Adult Polyglucosan Body Disease  
Glycogen Storage Disease Type VII  
Hermansky-Pudlak Syndrome 3  
Joubert Syndrome 2  
Lipoamide Dehydrogenase Deficiency  
Maple Syrup Urine Disease 1B  
Mitochondrial Complex I Deficiency  
Mucopolidiosis IV (ML4)  
Multiple Sulphatase Deficiency  
Nemaline Myopathy 2  
Niemann-Pick Disease Type A/B  
Nonsyndromic Hearing Loss  
Osteopetrosis 1  
Phenylalanine Hydroxylase Deficiency  
Polycystic Kidney Disease, Autosomal Recessive  
Pontocerebellar Hypoplasia Type 1A  
Primary Ciliary Dyskinesia DNAH8  
Primary Ciliary Dyskinesia DNAI1  
Primary Ciliary Dyskinesia DNAI2  
Primary Hyperoxaluria Type 3  
Retinitis Pigmentosa 28  
Retinitis Pigmentosa 59  
Smith-Lemli-Opitz Syndrome  
Spinal Muscular Atrophy  
Tay-Sachs Disease  
Tyrosinemia-Type 1  
Usher Syndrome-Type II  
Usher Syndrome-Type III  
Walker Warburg Syndrome and Other FKTN-Related Dystrophies  
Wilson Disease  
Zellweger Syndrome Spectrum-PEX2

#### Sephardi-Mizrahi Jewish Diseases

3-Methylglutaconic Aciduria, Type III / Optic Atrophy 3, with Cataract  
Acute Infantile Liver Failure  
Adrenoleukodystrophy-X-Linked ABCD1  
Asparagine Synthetase Deficiency  
Ataxia Telangiectasia  
Beta-Globin-Related Hemoglobinopathies  
Cerebrotendinous Xanthomatosis  
Chronic Granulomatous Disease  
Congenital Insensitivity to Pain with Anhidrosis  
Congenital Myasthenic Syndrome  
Corticosterone Methyloxidase Deficiency  
Cystic Fibrosis  
Cystinosis  
Familial Mediterranean Fever  
Fanconi Anemia-Group A  
Fragile X Syndrome  
Glycogen Storage Disease Type II  
Glycogen Storage Disease Type III  
Glycogen Storage Disease Type V  
Hereditary Spastic Paraparesis 49  
Homocystinuria due to MTHFR Deficiency  
Inclusion Body Myopathy 2  
Infantile Cerebral and Cerebellar Atrophy  
Leber Congenital Amaurosis 2-Retinitis Pigmentosa 2U  
Limb Girdle Muscular Dystrophy Type 2B  
Megalencephalic Leukoencephalopathy with Subcortical Cysts  
Metachromatic Leukodystrophy  
Microphthalmia / Anophthalmia  
Mitochondrial Complex I Deficiency  
Mitochondrial Myopathy and Sideroblastic Anemia  
Myoneurogastrointestinal Encephalopathy  
Omenn Syndrome  
Ornithine Aminotransferase Deficiency  
Phenylalanine Hydroxylase Deficiency  
Polyglandular Autoimmune Syndrome, Type I  
Pontocerebellar Hypoplasia Type 6  
Progressive Cerebello-Cerebral Atrophy  
Renal Tubular Acidosis and Deafness  
Retinitis Pigmentosa 2b  
Retinitis Pigmentosa 28  
Retinitis Pigmentosa 28  
Smith-Lemli-Opitz Syndrome  
Spinal Muscular Atrophy  
Tay-Sachs Disease  
Usher Syndrome-Type IIA  
Wilson Disease  
Wolman Disease / Cholesteryl Ester Storage Disease  
Zellweger Syndrome Spectrum

# Un panel proposé par le laboratoire Baylor Miraca Genetics Laboratories : GeneAware Panel

## COMPLETE

3-Hydroxy-3-Methylglutaryl CoA Lyase Deficiency (HMGCL)	S	Congenital Myasthenic Syndrome, RAPSN Related (RAPSN)	S
3-Phosphoglycerate Dehydrogenase Deficiency (PHGDH)	S	Crigler-Najjar Syndrome (UGT1A1)	S
Abetalipoproteinaemia (MTTP)	S	Cystic Fibrosis (CFTR)	C S
Adenosine Deaminase Deficiency (ADA)	S	Cystinosis (CTNS)	C S
Adrenoleukodystrophy (ABCD1) *	S	D-Bifunctional Protein Deficiency (HSD17B4)	S
Agammaglobulinemia, X-linked 1 (BTK) *	S	Dihydroliipoamide Dehydrogenase Deficiency (DLD)	S
Alpha-1-Antitrypsin Deficiency (SERPINA1)	S	Dihydropyrimidine Dehydrogenase Deficiency (DPYD)	S
Alpha-Mannosidosis (MAN2B1)	S	Duchenne/Becker Muscular Dystrophy (DMD) *	C S
Alpha-Thalassemia (HBA1 and HBA2)	C S	Dyskeratosis Congenita (RTEL1)	S
Alport Syndrome (COL4A3)	S	Ehlers-Danlos Syndrome VIIC (ADAMTS2)	S
Angelman Syndrome (UBE3A)	S	Ethylmalonic Encephalopathy (ETHE1)	S
Argininosuccinate Lyase Deficiency (ASL)	S	Familial Dysautonomia (IKBKAP)	S
Arthrogryposis, Mental Retardation and Seizures (SLC35A3)	S	Familial Hyperinsulinism (ABCC8)	S
Aspartylglucosaminuria (AGA)	S	Fanconi Anemia (FANCC)	S
Ataxia with Vitamin E Deficiency (TTPA)	S	Fragile-X Syndrome (FMR1) *	CGG
Ataxia-Telangiectasia (ATM)	S	Fukuyama Congenital Muscular Dystrophy/Walker-Warburg Congenital Muscular Dystrophy (FKTN)	S
Atelosteogenesis Type 2 (SLC26A2)	S	Fumarate Hydratase Deficiency (FH)	S
Autosomal Recessive Congenital Ichthyosis, TGM1 Related (TGM1)	S	Galactosemia (GALT)	C S
Autosomal Recessive Polycystic Kidney Disease (PKHD1)	S	Gaucher Disease (GBA)	S
Autosomal Recessive Spastic Ataxia of Charlevoix-Saguenay (SACS)	S	Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency (G6PD) *	S
Bardet-Biedl Syndrome: BBS1 Related (BBS1)	S	Glutaric Acidemia I (GCDH)	S
Bardet-Biedl Syndrome: BBS10 Related (BBS10)	S	Glycine Encephalopathy (AMT)	S
Bardet-Biedl Syndrome: BBS2 Related (BBS2)	S	Glycine Encephalopathy (GLDC)	S
Beta-Hemoglobinopathies (Beta-Thalassemia and Sickle Cell Disease, HBB)	C S	Glycogen Storage Disease: Type IA (G6PC)	S
BH4-Deficient Hyperphenylalaninemia A (PTS)	S	Glycogen Storage Disease: Type IB (SLC37A4)	S
Biotinidase Deficiency (BTD)	S	Glycogen Storage Disease: Type II (Pompe Disease) (GAA)	S
Bloom Syndrome (BLM)	S	Glycogen Storage Disease: Type III (AGL)	S
Canavan Disease (ASPA)	S	GM1-Gangliosidosis (GLB1)	S
Carnitine Deficiency, Systemic Primary (SLC22A5)	S	GRACILE Syndrome (BCS1L)	S
Carnitine Palmitoyltransferase IA Deficiency (CPT1A)	S	Hereditary Fructose Intolerance (ALDOB)	S
Carnitine Palmitoyltransferase II Deficiency (CPT2)	S	Hereditary Motor and Sensory Neuropathy with Agenesis of the Corpus Callosum (SLC12A6)	S
Cartilage-Hair Hypoplasia (RMRP)	S	Herlitz Junctional Epidermolysis Bullosa: LAMA3 Related (LAMA3)	S
Cerebrotendinous Xanthomatosis (CYP27A1)	S	Herlitz Junctional Epidermolysis Bullosa: LAMB3 Related (LAMB3)	S
Chronic Granulomatous Disease, X-linked (CYBB) *	S	Herlitz Junctional Epidermolysis Bullosa: LAMC2 Related (LAMC2)	S
Citrin Deficiency (SLC25A13)	S	Hermansky-Pudlak Syndrome: HPS3 Related (HPS3)	S
Citrullinemia Type 1 (ASS1)	S	Homocystinuria Caused by Cystathionine Beta-Synthase Deficiency (CBS)	S
Congenital Amegakaryocytic Thrombocytopenia (MPL)	S	Hyperornithinemia-Hyperammonemia-Homocitrullinuria (HHH) Syndrome (SLC25A15)	S
Congenital Disorder of Glycosylation: Type 1A: PMM2 Related (PMM2)	S	Hypophosphatasia (ALPL)	S
Congenital Disorder of Glycosylation: Type 1B: MPI Related (MPI)	S	Inclusion Body Myopathy: Type 2 (GNE)	S
Congenital Myasthenic Syndrome, CHAT Related (CHAT)	S	Infantile Neuroaxonal Dystrophy 1 (PLA2G6)	S
Congenital Myasthenic Syndrome, CHRNE Related (CHRNE)	S	Isovaleric Acidemia (IVD)	S
Congenital Myasthenic Syndrome, DOK7 Related (DOK7)	S		



## COMPLETE

Joubert Syndrome, TMEM216 Related (TMEM216)	S	
Juvenile Nephronophthisis (NPHP1)	C	
Krabbe Disease (GALC)	C	S
Leigh Syndrome: French-Canadian Type (LRPPRC)	S	
Leukoencephalopathy with Vanishing White Matter, EIF2B5 Related (EIF2B5)	S	
Limb-Girdle Muscular Dystrophy, Type 2A (CAPN3)	S	
Limb-Girdle Muscular Dystrophy, Type 2C (SGCG)	S	
Limb-Girdle Muscular Dystrophy, Type 2D (SGCA)	S	
Limb-Girdle Muscular Dystrophy, Type 2E (SGCB)	S	
Long Chain 3-Hydroxyacyl-CoA Dehydrogenase Deficiency (HADHA)	S	
Lowe Syndrome (OCRL) *	S	
Lysinuric Protein Intolerance (SLC7A7)	S	
Maple Syrup Urine Disease: Type 1A (BCKDHA)	S	
Maple Syrup Urine Disease: Type 1B (BCKDHB)	S	
Maple Syrup Urine Disease: Type II (DBT)	S	
MECP2 Duplication Syndrome (MECP2) *	C	
Medium Chain Acyl-CoA Dehydrogenase Deficiency (ACADM)	S	
Megalencephalic Leukoencephalopathy with Subcortical Cysts, MLC1 Related (MLC1)	S	
Metachromatic Leukodystrophy (ARSA)	S	
Methylmalonic Aciduria and Homocystinuria: Type cblC (MMACHC)	S	
Mucopolipidosis II (GNPTAB)	S	
Mucopolipidosis IV (MCOLN1)	C	S
Mucopolysaccharidosis, Type I (IDUA)	S	
Mucopolysaccharidosis, Type IIIA (Sanfilippo Syndrome A) (SGSH)	S	
Multiple Sulphatase Deficiency (SUMF1)	S	
Muscle-Eye-Brain Disease (POMGNT1)	S	
Nemaline Myopathy: NEB Related (NEB)	C	
Nephrotic Syndrome: Type 1 (NPHS1)	S	
Nephrotic Syndrome: Type 2 (NPHS2)	S	
Neuronal Ceroid Lipofuscinosis, CLN3 Related (CLN3)	C	
Neuronal Ceroid Lipofuscinosis, CLN5 Related (CLN5)	S	
Neuronal Ceroid Lipofuscinosis, CLN6 Related (CLN6)	S	
Neuronal Ceroid Lipofuscinosis, CLN8 Related (CLN8)	S	
Neuronal Ceroid Lipofuscinosis, PPT1 Related (PPT1)	S	
Neuronal Ceroid Lipofuscinosis, TPP1 Related (TPP1)	S	
Niemann-Pick Disease, Type A (SMPD1)	S	
Niemann-Pick Disease, Type C (NPC1)	S	
Nijmegen Breakage Syndrome (NBN)	S	
Nonsyndromic Hearing Loss and Deafness: GJB2 Related DFNB1 (GJB2)		S
Nonsyndromic Hearing Loss and Deafness: GJB6 Related DFNB1 (GJB6)		C
Ornithine Transcarbamylase Deficiency (OTC) *		S
Pendred Syndrome (SLC26A4)		S
Phenylalanine Hydroxylase Deficiency (PAH)		S
POLG-Related Disorders (POLG)		S
Primary Congenital Glaucoma (CYP1B1)		S
Primary Hyperoxaluria: Type 1 (AGXT)		S
Primary Hyperoxaluria: Type 2 (GRHPR)		S
PROP1-Related Combined Pituitary Hormone Deficiency (PROP1)		S
Propionic Acidemia, PCCA Related (PCCA)		S
Propionic Acidemia, PCCB Related (PCCB)		S
Pycnodysostosis (CTSK)		S
Pyruvate Carboxylase Deficiency (PC)		S
Retinitis Pigmentosa, Autosomal Recessive (DHDDS)		S
Rhizomelic Chondrodysplasia Punctata: Type I (PEX7)		S
Salla Disease (SLC17A5)		S
Sandhoff Disease (HEXB)		S
Severe Combined Immunodeficiency, Athabaskan Type (DCLRE1C)		S
Severe Combined Immunodeficiency, X-linked (IL2RG) *		S
Sjogren-Larsson Syndrome (ALDH3A2)		S
Smith-Lemli-Opitz Syndrome (DHCR7)		S
Spinal Muscular Atrophy (SMN1) ‡		C
Tay-Sachs Disease (HEXA)		C
Tyrosine Hydroxylase Deficiency (TH)		S
Tyrosinemia: Type I (FAH)		S
Usher Syndrome: Type 1B (MYO7A)		S
Usher Syndrome: Type 1C (USH1C)		S
Usher Syndrome: Type 1D (CDH23)		S
Usher Syndrome: Type 1F (PCDH15)		S
Usher Syndrome: Type 2A (USH2A)		S
Usher Syndrome: Type 3A (CLRN1)		S
Very Long-Chain Acyl-CoA Dehydrogenase Deficiency (ACADVL)		S
Wilson Disease (ATP7B)		S
Wiskott-Aldrich Syndrome (WAS)		S
Zellweger Spectrum Disorders: PEX1 Related (PEX1)		S
Zellweger Spectrum Disorders: PEX2 Related (PEX2)		S

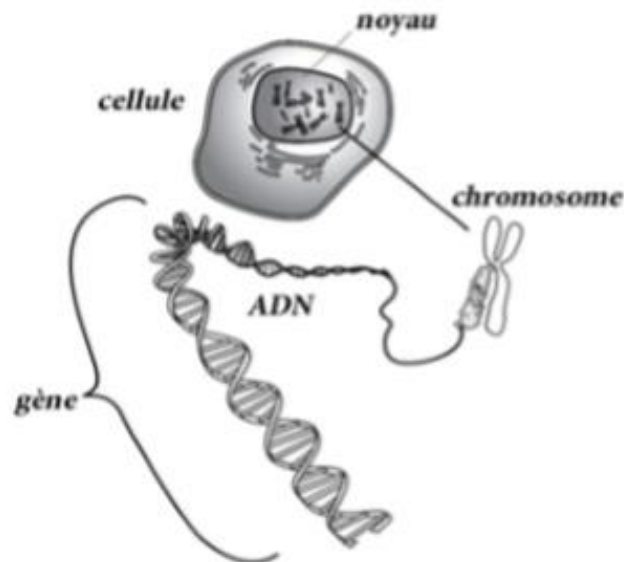
## Annexe 2 : Questionnaire

# Le dépistage préconceptionnel à La Réunion

L'équipe de Génétique Médicale du CHU Félix Guyon réalise un sondage dans le cadre d'une éventuelle mise en place du dépistage préconceptionnel de certaines maladies génétiques graves et fréquentes à La Réunion.

Les cellules du corps humain contiennent l'ensemble de l'information génétique d'un individu, son génome, sous la forme de 46 chromosomes. Ces chromosomes sont constitués d'une molécule d'ADN sur laquelle se trouvent les gènes, importants pour la mise en place des organes de notre corps et leur fonctionnement.

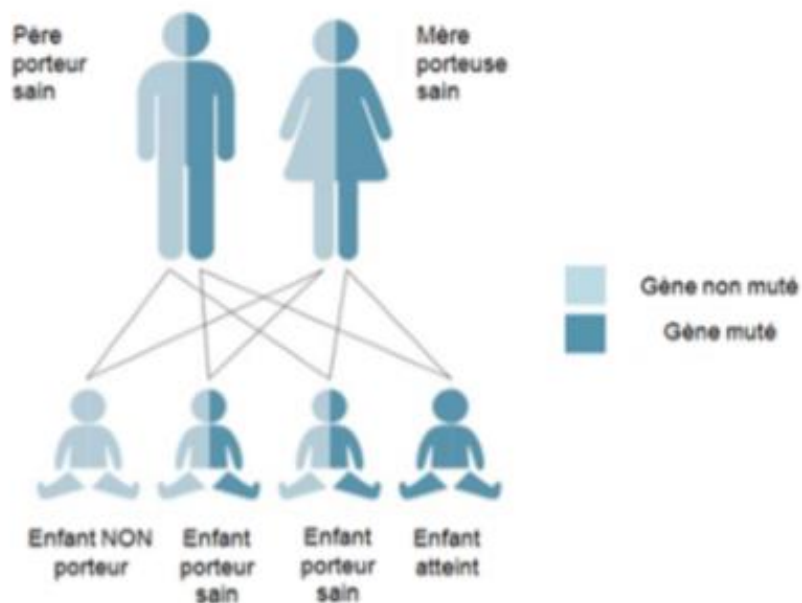
\* Required



Source : <http://www.jesuiscultive.com/IMG/jpg/adn.jpg>

Le génome humain comporte plus de 30 000 gènes. Chaque gène est présent en 2 copies chez un individu : une copie héritée du père, l'autre de la mère. Certains gènes, quand ils sont porteurs d'une mutation, sont à l'origine de maladies génétiques. Les maladies autosomiques récessives sont un exemple de maladies génétiques.

Une maladie autosomique récessive est causée par la mutation des 2 copies d'un même gène (mutation homozygote). Une maladie autosomique signifie que le gène est situé sur un autosome, c'est-à-dire un chromosome non sexuel. Ces maladies peuvent donc affecter autant les filles que les garçons. Classiquement, ce type de maladie apparaît chez un enfant dont les parents ont une seule copie mutée qu'ils ont transmis à leur enfant. Les parents ont toujours un gène qui fonctionne correctement et ne sont donc pas malades : ils sont porteurs hétérozygotes ou porteurs sains. La probabilité pour un couple hétérozygote d'avoir un enfant malade est de 25% pour chaque grossesse.



Source : <https://www.jewishgeneticdiseases.org/genetics-and-carrier->

En France, le dépistage des maladies autosomiques récessives n'est autorisé que pour les familles ayant déjà un enfant malade ou pour les couples avec un lien de parenté (cousins germains par exemple).

Cependant, dans la majorité des cas, ces maladies surviennent alors qu'il n'y a ni antécédent familial, ni consanguinité parentale : leur dépistage avant la grossesse (dépistage préconceptionnel) n'est, dans ces conditions, pas autorisé en France. Ce test est néanmoins autorisé dans d'autres pays et pour l'ensemble des individus demandeurs.

Il serait intéressant de proposer le dépistage préconceptionnel à cause des particularités génétiques de La Réunion : les maladies géniques autosomiques récessives sont plus fréquentes voire spécifiques du fait du mode de peuplement de l'île et de sa situation géographique.

Le dépistage préconceptionnel à La Réunion aurait pour but d'identifier des mutations fréquentes responsables de maladies autosomiques récessives fréquentes et sévères de l'enfant. Ce test serait réalisé chez les deux membres d'un couple ayant un projet d'enfant, sans histoire connue de maladie génétique, et demandeurs après une information appropriée. Ce test permettrait au couple de connaître le risque génétique pour sa descendance vis-à-vis des maladies et des mutations recherchées, et uniquement de celles-ci.

Ce résultat permettrait ainsi au couple informé, de choisir :

- 1 - d'interrompre la grossesse si le fœtus est atteint après la réalisation d'un diagnostic prénatal, ou de bénéficier d'un diagnostic pré-implantatoire après fécondation in vitro (FIV).
- 2 - de réaliser un diagnostic prénatal et de mettre en route un traitement pendant la grossesse afin d'améliorer le pronostic de l'enfant à naître si la maladie est présente et qu'un traitement est disponible.
- 3 - de réaliser un diagnostic prénatal pendant la grossesse afin de proposer, si la maladie est présente, un traitement et un suivi précoces à la naissance pour améliorer le pronostic ou le confort de vie de l'enfant.
- 4 - de ne pas modifier son attitude vis à vis de la grossesse

Afin de mieux connaître votre opinion sur cette nouvelle pratique, nous vous proposons de répondre à quelques questions

1. Quel est votre âge \*

---

2. Vous êtes \*

*Mark only one oval.*

une femme

un homme

3. Quelle est votre origine ? \*

*Mark only one oval.*

La Réunion

La métropole

4. Quel est votre niveau d'étude ? \*

*Mark only one oval.*

Primaire

Secondaire

CAP/BEP

BAC

Licence

Master et +

5. Quelle est votre profession ? \*

*Mark only one oval.*

- Sans activité professionnelle
- Etudiant
- Agriculteur exploitant
- Employé artisan/ commerçant
- Chef d'entreprise
- Cadre
- Professionnel de Santé
- Autre

6. Êtes-vous en couple ? \*

*Mark only one oval.*

- Oui
- Non

7. Avez-vous des enfants ? \*

*Mark only one oval.*

- Oui
- Non

Quel est votre avis concernant les questions suivantes sur le Dépistage PréConceptionnel (DPC) ?

8. Tous les couples ayant un projet de grossesse doivent réaliser un DPC. \*

*Mark only one oval.*

	1	2	3	4	5	
Pas du tout d'accord	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	Tout à fait d'accord

9. Un couple ayant un projet de grossesse doit pouvoir réaliser un DPC, s'il le souhaite. \*

*Mark only one oval.*

	1	2	3	4	5	
Pas du tout d'accord	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	Tout à fait d'accord

10. Si possible, le DPC doit pouvoir rechercher toutes les maladies génétiques. \*

*Mark only one oval.*

	1	2	3	4	5	
Pas du tout d'accord	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	Tout à fait d'accord

11. Le DPC doit être réservé seulement aux maladies géniques fréquentes. \*

*Mark only one oval.*

	1	2	3	4	5	
Pas du tout d'accord	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	Tout à fait d'accord

---

12. Le DPC doit être réservé seulement aux maladies géniques graves. \*

*Mark only one oval.*

	1	2	3	4	5	
Pas du tout d'accord	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	Tout à fait d'accord

13. Le DPC doit être réservé seulement aux maladies géniques survenant chez l'enfant. \*

*Mark only one oval.*

	1	2	3	4	5	
Pas du tout d'accord	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	Tout à fait d'accord

14. Il est irresponsable pour les futurs parents de ne pas réaliser de DPC. \*

*Mark only one oval.*

	1	2	3	4	5	
Pas du tout d'accord	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	Tout à fait d'accord

15. 15. Le DPC entraîne une plus grande anxiété pendant la grossesse chez les couples qui en ont bénéficié. \*

*Mark only one oval.*

	1	2	3	4	5	
Pas du tout d'accord	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	Tout à fait d'accord



16. Le DPC est une intrusion dans la vie des couples et reflète une surmédicalisation du monde d'aujourd'hui. \*

Mark only one oval.

	1	2	3	4	5	
Pas du tout d'accord	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	Tout à fait d'accord

17. Si les progrès technologiques le permettaient, pensez-vous qu'un DPC devrait être mis en place dans les groupes de maladies suivantes d'origine génétique ? \*

Check all that apply.

	Oui	Non	Ne se prononce pas
La déficience mentale	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
La cécité (malvoyance)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Le nanisme	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
La surdité	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
La drépanocytose (maladie des globules rouges responsable de douleurs et d'un risque augmenté de faire des thromboses (caillots sanguins))	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
L'ob�sitt� génétique	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
La prédisposition génétique au cancer du sein	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
La maladie de Huntington (maladie neurologique survenant chez l'adulte avec des mouvements involontaires et une dégradation psychique évoluant vers un décès prématuré)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>



## L'implantation du Dépistage PréConceptionnel à La Réunion

La question du DPC à La Réunion est importante car :

- Certaines maladies génétiques sont retrouvées exclusivement à La Réunion
- Même en l'absence de lien de parenté connu, les deux membres du couple peuvent être porteurs de la même mutation, transmise par un ancêtre commun il y a plusieurs générations.

Notre objectif est de proposer un test génétique accessible et adapté à la population Réunionnaise. Cette analyse recherchera des mutations spécifiques responsables de 11 maladies autosomiques récessives graves et incurables (sans traitement efficace), survenant chez l'enfant.

Le syndrome RAVINE (maladie neurologique débutant chez le nourrisson par des vomissements incontrôlables et un retard de croissance ; évolution marquée par des troubles neurologiques sévères et le décès)

Le syndrome de Larsen Réunionnais (maladie des os associant un nanisme, des déformations os, des luxations et entorses à répétition)

La mucoviscidose (troubles respiratoires avec des infections à répétitions nécessitant souvent une greffe de poumons après 20 ans)

La protéinose alvéolaire pulmonaire (maladie des poumons entraînant des difficultés respiratoires qui nécessitent une greffe de poumons dans l'enfance)

Le syndrome Salt and Pepper (maladie neurologique débutant chez le nourrisson avec une épilepsie, une régression du développement à l'origine d'un handicap sévère.)

Le syndrome de Fryns (maladie associant plusieurs malformations du diaphragme, des poumons, du cerveau, des reins, des mains à l'origine d'un décès du nouveau-né)

Le syndrome de Cockayne (maladie associant un nanisme, des difficultés alimentaires, une régression du développement sévère)

L'amyotrophie spinale infantile (maladie de la moelle épinière avec perte de la marche, difficultés respiratoires et décès prématuré dans l'enfance)

La leucodystrophie métachromatique (maladie du cerveau avec un retard mental, un handicap moteur, une épilepsie et des troubles psychiatriques)

L'alpha-mannosidose (maladie responsable d'une dégradation intellectuelle progressive, d'une immunodépression, d'anomalies des os et d'une surdité)

L'hyperplasie congénitale des surrénales (maladie responsable entre autre d'une virilisation excessive des petites filles à la naissance). Son diagnostic chez un fœtus féminin permet de débiter un traitement pendant la grossesse et d'empêcher l'anomalie des organes sexuels.

18. Connaissez-vous dans votre entourage quelqu'un souffrant d'une des maladies citées ci-dessus ? \*

*Mark only one oval.*

- Oui    *Skip to question 20*  
 Non    *Skip to question 22*

19. Souhaiteriez-vous (avec votre partenaire) bénéficier d'un dépistage préconceptionnel des maladies citées ci-dessus ? \*

*Mark only one oval.*

- Oui    *Skip to question 20*  
 Non    *Skip to question 22*

Si oui,

20. Pour quelle raison ? \*

*Mark only one oval.*

- Je renoncerais à avoir un enfant si mon partenaire et moi étions porteurs  
 Je souhaiterais recourir à un diagnostic prénatal ou un diagnostic préimplantatoire si mon partenaire et moi étions porteurs  
 Je suis curieux(se) de connaître mon statut  
 Other: \_\_\_\_\_

21. Pour quelle(s) maladie(s) ? \*

*Check all that apply.*

	Oui	Non	Ne se prononce pas
Le syndrome RAVINE	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Le syndrome de Larsen Réunionnais	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
La mucoviscidose	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
La protéinose alvéolaire pulmonaire	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Le syndrome Salt and Pepper	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Le syndrome de Fryns	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Le syndrome de Cockayne	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
L'amyotrophie spinale infantile	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
La leucodystrophie métachromatique	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
L'alpha-mannosidose	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
L'hyperplasie congénitale des surrénales	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Si non,

22. Pour quelle(s) raison(s) ?

*Mark only one oval.*

- Ce dépistage ne m'intéresse pas et ne changerait pas mes projets de grossesse.
- Ce type de test me semble inapproprié.
- Je ne me prononce pas
- Other: \_\_\_\_\_

## Annexe 3 : Profil de l'ensemble des personnes ayant répondu au questionnaire

	Age		Sexe				Niveau scolaire				En couple		Avec un ou des enfants		Avec des antécédents dans l'entourage	
			Femme		Homme		Bac et inférieur		Formation universitaire							
	Moyen	Ecart-type	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%		
Renoncerait à avoir un enfant (n = 4)	27	6,78	2	50	2	50	3	75	1	25	3	75	3	75	1	25
Souhaiterait avoir recours à un DPN ou un DPI (n = 51)	30,1	9,25	43	84,3	8	15,7	7	13,7	44	86,3	32	62,7	14	27,4	12	23,5
Je suis curieux de connaître mon statut génotypique (n = 25)	33	6,34	14	56	11	44	7	28	18	72	16	64	10	40	2	8
Autre : J'aviserais en fonction de la pathologie présente chez mon enfant et de sa gravité (n = 1)	24	NA	1	100	0	0	0	0	1	100	0	0	0	0	0	0
Autre : Je souhaite pouvoir être préparé mentalement à une éventualité de maladie (n = 1)	22	NA	1	100	0	0	0	0	1	100	1	100	0	0	0	0

Tableau 1 : Profil des répondants en faveur d'un DPCG pour leur usage personnel

	Age		Sexe				Niveau scolaire				En couple		Avec un ou des enfants		Avec des antécédents dans l'entourage	
			Femme		Homme		Bac et inférieur		Formation universitaire							
	Moyen	Ecart-type	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%		
Ce dépistage ne m'intéresse pas et ne changerait pas mes projets de grossesse (n = 6)	31,3	6,86	4	66,7	2	33,3	3	50	3	50	5	83,3	3	50	1	16,7
Ce type de test me semble inapproprié (n = 5)	53,8	13,1	3	60	2	40	2	40	3	60	4	80	5	100	0	0
Je ne me prononce pas (n = 16)	37	13,7	10	62,5	6	37,5	6	37,5	10	62,5	11	68,7	8	50	0	0
Je suis trop âgé (n = 7)	59,1	7,99	7	100	0	0	3	42,9	4	57,1	5	71,4	7	100	0	0
Je n'ai pas/plus de projet de grossesse (n = 12)	42,5	8,35	8	66,7	4	33,3	6	50	6	50	11	91,7	11	91,7	4	33,3
Je n'ai pas de partenaire (n = 2)	24	1,41	0	0	2	100	0	0	2	100	0	0	0	0	0	0
Autre : sans motif évoqué (n = 6)	44,2	13,9	6	100	0	0	2	33,3	4	66,6	4	66,6	4	66,6	0	0
Autre : Je suis homosexuel (n = 1)	25	NA	0	0	1	100	0	0	1	100	0	0	0	0	0	0

Tableau 2 : Profil des répondants ne voulant pas recourir au DPCG pour leur usage personnel

## Annexe 4 : Résultats du questionnaire : analyses en sous-groupes

- Selon l'âge

Intitulé	Individus de 40 ans et moins						Individus de 41 ans et plus						p-values
	Pas d'accord		Ni d'accord ni pas d'accord		D'accord		Pas d'accord		Ni d'accord ni pas d'accord		D'accord		
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
Tous les couples ayant un projet de grossesse doivent réaliser un DPC.	24	23,8	30	29,7	47	46,5	7	19,4	9	25	20	55,8	0.6484
Un couple ayant un projet de grossesse doit pouvoir réaliser un DPC, s'il le souhaite.	3	2,97	2	1,98	96	95,0	2	5,56	1	2,78	33	91,7	0.7425
Si possible, le DPC doit pouvoir rechercher toutes les maladies génétiques.	7	6,93	18	17,8	76	75,2	2	5,56	3	8,33	31	86,1	0.3613
Le DPC doit être réservé seulement aux maladies génétiques fréquentes.	57	56,4	16	15,8	28	27,7	24	66,7	4	11,1	8	22,2	0.5537
Le DPC doit être réservé seulement aux maladies génétiques graves.	69	68,3	16	15,8	16	15,8	23	63,9	6	16,7	7	19,4	0.8633
Le DPC doit être réservé seulement aux maladies génétiques survenant chez l'enfant.	78	77,2	12	11,9	11	10,9	28	77,8	4	11,1	4	11,1	0.9922
Il est irresponsable pour les futurs parents de ne pas réaliser de DPC.	53	52,5	29	28,7	19	18,8	17	47,2	7	19,4	12	33,3	0.1751
Le DPC entraîne une plus grande anxiété pendant la grossesse chez les couples qui en ont bénéficié.	26	25,7	46	45,5	29	28,7	10	27,8	19	52,8	7	19,4	0.5482
Le DPC est une intrusion dans la vie des couples et reflète une surmédicalisation du monde d'aujourd'hui.	77	76,2	17	16,8	7	6,93	16	44,4	14	38,9	6	16,7	0.0021
Si les progrès technologiques le permettaient, pensez-vous qu'un DPC devrait être mis en place dans les groupes de maladies suivantes d'origine génétique ?	Oui		Non		Ne se prononce pas		Oui		Non		Ne se prononce pas		
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
La déficience intellectuelle	76	75,2	9	8,91	16	15,8	27	75	2	5,56	7	19,4	0.7492
La cécité (malvoyance)	77	76,2	13	12,9	11	10,9	25	69,4	2	5,56	9	25	0.1031
Le nanisme	71	70,3	13	12,9	17	16,8	25	69,4	1	2,78	10	27,8	0.1187
La surdité	73	72,3	16	15,8	12	11,9	24	66,7	2	5,56	10	27,8	0.0669
La drépanocytose	88	87,1	7	6,93	6	5,94	30	83,3	3	8,33	3	8,33	0.8406
L'ob�sitt� génétique	57	56,4	31	30,7	13	12,9	19	52,8	8	22,2	9	25	0.2541
La prédisposition génétique au cancer du sein	67	66,3	23	22,8	11	10,9	25	69,4	6	16,7	5	13,9	0.7416
La maladie de Huntington	86	85,1	7	6,93	8	7,92	32	88,9	2	5,56	2	5,56	0.9073
Connaissez-vous dans votre entourage quelqu'un souffrant d'une des maladies citées ci-dessus ?	Oui		Non				Oui		Non				
	N	%	n	%			n	%	n	%			
	16	15,8	85	84,2			11	30,6	25	69,4			0.0567
Souhaiteriez-vous (avec votre partenaire) bénéficier d'un dépistage préconceptionnel des maladies citées ci-dessus ?	Oui		Non				Oui		Non				
	N	%	n	%			n	%	n	%			
	75	74,3	26	25,7			7	19,4	29	80,6			<.0001

- Selon l'âge (suite)

	Individus de 40 ans et moins						Individus de 41 ans et plus						p-values
	n		%		Ne se prononce pas		n		%		Ne se prononce pas		
Si oui, pour quelle raison ?	n	%							n	%			
Je renoncerais à avoir un enfant si mon partenaire et moi étions porteurs	4	3,06											
Je souhaiterais à un DPN ou un DPI si mon partenaire et moi étions porteurs	47	46,5							4	57,1			
Je suis curieux(se) de connaître mon statut	22	21,8							3	42,9			0,9135
Autre	2	1,98											
Pour quelle pathologie souhaiteriez bénéficier d'une DPCG ?	Oui		Non		Ne se prononce pas		Oui		Non		Ne se prononce pas		
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
Le syndrome RAVINE	69	68,3	0		6	5,94	7						0,4370
Le syndrome de Larsen Réunionnais	69	68,3	0		6	5,94	7						0,7393
La mucoviscidose	71	70,3	0		4	3,96	6	85,7	1	14,3			0,0110
La protéinose alvéolaire pulmonaire	70	69,3	0		5	4,95	7						0,7800
Le syndrome Salt & Pepper	68	67,3	0		7	6,93	7						0,3980
Le syndromes de Fryns	68	67,3	0		7	6,93	7						0,3980
Le syndrome de Cockayne	66	65,3	0		9	8,91	7						0,3314
L'amyotrophie spinale infantile	70	69,3	0		5	4,95	6	85,7	1	14,3			0,0037
La leucodystrophie métachromatique	69	68,3	0		6	5,94	7						0,4370
L'alpha-mannosidose	67	66,3	0		8	7,92	7						0,3630
L'hyperplasie congénitale des surrénales	69	68,3	0		6	5,94	7						0,4370
Si non, pour quelle raison ?	n	%							n	%			
Ce dépistage ne m'intéresse pas et ne changerait pas mes projets de grossesse	6	23,1							0				
Ce type de test me semble inapproprié	1	3,85							4	13,8			
Je ne me prononce pas	10	38,5							6	20,7			
Pas de projet de grossesse	4	15,4							8	27,6			0,0026
Trop âgé pour un projet parental	0	0							7	24,1			
Pas de partenaire	2	7,69							0	0			
Autre	3	11,5							4	13,			

- Selon le sexe

Intitulé	Femmes						Hommes						p-values
	Pas d'accord		Ni d'accord ni pas d'accord		D'accord		Pas d'accord		Ni d'accord ni pas d'accord		D'accord		
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
Tous les couples ayant un projet de grossesse doivent réaliser un DPC.	22	22,2	30	30,3	47	47,5	9	23,7	9	23,7	20	52,6	0.7416
Un couple ayant un projet de grossesse doit pouvoir réaliser un DPC, s'il le souhaite.	4	4,04	1	1,01	94	94,9	1	2,63	2	5,23	35	92,1	0.2950
Si possible, le DPC doit pouvoir rechercher toutes les maladies génétiques.	7	7,07	15	15,2	77	77,8	2	5,26	6	15,8	30	78,9	0.9284
Le DPC doit être réservé seulement aux maladies génétiques fréquentes.	60	60,6	15	15,2	24	24,2	21	55,3	5	13,1	12	31,6	0.6805
Le DPC doit être réservé seulement aux maladies génétiques graves.	65	65,6	18	18,2	16	16,2	27	71,1	4	10,5	7	18,4	0.5475
Le DPC doit être réservé seulement aux maladies génétiques survenant chez l'enfant.	77	77,8	11	11,1	11	11,1	29	76,3	5	13,2	4	10,5	0.9443
Il est irresponsable pour les futurs parents de ne pas réaliser de DPC.	54	54,6	23	23,2	22	22,2	16	42,1	13	34,2	9	23,7	0.3470
Le DPC entraîne une plus grande anxiété pendant la grossesse chez les couples qui en ont bénéficié.	28	28,3	43	43,4	28	28,3	8	21,1	22	57,9	8	21,1	0.3162
Le DPC est une intrusion dans la vie des couples et reflète une surmédicalisation du monde d'aujourd'hui.	68	68,7	23	23,2	8	8,08	25	65,8	8	21,1	5	13,1	0.6579
Si les progrès technologiques le permettaient, pensez-vous qu'un DPC devrait être mis en place dans les groupes de maladies suivantes d'origine génétique ?	Oui		Non		Ne se prononce pas		Oui		Non		Ne se prononce pas		
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
La déficience intellectuelle	72	72,7	11	11,1	16	16,2	31	81,6	0	0	7	18,4	0.1007
La cécité (malvoyance)	71	71,8	14	14,1	14	14,1	31	81,6	1	2,63	6	15,8	0.0977
Le nanisme	65	65,7	13	13,1	21	21,2	31	81,6	1	2,63	6	15,8	0.1127
La surdité	66	66,7	16	16,2	17	17,2	31	81,6	2	5,26	5	13,2	0.1396
La drépanocytose	86	86,9	6	6,06	7	7,07	32	84,2	4	10,5	2	5,26	0.6347
L'ob�siti� génétique	51	51,5	33	33,3	15	15,2	25	65,8	6	15,8	7	18,4	0.0862
La prédisposition génétique au cancer du sein	63	63,6	26	26,3	10	10,1	29	76,3	3	7,89	6	15,8	0.0880
La maladie de Huntington	86	86,9	6	6,06	7	7,07	32	84,2	3	7,89	3	7,89	0.4065
Connaissez-vous dans votre entourage quelqu'un souffrant d'une des maladies citées ci-dessus ?	Oui		Non				Oui		Non				
	n	%	n	%			n	%	n	%			
	19	19,2	80	80,8			8	21,1	30	78,9			0.8064
Souhaiteriez-vous (avec votre partenaire) bénéficier d'un dépistage préconceptionnel des maladies citées ci-dessus ?	Oui		Non				Oui		Non				
	n	%	n	%			n	%	n	%			
	61	61,6	38	38,4			21	55,3	17	44,7			0.4970
Si oui, pour quelle raison ?	n	%					n	%					
Je renoncerais à avoir un enfant si mon partenaire et moi étions porteurs	2	3,28					2	9,52					
Je souhaiterais à un DPN ou un DPI si mon partenaire et moi étions porteurs	43	70,5					8	38,1					0.0608
Je suis curieux(se) de connaître mon statut	14	22,9					11	52,4					
Autre	2	3,28											
Pour quelle pathologie souhaiteriez bénéficier d'une DPCG ?	Oui		Non		Ne se prononce pas		Oui		Non		Ne se prononce pas		
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
Le syndrome RAVINE	57	93,4	0		4	6,56	19	90,5	0		2	9,52	0.6525
Le syndrome de Larsen Réunionnais	57	93,4	0		4	6,56	19	90,5	0		2	9,52	0.2229
La mucoviscidose	58	95,1	1	1,64	2	3,28	19	90,5	0		2	9,52	0.3369
La protéinose alvéolaire pulmonaire	58	95,1	0		3	4,92	19	90,5			2	9,52	0.2298
Le syndrome Salt & Pepper	56	91,8	0		5	8,20	19	90,5			2	9,52	0.8511
Le syndrome de Fryns	56	91,8	0		5	8,20	19	90,5			2	9,52	0.8511
Le syndrome de Cockayne	54	88,5	0		7	11,5	19	90,5			2	9,52	0.8051
L'amyotrophie spinale infantile	56	91,8	1	1,64	4	6,56	20	95,2			1	4,76	0.7998
La leucodystrophie métachromatique	56	91,8	0		5	8,20	20	95,2			1	4,76	0.6021
L'alpha-mannosidose	55	90,2	0		6	9,84	19	90,5			2	9,52	0.9668
L'hyperplasie congénitale des surrénales	57	93,4	0		4	6,56	19	90,5			2	9,52	0.6525
Si non, pour quelle raison ?	n	%					n	%					
Ce dépistage ne m'intéresse pas et ne changerait pas mes projets de grossesse	4	10,5					2	11,8					
Ce type de test me semble inapproprié	3	7,89					2	11,8					
Je ne me prononce pas	10	26,3					6	35,3					0.1474
Pas de projet de grossesse	8	21,0					4	23,5					
Trop âgé pour un projet parental	7	18,4											
Pas de partenaire							2	11,8					
Autre	6	15,8					1	5,89					

• Selon le statut marital

Intitulé	En couple						Pas en couple						p-value
	Pas d'accord		Ni d'accord ni pas d'accord		D'accord		Pas d'accord		Ni d'accord ni pas d'accord		D'accord		
	n	%	N	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
Tous les couples ayant un projet de grossesse doivent réaliser un DPC.	23	25	21	22,8	48	52,2	8	17,8	18	40	19	42,2	0.1086
Un couple ayant un projet de grossesse doit pouvoir réaliser un DPC, s'il le souhaite.	3	3,26	2	2,17	87	94,6	2	4,44	1	2,22	42	93,3	0.9412
Si possible, le DPC doit pouvoir rechercher toutes les maladies génétiques.	7	7,61	10	10,9	75	81,5	2	4,44	11	24,4	32	71,1	0.1047
Le DPC doit être réservé seulement aux maladies génétiques fréquentes.	56	60,9	13	14,1	23	25	25	55,5	7	15,6	13	28,9	0.8351
Le DPC doit être réservé seulement aux maladies génétiques graves.	61	66,3	14	15,2	17	18,5	31	68,9	8	17,8	6	13,3	0.7298
Le DPC doit être réservé seulement aux maladies génétiques survenant chez l'enfant.	75	81,5	9	9,78	8	8,69	31	68,9	7	15,6	7	15,6	0.2485
Il est irresponsable pour les futurs parents de ne pas réaliser de DPC.	49	53,3	22	23,9	21	22,8	21	46,7	14	31,1	10	22,2	0.6512
Le DPC entraîne une plus grande anxiété pendant la grossesse chez les couples qui en ont bénéficié.	24	26,1	45	48,9	23	25	12	26,7	20	44,4	13	28,9	0.8586
Le DPC est une intrusion dans la vie des couples et reflète une surmédicalisation du monde d'aujourd'hui.	62	67,4	22	23,9	8	8,70	31	68,9	9	20	5	11,1	0.8186
Si les progrès technologiques le permettaient, pensez-vous qu'un DPC devrait être mis en place dans les groupes de maladies suivantes d'origine génétique ?	Oui		Non		Ne se prononce pas		Oui		Non		Ne se prononce pas		
	n	%	N	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
La déficience intellectuelle	66	71,7	8	8,70	18	19,6	37	82,2	3	6,67	5	11,1	0.3900
La cécité (malvoyance)	62	67,4	12	13,0	18	19,6	40	88,89	3	6,67	2	4,44	0.0508
Le nanisme	62	67,4	10	10,9	20	21,7	34	75,6	4	8,89	7	15,6	0.6096
La surdité	60	65,2	14	15,2	18	19,6	37	82,22	4	8,89	4	8,89	0.3274
La drépanocytose	81	88,0	6	6,52	5	5,43	37	82,2	4	8,89	4	8,89	0.6377
L'obésité génétique	50	54,3	26	28,3	16	17,4	26	57,8	13	28,9	6	13,3	0.4089
La prédisposition génétique au cancer du sein	61	66,3	19	20,7	12	13,0	31	68,9	10	22,2	4	8,89	0.3572
La maladie de Huntington	79	85,9	7	7,61	6	6,52	39	86,7	2	4,44	4	8,89	0.4738
Connaissez-vous dans votre entourage quelqu'un souffrant d'une des maladies citées ci-dessus ?	Oui		Non				oui		Non				
	n	%	n	%			n	%	n	%			
	22	23,9	70	76,1			5	11,1	40	88,9			0.0769
Souhaiteriez-vous (avec votre partenaire) bénéficier d'un dépistage préconceptionnel des maladies citées ci-dessus ?	Oui		Non				Oui		Non				
	n	%	n	%			n	%	n	%			
	52	56,5	40	43,5			30	66,7	15	33,3			0.2553
Si oui, pour quelle raison ?	n	%					n	%					
Je renoncerais à avoir un enfant si mon partenaire et moi étions porteurs	3	5,77					1	3,33					
Je souhaiterais à un DPN ou un DPI si mon partenaire et moi étions porteurs	32	61,5					19	63,3					0.6348
Je suis curieux(se) de connaître mon statut	16	30,8					9	30					
Autre	1	1,92					1	3,33					
Pour quelle pathologie souhaiteriez bénéficier d'une DPCG ?	Oui		Non		Ne se prononce pas		Oui		Non		Ne se prononce pas		
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
Le syndrome RAVINE	48	92,3	0	0	4	7,70	28	93,3	0		2	6,67	0.8636
Le syndrome de Larsen Réunionnais	48	92,3	0	0	4	7,70	28	93,3	0		2	6,67	0.3122
La mucoviscidose	48	92,3	1	1,92	3	5,77	29	96,7	0		1	3,33	0.2530
La protéinose alvéolaire pulmonaire	49	94,2	0	0	3	5,77	28	93,3	0		2	6,67	0.6412
Le syndrome Salt & Pepper	48	92,3	0	0	4	7,69	27	90	0		3	10	0.7187
Le syndrome de Fryns	48	92,3	0	0	4	7,69	27	90	0		3	10	0.7187
Le syndrome de Cockayne	47	90,4	0	0	5	9,61	26	86,7	0		4	13,3	0.6039
L'amyotrophie spinale infantile	48	92,3	1	1,92	3	5,77	28	93,3	0		2	6,67	0.7393
La leucodystrophie métachromatique	48	92,3	0	0	4	7,69	28	93,3	0		2	6,67	0.8636
L'alpha-mannosidose	47	90,4	0	0	5	9,62	27	90	0		3	10	0.9549
L'hyperplasie congénitale des surrénales	49	94,2	0	0	3	5,77	27	90	0		3	10	0.4786
Si non, pour quelle raison ?	n	%					n	%					
Ce dépistage ne m'intéresse pas et ne changerait pas mes projets de grossesse	5	12,5					1	6,67					
Ce type de test me semble inapproprié	4	10					1	6,67					
Je ne me prononce pas	11	27,5					5	33,3					0.0898
Pas de projet de grossesse	11	27,5					1	6,67					
Trop âgé pour un projet parental	5	12,5					2	13,3					
Pas de partenaire		0					2	13,3					
Autre	4	10					3	20					



- Selon les antécédents de maladies génétiques dans l'entourage

Intitulé	Avec antécédent dans l'entourage						Sans antécédent dans l'entourage						p-value
	Pas d'accord		Ni d'accord ni pas d'accord		D'accord		Pas d'accord		Ni d'accord ni pas d'accord		D'accord		
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
Tous les couples ayant un projet de grossesse doivent réaliser un DPC.	6	22,2	10	37,0	11	40,7	25	22,7	29	26,4	56	50,9	0.5147
Un couple ayant un projet de grossesse doit pouvoir réaliser un DPC, s'il le souhaite.	0	0	1	3,70	26	96,3	5	4,55	2	1,82	103	93,6	0.4503
Si possible, le DPC doit pouvoir rechercher toutes les maladies génétiques.	2	7,41	3	11,1	22	81,5	7	6,36	18	16,4	85	77,3	0.7885
Le DPC doit être réservé seulement aux maladies génétiques fréquentes.	14	51,8	6	22,2	7	25,9	67	60,9	14	12,7	29	26,4	0.4402
Le DPC doit être réservé seulement aux maladies génétiques graves.	16	59,3	5	18,5	6	22,2	76	69,0	17	15,5	17	15,5	0.5974
Le DPC doit être réservé seulement aux maladies génétiques survenant chez l'enfant.	24	88,9	1	3,70	2	7,41	82	74,5	15	13,6	13	11,8	0.2475
Il est irresponsable pour les futurs parents de ne pas réaliser de DPC.	13	48,1	7	25,9	7	25,9	57	51,8	29	26,4	24	21,8	0.8957
Le DPC entraîne une plus grande anxiété pendant la grossesse chez les couples qui en ont bénéficié.	7	25,9	14	51,8	6	22,2	29	26,7	51	46,4	30	27,3	0.8396
Le DPC est une intrusion dans la vie des couples et reflète une surmédicalisation du monde d'aujourd'hui.	19	70,4	5	18,5	3	11,1	74	67,3	26	23,6	10	9,10	0.8291
Si les progrès technologiques le permettaient, pensez-vous qu'un DPC devrait être mis en place dans les groupes de maladies suivantes d'origine génétique ?	Oui		Non		Ne se prononce pas		Oui		Non		Ne se prononce pas		
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
La déficience intellectuelle	18	66,7	5	18,5	4	14,8	85	77,3	6	5,45	19	17,3	0.0817
La cécité (malvoyance)	21	77,8	4	14,8	2	7,41	81	73,6	11	10	18	16,4	0.6222
Le nanisme	19	70,4	4	14,8	4	14,8	77	70	10	9,10	23	20,9	0.5758
La surdité	18	66,7	6	22,2	3	11,1	79	71,8	12	10,9	19	17,3	0.5639
La drépanocytose	25	92,6	2	7,41	0	0	93	84,5	8	7,27	9	8,18	0.3053
L'obésité génétique	12	44,4	9	33,3	6	22,2	64	58,2	30	27,3	16	14,5	0.5115
La prédisposition génétique au cancer du sein	18	66,7	6	22,2	3	11,1	74	67,3	23	20,9	13	11,8	0.9665
La maladie de Huntington	22	81,5	5	18,5	0	0	96	87,3	4	3,64	10	9,09	0.0199
Souhaiteriez-vous (avec votre partenaire) bénéficier d'un dépistage préconceptionnel des maladies citées ci-dessus ?	Oui		Non				Oui		Non				
	n	%	n	%			n	%	n	%			
	15	55,6	12	44,4	0		67	60,9	43	39,1	0		0.6111
Si oui, pour quelle raison ?	n	%					n	%					
Je renoncerais à avoir un enfant si mon partenaire et moi étions porteurs	1	6,67					3	4,48					
Je souhaiterais à un DPN ou un DPI si mon partenaire et moi étions porteurs	12	80					39	58,2					0.5128
Je suis curieux(se) de connaître mon statut	2	13,3					23	34,3					
Autre							2	2,98					
Pour quelle pathologie souhaiteriez bénéficier d'une DPCG ?	Oui		Non		Ne se prononce pas		Oui		Non		Ne se prononce pas		
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
Le syndrome RAVINE	14	93,3	0	0	1	6,67	62	92,5	0		5	7,46	0.9148
Le syndrome de Larsen Réunionnais	14	93,3	0	0	1	6,67	62	92,5	0		5	7,46	0.8894
La mucoviscidose	14	93,3	1	6,67	0	0	63	94,0	0		4	6,00	0.1471
La protéinose alvéolaire pulmonaire	13	86,7	0	0	2	13,3	63	94,0	0		4	6,00	0.8416
Le syndrome Salt & Pepper	13	86,7	0	0	2	13,3	62	92,5	0		5	7,46	0.4620
Le syndrome de Fryns	13	86,7	0	0	2	13,3	62	92,5	0		5	7,46	0.4620
Le syndrome de Cockayne	13	86,7	0	0	2	13,3	60	89,6	0		7	10,4	0.7466
L'amyotrophie spinale infantile	12	80	1	6,67	2	13,3	64	95,5	0		3	4,48	0.0416
La leucodystrophie métachromatique	14	93,3	0	0	1	6,67	62	92,5	0		5	7,46	0.9148
L'alpha-mannosidose	14	93,3	0	0	1	6,67	60	89,6	0		7	10,4	0.6555
L'hyperplasie congénitale des surrénales	14	93,3	0	0	1	6,67	62	92,5	0		5	7,46	0.9148
Si non, pour quelle raison ?	n	%					n	%					
Ce dépistage ne m'intéresse pas et ne changerait pas mes projets de grossesse	1	8,33					5	11,6					
Ce type de test me semble inapproprié	0	0					5	11,6					
Je ne me prononce pas	4	33,3					12	27,9					
Pas de projet de grossesse	5	41,7					6	13,9					0.5732
Trop âgé pour un projet parental	2	16,7					1	2,33					
Pas de partenaire	0	0					2	4,65					
Autre	0	0					7	16,3					

## REFERENCES

1. Chokoshvili D, Vears D, Borry P. Expanded carrier screening for monogenic disorders: where are we now? *Prenat Diagn*. 2018;38(1):59–66.
2. Rose NC, Wick M. Carrier screening for single gene disorders. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2018;23(2):78–84.
3. Grody WW, Thompson BH, Gregg AR, Bean LH, Monaghan KG, Schneider A, et al. ACMG position statement on prenatal/preconception expanded carrier screening. *Genet Med Off J Am Coll Med Genet*. 2013 Jun;15(6):482–3.
4. Zlotogora J. Population programs for the detection of couples at risk for severe monogenic genetic diseases. *Hum Genet*. 2009 Aug;126(2):247–53.
5. Delatycki MB, Alkuraya F, Archibald A, Castellani C, Cornel M, Grody WW, et al. International perspectives on the implementation of reproductive carrier screening. *Prenat Diagn*. 2020;40(3):301–10.
6. Henneman L, Borry P, Chokoshvili D, Cornel MC, van El CG, Forzano F, et al. Responsible implementation of expanded carrier screening. *Eur J Hum Genet*. 2016 Jun;24(6):e1–12.
7. Angastiniotis MA, Hadjiminias MG. Prevention of thalassaemia in Cyprus. *Lancet Lond Engl*. 1981 Feb 14;1(8216):369–71.
8. Cao A, P<sup><sc></sup>intus L, Lecca U, Oixa G, Cossu P, Rosatelli C, et al. Control of homozygous  $\beta$ -thalassemia by carrier screening and antenatal diagnosis in Sardinians. *Clin Genet*. 1984;26(1):12–22.
9. Abulí A, Boada M, Rodríguez-Santiago B, Coroleu B, Veiga A, Armengol L, et al. NGS-Based Assay for the Identification of Individuals Carrying Recessive Genetic Mutations in Reproductive Medicine. *Hum Mutat*. 2016;37(6):516–23.
10. Plantinga M, Birnie E, Schuurmans J, Buitenhuis AH, Boersma E, Lucassen AM, et al. Expanded carrier screening for autosomal recessive conditions in health care: Arguments for a couple-based approach and examination of couples' views. *Prenat Diagn*. 2019 Apr;39(5):369–78.
11. Nijmeijer SCM, Conijn T, Lakeman P, Henneman L, Wijburg FA, Haverman L. Attitudes of the general population towards preconception expanded carrier screening for autosomal recessive disorders including inborn errors of metabolism. *Mol Genet Metab*. 2019 Jan 1;126(1):14–22.
12. Schuelke M. An economic method for the fluorescent labeling of PCR fragments. *Nat Biotechnol*. 2000 Feb;18(2):233.
13. Afonina I, Zivarts M, Kutyavin I, Lukhtanov E, Gamper H, Meyer RB. Efficient priming of PCR with short oligonucleotides conjugated to a minor groove binder. *Nucleic Acids Res*. 1997 Jul 1;25(13):2657–60.

14. Hadchouel A, Wieland T, Griese M, Baruffini E, Lorenz-Depiereux B, Enaud L, et al. Biallelic Mutations of Methionyl-tRNA Synthetase Cause a Specific Type of Pulmonary Alveolar Proteinosis Prevalent on Réunion Island. *Am J Hum Genet.* 2015 May 7;96(5):826–31.
15. Yau SC, Bobrow M, Mathew CG, Abbs SJ. Accurate diagnosis of carriers of deletions and duplications in Duchenne/Becker muscular dystrophy by fluorescent dosage analysis. *J Med Genet.* 1996 Jul;33(7):550–8.
16. Korbie DJ, Mattick JS. Touchdown PCR for increased specificity and sensitivity in PCR amplification. *Nat Protoc.* 2008 Sep;3(9):1452–6.
17. Nectoux J, Audrezet MP, Viel M, Leroy C, Raguenes O, Ferec C, et al. A Frequent Large Rearrangement in the CFTR Gene in Cystic Fibrosis Patients from Reunion Island [Internet]. <http://www.liebertpub.com/gte>. 2006 [cited 2019 May 19]. Available from: <https://www.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/gte.2006.10.208>
18. Cartault F, Munier P, Jacquemont M-L, Vellayoudom J, Doray B, Payet C, et al. Expanding the clinical spectrum of B4GALT7 deficiency: homozygous p.R270C mutation with founder effect causes Larsen of Reunion Island syndrome. *Eur J Hum Genet EJHG.* 2015 Jan;23(1):49–53.
19. Cartault F, Munier P, Benko E, Desguerre I, Hanein S, Boddaert N, et al. Mutation in a primate-conserved retrotransposon reveals a noncoding RNA as a mediator of infantile encephalopathy. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012 Mar 27;109(13):4980–5.
20. Sarles J, Huet F, Cheillan D, Roussey M. Dépistage néonatal en France : quel avenir ? *Arch Pédiatrie.* 2014 Aug 1;21(8):813–5.
21. Plantinga M, Birnie E, Abbott KM, Sinke RJ, Lucassen AM, Schuurmans J, et al. Population-based preconception carrier screening: how potential users from the general population view a test for 50 serious diseases. *Eur J Hum Genet.* 2016 Oct;24(10):1417–23.
22. Trisomie 21 [Internet]. Haute Autorité de Santé. [cited 2020 Jun 15]. Available from: [https://www.has-sante.fr/jcms/p\\_3148883/fr/trisomie-21](https://www.has-sante.fr/jcms/p_3148883/fr/trisomie-21)
23. Hasbani DM, Crino PB. Chapter 52 - Tuberous sclerosis complex. In: Geschwind DH, Paulson HL, Klein C, editors. *Handbook of Clinical Neurology* [Internet]. Elsevier; 2018 [cited 2020 May 25]. p. 813–22. (Neurogenetics, Part II; vol. 148). Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780444640765000521>
24. Julian-Reynier C, Chabal F, Frebourg T, Lemery D, Noguès C, Puech F, et al. Professionals Assess the Acceptability of Preimplantation Genetic Diagnosis and Prenatal Diagnosis for Managing Inherited Predisposition to Cancer. *J Clin Oncol.* 2009 Aug 24;27(27):4475–80.

25. Schwarze K, Buchanan J, Taylor JC, Wordsworth S. Are whole-exome and whole-genome sequencing approaches cost-effective? A systematic review of the literature. *Genet Med Off J Am Coll Med Genet*. 2018;20(10):1122–30.
26. Clarke EV, Schneider JL, Lynch F, Kauffman TL, Leo MC, Rosales AG, et al. Assessment of willingness to pay for expanded carrier screening among women and couples undergoing preconception carrier screening. *PLoS ONE [Internet]*. 2018 Jul 18;13(7). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6051630/>
27. Withrow KA, Tracy KA, Burton SK, Norris VW, Maes HH, Arnos KS, et al. Impact of genetic advances and testing for hearing loss: Results from a national consumer survey. *Am J Med Genet A*. 2009;149A(6):1159–68.
28. Nahar R, Puri RD, Saxena R, Verma IC. Do parental perceptions and motivations towards genetic testing and prenatal diagnosis for deafness vary in different cultures? *Am J Med Genet A*. 2013;161(1):76–81.
29. Deng Y, Sang S, Wen J, Liu Y, Ling J, Chen H, et al. Reproductive guidance through prenatal diagnosis and genetic counseling for recessive hereditary hearing loss in high-risk families. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2018 Dec 1;115:114–9.
30. Gollust SE, Thompson RE, Gooding HC, Biesecker BB. Living with achondroplasia: attitudes toward population screening and correlation with quality of life. *Prenat Diagn*. 2003;23(12):1003–8.
31. Gooding HC, Boehm K, Thompson RE, Hadley D, Francomano CA, Biesecker BB. Issues surrounding prenatal genetic testing for achondroplasia. *Prenat Diagn*. 2002;22(10):933–40.
32. Baujat G, Legeai-Mallet L, Finidori G, Cormier-Daire V, Le Merrer M. Achondroplasia. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2008 Mar 1;22(1):3–18.
33. Stefano P, Giuseppe P, Barbara P, Irene DC, Giacinto ADM, Barbara A, et al. Mendelian non-syndromic obesity. *Acta Bio Medica Atenei Parm*. 2020;90(Suppl 10):87–9.
34. Boeck KD. Cystic fibrosis in the year 2020: A disease with a new face. *Acta Paediatr*. 2020;109(5):893–9.
35. Bharucha-Goebel D, Kaufmann P. Treatment Advances in Spinal Muscular Atrophy. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2017 Oct 6;17(11):91.
36. Laugel V, Dalloz C, Stary A, Cormier-Daire V, Desguerre I, Renouil M, et al. Deletion of 5' sequences of the CSB gene provides insight into the pathophysiology of Cockayne syndrome. *Eur J Hum Genet*. 2008 Mar;16(3):320–7.
37. Karikkineth AC, Scheibye-Knudsen M, Fivenson E, Croteau DL, Bohr VA. Cockayne syndrome: Clinical features, model systems and pathways. *Ageing Res Rev*. 2017 Jan;33:3–17.

38. Hawkes S, Hart G. Men's sexual health matters: promoting reproductive health in an international context. *Trop Med Int Health* TM IH. 2000 Jul;5(7):A37-44.
39. Duguépéroux I, Bellis G, Lesure J-F, Renouil M, Flodrops H, Braekeleer MD. Cystic fibrosis at the Reunion Island (France): spectrum of mutations and genotype-phenotype for the Y122X mutation. *J Cyst Fibros*. 2004 Aug 1;3(3):185-8.
40. Cwtuult F, Stefjrrnn J, Viduud D, Botrsquet S, Lestire F, Renotiil M, et al. Detection of more than 91% cystic fibrosis mutations in a sample of the population from Reunion Island and identification of two novel mutations (A309G, S1255L) and one novel polymorphism (L49L). *Clin Genet*. 1998;54(5):437-9.
41. Gordon-Lipkin E, Cohen JS, Srivastava S, Soares BP, Levey E, Fatemi A. ST3GAL5-related disorders: a deficiency in ganglioside metabolism and a genetic cause of intellectual disability and choreoathetosis. *J Child Neurol*. 2018 Nov;33(13):825-31.
42. Dejsuphong D, Taweewongsounon A, Khemthong P, Chitphuk S, Stitchantrakul W, Sritara P, et al. Carrier frequency of spinal muscular atrophy in Thailand. *Neurol Sci Off J Ital Neurol Soc Ital Soc Clin Neurophysiol*. 2019 Aug;40(8):1729-32.
43. Sangaré M, Hendrickson B, Sango HA, Chen K, Nofziger J, Amara A, et al. Genetics of low spinal muscular atrophy carrier frequency in sub-Saharan Africa. *Ann Neurol*. 2014 May 5;75(4):525-32.
44. Cusin V, Clermont O, Gerard B, Chantereau D, Elion J. Prevalence of SMN1 deletion and duplication in carrier and normal populations: implication for genetic counselling. *J Med Genet*. 2003 Apr;40(4):e39.
45. Dubut V, Les polymorphismes de l'ADN mitochondrial et du chromosome Y sur l'île de La Réunion : Etudes des modalités d'un peuplement récent. Bordeaux, Université de Bordeaux 1, 2008. 431 p.

## Le Dépistage Préconceptionnel Génétique (DPCG) : Etat des lieux clinique et biologique en vue de la mise en place d'une étude pilote sur l'île de La Réunion

### Résumé

**Introduction :** A l'échelle internationale, le Dépistage PréConceptionnel Génétique (DPCG) est intégré aux pratiques courantes afin de promouvoir l'autonomie des couples dans leur projet de grossesse. Notre étude suit l'avis du CCNE et s'articule en deux parties : déterminer la demande des Réunionnais vis-à-vis du DPCG et estimer la fréquence des hétérozygotes pour 7 pathologies graves et récurrentes voire spécifiques à La Réunion.

**Méthodes :** Un questionnaire de 22 items a été distribué en ligne pour recueillir l'opinion des Réunionnais majeurs. Sur le plan moléculaire, nous avons mis au point une collection d'ADN issus de 587 individus réunionnais des techniques permettant de rechercher de façon ciblée des 11 mutations récurrentes dans 7 pathologies.

**Résultats :** 129/137 (94%) des sujets interrogés sont favorables au concept de DPCG dont 82 (60%) sont intéressés par un DPCG pour leur bénéfice personnel et 51 (62,2%) en sont demandeurs dans l'optique d'un projet parental. Sur le plan moléculaire, 44/552 (8%) échantillons sont hétérozygotes pour un des variants recherchés.

**Conclusion :** Il existe une demande importante des Réunionnais en faveur du DPCG. Cette demande est étayée par nos analyses qui mettent en évidence une fréquence significative des hétérozygotes dans un échantillon issu de la population générale réunionnaise.

Discipline  
Génétique Médicale

### Mots-clés

Dépistage préconceptionnel ; porteur hétérozygote ; maladie autosomique récessive ; choix reproductif ; diagnostic prénatal ;

Expanded Carrier Screening (ECS): clinical and molecular overview prior pilot study in Reunion Island

### Abstract

**Background:** Expanded Carrier Screening (ECS) is part of common practices worldwide promoting autonomous reproductive choices. Our study follows the CCNE guidelines regarding the implementation of ECS in France and consists in two lines of enquiry: determining the opinion of Reunionese population regarding ECS and estimating the heterozygote frequency for 7 frequent and severe genetic conditions occurring on the Reunion Island.

**Methods:** A 22 item survey was distributed online so as to seek the view of Reunionese adults regarding ECS. We also developed molecular techniques targeting 11 recurrent point variations for 7 genetic diseases in a collection of 587 DNA samples from Reunionese subjects.

**Results:** 129/137 (94%) respondents are supportive of ECS. 82 of them (60%) are interested in performing ECS for personal benefit and 51 (62,2%) would like to resort to ECS for reproductive use. On a molecular level, we determined that 44/552 (8%) samples were heterozygous for one targeted variant.

**Conclusion:** ECS is strongly requested among our cohort of Reunionese inhabitants. This request is supported by our molecular results highlighting a significant frequency of heterozygotes in a representative sample of Reunion Island population.

Discipline:  
Medical Genetics

### Keywords

Expanded carrier screening; heterozygote carrier; autosomal recessive condition; reproductive choice; prenatal diagnosis