

ARBRE DECISIONNEL POUR LE DIAGNOSTIC MOLECULAIRE DE LA SCLEROSE LATERALE AMYOTROPHIQUE

Référence : **ANPGM_134**Numéro de version : **01**

Page 1/23

Pour les versions révisées :

- Date de 1^{ère} mise en application :
- Numéro de l'ancienne version du document : ANPGM_
- Date de révision :

	Nom	Hôpital	Date
Rédacteur(s)	<i>Dr. Cécile Cazeneuve</i>	<i>Unité Fonctionnelle de Neurogénétique Moléculaire et Cellulaire Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière Assistance Publique – Hôpitaux de Paris</i>	05/03/2018
	<i>Pr. Serge Lumbroso</i>	<i>Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire CHU Nîmes</i>	
	<i>Pr. Patrick Vourc'h</i>	<i>Service de Biochimie et Biologie Moléculaire, Plateforme UTTIL, CHRU de Tours</i>	
	<i>Dr. Emilien Bernard</i>	<i>Centre SLA de Lyon Hospices Civils de Lyon</i>	
Vérificateur(s)	<i>Pr. Philippe Corcia</i>	<i>Centre de Ressources et Compétences SLA (CRCSLA) CHU Bretonneau, CHRU de Tours</i>	05/03/2018
Filière	 <p>FILSLAN Filière de Santé Maladies Rares Sclérose Latérale Amyotrophique et Maladies du Neurone Moteur</p>		
	<i>Coordonateur : Pr. Claude Desnuelle</i>		
Approbateur(s)	<u>Pour le CA de l'ANPGM :</u>		25/06/2018
	Benoit ARVEILER	CHU Bordeaux	
	Cécile ACQUAVIVA	CHU Lyon	
	Anne-Françoise ROUX	CHU Montpellier	
	Pascale SAUGIER-VEBER	CHU Rouen	

ARBRE DECISIONNEL POUR LE DIAGNOSTIC MOLECULAIRE DE LA SCLEROSE LATERALE AMYOTROPHIQUE

Référence : **ANPGM_134**Numéro de version : **01**

Page 2/23

Table des matières

I. Introduction	4
A. Rappels sur la pathologie	4
B. Déroulement du diagnostic génétique.....	5
1. Avant le prélèvement.....	5
2. Prélèvement et annexes à l'envoi	6
3. Analyses génétiques (voir chapitre III., V. et VI.)	6
4. Compte-rendu d'analyse et communication du résultat au patient.....	6
II. Quelques points clés	6
III. Pathologie moléculaire	6
A. Formes familiales.....	6
B. Formes sporadiques.....	7
IV. Corrélations génotype-phénotype.....	8
V. Méthodes de diagnostic moléculaire.....	12
A. Recherche d'amplification de répétition par PCR ADN simplex fluorescente et analyse sur séquenceur automatique	12
B. Recherche de mutations ponctuelles par séquençage haut débit (NGS).....	12
C. Recherche de réarrangement de grande taille.....	12
1. Par séquençage haut débit (NGS) > 20 kb et < 100 kb.....	12
2. Par recherche de réarrangements génomiques ciblés.....	12
VI. Arbres décisionnels pour la prise en charge en diagnostic d'un échantillon, selon les différents contextes cliniques	13
A. Proposant	13
1. Formes familiales de SLA ; formes familiales de SLA/DFT* ; formes sporadiques de SLA avec début précoce ; formes sporadique de SLA d'évolution lente ou rapide.....	13
2. Formes sporadiques sans particularité clinique	13
B. Apparenté non atteint.....	14
C. Diagnostic prénatal	15
1. Maladie dominante autosomique ou liée à l'X.....	15
2. Maladie récessive liée à l'X.....	15
3. Maladie récessive	15
VII. Recommandations sur le rendu des résultats	16
VIII. Cotation des analyses selon le RIHN	16
A. Proposant	16
1. Recherche d'amplification de répétition par PCR ADN simplex fluorescente et analyse sur séquenceur automatique.....	16
2. Recherche de mutations ponctuelles par séquençage haut débit (NGS)	16
3. Recherche de réarrangement de grande taille.....	16
B. Apparenté non atteint.....	16
C. Diagnostic prénatal	17

**ARBRE DECISIONNEL POUR LE DIAGNOSTIC MOLECULAIRE DE LA SCLEROSE LATERALE
AMYOTROPHIQUE**Référence : **ANPGM_134**Numéro de version : **01**

Page 3/23

IX. Références bibliographiques	17
Annexe 1 : Offre diagnostique SLA.....	18
Gène <i>C9ORF72</i>	18
Gènes du core panel NGS SLA*	18
Autres gènes impliqués dans la SLA.....	19
Annexe 2 : Offre diagnostique SLA/DFT.....	20
Gène <i>C9ORF72</i>	20
Gènes du core panel NGS SLA/DFT*	20
Autres gènes impliqués dans la SLA/DFT	21
Annexe 3 : Coordonnées des laboratoires.....	22
Annexe 4 : Fiche de renseignement clinique	23

ARBRE DECISIONNEL POUR LE DIAGNOSTIC MOLECULAIRE DE LA SCLEROSE LATERALE AMYOTROPHIQUE

Référence : **ANPGM_134**Numéro de version : **01**

Page 4/23

I. Introduction

A. Rappels sur la pathologie

La sclérose latérale amyotrophique (SLA) est une maladie neurodégénérative caractérisée par une paralysie musculaire progressive due à une dégénérescence des motoneurons du cortex moteur primaire, de la voie corticospinale, du tronc cérébral et de la moelle épinière.

L'incidence (environ 1,5 à 4/100 000 par an) et la prévalence (environ 5 à 8/100 000) sont relativement uniformes dans les pays occidentaux, mais sont plus élevées dans certaines îles du Pacifique Ouest. L'âge moyen de début de la SLA sporadique est d'environ 60 ans. Il existe une légère prédominance masculine (ratio H/F d'environ 1,5/1).

Environ 2/3 des patients atteints de la SLA classique présentent la forme spinale de la maladie (début avec atteinte des membres) caractérisée par une faiblesse et une fonte musculaire focale, de début distal ou proximal, au niveau des membres inférieurs et supérieurs. Progressivement, une spasticité se développe dans les membres atrophiés et affaiblis, affectant la dextérité manuelle et la démarche. Les patients dont la maladie débute par des signes bulbaires présentent en général une dysarthrie et une dysphagie aux solides ou aux liquides. Les symptômes au niveau des membres peuvent apparaître presque simultanément avec les symptômes bulbaires, ou dans la grande majorité des cas 1 à 2 ans après. La paralysie est progressive et entraîne une insuffisance respiratoire conduisant au décès dans les 2 à 3 ans (forme bulbaire) ou dans les 3 à 5 ans (forme spinale).

La majorité des cas sont sporadiques, mais 5 à 10% sont familiaux.

Le diagnostic repose sur la connaissance des antécédents familiaux, l'examen clinique, l'électromyogramme, et sur l'élimination, par des examens appropriés, des maladies ressemblant à la SLA (neuropathie motrice multifocale, maladie de Kennedy, et à la myélopathie cervicarthrosique, canal lombaire étroit).

La prise en charge est symptomatique, palliative et multidisciplinaire. Une ventilation non-invasive prolonge la vie et améliore sa qualité. Le Riluzole est le seul médicament permettant de prolonger la vie des patients.

Modifié d'après source : Orphanet, Auteur Pr Nigel LEIGH et Dr Lokesh WIJESKERA (Mai 2011) : N° Orphanet : ORPHA803

ARBRE DECISIONNEL POUR LE DIAGNOSTIC MOLECULAIRE DE LA SCLEROSE LATERALE AMYOTROPHIQUE

Référence : ANPGM 134

Numéro de version : 01

Page 5/23

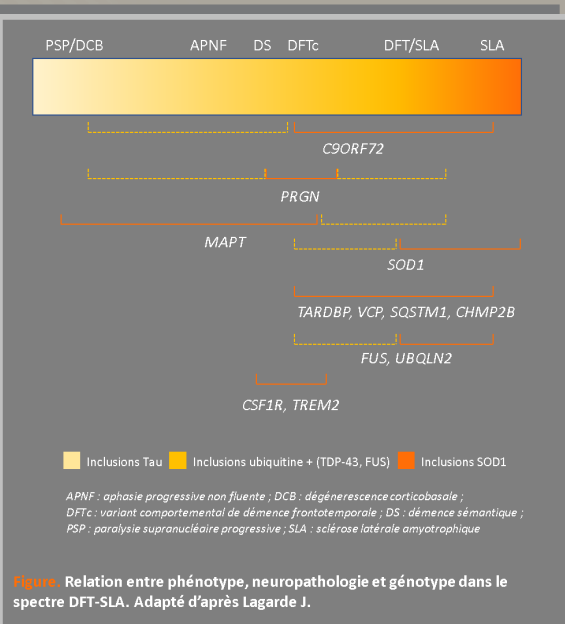
L'analyse clinique – renforcée par les données de la neuropathologie et les résultats des études génétiques les plus récentes – conduit actuellement à considérer l'existence d'un continuum entre la dégénérescence frontotemporale (DFT) et la sclérose latérale amyotrophique (SLA). En effet, les DFT sont associées dans environ 15 % des cas à une atteinte des motoneurones (1). De même, 15 à 40 % des patients atteints de SLA nouvellement diagnostiquée présentent des troubles cognitifs (2). Sur le plan neuropathologique, la DFT est sous-tendue dans environ 40 % des cas par des inclusions tau-positives. Elle est alors très rarement associée à la SLA et peut, en revanche, comporter des éléments orientant vers des syndromes de type paralysie supranucléaire progressive (PSP) ou dégénérescence corticobasale (DCB). La quasi-totalité des associations DFT/SLA et des SLA (en dehors de celles liées au gène *SOD1*) est sous-tendue par des lésions ubiquitine positives (de type TDP-43 le plus souvent, ou FUS) (figure). On considère actuellement que 30 % des DFT et 10 % des SLA peuvent être définies comme familiales (3). Les gènes connus ont presque tous un mode de transmission autosomique dominant (tableau, p. 174).

Gènes impliqués dans la DFT ou la SLA et dans l'association DFT/SLA

Les mutations de *C9ORF72* ont été mises en évidence en 2011, et pourraient rendre compte de 25 % des formes familiales de DFT, 40 % des formes familiales de SLA, et jusqu'à 65 % des formes familiales de DFT/SLA. Elles sont également mises en évidence dans 7 % des SLA dites sporadiques, 5 % des DFT sporadiques et jusqu'à 12 % des DFT/SLA sporadiques. Les éléments les plus évocateurs de l'implication de ce gène sont

l'association d'une DFT avec une atteinte des motoneurones (surtout bulbaire) [4], mais également avec un syndrome parkinsonien, des troubles oculomoteurs, des éléments psychotiques (principalement des hallucinations, mais également un délire mystique ou paranoïaque) ou parfois des troubles mnésiques de type hippocampique (5).

L'implication d'autres gènes a également été rapportée dans ce contexte : *TARDBP* (deuxième cause de DFT/SLA), *UBQLN2*, *CHMP2B*, *VCP*, *SQSTM1* et *hnrNPA2B1*, les 3 derniers étant également associés à une maladie de Paget osseuse et à une myosite à inclusions pour *VCP* (protéinopathies multisystématisées) [6].



* Unité de neurologie de la mémoire et du langage, service de neurologie, hôpital Sainte-Anne, Paris.

La Lettre du Neurologue - vol. XVIII - n°5 - mai 2014 | 173

Extrait de J. Lagarde, Génétique de la DFT et de la SLA, La Lettre du Neurologue N° 5 / mai 2014

B. Déroulement du diagnostic génétique

Les règles de bonnes pratiques applicables à l'examen des caractéristiques génétiques d'une personne à des fins médicales sont détaillées dans l'arrêté du 27 mai 2013 [NOR: AFSP1313547A].

1. Avant le prélèvement

- Apporter un conseil génétique approprié (par un médecin référent ou un généticien)
- Faire signer par le patient (ou son tuteur) un consentement éclairé indiquant la pathologie¹
- Signer une attestation de conseil génétique et de recueil de consentement

¹ : Ne pas indiquer le nom des gènes, sinon, impossibilité pour le laboratoire, après avoir réalisé les analyses demandées, de mettre en œuvre des analyses sur des gènes nouvellement identifiés comme responsables de la pathologie, sauf si un nouveau consentement est recueilli et transmis au laboratoire, ce qui nécessite un nouveau conseil génétique.

ARBRE DECISIONNEL POUR LE DIAGNOSTIC MOLECULAIRE DE LA SCLEROSE LATERALE AMYOTROPHIQUE

Référence : **ANPGM_134**Numéro de version : **01**

Page 6/23

2. Prélèvement et annexes à l'envoi

- Echantillon : 2 tubes EDTA
- Joindre :
 - la prescription signée par le médecin prescripteur, qui doit être le médecin référent ou le généticien
 - une copie du consentement signé indiquant la pathologie (et non un gène précis uniquement)
 - l'attestation de conseil génétique et de recueil de consentement
 - une fiche de renseignement clinique remplie (Annexe 4.1 ou 4.2)
 - un bon de commande (uniquement dans le cas où le diagnostic moléculaire n'est pas réalisé dans l'établissement prescripteur de la demande)
- Adresser au laboratoire selon la prescription (voir Annexe 1, 2 et 3)

3. Analyses génétiques (voir chapitre III, V. et VI.)

Les laboratoires doivent spécifier leur délai de rendu de résultat dans le manuel de prélèvement qui doit être mis à disposition des prescripteurs.

4. Compte-rendu d'analyse et communication du résultat au patient

Le compte-rendu individuel est envoyé au médecin prescripteur ; le médecin prescripteur communique le résultat au patient dans le cadre d'une consultation médicale individuelle.

II. Quelques points clés

Noms des gènes (HGNC), mode de transmission, Code OMIM : voir Annexes 1 et 2

III. Pathologie moléculaire

Selon les gènes (voir Annexes 1 et 2) :

- Amplification de répétitions
- Mutation ponctuelle
- Réarrangement de grande taille (non encore décrit pour les gènes cités)

A. Formes familiales

▶ 10% des patients atteints de SLA ont un apparenté également atteint de SLA ou d'une DFT : on parle alors de SLA familiale. Trois modes de transmission du phénotype ont été décrits :

**ARBRE DECISIONNEL POUR LE DIAGNOSTIC MOLECULAIRE DE LA SCLEROSE LATERALE
AMYOTROPHIQUE**

Référence : **ANPGM_134**Numéro de version : **01**

Page 7/23

Forme autosomique dominante*

% de patients porteurs	Gène	Protéine
23%-30%	<i>C9ORF72</i>	Uncharacterized protein C9orf72
20%	<i>SOD1</i>	Superoxide dismutase 1 (Cu-Zn)
~4%	<i>FUS</i>	RNA-binding protein FUS
1%-4%	<i>TARDBP</i>	TAR DNA-binding protein 43
Rare	<i>VAPB</i>	Vesicle-associated membrane protein-associated protein B/C
Rare	<i>ANG</i>	Angiogenin
Rare	<i>FIG4</i>	Polyphosphoinositide phosphatase
Rare	<i>CHCHD10</i>	Coiled-coil-helix-coiled-coil-helix domain-containing protein 10, mitochondrial
Rare	<i>SETX</i>	Probable helicase senataxin
Rare	<i>VCP</i>	Transitional endoplasmic reticulum ATPase
Rare	<i>OPTN</i>	Optineurin

Forme autosomique récessive*

% de patients porteurs	Gène	Protéine
5%	<i>SOD1</i> (mutation D90A)	Superoxide dismutase 1 (Cu-Zn)
Rare	<i>ALS2</i>	Alsin
Rare	<i>OPTN</i>	Optineurin
Rare	<i>SPG20</i>	Spartin

Forme dominante liée à l'X*

% de patients porteurs	Gène	Protéine
Rare	<i>UBQLN2</i>	Ubiquilin-2

*(d'après Kinsley L, Siddique T. Amyotrophic Lateral Sclerosis Overview. 2001 Mar 23 [Updated 2015 Feb 12]. In: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, et al., editors. GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2017. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1450/>

B. Formes sporadiques

▶ 90% des patients atteints de SLA n'ont pas d'antécédent familial de SLA ou de DFT ou psychiatrique : on parle alors de cas sporadique. Une censure dans l'arbre généalogique ou une pénétrance incomplète peut masquer une forme familiale.

▶ Une censure dans l'arbre généalogique est une indication à rechercher les mutations dans les gènes impliqués dans les formes familiales de SLA. Des cas de pénétrance incomplète ont notamment été décrits pour des variants du gène *SOD1* (Gamez J et al.).

ARBRE DECISIONNEL POUR LE DIAGNOSTIC MOLECULAIRE DE LA SCLEROSE LATERALE AMYOTROPHIQUE

Référence : **ANPGM_134**Numéro de version : **01**

Page 8/23

IV. Corrélations génotype-phénotype

Dans environ 10% des cas, la SLA est dite « familiale » (SLAF) lorsque surviennent deux cas dans une même famille. D'un point de vue physiopathologique, l'apparition des techniques modernes de séquençage a révélé dans les SLAF un nombre croissant de mutations dans des gènes participant à des voies physiologiques très différentes comme l'homéostasie protéique, le métabolisme des ARN, l'excitotoxicité, le transport nucléocytoplasmique ou vésiculaire, la neuroinflammation ou la fonction mitochondriale. Plus de 30 gènes ont actuellement été incriminés comme responsables de SLAF même si 4 d'entre eux (C9ORF72, SOD1, TARBP, FUS) rendent compte de plus de 50% de ces cas. 90% des patients atteints de SLA n'ont cependant pas d'antécédents familiaux et sont dits « sporadiques » (SLAS). Un interrogatoire précis des antécédents familiaux est nécessaire avant de conclure à une SLAS. Environ 15% d'entre eux peuvent être néanmoins porteurs de mutations de gènes responsables de SLAF (Chia et al., 2018). Il est à noter que la physiopathologie des formes sporadiques intrique probablement également des facteurs génétiques (enrichissement de variants rares des gènes responsables de SLAF).

Cette diversité clinique et génétique rend leur corrélation difficile car de nombreux paramètres doivent être pris en compte comme :

- l'âge de début de la maladie
- les caractéristiques cliniques (atteinte prédominante du motoneurone supérieur - UMN ou du motoneurone inférieur - LMN)
- la présence de signes associés (ataxie, syndrome parkinsonien...)
- la rapidité d'évolution
- l'association à une Dégénérescence Lobaire Fronto-Temporale (DLFT) dont la physiopathologie présente des liens étroits avec la SLA
- le mode de transmission
- l'origine ethnique du patient

A l'heure du développement de traitement par oligonucléotides anti-sens pour les formes SOD1 et bientôt C9ORF72, la nécessité d'un diagnostic rapide va néanmoins peut-être devenir cruciale dans la prise en charge de la maladie.

Variabilité phénotypique de la SLA (adapté de Van es et al., Lancet, 2017) :

La présentation clinique de la SLA est dite « classique » dans 70% des cas et associe la présence de signes d'atteinte du UMN (spasticité, réflexes ostéotendineux vifs et diffusés) et du LMN (déficit moteur, amyotrophie, fasciculations). Le début est généralement focal mais se propage aux autres régions d'un même membre (par exemple de la main vers l'épaule) et vers les autres régions neuroanatomiquement liées dans un gradient rostro-caudal ou contro-latéral (par exemple d'un bras à l'autre ou d'un bras à la jambe homolatérale). Les formes classiques de SLA comprennent les SLA à début bulbaire dans un tiers des cas, et à début spinal dans le reste des cas. La forme bulbaire se caractérise par l'apparition progressive d'une dysarthrie et d'une dysarthrie. Les signes d'atteinte du UMN comprennent la présence d'un syndrome pseudobulbaire avec hyperémotivité, rire et pleurer spasmodiques, bâillements intempestifs, spasticité de la mâchoire, réflexe mentonnier vif. Les signes d'atteinte du LMN concernent l'apparition d'une amyotrophie et de fasciculations linguales. Les SLA spinales sont le mode de début de la maladie le plus fréquent peut toucher initialement les membres supérieurs ou inférieurs. Certains variant cliniques sont à connaître comme le « flail arm syndrome » (syndrome de Vulpian) caractérisé par une atteinte prédominante de la racine des membres supérieurs, touchant plus souvent les hommes, d'évolution plus lente et où les signes d'atteinte du UMN sont rares ou absents. La forme pseudopolynévritique associe une atteinte prédominante du LMN aux membres inférieurs à un syndrome pyramidal discret aux membres supérieurs.

L'association SLA/DLFT (5-15%) : A un tableau de SLA classique peut s'associer des troubles cognitifs et/ou comportementaux remplissant les critères de DLFT dans 5 à 15 % des cas. Il s'agit le plus fréquemment d'un variant comportemental de DLFT. Une démence sémantique ou une anarthrie

**ARBRE DECISIONNEL POUR LE DIAGNOSTIC MOLECULAIRE DE LA SCLEROSE LATERALE
AMYOTROPHIQUE**Référence : **ANPGM_134**Numéro de version : **01**

Page 9/23

progressive peut également être observée. Les aphasies non-fluente et logopénique sont très rares. Le recueil des antécédents familiaux doit être minutieux à la recherche d'antécédents de démence, de syndrome parkinsonien de suicide ou d'addiction, fréquemment associés à l'expansion pathologique d'hexanucléotides de C9ORF72, 1^{ère} cause génétique de SLA/DLFT en France.

Paralysie bulbaire progressive (5%) : Rarement l'atteinte bulbaire et pseudobulbaire reste restreinte à cette région pendant plusieurs années. Cette variante touche plus fréquemment les femmes.

Phénotypes restreints (10%) : L'atteinte isolée au LMN est appelée amyotrophie musculaire progressive. Les signes centraux peuvent néanmoins apparaître au cours de l'évolution. La survie peut être plus prolongée qu'une SLA classique. Le principal diagnostic différentiel de cette forme est l'amyotrophie spinale, en particulier distale, qui s'en différencie par une évolutivité moindre et par des antécédents familiaux plus fréquents. L'atteinte isolée du UMN peut faire poser le diagnostic de sclérose latérale primitive. Ce diagnostic ne peut être évoqué qu'après un recul de 4-5 ans sans preuve d'atteinte associée du LMN. Elle se différencie des paraparésies spastiques héréditaires (PSH) par une atteinte bulbaire plus fréquente, un âge de survenu plus tardif et son caractère sporadique, même si la variabilité phénotypique des PSH rend de plus en plus ces distinctions artificielles.

Phénotypes rares (5%) : La SLA peut rarement débiter par une cachexie isolée (métabolique) ou par une atteinte respiratoire isolée dont le pronostic est réputé plus sombre.



**ARBRE DECISIONNEL POUR LE DIAGNOSTIC MOLECULAIRE DE LA SCLEROSE LATERALE
AMYOTROPHIQUE**

Référence : **ANPGM_134**Numéro de version : **01**

Page 10/23

Corrélations génotype/phénotype des principaux gènes responsables de SLA familiales

(adapté de Yamashita et Ando, Translational Neurodegeneration, 2015 et Corcia et al., Revue Neurologique, 2017).

Type	Gène	Mode de Transmission	Pays	Age début (moyen)	Signes initiaux	Signes centraux	Troubles cognitifs	Signes associés
ALS1	SOD1	AD, AR, de novo	Japon, Italie, Espagne, Corée, UK, USA, Turquie, Suède, Iran, Pologne, Bulgarie, Chine, France, Allemagne, Danemark, Pakistan, Canada,	6-64 (48)	MI>MS>bulbaire	Présents, Au second plan	Très rare ou absents	Amyotrophie musculaire progressive, paralysie bulbaire progressive, neuronopathie sensitive et motrice à début facial, paralysie des cordes vocales, dysautonomie, pseudo-CMT, troubles sensitifs, lombalgie
ALS2	ALS2	AR	Tunisie, Arabie Saoudite, Koweït, Italie, Algérie, Hongrie, Allemagne, Pays-Bas, Pakistan, Bangladesh, Turquie, Japon, Portugal, France, Chypre, Chine	1-11 (2)	MI, MS	présents	non	SLA juvenile, SLP juvenile, PSH, dystonie, ataxie
ALS4	SETX	AD	USA, Autriche, Belgique, Italie, Afghanistan, Chine	1-73 (19)	MI>MS Absence de signes bulbaires et respiratoires	présents	non	Ataxia, apraxia oculomotrice(type 2), neuropathie motrice, atrophie de la moelle cervicale
ALS5	SPG11	AR	Italie, Turquie, Japon, Canada, Brésil, France	7-23 (16)	Bulbaire, MI, MS	présents	rare	SLA juvenile, PSH, dysautonomie (incontinence)
ALS6	FUS	AD, AR, de novo	Belgique, Italie, Corée, UK, Japon, Turquie, Canada, France, Usa, Allemagne	13-80 (45)	MS, bulbaire >MI	Présents, au second plan	Rare (retard mental)	Atrophie musculaire progressive, troubles des apprentissages, schizophrénie, parkinsonisme, ataxie, tremblement essentiel
ALS7	?	AD						
ALS8	VAPB	AD	Brésil, UK, France, Japon, Pays-Bas	18-73 (44)	MS, MI	absents	non	Atrophie musculaire progressive, paralysie bulbaire progressive, neuropathie motrice, tremblement postural, dysautonomie (constipation)
ALS9	ANG	AD	Pays-Bas, Irlande, Ecosse, UK, USA, Suède, Italie, France, Allemagne, Chine,	21-86 (55)	MS, MI, bulbaire	présents	DLFT	Paralysie bulbaire progressive, parkinsonisme
ALS10	TARDBP	AD, AR	Italie, France, UK, Chine, Allemagne, Turquie, Usa, Belgique, Japon, Pologne, Afghanistan, Canada	20-77 (54)	MS, MI, bulbaire	présents	DLFT rare	Parkinsonisme, chorée, paralysie suprabulbaire progressive.
ALS11	FIG4	AD	Usa	29-77 (55)	Bulbaire>MS, MI	présents	non	PSH SLP Troubles personnalité
ALS12	OPTN	AD, AR	Japon, Italie, Turquie, Pays-Bas, Danemark	24-83 (51)	Bulbaire, MS, MI	présents	DLFT Démence à grains argyrophiles	Glaucome, parkinsonisme, malformations digitales, troubles de la personnalité, dépression



**ARBRE DECISIONNEL POUR LE DIAGNOSTIC MOLECULAIRE DE LA SCLEROSE LATERALE
AMYOTROPHIQUE**

Référence : **ANPGM_134**Numéro de version : **01**

Page 11/23

Type	Gène	Mode de Transmission	Pays	Age début (moyen)	Signes initiaux	Signes centraux	Troubles cognitifs	Signes associés
ALS13	ATXN2	AD	USA, Belgique, Pays-Bas, Canada, France, Chine, Allemagne, Suisse, Italie, Turquie, Cuba	21-87 (60)	MS, MI	présents	non	Ataxie, DCB, parkinsonisme
ALS14	VCP	AD	Italie, USA, Pays-Bas, Japon	36-68 (48)	MI>MS>bulbaire	présents	DLFT	Maladie de Paget, myopathie à inclusions
ALS15	UBQLN2	Lié à l'X	Usa, Australie, Canada, Italie, Turquie, Belgique, Allemagne, Bulgarie	14-77 (44)	MS, MI, bulbaire	présents	DLFT	SLP, paralysie bulbaire progressive, mouvements anormaux (choréothétoides), paraparésie spastique
ALS16	SIGMAR1	AD	Arabie Saoudite	1-68 (1)		présents	DLFT (rare)	SLA juvénile
ALS17	CHMP2B	AD	Danemark, Pays-Bas	26-73 (69)	MS, MI, bulbaire, respiratoire	présents, au second plan	DLFT	Atrophie musculaire progressive, parkinsonisme
ALS18	PFN1	AD	Juifs Sépharades, Italie, USA, Chine, Belgique	33-63 (53)	-	-	-	
ALS19	ERBB4	AD	Japan, Canada	45-70 (61)	MS, bulbaire, respiratoire	présents	non	-
ALS20	HNRNPA1	AD	-	-	-	-	DLFT	Maladie de Paget, myopathie à inclusions
ALS21	MATR3	AD	Usa,Uk, Italie, Taiwan	36-64 (52)	MI>MS, bulbaire	présents	DLFT	Myopathie distale (inclusions)
ALS/FT D1	C9ORF72	AD	Finland, Sardaigne, Irlande, Uk, Italie, Usa, Canada, Allemagne, Pays-Bas, Turquie, Israel, Australie, Japon....	27-80 (57)	MS, MI, bulbaire	présents	DLFT	Troubles psychiatriques, ataxie, parkinsonisme, PSP, Pseudo-Creutzfeldt, Pseudo-Huntington
ALS/FT D2	CHCHD10	AD	France, Usa, Allemagne, Espagne, Italie, Finlande	35-73 (56)	MS, MI, bulbaire	présents, au second plan	DLFT	Ataxie, myopathie mitochondriale, surdité, parkinsonisme, vessie neurologique
ALS/FT D3	SQSTM1	AD	-	-	-	présents	DLFT	Neurodégénérescence juvénile avec ataxie, dystonie et paralysie oculomotrice
ALS/FT D4	TBK1	AD, de novo	Suède, Danemark, Allemagne, France,Portugal	35-80 (60)	Bulbaire, MS, MI, respiratory	présents	DLFT (50%)	Parkinsonisme
	NEK1	?					non	
	C21ORF2	?						
	CCNF	?					DLFT	

ARBRE DECISIONNEL POUR LE DIAGNOSTIC MOLECULAIRE DE LA SCLEROSE LATERALE AMYOTROPHIQUE

Référence : **ANPGM_134**

Numéro de version : **01**

Page 12/23

V. Méthodes de diagnostic moléculaire

A. Recherche d'amplification de répétition par PCR ADN simplex fluorescente et analyse sur séquenceur automatique

Pour le gène *C9ORF72* : deux PCR ADN simplex fluorescentes sont réalisées :

- une avec des primers encadrant la répétition et permettant de mettre en évidence les allèles normaux. Cette PCR peut être réalisée dans des conditions quantitatives permettant de doser l'allèle normal quand un seul allèle est détecté.
- une avec la technique de repeat primed PCR, permettant de mettre en évidence les expansions de grande taille

B. Recherche de mutations ponctuelles par séquençage haut débit (NGS)

Les laboratoires ont défini un core panel SLA (voir Annexe 1) et un core panel SLA/DFT (voir Annexe 2). Tous les gènes du core panel devront être couverts à 100 %.

C. Recherche de réarrangement de grande taille

1. Par séquençage haut débit (NGS) > 20 kb et < 100 kb

Si le pipeline informatique permet de détecter les réarrangements de grande taille (même analyse que point V.B)

2. Par recherche de réarrangements génomiques ciblés

Par MLPA, ou QMPSF, ou autre technique de dosage génique.

ARBRE DECISIONNEL POUR LE DIAGNOSTIC MOLECULAIRE DE LA SCLEROSE LATERALE AMYOTROPHIQUE

Référence : ANPGM 134

Numéro de version : 01

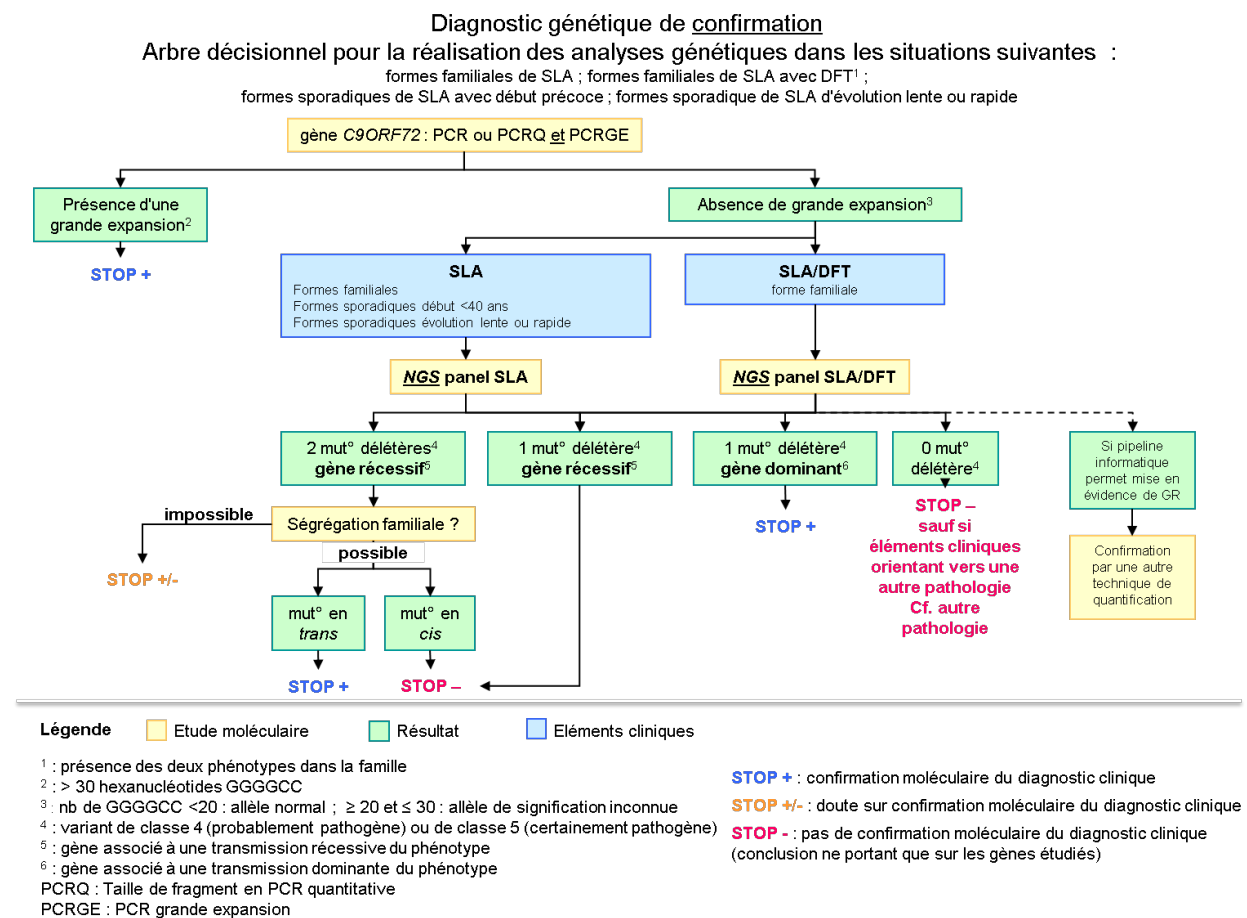
Page 13/23

VI. Arbres décisionnels pour la prise en charge en diagnostic d'un échantillon, selon les différents contextes cliniques

A. Proposant

1. Formes familiales de SLA ; formes familiales de SLA/DFT* ; formes sporadiques de SLA avec début précoce ; formes sporadique de SLA d'évolution lente ou rapide

*présence de SLA et/ou DFT dans la famille



2. Formes sporadiques sans particularité clinique

Sensibilité diagnostique de l'analyse du gène C9ORF72 à évaluer.

ARBRE DECISIONNEL POUR LE DIAGNOSTIC MOLECULAIRE DE LA SCLEROSE LATERALE AMYOTROPHIQUE

Référence : ANPGM 134

Numéro de version : 01

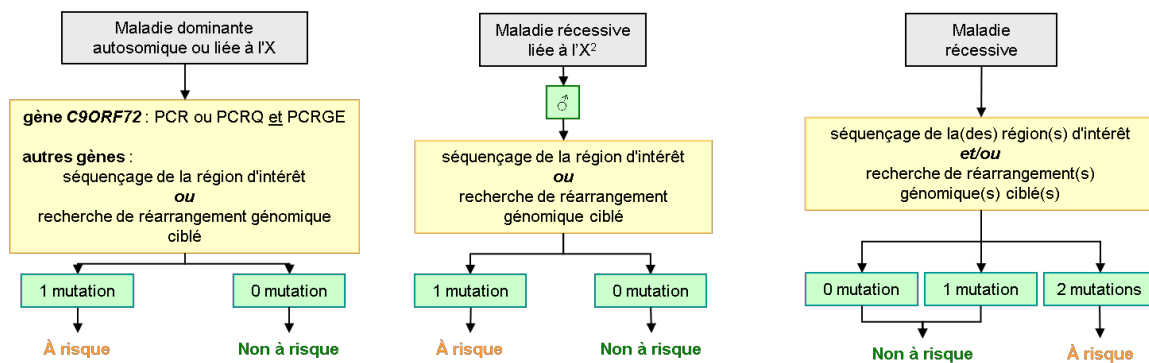
Page 14/23

B. Apparenté non atteint

Le diagnostic présymptomatique peut être réalisé chez un apparenté non atteint et majeur souhaitant connaître son statut. Il ne peut être réalisé que si le gène et la(les) mutation(s) en cause dans la famille ont été identifiés. Le diagnostic présymptomatique ne peut être réalisé que si l'individu est lui-même demandeur : il ne peut s'agir en aucun cas d'un prélèvement réalisé à l'initiative du médecin dans le cadre d'une enquête familiale. De plus, la personne à risque doit être préparée à l'annonce d'un résultat qui peut bouleverser ses perspectives d'avenir. Légalement (loi du 29 juillet 1994 ; décret d'application n° 2000-570 du 23 juin 2000, Article R.1131-5 du code de la santé publique), cette préparation et la réflexion associée doivent se faire dans le cadre d'une consultation pluridisciplinaire déclarée auprès du ministère, associant un généticien, un psychologue, +/- un psychiatre, +/- une assistante sociale, et suivant un protocole type de prise en charge.

Diagnostic présymptomatique de la sclérose latérale amyotrophique (SLA)
ou de la sclérose latérale amyotrophique avec dégénérescence lobaire fronto-temporale (SLA/DFT)¹

Arbre décisionnel pour la réalisation des analyses génétiques



Légende Etude moléculaire Résultat

¹ : présence des deux phénotypes chez le même individu ou dans la famille

² : le diagnostic de conductrice n'est pas un diagnostic présymptomatique

PCRQ : Taille de fragment en PCR quantitative

PCRGE : PCR grande expansion

À risque : à risque de développer la maladie

Non à risque : non à risque de développer la maladie liée à la (aux) mutation(s) impliquée(s) dans la famille

ARBRE DECISIONNEL POUR LE DIAGNOSTIC MOLECULAIRE DE LA SCLEROSE LATERALE AMYOTROPHIQUE

Référence : ANPGM_134

Numéro de version : 01

Page 15/23

C. Diagnostic prénatal

Une prise en charge du diagnostic prénatal (DPN) dans le cadre d'un centre pluridisciplinaire de diagnostic prénatal (CPDPN) est obligatoire : en effet, seul un CPDPN peut attester "qu'il existe une forte probabilité que l'enfant à naître soit atteint d'une affection d'une particulière gravité reconnue comme incurable au moment du diagnostic". Cette attestation permet, si la femme enceinte le décide, de réaliser une interruption volontaire de la grossesse pour motif médical (IMG).²

1. Maladie dominante autosomique ou liée à l'X

Le diagnostic prénatal ne peut être réalisé que si le gène et la mutation en cause dans la famille ont été identifiés (variant de classe 4 ou 5). Un des deux parents doit être porteur (atteint ou non) de la mutation responsable de la maladie dans sa famille.

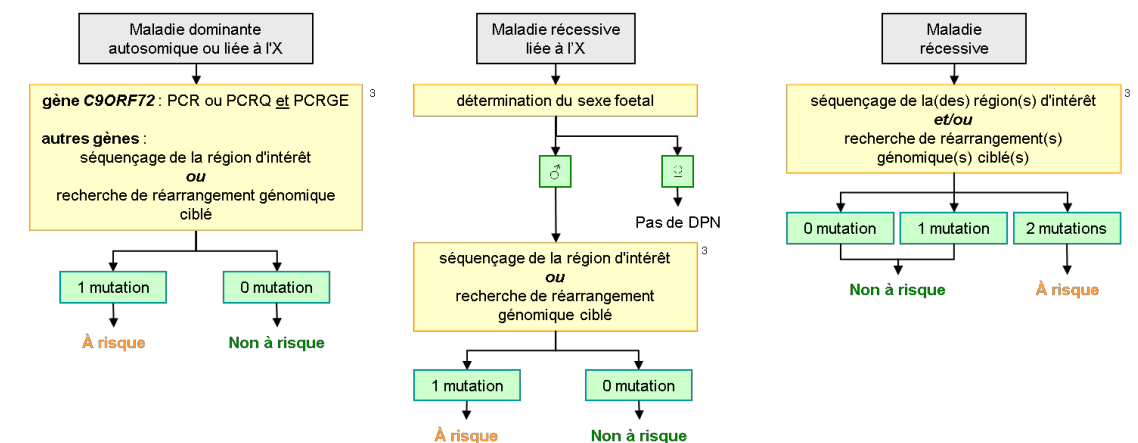
2. Maladie récessive liée à l'X

Le diagnostic prénatal ne peut être réalisé que si le gène et la mutation en cause dans la famille ont été identifiés. La mère doit être porteuse de la mutation responsable de la maladie dans sa famille. Le sexe fœtal sera déterminé (sur ADN fœtal circulant dans le sang maternel) avant le recours au prélèvement fœtal. Si le fœtus est de sexe féminin, il n'y a pas d'indication au diagnostic prénatal pour la maladie en cause dans la famille. Si le fœtus est de sexe masculin, le diagnostic prénatal peut être réalisé.

3. Maladie récessive

Le diagnostic prénatal ne peut être réalisé que si le gène et les mutations en cause dans la famille ont été identifiés. Chacun des deux parents doit être porteur d'une des deux mutations identifiées responsables de la maladie chez le proposant.

Diagnostic prénatal¹ de la sclérose latérale amyotrophique (SLA)
ou de la sclérose latérale amyotrophique avec dégénérescence lobaire fronto-temporale (SLA/DFT)²
Arbre décisionnel pour la réalisation des analyses génétiques



Légende Etude moléculaire Résultat

PCRQ : Taille de fragment en PCR quantitative
PCRGE : PCR grande expansion

À risque : indication à l'IMG

Non à risque : le fœtus n'est pas porteur du génotype responsable de la maladie dans sa famille

¹ : le CPDPN a attesté que, si le fœtus est porteur du génotype responsable de la maladie dans sa famille, il existe une forte probabilité que l'enfant à naître soit atteint d'une affection d'une particulière gravité reconnue comme incurable au moment du diagnostic

² : présence des deux phénotypes chez le même individu ou dans la famille

³ : en parallèle, le laboratoire doit mettre en œuvre les analyses destinées à vérifier l'absence de contamination du prélèvement fœtal par des tissus maternels

² Voir notamment articles L2131-1 et R2131-1 du code de la santé publique et arrêté du 1^{er} juin 2015 [NOR : AFSP1512973A]

ARBRE DECISIONNEL POUR LE DIAGNOSTIC MOLECULAIRE DE LA SCLEROSE LATERALE AMYOTROPHIQUE

Référence : **ANPGM_134**Numéro de version : **01**

Page 16/23

VII. Recommandations sur le rendu des résultats

-

VIII. Cotation des analyses selon le RIHN

Voir chapitre VI et Annexes 1 et 2 pour le détail

Cotations utilisées :

- N354** : Détection de mutations par expansion de microsatellites (Concerne un nombre limité de maladies héréditaires pour lesquelles la détection des mutation par expansion de microsatellites reste nécessaire au diagnostic (ex: maladie de Huntington)
- N903** : PCR ADN simplex fluorescente et analyse sur séquenceur automatique (Inclus: PCR + migration capillaire + analyse).
- N318** : Recherche de réarrangements génomiques ciblés par Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA).
- N351** : Forfait séquençage haut débit (NGS) > 20 kb et < 100 kb (cas index)
- N352** : Forfait séquençage haut débit (NGS) > 100 kb (cas index)
- N353** : Forfait recherche chez apparenté d'une mutation identifiée par NGS
- 4083** : DPN proprement dit : autres affections génétiques
- 4082** : DPN : ét. familiale : autres affections génétiques

A. Proposant

1. Recherche d'amplification de répétition par PCR ADN simplex fluorescente et analyse sur séquenceur automatique

- Etude du gène *C9ORF72* (2 PCR, voir chapitre V.A.) : **N354 + N903**

2. Recherche de mutations ponctuelles par séquençage haut débit (NGS)

- Core panel SLA : **N351**
- Core panel SLA/DFT : **N351**
- Si plus de gènes étudiés, la cotation peut passer à : **N352**

3. Recherche de réarrangement de grande taille

a. Par séquençage haut débit (NGS) > 20 kb et < 100 kb

Si le pipeline informatique le permet (même analyse que point VIII.A.2)

Pas de cotation supplémentaire

b. Par recherche de réarrangements génomiques ciblés

- MLPA (ou autre technique de quantification) : **N318**

B. Apparenté non atteint

Selon le gène et la nature de la mutation :

- soit étude du gène *C9ORF72* : **N354 + N903**
- soit recherche de mutation ponctuelle par séquençage Sanger : **N353**
- soit recherche de réarrangements génomiques ciblés : **N318**

**ARBRE DECISIONNEL POUR LE DIAGNOSTIC MOLECULAIRE DE LA SCLEROSE LATERALE
AMYOTROPHIQUE**Référence : **ANPGM_134**Numéro de version : **01**

Page 17/23

C. Diagnostic prénatal**4083** quelle que soit la(les) techniques utilisées**4082** si contrôle des parents sur nouveau prélèvement à l'occasion du DPN**IX. Références bibliographiques**

Chia R, Chiò A, Traynor BJ. Novel genes associated with amyotrophic lateral sclerosis: diagnostic and clinical implications. *Lancet Neurol.* 2018 Jan;17(1):94-102

Corcia P, Couratier P, Blasco H, Andres CR, Beltran S, Meininger V, Vourc'h P. Genetics of amyotrophic lateral sclerosis. *Rev Neurol (Paris).* 2017 May;173(5):254-262

Gamez J, Corbera-Bellalta M, Nogales G, Ragner N, García-Arumí E, Badia-Canto M, Lladó-Carbó E, Alvarez-Sabín J. Mutational analysis of the Cu/Zn superoxide dismutase gene in a Catalan ALS population: should all sporadic ALS cases also be screened for SOD1? *J Neurol Sci.* 2006 Aug 15;247(1):21-8

van Es MA, Hardiman O, Chio A, Al-Chalabi A, Pasterkamp RJ, Veldink JH, van den Berg LH. Amyotrophic lateral sclerosis. *Lancet.* 2017 Nov 4;390(10107):2084-2098

Yamashita S, Ando Y. Genotype-phenotype relationship in hereditary amyotrophic lateral sclerosis. *Transl Neurodegener.* 2015 Jul 24;4:13

ARBRE DECISIONNEL POUR LE DIAGNOSTIC MOLECULAIRE DE LA SCLEROSE LATERALE AMYOTROPHIQUE

Référence : **ANPGM_134**Numéro de version : **01**

Page 18/23

Annexe 1 : Offre diagnostique SLA

Gène C9ORF72 : recherche de l'expansion de l'hexanucléotide GGGGCC uniquement

Pathologie	Gènes	Transmission	OMIM	Pathologie moléculaire	LABORATOIRE		
					Nîmes	Tours	Paris
SLA/DFT	C9ORF72	AD	105550	REP	X	X	X

REP : répétition

Gènes du core panel NGS SLA* : parties codantes et jonctions introniques couvertes à 100% (Sanger, NGS ou NGS+Sanger)

Pathologie	Gènes	Transmission	OMIM	Pathologie moléculaire	LABORATOIRE		
					Nîmes	Tours	Paris
SLA	ALS2	AR	205100	MP	X	X	X
SLA	ANG	AD	611895	MP	X	X	X
SLA/DFT	CHMP2B	AD	600795	MP	X	X	X
SLA/DFT	DCTN1	AD	105400	MP	X	X	X
SLA	FIG4	AD	612577	MP	X	X	X
SLA/DFT	FUS	AD	608030	MP	X	X	X
SLA	OPTN	AR	613435	MP	X	X	X
SLA	SETX	AD	602433	MP	X	X	X
SLA/DFT	SOD1	AD	105400	MP	X	X	X
SLA/DFT	SQSTM1	AD	616437	MP	X	X	X
SLA/DFT	TARDBP	AD	612069	MP	X	X	X
SLA/DFT	TBK1	AD	616439	MP	X	X	X
SLA/DFT	UBQLN2	XLD	300857	MP	X	X	X
SLA	VAPB	AD	608627	MP	X	X	X
SLA/DFT	VCP	AD	613954	MP	X	X	X

*Core panel SLA - décembre 2015

MP : mutations ponctuelles

**ARBRE DECISIONNEL POUR LE DIAGNOSTIC MOLECULAIRE DE LA SCLEROSE LATERALE
AMYOTROPHIQUE**

Référence : **ANPGM_134**Numéro de version : **01**

Page 19/23

Autres gènes impliqués dans la SLA : NGS (certaines régions peuvent ne pas être couvertes. Cf. Compte-rendu d'analyse)

Pathologie	Gènes	Transmission	OMIM	Pathologie moléculaire	LABORATOIRE		
					Nîmes	Tours	Paris
SLA	ALS3	AD	606640	MP	X		
SLA	ALS7	-	608031	MP	X		
SLA/DFT	CHCHD10	AD	615911	MP	X	X	
SLA	CRMP4	-	-	MP	X	X	
SLA	DAO	-	-	MP	X	X	
SLA	ELP3	-	-	MP	X		
SLA	EPHA4	-	-	MP	X		
SLA	ERBB4	AD	615515	MP	X		
SLA	ESWR1	-	-	MP	X		
SLA	HNRNPA1	AD	615426	MP	X		
SLA	LMNB1	-	-	MP	X		
SLA	MATR3	AD	606070	MP	X	X	
SLA	NEFH	-	105400	MP	X	X	
SLA	PFN1	AD	614808	MP	X	X	
SLA	PRPH	-	105400	MP	X	X	
SLA/DFT	SIGMAR1	AR	614373	MP	X	X	
SLA	SPAST	AD	-	MP	X		
SLA	SPG11	AR	602099	MP	X	X	
SLA	SPG20	AR	275900	MP			X
SLA	TAF15	-	-	MP	X	X	
SLA/DFT	TUBA4A	AD	616208	MP		X	
SLA	UNC13A	-	-	MP	X		

MP : mutations ponctuelles

REP : répétition

**ARBRE DECISIONNEL POUR LE DIAGNOSTIC MOLECULAIRE DE LA SCLEROSE LATERALE
AMYOTROPHIQUE**

Référence : **ANPGM_134**Numéro de version : **01**

Page 20/23

Annexe 2 : Offre diagnostique SLA/DFT

Gène C9ORF72 : recherche de l'expansion de l'hexanucléotide GGGGCC uniquement

Pathologie	Gènes	Transmission	OMIM	Pathologie moléculaire	LABORATOIRE		
					Nîmes	Tours	Paris
SLA/DFT	C9ORF72	AD	105550	REP	X	X	X

REP : répétition

Gènes du core panel NGS SLA/DFT* : parties codantes et jonctions introniques couvertes à 100% (Sanger, NGS ou NGS+Sanger)

Pathologie	Gènes	Transmission	OMIM	Pathologie moléculaire	LABORATOIRE		
					Nîmes	Tours	Paris
SLA	ALS2	AR	205100	MP	X	X	X
SLA	ANG	AD	611895	MP	X	X	X
SLA/DFT	CHMP2B	AD	600795	MP	X	X	X
SLA/DFT	DCTN1	AD	105400	MP	X	X	X
SLA	FIG4	AD	612577	MP	X	X	X
SLA/DFT	FUS	AD	608030	MP	X	X	X
DFT	GRN	AD	607485	MP	X	X	X
DFT	MAPT	AD	600274	MP	X	X	X
SLA	OPTN	AR	613435	MP	X	X	X
SLA	SETX	AD	602433	MP	X	X	X
SLA/DFT	SOD1	AD	105400	MP	X	X	X
SLA/DFT	SQSTM1	AD	616437	MP	X	X	X
SLA/DFT	TARDBP	AD	612069	MP	X	X	X
DFT	TREM2	AR	221770	MP	X	X	X
SLA/DFT	UBQLN2	XLD	300857	MP	X	X	X
SLA	VAPB	AD	608627	MP	X	X	X
SLA/DFT	VCP	AD	613954	MP	X	X	X
SLA/DFT	TBK1	AD	616439	MP	X	X	X

*Core panel SLA/DFT - décembre 2015

MP : mutations ponctuelles

**ARBRE DECISIONNEL POUR LE DIAGNOSTIC MOLECULAIRE DE LA SCLEROSE LATERALE
AMYOTROPHIQUE**

Référence : **ANPGM_134**Numéro de version : **01**

Page 21/23

Autres gènes impliqués dans la SLA/DFT : NGS (certaines régions peuvent ne pas être couvertes. Cf. Compte-rendu d'analyse)

Pathologie	Gènes	Transmission	OMIM	Pathologie moléculaire	LABORATOIRE		
					Nîmes	Tours	Paris
SLA/DFT	<i>CHCHD10</i>	AD	615911	MP	X	X	
SLA	<i>CRMP4</i>	-	-	MP	X	X	
DFT	<i>CSF1R</i>	-	-	MP	X		X
SLA	<i>DAO</i>	-	-	MP	X	X	
SLA	<i>ELP3</i>	-	-	MP	X		
SLA	<i>EPHA4</i>	-	-	MP	X		
SLA	<i>ERBB4</i>	AD	615515	MP	X		
SLA	<i>ESWR1</i>	-	-	MP	X		
SLA	<i>HNRNPA1</i>	AD	615426	MP	X		
DFT	<i>HNRNPA2B1</i>	-	615422	MP			X
SLA	<i>LMNB1</i>	-	-	MP	X		
SLA	<i>MATR3</i>	AD	606070	MP	X	X	
SLA	<i>NEFH</i>	-	105400	MP	X	X	
SLA	<i>PFN1</i>	AD	614808	MP	X	X	
SLA	<i>PRPH</i>	-	105400	MP	X	X	
DFT	<i>PSEN1</i>	AD	600274	MP	X	X	
DFT	<i>PSEN2</i>	-	-	MP	X	X	
SLA/DFT	<i>SIGMAR1</i>	AR	614373	MP	X	X	
SLA	<i>SPAST</i>	AD	-	MP	X		
SLA	<i>SPG11</i>	AR	602099	MP	X	X	
SLA	<i>SPG20</i>	AR	275900	MP			X
SLA	<i>TAF15</i>	-	-	MP	X	X	
SLA/DFT	<i>TUBA4A</i>	AD	616208	MP		X	
SLA	<i>UNC13A</i>	-	-	MP	X		

MP : mutations ponctuelles

REP : répétition

**ARBRE DECISIONNEL POUR LE DIAGNOSTIC MOLECULAIRE DE LA SCLEROSE LATERALE
AMYOTROPHIQUE**

Référence : **ANPGM 134**

Numéro de version : **01**

Page 22/23

Annexe 3 : Coordonnées des laboratoires

Pr. Serge Lumbroso

Laboratoire de biochimie et biologie moléculaire
CHU de Nîmes - Hôpital Caremeau
Place du Professeur Robert Debré
30029 NIMES CEDEX 9
Téléphone : 33 (0)4 66 68 32 07
Fax : 33 (0)4 66 68 45 78

Pr. Patrick Vourc'h

Service de biochimie et biologie moléculaire
Pôle Biologie Médicale
CHRU de Tours - Hôpital Bretonneau
2 Boulevard Tonnellé
37044 TOURS CEDEX 9
Téléphone : 33 (0)2 47 47 37 95
Fax : 33 (0)2 47 47 86 13

Dr. Cécile Cazeneuve

UF de Neurogénétique Moléculaire et Cellulaire
Centre de génétique moléculaire et chromosomique
CHU Paris-GH La Pitié Salpêtrière-Charles Foix - Hôpital Pitié-Salpêtrière
47-83 boulevard de l'Hôpital
75651 PARIS CEDEX 13
Téléphone : 33 (0)1 42 17 76 57
Fax : 33 (0)1 42 17 76 18
site web : <http://www.cgmc-psl.fr/spip.php?rubrique26>



**ARBRE DECISIONNEL POUR LE DIAGNOSTIC MOLECULAIRE DE LA SCLEROSE LATERALE
AMYOTROPHIQUE**

Référence : **ANPGM_134**

Numéro de version : **01**

Page 23/23

Annexe 4 : Fiche de renseignement clinique

Laboratoire de Tours (Pr. Patrick Vourc'h)

guide des analyses disponible sur :
<http://www.chu-tours.fr/manuel-de-prelevement/>

Laboratoire de Nîmes (Pr. Serge Lumbroso)

guide des analyses disponible sur :
<http://www.chu-nimes.fr/manuel-prelevements/guide-des-analyses.html>

Laboratoire de Paris (Dr. Cécile Cazeneuve)

fiche de renseignement clinique disponible sur :
<http://www.cgmc-psl.fr/spip.php?article220>