



Avancées en matière de DPNI de la Mucoviscidose



Dr Juliette Nectoux
Service de Génétique
AP-HP.Centre - HUPC Cochin

LE DIAGNOSTIC PRÉNATAL DES MALADIES MONOGÉNIQUES

- Les maladies monogéniques
- Près de 3000 gestes invasifs réalisés en 2017
 - Risque de fausse-couche, d'accouchement prématuré ...
- Avancées de la médecine génomique et prénatale
 - Options thérapeutiques *in utero* ou en période néonatale
- Nécessité de proposer un diagnostic prénatal précoce, fiable et sûr
 - Permettre aux parents de prendre des décisions éclairées
 - Adapter la prise en charge de la grossesse et de l'accouchement...

Résumé de l'activité de DPN en 2017*

	Nombre de laboratoires ayant eu une activité en 2017	Nombre d'examens ⁽¹⁾	Nombre de résultats positifs ⁽²⁾
Génétique			
- ADNIc : dépistage d'aneuploïdies	22	51 116	738
- ADNIc : détermination du rhésus foetal	10	20 226	-
- Caryotypes	58	18 824	3 811
- ACPA	40	8 580	720
- Maladies monogéniques	50	2 734	566
Biologie infectieuse			
- Virologie	28	2 988	182
- Toxoplasmose	24	959	73
Biochimie et marqueurs sériques			
- Marqueurs sériques maternels	84	637 547	26 832
- Défaut de fermeture du tube neural	8	293	166

* Rapport Annuel 2019 – Agence de Biomédecine

(1) Nombre d'examens :

- Nombre de femmes pour les examens de dépistages : marqueurs sériques maternels et ADNIcT21

- Nombre de prélèvements pour le toxoplasmose

- Nombre de fœtus pour les caryotypes, l'ACPA, les maladies monogéniques, la virologie et le défaut de fermeture du tube neural

- Nombre de détermination pour le rhésus foetal à partir d'ADNIc

LE DÉPISTAGE/ DIAGNOSTIC PRÉNATAL NON INVASIF

ADN FŒTAL CIRCULANT

THE LANCET

Early report

Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum

Y M Dennis Lo, Noemi Corbetta, Paul F Chamberlain, Vik Rai, Ian L Sargent, Christopher W G Redman, James S Wainscoat

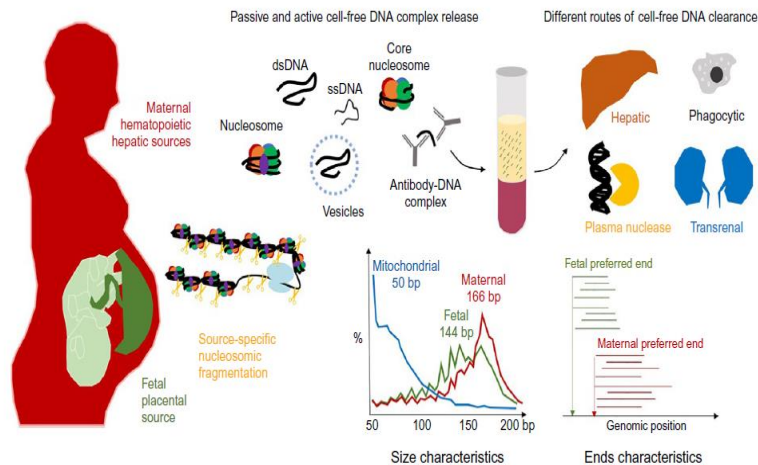


FIG. 27.1 Graphical abstract of cell-free fetal DNA biology.

Lo et al, 1997; Tsang et Lo, 2019

NIPT versus NIPD

International Journal of Women's Health

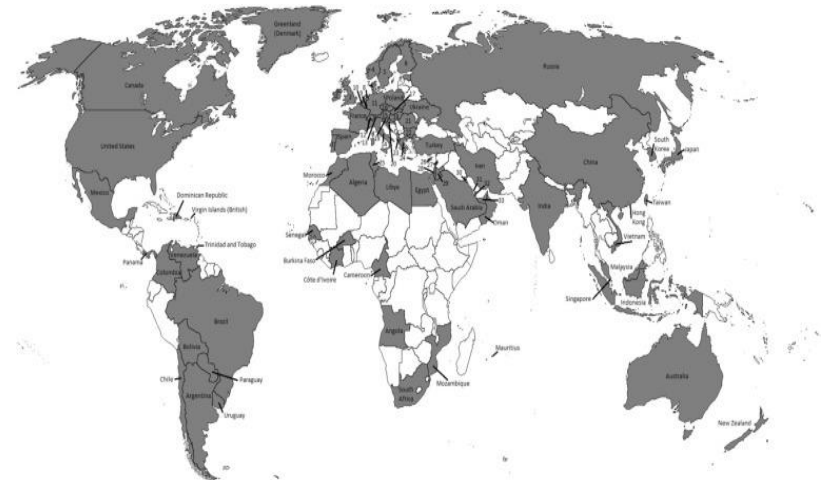
Dovepress

open access to scientific and medical research

Open Access Full Text Article

REVIEW

Non-invasive prenatal testing: a review of international implementation and challenges



Allyse et al, 2015

DÉTECTION ET QUANTIFICATION DES ACIDES NUCLÉIQUES DE FAIBLE ABONDANCE

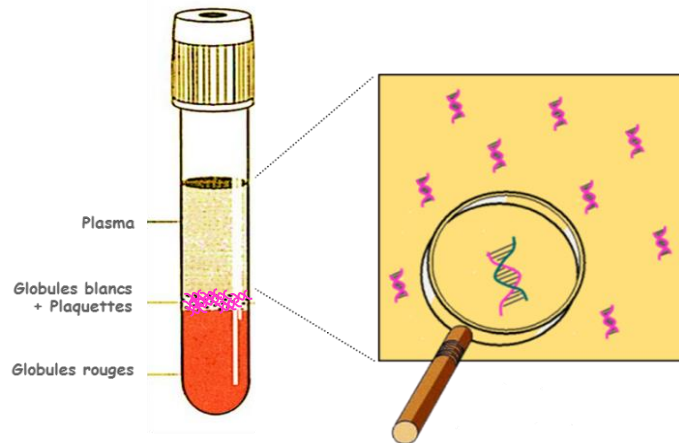
ADN FŒTAL CIRCULANT

THE LANCET

Early report

Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum

Y M Dennis Lo, Noemi Cobetta, Paul F Chamberlain, Vik Rai, Ian L Sargent, Christopher W G Redman, James S Wainscoat



- ✓ Faible quantité absolue
- ✓ Faible quantité relative

DIAGNOSTIC PRÉNATAL NON INVASIF

APPLICATIONS

(1) DÉTECTION QUALITATIVE DE SÉQUENCES ABSENTES DU GÉNOME MATERNEL

- Détermination du sexe fœtal

Hyperplasie congénitale des surrénales

Maladies liées à l'X

- Génotypage RHD fœtal

Risque d'allo-immunisation fœto-maternelle

(2) DÉTECTION QUALITATIVE DE MUTATIONS ABSENTES DU GÉNOME MATERNEL

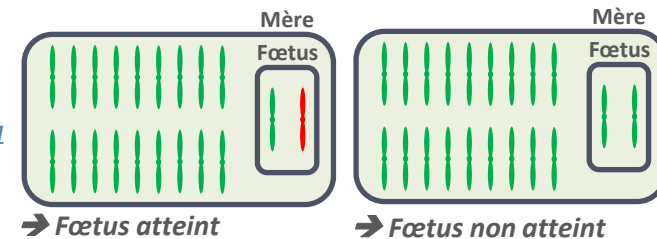
- Maladies associées à des mutations *de novo*
- Maladies dominantes héritées de père
- Diagnostic d'exclusion des maladies récessives

Achondroplasie

Neurofibromatose de type 1

Mucoviscidose

Allèle muté
Allèle sain

DIAGNOSTIC PRÉNATAL NON INVASIF

APPLICATIONS

(1) DÉTECTION QUALITATIVE DE SÉQUENCES ABSENTES DU GÉNOME MATERNEL

- Détermination du sexe fœtal

Hyperplasie congénitale des surrénales

Maladies liées à l'X

- Génotypage RHD fœtal

Risque d'allo-immunisation fœto-maternelle



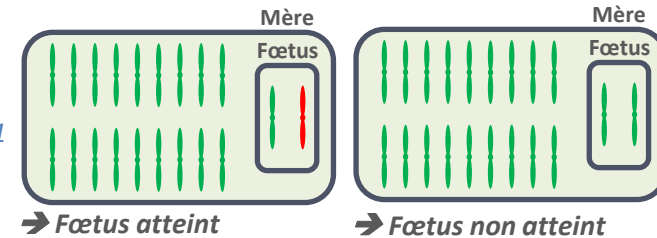
(2) DÉTECTION QUALITATIVE DE MUTATIONS ABSENTES DU GÉNOME MATERNEL

- Maladies associées à des mutations *de novo*
- Maladies dominantes héritées de père
- Diagnostic d'exclusion des maladies récessives

Achondroplasie

Neurofibromatose de type 1

Mucoviscidose



(3) DÉTECTION QUANTITATIVE DE MUTATIONS PRÉSENTES DANS LE GÉNOME MATERNEL

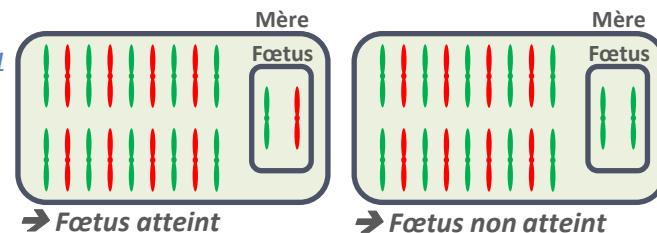
- Maladies dominantes héritées de la mère
- Maladies récessives
- Maladies liées à l'X

Neurofibromatose de type 1

Mucoviscidose

Myopathie de Duchenne

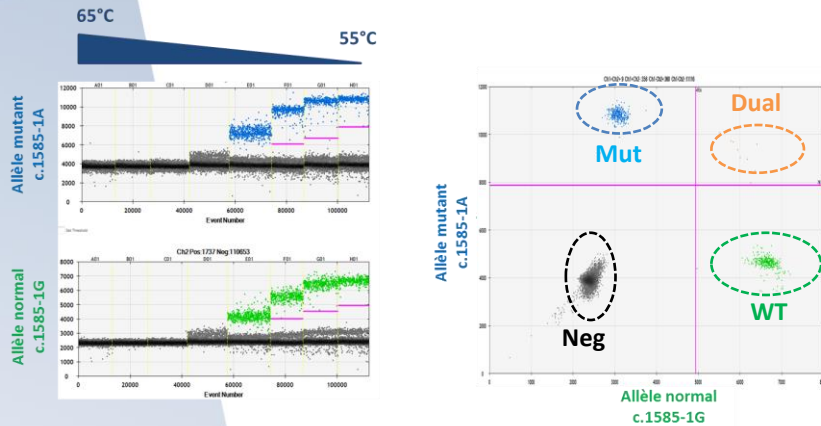
Hémophilie



DÉTECTION QUALITATIVE DE VARIANTS ABSENTS DU GÉNOME MATERNEL

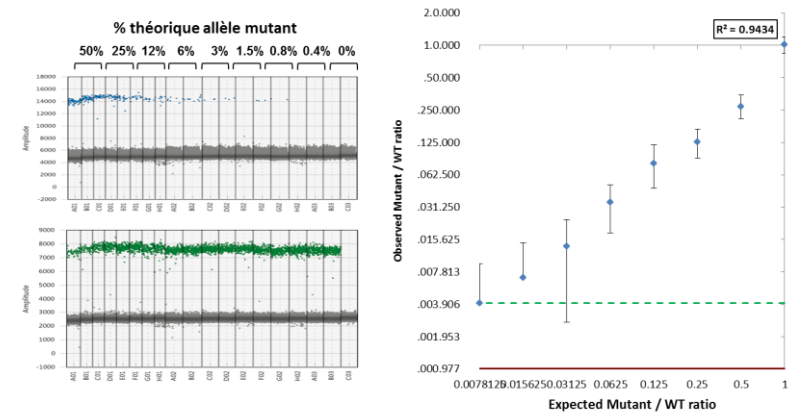
MISE AU POINT DES SONDAS D'HYDROLYSE & CONTRÔLE QUALITÉ

GRADIENT DE TEMPÉRATURE



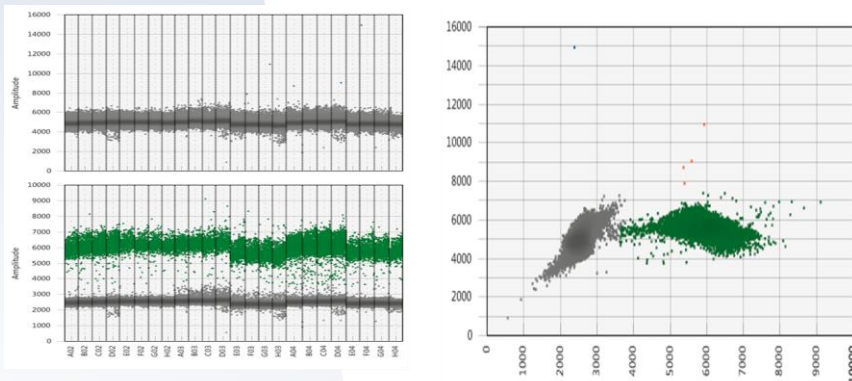
→ Identification des conditions d'amplification

LINÉARITÉ



→ Détermination de la linéarité de l'essai ($R^2 > 0,8$)

SENSIBILITÉ & SPÉCIFICITÉ

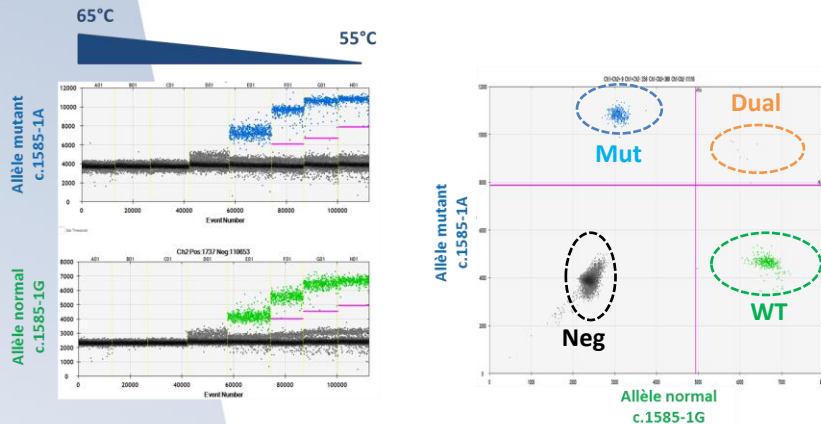


→ Détermination de la limite de blanc (<3 copies/puits)
→ Détermination de la limite de détection (>6 copies/puits)

DÉTECTION QUALITATIVE DE VARIANTS ABSENTS DU GÉNOME MATERNEL

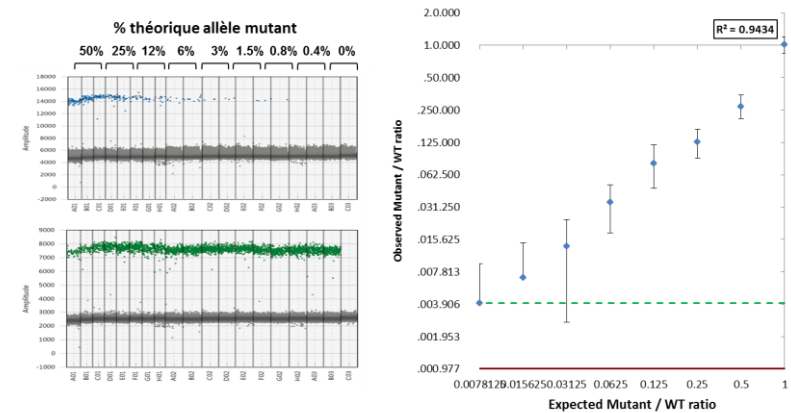
MISE AU POINT DES SONDES D'HYDROLYSE & CONTRÔLE QUALITÉ

GRADIENT DE TEMPÉRATURE



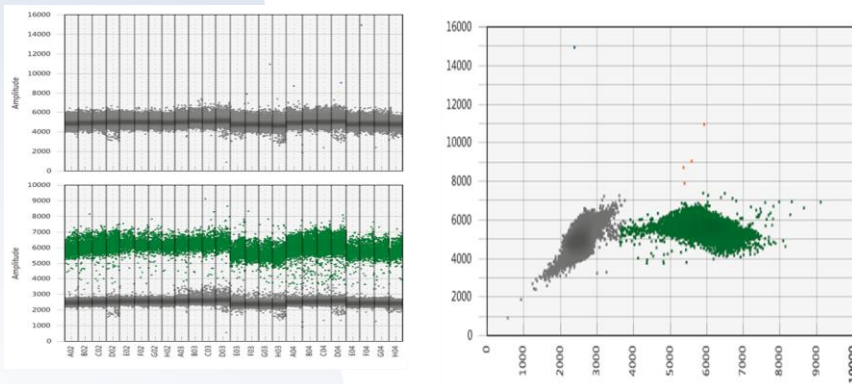
→ Identification des conditions d'amplification

LINÉARITÉ



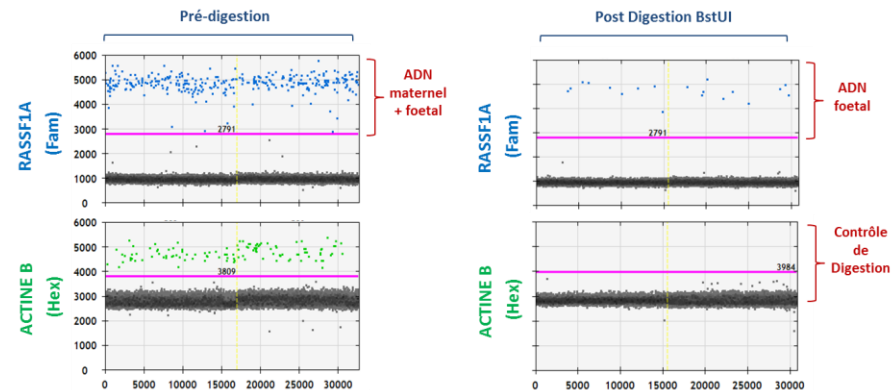
→ Détermination de la linéarité de l'essai ($R^2 > 0,8$)

SENSIBILITÉ & SPÉCIFICITÉ



→ Détermination de la limite de blanc (<3 copies/puits)
→ Détermination de la limite de détection (>6 copies/puits)

FRACTION FŒTALE



→ Lors de chaque expérience, évaluation de la fraction fœtale

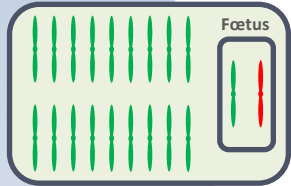
DIAGNOSTIC D'EXCLUSION DES VARIANTS PATERNELS

MUCOVISCIDOSE

Famille 17DPXX

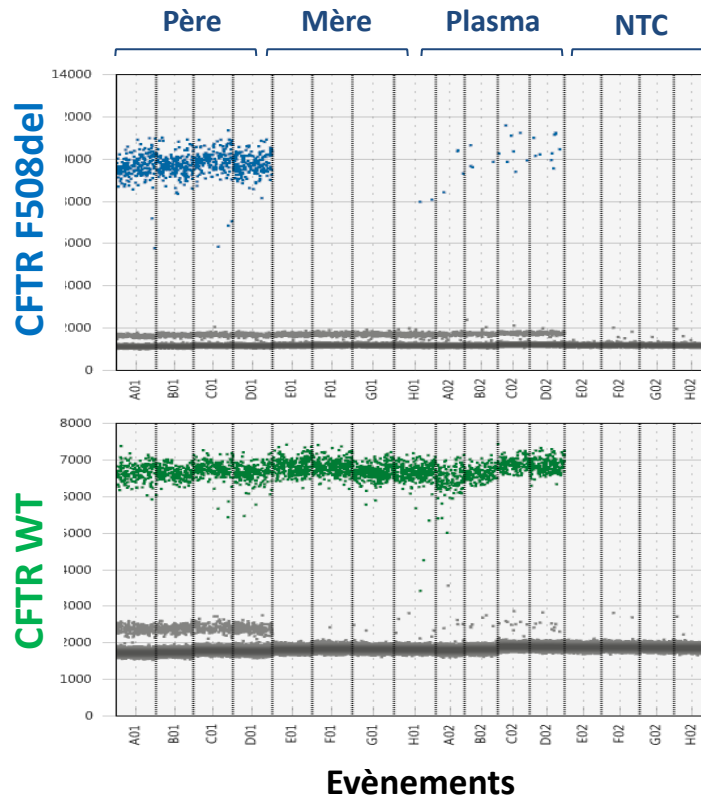
$CFTR_{pat}$ p.Phe508del

Mère

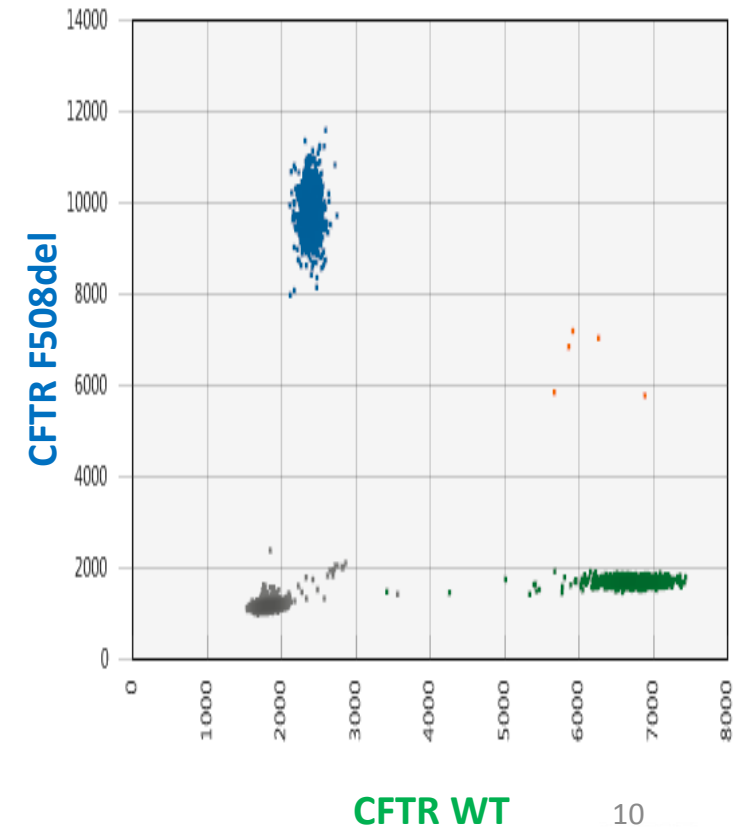


→ Fœtus porteur

1D Amplitude



2D Amplitude



DIAGNOSTIC D'EXCLUSION DES VARIANTS PATERNELS

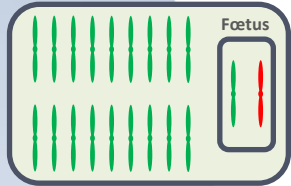
MUCOVISCIDOSE

Famille 17DPXX

$CFTR_{pat}$ p.Phe508del

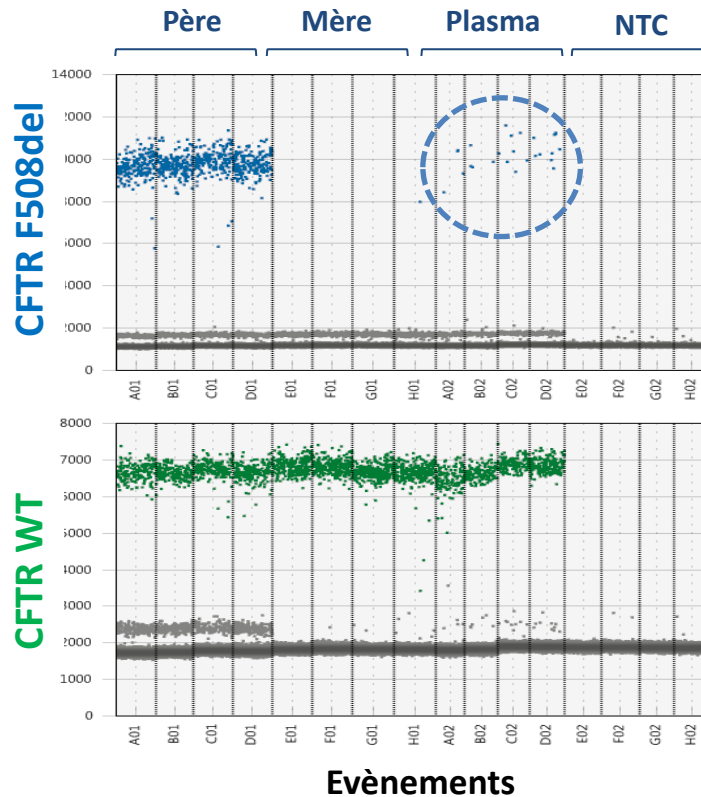
Mère

Fœtus

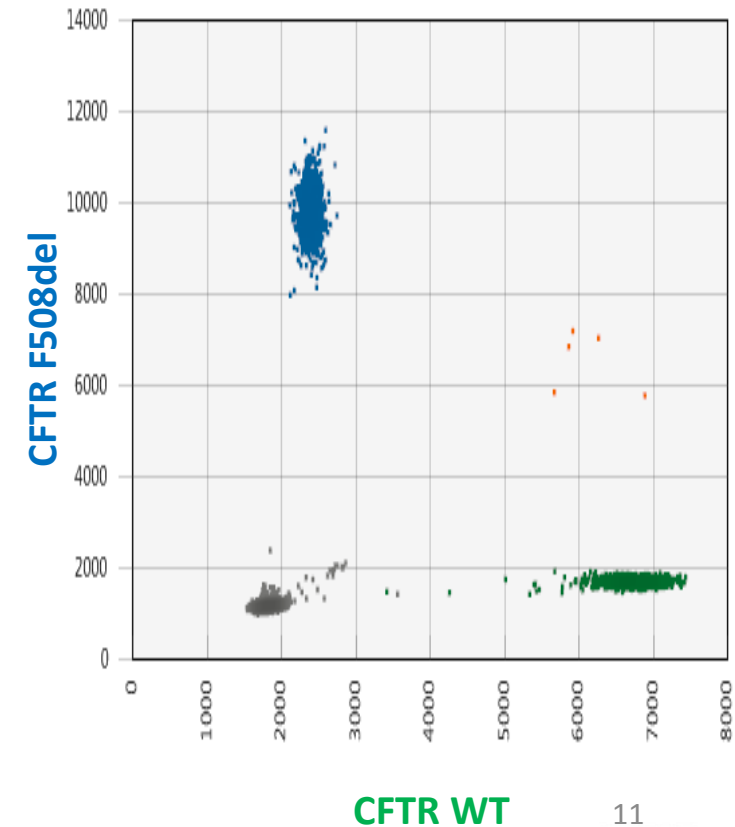


→ Fœtus porteur

1D Amplitude



2D Amplitude



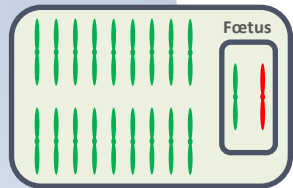
DIAGNOSTIC D'EXCLUSION DES VARIANTS PATERNELS

MUCOVISCIDOSE

Famille 17DPXX

$CFTR_{pat}$ p.Phe508del

Mère

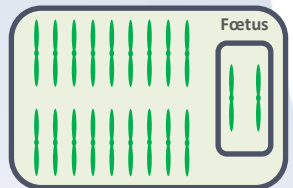


→ Fœtus porteur

Famille 17DP83

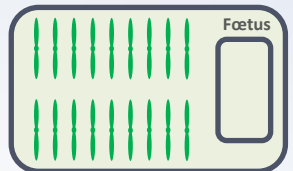
$CFTR_{pat}$ p.Phe508del

Mère

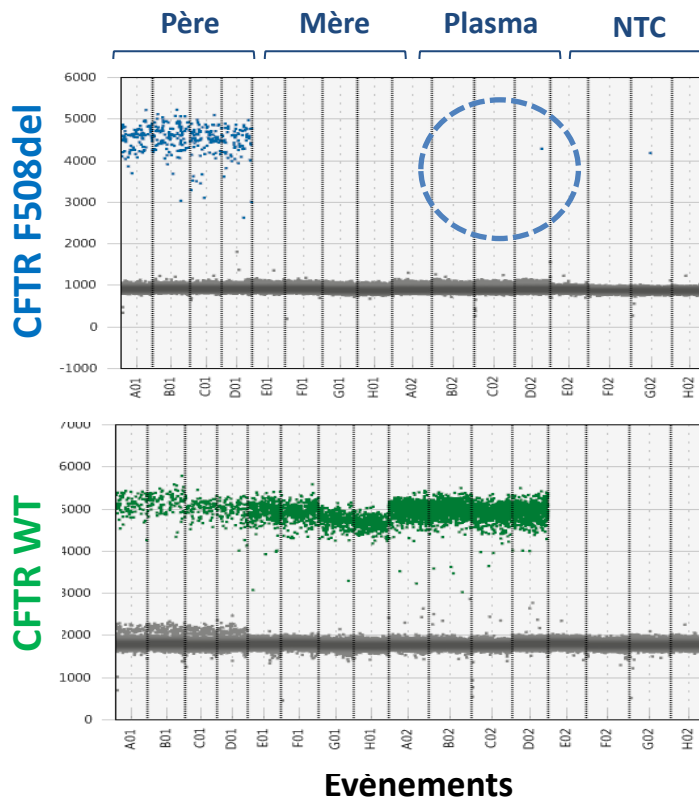


?

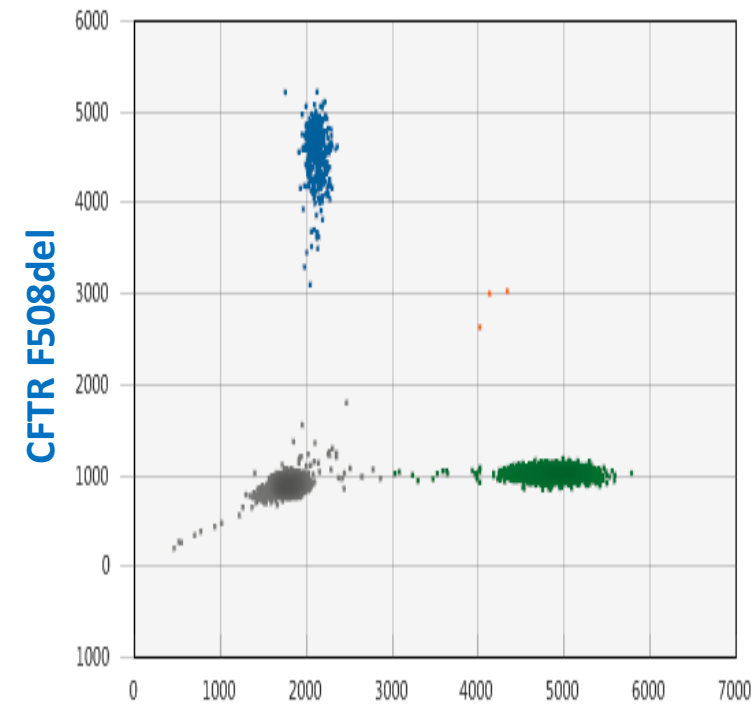
Mère



1D Amplitude

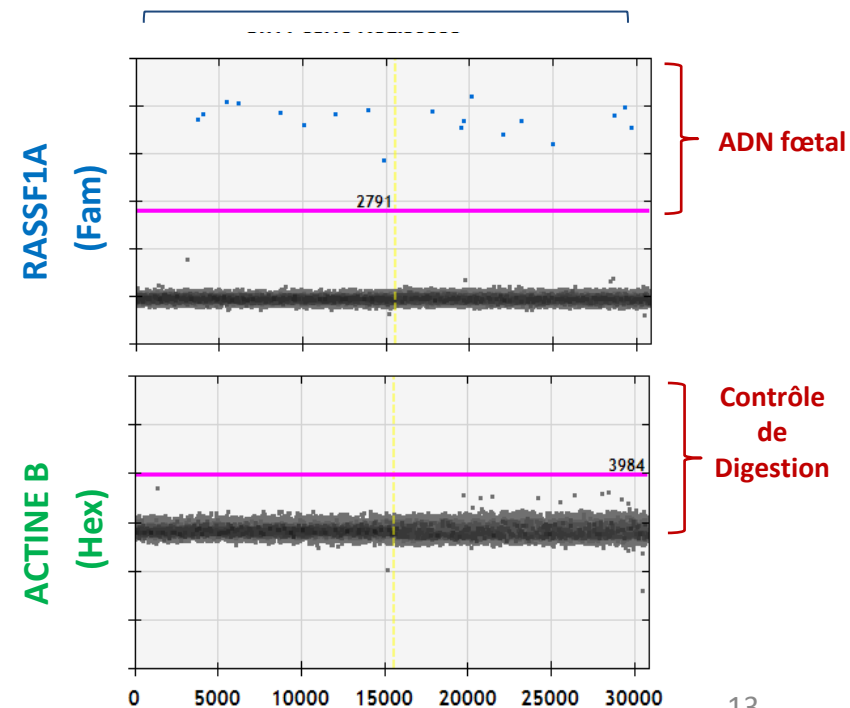
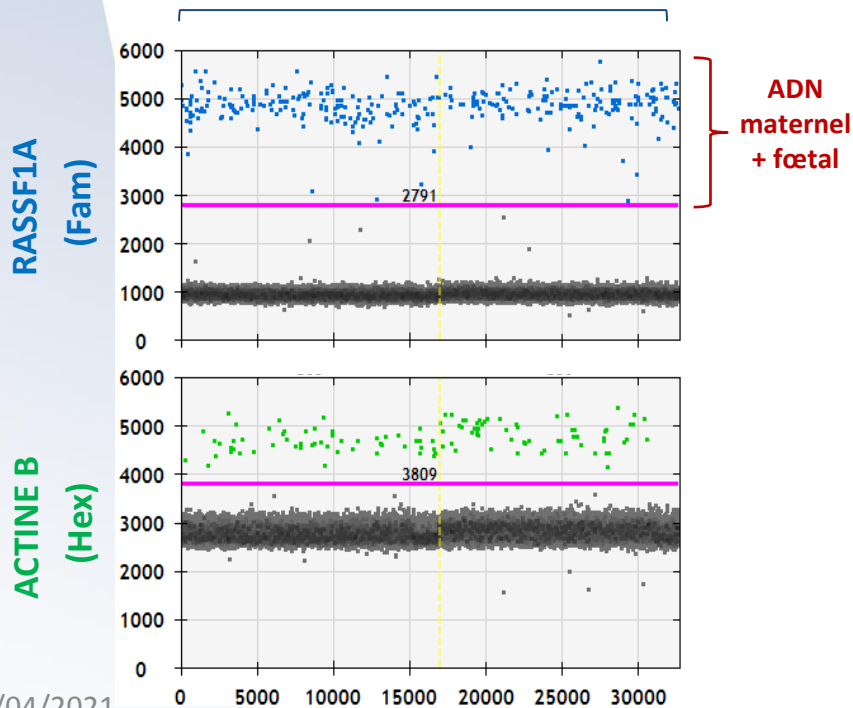
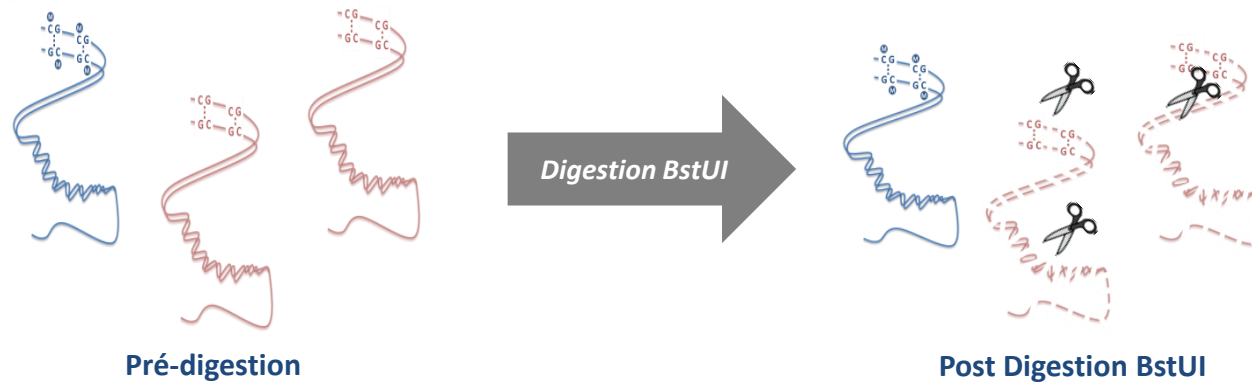


2D Amplitude



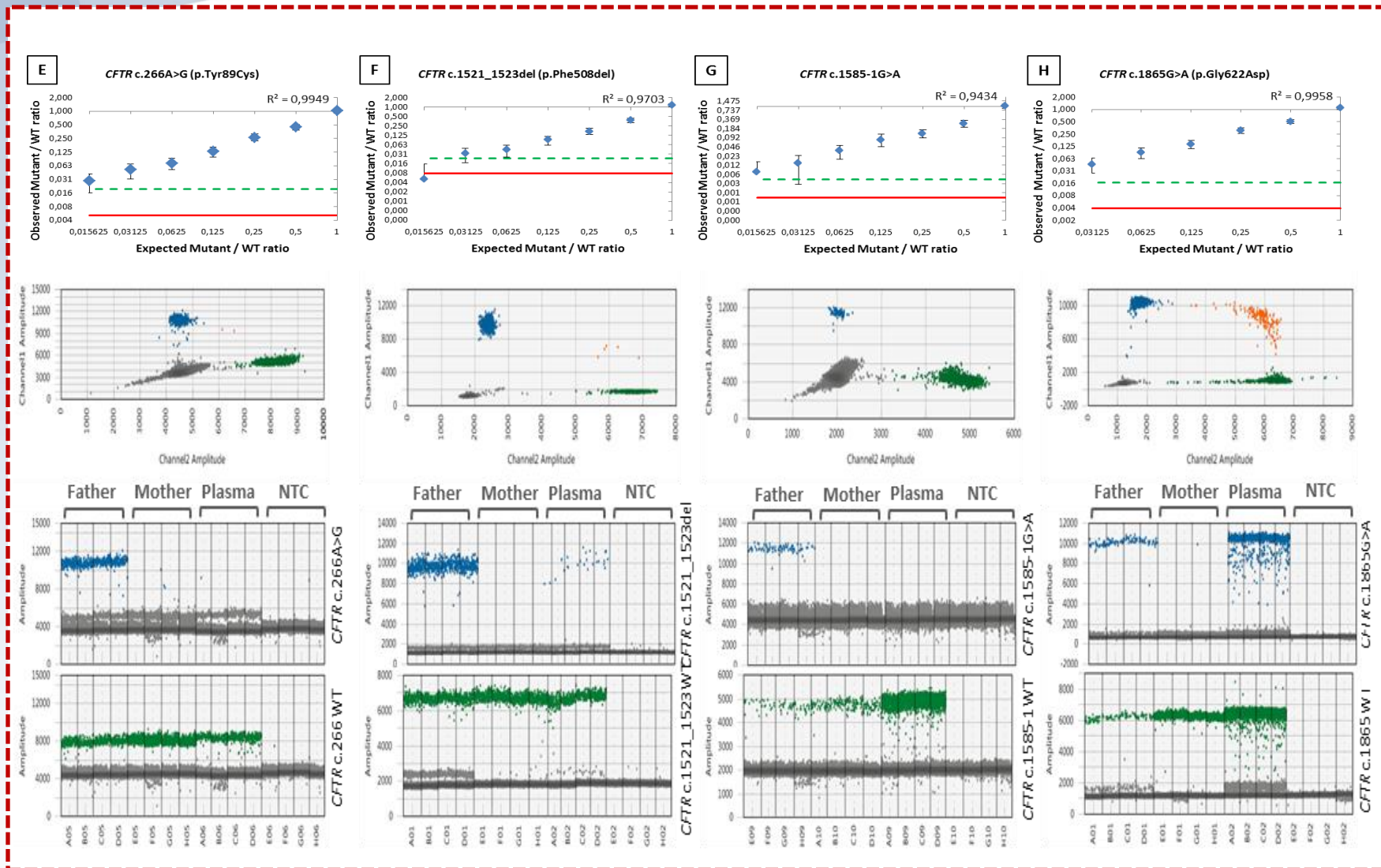
DÉTECTION DE L'ADN FŒTAL LIBRE PLASMATIQUE

ETUDE DU PROFIL DE MÉTHYLATION RASSF1A*

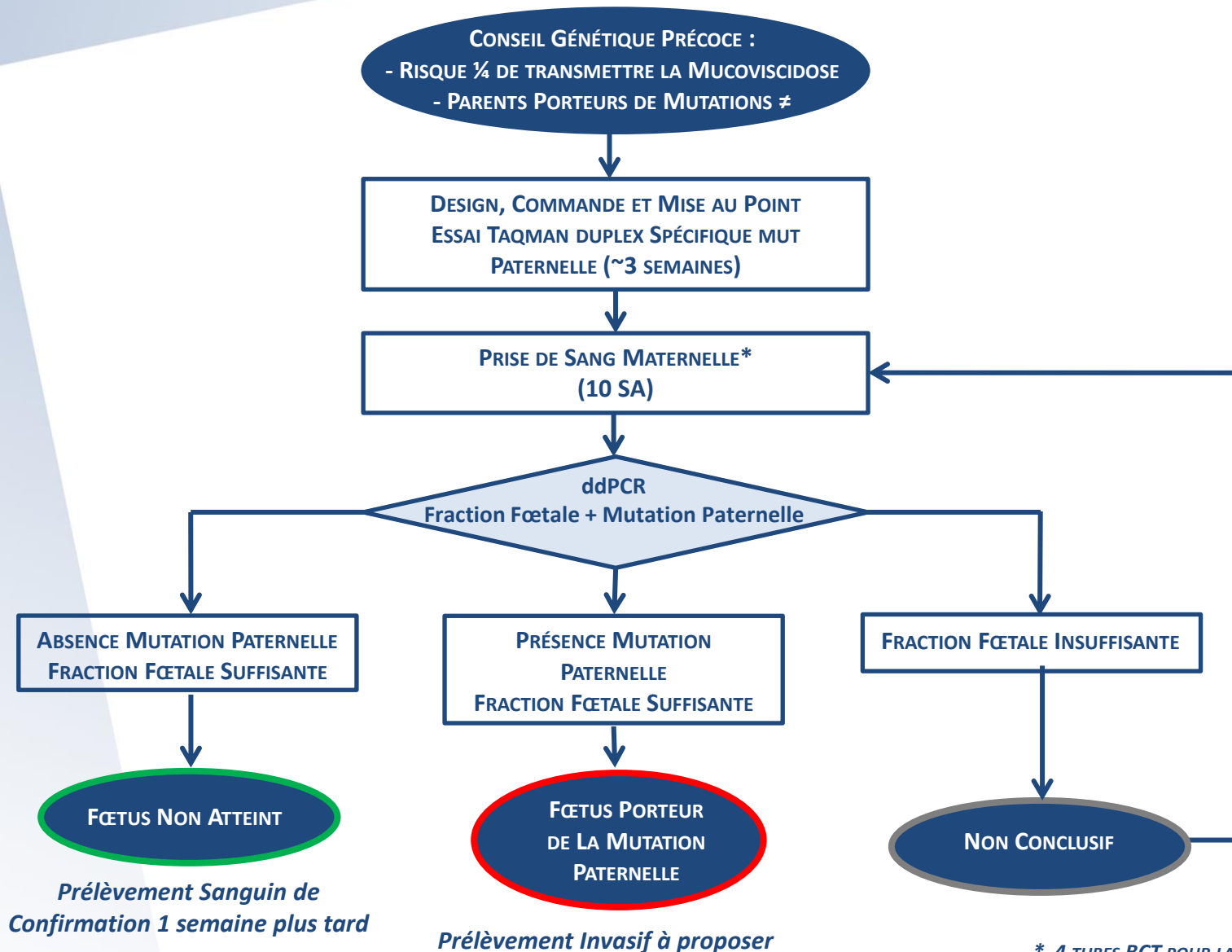


DIAGNOSTIC D'EXCLUSION DES VARIANTS PATERNELS

MUCOVISCIDOSE



WORKFLOW



* 4 TUBES BCT POUR LA MÈRE
+ 1 TUBE EDTA POUR CHAQUE PARENT

DIAGNOSTIC D'EXCLUSION DES VARIANTS PATERNELS

RAPPORT D'ACTIVITÉ – GBM, HUPC COCHIN

	2017	2018	2019	2020	03/2021
Achondroplasiae	30	19	32	38	7
Dysplasies thanatophores Gène <i>FGFR3</i> , 5 variants ≠			5	3	
Mucoviscidose	14	11	18	27	9
Gène <i>CFTR</i> , 37 variants ≠					
Neurofibromatose Type 1	3	5	2	4	3
Gène <i>NF1</i> , 26 variants ≠					
Autres	-	1	2	16	12
Gènes <i>APC</i> , <i>CHAMP1</i> , <i>COL3A1</i> , <i>DHCR7</i> , <i>FBN1</i> etc..., 36 variants ≠					

Orhant et al, Prenat Diag, 2016 Nectoux, Mol Diag Ther, 2018
Orhant et al, Ann Biol Clin, 2016 Gruber et al, CCLM, 2018

Transcrit	Nomenclature cDNA	Nomenclature Prot
<i>CFTR</i> (NM_000492.3)	c.165-2A>G	
<i>CFTR</i> (NM_000492.3)	c.178G>T	p.Glu60*
<i>CFTR</i> (NM_000492.3)	c.254G>A	p.Gly85Glu
<i>CFTR</i> (NM_000492.3)	c.266A>G	p.Tyr89Cys
<i>CFTR</i> (NM_000492.3)	c.366T>A	p.Tyr122*
<i>CFTR</i> (NM_000492.3)	c.496A>T	p.Lys166*
<i>CFTR</i> (NM_000492.3)	c.658C>T	p.Gln220*
<i>CFTR</i> (NM_000492.3)	c.680T>G	p.Leu227Arg
<i>CFTR</i> (NM_000492.3)	c.965T>C	p.Val322Ala
<i>CFTR</i> (NM_000492.3)	c.1367T>C	p.Val456Ala
<i>CFTR</i> (NM_000492.3)	c.1397C>G	p.Ser466*
<i>CFTR</i> (NM_000492.3)	c.1519_1521del	p.Ile507del
<i>CFTR</i> (NM_000492.3)	c.1521_1523delCTT	p.Phe508del
<i>CFTR</i> (NM_000492.3)	c.1585-1G>A	
<i>CFTR</i> (NM_000492.3)	c.1624G>T	p.Gly542*
<i>CFTR</i> (NM_000492.3)	c.1652G>A	p.Gly551Asp
<i>CFTR</i> (NM_000492.3)	c.1657C>T	p.Arg553*
<i>CFTR</i> (NM_000492.3)	c.1753G>T	p.Glu585*
<i>CFTR</i> (NM_000492.3)	c.1865G>A	p.Gly622Asp
<i>CFTR</i> (NM_000492.3)	c.2051_2052delinsG	p.Lys684Serfs*38
<i>CFTR</i> (NM_000492.3)	c.2538G>A	p.Trp846*
<i>CFTR</i> (NM_000492.3)	c.2657+5G>A	
<i>CFTR</i> (NM_000492.3)	c.2988+1G>A	
<i>CFTR</i> (NM_000492.3)	c.3454G>C	p.Asp1152His
<i>CFTR</i> (NM_000492.3)	c.3484C>T	p.Arg1162*
<i>CFTR</i> (NM_000492.3)	c.3528del	p.Lys1177Serfs*15
<i>CFTR</i> (NM_000492.3)	c.3615delC	p.Ser1206Glnfs*5
<i>CFTR</i> (NM_000492.3)	c.3659delC	p.Thr1220Lysfs*8
<i>CFTR</i> (NM_000492.3)	c.3718-2477C>T	
<i>CFTR</i> (NM_000492.3)	c.3731G>A	p.Gly1244Glu
<i>CFTR</i> (NM_000492.3)	c.3773dupT	p.Leu1258Phefs*7
<i>CFTR</i> (NM_000492.3)	c.3857T>C	p.Phe1286Ser
<i>CFTR</i> (NM_000492.3)	c.3846G>A	p.Trp1282*
<i>CFTR</i> (NM_000492.3)	c.3889dup	p.Ser1297Phefs*5
<i>CFTR</i> (NM_000492.3)	c.3909C>G	p.Asn1303Lys
<i>CFTR</i> (NM_000492.3)	c.4242+1G>T	
<i>CFTR</i> (NM_000492.3)	c.4300_4301dup	p.Ser1435Glyfs*14

DIAGNOSTIC PRÉNATAL NON INVASIF

APPLICATIONS

(1) DÉTECTION QUALITATIVE DE SÉQUENCES ABSENTES DU GÉNOME MATERNEL

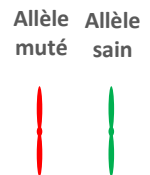
- Détermination du sexe fœtal

Hyperplasie congénitale des surrénales

Maladies liées à l'X

- Génotypage RHD fœtal

Risque d'allo-immunisation fœto-maternelle



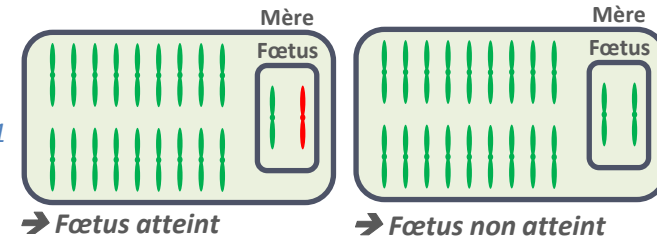
(2) DÉTECTION QUALITATIVE DE MUTATIONS ABSENTES DU GÉNOME MATERNEL

- Maladies associées à des mutations *de novo*
- Maladies dominantes héritées de père
- Diagnostic d'exclusion des maladies récessives

Achondroplasie

Neurofibromatose de type 1

Mucoviscidose



(3) DÉTECTION QUANTITATIVE DE MUTATIONS PRÉSENTES DANS LE GÉNOME MATERNEL

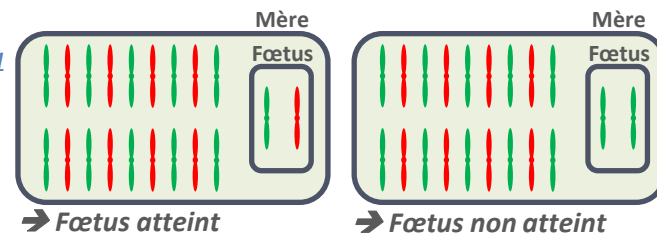
- Maladies dominantes héritées de la mère
- Maladies récessives
- Maladies liées à l'X

Neurofibromatose de type 1

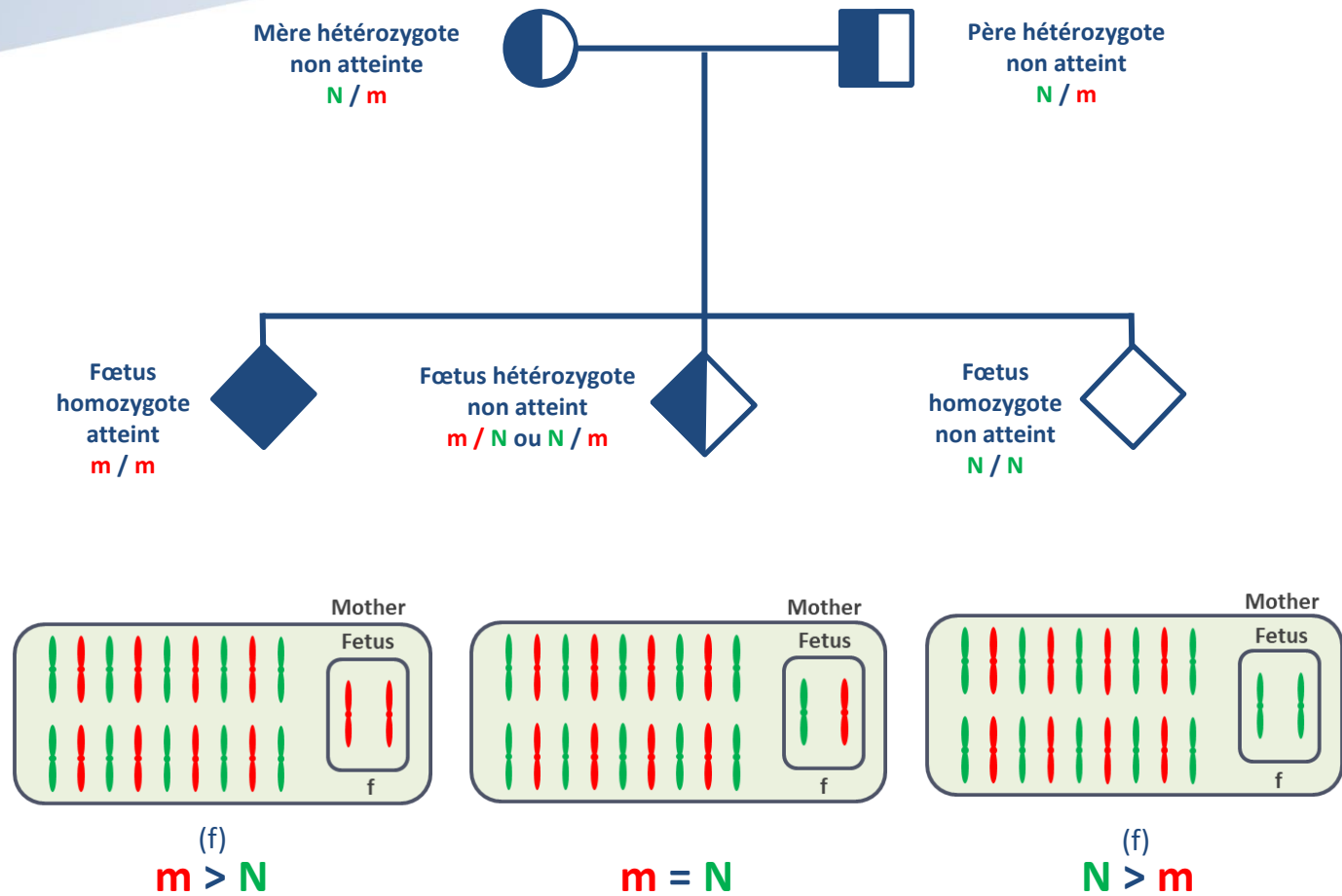
Mucoviscidose

Myopathie de Duchenne

Hémophilie



DÉTECTION QUANTITATIVE DE L'HAPLOTYPE MATERNEL



DÉTECTION QUANTITATIVE DE L'HAPLOTYPE MATERNEL

Maternal Plasma DNA Sequencing Reveals the Genome-Wide Genetic and Mutational Profile of the Fetus

Y. M. Dennis Lo,^{1,2*} K. C. Allen Chan,^{1,2} Hao Sun,^{1,2} Eric Z. Chen,^{1,2} Peiyong Jiang,^{1,2}
 Fiona M. F. Lun,^{1,2} Yama W. Zheng,^{1,2} Tak Y. Leung,³ Tze K. Lau,³
 Charles R. Cantor,⁴ Rossa W. K. Chiu^{1,2}
(Published 6 December 2010; Volume 2 Issue 61 61ra99)

Lo et al, 2010

Mère hétérozygote
non atteinte
 N / m



Père hétérozygote
non atteint
 N / m

Cas Index
homozygote
atteint
 m / m



Fœtus
homozygote
atteint
 m / m



Fœtus hétérozygote
non atteint
 m / N ou N / m



Fœtus
homozygote
non atteint
 N / N



DÉTECTION QUANTITATIVE DE L'HAPLOTYPE MATERNEL

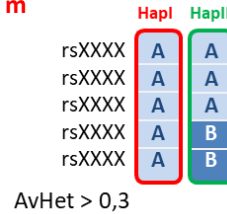
Maternal Plasma DNA Sequencing Reveals the Genome-Wide Genetic and Mutational Profile of the Fetus

Y. M. Dennis Lo,^{1,2*} K. C. Allen Chan,^{1,2} Hao Sun,^{1,2} Eric Z. Chen,^{1,2} Peiyong Jiang,^{1,2}
 Fiona M. F. Lun,^{1,2} Yama W. Zheng,^{1,2} Tak Y. Leung,³ Tze K. Lau,³
 Charles R. Cantor,⁴ Rossa W. K. Chiu

Published 6 December 2010 | Volume 2 Issue 61 | 61ra991

Lo et al, 2010

Mère hétérozygote
non atteinte
N / m



Père hétérozygote
non atteint
N / m



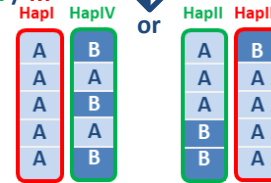
Cas Index
homozygote
atteint
m / m



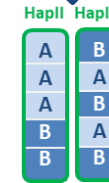
Fœtus
homozygote
atteint
m / m



Fœtus hétérozygote
non atteint
m / N ou N / m



Fœtus
homozygote
non atteint
N / N

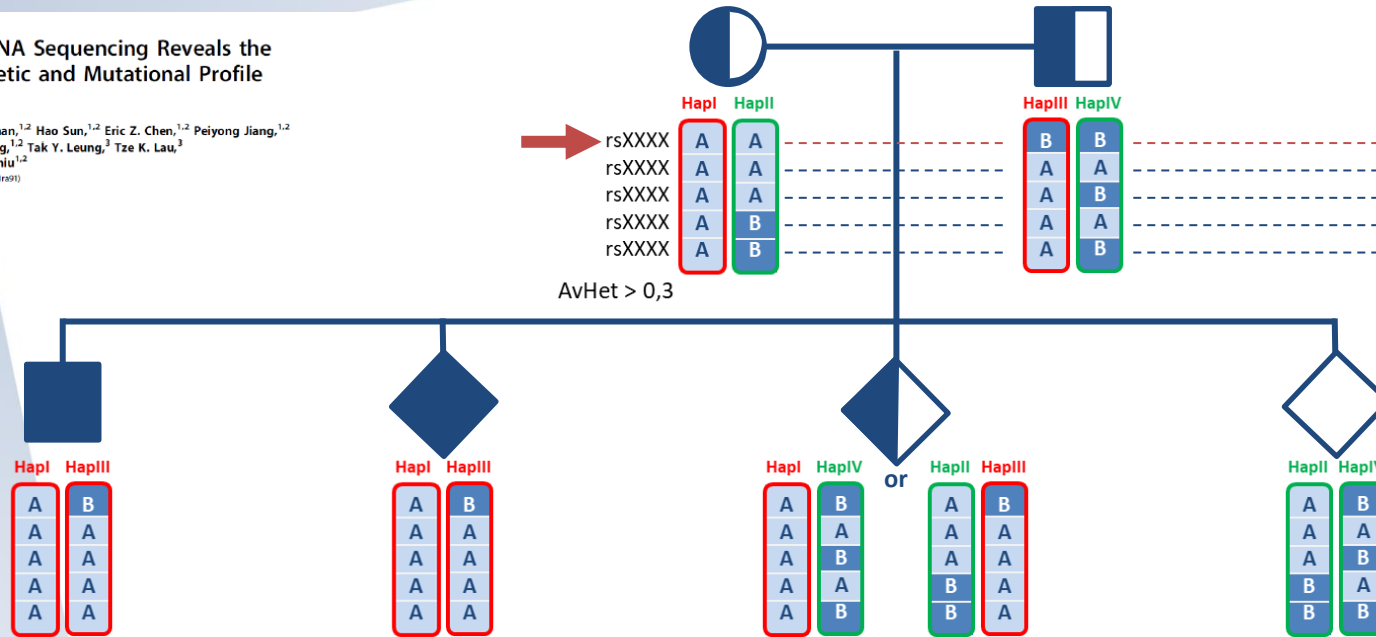


DÉTECTION QUANTITATIVE DE L'HAPLOTYPE MATERNEL

Maternal Plasma DNA Sequencing Reveals the Genome-Wide Genetic and Mutational Profile of the Fetus

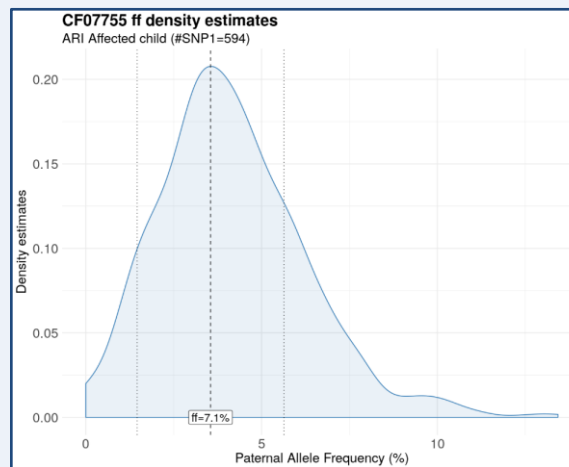
Y. M. Dennis Lo,^{1,2*} K. C. Allen Chan,^{1,2} Hao Sun,^{1,2} Eric Z. Chen,^{1,2} Peiyong Jiang,^{1,2}
Fiona M. F. Lun,^{1,2} Yama W. Zheng,^{1,2} Tak Y. Leung,³ Tze K. Lau,³
Charles R. Cantor,⁴ Rossa W. K. Chiu
(Published 6 December 2010; Volume 2 Issue 61 61ra91)

Lo et al, 2010



SNP1

→ Estimation de la fraction foetale



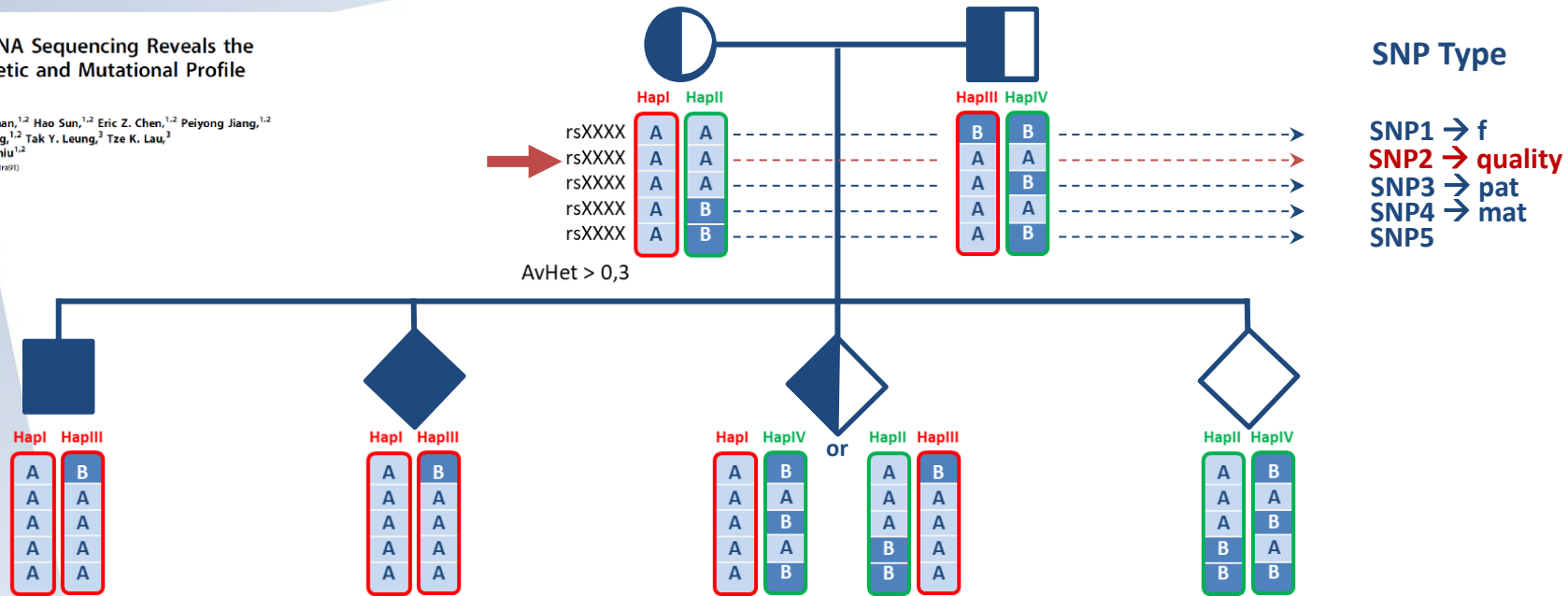
PLASMA

DÉTECTION QUANTITATIVE DE L'HAPLOTYPE MATERNEL

Maternal Plasma DNA Sequencing Reveals the Genome-Wide Genetic and Mutational Profile of the Fetus

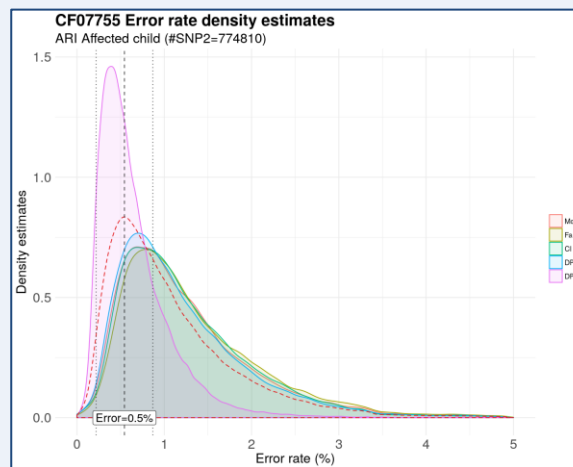
Y. M. Dennis Lo,^{1,2*} K. C. Allen Chan,^{1,2} Hao Sun,^{1,2} Eric Z. Chen,^{1,2} Peiyong Jiang,^{1,2}
Fiona M. F. Lun,^{1,2} Yama W. Zheng,^{1,2} Tak Y. Leung,³ Tze K. Lau,³
Charles R. Cantor,⁴ Rossa W. K. Chiu
(Published 6 December 2010; Volume 2 Issue 61 e119291)

Lo et al, 2010



SNP2

- Estimation du bruit de fond de séquençage
- Qualité (normalisation des résultats)

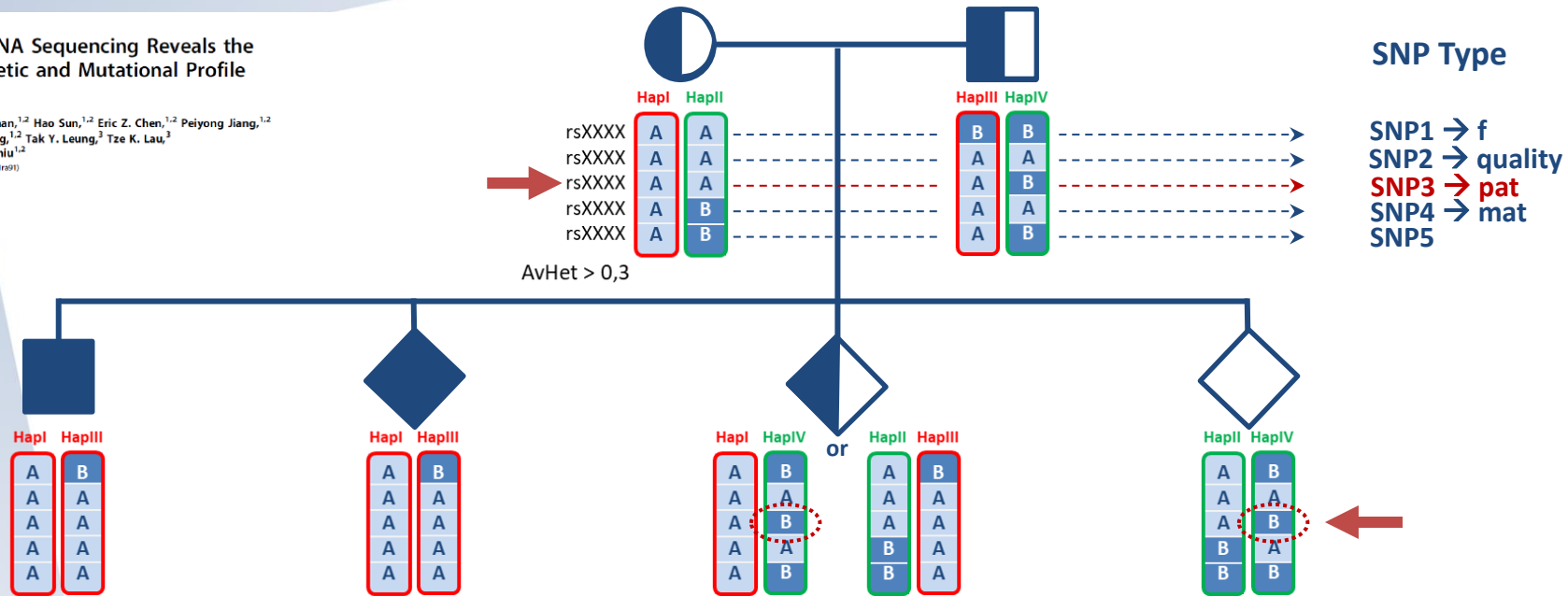


DÉTECTION QUANTITATIVE DE L'HAPLOTYPE MATERNEL

Maternal Plasma DNA Sequencing Reveals the Genome-Wide Genetic and Mutational Profile of the Fetus

Y. M. Dennis Lo,^{1,2*} K. C. Allen Chan,^{1,2} Hao Sun,^{1,2} Eric Z. Chen,^{1,2} Peiyong Jiang,^{1,2} Fiona M. F. Lun,^{1,2} Yama W. Zheng,^{1,2} Tak Y. Leung,² Tze K. Lau,³ Charles R. Cantor,⁴ Rossa W. K. Chiu
(Published 6 December 2010; Volume 2 Issue 61 e119291)

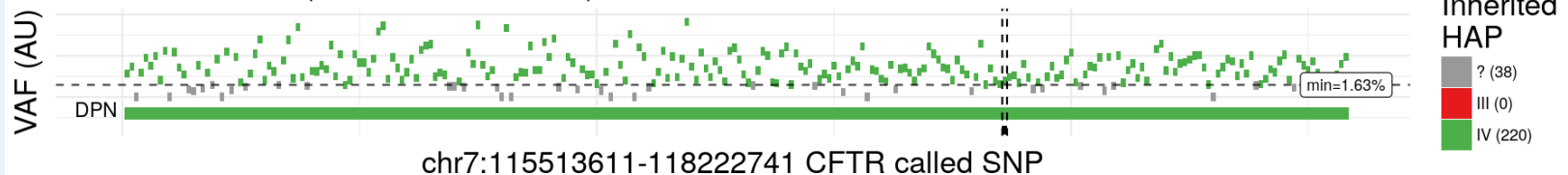
Lo et al, 2010



SNP3 → permet de savoir si le père a transmis son allèle « à risque » (Hap III) ou son allèle « non à risque » (HapIV)

CF07755 Fa haplotype inheritance

ARI Affected child (#SNP3A/D/E/H=258)

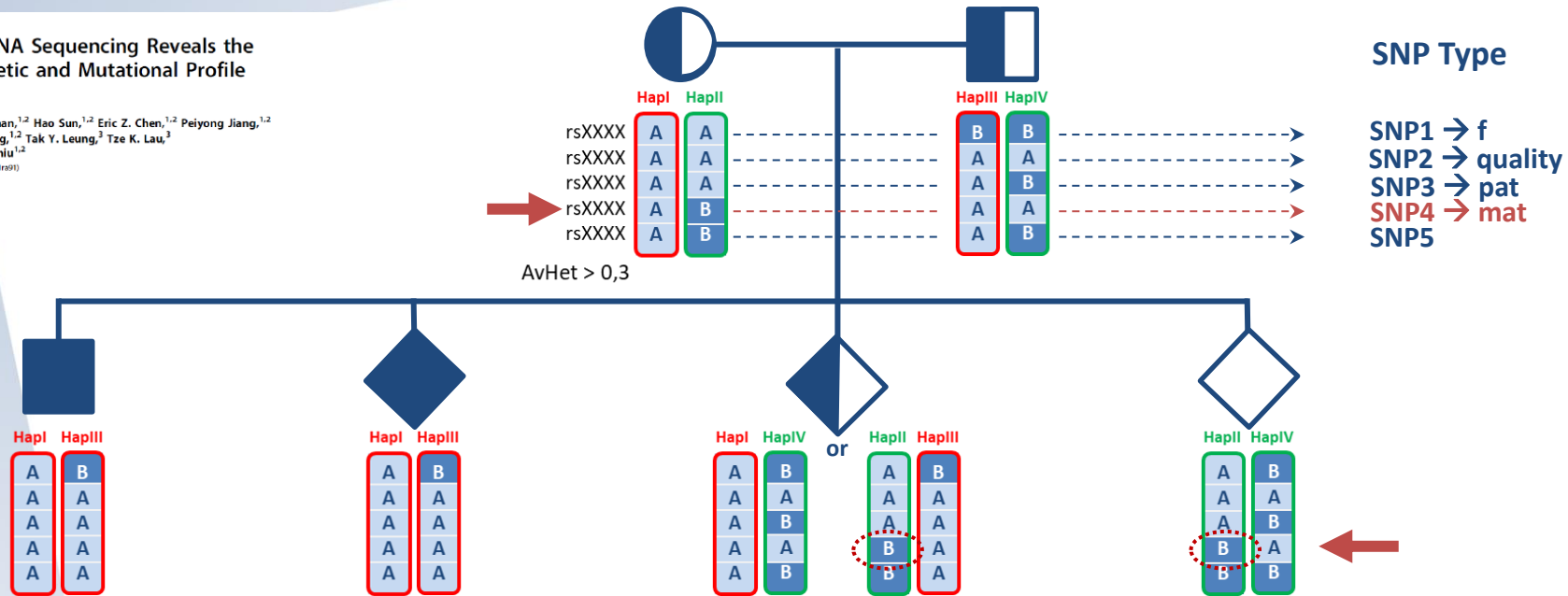


DÉTECTION QUANTITATIVE DE L'HAPLOTYPE MATERNEL

Maternal Plasma DNA Sequencing Reveals the Genome-Wide Genetic and Mutational Profile of the Fetus

Y. M. Dennis Lo,^{1,2*} K. C. Allen Chan,^{1,2} Hao Sun,^{1,2} Eric Z. Chen,^{1,2} Peiyong Jiang,^{1,2}
Fiona M. F. Lun,^{1,2} Yama W. Zheng,^{1,2} Tak Y. Leung,³ Tze K. Lau,³
Charles R. Cantor,⁴ Rossa W. K. Chiu
(Published 5 December 2010; Volume 2 Issue 61 e119291)

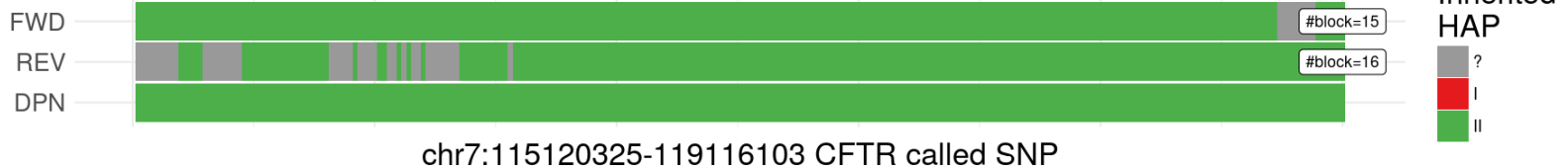
Lo et al, 2010



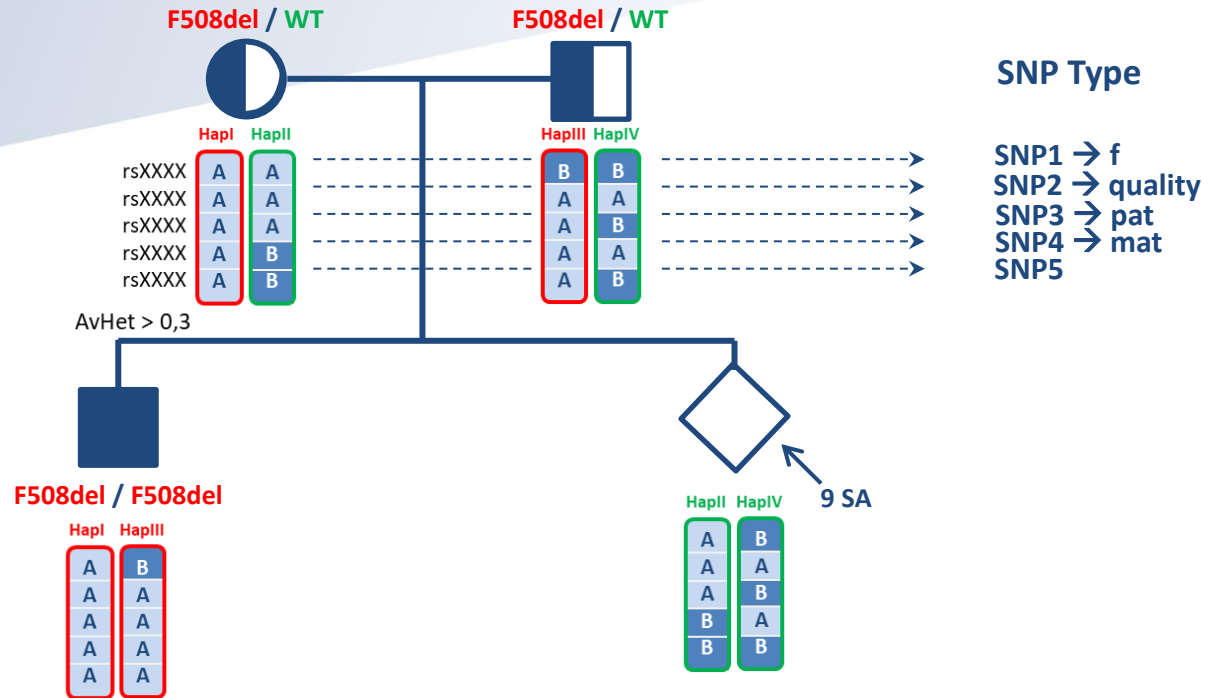
SNP4 → permet de savoir si la mère a transmis son allèle « à risque » (Hap I) ou son allèle « non à risque » (Hap II)

CF07755 SPRT haplotype inheritance

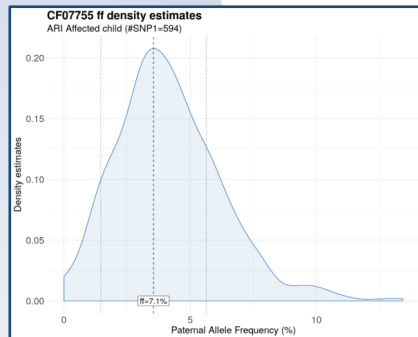
ARI Affected child (#SNP4=250/ff=7.3%)



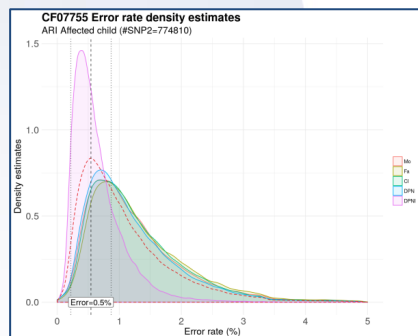
FAMILY CF07755



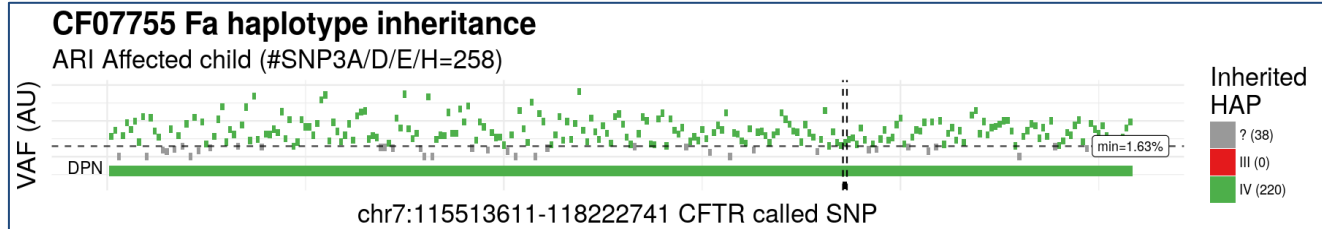
Fetal Fraction Estimation (#SNP1)



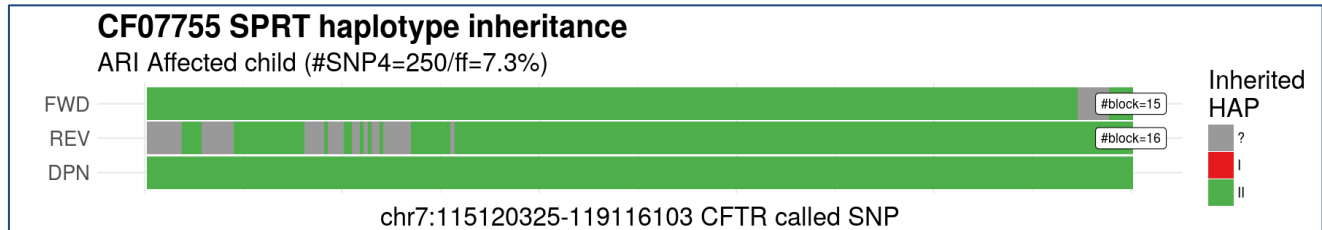
Sequencing Error Estimation (#SNP2)



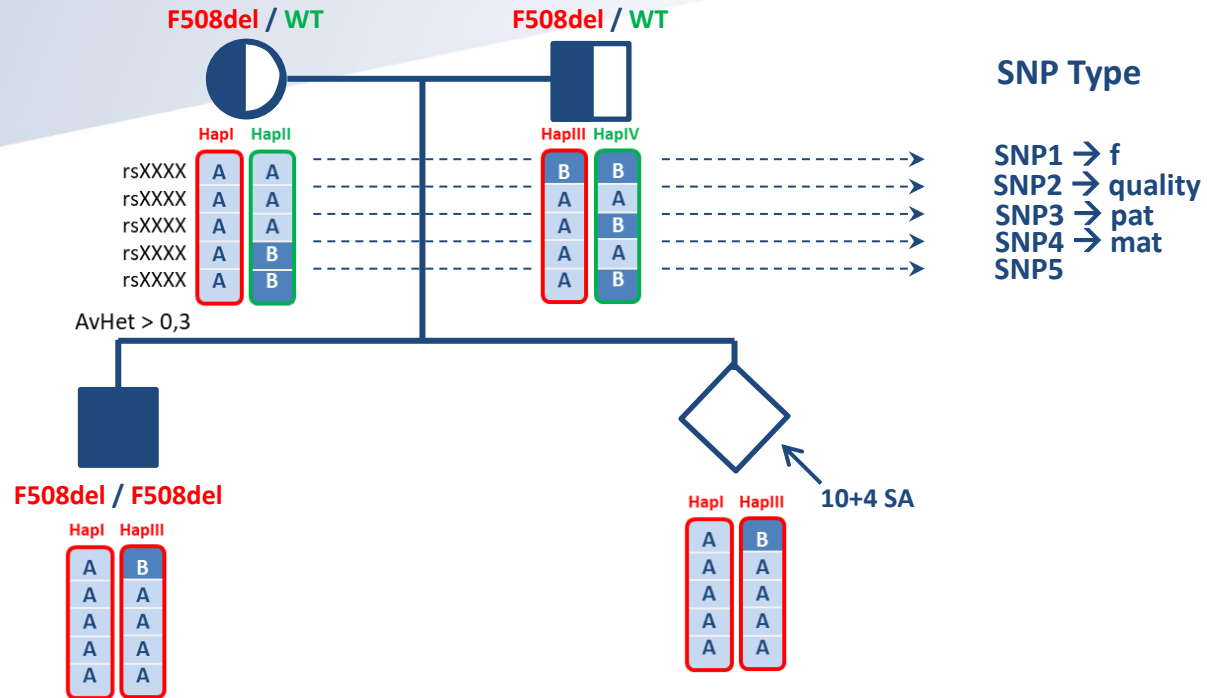
Paternally-inherited Haplotype (#SNP3)



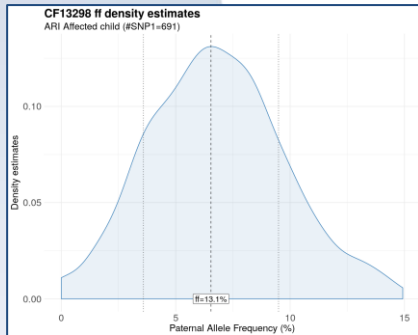
Maternally-inherited Haplotype (#SNP4)



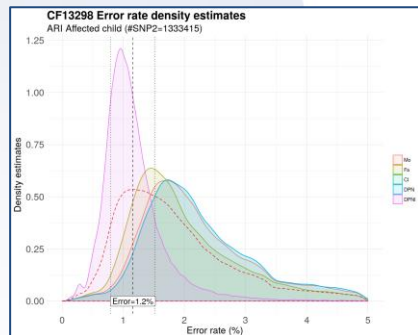
FAMILY CF13298



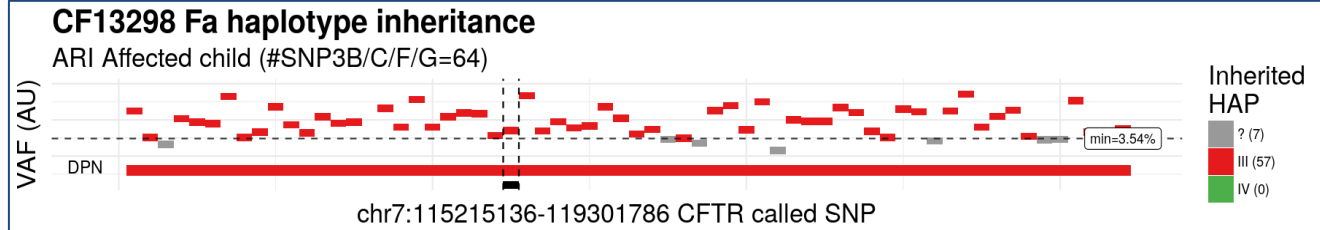
Fetal Fraction Estimation (#SNP1)



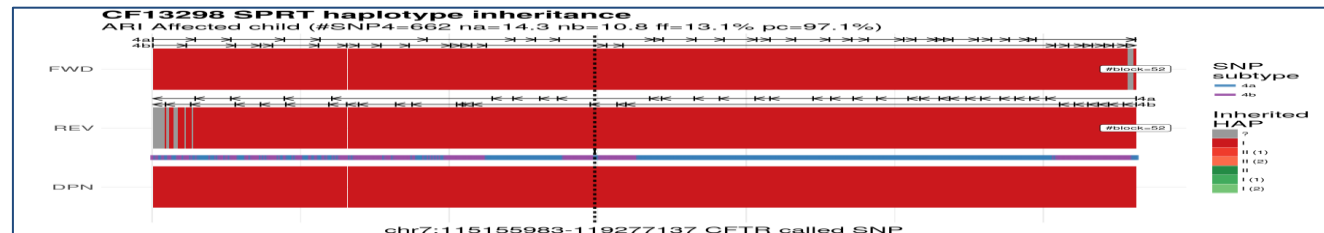
Sequencing Error Estimation (#SNP2)



Paternally-inherited Haplotype (#SNP3)



Maternally-inherited Haplotype (#SNP4)



RÉSULTATS

Family	Amenorrhea weeks	Proband	Fetal Fraction	Coverage Plasma		Informative SNP on Paternal Alleles	Informative SNP on Maternal Alleles	Blocks correctly classified	Conclusion
				Cov	30X				
CF10369	13	Considered affected child	14.2%	200	99.5%	429	289	95%	OK
CF10393	12+1	Carrier first child	11.2%	179	99.3%	471	295	100%	OK
CF10424	12+4	Considered affected child	11.5%	204	99.5%	315	408	100%	OK
CF11117	11	Affected child	6.0%	190	99.2%	508	201	100%	OK
CF07755	9	Affected first child	7.3%	209	99.5%	644	250	90%	OK
CF09033	13	Unaffected first child	11.8%	203	99.5%	610	357	100%	OK
CF09279	12+2	Considered affected child	9.7%	180	99.3%	283	416	100%	OK
CF11600	12+4	Carrier first child	8.2%	269	99.7%	166	378	100%	OK
CF10336	12+1	Unaffected first child	7.5%	198	99.5%	491	298	100%	OK
CF09900	12+5	Unaffected first child	12.5%	166	99.2%	423	258	100%	OK
CF07841	11+6	Affected first child	14.5%	132	98.7%	200	327	100%	OK
CF11609_DPN1	13	First child carrier	10.2%	129	99.1%	394	247	97%	OK
CF11609_DPN2	11+4	Affected first child	9.4%	141	98.3%	388	247	100%	OK
CF10621	12+2	Affected first child	3.7%	160	98.8%	218	247	100%	Poor
CF10705_DPN1	18+4	Carrier first child	9.6%	110	98.5%	209	246	100%	OK
CF10705_DPN2	12+1	Affected first child	6.9%	146	98.6%	212	249	100%	OK
CF12282	14+4	Affected first child	15.1%	128	98.7%	243	218	100%	OK
CF08820	12+2	Unaffected first child	15.1%	168	99.0%	381	265	100%	OK
CF12618	7+6	Unaffected first child	7.7%	183	99.2%	195	170	100%	OK
CF12544	25	Considered unaffected child	6.4%	177	99.3%	425	244	100%	OK
CF13298	10+4	Affected first child	12.0%	167	99.3%	321	409	100%	OK
CF11549_DPN1	10+2	Carrier first child	13.6%	177	99.3%	505	299	100%	OK
CF11549_DPN2	12+1	Affected Child	12.3%	114	97.4%	514	311	100%	OK
CF11639_DPN1	13	Affected first child	7.8%	191	99.5%	360	153	100%	OK
CF11639_DPN2	11+4	Affected first child	12.9%	168	99.4%	360	145	100%	OK

- 24/25 échantillons correctement classifiés « atteint » ou « non atteint » + 1 échec (faible fraction foetale)
- A poursuivre sur l'ensemble de notre cohorte *CFTR*, *DMD* (9/11), *F8* (5/5), *F9*, *NF1* (17/20)

TAKE HOME MESSAGE

- **DIAGNOSTIC D'EXCLUSION DU VARIANT PATERNEL**

- Est proposé dans le cadre du soin, en diagnostic de routine
- Dès 10 semaines d'aménorrhées
- Pour les maladies dominantes héritées du père
- Pour les maladies récessives si les parents sont porteurs de 2 variant différents
- OK pour les mutations ponctuelles et les indels
- Ne convient pas aux grandes délétions ou duplications ni aux expansions de triplets
- Maladies récessives: un test invasif est nécessaire en cas de détection du variant paternel



- **DIAGNOSTIC PRÉNATAL NON INVASIF DE TOUTES LES MALADIES MONOGÉNIQUES**

- Sera bientôt proposé dans le cadre du soin
- Dès 10 semaines d'aménorrhées
- Quel que soit le mode de transmission et le type de mutation des parents
- Pas besoin de confirmation par prélèvement invasif
- Limite principale (pour le moment) : besoin de l'ADN d'un cas index



REMERCIEMENTS

Credits



Bioinformatics

Romain Daveau
Alban Lermine
Magali Champion
Stéphanie Allasonnière

Laboratory technicians, Molecular Biologists, Geneticists

Lucie Orhant
Nicolas Vaucouleur
Nathalie Deburgrave
Gilles Tafuri
Aurélie Vasson
Isabelle Atlan

Thierry Bienvenu
Emmanuelle Girodon
Dominique Vidaud
France Leturcq
Michel Vidaud

Vassilis Tsatsaris
François Goffinet
Olivia Anselem

Laïla El Khattabi
Jean Michel Dupont

Camille Verebi
Mathilde Pacault



Patients and their family