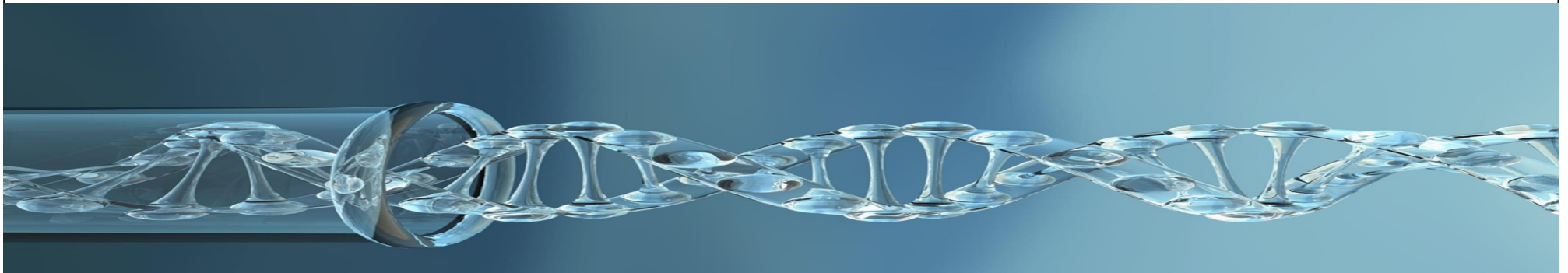


DEPISTAGE DE LA T21 ET PLACE DU DPNI ou ADNlcT21 en 2017

**CAMBRAI 28 MARS 2017
T MARTIN DENAVIT**



NOTRE CENTRE

CAMBRAI 28 MARS 2017

DONNEES CLES ALPIGENE

Ç en 2006 Création du centre d'expertise en génétique médicale ALPIGENE spécialisé chez la femme et l'adulte

Ç Site : ALPIGENE Lyon Gerland 400 m² Plateforme technique pour SYNLAB France
3 médecins généticiens, une équipe de techniciens et administrative (5)
Les domaines d'activités : femme enceinte , le couple infertile, l'oncogénétique
Laboratoire accrédité selon la norme N° 8-3014 NF EN ISO 15189.

Ç Des activités médicales soumises à des agréments ministériels et autorisations :
En génétique humaine non limitée en prénatal et postnatal,
Pour les marqueurs sériques maternels et la biochimie fœtale
Pas de biologie de ville réalisée sur site

Ç Une autorisation ministérielle au cumul d'activité de laboratoire en génétique médicale (2007)

Ç CA 2016 1,3 M€ en nette progression

Ç Les actionnaires : T Martin Denavit (Fondateur et CEO ALPIGENE), CARSO et SYNLAB

LES CORRESPONDANTS DU LABORATOIRE

- Ç Les médecins prescripteurs
- Ç Les sages femmes
- Ç Les Laboratoires de ville (principalement ceux de la région Rhône Alpes)
- Ç Les laboratoires du réseau SYNLAB ñ LABCO France (plus de 40 SEL)

NOS DEVELOPPEMENTS

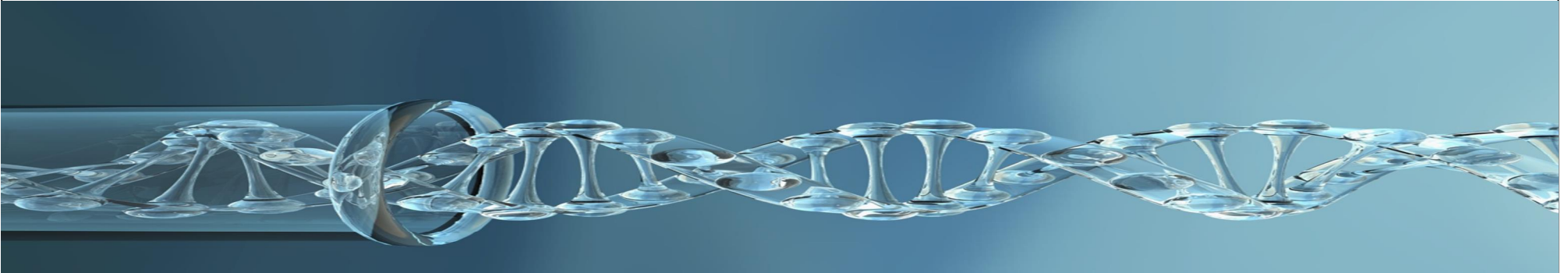
Ç Chez la femme enceinte

DPNI pour la trisomie 21 et les autres aneuploïdies fœtales 13, 18 sur sang maternel VeriSeq NIPT Next Seq 550

Tests de pré-éclampsie au 1^{er} Trimestre en cours d'évaluation

Ç Chez la femme ayant de troubles de la reproduction et pour les couples infertiles

Ç Consultations ONCOGENETIQUE ALPIGENE (référéncée INCA janvier 2016) : prise en charge personnalisé réunissant : oncologues, anapaths, oncogénéticiens et laboratoire (INCA 2017)



Le Point sur le DPNI ou ADNlcT21 en 2017 Expérience ALPIGENE

Cambrai 28 MARS 2017

QUELQUES CHIFFRES

➤ **800 000 naissances par année en France**

- Sensibilité du dépistage de la T21 = 85%

Ç **~92 naissances T21 non-détectées (2015)**

Ç **500 enfants nés porteurs de T21 /an**

ñ amniocentèse: risque de 0.5% à 1% de fausse-couche

. **Les grossesses normales et perdues / année (registres)**

JM Dupont et al., 2017 (Gynécologie Obstétrique et Sénologie)

LE DPNI OU TEST GENETIQUE NON INVASIF

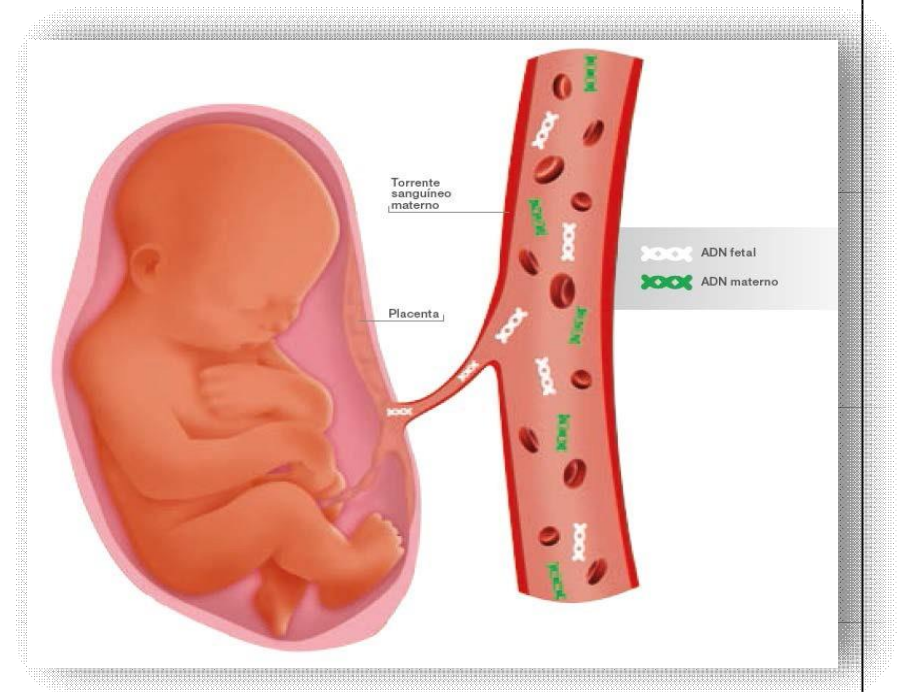
**LE DPNI est un test génétique
Il n'est ni un dépistage / ni un
diagnostic de certitude**

Diminuer le nombre de pertes fœtales

Augmenter la sensibilité et la spécificité

DPNI : nature et principe du test

- Ç Analyse des fragments d'ADN provenant du fœtus, présents dans le sang maternel pendant la grossesse,
- Ç Met en évidence l'excès de matériel chromosomique observé lorsque le fœtus est porteur des trisomies 13, 18 ou 21,
- Ç Analyse plusieurs millions de molécules d'ADN, les attribue à une chromosome d'origine, mesure la proportion relative et révèle ou non une sur-représentation statistiquement significative.



ADN fœtal circulant

➤ Origine :

ñ Découvert en 1997 (Lo et al,) , Origine : trophoblaste

ñ Petits fragments : 80% <193 pb

➤ Avantages :

ñ Apparaît dès 4e semaine de grossesse

ñ Concentration augmente au cours grossesse

ñ Rapidement éliminé après l'accouchement (demi-vie 16 min)

ñ 5 à 10 % d'ADN Libre fœtal dans le sang maternel

Chan et al., Clin Chem, 2004

Technique éprouvée

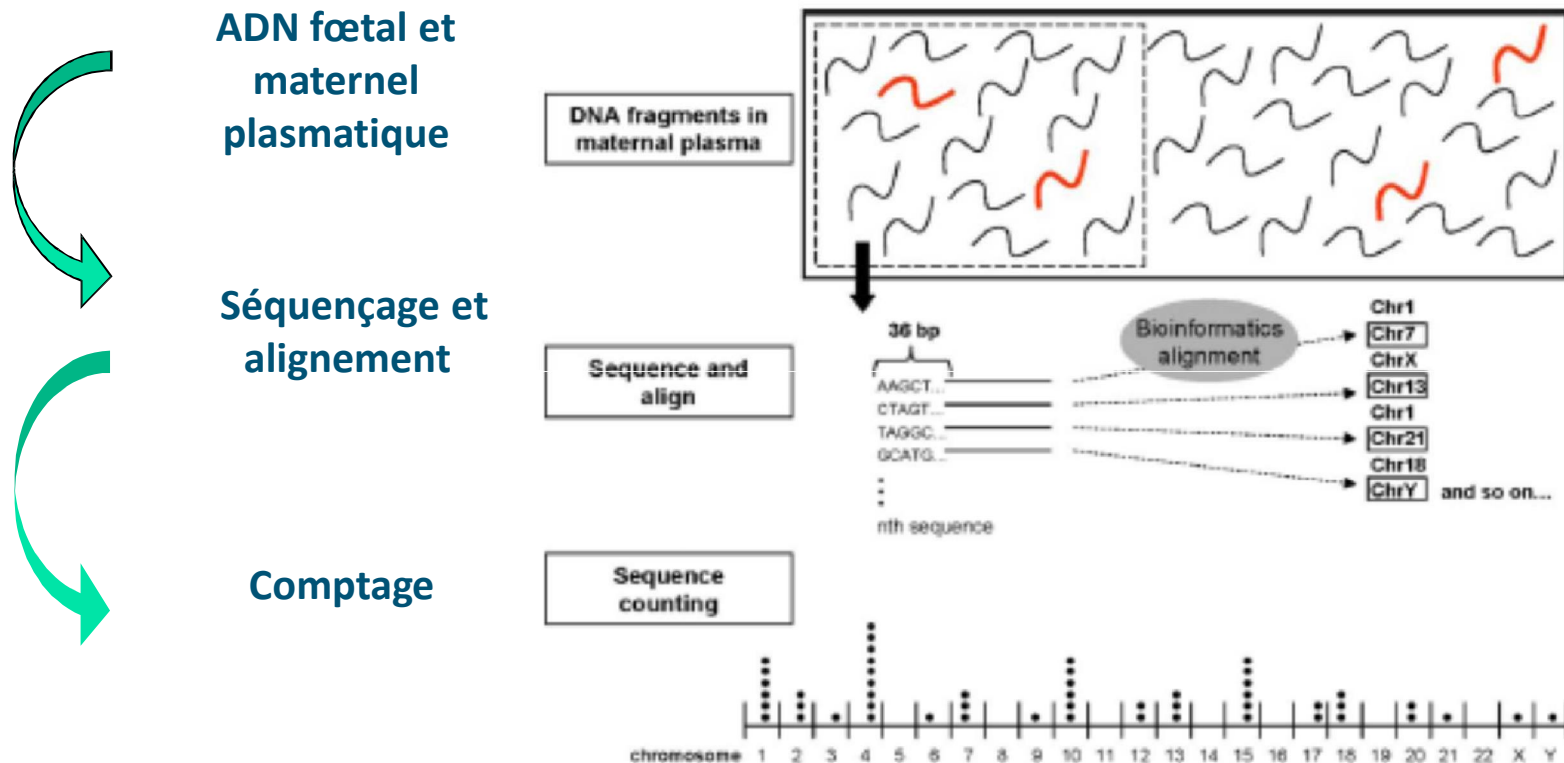
6-Step Laboratory Workflow for NIPT16



- ▶ 16 sample manual workflow
- ▶ T21, T18, T13 and Sex Chromosomal Aneuploidy

LE PRINCIPE TECHNOLOGIQUE

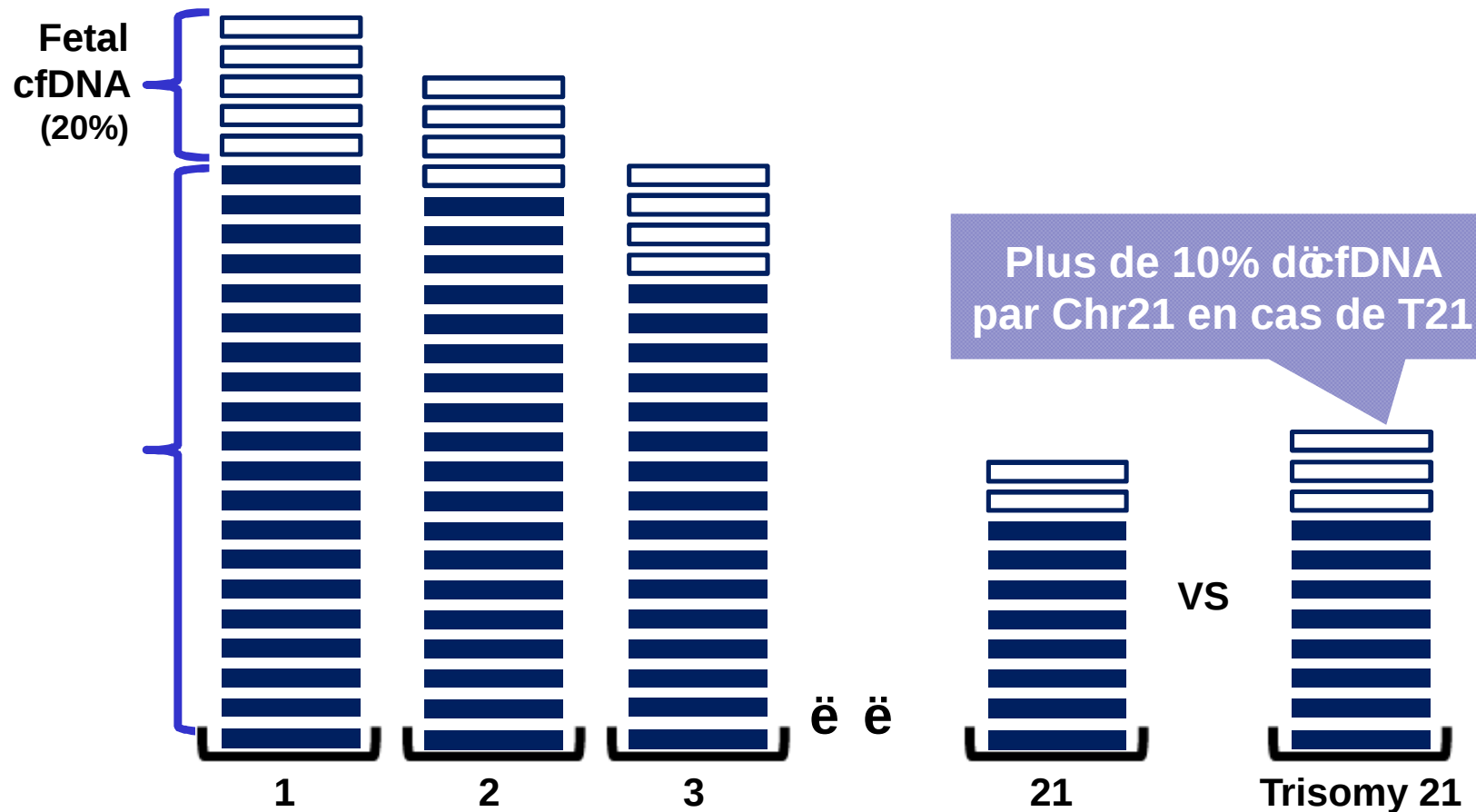
Dosage chromosomique relatif :
sur-représentation des séquences issues des chromosomes 13, 18 et 21



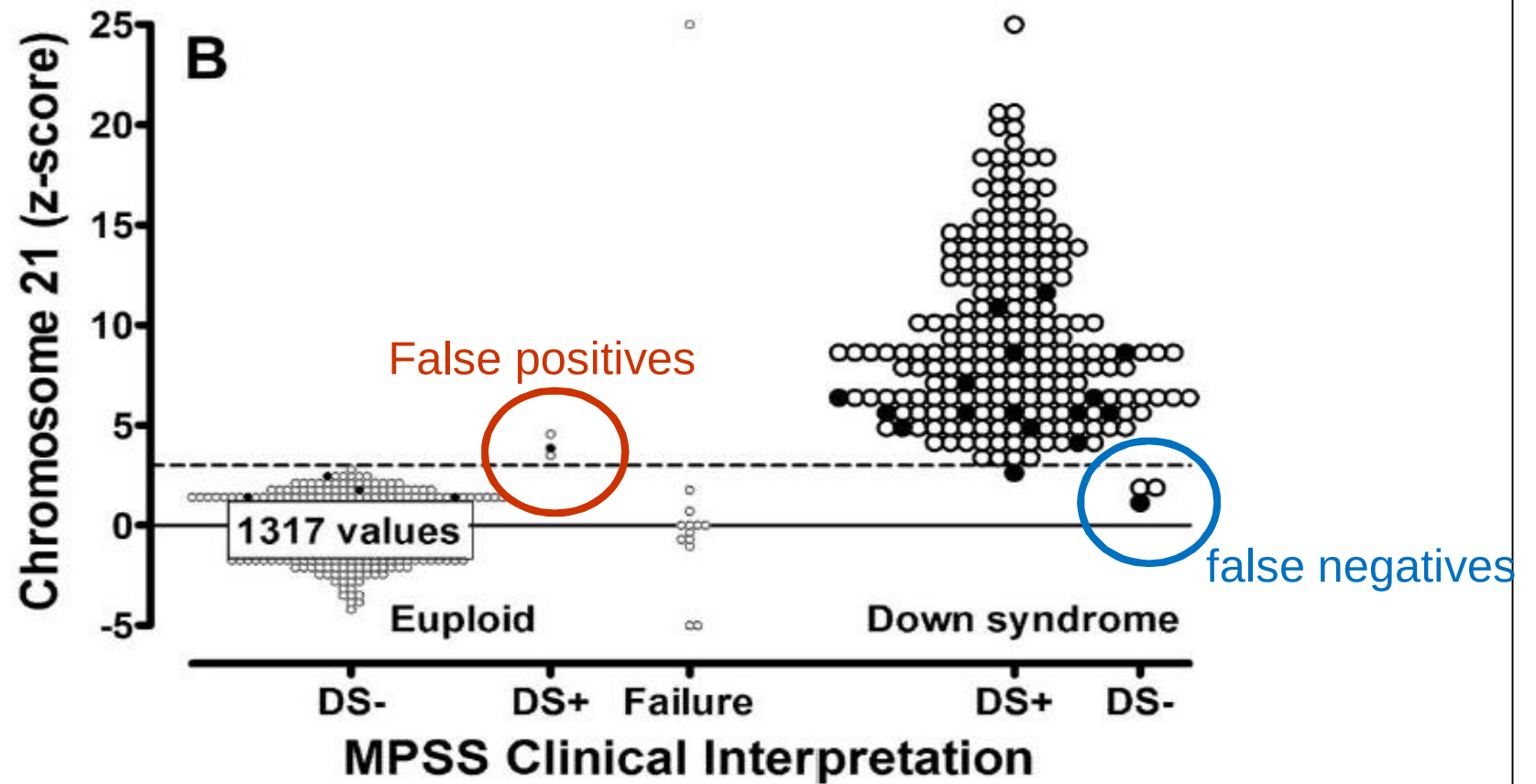
Chiu et al., PNAS, 2008

Analyse des séquences : comptage par échantillon

Counting



Seuil de décision Z score = 3 ou NCV = 4



Palomaki et al. Genetics in Medicine 2011

Expression des Résultats du DPNI

- Ç Résultats **POSITIF** ou **NEGATIF**
- Ç Non prise en compte du Résultat des marqueurs sériques dans le résultat final du DPNI.
- Ç Sensibilité > 99% Faux Positif = 0,9%, Faux Négatif = 1/10 000
- Ç Valeur prédictive Positive : 99% (cas des femmes à haut risque de T21)
- Ç Taux d'échec < 1%
- Ç Une résultat **NEGATIF** diminue le risque de T21 de 50 à 100 fois

En cas de résultats inexploitables

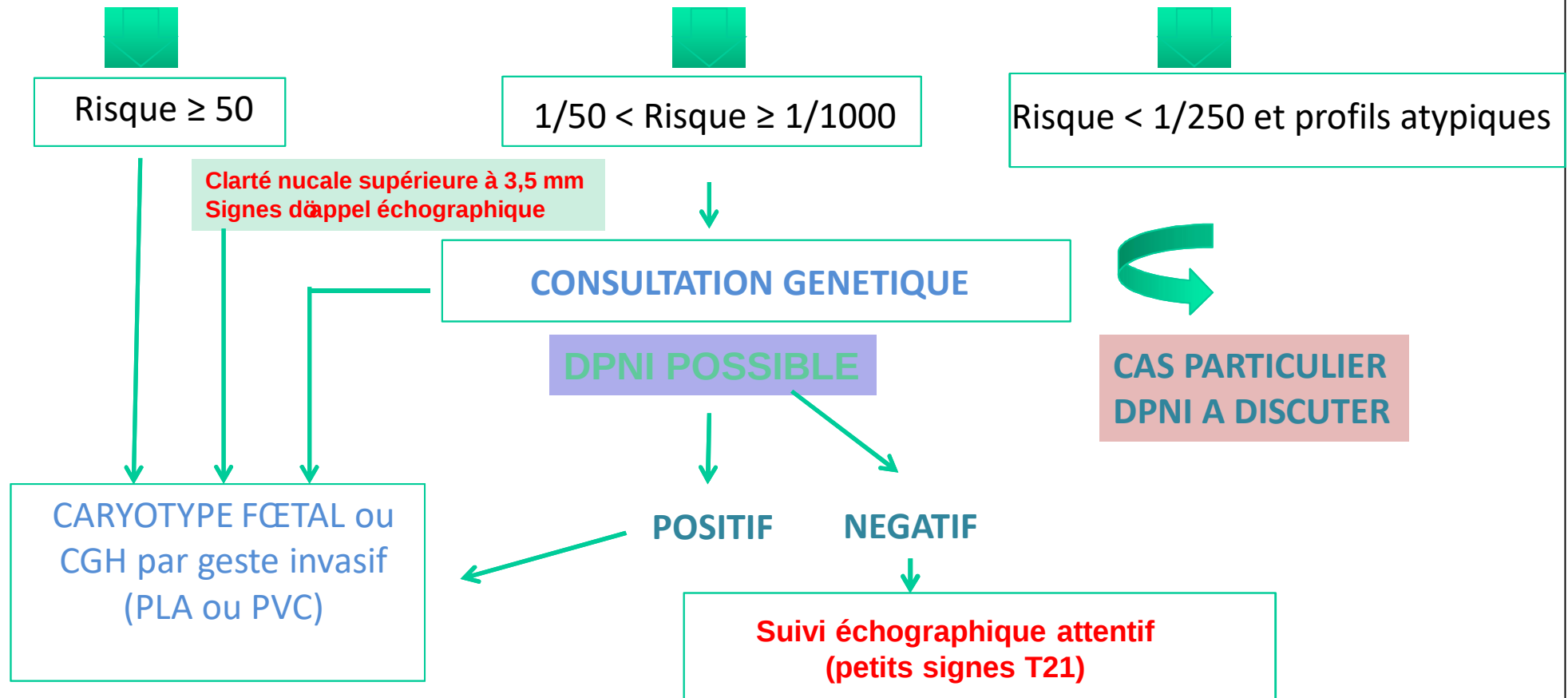
- Ç **Nécessité d'information de la patiente**
- Ç **Réponse rapide (sous 7 jours ALPIGENE)**
- Ç **Rediscuter avec la Patiente d'un éventuel geste invasif.**
- Ç **Causes ? Préanalytique, autoimmunité**

DPNI : les indications médicales à venir

- Ç **Recommandations HAS actuellement en cours de signature (groupe de travail et relecture Volet 2 prévu mars 2017)**
- Ç **Avis des sociétés savantes (ACLF V2 2016, CNGOF 2016).**



**En 1^{er} intention : évaluation du risque T21 par méthode combiné
(âge, clarté nucale et marqueurs sériques maternels)**



Les cas particuliers

Grossesse gémellaire

Absence de dépistage optimal

Risque < et profils atypiques

CONSULTATION GENETIQUE ALPIGENE

DPNI POSSIBLE

CAS PARTICULIER
DPNI A DISCUTER

CARYOTYPE FŒTAL ou
CGH par geste invasif
(PLA ou PVC)

POSITIF

NEGATIF

Suivi échographique (petits signes T21)

Le Transfert du DPNI en 4 étapes

ETAPE 1

Evaluation du laboratoire sur une période de 2 mois de nov 2015 ñ à fin janv 2016

Formation théorique et pratique sur site par Illumina sur 15 jours

Évaluation de l'équipe technique ALPIGENE par Illumina réalisée à partir de standards (plasma témoins) sur site sur 2 mois

80 tests de compétence issus de standards négatifs US;

Délivrance du certificat de compétence ADN fñ tal libre fin janvier 2016

ETAPE 2

Evaluation interne sur 2 mois à partir de nos propres échantillons de patientes dont l'issue de grossesse est connue

ETAPE 3

Démarche d'accreditation

Certification du logiciel C-VeriSeq NIPT CE IVD selon la Directive 98/79/EC en mars 2016

ETAPE 4

Mise en routine 1^{er} mars 2016

Evaluation en interne du DPNI (1)

NOS PATIENTES

83 patientes avec une issue de grossesse ou un résultat du caryotype
fœtal connus

Entre 13,4 et 26,3 SA et BMI de 16,9 à 38,5

Signature d'un consentement d'information par la patiente

METHODE

Analyse descriptive comparative

Evaluation en interne du DPNI (2)

Indications médicales

HT21 1 ^{er} T	HT 21 2 ^{ème} T séquentiel	HT 21 2 ^{ème} T Sans clarté nucal	Profils atypiques
12	1	42	1
CN>95 c	SAE	ACTD	Age maternel
4	3	4	1
HT21> 1/1000 Convenance	HT 21 1/250 à 1/1000	G gémellaire	
2	8	5	

Résultats (1)

- Ç **Conforme selon nos critères de qualité (pool de témoins négatif de référence, PF, clusters, Q30)**
- Ç **Évaluation longitudinale des QC entre les séries**

Résultats (2)

PATIENTES total 83	N= 78
NCV des chromosomes 21, 13 et 18 Valeurs conformes à celles attendues NCV bornes VeriSeq entre -5 et +4 pour 21, 13 et 18	NCV 21 écart -2,14 et 2,73 NCV 18 écart -2,12 et 1,87 NCV 13 écart -1,85 et 1,63 VRAI NEGATIF (VN)

3 T21	1 T18	1 RI
- Cardiopathie - CN à 4 mm - HT21 1^{er} T et CN>95 c	hCG bêta et PAPPA 0,08 MoM et hexadactylie, anomalie cardiaque, fente LP	Prélèvement? Maladie autoimmune
NCV 21 = 19,98 ; 33,09 et 24,75	NCV 18 = 9,27	NCD Y

BILAN ACTIVITE DPNI ALPIGENE ABM 2016 (1)

- Ç Démarrage de l'activité ALPIGENE 1^{er} mars 2016
- Ç Nombre de DPNI rendus en 2016 = 530
en forte progression
- Ç Délai médian de rendu de résultats 7 jours à date de réception au laboratoire
- Ç Deux à 3 séries de 14 échantillons réalisés par semaine en moyenne

BILAN ACTIVITE DPNI ALPIGENE ABM 2016

Les indications médicales (2)

HT21 1 ^{er} T	HT 21 2 ^{ème} T séquentiel	HT 21 2 ^{ème} T Sans clarté nucale	Profils atypiques
118	17	87	18
CN>95 c et inf 3,5 mm	Anomalie chromosomique parentale	ACTD couple avec caryotype anormal	Age maternel isolé
12	2	2	25
HT21> 1/1000 Convenance	HT 21 1/250 à 1/1000	G gémellaire	
116	112	21	

BILAN ACTIVITE DPNI ALPIGENE ABM 2016

Les résultats (3)

Ç Nombre de résultats rendus négatifs = 519

Ç Nombre de T21 VP (8)
sans motif médical (1), M1000 (1), HT21 1^{er} T (5), CN >95 centile (1)

Ç Nombre de T18 : VP (1)
profil atypique hCG bêta à 0,15 MoM

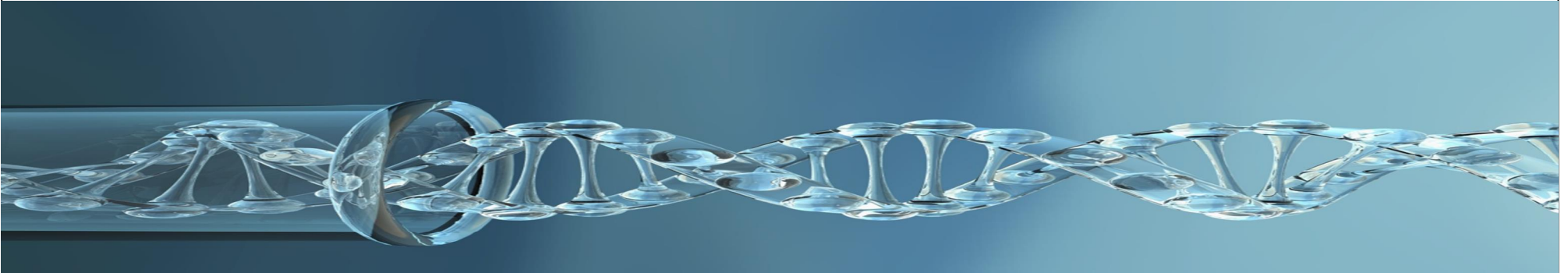
Ç Un faux positif T13 : FP (1)
sans motif médical

Ç Un résultat inexploitable (1) mais à partir d'un seul prélèvement (préanalytique)

Ç Les issues de grossesse

Conclusion

- Ç Mise en routine le 1^{er} mars 2016 (16 échantillons par semaine)
Prix 390 euros (remboursement partiel par les mutuelles) 2 à 3 séries
par semaine délai médian de rendu 7 jours
- Ç Mise en place par Illumina de la certification CE IVD selon la directive
européenne en vigueur
- Ç Engagement dans la démarche d'accréditation
- Ç Automatisation HAMILTON ILLUMINA
Validation de la technique Paired-end 48 plex en attente du marquage
CE IVD (internalisation des activités de SYNLAB Groupe (prévu en juin
2017))



DEUX CAS CLINIQUES A PROPOS DU DPNI

T MARTIN DENAVIT 28/03/17 CAMBRAI

Cas clinique 1

- 23 ans, G1PO , grossesse spontanée
- Echo T1: **CN 4 mm** LCC 77,12 mm

=> MS T1 : 1/29

hCG bêta : 1,50 MoM

PAPP-A : 2,19 MoM

Votre avis ?



CONSEIL GENETIQUE à 14 SA

- **Patiente adressée au DAN**
- **Indication théorique de prélèvement fœtal pour analyse du caryotype fœtal**
- **Couple demandeur d'un DPNI car souhaiterait éviter le risque de FC lié au prélèvement**

=> DPNI refusé en raison du risque accru d'autres anomalies chromosomiques en lien avec la CN à 4 mm

=> PLA réalisée à 16 SA :

Caryotype : XY sans anomalie

=> Suivi écho de référence

+ écho intermédiaire

+ Echo cœur programmée

Cas clinique 2

- 34 ans G2P0
- Echo T1: LCC:80mm CN:2,4mm
- MS T1: 1/540 PAPP-A: 0,67 MoM
hCG bêta: 1,89 MoM
- DPNI réalisé chez une femme à risque intermédiaire Résultat:
pas de surreprésentation de l'ADN issu des chromosomes
13, 18 et 21.
- Mais surreprésentation pour le chromosome 16.

Conseil génétique

- **Possibilité:**
 - ñ mosaïque confinée au placenta ?
 - ñ T16 fœ tale (en mosaïque) ?
- **Indication PLA pour caryotype fœ tal**
- **Réalisée à 17 SA**
- **Résultat:**
 - ñ FISH trisomie 16 et 22q11.2 : sans anomalie
 - ñ Caryotype: **46,XY** sur 24 clones
- **Conseil génétique rassurant**
- **Suivi échographique**

- Echo 19SA : doute sur une cardiopathie
- Confirmée par le cardiopédiatre : Tétralogie de Fallot de bon pronostic
- Echo 22 SA pas d' autre anomalie
- Contrôle cardiaque prévu à 27 SA
- Indication CGH-array du fait de la cardiopathie fœtale (mais pas du fait du résultat du DPNI).

Conclusion

- **Le DPNI doit être réservé au dépistage des aneuploïdies 13, 18 et 21.**
- **Mais possibilité de découverte fortuite d'autres aneuploïdies**
- **Intérêt +++ de la consultation de conseil génétique avant tout DPNI**

MERCI POUR VOTRE ATTENTION !!

Tanguy Martin Denavit (MD)
tanguy.martin-denavit@labo-alpigene.fr

Médecin Généticien qualifié en Génétique Médicale
Directeur Laboratoire ALPIGENE tel : 04 78 76 62 39

www.labo-alpigene.fr
www.mon-dpni.fr
alpigene.manuelprelevement.fr