

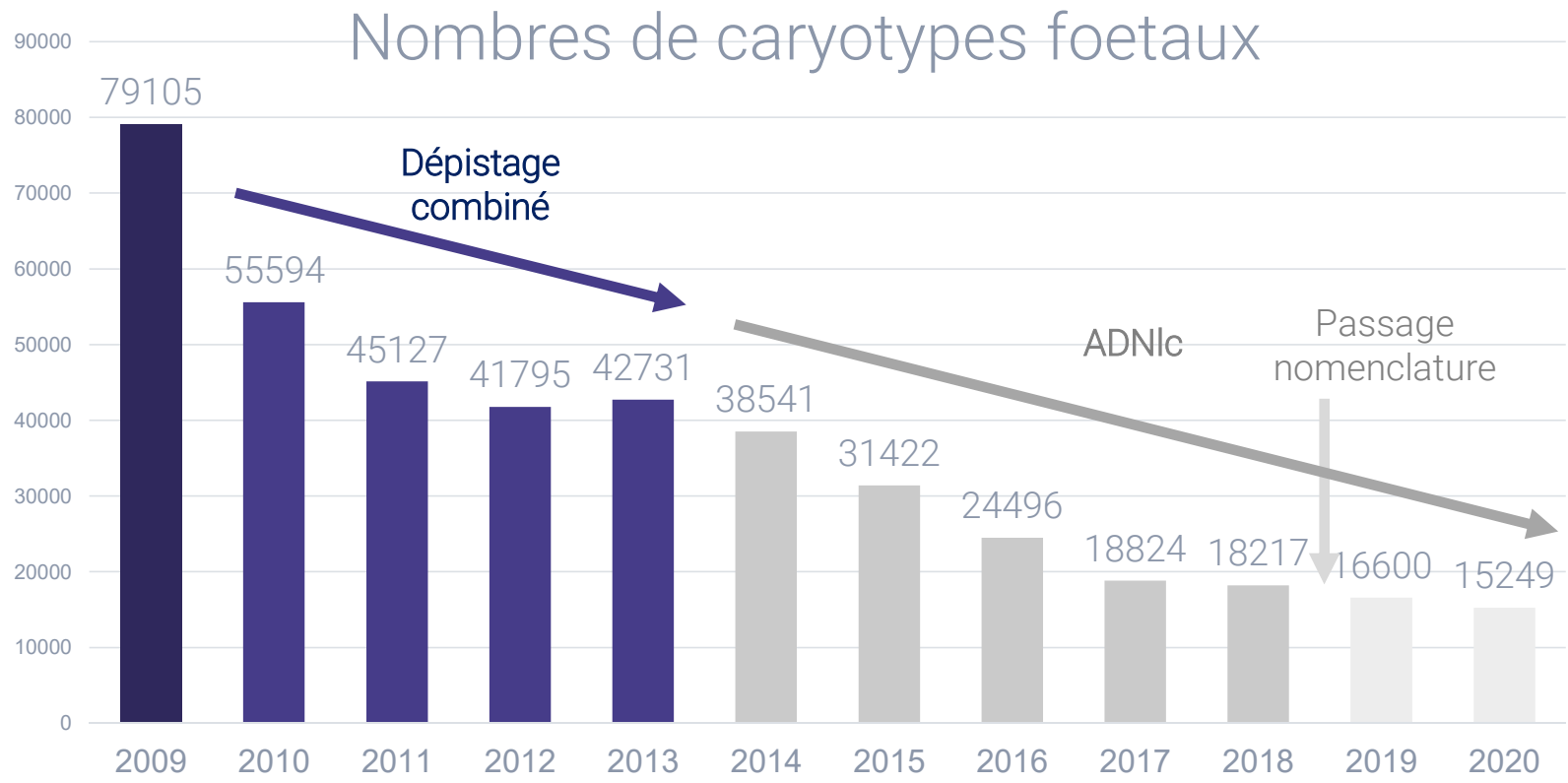


DÉPISTAGE DES ANOMALIES CHROMOSOMIQUES PAR ADNLC : BILAN 2019-2021

P.Kleinfinger, L. Lohmann, J.M. Costa, A. Luscan

Le dépistage en France

LE DÉPISTAGE EN FRANCE



Bilan Agence de Biomédecine 2021

PRINCIPES DU DEPISTAGE PAR ADNLC

Classiquement ADN intracellulaire -> lyse cellulaire -> ADN dans le plasma = ADNlc

Femme enceinte : libération d'ADN placentaire

Apparition dès 5-6 SA, augmentation tout au long de la grossesse, disparition dans les heures suivant l'accouchement

ADNlc total = ADNlc maternel + ADNlc placentaire

Fraction Foetale (FF) = ADNlc placentaire/ADNlc total

DIFFÉRENTES APPROCHES

Approche pangénomique

Séquençage génome entier faible profondeur

Alignement sur génome de référence

Comptage / calcul stat.

ILLUMINA (VeriSeq®)

YOURGENE (Iona®)

Approche ciblée

Séquençage forte profondeur de SNPs ciblés

NATERA (Panorama®)

Amplification après circularisation

PERKINELMER (Vanadis®)

DIFFÉRENTES APPROCHES, SOLUTION MARQUEES CE-IVD



Approche pangénomique

Séquençage génome entier faible profondeur

Alignement sur génome de référence

Comptage / calcul stat.

[Illumina](#) (VeriSeq®) : anomalies \geq 7Mb / Aneuploidies → 92% des tests

[YourGene](#) (Iona®) : syndromes microdélétionnels dont del 22q11.2 / Aneuploidies

Approche ciblée

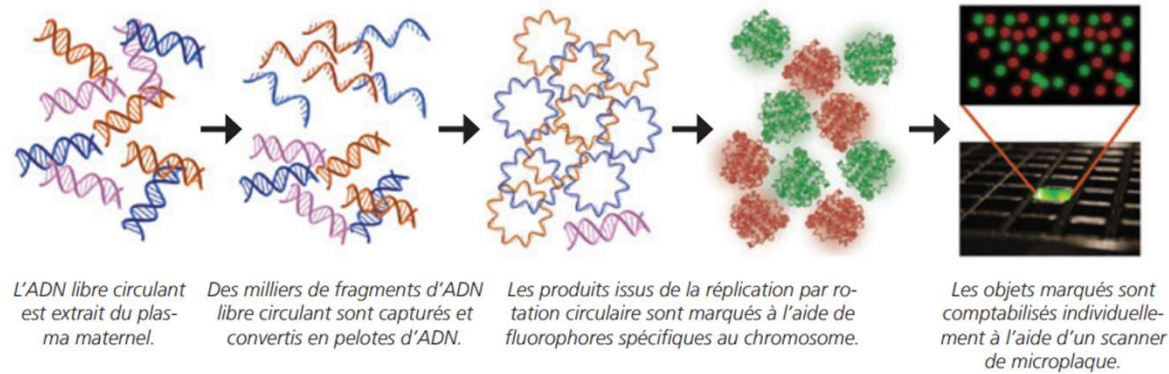
Séquençage forte profondeur de SNPs ciblés

[Natera](#) (Panorama®)

Amplification après circularisation

[PerkinElmer](#) (Vanadis®)

TEST VANADIS



Depuis 1^{er} trimestre 2022, pour faire face à la pénurie de réactifs Illumina ®

Ratio chromosomique :

ratio d'un chromosome comparé à chacun des autres chromosomes :

Ex : si les ratios chr21/chr13 et chr21/chr18 sont élevés, cet échantillon peut correspondre à une aneuploïdie du chromosome 21

ADNLC ÉTENDU : CONTEXTE FRANCAIS



A ce jour, deux fournisseurs utilisés en France proposent un dépistage étendu des anomalies chromosomiques avec un marquage CE-IVD

Illumina (VeriSeq® v2) : anomalies \geq 7Mb / Aneuploïdies → 92% des tests

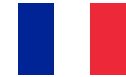
YourGene (Iona®) : syndromes microdélétionnels dont del 22q11.2

Encadrement du dépistage de la trisomie 21

Arrêté du 14 décembre 2018 modifiant l'arrêté du 23 juin 2009 modifié fixant les règles de bonnes pratiques en matière de dépistage et de diagnostic prénatals avec utilisation des marqueurs sériques maternels de trisomie 21

Pour le reste, encadrement identique à tout test génétique

ADN_{LC} ÉTENDU : CONTEXTE FRANCAIS



Encadrement du dépistage de la trisomie 21

Arrêté du 14 décembre 2018 modifiant l'arrêté du 23 juin 2009 modifié fixant les règles de bonnes pratiques en matière de dépistage et de diagnostic prénatals avec utilisation des marqueurs sériques maternels de trisomie 21

Pour le reste, encadrement identique à tout test génétique

EVOLUTION DES PRATIQUES

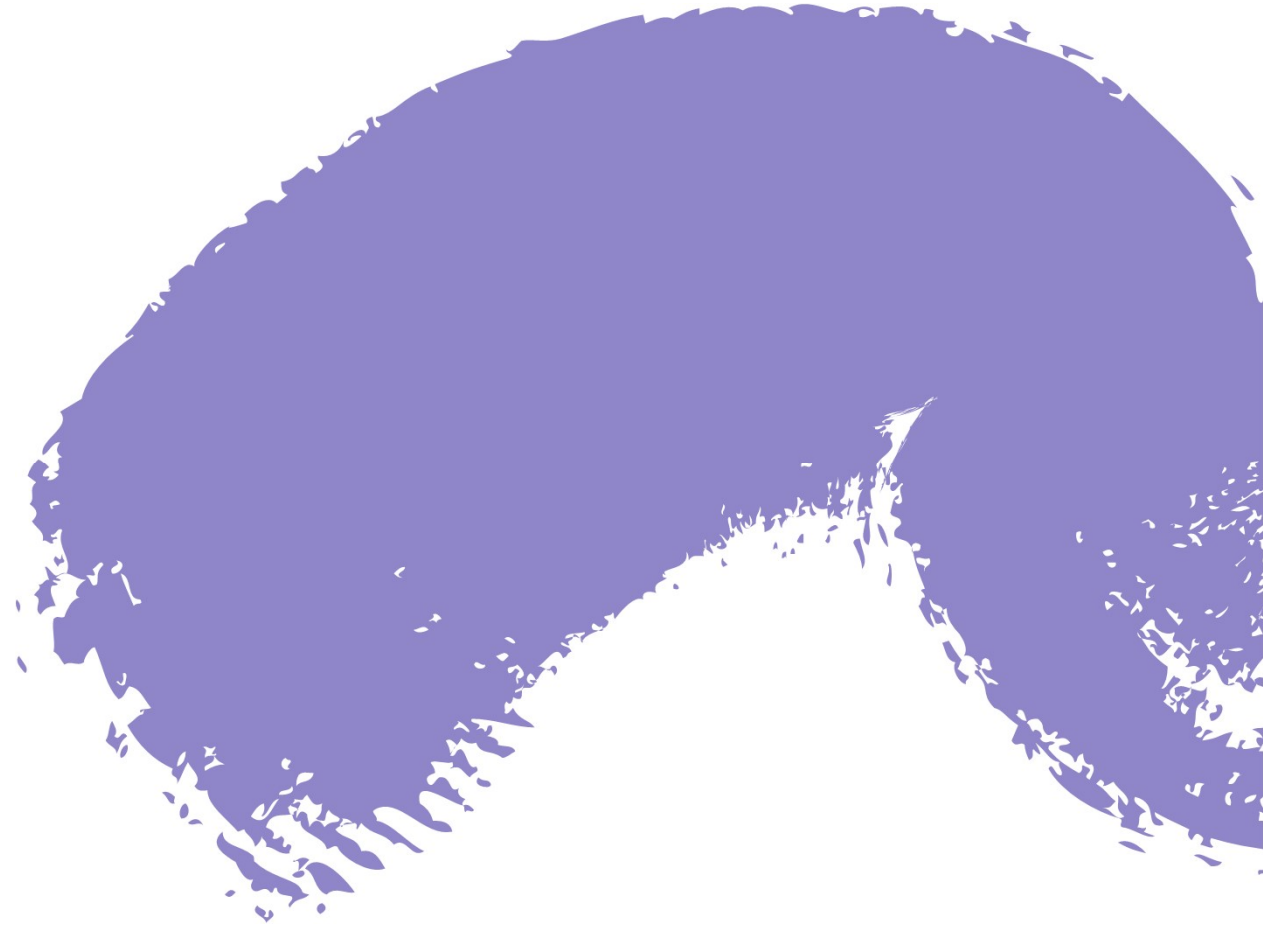
Rapport d'activité 2021 ABM

Tableau DPN5. Evolution du nombre de dépistages ADNlcT21 en fonction des anomalies recherchées de 2019 à 2020⁽¹⁾

	Nombre de fœtus	
	2019	2020
T21 seule	2177	1446
T21/T18/T13	118227	70912
T21/T18/T13 et autres	394	45398
Total	120798	117756

(1) En 2020, résultat provisoire dans l'attente de l'activité d'un laboratoire.

Performance des tests de dépistage par ADN1c



VALEUR PREDICTIVE POSITIVE

Caractéristique intrinsèques au test

Sensibilité = tests positifs / malades

Spécificité = tests négatifs / non maladies

Caractéristiques cliniques

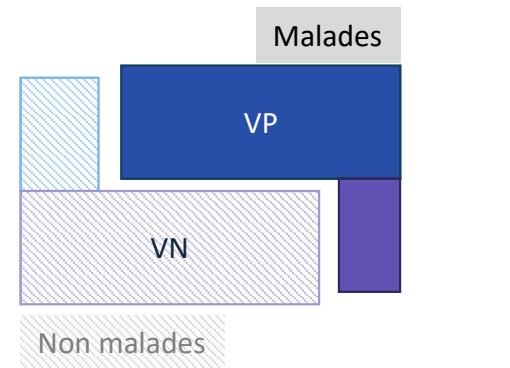
VPP = Probabilité d'être malade / tests positifs

Augmente avec la prevalence de la maladie

Quelques exemples :

MSM : **6.4%** (ABM, 2015)

Echographie (ACPA) : **16%** (Shaffer et al, 2012)



PERFORMANCE TEST ILLUMINA

Tableau 14 Prévalence de la trisomie 21, VPP et VPN lors du dépistage de base (sans les mosaïques connues)

Prévalence (%)	VPP (%)	VPN (%)
0,05	33,17	> 99,99
0,10	49,82	> 99,99
0,20	66,53	> 99,99
0,50	83,29	> 99,99
1,00	90,93	> 99,99
1,50	93,79	> 99,99
2,00	95,29	> 99,99

Tableau 15 Prévalence de la trisomie 18, VPP et VPN lors du dépistage de base (sans les mosaïques connues)

Prévalence (%)	VPP (%)	VPN (%)
0,03	23,06	> 99,99
0,05	33,31	> 99,99
0,10	49,99	> 99,99
0,20	66,68	> 99,99
0,30	75,03	> 99,99
0,40	80,04	> 99,99
0,50	83,38	> 99,99

Tableau 16 Prévalence de la trisomie 13, VPP et VPN lors du dépistage de base (sans les mosaïques connues)

Prévalence (%)	VPP (%)	VPN (%)
0,01	9,10	> 99,99
0,02	16,68	> 99,99
0,05	33,37	> 99,99
0,10	50,05	> 99,99
0,20	66,73	> 99,99

AUTRES ANOMALIES CHROMOSOMIQUES

Bilan ABM 2018

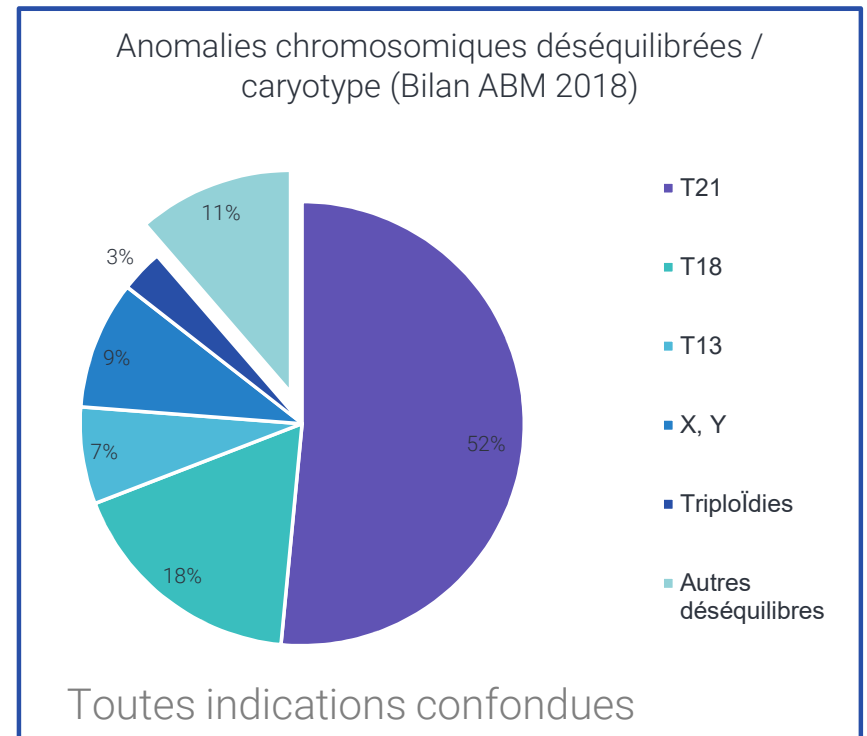
11% des anomalies déséquilibrées

(Population testée différente)

Risque = génération d'un trop grand nombre de prélèvements invasifs avec VPP trop basse

Mosaïque confinée au placenta plus fréquente pour ces anomalies

Prévalence faible ?



AUTRES ANOMALIES CHROMOSOMIQUES

Lindquist *et al*, 2018

Suivi des femmes ayant eu un dépistage T21 par MSM

103 319 dépistages

Recherche des anomalies chromosomiques autres (dont variations subchromosomiques)

Population Générale : prévalence de 1%

population MSM compris entre 1/50 et 1/1000 : prévalence de 0.37%

Table 3 Cumulative prevalence of abnormal

<i>CFTS T21 risk</i>	<i>Prevalence of atypical abnormality (n/N (%))</i>
> 1 in 10	16/345 (4.6)
> 1 in 50	27/870 (3.1)
> 1 in 100	38/1334 (2.8)
≥ 1 in 300	45/3199 (1.4)
> 1 in 1000	59/9631 (0.61)
Total	102/100 418 (0.10)

Lindquist *et al* 2018

AUTRES ANOMALIES CHROMOSOMIQUES

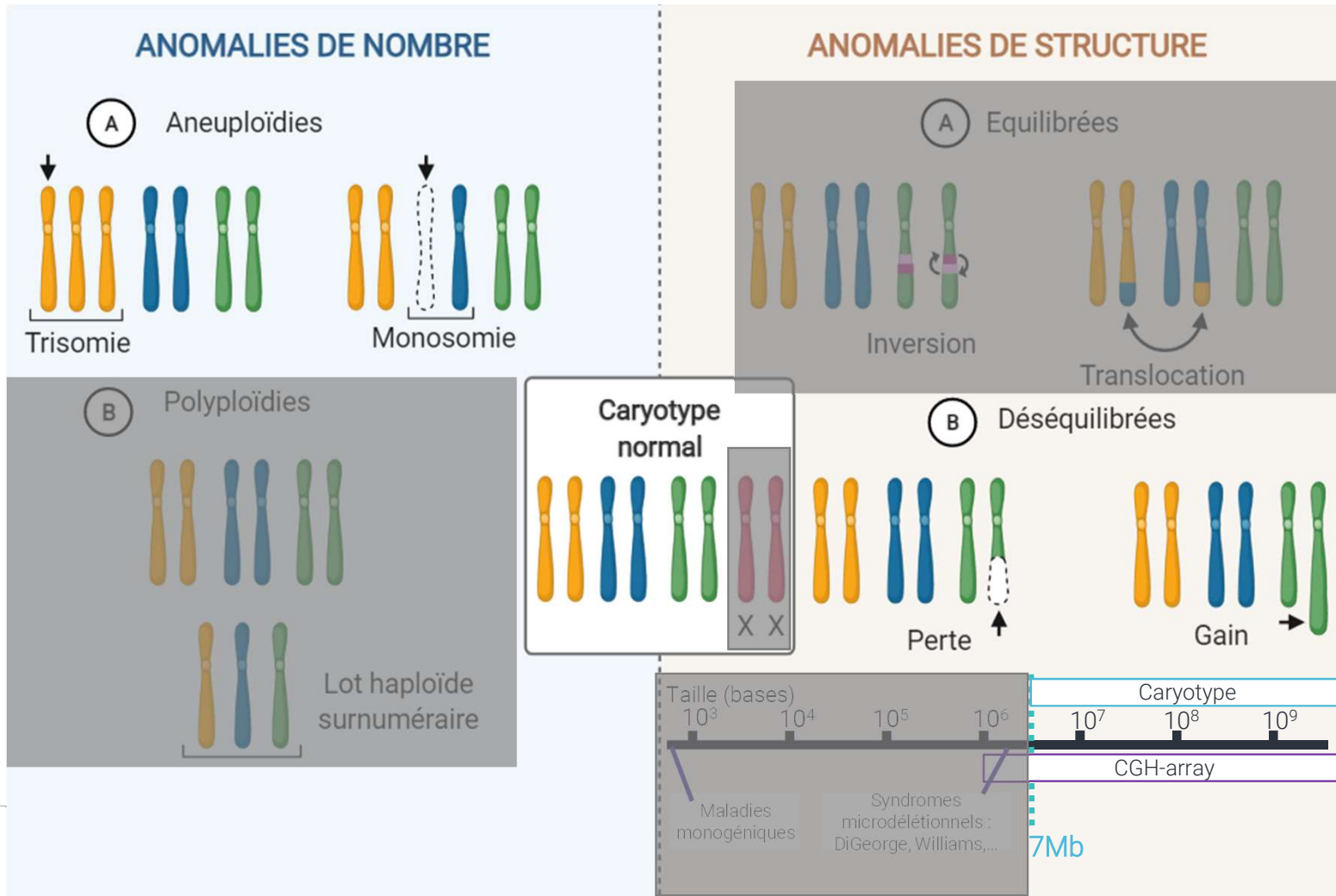
Tableau 17 Prévalence d'une anomalie, VPP et VPN lors du dépistage pangénomique (avec les mosaïques connues)

Prévalence (%)	VPP (%)	VPN (%)
0,01	1,42	> 99,99
0,02	2,81	> 99,99
0,05	6,74	> 99,99
0,10	12,64	> 99,99
0,20	22,45	99,99
0,50	42,07	99,98
1,00	59,34	99,95
1,50	68,75	99,93
2,00	74,68	99,91

Quelles anomalies chromoso- miques ?



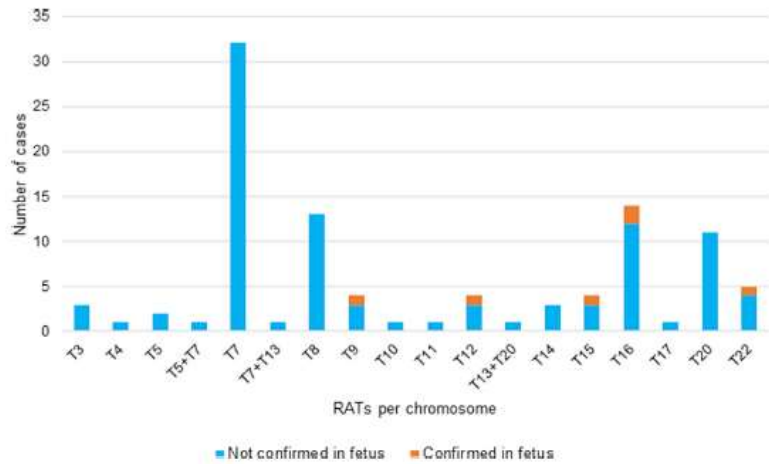
ANOMALIES DÉTECTABLES / NON DÉTECTABLES



1) RARES TRISOMIES AUTOSOMIQUES (RAT)

TRIDENT-2: National Implementation of Genome-Wide Non-Invasive Prenatal Testing as a First-Tier Screening Test in the Netherlands

Karuna R.M. van der Meij, 2019



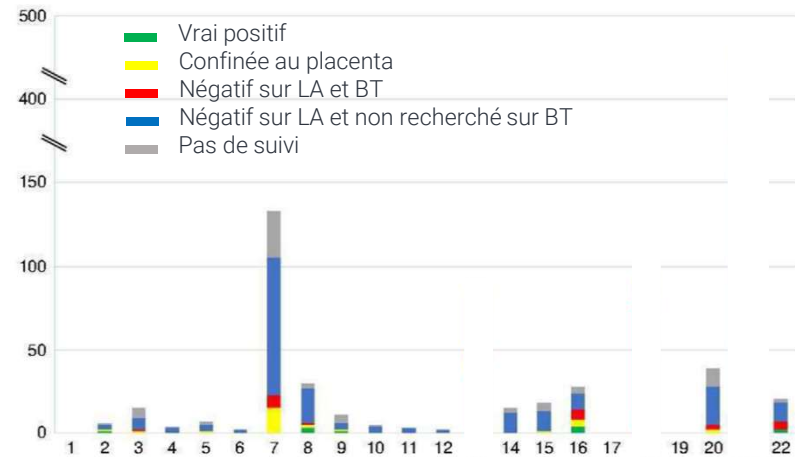
73239 tests

VPP = 6% (6/102)

ARTICLE

Outcome of publicly funded nationwide first-tier noninvasive prenatal screening

Van den Bogaert et al. 2021



153575 tests

VPP = 4,1% (11/266)

1) RARES TRISOMIES AUTOSOMIQUES (RAT)

GT ACLF : se fonder sur l'expérience des villosités chorales

Se restreindre :

- **aux trisomies connues pour entraîner des dysfonctions placentaires : 16**
- **aux trisomies possiblement fœtales : 2, 8, 9, 22**
- **aux chromosomes pour lesquelles la mise en évidence d'une disomie uniparentale modifierait le suivi de grossesse : 14 et 15**



Sur une population française, ces 7 aneuploidies représentent

28% des RAT observées par les tests d'ADNlc étendus

0,23% des tests d'ADNlc étendus

(Kleinfinger et al. 2020)

TRIDENT-2 : 6/102 (VPP 6%) -> 5/47 (VPP 11%)

TRIDENT-2 + Expérience belge : 15/16 RAT dépistées (sensibilité 93,7%)

2) ANOMALIES DE STRUCTURES DÉSÉQUILIBRÉES

Pas de laboratoire français dépistant aujourd'hui les anomalies < 7 Mb

- Pas de syndrome microdélétionnel
- Pas de facteur de prédisposition
- Pas de VOUS

TRIDENT-2: National Implementation of Genome-Wide Non-Invasive Prenatal Testing as a First-Tier Screening Test in the Netherlands



Karuna R.M. van der Meij, 2019

VPP = 32% (30/95)

Outcome of publicly funded nationwide first-tier noninvasive prenatal screening



Van den Bogaert et al. 2021

VPP = 42% (29/69)

21

2) ANOMALIES DE STRUCTURES DÉSÉQUILIBRÉES

Outcome of publicly funded nationwide first-tier noninvasive prenatal screening

Van den Bogaert et al. 2021



Type de remaniement		Caryotypes +/-ADNlc +	VPP
Remaniements classiques	Dérivés de translocation	5/5	66%
	Isochromosomes 12p, 9p et 18p	4/8	
	Recombinants d'inversion	1/2	
Délétions	Délétions terminales 10q25	0/3	42%
	Délétions terminales	2/4	
	Délétions interstitielles	9/19	
Duplications	Duplications terminales	7/14	42%
	Duplications interstitielles	1/5	
Autres	isochromosome 20p (classique et sans conséquence), duplication 8q tout le bras long, 5 remaniements complexes	1/9	11%

LITTERATURES

Outcome of publicly funded nationwide first-tier noninvasive prenatal screening

Van den Bogaert et al. 2021



TRIDENT-2: National Implementation of Genome-Wide Non-Invasive Prenatal Testing as a First-Tier Screening Test in the Netherlands

Karuna R.M. van der Meij, 2019



RATs

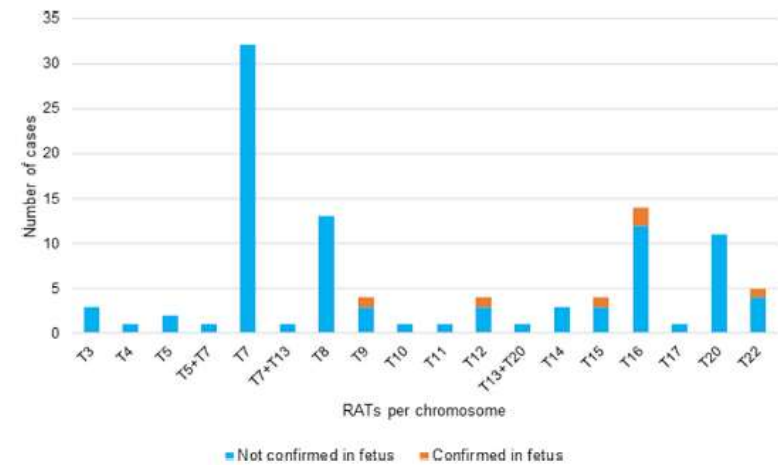
VPP 4,1 à 6%

■ ■ Consensus ACLF: 2, 8, 9, 22 ; 14, 15 ; 16

Anomalies de structure

VPP 32 à 42%

■ ■ Pas de consensus ACLF si ce n'est : compatible avec un mécanisme chromosomique connu



2) ANOMALIES DE STRUCTURES DÉSÉQUILIBRÉES

Pour les anomalies > 7Mb, pas de consensus



Possible si « compatible » avec un remaniement cytogénétique plausible

Sur une population française, ces anomalies représentent

0,33% des tests ADNlc étendus (*Kleinfinger et al. 2020*).

Expérience Belge :

29/30 anomalies foetales dépistées

Résultats laboratoire Cerba 2019- 2021

ACTIVITÉ GLOBALE

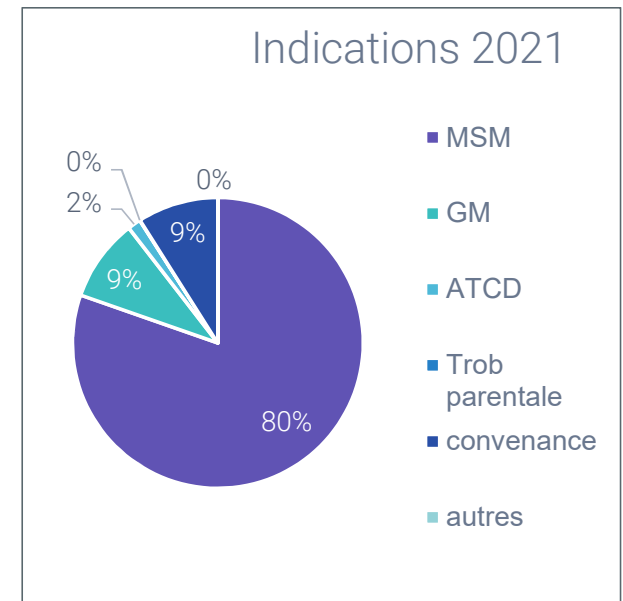
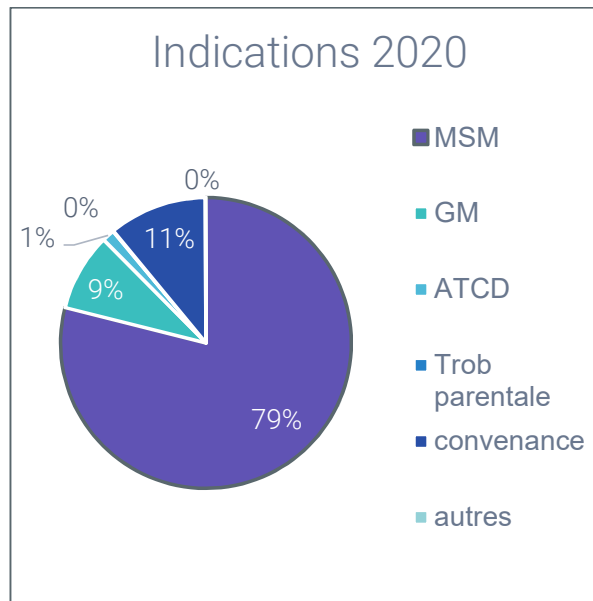
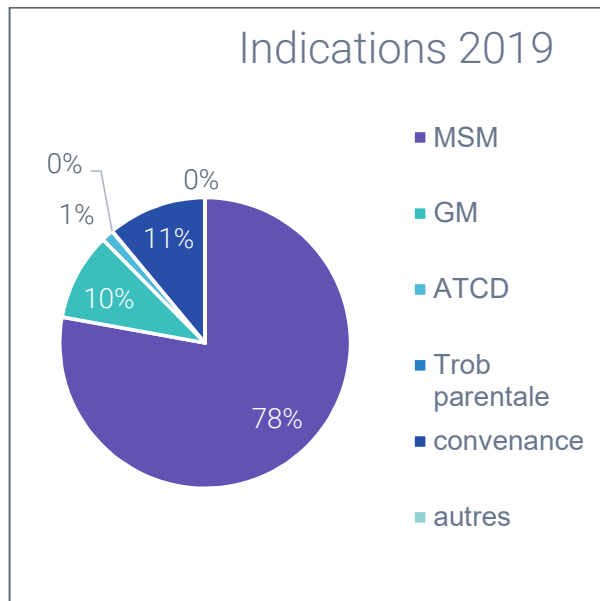
113502
Grossesses

Soit en moyenne 38000 ADNlc/an

32% de l'activité française

INDICATIONS

- Indications stables sur les 3 années



- 2019-2020 : Moyenne 16.5 SA ; Médiane 15.3 SA
- 2021 : Moyenne 16.1SA ; médiane 15.1

POPULATION TESTÉE - MSM

MSM : 79% des ADNlc

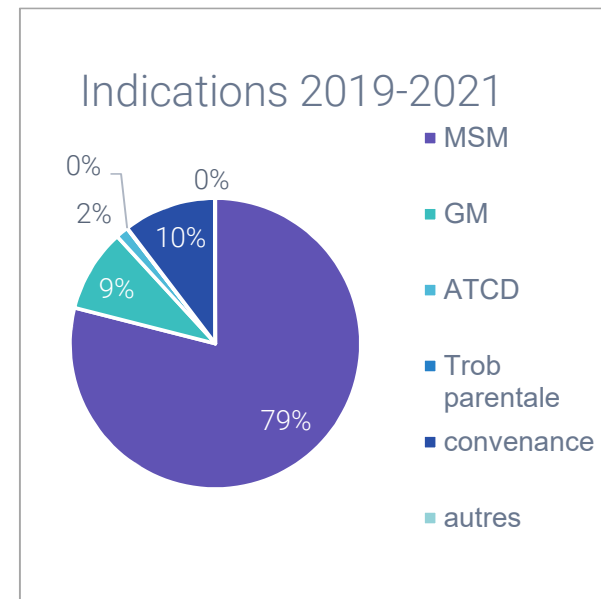
- 2/3 MSM 1er trimestre
1/3 sur **MSM 2ème trimestre : surreprésentés**

MSM $\geq 1/1000$ (ABM 2021):

- 13% des MSM 1erT
- 35% des MSM 2ème T

- $\geq 1/50$: 3.5%
 - rapport ABM 2021 : 3414 DPNI /6606 $\geq 1/50$ soit 51%

- SA : **délais de 2 semaines entre MSM et ADNlc**
 - MSM 1er trimestre : 15.1 SA (médiane 14.5)
 - MSM 2ème trimestre : 19 SA (médiane 17.6)



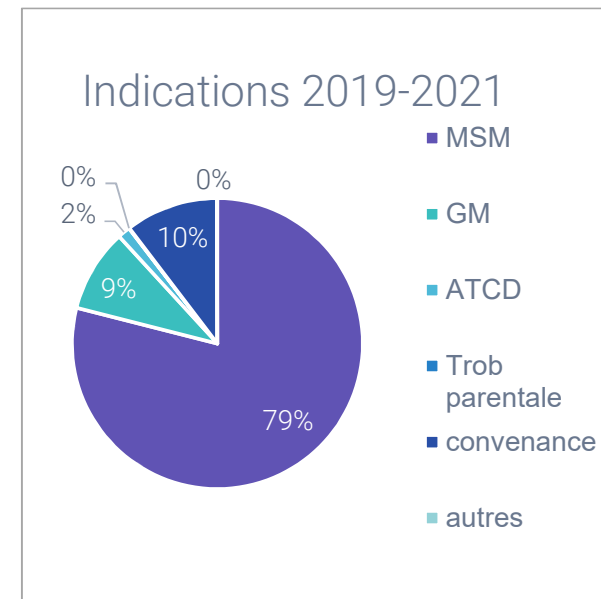
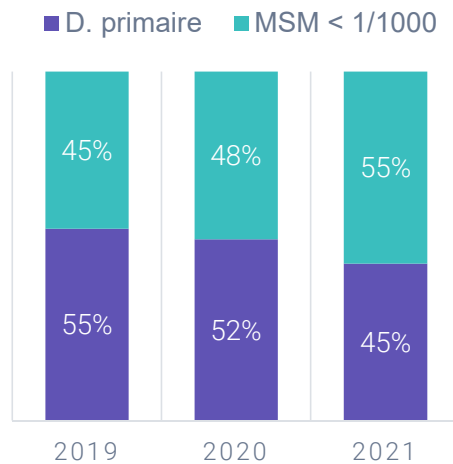
POPULATION TESTÉE - CONVENANCES

Convenance : 10%

Dépistage primaire

MSM < 1/1000

Evolution dans le temps avec augmentation de la proportion de MSM < 1/1000



Terme :

- Dépistage primaire : Médiane 19SA (G découvertes tardives)
- MSM < 1/1000 : Médiane 16.1SA

POPULATION TESTÉE – G MULTIPLES

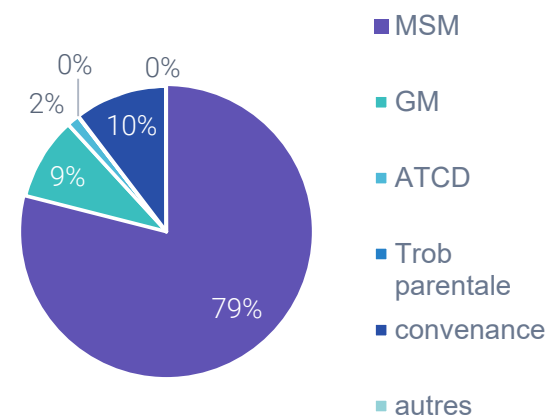
GM : 9% des ADNlc

Nature de la grossesse multiple

- GG : 90,7% (9603)
- **Jumeaux évanescents : 7,2%** (765)
- GGG : 2% (211), GGGG : 8 avant réduction

14.8 SA en moyenne (médiane 13.5 SA) = prise en charge rapide après l'échographie

Indications 2019-2021



POPULATION TESTÉE - AUTRES

Antécédant d'aneuploïdie : 1.4%

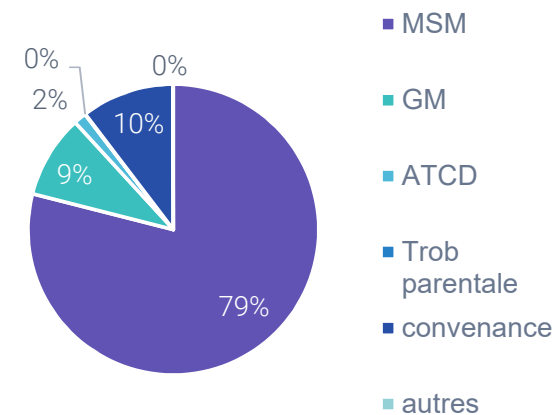
- Trisomie 21 : 77%
- Autres : 23%
- 13.6 SA, identique quelque soit l'antécédant

Translocation robertsonienne parentale : 67

- Impliquant un chromosome 21 : 29
- Impliquant
 - Ch.21 : 15.2 SA,
 - Ch. 13 : 13.5 SA

- **Moins de 50 cas sur autres indications** (autres anomalies parentales, anomalie échographique mineures, ...)

Indications 2019-2021



RÉSULTATS NON EXPLOITABLES

2 passages sur le 1er prélèvement

puis 2 passages sur le 2ème prélèvement

puis prélèvement invasif

2019 (V1 Illumina) (40273)

0,223% nexp 2 ;

(0,270% nexp 1)

2020-2021 (V2 Illumina)

0,042% nexp 2

(0,059% de nexp 1)

France 2020 0,4%

DANS TOUS LES CAS

Pas de modification du rendu du résultat T21 : positif/négatif si une autre anomalie est identifiée

Tableau DPN7. Evolution du nombre de dépistages ADNICT21 non exploitables en fonction des anomalies recherchées de 2019 à 2020⁽¹⁾

	Nombre de fœtus avec un résultat non exploitable		% de fœtus avec un résultat non exploitable	
	2019	2020	2019	2020
T21 seule	105	32	4,8	2,2
T21/T18/T13	1253	376	1,1	0,5
T21/T18/T13 et autres	1	118	0,3	0,3
Total	1359	526	1,1	0,4

(1) En 2020, résultat provisoire dans l'attente de l'activité d'un laboratoire.

Bilan Agence de Biomédecine 2021

RÉSULTATS POSITIFS TRISOMIES 13, 18 ET 21

1.3% de tests positifs

TRISOMIE 21

- 0.92% de tests positifs
- VPP = 89%
- Homogène selon indication sauf G Multiples VPP = 72%

TRISOMIE 18

- 0.19% de tests positifs
- VPP = 65%
- Variable selon indication
 - G multiples : 36%
 - MSM 1T : 77%
 - MSM 2T : 40%

TRISOMIE 13

- 0.19% de tests positifs
- VPP = 45%
- Homogène selon indication sauf G Multiples VPP = 10%

* VPP =100% sur indication parent porteur d'une translocation Robertsonienne

RÉPERCUTION SUR LES NAISSANCES

Tableau POSTNATAL6. Suivi du nombre de T21 diagnostiquées par caryotype postnatal(1) entre 2016 et 2020

Tableau POSTNATAL6. Suivi du nombre de T21 diagnostiquées par caryotype postnatal⁽¹⁾ entre 2016 et 2020

	2016	2017	2018	2019	2020
Nombre d'enfants nés vivants diagnostiqués T21 par caryotype postnatal	488	500	454	413	389

LE DEPISTAGE WHOLE GENOME

PERFORMANCES DU TEST

Strategy for Use of Genome-Wide Non-Invasive Prenatal Testing for Rare Autosomal Aneuploidies and Unbalanced Structural Chromosomal Anomalies

P Kleinfinger, L Lohman, A Luscan, D Trost, L Bidat, V Debarge, V Castaigne, MV Senat, MP Brechard, L Guilbaud, G Le Guyader, V Satre, H Laurichesse Delmas, H Lallaoui, MC Manca-Pellissier, A Boughalem, M Valduga, F Hodeib, A Benachi and JM Costa

J. Clin. Med. 2020, 9(8), 2466; <https://doi.org/10.3390/jcm9082466>

- **Cohorte de 192 patients dont 42 anomalies**

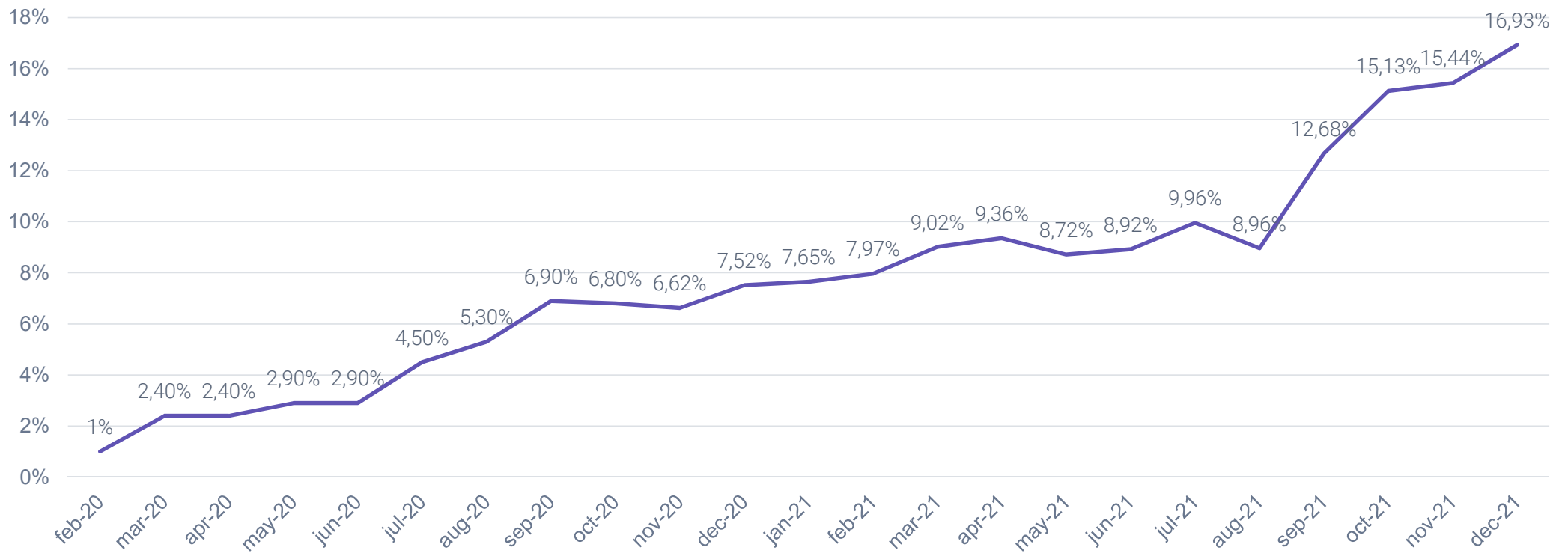
- Spécificité : 99.3%
- Sensibilité : 88.1%

DANS TOUS LES CAS

TEST DEMANDÉ
<p>tre. IL NE DOIT PAS ETRE PROPOSE en présence d'une hyperclarté nucale $\geq 3.5\text{mm}$ nous contacter en cas de signes mineurs).</p>
<p><input type="checkbox"/> DÉPISTAGE DES TRISOMIES 13, 18 ET 21</p>
<p><input type="checkbox"/> DÉPISTAGE DES ANOMALIES CHROMOSOMIQUES ATYPIQUES <i>Ce test dépiste les délétions/duplications des autosomes $\geq 7\text{Mb}$ et les trisomies 2, 8, 9, 12, 14, 15, 16 et 22. Il n'est proposé qu'en association avec le dépistage des trisomies 13, 18 et 21.</i></p>

- **Je consens** au prélèvement et à la réalisation du **dépistage des trisomies 13, 18 et 21** qui sera effectué par le Laboratoire Cerba autorisé par l'Agence Régionale de Santé à pratiquer le diagnostic prénatal. Il s'agit d'une simple prise de sang qui ne présente aucun risque pour mon fœtus. Le résultat de l'examen me sera rendu et expliqué par le médecin/ la sage-femme qui me l'a prescrit. **OUI**
- **Je consens** à la réalisation additionnelle au dépistage des trisomies 13, 18 et 21 du **dépistage des délétions/duplications \geq à 7 Mb, des trisomies 2, 8, 9, 12, 14, 15, 16 et 22** qui sera effectué sur le même prélèvement par le Laboratoire Cerba autorisé par l'Agence Régionale de Santé à pratiquer le diagnostic prénatal. Le résultat de l'examen me sera rendu et expliqué par le médecin/ la sage-femme qui me l'a prescrit. **OUI**
- **Je consens** à ce que la partie de mon prélèvement restant non utilisée après ce test, soit intégrée dans un programme d'études scientifiques. L'ensemble des données médicales me concernant seront protégées. En conséquence, les études scientifiques effectuées seront sans bénéfice ni préjudice pour moi. **OUI**

% GENOME WIDE / BASIC CERBA



POPULATION AVEC DÉPISTAGE ÉTENDU

Uniquement des grossesses singletons

6405 genome wide NIPT

Terme :

Moyen: 15,6 WA

Médian : 14,5 WA

INDICATIONS

80,5% MSM $\geq 1/1000$ (5089) :

75% T1, 25%T2

Risque moyen 1/481;

Risque médian : 1/450

11,6% MSM $< 1/1000$ (748) :

Risque moyen 1/4113,

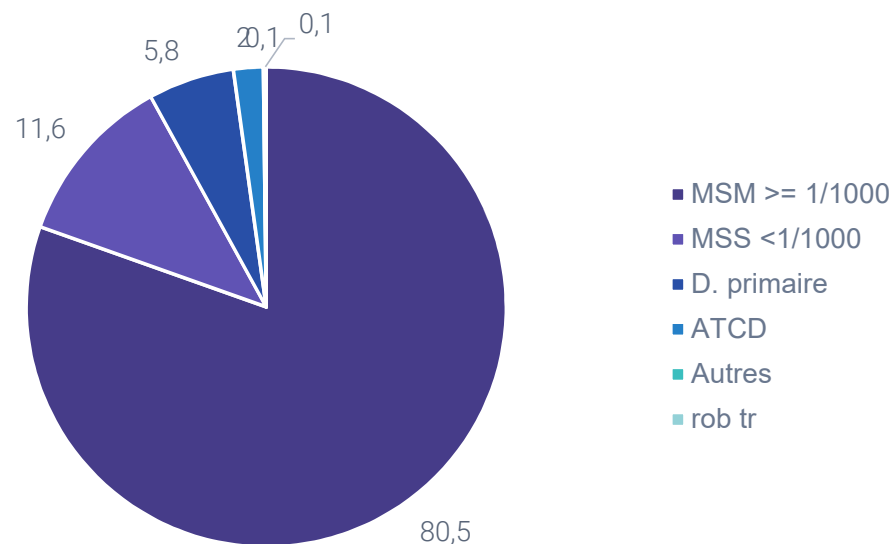
Risque médian: 1/2607

5,8% dépistage primaire (372)

2% antécédent de grossesse avec T21 (126) ou trisomies autre que 21 (56)

6 rob. Translocations

4 signes échographiques, 3 parents porteurs d'une translocation réciproque



RESULTS 2020-2021

7 no call : 0,1%

4 no call after the 2nd sample

3 no call after the 1st sample (no news about the result of the 2nd sample)

6279 normal results (98,1%): no false negative result

6 have normal karyotype

80 classical trisomies : 1,25%

62 trisomies 21, PPV 91%

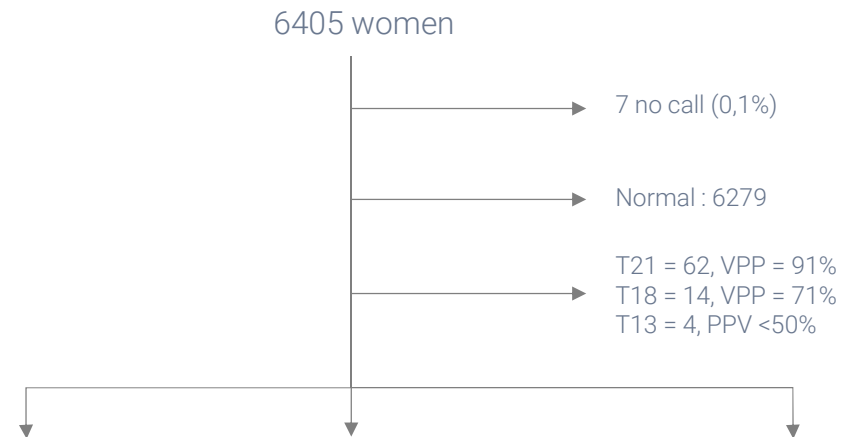
50 confirmed on karyotype, 5 false positives, 7 unknown

14 trisomies 18, PPV 71%

9 confirmed on karyotype, 1 trisomy 21, 4 false positives

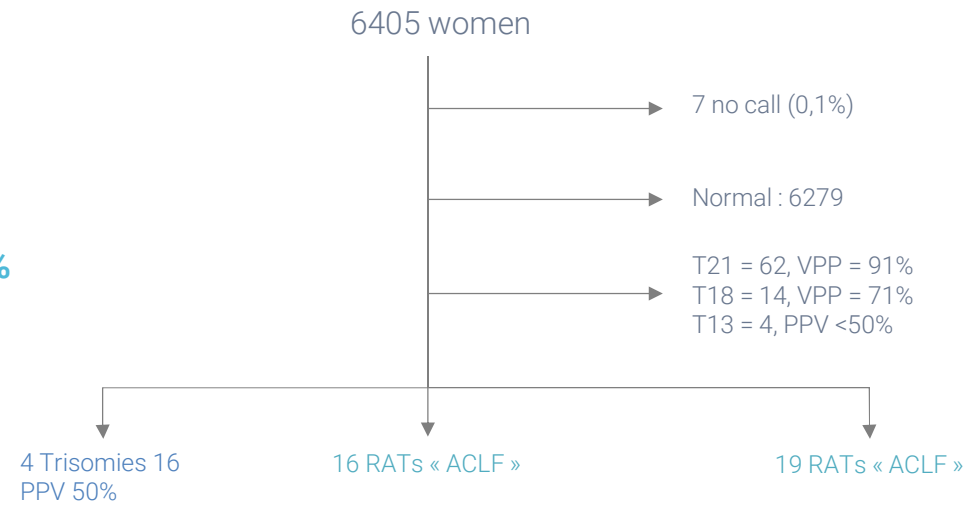
4 trisomies 13, PPV <50%

2 false positives, 2 unknown



RESULTATS 2020-2021

Autres anomalies chromosomiques : 0,6%



RESULTATS 2020-2021

20 trisomies : 0,31%

4 trisomies 16, PPV 50%

2 confirmées sur liquide amniotique, 2 normales

16 autres trisomies

1 perdue de vue

2 confirmées, PPV 13,3% (2/15)

1 tr. Robertsonienne avec RCIU,

1 prééclampsia, 1 prématurité

1 VOUS



RESULTATS 2020-2021

19 unbalanced structural anomalies : 0,30%

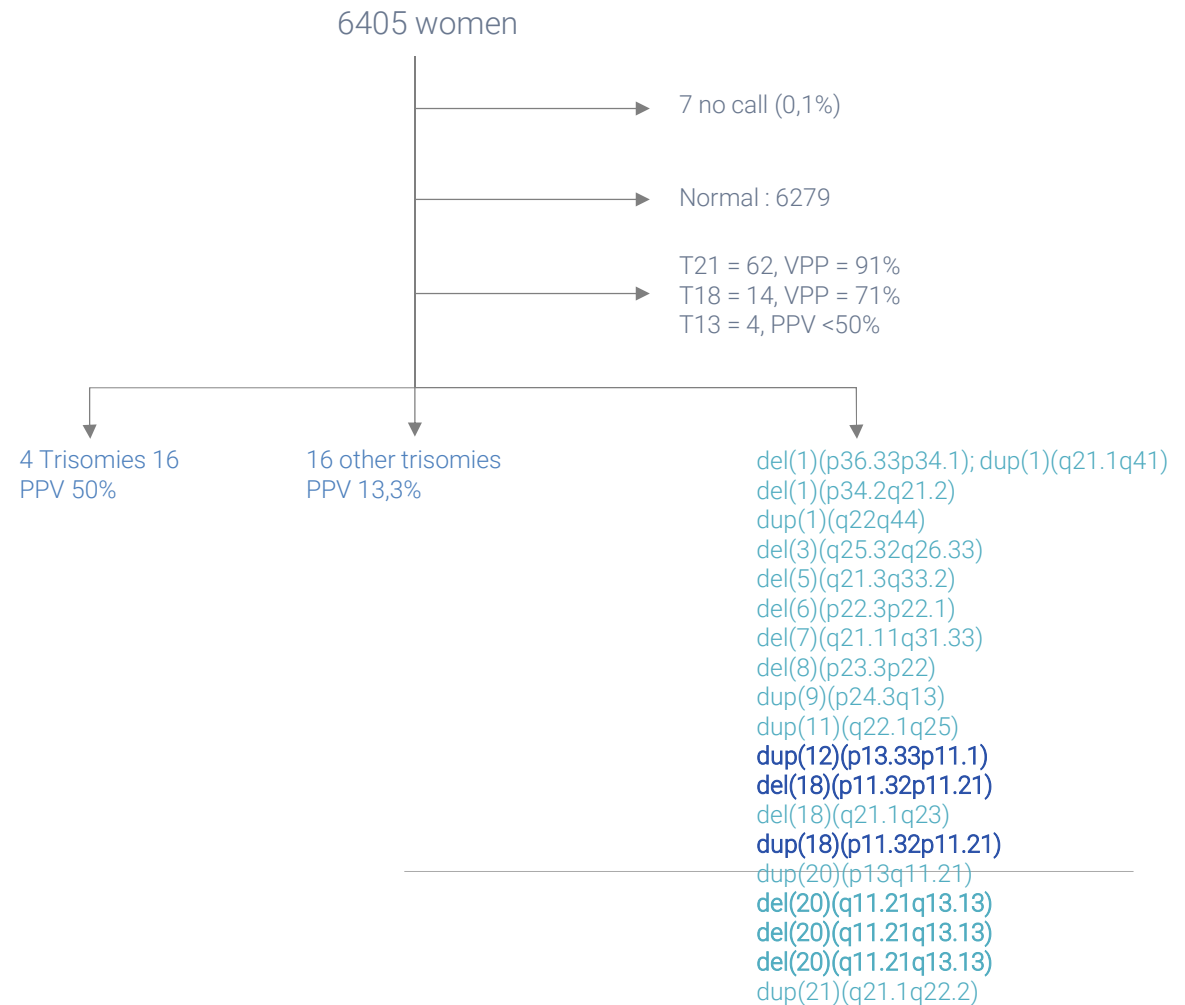
3 confirmées, PPV 16%

+i(12)(p10), +i(18)(p10), del(18)(p11.2)

3 del(20)(q11.21q13.13) :

deletion bras entier

confinées au placenta ?



AUTRES ANOMALIES CHROMOSOMIQUES

Tableau 17 Prévalence d'une anomalie, VPP et VPN lors du dépistage pangénomique (avec les mosaïques connues)

Prévalence (%)	VPP (%)	VPN (%)
0,01	1,42	> 99,99
0,02	2,81	> 99,99
0,05	6,74	> 99,99
0,10	12,64	> 99,99
0,20	22,45	99,99
0,50	42,07	99,98
1,00	59,34	99,95
1,50	68,75	99,93
2,00	74,68	99,91

En pratique



DANS TOUS LES CAS

Confirmation obligatoire de tout résultat anormal de test ADNlc par caryotype

Et maintenant ...



DANS TOUS LES CAS



Résolution < CGH-array
Sensibilité pangénomique < 90 %

Contre-indications = Risque fort d'anomalie déséquilibrée
Signes d'appel échographiques
Parent porteur d'un remaniement chromosomique

ET MAINTENANT ... ?

Harmonisation des pratiques sur le territoire

Travail en cours sous l'égide de l'Agence de Biomédecine :

ACLF, CPDPN, associations, échographistes, généticiens, HAS, ...

Prescription non obligatoire (consentement prédominant)

Résultat, même négatif, noté sur le compte-rendu

Prochains chantiers

Situation « diagnostique »

Risque fort / faible en cas d'antécédent

Prélèvement invasif « à risque » : placentaire, infectieux,...

Surveillance du pronostic de certaines trisomies (16, 22,)

Anomalies confinées au placenta

Performances sur les grossesses multiples

Autres anomalies

Anomalies < 7Mb, maladies monogéniques

Anomalies maternelles / cancer

REMERCIEMENTS

Laurence Lohmann
Armelle Luscan
Jean-Marc Costa



Sophie Zimmer et son équipe



Groupe de travail ACLF, Nicolas Chatron



RÉSULTATS NON EXPLOITABLES

2 passages sur le 1^{er} prélèvement

puis 2 passages sur le 2^{ème} prélèvement

puis prélèvement invasif

2019 (V1 Illumina) (40273)

0,223% (90) nexp 2 ; 0,270% (109) de nexp 1

2020 (V2 Illumina) (37262)

0,027% (10) nexp 2 ; 0,040% (15) de nexp 1

2021 (V2 Illumina) (38942)

0,056% (22) nexp 2 ; 0,077% (30) de nexp 1

France 2020 0,4%