



Association des Biologistes Agréés pour le Dépistage de la trisomie 21  
Assemblée Générale

23 Juin 2021

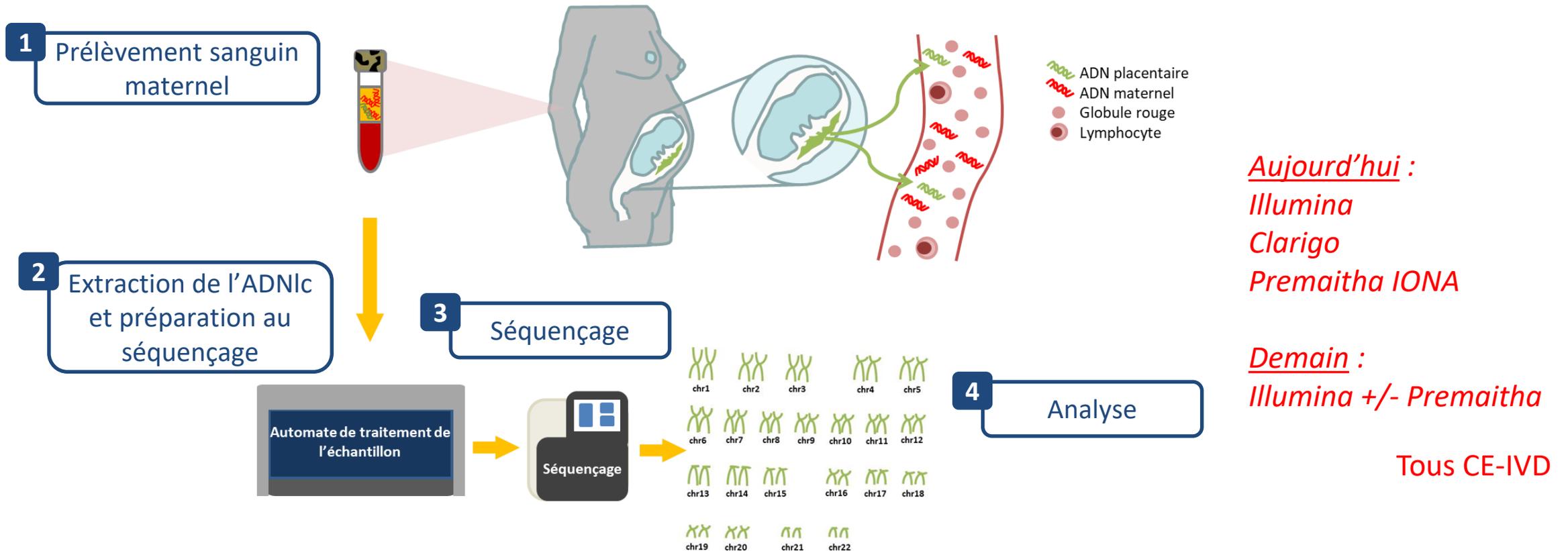
**ADNc T21 :**  
**Actualités et retour d'expérience**

Dr Laïla El Khattabi  
Responsable Plateforme DPNI APHP  
Service de Cytogénétique pré- et post-natale  
Hôpital Cochin, APHP.centre – Université de Paris



# ADNlc T21 en France

- Tests de dépistage de la trisomie 21 par analyse de l'ADN libre circulant :
  - En France, NGS (Next Generation Sequencing)

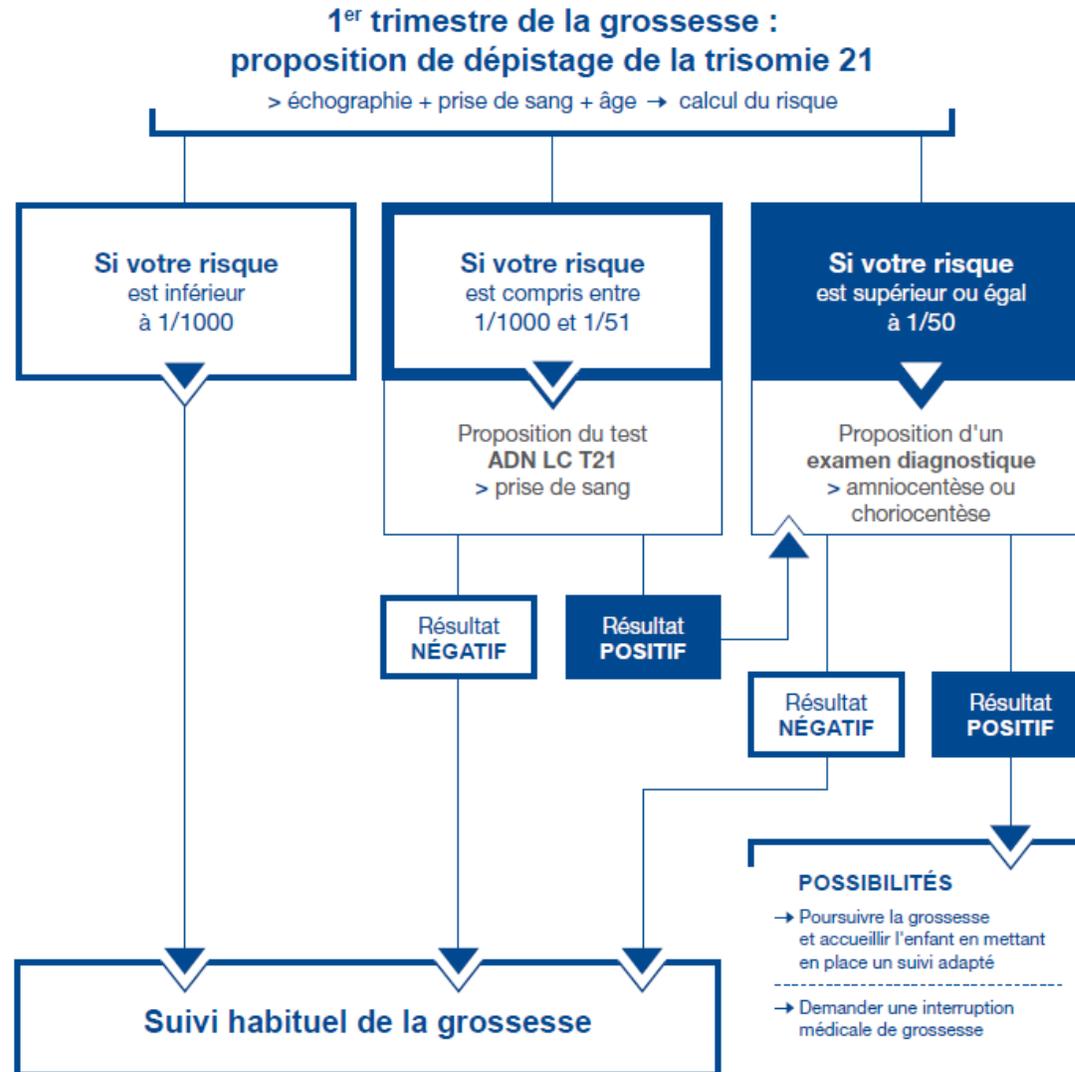


- ADN « foetal » et maternel inséparables (recherche d'un défaut de représentation d'un chromosome ou région => calcul de probabilité)

# ADNlc T21 en France

## ■ Schéma actuel du dépistage prénatal de la T21

1. Test ADNlc proposé en 2<sup>ème</sup> intention en cas de risque intermédiaire à élevé

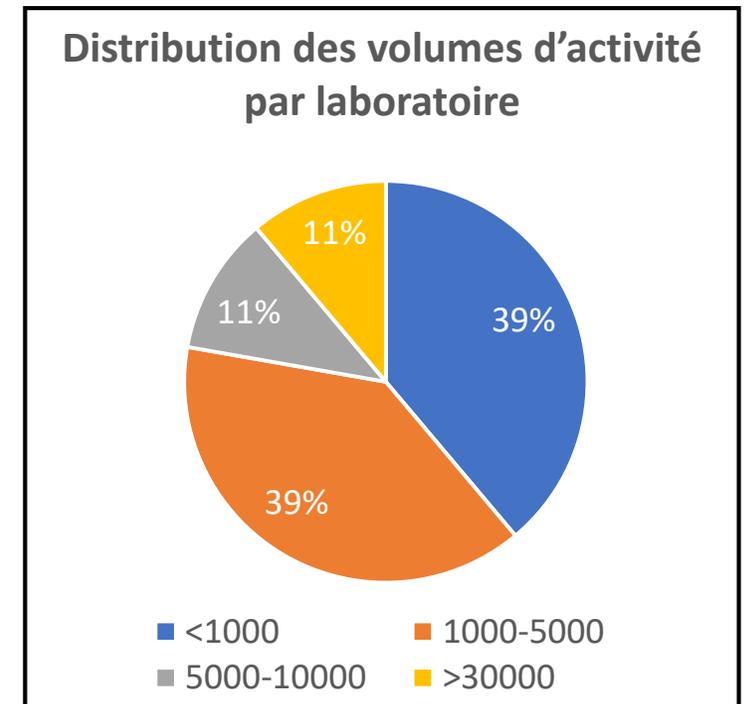
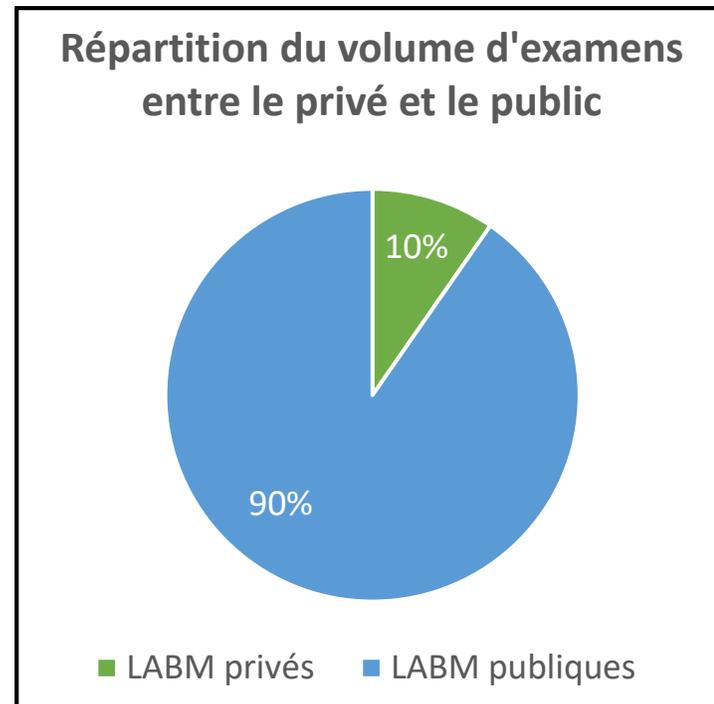
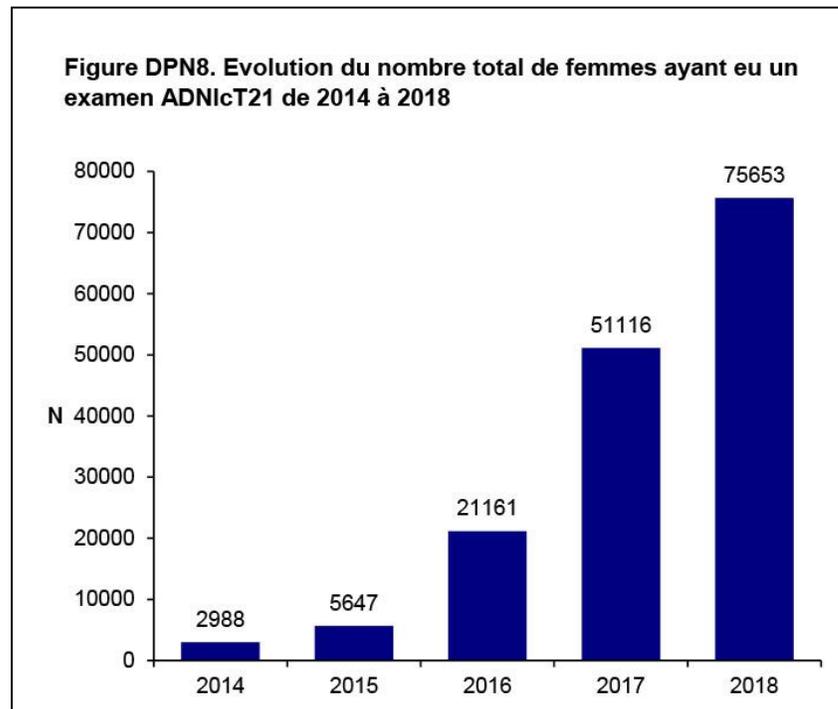


2. Test ADNlc proposé en 1<sup>ère</sup> intention si :

- Grossesse multiple
- Antécédent T21
- Parent porteur d'une translocation robertsonienne impliquant le chr21

# ADNlc T21 en France

- ABM :
  - En 2018 (avant NABM), 34 laboratoires, 75653 examens (646695 MSM)
  - Aujourd'hui (après NABM), 30 laboratoires autorisés, >140 000 examens



Estimations à partir d'un échantillon représentatif

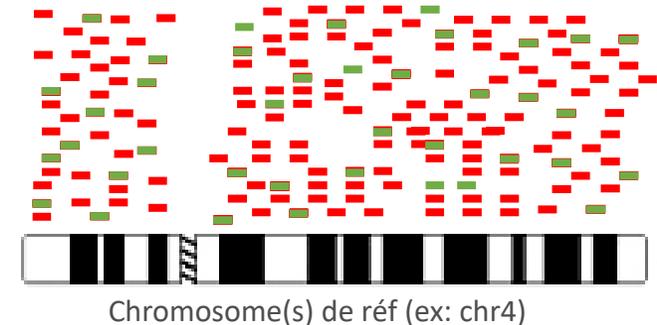
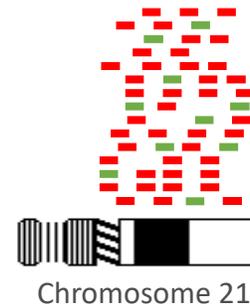
# Actualités ADNlc T21 : ADNlc T21+

# Actualités ADNlc T21 : ADNlc T21+

- Même technique, nouvel algorithme d'analyse des données :  
⇒ Calcul du nombre de « molécules » / chromosome **et / régions chromosomiques**



— ADN foetal  
— ADN maternel

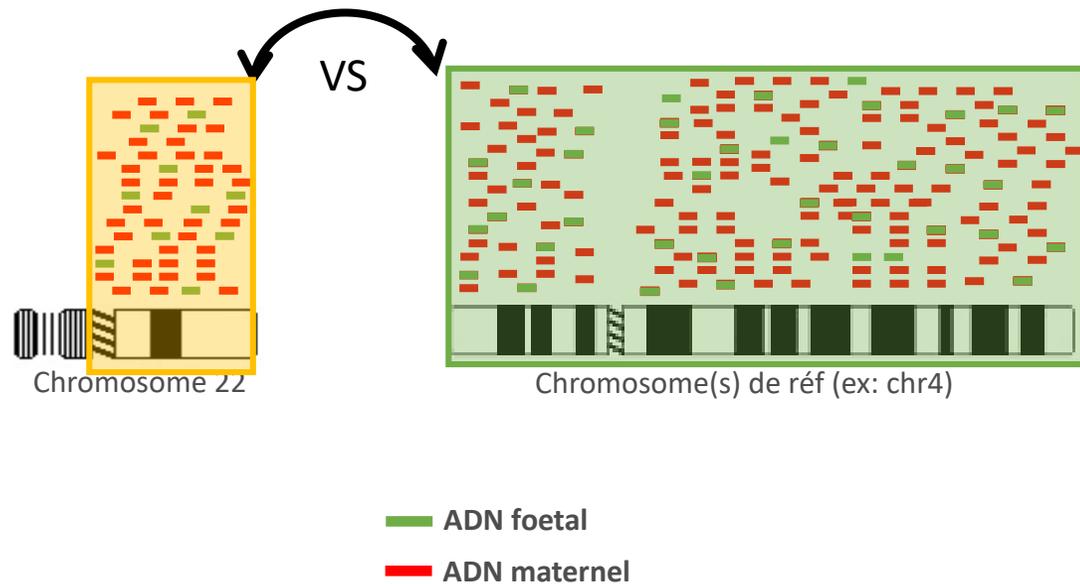


.....etc

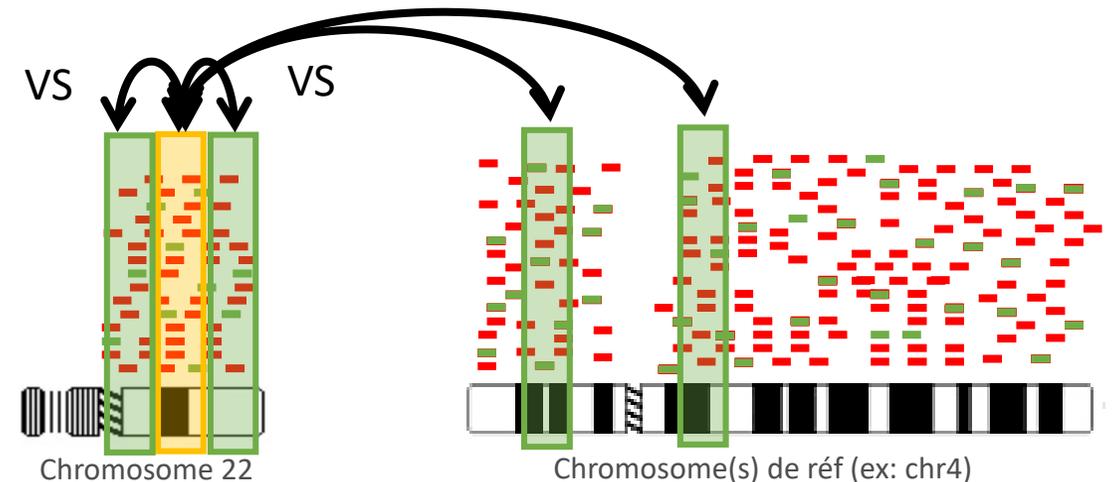
# Actualités ADNIc T21 : ADNIc T21+

- Même technique, nouvel algorithme d'analyse des données :
  - ⇒ Calcul du nombre de « molécules » / chromosome et / régions chromosomiques
  - ⇒ Calcul d'un score pour tous les chromosomes et régions chromosomiques

## Score chromosome entier

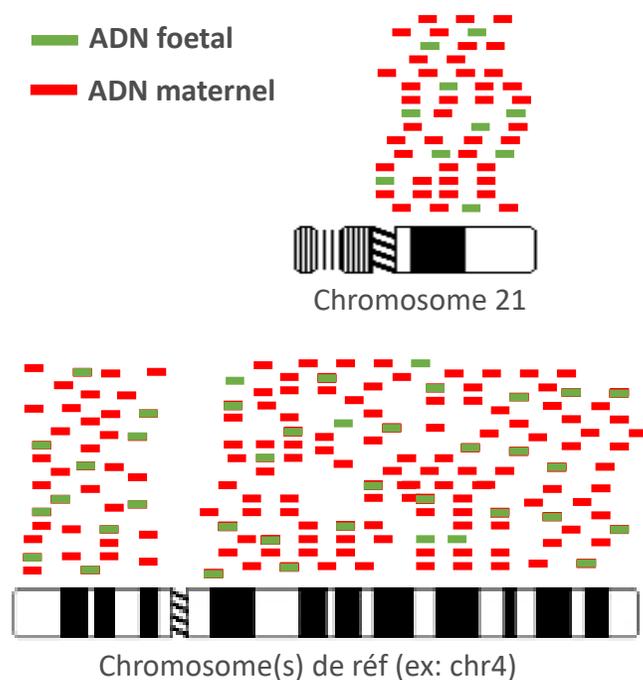


## Score région chromosomique

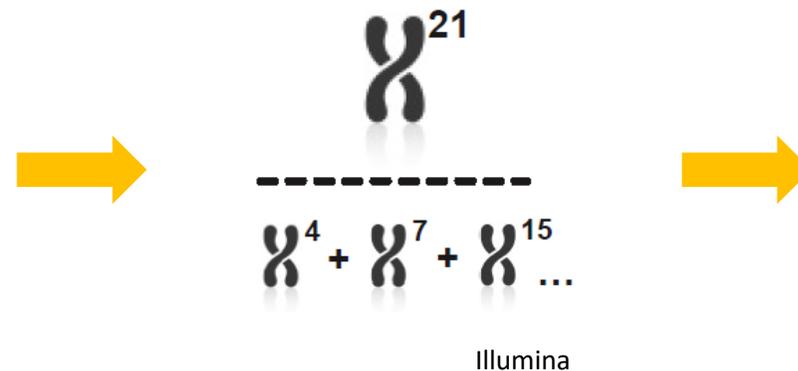


# Actualités ADNlc T21 : ADNlc T21+

- Même technique, nouvel algorithme d'analyse des données :
  - ⇒ Calcul du nombre de « molécules » / chromosome et / régions chromosomiques
  - ⇒ Calcul d'un score pour tous les chromosomes et régions chromosomiques
  - ⇒ Calcul de z-scores chr entier ou « fenêtre » / r pop réf

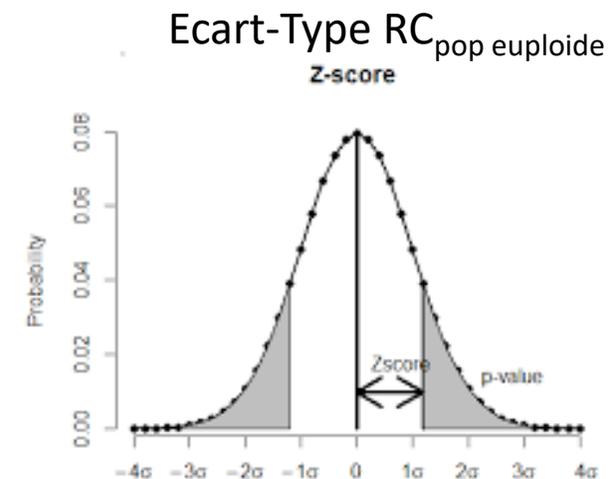


Ratio chromosomique (RC)



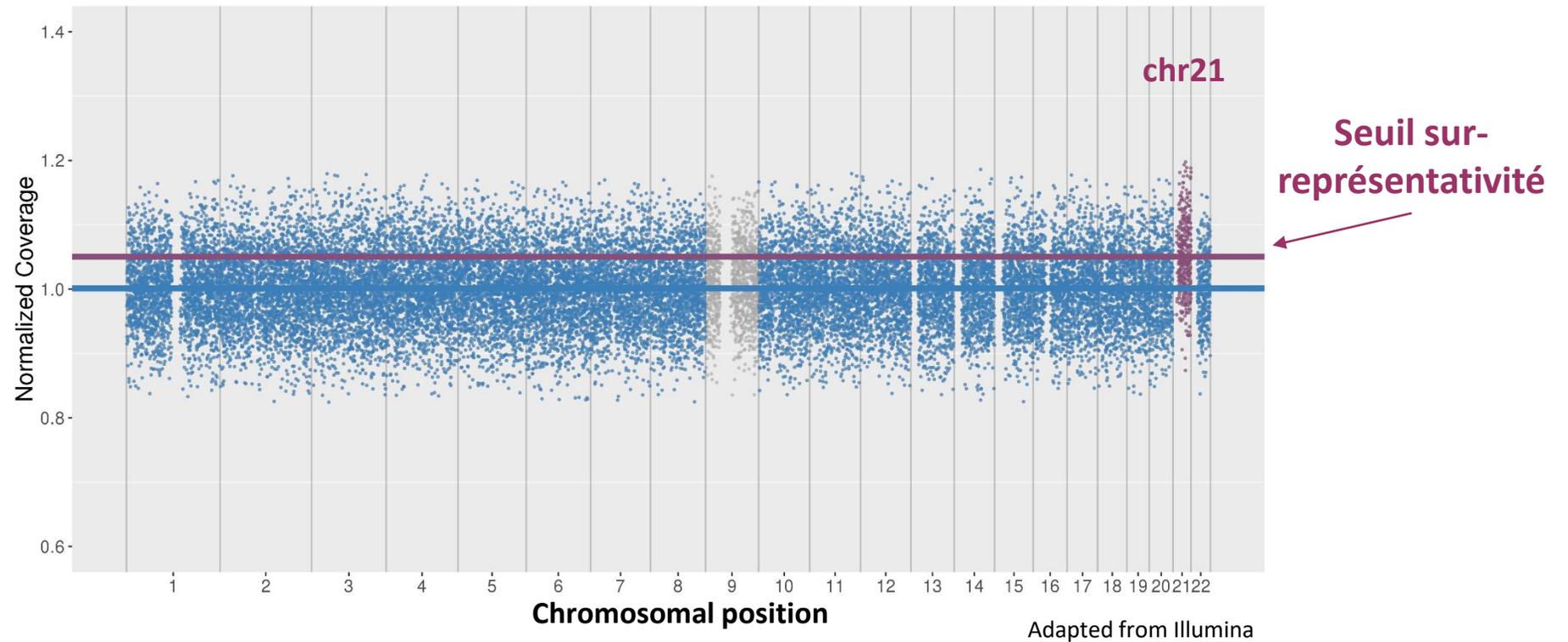
Z-score (« Normalized Chromosomal Value »)

$$\text{NCV} = \frac{\text{RC}_{\text{patient}} - \text{moy RC}_{\text{pop euploide}}}{\text{Ecart-Type RC}_{\text{pop euploide}}}$$



# Actualités ADNIc T21 : ADNIc T21+

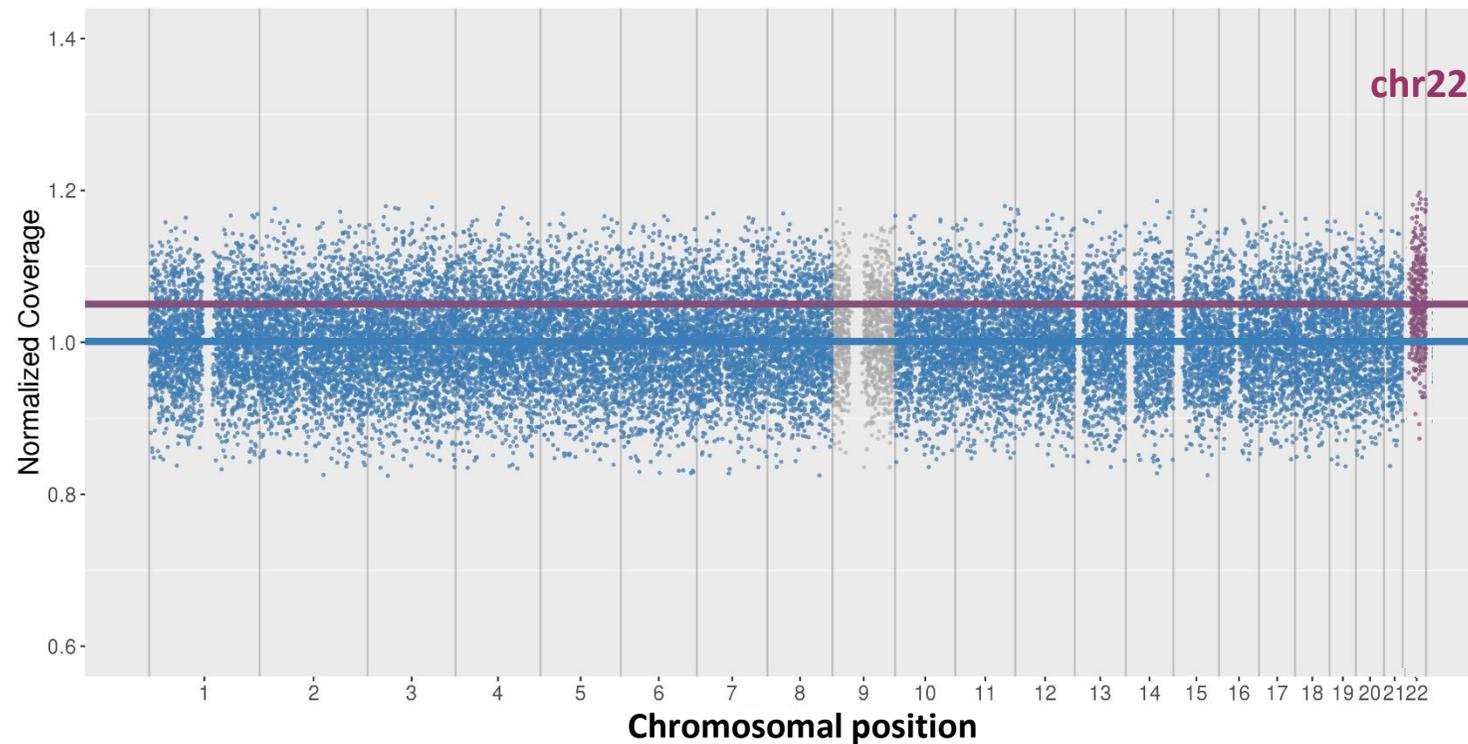
- Même technique, nouvel algorithme d'analyse des données
- ⇒ Sur-représentation du chromosome 21



# Actualités ADNIc T21 : ADNIc T21+

- Même technique, nouvel algorithme d'analyse des données

⇒ **Sur-représentation du chromosome 22**

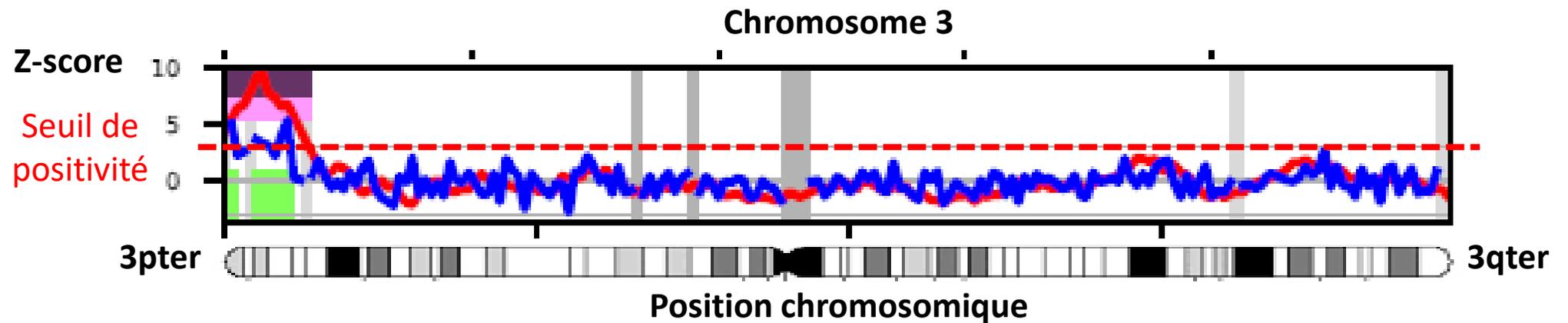


# Actualités ADNlc T21 : ADNlc T21+

- Même technique, nouvel algorithme d'analyse des données
- ⇒ Sur-représentation d'un chromosome quel qu'il soit **ou d'une région chromosomique (>7Mb) ?**

Duplication terminale 3p de 11Mb

ADNlc

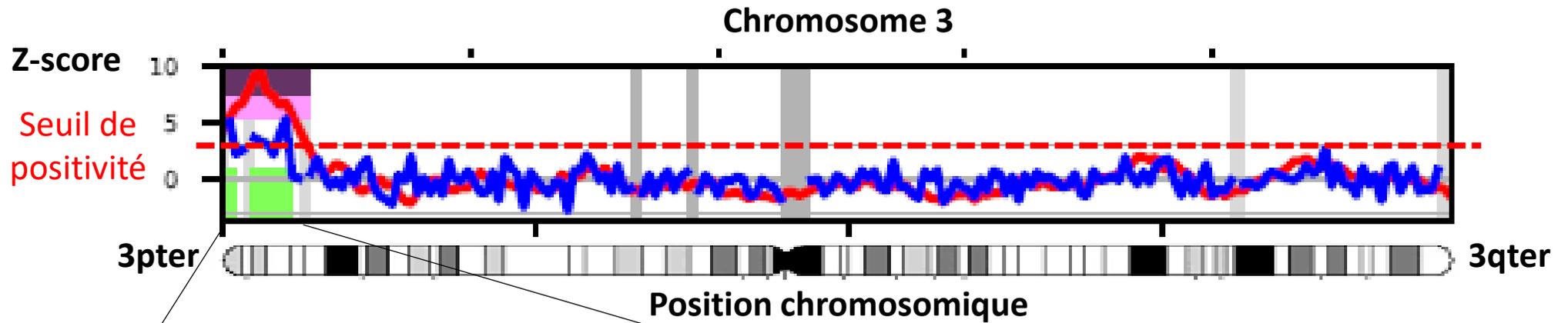


# Actualités ADNlc T21 : ADNlc T21+

- Même technique, nouvel algorithme d'analyse des données
- ⇒ Sur-représentation d'un chromosome quel qu'il soit **ou d'une région chromosomique (>7Mb) ?**

Duplication terminale 3p de 11Mb

ADNlc



ACPA (CGH)  
sur LA



- Même technique, nouvel algorithme d'analyse des données
- ⇒ Sur-représentation d'un chromosome quel qu'il soit ou d'une région chromosomique (>7Mb) ?
- ⇒ **Détection trisomies autosomiques rares (RATs) et anomalies segmentaires (délétions ou duplications) de grande taille (>7Mb)**

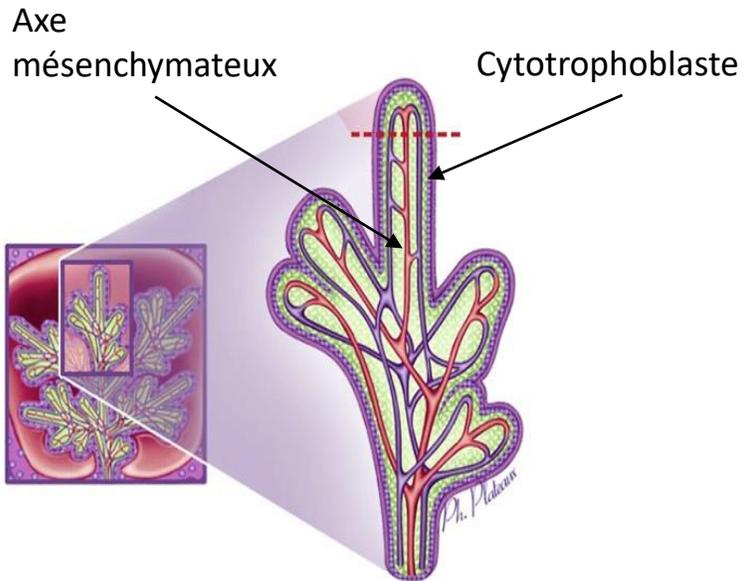
# ADNIc T21+ : Limites

# ADNlc T21+ : Limites

## 1. Mosaïcisme +++

- Origine ADNlc cytotrophoblastique +++ (Relargage cellulaire (apoptose, lyse, etc))

⇒ L'ADNlc = ADN largement **placentaire** !



Université de Paris

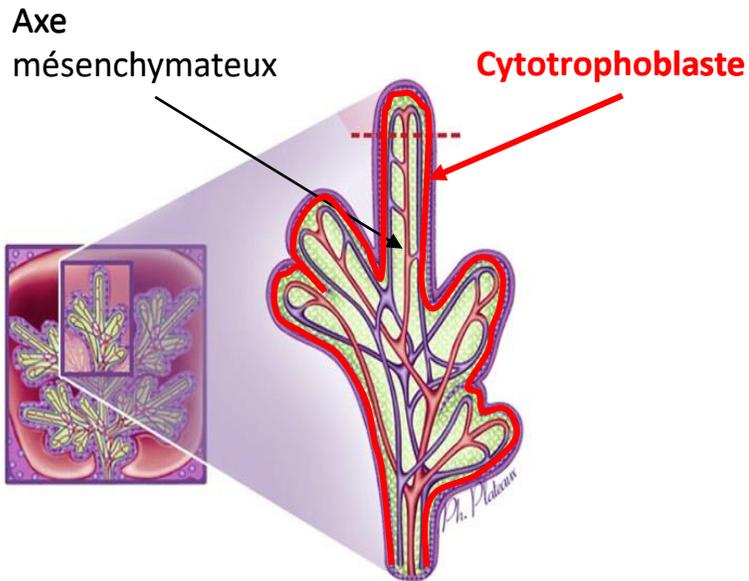
Villosité choriale

# ADNlc T21+ : Limites

## 1. Mosaïcisme +++

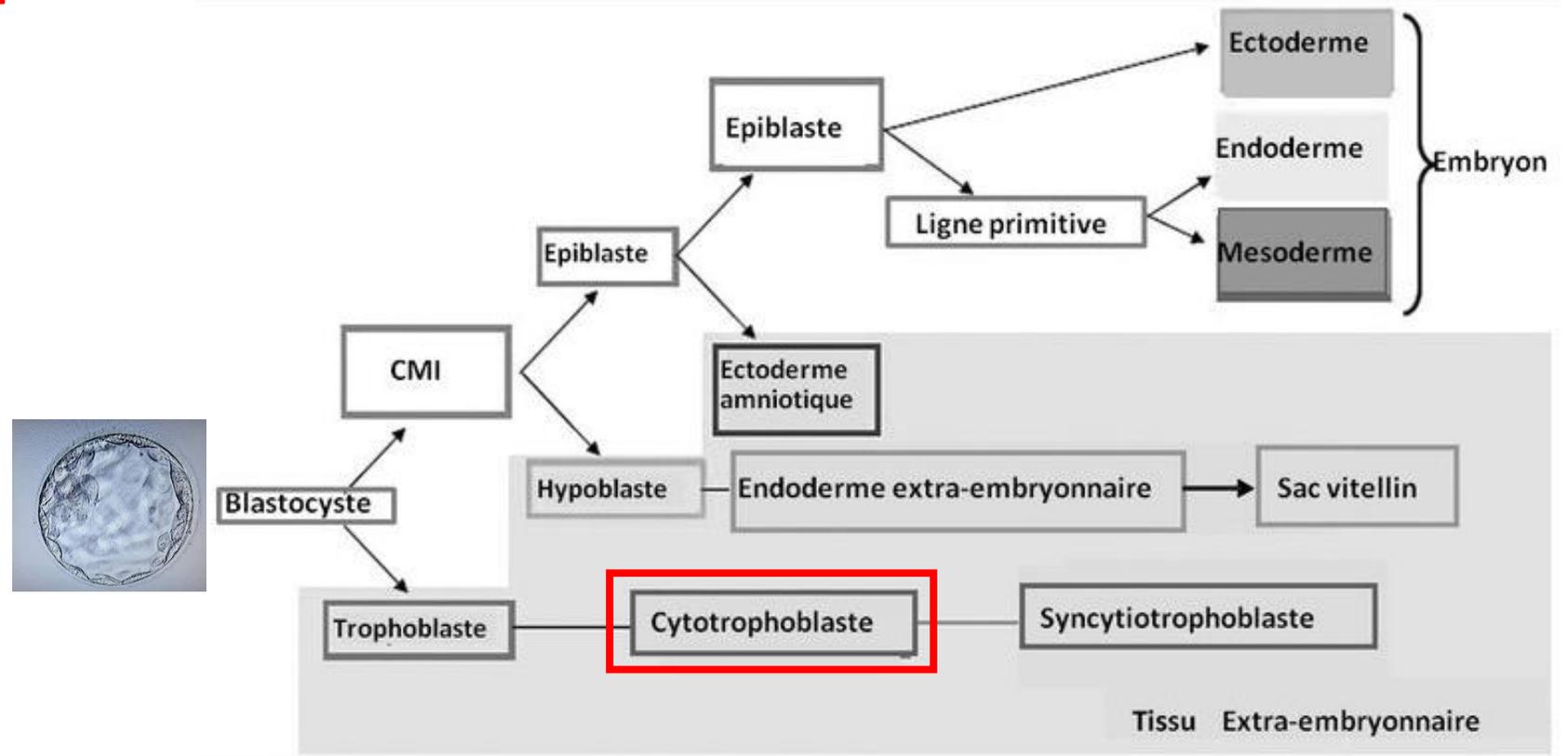
- Origine ADNlc cytotrophoblastique +++ (Relargage cellulaire (apoptose, lyse, etc))

⇒ L'ADNlc = ADN largement **placentaire** !



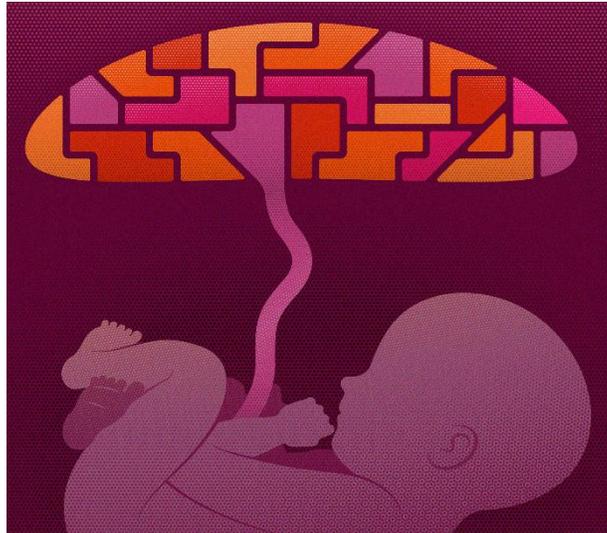
Université de Paris

Villosité choriale

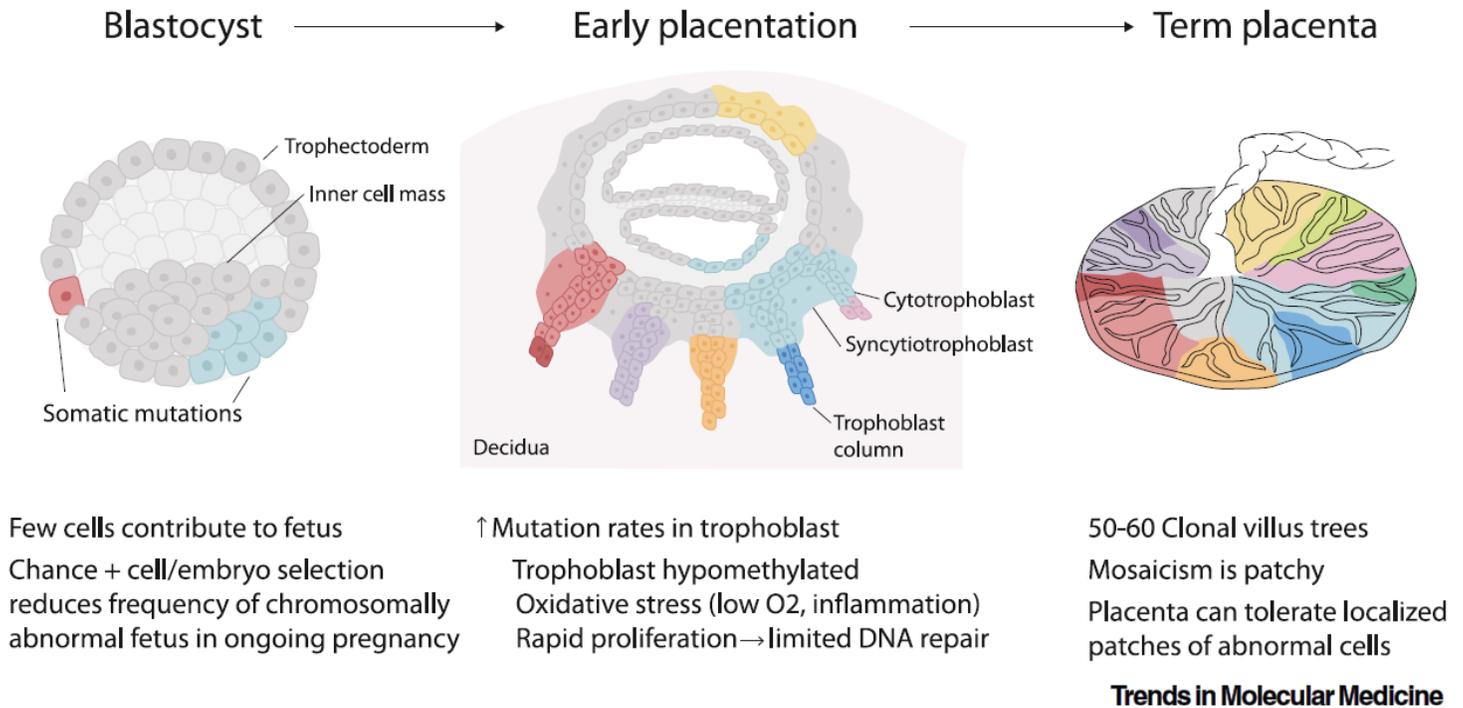


# ADNlc T21+ : Limites

## 1. Mosaïcisme +++



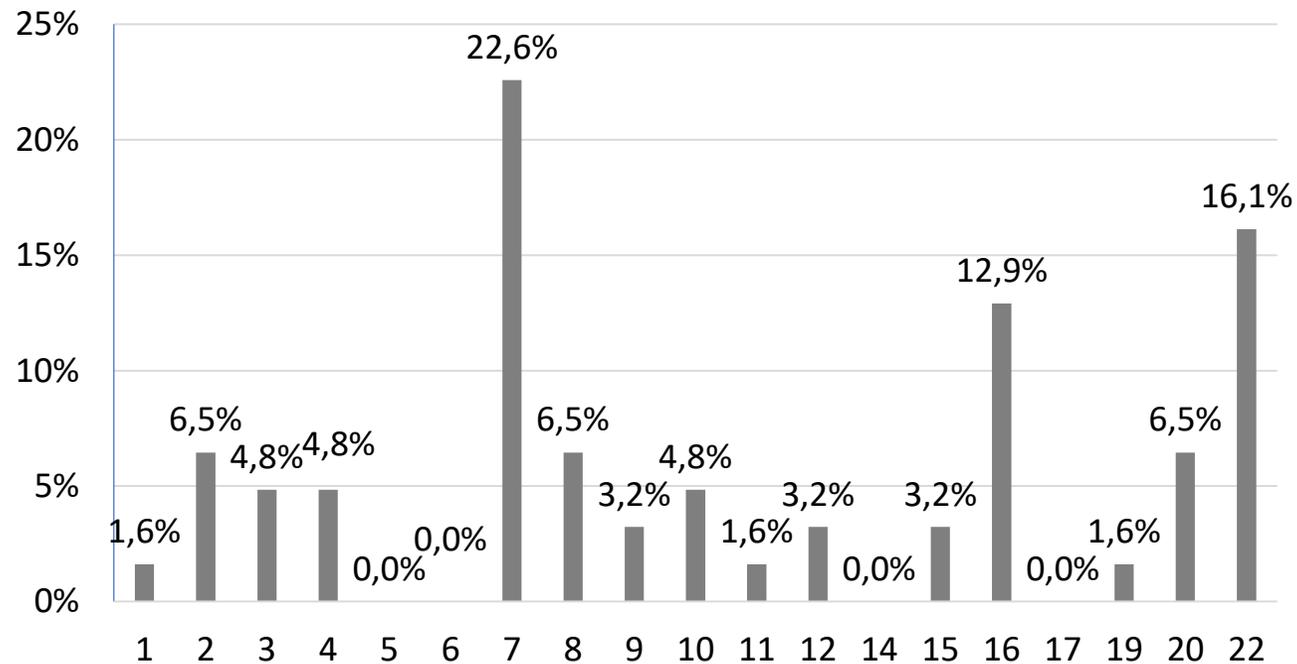
Quanta magazine



# ADNlc T21+ : Limites

## 1. Mosaïcisme +++

- Connu depuis longtemps pour les trisomies
- Incidence varie selon le chromosome

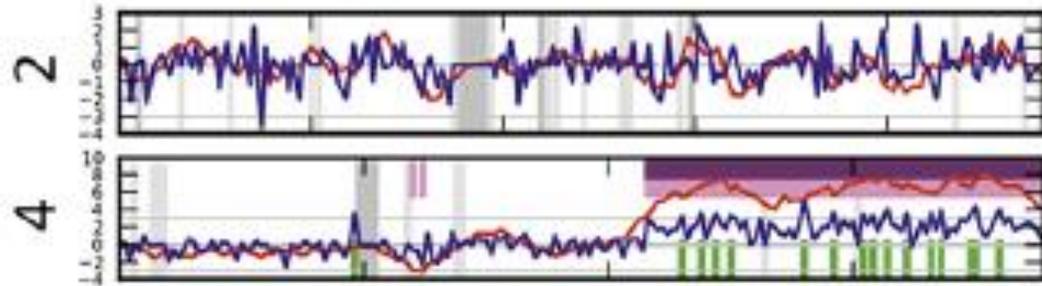


Données plateforme  
DPNI APHP

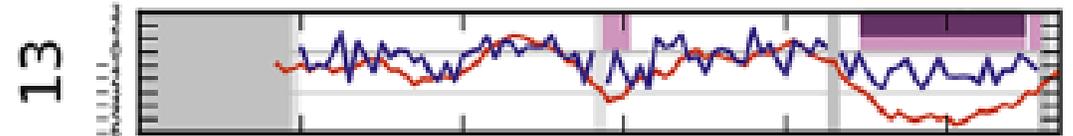
# ADNIc T21+ : Limites

## 1. Mosaïcisme +++

- Connu depuis longtemps pour les trisomies
- Incidence varie selon le chromosome
- Plus fréquent pour les trisomies rares que les trisomies communes
- Concerne les anomalies segmentaires également



<b>ADNIc</b>	dup(4)(q25q35.2)
<b>LA</b>	chr4 N mais del(2)(q37.1)
<b>Placenta</b>	mos del2q et dup4q



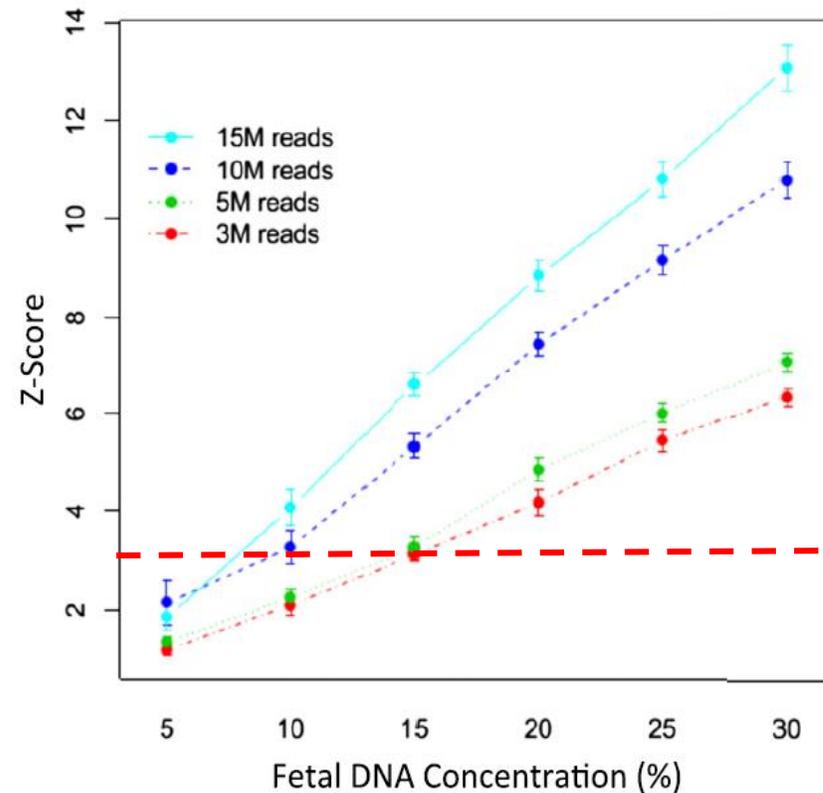
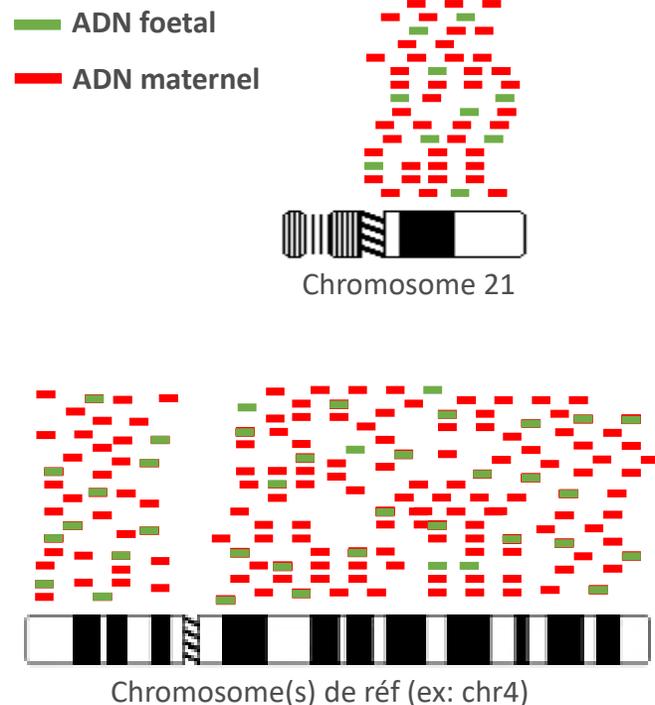
<b>ADNIc</b>	<b>del(13)(q31q34)</b>
<b>LA</b>	N (UPD(13))
<b>Placenta</b>	del13q

# ADNc T21+ : Limites

1. Mosaïcisme +++

2. Facteurs impactant les performances :

*Nombre de « molécules comptées » (plus le nombre est élevé, plus le z-score s'élèvera en cas de trisomie) / Taille de l'anomalie / Fraction fœtale*



Résultats variables  
d'un échantillon à  
l'autre, 2-60M

Adapted from Yin et al, PNAS 2015

# ADNIc T21+ : Limites

1. Mosaïcisme +++
  2. Facteurs impactant les performances
  3. Peu d'études (aucune dans les grossesses gémellaires)
- Populations publiées hétérogènes  
Indications différentes de celles en France

**Table 3. Comparison of TRIDENT-1 and TRIDENT-2**

	TRIDENT-1 (High-Risk Population) <b>n = 2527</b>		TRIDENT-2 (General-Risk Population) <b>n=73239</b>	
-	NIPT Result Frequency (%)	PPV (%)	NIPT Result Frequency (%)	PPV (%)
T21	2.24 <sup>a</sup>	94 <sup>a</sup>	0.33	96
T18	0.36 <sup>a</sup>	80 <sup>a</sup>	0.07	98
T13	0.43 <sup>a</sup>	67 <sup>a</sup>	0.08	53
RATs	1.11 <sup>b</sup>	15 <sup>b</sup>	0.18	6
SAs	0.47 <sup>b</sup>	50 <sup>b</sup>	0.16	32
Complex abnormal profiles	0 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	0.02	64

PPV, positive predictive value; RAT, rare autosomal trisomy; SA, structural aberration; T, trisomy; TRIDENT, Trial by Dutch Laboratories for the Evaluation of Non-Invasive Prenatal Testing

TRIDENT-1 data calculated based on <sup>a</sup>Oepkes et al. <sup>8</sup> and <sup>b</sup>Van Opstal et al. <sup>1,2</sup>

# Recommandations du groupe de travail DPNI de l'ACLF

Association des cytogénéticiens de langue française	
	Complément GBP DPNI v4
Recommandations WG DPNI	Version : 1
	Date : 10/11/2020

Recommandations sur la conduite à tenir devant l'identification d'anomalies chromosomiques fœtales autres que les trisomies 13, 18 et 21 par l'étude de l'ADN libre circulant (ADNlc)

- **Question principale: *Bénéfice vs Risque ?***
  - *Performances ?*
  - *L'impact clinique de ces anomalies ?*
  - *Prélèvements invasifs engendrés ?*
- **Éléments de réflexion pour les trisomies rares :**
  - *Pour chaque chromosome :*
    - **Incidence**, en ADNlc et en prénatal invasif (BT), et taux de vrai positif fœtal
    - **Gravité** clinique
    - **Performances** connues ADNlc

- **Pas de dépistage mais détection au décours d'un test de dépistage T21**
- Consentement dédié (modèle national proposé, communiqué à l'ABM)
- Pour les RATs :
  - Recommandation de rendre les **trisomies 2, 8, 9, 14, 15, 16 et 22** (42% des RATs, ~0,3%)
- Anomalies segmentaires :
  - Expertise cytogénétique ++++
  - A discuter avec le gynécologue et en relation avec le CPDPN attendant

# Conclusion ADNlc T21+

- Variabilité de l'offre sur le territoire (différentes plateformes) => évolutions à venir

# Conclusion ADNlc T21+

- Variabilité de l'offre sur le territoire (différentes plateformes) => évolutions à venir
- **ADNlc T21+ = Dépistage T21 et éventuelle découverte d'autres anomalies au décours (aucune donnée sur la VPN) !!**

# Conclusion ADNlc T21+

- Variabilité de l'offre sur le territoire (différentes plateformes) => évolutions à venir
- ADNlc T21+ = Dépistage T21 et éventuelle découverte d'autres anomalies au décours (aucune donnée sur la VPN) !!
- **Incidence : 0,3% RATs « restituables », 0,25-0,5% anomalies segmentaires (vs 1,2% Trisomies 13, 18 et 21)**

***Mais moins d'échecs***

# Conclusion ADNlc T21+

- Variabilité de l'offre sur le territoire (différentes plateformes) => évolutions à venir
- ADNlc T21+ = Dépistage T21 et éventuelle découverte d'autres anomalies au décours (aucune donnée sur la VPN) !!
- Incidence : 0,3% RATs « restituables », 0,25-0,5% anomalies segmentaires (vs 1,2% Trisomies 13, 18 et 21 )
- Mosaïques confinées au placenta +++, faible prévalence de ces anomalies rares,...

**=> VPP estimée à ~10% pour le set de RATs recommandé, ~15-30% pour les anomalies segmentaires**

# Conclusion ADNlc T21+

- Variabilité de l'offre sur le territoire (différentes plateformes) => évolutions à venir
- ADNlc T21+ = Dépistage T21 et éventuelle découverte d'autres anomalies au décours (aucune donnée sur la VPN) !!
- Incidence : 0,3% RATs « restituables », 0,25-0,5% anomalies segmentaires (vs 1,2% Trisomies 13, 18 et 21 )
- Mosaïques confinées au placenta +++, faible incidence,...

=> VPP estimée à ~10% pour le set de RATs recommandé, ~15-30% pour les anomalies segmentaires

- **Ne sont pas détectés :**
  - **Microdélétions/microduplications (DGS, PWS...), toute del/dup <7Mb**
  - **Aneuploïdies des gonosomes (non recommandées)**
  - **Triploïdies (pour la grande majorité des techniques)**
  - **Profils évocateurs de tumeurs**

# Conclusion ADNlc T21+

- Variabilité de l'offre sur le territoire (différentes plateformes) => évolutions à venir
- ADNlc T21+ = Dépistage T21 et éventuelle découverte d'autres anomalies au décours (aucune donnée sur la VPN) !!
- Incidence : 0,3% RATs « restituables », 0,3-0,5% anomalies segmentaires (vs 1,2% Trisomies 13, 18 et 21)
- Mosaïques confinées au placenta +++, faible incidence,...

=> VPP estimée à ~10% pour le set de RATs recommandé, ~15-30% pour les anomalies segmentaires

- Ne sont pas détectés :
  - Microdélétions/microduplications (DGS, PWS...), toute del/dup <7Mb
  - Aneuploïdies des gonosomes (non recommandées)
  - Triploïdies (pour la grande majorité des techniques)
  - Profils évocateurs de tumeurs
- **Coordination nationale** (GT DPNI ACLF et GT ABM):  
*Mise à jour des recommandations, Homogénéisation des pratiques, Suivi des données +++++*

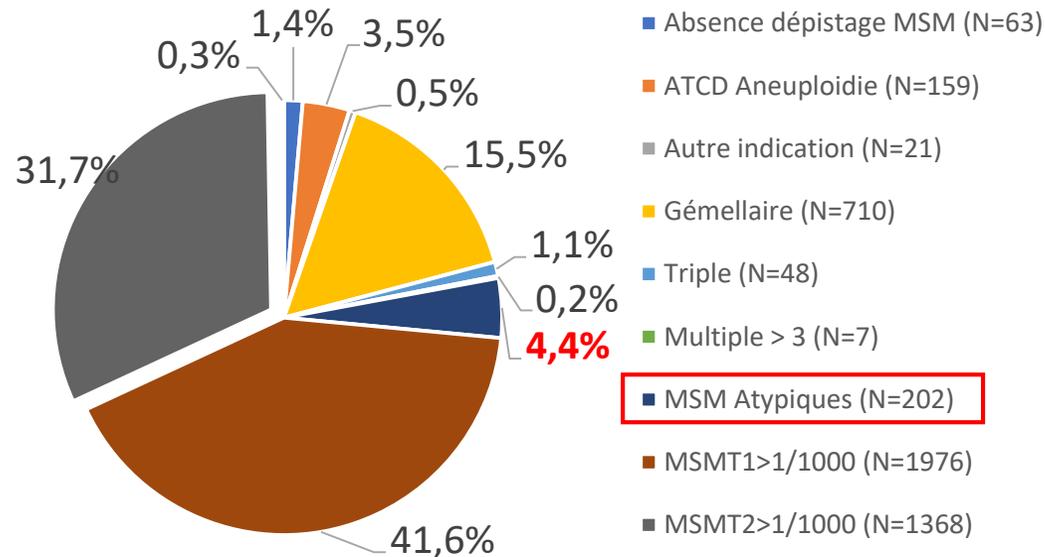
**=> Pratiques/Recommandations seront amenées à évoluer**

# Autres indications du DPNI

# Autres indications du DPNI (recommandations sociétés savantes avant NABM)

- **Recommandations sociétés savantes avant NABM**
- **Aujourd'hui, indications à la discrétion des CPDPN**
  - **MSM atypiques (PAPP-A ou hCG $\beta$   $\leq$  0,3 MoM, hCG $\beta$  ou hCG totale  $\geq$  0,5 MoM)**
  - **Antécédent de grossesse avec T13 ou T18**
  - **Parent porteur d'une translocation robertsonienne impliquant un le chromosome 13**

⇒ Difficultés de prise en charge de l'examen dans ces indications. Pourtant....



Sur-risque aneuploïdies :  
Ex: T18 avec des MSM T1 bas

- Un seul article publié sur DPNI dans les profils atypiques (MSM T1/T2 bas (PAPP-A et hCG $\beta$ ) et élevés (hCG))

Carrara et al. *J Transl Med* (2019) 17:398  
<https://doi.org/10.1186/s12967-019-02152-7>

Journal of  
Translational Medicine

RESEARCH

Open Access

## Usefulness and reliability of cell free fetal DNA screening for main trisomies in case of atypical profile on first trimester maternal serum screening



Julie Carrara<sup>1,2\*</sup>, Alexandre Vivanti<sup>1,2</sup>, Jacques C. Jani<sup>3</sup>, Adèle Demain<sup>1</sup>, Jean-Marc Costa<sup>4</sup> and Alexandra Benachi<sup>1,2</sup>

**Results:** Among the 498 patients who underwent a cfDNA assay in this context, twenty-one (4.2%) were excluded because of loss to follow-up. Out of 477, test failure occurred for four patients initially, reduced to two patients (0.4%) after redrawn. CfDNA was positive for Trisomy 21 (n = 19), Trisomy 18 (n = 6) and Trisomy 13 (n = 1) and negative in 449. The sensitivity of cfDNA assay for trisomy 21 screening was 100% (19/19) (IC 95% 82.4–100) and specificity 100% (458/458) (IC 95% 99.2–100). Among the 447 patients included for prediction of vascular complications, there were four cases of pregnancy induced hypertension and 10 cases of preeclampsia, for which no predictive factor was identified. Intra Uterine growth restriction under 5th percentile (n = 44, 9.8%) was significantly associated with a low fetal fraction (OR = 0.87, IC 95% 0.79–0.96, p = 0.006).

**Conclusion:** cfDNA assay is an effective and reliable tool for women with atypical profile of first trimester serum biomarkers.

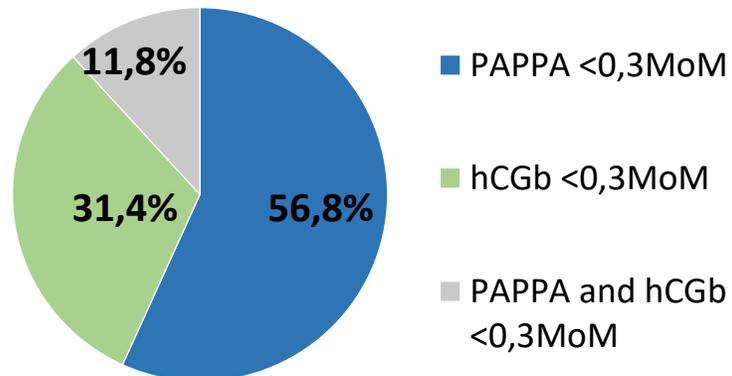
# ADNlc T21 et MSM bas en particulier la PAPP-A

- Notre étude avec le Pr Jean Guibourdenche :
  - Performances du DPNI dans les MSM T1 bas ?
  - Prévalence des trisomies communes ?
  - Risque d'échec de DPNI ?
  - Risque de « faux négatifs » avec anomalies autres que les trisomies communes ?

Population d'intérêt  
MSM T1  $\leq 0,3\text{MoM}$   
n = 347

VS

Population CTL  
MSM T1  $>0,3\text{MoM}$  et  $<5\text{MoM}$   
n = 782



# ADNIc T21 et MSM bas en particulier la PAPP-A

Population d'intérêt  
MSM T1  $\leq 0,3\text{MoM}$   
n = 347

VS

Population CTL  
MSM T1  $>0,3\text{MoM}$  et  $<5\text{MoM}$   
n = 782

## ■ Principaux résultats :

- Performances du DPNI dans les MSM T1 bas ?

*Comparables en termes de Se et Sp*

- Prévalence des trisomies communes ?

*Sur-représentation T18 et T13*

- Risques d'échec de DPNI ?

*Pas plus d'échecs*

- Risques de « faux négatifs » avec anomalies autres que les trisomies communes ?

*Pas de différence en terme d'issues de grossesse péjoratives pour les DPNI négatifs ou en échec*

# Remerciements

- Au **personnel médical et paramédical** dans les différents services partenaires :

- L'équipe de la plateforme DPNI - Service de Cytogénétique  
(en particulier, F Hsoumi et M Lopez)

- Laboratoires de l'Hôpital Cochin :
  - Service de Génétique et Biologie Moléculaires et Plateforme NGS
  - Service de Biochimie hormonale  
Jean Guibourdenche  
Christelle Laguillier-Morizot

- Les 13 maternités de l'APHP
- Les équipes des CPDPN correspondants
- Le laboratoire de Cytogénétique du CHU de Rennes (Erika Launay)
- Les laboratoires de Cytogénétique de l'APHP

- Le Département de biostatistique de la faculté de Pharmacie Université de Paris  
Emmanuel Curis