



Unilabs

Les limites du test de dépistage ADN flc le point de vue du généticien et du biologiste

Dr Valérie KOUBI, Dr Martine COHEN BACRIE
Laboratoire EYLAU UNILABS , PARIS / NEUILLY



Journée ABA , PARIS 19 Juin 2019

Que peut-on analyser à partir de l'ADNf1c?

- Indications fréquentes autorisées en France :

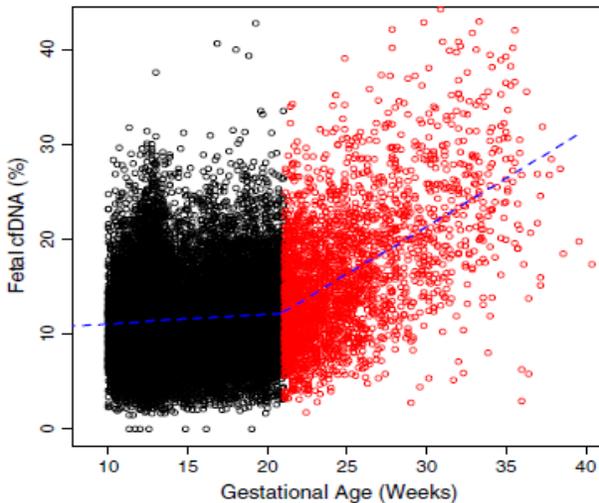
1. Dépistage de la T21 (T13 et T18 sous conditions)
2. Analyse du sexe foetal dans les cas d'hyperplasie congénitale des surrénales et des maladies liées au sexe
3. Rhésus foetal

- Autres indications :

1. Recherche des principaux syndromes microdélétionnels (pannels selon technologie utilisée: cri du chat, WBS, PW-AS, WHS, del 1p36, DGS, SMS, MDS)
2. Séquençage complet (pannels selon technologie utilisée)
3. Détermination de pathologies dominantes d'origine paternelle ou maternelle
4. Identification de l'allèle paternel/maternel dans les pathologies autosomiques récessives

Quels sont les facteurs influençant le résultat de l'analyse ADNflc ?

1. Le terme de la grossesse : évolution de la FF // âge gestationnel



Wang et al, 2013

Table 2. Expected Test Performance Based on Meta-regression Results^a

Method		Gestational Age		Diagnostic OR ^c	Q*, % ^d	Test Specificity at 98% Sensitivity	%	
Name	Code ^b	Range, wk	Code				PPV ^e	NPV ^e
PCR	0	<7	0	43.3	86.8	46.9%	64.9	96.0
		7-20	1	262.4	94.2	84.3%	86.2	97.7
		>20	2	1589.2	97.5	97.0%	97.0	98.0
RTQ-PCR	1	<7	0	146.9	92.4	75.0%	79.7	97.9
		7-20	1	889.8	96.8	94.8%	95.0	97.9
		>20	2	5388.4	98.7	99.1%	99.1	98.0

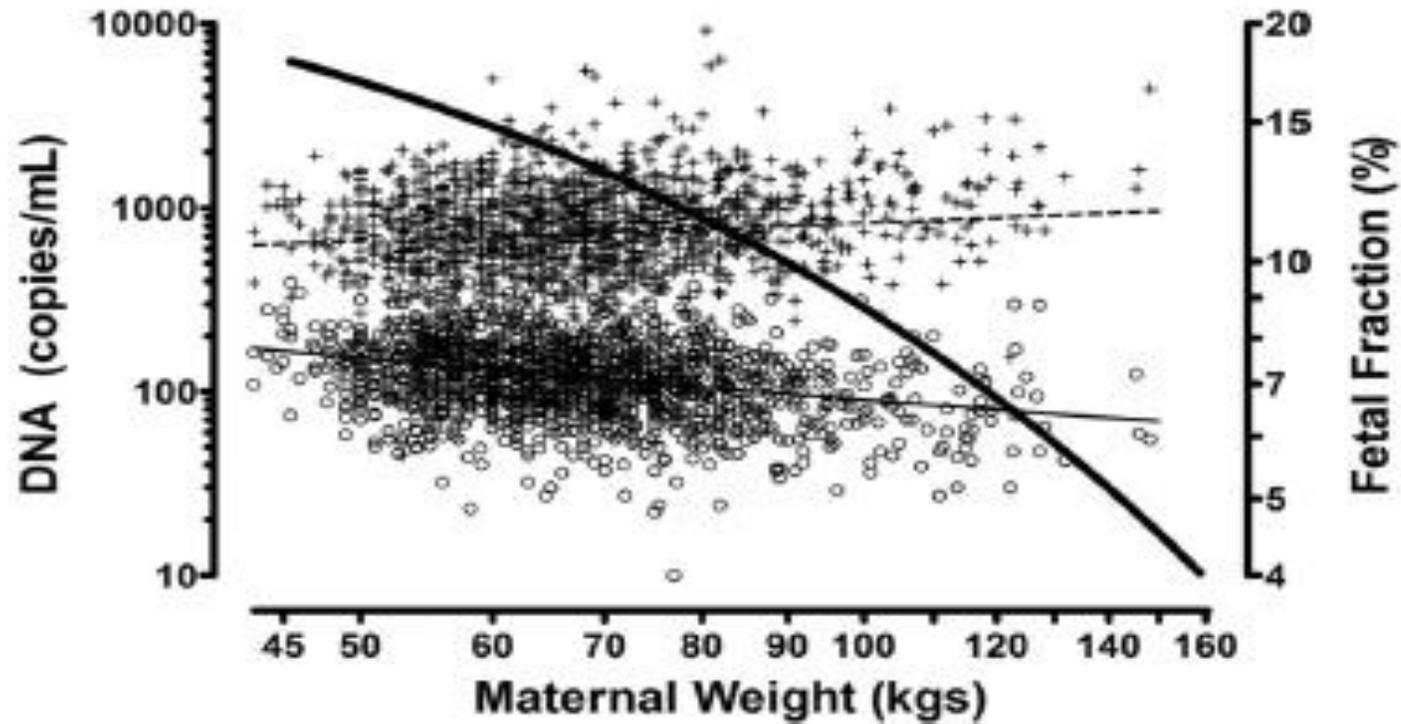
Abbreviations: NPV, negative predictive value; OR, odds ratio; PCR, polymerase chain reaction; PPV, positive predictive value; RTQ-PCR, real-time quantitative polymerase chain reaction.

Delanay et al, 2011

TERME RECOMMANDE > 12 SA

Quels sont les facteurs influençant le résultat de l'analyse ADNflc?

2. IMC



Canik et al,2013

Quels sont les facteurs influençant le résultat de l'analyse ADNflc?

3. Les signes d'appel échographiques

Table 3. Comparison of Noninvasive Prenatal Testing Results With Conventional Fetal Karyotype According to the Absence (Group 1) or Presence (Group 2) of Fetal Findings at Ultrasound Examination

Groups		Fetal Karyotype			
		47,XX+21 or 47,XY+21	47,XX+18 or 47,XY+18	47,XX+13 or 47,XY+13	Other*
Group 1 (n=510)					
NIPT result	Normal				
Positive trisomy 21	0	21	0	0	1
Positive trisomy 18	0	0	4	0	1
Positive trisomy 13	0	0	0	0	0
Negative	470	0	0	0	13
Group 2 (n=376)					
NIPT result	Normal				
Positive trisomy 21	0	55	0	0	0
Positive trisomy 18	0	0	18	0	0
Positive trisomy 13	1	0	0	12	0
Negative	258	0	3	0	29

Quels sont les facteurs influençant le résultat de l'analyse ADNflc?

5. Les mosaïques confinées au placenta: risque de faux positifs

Table 1 Incidences of the different types of mosaicisms (CPM and TFM) found after chorionic villi and amniocytes karyotyping

Type of mosaicism	Cytotrophoblast	Villus mesenchyme	Amniotic fluid cells	Relative frequencies
CPM I	Abnormal	Normal	Normal	35.66% (357/1001)
CPM II	Normal	Abnormal	Normal	41.25% (413/1001)
CPM III	Abnormal	Abnormal	Normal	9.99% (100/1001)
TFM IV	Abnormal	Normal	Abnormal	1.40% (14/1001)
TFM V	Normal	Abnormal	Abnormal	5.69% (57/1001)
TFM VI	Abnormal	Abnormal	Abnormal	5.99% (60/1001)

CPM, confined placental mosaicism; TFM, true fetal mosaicism.

Les risques de faux positifs sont d'environ 0,2% selon les technologies utilisées (ref PGM Ion torrent)

Quels sont les facteurs influençant le résultat de l'analyse ADNflc?

6. Les risques de faux négatifs

	Aneuploïdies	Detection rates (%)	False positive rates (%)
Singleton	Trisomie 21	99.7	0.04
	Trisomie 18	97.9	0.04
	Trisomie 13	99.0	0.04
	Monosomie X	95.8	0.14
Gémellaire	Trisomie 21	100.0	0.00

Gil et al, 2017

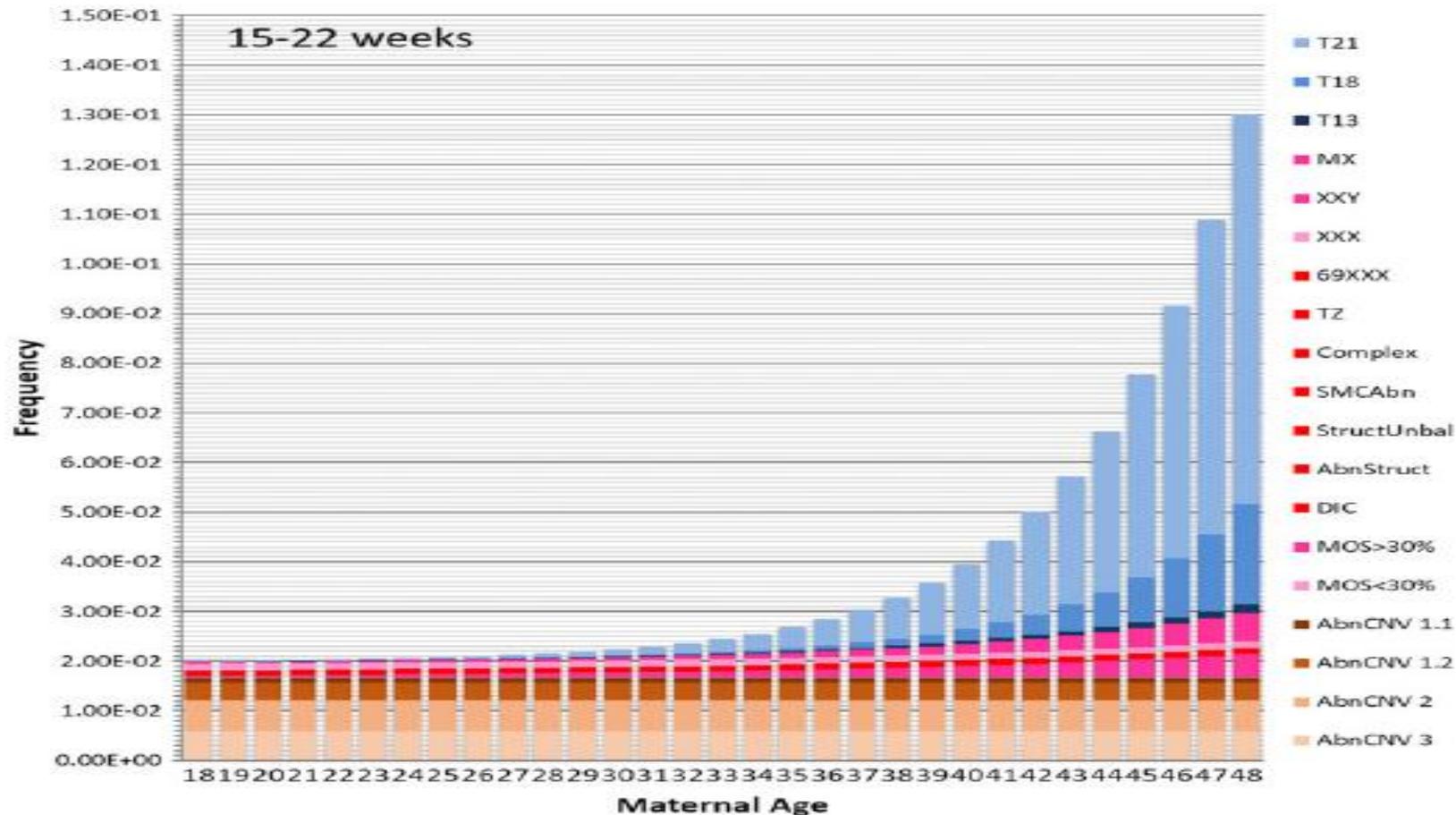
Les risques de faux négatifs sont d'environ 0,1% selon les technologies utilisées (ref PGM Ion torrent)

Quelles sont les anomalies non dépistées par l'analyse ADNflc?

Année	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	Total
Trisomie 21	711	800	802	852	758	687	529	5139
Trisomie 13/18	70	68	91	87	60	86	56	518
Dysgonosomies	96	120	120	104	122	78	65	705
Triploïdies	7	19	20	17	7	15	13	98
Autres déséquilibres	105	96	103	81	85	90	75	635
Anomalies équilibrées	147	154	137	132	103	89	63	825
Total	28223	22183	20048	21362	18560	13762	9190	133328

Données de l'ABM

Quelles sont les anomalies non dépistées par l'analyse ADNflc?



Ferreira et al,2016

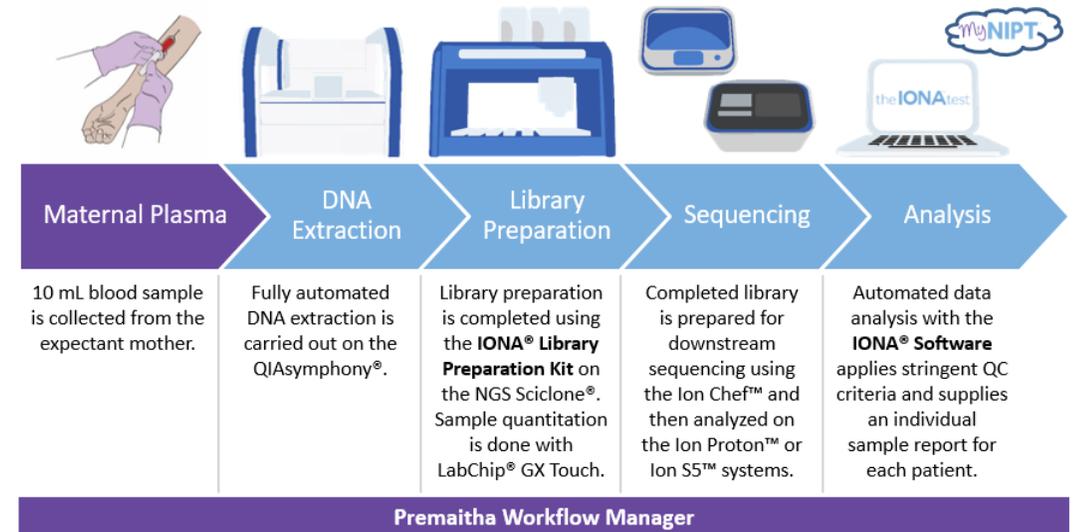
Data on ~90,000 amniocentesis and CMA of 3,297 fetuses without abnormal ultrasound – Wapner et al. 2012

Influence de l'âge maternel sur l'apparition d'autres anomalies

Le dépistage T21 au laboratoire Eylau Unilabs

2009 : MSM 1^{er}T et 2T , laboratoire agréé et accrédité,
12 000 tests/an 4% >1/250 et 12% >1/1000
Soit 1400 patientes IDF + Unilabs

2017: mise en place de la plateforme NGS Premaitha/Adgenix
1000 tests/an sur IDF uniquement
1 Fx Neg , 0 Fx Pos



Choix de la technologie IONA/PGM (principe de détection d'H+)

1. seule technologie sur le marché actuelle **entièrement CE-IVD** y compris pour l'AMP et les dons d'ovocytes
2. Plateforme entièrement automatisée, sécurisation complète des données, SAV 24/24 et 7/7 en Europe
3. Sensibilité et spécificité des tests >99% y compris pour le **sexe foetal**
4. 0,2% de FP et taux de repassage <0,5%
5. **FF >= 2%** avec ajustement en fonction de la FF de l'ensemble des échantillons
6. **Résultat complet intégrant les données maternelles** (âge, IMC, type de grossesse...)
7. Fiabilité prouvée dans de nombreuses publications

[Ultrasound Obstet Gynecol.](#) 2015 Oct 23. DOI: 10.1002/uog.15791. Clinical evaluation of the IONA® test: a non-invasive prenatal screening test for Trisomy 21, 18 and 13. Papageorgiou A, Khalil A, Forman M, Hulme R, Mazey R, Mousa HA, Johnstone ED, McKelvey A, Cohen KE, Risley M, Denman W, Kelly B.

[Ultrasound Obstet Gynecol.](#) 2015 Dec 28. DOI: 10.1002/uog.15749. The IONA® test for first-trimester detection of trisomy 21, 18 and 13. Poon LC, Dumidrascu-Diris D, Francisco C, Fantasia I, Nicolaidis KH.

[Fetal Diagnosis and Therapy.](#) 2017 Feb 8. Doi: 10.1159/000455025. The IONA® Test: Development of an Automated Cell-Free DNA-Based Screening Test for Fetal Trisomies 13, 18, and 21 That Employs the Ion Proton Semiconductor Sequencing Platform. Crea F, Forman M, Hulme R, Old R.W, Ryan D, Mazey R, Risley M.D

Place des MSM / ADNflc

- Mme A : 34 ans , G2 P1, grossesse mono-foetale , IMC 22
- MSM 1T = **1/162** , MoM HCG 0,38 ; MoM Pappa 0,20 ; CN 2,70 mm (écho réalisée à 12 SA , Score de Herman : 6)
- Analyse ADNflc = faible probabilité de T21 , FF = 10%

- Accouchement : enfant avec suspicion de T21

- Diagnostic: FISH sur LA = présence d'une T21 homogène / culture en cours

- **Importance de l'interprétation des MSM en particulier des MoM**
 - **Commentaire** supplémentaire en cas d'anomalie des dosages hormonaux = à quel seuil? Phrase commentaire type pour l'ensemble des labos?
 - **Analyse ADNflc:** envoi des données fichier BAM au bio informaticien pour analyse plus poussée des données

Place des MSM / ADNflc

- Mme P , 31 ans , G1P0, FIV : 1 ET (progestérone pdt 3 mois), IMC 25
- MSM 1T : 1/ 150, MoM HcG 2.9 , MoM Pappa 1.9, CN 1.8 mm (12SA)
- DPNI : FF 8% , faible probabilité T21
- **Grossesses post AMP :**
 - Nombre d'ET , vanishing twin **ATTENDRE AU MOINS 8 SEMAINES AVANT DPNI**
 - **Traitement progestérone** : HcG augmentée, commentaires MoM pathologiques
 - Place du **DPNI Vs BT** : geste invasif sur grossesse post AMP !!!

Place des MSM / ADNflc

- Mme F , G3P2, 39 ans , grossesse naturelle, IMC 25
- **MSM 1T : 1/90** , MoM Hcg 1,09 MoM Pappa 0,21 CN 1,5 mm (score Herman 7, 12SA)
- Pas de signes d'appels échographiques , ni T1 , ni T2
- DPNI : FF 3% , Risque faible
- Accouchement enfant hypotonique , et hypothyroïdie
- Caryotype néo natal T21
 - Commentaires **MoM pathologiques**
 - Discussion geste invasif pour **quel seuil ? 1/100 ou 1/250 ???**

Place des MSM / ADNflc

- Mme K , G1P0, 40 ans , grossesse naturelle, IMC 20
- **MSM 1T : 1/1200**, MoM Hcg 1,09 MoM Pappa 1,3 CN 1,8 mm (score Herman 8, 13SA)
- Pas de signes d'appels échographiques
- DPNI : FF 11% , Risque faible de T21
- Accouchement enfant avec pli palmaire unique
- Caryotype néo natal T21
 - Discussion seuil **1/2000** pour l'ADNflcT21?

Place des MSM / ADNflc

- Mme C , G4P2, 42 ans , grossesse naturelle, IMC 20
- **MSM 1T : 1/52** , MoM Hcg 2 ; MoM Pappa 0,8 ; CN 1,8 mm (score Herman 7, 12SA)
- Pas de signes d'appels échographiques
- DPNI : FF 10% , Risque faible de T21
- Discussion avec CPDPN du geste invasif
- Caryotype néo natal T21, réalisé suite à la décision de la patiente
- Discussion **1/ 50 ou 1/ 100** pour geste invasif d'emblée?

Place des MSM / ADNflc

- Mme C , G2P1, 28 ans , grossesse naturelle, IMC 20
- **MSM 1T : 1/1800** , MoM Hcg 0,3; MoM Pappa 0,2; CN 1,8 mm (score Herman 7, 12SA)
- Pas de signes d'appels échographiques au T1
- DPNI : FF 15% , Risque élevé T18
- BT : confirmation T 18 , IMG
 - **Commentaires sur MoM pathologiques**
 - **CR DPNI : rendu des T 18 et T13**

Place des MSM / ADNf1c

- Mme N , G1P0, 41 ans , grossesse naturelle, IMC 25
- **MSM 1T : 1/1200** , MoM Hcg 1,2 MoM Pappa 1,3 CN 1,8 mm (score Herman 6, 12SA)
- Pas de signes d'appels échographiques au T1
- DPNI pour convenance personnelle, FF 8% , Risque élevé T21
 - PLA: T21 Non confirmée chez foetus
 - Diagnostic: **Mosaïque confinée au placenta**

Place des MSM / ADNflc

- Mme S , G1P0, 42 ans , grossesse post PMA, IMC 20
- **MSM 1T : 1/1200** , MoM Hcg 1,2 MoM Pappa 1,3 CN 1,8 mm (score Herman 6, 12SA)
- Pas de signes d'appels échographiques au T1
- DPNI : FF 8% , convenance personnelle, Risque faible T21
 - Echo T 2 : CIV
 - PLA : T21
 - **Discussion : Age maternel comme indication DPNI**

Après-Demain ...



Nouveaux tests diagnostics moins coûteux et plus rapides (en cours)

Nouvelles indications ?

