

Dépistage Avancé Non Invasif dans le Plasma Maternel



Dépistage Avancé

Non Invasif

NIPD: Non invasive prenatal diagnosis

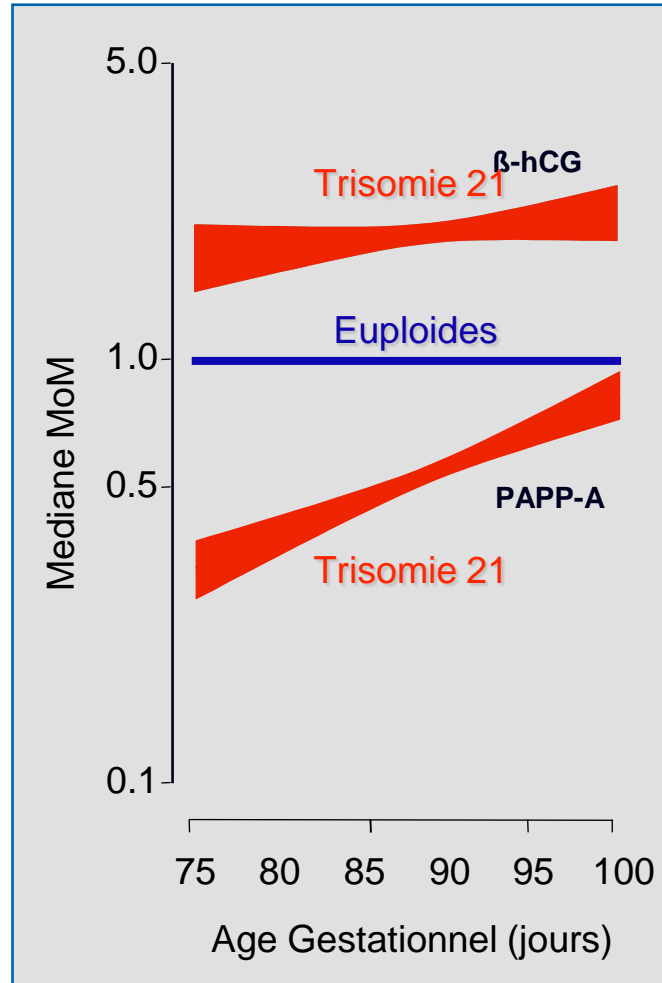
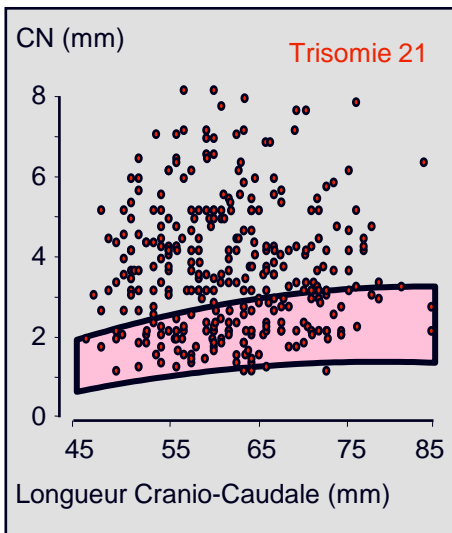
NIPT: Non invasive prenatal testing

NIAPS: Non invasive advanced prenatal screening

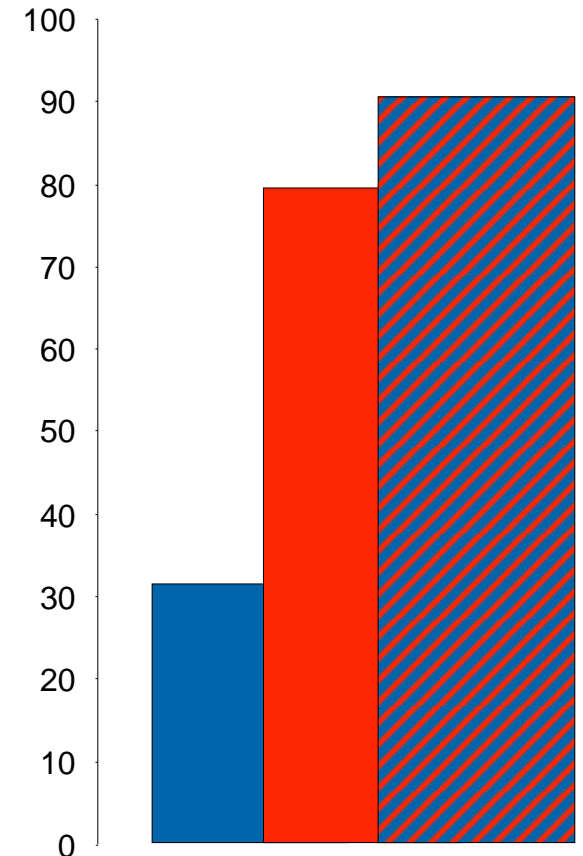


Dépistage et Diagnostic prénatals de la Trisomie 21

Marqueurs sériques maternels au premier trimestre β -hCG et PAPP-A



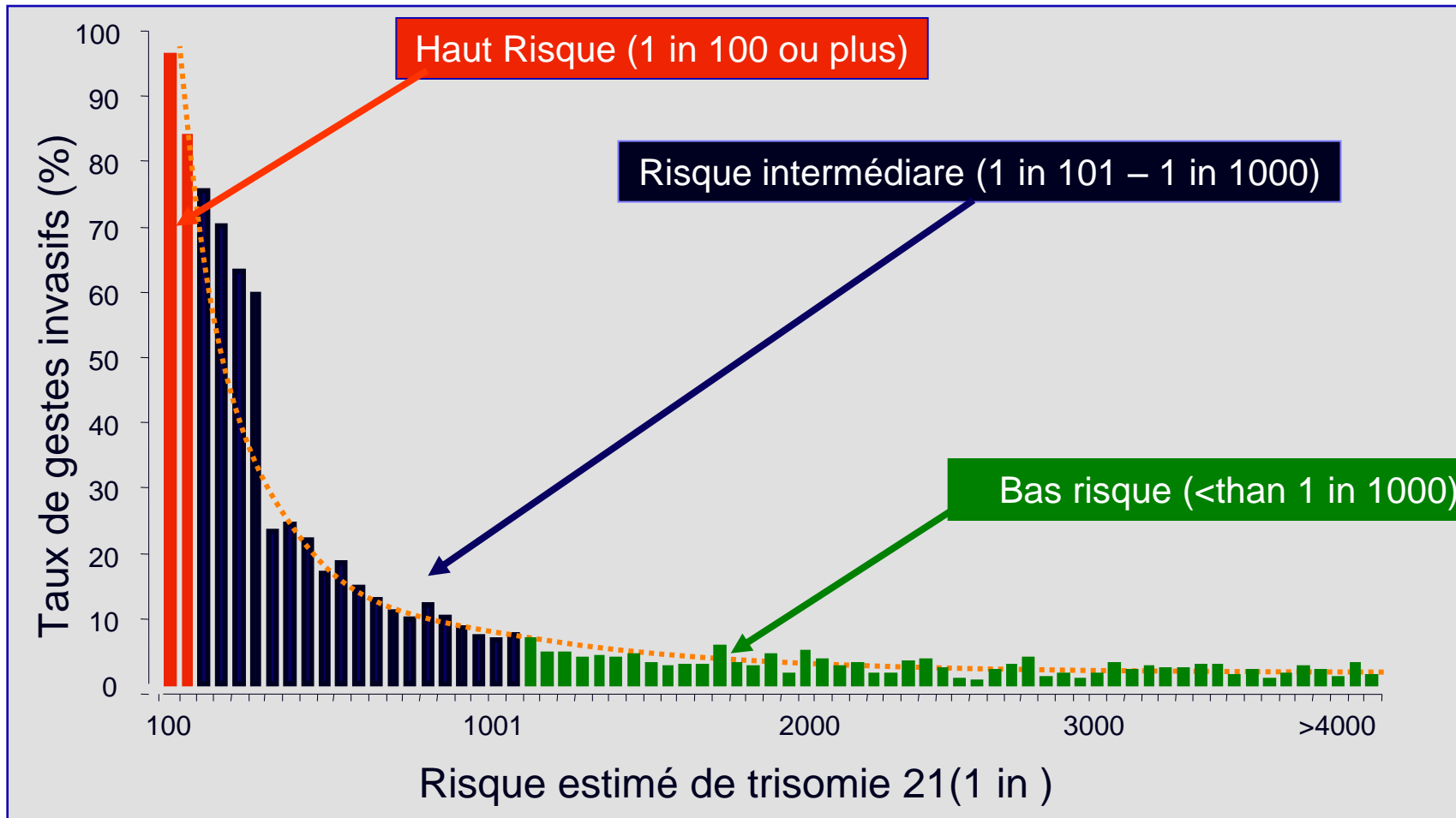
Taux de Détection pour 5% FP



Chiffres FMF

Dépistage et Diagnostic prénatals de la Trisomie 21

Appréciation individuelle du risque C. 1/250 de l'Assurance Maladie





Dépistage et Diagnostic prénatals de la Trisomie 21

Groupe à Haut Risque

Option 3. Dépistage prénatal avancé non-invasif

D iagnostic – épistage non invasif de la trisomie 21 Fœtale dans le sang maternel.



Lien d'intêrèt : Y. VILLE
Conseiller clinique de Sequenom

Indications cliniques

Contre-indications

Information patientes

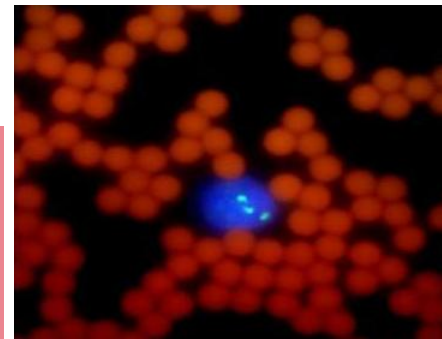
Information médecins

Réflexion différence diagnostic - dépistage

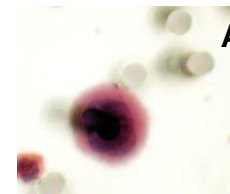
Prenatal Screening and Diagnosis of fetal aneuploidies

High Risk

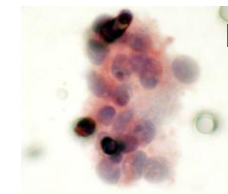
Option 3. Non Invasive Advanced Screening



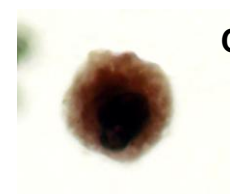
D. Bianchi 2005



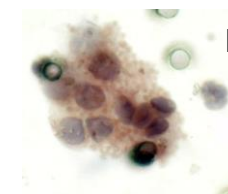
A



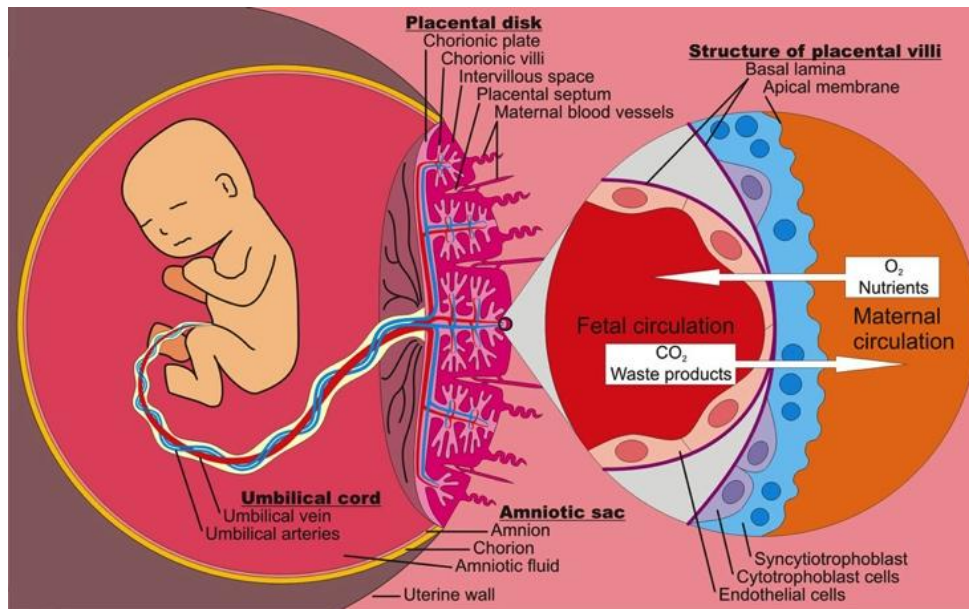
B



C



D



Non Invasive Advanced Prenatal Screening in Maternal Plasma



A recent old story

Lo YM, Corbetta N, Chamberlain PF, et al. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. Lancet 1997;350:485-7

Fan HC, Blumenfeld YJ, Chitkara U, et al. Noninvasive diagnosis of fetal aneuploidy by shotgun sequencing DNA from maternal blood. Proc Natl Acad Sci USA 2008;105(42):16266-71

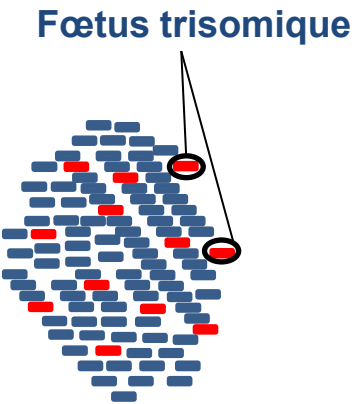
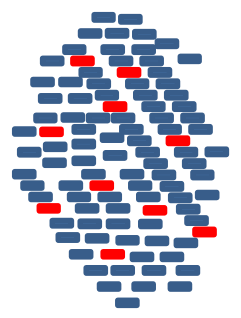
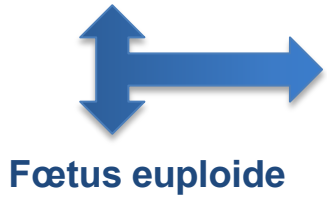
Chiu RWK, Chan KCA, Gao Y, et al. Noninvasive prenatal diagnosis of fetal chromosomal aneuploidy by massively parallel genomic sequencing of DNA in maternal plasma. Proc Natl Acad Sci USA 2008;105(51):20458-63

Chiu RWK, Akolekar R et al. Noninvasive prenatal assessment of trisomy 21 by multiplexed maternal plasma DNA sequencing: large scale validity study. BMJ. 2011 Jan 11;342:c7401.

Diagnostic – épistage non invasif de la trisomie 21 Fœtale dans le sang maternel.



10% de l'ADN circulant dans le plasma maternel est d'origine fœtale et 90% d'origine maternelle

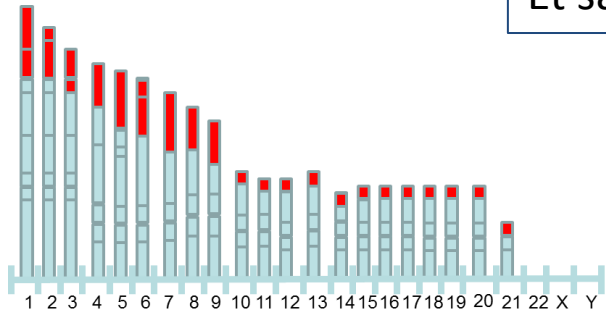


Enrichissement

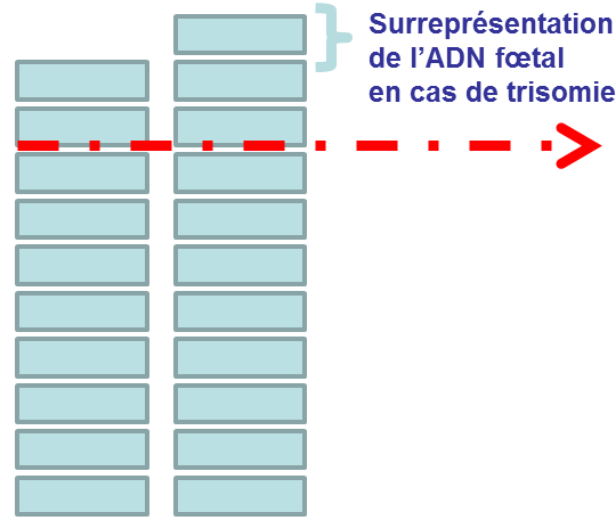
Séquences Spécifiques Représentatives
De tout le génome ou sélectif: MPSS v. DANSR

```
TTCG00CAG60CATG666A0CTG6AAA1T6GCTGAT chr21
GG00CT6666GAG6TTC0CAAT0CACT666TCACT chr10
GACAG6T666GAGCT0G60CAGACAG6600CAG6CT66 chr14
GG00CT6666GAG6TTC0CAAT0CACT666TCACT chr10
ACAGT66T666600CAT00CT666T6666TCA6T chr21
GG00CT6666GAG6TTC0CAAT0CACT666TCACT chr10
GG00CT6666GAG6TTC0CAAT0CACT666TCACT chr10
GG00CT6666GAG6TTC0CAAT0CACT666TCACT chr10
TTCG00CAG60CATG666A0CTG6AAA1T6GCTGAT chr21
GACAG6T666GAGCT0G60CAGACAG6600CAG6CT66 chr14
GG00CT6666GAG6TTC0CAAT0CACT666TCACT chr10
ACAGT66T666600CAT00CT666T6666TCA6T chr21
GG00CT6666GAG6TTC0CAAT0CACT666TCACT chr10
GG00CT6666GAG6TTC0CAAT0CACT666TCACT chr10
GACAG6T666GAGCT0G60CAGACAG6600CAG6CT66 chr14
GG00CT6666GAG6TTC0CAAT0CACT666TCACT chr10
```

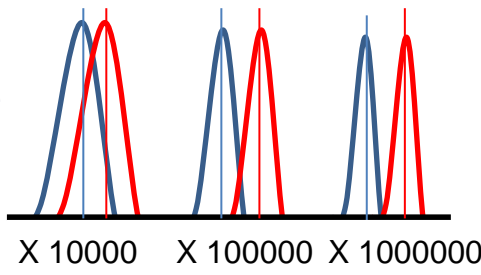
Séquençage à très haut débit



Identification D'un excès d'ADN fœtal Et sa nature Chr



Surreprésentation de l'ADN fœtal en cas de trisomie



DANSR: digital analysis of selected regions, MPSS: Massive Parallel Signature Sequencing

Diagnostic – épistage non invasif de la trisomie 21 Fœtale dans le sang maternel.



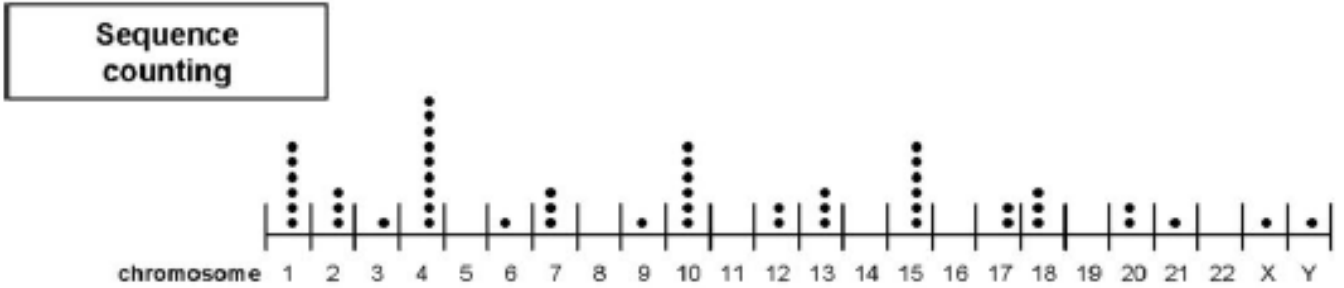
Noninvasive prenatal diagnosis of fetal chromosomal aneuploidy by massively parallel genomic sequencing of DNA in maternal plasma

Rossa W. K. Chiu^{a,b}, K. C. Allen Chan^{a,b}, Yuan Gao^{c,d}, Virginia Y. M. Lau^{a,b}, Wenli Zheng^{a,b}, Tak Y. Leung^a, Chris H. F. Foo^f, Bin Xie^c, Nancy B. Y. Tsui^{a,b}, Fiona M. F. Lun^{a,b}, Benny C. Y. Zee^f, Tze K. Lau^e, Charles R. Cantor^{g,h}, and Y. M. Dennis Lo^{a,b,1}

Noninvasive diagnosis of fetal aneuploidy by shotgun sequencing DNA from maternal blood

H. Christina Fan^a, Yair J. Blumenfeld^g, Usha Chitkara^g, Louanne Hudgins^g, and Stephen R. Quake^{a,h}

Résultat du séquençage à très haut débit de tout l'ADN circulant



% representation of unique sequences mapped to a chromosome

$$\% \text{ chrN} = \frac{\text{Unique count for chrN}}{\text{Total unique count}}$$

Disease status determination

$$\text{chrN z-score for test sample} = \frac{\% \text{ chrN}_{\text{sample}} - \text{mean } \% \text{ chrN}_{\text{reference}}}{\text{S.D. } \% \text{ chrN}_{\text{reference}}}$$

Non Invasive Advanced Prenatal Screening in Maternal Plasma



Table 1 Studies reporting the effectiveness of noninvasive prenatal testing for trisomy 21 in high-risk populations

Author and commercial partner	Gestational age	Test not possible	Sensitivity	Specificity	Comment
Ehrich <i>et al.</i> ² Sequenom	16 (8–36) weeks	18/467 (3.9%)	39/39 (100.0%)	409/410 (99.8%)	—
Chiu <i>et al.</i> ¹ Sequenom	13 weeks	57/810 (7.1%)	68/86 (79.1%)* 86/86 (100.0%)	565/571 (98.9%)* 143/146 (97.9%)	8-plex protocol (<i>N</i> = 753) 2-plex protocol (<i>N</i> = 314)
Palomaki <i>et al.</i> ³ Sequenom	15 (9–21) weeks	13/1484 (0.9%)	209/212 (98.6%)	1468/1471 (99.8%)	—
Schnert <i>et al.</i> ⁴ Verinata	15 (10–28) weeks	No data	13/13 (100.0%)	21/21 (100.0%)	—
Bianchi <i>et al.</i> ⁶ Verinata	16 (8–31) weeks	23/532 (4.3%)	89/89 (100.0%)	404/404 (100.0%)	—
Sparks <i>et al.</i> ⁸ Ariosa	18 (10–36) weeks	0/167 (0.0%)†	36/36 (100.0%)†,‡	122/123 (99.2%)†‡	Training set (<i>n</i> = 171) Validation set (<i>n</i> = 167)
Norton <i>et al.</i> ⁷ Ariosa	16 (10–38) weeks	148/3228 (4.6%)	81/81 (100.0%)	2887/2888 (99.9%)	—
Ashoor <i>et al.</i> ⁵ Ariosa	13 (11–13) weeks	3/300 (1.0%)	50/50 (100.0%)	297/297 (100.0%)	—
Lau <i>et al.</i> ⁹ Beijing Genomics Institute	14 (≥12) weeks	0/567 (0.0%)§	8/8 (100.0%)	—	Outcome data incomplete
Zimmermann <i>et al.</i> ¹⁰ Natera	17 (9–36) weeks	21/166 (12.7%)¶	11/11 (100.0%)	126/126 (100.0%)	—
Total	—	—	622/625 (99.5%)	5877/5886 (99.8%)	—

*Results for both 8-plex and 2-plex sequencing shown. Only the 2-plex analysis was included in the overall calculation of sensitivity and specificity.

†Risk threshold of <1 in 100 used for positive result.

‡Only the results for the blinded validation set (*n* = 167) shown.

§Four patients with unclassifiable data were successfully resampled.

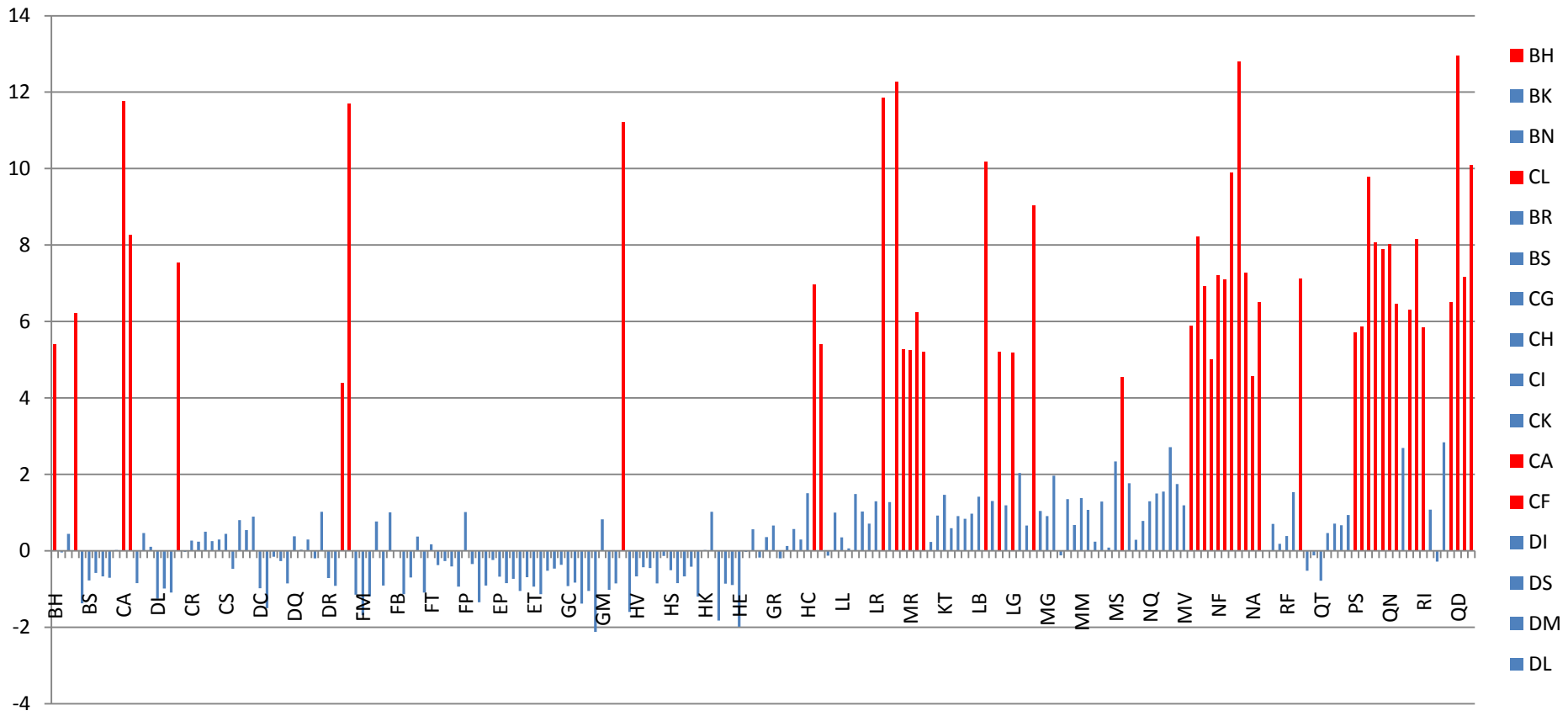
¶A ‘redraw’ rate of 7.7% and a ‘no call’ rate of 0.5% have been described more recently, although these data have not been published in a peer-reviewed journal.

Non Invasive Advanced Prenatal Screening in Maternal Plasma



Résultats définitif du PHRC SEQ 21

Résultats douteux 2,7%



Non Invasive Advanced Prenatal Screening in Maternal Plasma



0.7 up to 6.6 % « Non-informative » results

Insufficient cffDNA

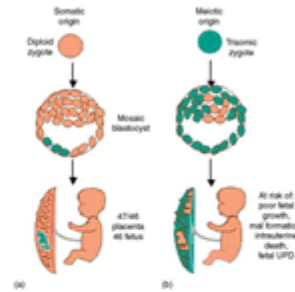
- BMI
- Smoking
- ?

Failure of the technique ?

5-14 working days each time

Reasons for NIPT Discrepant Positives

- Confined placental mosaicism (CPM)
- Co-twin demise/vanishing twin
- Fetal mosaicism
- Maternal mosaicism
- Maternal malignancy
- Laboratory error
- Other



21-00033R1.0 | 29
© 2019 Sequenom CMV, all rights reserved.

Oncology – Circulating Tumor DNA

Case 1

Clinical indication (AMA)

- Fetal fraction 48%
- Z21 3.15
- Z13 -10.68
- Z18 -39.70

Metastatic carcinoma
diagnosed 2 weeks postpartum

Case 2

Clinical indication (AMA)

- Fetal fraction 22%
- Z21 -11.62
- Z13 -15.83
- Z18 48.44

Second aliquot

- Z21 -10.36
- Z13 -14.25
- Z18 46.75

Invasive angiosarcoma



!

!

Comité Consultatif National d'Ethique pour
les sciences de la vie et de la santé

AVIS N° 20: Questions éthiques associées au développement des tests génétiques fœtaux sur sang maternel!

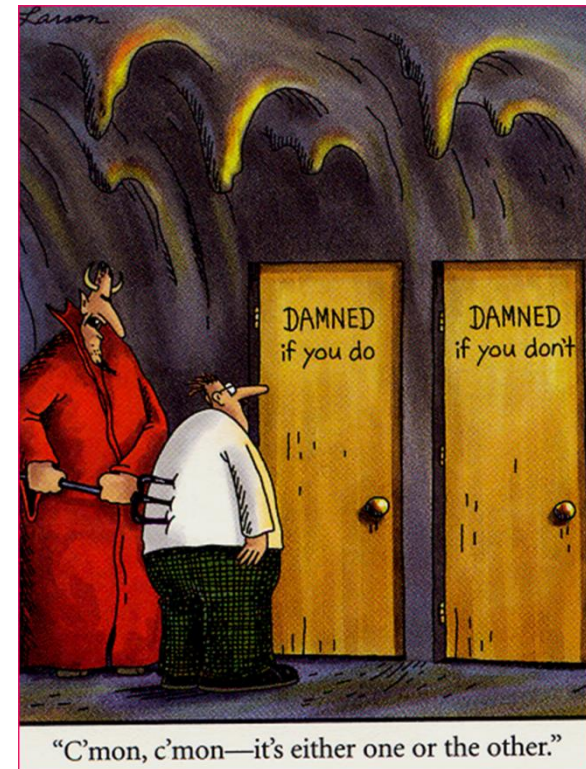
Le test génétique fœtal de trisomie 21 sur sang maternel pourrait être progressivement introduit comme un élément du dépistage combiné actuel, c'est à dire réservé aux femmes reconnues « à risque », puisqu'il ne modifie pas intrinsèquement le fond de la procédure, mais permet de diminuer de beaucoup le nombre de prélèvements ultérieurs, invasifs et potentiellement dangereux, particulièrement pour le fœtus. Au-delà, ce test pourrait être proposé en première intention du dépistage, si sa pertinence scientifique se confirme en cette matière, chez l'ensemble des femmes enceintes : les limites de cette mise en place sont d'ordre technique, organisationnel et financier plus qu'éthique. Néanmoins, pour autant que les problèmes techniques, organisationnels et de coût soient résolus, cette extension nécessiterait qu'un ensemble de conditions en assure la pertinence, la sécurité, l'égalité d'accès sans conditions de ressources, ainsi que la qualité de l'information et de l'accompagnement.

Diagnostic – épistage non invasif de la trisomie 21 Fœtale dans le sang maternel.



La question est-elle faut-il utiliser ce test ou comment l'utiliser ?

- Compréhension des limites
- Impact du caractère non invasif sur la « demande » et ses conséquences
- Coût, éthique individuelle c. collective
- Propriété intellectuelle & conflit d'intérêt



Diagnostic – épistage non invasif de la trisomie 21 Fœtale dans le sang maternel.



Compréhension de la nature du test et de ses limites

Jusqu'à 50% des femmes demanderaient une confirmation par caryotype après NIPD (-) ? (Penn 2004)

En 2013 en France dans le contexte scientifique et médiatique du DAPNI ?

Compréhension Meilleure ou Pire ?



Différence Dépistage – Diagnostic ?

Ensemble d'examens et de tests effectués au sein d'une population apparemment saine afin de dépister une affection latente à un stade précoce.

52% Acceptation éclairée
42% Passive / praticien
6% Refus motivé
Seror 2009

Découvrir, déceler une maladie, un handicap chez quelqu'un, un groupe par une recherche systématique

Temps de l'acte médical permettant d'**identifier** la nature et la cause de l'affection dont un patient est atteint.

Diagnostic – épistage non invasif de la trisomie 21 Fœtale dans le sang maternel.



- Accepter « moindre » sensibilité (autres A. chromosomiques) pour une meilleure sécurité ?

75% priorisent la sécurité
13% la fiabilité
7% la précocité du résultat

Fischler 2011



Exemple de la cytogénétique moléculaire prénatale par qf-PCR

0.07% Autres aneuploidies,
Translocations équilibrées

Mann 2012

Diagnostic – épistage non invasif de la trisomie 21 Fœtale dans le sang maternel.



Importance Information – Qualité du Consentement

Consentement éclairé:

- S'applique à un test diagnostique
- Informations précises sur le test
- Éléments de décision et temps

Impact d'un résultat négatif ?
Impact d'un résultat positif
Délai
Augmentation de l'anxiété

Celles qui acceptent le test sont moins proactives que celles qui ne font pas le test

- 1/3 feraient le test sans réfléchir
- 1/3 suivraient les conseils de leur médecin

Zamirowski 2001

Choix éclairé:

- S'applique à un test de dépistage
- Le test affine un risque, une probabilité
- Pas forcément un choix actif
- L'anticipation n'a pas vocation d'aller jusqu'aux conséquences du résultat
- **Ne pas sur-inquiéter les femmes à « bas risque »**

« Devrait » être un consentement éclairé

- **Risque de perte de libre arbitre**
- **Information identique à celle d'un caryotype**
- **Confirmation invasive systématique**
- **Réserver à une population à risque ?**

Influence du caractère non invasif sur la « demande » et ses conséquences ?

- Égalité – Inégalité d'accès aux soins
- Disparition de la peur de la fausse couche

Est-ce vraiment le cas si risque < 1/1000 ?
Responsabilité de l'inquiétude induite par dépistage T1

Indéniablement
Dimension quantitative ?
0,8 à 1,8% des caryotype sont hors convention

Non Invasive Advanced Prenatal Screening in Maternal Plasma



- Imbalanced MSM
- Malformation
- NT > 99th centile

0.5 – 1 %

Abn: 40-88 %

Karyotype
(Array-CGH 2)

Nal : 12-60 %

10-15%

- Fetal Demise
- Malformations
- Syndromes

CONTRAINDICATED - MISLEADING NIAS





Non Invasive Advanced Prenatal Screening in Maternal Plasma



Responsability / Deontological Duty To teach and inform

The screenshot shows the RAPID website with a green header. The header contains the text "Reliable Accurate Prenatal non-Invasive Diagnosis" around a blue triangle with "RAPID" in the center. Below the header is a navigation menu with links: Home, About, News, Patient Information, Health Professionals, Laboratory Services, and Libr. The main content area is divided into three sections:

- How does NIPT work?**

Noninvasive Prenatal Testing is a new and evolving technology that allows women to have noninvasive prenatal testing and diagnosis for some genetic and chromosomal conditions from a simple blood test.

The RAPID project are working on developing educational resources for health professionals and the public about how noninvasive prenatal testing will impact on the NHS services for pregnant women.
- Training Health Professionals**

A online training session is available. Aimed at those who are unfamiliar with the concept of noninvasive prenatal testing, the fifteen minute course provides a useful introduction to how noninvasive prenatal testing will be used to help diagnose those at risk of having a baby with a serious sex linked genetic condition, or congenital adrenal hyperplasia (CAH).

This course, developed by RAPID, in association with the NGEDC, contains audio, so plug in your speakers or head-phones and ..
- Latest News**
 - RAPID Meeting November
 - A RAPID Dissemination Meeting held at the UCL ▶
 - New RAPID Publication
 - A new publication from the describes work led ▶
 - New RAPID publication focuses on ethics of NIPD for aneuploidy ▶
 - A new paper published by the team examines the ▶
 - A new qualitative study from

Diagnostic – épistage non invasif de la trisomie 21 Fœtale dans le sang maternel.



SAFE 21

- Necker Enfants Malades
- Robert Debré
- Poissy St-Germain
- Pitié Salpêtrière
- Kremlin Bicêtre
- NDBS
- Nantes
- Lille
- Tours
- Toulouse
- Angers
- Montpellier
- Marseille
- Strasbourg



25 000 – 30 000 / an
Dépistage combinés T1



1250 à risque > 1/250 par an
avec CN < 95eme centile &
MSM équilibrés

Randomisation 1:1

N=1250
BT / Amnio
2 ans

N=1250
DPANI
2ans

ETUDE RANDOMISEE FRANCAISE PUBLIQUE

- **Fausses couches (1,5 vs 0,5%)**
- Réduction du taux de gestes invasifs
- Détection /Faux positifs / Faux négatifs
- Délai de rendu
- Impact Economique
- Réseau / outil de recueil
- Acceptabilité / Anxiété...

Non Invasive Advanced Prenatal Screening in Maternal Plasma



SAFE 21

25 000 – 30 000 / year
Comined T1 Screening



1250 high risk ($> 1/250$) per year
with NT < 95 th centile &
Balanced MSM

Randomisation 1:1

Acceptability ?

**Back door
and then ?**

N=1250
CVS / Amnio
2 years

Opting out



N=1250
NIAS
2 years

Opting out (?)
« Second thought » (?)
Not informative (0.6 – 6.6 %)

Anxiety, Time to results, Nb of US examinations ... Cost

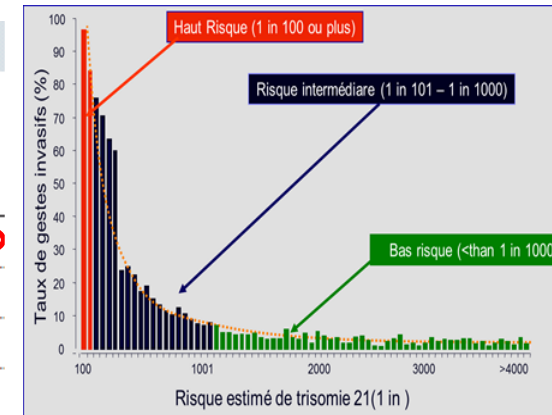
D iagnostic – épistage non invasif de la trisomie 21 Foétale dans le sang maternel.



Ethique quantitative: « Bénéfice » individuel ou collectif ?

Projected costs of noninvasive prenatal diagnosis

Screening cut-off (1 in)	Cost of screening (£)	Cost of CVS (£)	Cost/NIPD test = £500		Cost/NIPD test = £200	
			Cost of NIPD (£)	Total cost (£)	Cost of NIPD (£)	Total cost (£)
1000	26,500,000	743,699	30,334,028	57,577,726	12,133,611	39,377,310
2000	26,500,000	883,372	47,051,389	74,434,761	18,820,556	46,203,927
5000	26,500,000	1,127,388	77,972,222	105,599,610	31,188,889	58,816,277
10,000	26,500,000	1,361,025	107,892,361	135,753,386	43,156,944	71,017,970



Figures calculated for hypothetical population of 500,000 women, based on calculations in Table 2. Cost of screening = £53.⁴³ Cost of CVS = £386.⁷ Cost of NIPD varied in table. We assume all women with positive NIPD result would undergo CVS. Total cost = cost screening + cost CVS + cost NIPD. Using invasive prenatal diagnosis rather than NIPD with screening cut-off of 1 in 150, projected total cost would be £26,500,000 + £5,267,292 = £31,767,292.
CVS, chorionic villus sampling; NIPD, noninvasive prenatal diagnosis.

Chitty. *Noninvasive prenatal testing for aneuploidy. Am J Obstet Gynecol* 2012.

- Coût additionnel pour un problème rare, non léthal ... pour une enveloppe obstétricale limitée et INCOMPLETE
- Bénéfice collectif économique et plus grande détection probablement autour de $> 1/1000$ (10% population)
- Exemples de DPNI dans le sang maternel améliorant la sécurité et diminuant les coûts: Rh et Sexe foetal

D iagnostic – épistage non invasif de la trisomie 21 Fœtale dans le sang maternel.



Le recours au DPANI sans « indication » médicale

« Nouvelle » ritualisation sociale de la grossesse

- Choix de savoir si le fœtus est trisomique
- Choix de laisser vivre ou pas un enfant trisomique
- Pas le choix de son environnement social

Grossesse provisoire - conditionnelle / Tests

Ne rend pas les choix plus simples ni les IMG moins douloureuses !



Principe de l'Utilité (aversion totale d'une issue donnée)

Amniocentèses « de convenance » en France (2010)

0,8% (ABM) à 1.8% (CPDPN, Ph. Roth) des prélèvements réalisés ...

- Sous-estimé car uniquement CPDPN
- Impact du DPANI ?

➤ **2 dérapages possibles: systématisation (coût) et éloignement des filières de soin (écho T1)**



Ceci est un morceau de fromage (R. Magritte)

Diagnostic – épistage non invasif de la trisomie 21 Fœtale dans le sang maternel.



FUTUR SOUHAITABLE

1. En remplacement de l'amniocentèse
Sur risque $> 1/250$, CN < 95 ème centile et
MSM équilibrés ?

Evaluation SAFE 21

2.

Coût < 250 euros

Combiné avec la CN et MSM T1

- **Éliminera très largement la frange de risque intermédiaire (1/250-1/1000)**
- **Réduira le nombre de gestes invasifs**

CAUCHEMARS

1. Proposé à toutes les femmes sans conseil génétique pré et post et sans écho

2. Remboursement dans ce contexte aux prix actuels

2. Toujours plus sans indication (4p-,)

- **Issues plus grave que la T21 négligées**
- **IMG immotivées**

Diagnostic – épistage non invasif de la trisomie 21 Fœtale dans le sang maternel.



Propriété intellectuelle et conflit d'intérêt

Nouveau Test biologique

Nouvelle Technologie

Preuve du Concept

Environnement Universitaire

Industrie

« **Originalité** »

**99% de l'offre est à travers des tests commerciaux de compagnies privées
La plupart demande une prescription médicale et conseil génétique**

- Risque d'asservissement / Patentes: R&D C. Actionnaires
- Conflit d'intérêt

Différents niveaux: Dichotomie des prescripteurs ?
Alliances industrielles
Caution universitaire ?

Important de ne pas prendre les femmes en otages: offres publiques

Diagnostic – épistage non invasif de la trisomie 21 Foétale dans le sang maternel.



Internet et saut de l'étape de prescription ?

PATENTE, royalties

Direct-to-consumer genetic testing for health-related purposes in the European Union: the view from EASAC and FEAM



What are the particular concerns about the scope of DTC GT?

Based on our Working Group discussion, it seems to EASAC–FEAM that all kinds of genetic testing require an appropriate and relevant level of professional advice. On the whole, DTC GT has little clinical value at present and, on occasion, has potential to be harmful. We would not wish to encourage EU citizens to use DTC GT at present. We suggest especial caution about DTC GT in several specific respects, as follows.

- (1) Individuals should not seek DTC GT services if they have symptoms or are at known increased risk.
- (2) Testing for monogenic, high-penetrance, serious disorders should be presently excluded from the services offered by DTC GT companies.
- (3) Prenatal screening and carrier testing in children should also be excluded.
- (4) Nutrigenomic testing should be discouraged because of its association with the sale of nutrient products of little or no proven value.
- (5) Pharmacogenetic testing for prediction of drug response requires further discussion, but should not be offered unless necessary safeguards are in place.
- (6) Testing of samples from minors and third parties should not be permitted.



Régir l'utilisation du test.....

Diagnostic – épistage non invasif de la trisomie 21 Fœtale dans le sang maternel.



Noninvasive Whole-Genome Sequencing of a Human Fetus

Jacob O. Kitzman *et al.* *Sci Transl Med* 4, 137ra76 (2012)

Kitzman J O *et al.* *Sci Transl Med* 2012;4:137ra76-137ra76



Cloning a Neanderthal

1 Thanks to DNA found in fossilized bones, researchers have already succeeded in decoding large parts of the Neanderthal's genetic makeup.

Interview with George Church: Can Neanderthals Be Brought Back from the Dead?

Diagnostic – épistage non invasif de la trisomie 21 Fœtale dans le sang maternel.



Destruction du Léviathan, gravure de Gustave Doré (1865)